



**HAL**  
open science

# Le processus oral, une étape clé à l'origine des propriétés sensorielles de texture et d'arôme du pain. Quels sont les rôles de sa structure et de sa déstructuration en bouche sur les dynamiques de perceptions ?

Solenne Jourden

## ► To cite this version:

Solenne Jourden. Le processus oral, une étape clé à l'origine des propriétés sensorielles de texture et d'arôme du pain. Quels sont les rôles de sa structure et de sa déstructuration en bouche sur les dynamiques de perceptions ?. Génie des procédés. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. Français. NNT : 2017SACLA010 . tel-01980562

**HAL Id: tel-01980562**

**<https://theses.hal.science/tel-01980562>**

Submitted on 14 Jan 2019

**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.

NNT : 2017SACLA010

THESE DE DOCTORAT  
DE  
L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY  
PREPAREE A  
AGROPARISTECH

ECOLE DOCTORALE N° 581  
Agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé (ABIÉS)

Spécialité de doctorat : Génie des aliments

Par

**Solenne Jourden**

Le processus oral, une étape clé à l'origine  
des propriétés sensorielles de texture et d'arôme du pain.  
Quels sont les rôles de sa structure et de sa déstructuration en bouche  
sur les dynamiques de perceptions ?

**Thèse présentée et soutenue à Paris, le 06 mars 2017 :**

**Composition du Jury :**

Mme PROST Carole	Professeur, ONIRIS, Nantes	Rapporteur
Mme PEYRON Marie-Agnès	Chargé de recherche, INRA, Clermont-Ferrand	Rapporteur
M. DELARUE Julien	Maître de conférences, AgroParisTech, Massy	Examineur
M. FERON Gilles	Directeur de recherche, INRA, Dijon	Président du jury
Mme SOUCHON Isabelle	Directrice de recherche, INRA, Grignon	Directrice de thèse
Mme DELERIS Isabelle	Chargée de recherche, INRA, Grignon	Invitée
M. LEJEUNE Pascal	Ingénieur R&D, Lesaffre International, Marcq en Baroeul	Invité



## RESUME

L'appréciation du pain par le consommateur est largement impactée par ses propriétés sensorielles et notamment ses perceptions d'arômes et de texture. Mieux comprendre le rôle des propriétés des pains et des mécanismes en bouche à l'origine de ces perceptions est donc essentiel pour tendre vers une formulation raisonnée de produits aux caractéristiques sensorielles attendues par les consommateurs. Les perceptions d'arômes et de texture en bouche ne peuvent en effet pas être expliquées uniquement par la composition aromatique du pain ou par sa structure. Elles dépendent également de phénomènes dynamiques, résultant de la déstructuration du pain en bouche, très dépendante de chaque individu. Tenir compte du processus oral et des différences individuelles, pour mieux comprendre les mécanismes et propriétés clé à l'origine des perceptions, constitue donc un véritable enjeu.

Dans ce contexte, l'objectif de ce projet de thèse vise à mieux comprendre les déterminants liés au produit (structure, composition aromatique) et à l'individu (physiologie, processus oral) à l'origine des perceptions de texture et d'arômes du pain et de leur évolution lors de la consommation. Pour cela, une stratégie alliant analyses sensorielles, caractérisations physico-chimiques, analyses chimiques et analyses statistiques, a été mise en œuvre. Trois baguettes de fabrication parfaitement contrôlée, possédant une composition quasi identique en principaux ingrédients, mais différente en composition aromatique et en termes de structure de la mie, ont servi de support à cette étude. Dans un premier temps, les propriétés physico-chimiques et sensorielles d'échantillons de mie de pain avec ou sans croûte, issus de ces trois baguettes ont été étudiées à 3 temps du processus oral (10, 40 et 100% de la durée de mastication) à l'aide d'un panel entraîné de 8 individus. Dans un second temps, les libérations de marqueurs aromatiques de la mie et de la croûte ont été suivies *in vivo* en conditions réelles de mastication afin de les mettre en regard des dynamiques de perceptions aromatiques.

L'étude du processus oral, a permis de distinguer deux sources de variabilité, liés aux propriétés des pains d'une part, et à la physiologie orale et au comportement masticatoire des juges d'autre part, impactant sur les perceptions d'arômes et de texture de la mie et de la croûte. La capacité d'hydratation et la rigidité de la mie jouent un rôle majeur dans l'évolution des propriétés des bols et des perceptions de texture et d'arômes. Ainsi, plus un pain a une capacité d'hydratation élevée, plus il sera facilement déstructuré et hydraté. La rigidité de la mie jouerait quant à elle sur les perceptions aromatiques en permettant, quand la mie est plus ferme, une libération plus grande des composés d'arômes susceptibles d'interagir avec les récepteurs olfactifs sensoriels. Par ailleurs, l'étude conjointe de la mie et de la croûte, comparée à la mie seule, a permis de mettre en évidence la variabilité aromatique apportée par la croûte. Ainsi, il semblerait que la croûte de la baguette française influence principalement les perceptions aromatiques, tandis que les propriétés structurelles de la mie piloteraient les perceptions de texture, quelle que soit la croûte. Concernant la variabilité interindividuelle, deux types de comportements masticatoires ont été observés entre les individus du panel. Des masticateurs « lents » et des masticateurs « rapides » ont été identifiés, conduisant à des bols aux propriétés différentes au moment de la déglutition. Pour chaque groupe, des trajectoires spécifiques à la fois de formation des bols mais surtout de dynamiques de perception de texture et d'arôme ont été observées. Ainsi, la prise en compte du processus oral lors de la consommation du pain est une connaissance essentielle pour mieux comprendre les dynamiques de perception.



## ABSTRACT

The liking of the bread by the consumers is largely impacted by its sensory properties and notably its aroma and texture perceptions. To better understand the role of the bread properties and the in-mouth mechanisms at the origin of these perceptions are thus essential to help design new products with targeted sensory characteristics. Actually, the aroma and texture perceived in mouth cannot be only explained by the volatile composition of the bread or by its structure. They also depend on dynamic phenomena, resulting of the breakdown of the bread in mouth, that depends of each individual. To better understand the mechanisms and key properties at the origin of perceptions, by taking the oral processing and the individual differences into account, represents thus a real challenge.

In this context, this PhD project aims to better understand the determinants linked to the product (structure and volatile composition) and to the individual (physiology and oral processing) at the origin of the dynamics of aroma and texture perceptions of bread. For that purpose, a strategy combining sensory analyses, physico-chemistry characterizations, chemistry analyses and statistical analyses was set up. Three French baguettes with controlled bread-making processes were used in this study. They had almost identical composition in main ingredients, but they were different in terms of volatile composition and crumb structure. Firstly, the physico-chemistry and sensory properties and the samples of crumb with and without crust from these three baguettes were studied at three stages of oral processing (10, 40 and 100% of mastication duration) with the help of a trained panel of 8 individuals. Then, the releases of aroma markers from crumb and crust were monitored *in vivo* in real conditions of mastication and were compared with the dynamics of aroma perceptions.

The study of oral processing highlighted two sources of variability, linked with the bread properties on one side and with the oral physiology and the masticatory behavior of subjects on the other side, and that had an impact on the aroma and texture perceptions of the crumb and the crust. The hydration capacity and the rigidity of the crumb have a main impact on the evolution of bolus properties and texture and aroma perceptions during consumption. In this way, the higher the hydration capacity of the bread is, the more easily broken and hydrated it will be. Moreover, a bread with a rigid crumb could cause a higher release of volatile compounds susceptible to interact with the sensory olfactive receptors. In addition, the study of crumb and crust together, compared to crumb alone, emphasized the aroma variability brought by the crust. In fact, it seemed that the crust of the French baguette could influence mainly the aroma perceptions, while the crumb structure could control the texture perceptions, whatever the crust. Concerning the inter-individual variability, two types of masticatory behaviors were observed between the individuals of the panel. "Slow eaters" and "fast eaters" were identified, leading to bolus with different properties at swallowing time. For each group of eaters, specific trajectories of bolus properties but also of dynamics of aroma and texture perceptions were observed. So, taking the oral processing into account during bread consumption is a key knowledge to better understand the dynamics of perception.

## REMERCIEMENTS

*Je tiens à remercier en premier lieu Carole Prost, professeur à Oniris, et Marie-Agnès Peyron, chargée de recherche à l'INRA de Clermont-Ferrand, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je souhaite également remercier Julien Delarue, maître des conférences à AgroParisTech et Gilles Feron, directeur de recherche à l'INRA de Dijon, d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.*

*Je souhaite remercier François Boué, directeur du laboratoire de Génie et Microbiologie des Procédés Agroalimentaires (UMR GMPA), de m'avoir accueilli pendant ces trois ans de thèse.*

*Je tiens évidemment à remercier Isabelle Souchon, directrice de cette thèse, pour son soutien et son implication dans ce projet de recherche. Merci pour tous les conseils que tu m'as donnés au cours de ces trois années bien chargées ! Merci également de m'avoir fait partager ta passion pour la recherche et ta rigueur scientifique, des qualités essentielles pour le métier de chercheur. Je voudrais aussi remercier chaleureusement Isabelle Déléris, co-directrice de cette thèse. Malgré la distance, tu as toujours su être présente quand il le fallait. Merci pour ta réactivité et pour toute l'aide précieuse que tu m'as accordée.*

*Un immense merci à Anne Saint-Eve et Maud Panouillé, co-encadrantes de cette thèse pour leur investissement et leur soutien au quotidien. Anne, ta bonne humeur sans faille et ton énergie sont des remontants bien plus efficaces que le café ou les boissons énergisantes en cas de fatigue passagère ! Tu as su me transmettre ta passion pour l'analyse sensorielle depuis mon passage à AgroParisTech en tant qu'étudiante ingénieur. Maud, un grand merci pour ta gentillesse, ton aide précieuse et ta grande réactivité, depuis le début du projet jusqu'à la période de rédaction. Ca a été un vrai plaisir de travailler à vos côtés pendant ces trois ans !*

*Je tiens également à remercier toutes les personnes de Lesaffre qui m'ont suivi au cours de cette thèse. Un grand merci à Jean-Marc Ladrière qui m'a accueillie au sein de son équipe, et à Frédéric Auger qui l'a remplacé à la fin de ma thèse. Merci à Pascal Lejeune de m'avoir accordé sa confiance pour la réalisation de ce projet. Merci également pour tes conseils experts et pour tes remarques avisées. Merci à Isabelle Mouly et à Camille Dupuy de m'avoir fait visiter leurs laboratoires respectifs et permis de mieux appréhender les différents métiers de la R&D en entreprise. Merci à toutes les deux pour votre sympathie et votre implication tout au long de ce projet.*

*Je remercie les différents membres de mon comité de thèse : Elisabeth Guichard et Guy Della Valle, merci pour vos commentaires qui ont permis de faire avancer ce travail lors des comités de pilotage. Merci également à Sébastien Lê pour son regard extérieur et ses remarques constructives. Elisabeth, merci de m'avoir accueilli au laboratoire CSGA pour y réaliser les analyses par SAFE des pains. Je remercie également Carole Tournier pour sa formation sur l'équipement EMG.*

*Je souhaite remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour ce projet. Tout d'abord, cette thèse n'aurait pas été la même sans le travail de David Forest. Merci pour toute l'aide que tu m'as apportée au quotidien, pendant les analyses sensorielles, les analyses des bols, les réparations du PTR-MS, ... et j'en oublie sûrement ! Merci pour ton soutien inconditionnel, ta gentillesse, ta vision philosophique de la vie qui ont rendu très agréables ces trois années à travailler à tes côtés ! Je*

*remercie chaleureusement Armelle Dellile de son appui technique pour les analyses chimiques des composés d'arômes. Merci d'avoir partagé avec moi ta carte postale du pape François, véritable marabouteur des appareils capricieux ! Sur un autre registre, je tiens à remercier Marine Masson pour son aide sur la partie statistique. Merci de t'être triturée le cerveau avec moi sur ces liens entre ions et molécules pendant la dernière année de la thèse. J'espère que je ne t'ai pas traumatisé avec mes molécules aux noms plus compliqués les unes que les autres ! Je voudrais ensuite remercier les différentes stagiaires que j'ai eu la chance d'encadrer : Florie Doppler, Hélène Hy, Marion Beugin et Joséphine Jeandel, et qui ont contribué à la réussite de ce travail. Merci à toutes pour votre travail plein de motivation, de compétence et de bonne humeur. Je vous souhaite beaucoup de réussite dans vos futurs métiers respectifs. Merci également aux deux stagiaires « pain » du labo Anne-Flore Monnet et Daniela Freitas qui ont travaillé sur des projets annexes à ce sujet de thèse avec beaucoup de rigueur scientifique et d'implication.*

*Je suis très reconnaissante envers tous les volontaires du laboratoire GMPA qui ont accepté de participer aux différents panels de cette étude. Un immense merci aux trois irréductibles panélistes qui ont mangé du pain pendant les trois années de projet. Merci à tous pour votre indispensable contribution, sans laquelle rien n'aurait été possible.*

*Je voudrais remercier mes voisins de bureau successifs : Guillaume Fiches, Vincent Mathieu, Salma Ben Harb, Hélène Bidault et Marynella Thiel qui ont chacun à leur manière contribué à instaurer une bonne ambiance dans notre bureau ! Guillaume, ton manuscrit a presque été un livre de chevet ces derniers mois... Vincent-Chaton, je voudrais juste te remercier ici pour tous tes conseils et pour ton rire très communicatif. J'essaye de ne pas griller toutes mes idées d'un coup, car je te remercie encore un peu plus bas. Salma, je te souhaite plein de courage pour ta dernière année (dernière ligne droite !!!). Ca a été un réel plaisir de partager ce bureau avec toi ! Je remercie aussi Hélène, petit moustique, pour ses grands délires animaliers et ses expressions d'ados (mais non !). Enfin, merci Marynella pour ta gentillesse et pour toutes les pizzas que tu m'as fait manger (euh non pas toutes, certaines étaient vraiment pas terribles !).*

*Un grand merci aux doctorants du GMPA (anciens et nouveaux) : Nadège, Hélène, Leticia, Guillaume, Grégoire, Thuy-Minh, Damien, Julie, Salma, Florian, Daniela, Mathieu, Florence, Ana Karen et toute la team Malices. Vous avez tous contribué à rendre ces trois années bien animées ! Un grand merci à ma compagne de rédaction et coresponsable des docs, la très souriante Julie Meneghel. Merci pour ton optimisme débordant et ta joie de vivre communicative ! Bon courage pour la dernière phase de rédaction, bientôt la fin !*

*Avant de finir, je remercie exceptionnellement la ligne N, qui m'a permis de partager des trajets – plus ou moins long, mais toujours animés de discussions et de rires – avec les parisiens de Grignon. Merci à mon chauffeur préféré Vincent-Chaton de nous avoir fait profiter de sa ~~vieille~~ merveilleuse Clio, pour faire les trajets entre Grignon et la gare. Merci pour les sessions jeux de sociétés, les apéros, les histoires de M. Glu, les pâtisseries... je suis sûre que j'en oublie alors merci pour tout ! Merci à Vincent-Bibiche-CaptainPlanet pour les soirées raclette, vin-fromage ou apéro, et aussi pour avoir réussi à presque me faire aimer le café ! Merci à Grégoire-Pingooze pour ses blagues à deux balles, à Steven pour ses théories sur la Pentecôte, à Daniela pour son fair-play sauf en cas de victoire du Portugal, et à Salma pour son partage de la culture tunisienne.*

*J'aimerai remercier ma famille, mes parents et mes beaux-parents, pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de ces trois ans. J'aimerai remercier mes amis, et notamment nos ex-voisins de Guyancourt pour leur amitié et pour tous les week-ends passés ensemble pour éviter la « lundinite ». Enfin, je voudrais finir ces remerciements avec un immense merci à celui qui partage ma vie depuis sept ans. Merci mon chéri pour tout ce que tu fais pour moi chaque jour et pour ta présence indispensable à mes côtés.*

## VALORISATIONS ISSUES DE CE TRAVAIL DE THESE

### Publications parues dans des revues scientifiques

1. Jourdren S., Panouillé M., Saint-Eve A., Déléris I., Forest D., Lejeune P., Souchon I. (2016) Breakdown pathways during oral processing of different breads: impact of crumb and crust structures, *Food and Function*, 7, 1446-1457.
2. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I. (2016) Respective impact of bread structure and oral processing on dynamic texture perceptions through statistical multiblock analysis, *Food Research International*, 87, 142–151.
3. Mathieu V., Monnet A-F., Jourdren S., Panouillé M., Chappard C., Souchon I. (2016) Kinetics of bread crumb hydration as related to porous microstructure, *Food and Function*, 7, 3577-3589.
4. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Guichard E., Déléris I., Souchon I. (2017) Gaining deeper insight into aroma perception: an integrative study of the oral processing of breads with different structures. *Food Research International*, 92, 119-127.
5. Jourdren S., Masson M., Saint-Eve A., Panouillé M., Blumenthal D., Lejeune P., Déléris I., Souchon I. (2017) Effect of bread crumb and crust structure on the in vivo release of volatiles and the dynamics of aroma perception, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (16), 3330-3340.

### Communications orales

1. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Oral processing of bread: a key process explaining the dynamics of aroma and texture perceptions. **Congrès Food Oral Processing (2016)**
2. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Mathieu V., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Impact de la structure du pain sur sa déconstruction en phase orale et conséquences sur les perceptions de texture. **Séminaire produits céréaliers GENIAL (2016)**
3. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Liens Instrumental-Texture. **Workshop SFAS (2015)**

### Posters

4. Jourdren S., Masson M., Panouillé M., Déléris I., Souchon I., Saint-Eve A., Contribution of the PTR-MS analysis to understand the aroma perceptions: a hierarchical model. **Congrès Eurosense (2016)**
5. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Respective inputs of profile, progressive profiling and TDS methods to study the contribution of texture perception on aroma perception during bread eating. **Congrès Pangborn (2015)**
6. Jourdren S., Saint-Eve A., Panouillé M., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Why are odor and aroma perceptions different in bread ? Role of oral processing and aroma composition. **Congrès Pangborn (2015)**
7. Jourdren S., Saint-Eve A., Gourrat K., Guichard E., Lejeune P., Déléris I., Souchon I., Contribution of the aromatic composition of bread's crumb and crust to temporal perceptions. **Congrès Weurman (2014)**
8. Jourdren S., Saint-Eve A., Déléris I., Monnet A-F., Mathieu V., Reguerre A-L., Lejeune P., Souchon I., Role of bread structure on texture perception : Application to French baguettes. **Congrès Food Oral Processing (2014)**

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>21</b>
<b>CHAPITRE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>27</b>
<b>I.1. LA BAGUETTE FRANÇAISE : IMPACT DE LA COMPOSITION ET DU PROCEDE DE PANIFICATION SUR SES CARACTERISTIQUES FINALES</b>	<b>28</b>
I.1.1. DEFINITIONS ET ETAPES DE PANIFICATION	28
I.1.2. INGREDIENTS	29
I.1.2.1. Farine	29
I.1.2.2. Levure	30
I.1.2.3. Eau et sel	30
I.1.3. PETRISSAGE	30
I.1.3.1. Description du pétrissage	30
I.1.3.2. Impact du pétrissage sur la structure	31
I.1.3.3. Impact du pétrissage sur les composés d'arômes	31
I.1.4. FERMENTATION	31
I.1.4.1. Description de la fermentation	31
I.1.4.2. Impact de la fermentation sur la structure du pain	33
I.1.4.3. Impact de la fermentation sur les composés d'arômes	34
I.1.5. CUISSON	35
I.1.5.1. Description de la cuisson	35
I.1.5.2. Impact de la cuisson sur la structure	36
I.1.5.3. Impact de la cuisson sur les composés d'arômes	38
I.1.5.4. Cas particulier : les baguettes précuites	39
I.1.6. CARACTERISTIQUES FINALES DE LA BAGUETTE FRANÇAISE	39
I.1.7. PANIFICATION ET PROPRIETES DES PAINS : SYNTHESE	42
<b>I.2. LES PERCEPTIONS SENSORIELLES INTERVENANT LORS DE LA CONSOMMATION DU PAIN</b>	<b>43</b>
I.2.1. PERCEPTIONS DE TEXTURE (APPARENCE, TOUCHER, TEXTURE EN BOUCHE)	43
I.2.1.1. Description des perceptions de texture	43
I.2.1.2. Impact de la structure du pain et de ses propriétés mécaniques sur la texture	45
I.2.2. PERCEPTIONS SAPIDES	46
I.2.2.1. Description des perceptions sapides	46
I.2.2.2. Impact de la structure et de la composition sur la perception de sel	46
I.2.3. PERCEPTIONS AROMATIQUES (ODEURS ET AROMES)	47
I.2.3.1. Description des perceptions aromatiques	47
I.2.3.2. Impact de la composition aromatique des pains sur les perceptions aromatiques	48
I.2.3.1. Impact de la structure et de la texture des pains sur les perceptions aromatiques	49
I.2.4. METHODES UTILISEES POUR CARACTERISER LES PROPRIETES SENSORIELLES DU PAIN	49
I.2.4.1. Méthodes descriptives	49
I.2.4.2. Méthodes dynamiques	51
I.2.5. PROPRIETES DES PAINS ET PERCEPTIONS SENSORIELLES : SYNTHESE	53
<b>I.3. LA TRANSFORMATION DU PAIN EN BOUCHE LORS DU PROCESSUS ORAL</b>	<b>54</b>

I.3.1.	GENERALITES : ANATOMIE ORALE ET PHYSIOLOGIE	54
I.3.1.1.	Cavité orale	54
I.3.1.2.	Mastication	55
I.3.1.3.	Salive	56
I.3.2.	LA FORMATION DU BOL ALIMENTAIRE	57
I.3.2.1.	Les différentes étapes d'un processus dynamique	57
I.3.2.2.	Transformations macroscopiques du pain au cours du processus oral	58
I.3.2.3.	Transformations microscopiques et libération de stimuli au cours du processus oral du pain	64
I.3.3.	ROLE DU PROCESSUS ORAL SUR LES PERCEPTIONS DE TEXTURE ET D'AROMES DU PAIN	68
I.3.3.1.	Rôle du processus oral sur les perceptions de texture	68
I.3.3.2.	Rôle du processus oral sur les perceptions aromatiques	70
I.3.4.	PROPRIETES DES PAINS ET PROCESSUS ORAL : SYNTHESE	72
<b>I.4.</b>	<b>OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THESE ET DEMARCHE EXPERIMENTALE</b>	<b>73</b>
 <b>CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES</b>		<b>79</b>
<hr/>		
<b>II.1.</b>	<b>PRODUITS DE L'ETUDE</b>	<b>79</b>
II.1.1.	PAINS LESAFFRE	79
II.1.2.	PAINS DU COMMERCE	80
<b>II.2.</b>	<b>COMPOSITION DES PANELS ET CARACTERISATIONS PHYSIOLOGIQUES DES PANELISTES</b>	<b>82</b>
II.2.1.	PANEL #1 : PHYSIOLOGIE, BOLS ET ANALYSE SENSORIELLE (PHASES 1, 2 ET 3)	82
II.2.1.1.	Composition du panel #1	82
II.2.1.2.	Caractérisation de la physiologie orale de 8 sujets du panel #1	82
II.2.2.	PANEL #2 : ELECTROMYOGRAPHIE ET PTR-MS <i>IN VIVO</i> (PHASE 4.2)	84
II.2.2.1.	Composition du panel #2	84
II.2.2.2.	Caractérisation du comportement masticatoire des sujets du panel #2	84
<b>II.3.</b>	<b>CARACTERISATIONS DE L'EVOLUTION DES PERCEPTIONS DE TEXTURE DE D'AROME DES PAINS AU COURS DU TEMPS</b>	<b>85</b>
II.3.1.	CONDITIONS D'EVALUATION	85
II.3.2.	ENTRAINEMENT DU PANEL ET PLAN D'EXPERIENCE	86
II.3.3.	DOMINANCES TEMPORELLES DES SENSATIONS (DTS)	87
II.3.4.	DETERMINATION DES TROIS TEMPS CLES DU PROCESSUS ORAL	88
II.3.5.	PROFIL PROGRESSIF A TROIS TEMPS DU PROCESSUS ORAL (PP)	88
II.3.6.	TRAITEMENT DES DONNEES SENSORIELLES	89
<b>II.4.</b>	<b>CARACTERISATIONS INSTRUMENTALES DE LA COMPOSITION, DE LA STRUCTURE ET DE LA TEXTURE DES PAINS ET DES BOLS</b>	<b>90</b>
II.4.1.	CARACTERISATIONS INSTRUMENTALES DE LA COMPOSITION, DE LA STRUCTURE ET DE LA TEXTURE DES PAINS	90
II.4.1.1.	Composition en amidon total et en eau des pains	91
II.4.1.2.	Propriétés d'hydratation des pains	91
II.4.1.3.	Structure des pains	92
II.4.1.4.	Propriétés mécaniques des pains	95
II.4.2.	CARACTERISATIONS INSTRUMENTALES DE LA COMPOSITION, DE LA STRUCTURE ET DE LA TEXTURE DES BOLS	97
II.4.2.1.	Collecte des bols à 3 temps	97
II.4.2.2.	Composition en eau des bols et libération du glucose soluble	98

II.4.2.3.	Propriétés d'hydratation des bols	98
II.4.2.4.	Structure des bols : taille des particules déterminée par analyse d'image	100
II.4.2.5.	Propriétés mécaniques des bols	101
II.4.3.	TRAITEMENT DES DONNEES INSTRUMENTALES SUR LES PAINS ET LES BOLS	101
<b>II.5.</b>	<b>CARACTERISATIONS INSTRUMENTALES DE LA COMPOSITION AROMATIQUE DES PAINS ET DES BOLS</b>	<b>102</b>
II.5.1.	CARACTERISATION DE LA COMPOSITION AROMATIQUE DES PAINS	102
II.5.1.1.	CPG-FID couplée à l'extraction SPME sur les pains	102
II.5.1.2.	CPG-SM couplée à l'extraction SAFE sur les pains	103
II.5.1.3.	CPG-SM couplée à l'extraction Purge & Trap sur les pains	104
II.5.1.4.	PTR-MS en conditions in vitro sur les pains	104
II.5.2.	CARACTERISATION DE LA COMPOSITION AROMATIQUE DES BOLS	105
II.5.2.1.	Collecte des bols à 3 temps	105
II.5.2.2.	CPG-SM couplée à Purge & Trap sur les bols	105
II.5.2.3.	PTR-MS in vitro sur les bols	106
II.5.3.	SUIVI DES CINETIQUES DE LIBERATION DES AROMES EN CONDITIONS REELLES DE CONSOMMATION PAR PTR-MS <i>IN VIVO</i>	106
II.5.4.	TRAITEMENT DES DONNEES AROMATIQUES	107
II.5.4.1.	Traitement des données CPG	107
II.5.4.2.	Traitement des données PTR-MS in vitro	107
II.5.4.3.	Traitement des données PTR-MS in vivo	109
<b>II.6.</b>	<b>APPROCHES STATISTIQUES UTILISEES POUR RELIER LES DIFFERENTS JEUX DE DONNEES INSTRUMENTALES ET SENSORIELLES</b>	<b>110</b>
II.6.1.	CONSTRUCTION D'UN MODELE STATISTIQUE EXPLIQUANT LES PROPRIETES DES BOLS PAR LES PROPRIETES DES PAINS ET LES CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES DES INDIVIDUS	110
II.6.1.1.	Structure des jeux de données	110
II.6.1.2.	Analyse par régression des moindres carrés partiels (PLS)	111
II.6.2.	CONSTRUCTION D'UN MODELE STATISTIQUE EXPLIQUANT LES PERCEPTIONS DE TEXTURE PAR LES PROPRIETES DES PAINS ET DES BOLS	112
II.6.2.1.	Structure des jeux de données	112
II.6.2.2.	Analyse par régression des moindres carrés partiels multi-blocs (PLS-MB)	113
II.6.3.	CONSTRUCTION D'UN MODELE STATISTIQUE PERMETTANT L'IDENTIFICATION DES IONS ANALYSES PAR PTR-MS <i>IN VIVO</i> ET CALCUL DES CONTRIBUTIONS RESPECTIVES DE CHACUNE DES MOLECULES	114
II.6.3.1.	Structure des jeux de données	114
II.6.3.2.	Analyse par régression linéaire et méthode bootstrap	114
II.6.3.3.	Calcul des contributions	116
II.6.4.	CONSTRUCTION D'UN MODELE STATISTIQUE EXPLIQUANT LES PERCEPTIONS AROMATIQUES PAR LES COMPOSES VOLATILS LIBERES LORS DU PROCESSUS ORAL	116
II.6.4.1.	Structure des jeux de données	117
II.6.4.2.	Analyse par composantes principales	117
<b>CHAPITRE III.</b>	<b>RESULTATS</b>	<b>121</b>
<b>III.1.</b>	<b>TRAJECTOIRES DE FORMATION DE BOLS DE PAIN PENDANT LE PROCESSUS ORAL : IMPACT DES STRUCTURES DE LA MIE ET DE LA CROUTE SUR LES PROPRIETES DES BOLS</b>	<b>121</b>
III.1.1.	CONTEXTE, OBJECTIFS ET DEMARCHE DE L'ARTICLE 1	121



III.1.2. ARTICLE 1 : “BREAKDOWN PATHWAYS DURING ORAL PROCESSING OF DIFFERENT BREADS: IMPACT OF CRUMB AND CRUST STRUCTURES”	123
<b>III.2. ETUDE DES CONTRIBUTIONS RESPECTIVES DE LA STRUCTURE DU PAIN ET DU PROCESSUS ORAL AUX DYNAMIQUES DE PERCEPTION DE TEXTURE A L’AIDE D’UNE ANALYSE MULTI BLOCS</b>	<b>145</b>
III.2.1. CONTEXTE, OBJECTIFS ET DEMARCHE DE L’ARTICLE 2	145
III.2.2. ARTICLE 2 : “RESPECTIVE IMPACT OF BREAD STRUCTURE AND ORAL PROCESSING ON DYNAMIC TEXTURE PERCEPTIONS THROUGH STATISTICAL MULTIBLOCK ANALYSIS”	146
<b>III.3. IMPACT DE LA STRUCTURE DU PAIN, DE SA COMPOSITION AROMATIQUE ET DU PROCESSUS ORAL SUR LES PERCEPTIONS AROMATIQUES ET LEUR EVOLUTION AU COURS DE LA CONSOMMATION</b>	<b>165</b>
III.3.1. CONTEXTE, OBJECTIFS ET DEMARCHE DE L’ARTICLE 3	165
III.3.2. ARTICLE 3 : “GAINING DEEPER INSIGHT INTO AROMA PERCEPTION: AN INTEGRATIVE STUDY OF THE ORAL PROCESSING OF BREADS WITH DIFFERENT STRUCTURES”	166
<b>III.4. IMPACT DE LA STRUCTURE DU PAIN SUR LES CINETIQUES DE LIBERATION <i>IN VIVO</i> DE MARQUEURS VOLATILS ET SUR LES PERCEPTIONS AROMATIQUES, A TRAVERS L’ETUDE DU PROCESSUS ORAL DU PAIN</b>	<b>190</b>
III.4.1. CONTEXTE, OBJECTIFS ET DEMARCHE DE L’ARTICLE 4	190
III.4.2. ARTICLE 4 : “EFFECT OF BREAD CRUMB AND CRUST STRUCTURE ON THE <i>IN VIVO</i> RELEASE OF VOLATILES AND THE DYNAMICS OF AROMA PERCEPTION”	191
<b>CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE</b>	<b>213</b>
<b>IV.1. COMMENT EXPLIQUER LES PERCEPTIONS DE TEXTURE ET D’AROMES A PARTIR DES PROPRIETES DES PAINS, DE LA PHYSIOLOGIE DES JUGES ET DU PROCESSUS ORAL ?</b>	<b>213</b>
<b>IV.2. PERCEPTIONS SENSORIELLES ET VARIABILITE INTERINDIVIDUELLE</b>	<b>215</b>
<b>IV.3. PROCESSUS ORAL, PERCEPTIONS SENSORIELLES ET VARIABILITE INTER-PRODUITS</b>	<b>218</b>
<b>IV.4. ANALYSES CRITIQUES DU CHOIX DES METHODES POUR L’ETUDE DES LIENS ENTRE PROCESSUS ORAL ET PERCEPTIONS</b>	<b>220</b>
<b>CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES</b>	<b>225</b>
<b>RÉFÉRENCES</b>	<b>227</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>243</b>

## LISTE DES FIGURES

### CHAPITRE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Figure I.1-1 : Etapes du procédé de panification, divisé en trois grandes catégories.....	28
Figure I.1-2 : Images prises par microscopie confocale à balayage laser de (a) la pâte sous-pétrée, (b) la pâte pétrée de façon optimale et (c) la pâte sur-pétrée (adapté de Peighambardoust, Dadpour, & Dokouhaki, 2010). En vert : grains d'amidon, en rouge : protéines, en noir : bulles d'air.....	31
Figure I.1-3 : Réactions de dégradation du pyruvate suite à la glycolyse (Pico <i>et al.</i> , 2015) .....	32
Figure I.1-4 : Exemple de la réaction d'Ehrlich appliqué à la leucine (adapté de Birch, Petersen, & Hansen, 2014).....	32
Figure I.1-5 : Expansion du volume de la pâte pendant la fermentation en fonction de différents teneurs en levure (▲0,6g ; ◇1,1g ; ◆1,7g ; □2,3g ; △3,4 g de levure pour 100 g de farine) (Romano <i>et al.</i> , 2007).....	34
Figure I.1-6 : Réactions non enzymatiques de Maillard (d'après Hodge, 1953; Cho & Peterson, 2010) .....	36
Figure I.1-7 : Evolution des grains d'amidon au cours de la cuisson (d'après Goesaert <i>et al.</i> , 2005)...	36
Figure I.1-8 : Evolution de la température à différents endroits du pain (schématisé à droite) lors de la cuisson (Zanoni, Peri, & Pierucci, 1993) .....	37
Figure I.1-9 : Schéma des types de transferts de matière reportés pour les composés d'arômes formés dans la mie ou dans la croûte (d'après Onishi <i>et al.</i> 2011).....	39
Figure I.1-10 : Photographie d'une tranche de baguette française .....	40
Figure I.2-1 : Dynamiques des perceptions de texture de 3 mies, évaluées par Dominance Temporelle des Sensations (Panouillé <i>et al.</i> , 2014).....	45
Figure I.2-2 : Perception de l'odeur (voie orthonasale) ou de l'arôme (voie rétronasale) .....	47
Figure I.2-3 : Méthodologie pour obtenir les courbes DTS (d'après Pineau <i>et al.</i> , 2009).....	52
Figure I.3-1 : Anatomie de la cavité oro-nasale (Chen, 2009).....	54
Figure I.3-2 : Principaux muscles (masséters, muscle temporal (a) et muscles ptérygoïdiens (b)) intervenant lors de la mastication d'un aliment (Foegeding <i>et al.</i> , 2011) .....	55
Figure I.3-3 : Théorie des « trajectoires », Hutchings & Lillford (1988) .....	58
Figure I.3-4 : Illustration des variations de la taille des particules des bols issus de deux types de pain (pain blanc (a) et pain de campagne (b)) en fonction du nombre de cycles masticatoires d'un individu (Le Bleis, Chaunier, Della Valle, Panouillé, & Réguerre, 2013).....	60
Figure I.3-5 : Variations de la quantité de salive absorbée par le bol (water uptake $\Delta$ WC) en fonction du ratio entre la quantité théorique de salive $V_s$ et la taille médiane des particules $w_{50}$ pour trois temps de la mastication (symboles blancs : $t_D/3$ , gris : $2t_D/3$ et noirs : $t_D$ = temps à déglutition), trois pains enrichis en fibres (△ : pain de référence ; □ : pain dense ; ○ : pain salé) et 16 sujets (Le Bleis, Chaunier, Montigaud, & Della Valle, 2016).....	62
Figure I.3-6 : Evolution du module $G'$ (mesuré à 1Hz dans le domaine viscoélastique) au cours du processus oral pour 3 pains blancs (Panouillé <i>et al.</i> 2014) .....	63
Figure I.3-7 : Représentation schématique de la libération <i>in vivo</i> , dans la bouche et le nez, des composés responsables de la flaveur des aliments (Taylor, 2002).....	65
Figure I.3-8 : Schéma du dispositif expérimental mis en place par Poinot <i>et al.</i> (2009).....	67

Figure I.3-9 : Trajectoires sensorielles issues de la DTS réalisées sur 8 gels de différentes propriétés mécaniques. Les photos montrent l'évolution de la structure des bols recrachés à 5, 10, 15 et 20 secondes (Devezeaux de Lavergne, <i>et al.</i> , 2015b) .....	69
Figure I.3-10 : Cinétiques de libération de composés d'arômes au cours du temps pour 3 gels laitiers de textures différentes (A = mou, B = intermédiaire, C = ferme) chez 2 sujets représentant 2 comportements distincts de libération (adaptée de Gierczynski <i>et al.</i> , 2011, 2008) .....	70
Figure I.3-11 : Intensité aromatique globale perçue par les panélistes des 2 groupes, en moyenne sur les trois gels laitiers, avant et après déglutition (adaptée de Gierczynski <i>et al.</i> , 2008) .....	71
Figure I.4-1 : Schéma présentant la démarche du projet de thèse.....	74
Figure I.4-2 : Détails des phases 3 et 4 du projet de thèse (volet aromatique) .....	75

## **CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES**

Figure II.2-1 : Exemple de courbes EMG obtenues lors de la mastication d'un échantillon de mie + croûte pour les muscles temporaux gauche (TG) et droit (TD) et les masséters gauche (MG) et droit (MD) de la mise en bouche à la déglutition du produit.....	85
Figure II.3-1 : Schéma de découpe des échantillons à partir des tranches verticales de pain.....	85
Figure II.3-2 : Schéma représentant le planning de l'ensemble des séances d'entraînement et de tests sensoriels réalisés par le panel #1 .....	86
Figure II.4-1 : Représentation schématique du système d'acquisition des données de cinétique d'hydratation (Mathieu <i>et al.</i> , 2016).....	92
Figure II.4-2 : Exemple de courbe de texture granulométrique.....	94
Figure II.4-3 : Représentation graphique de la carte des produits de l'ACP réalisée à partir des données de l'analyse visuelle de texture des 3 pains Lesaffre. Un point correspond à une cuisson.....	95
Figure II.4-4 : Schéma du principe de la mesure de multi-indentation (Chaunier <i>et al.</i> , 2008). Sur le schéma seul 2 x 5 indents sont représentés. ....	96
Figure II.4-5 : Courbes représentant la force appliquée en fonction du temps mesurée par multi-indentation pour les trois baguettes Lesaffre. Courbes moyennes sur 12 mesures (4 pains x 3 fournées) en traits pleins et écart-types en traits pointillés. ....	97
Figure II.4-6 : Schéma explicatif des abréviations utilisées (Drago <i>et al.</i> , 2011).....	99
Figure II.4-7 : Exemple d'une courbe issue d'une analyse de profil de texture et les paramètres extraits de cette courbe (d'après Peyron <i>et al.</i> , 2011).....	101
Figure II.5-1 : a) schéma de l'appareil SAFE et de l'équipement nécessaire pour la réalisation de la distillation. Température du bain thermostaté : 37 °C (Engel, Bahr, & Schieberle, 1999) et b) photo du système Kuderna-Danish® .....	103
Figure II.5-2 : Schéma du dispositif expérimental utilisé pour les mesures in vitro par PTR-MS (adapté de Lauerjat, Loubens, Déléris, Tréléa, & Souchon, 2009).....	105
Figure II.6-1 : Structure des jeux de données associés à la phase 1 (Etude des bols – volet texture) du projet de thèse .....	110
Figure II.6-2 : Schéma du principe de la PLS.....	111
Figure II.6-3 : Structure des jeux de données associés à la phase 2 (Perceptions – volet texture) du projet de thèse (T : texture, H : hydratation, S : structure).....	113
Figure II.6-4 : Schéma du principe de la PLS-MB (adapté de Chiang <i>et al.</i> , 2012) .....	113

Figure II.6-5 : Structure des jeux de données associés à la phase 4.1 (Liens ions-molécules – volet arômes) du projet de thèse .....	114
Figure II.6-6 : Schéma explicatif des phénomènes impliqués lors d'une analyse par PTR-MS avec l'exemple de deux COVs A et B de concentration, volatilité et fragmentation différentes.....	115
Figure II.6-7 : Schéma expliquant le calcul du pourcentage de contribution d'un COV x à un ion y en fonction du R <sup>2</sup> de la régression .....	116
Figure II.6-8 : Structure des jeux de données associés à la phase 3 (Suivi <i>in vitro</i> – volet arômes) du projet de thèse .....	117

### **CHAPITRE III. RESULTATS**

Figure III.1-1: Schematic representation of the products in relation to their density and water content .....	125
Figure III.1-2: Sampling protocol performed on a vertical slice of bread to prepare crumb or crumb and crust samples.....	126
Figure III.1-3: Principal Component Analysis (Pearson (n-1)) performed on physiological data (salivary characteristics, individual masticatory index and oral volumes) for the eight panelists. ....	132
Figure III.1-4: Breakdown pathways of the bolus in the mouth obtained by PCA on normalized bolus properties. ....	134
Figure III.1-5: Bolus water contents over standardized oral processing time of the four breads for crumb samples (open symbols) and crumb with crust samples (filled symbols).....	135
Figure III.1-6: Breakdown pathways of the bolus in the mouths of selected subjects (J2 (a), J4 (b) and J8 (c)) obtained by PCA on normalized bolus properties. ....	139
Figure III.2-1: Dominance rate of crust samples (left: CO = Crumb Only) or crumb with crust samples (right: CC = Crumb with Crust) during consumption obtained by TDS for texture evaluation. ..	154
Figure III.2-2: Means of perceived intensities for all attributes (dry, heterogeneous, aerated, soft, sticky, doughy, melting, crispy, and elastic) at the three times of oral processing for crumb samples (left charts: CO = Crumb Only) and crumb with crust samples (right charts: CC = Crumb with Crust). ....	157
Figure III.2-3: Correlation circle (a) and graphical representation of the products (b) for axes 1 and 2 from MB-PLS regression between Progressive Profiling data (Y-variables, in red) and the following X-variables: bolus texture properties (X1-block, in blue), bolus hydration properties (X2-block, in violet), bolus structure properties (X3-block, in orange) and bread properties (X4-block, in green). ....	158
Figure III.2-4: Correlation circle (a) and graphical representation of the products (b) for axes 2 and 3 from MB-PLS regression between Progressive Profiling data (Y-variables, in red) and the following X-variables: bolus texture properties (X1-block, in blue), bolus hydration properties (X2-block, in violet), bolus structure properties (X3-block, in orange) and bread properties (X4-block, in green). ....	159
Figure III.2-5: Pie charts representing the importance in percentage of the different blocks of variables (X1–X4) for the different dimensions obtained by MB-PLS analysis. ....	159
Figure III.3-1: Stacked bar graph of the mean areas under the curve (AUCs) of each detected fragment ions (except for <i>m/z</i> 45 and 47; i.e. representing 5% of the headspace) for the three bread types (B1, B2 and B3) and two bread subtypes (crumb and crust and crumb only). ....	172

Figure III.3-2: Mean perceived intensities of all the aroma attributes at three oral-processing stages for crumb samples (on the left; CO = crumb only) and crumb with crust samples (on the right; CC = crumb with crust). .....	174
Figure III.3-3: Graph of discriminant analysis axes 1 and 2 (a. and a'.) and axes 2 and 3 (b. and b'.), based on the PTR-MS data for the different foods. ....	176
Figure III.3-4: Stacked bar graph of the mean areas under the curve (AUCs), corrected for the amount of intake air, for the 22 most-discriminatory ions in the boli (n = 8 panelists x 3 replicates), at three stages (T1 = 10%, T2 = 40%, and T3 = 100% of oral processing). ....	177
Figure III.3-5: Graph of principal component analysis axes 1 and 2 (a. and a'.) and axes 2 and 3 (b. and b'.), based on the PTR-MS values for the CC samples (in red). ....	178
Figure III.4-1: Correlation circle (a) and the graphical representation of bread type features (b) along axes 1 and 2 in the multiple factor analysis (MFA) performed on structural data (in red) and PTR-MS data (in blue) for the crumb of the nine bread types. ....	200
Figure III.4-2: Example mean release curves for the eight target ions; they were generated using data for crumb-only (CO) and crumb-with-crust (CC) samples of bread type B1. ....	202
Figure III.4-3: Mean maximum intensities (Imax, in cps) and the associated standard errors (n=24) for the nine bread types (for crumb-only [CO] or crumb-with-crust [CC] samples). ....	203
Figure III.4-4: Mean maximum intensities (Imax, in cps) and the associated standard errors (n=54) for the eight study participants. ....	204
Figure III.4-5: Temporal patterns of sensation dominance for crumb-only (CO) samples (on the left) and crumb-with-crust (CC) samples (on the right) during consumption. ....	207

#### **CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE**

Figure IV.1-1: Résumé schématique des principaux résultats prenant en compte les variabilités inter-produits .....	214
Figure IV.1-2 : Résumé schématique des principaux résultats prenant en compte les variabilités interindividuelles.....	215
Figure IV.2-1 : Trajectoires sensorielles de chaque juge pour les perceptions d'arômes et de texture issues du profil progressif pour le pain B1 (mie et croûte). Ces trajectoires ont été tracées sur les biplots obtenus par ACP normées représentant les positions des juges aux 3 temps (T1 = 10 %, T2 = 40 % et T3 = 100 % du temps de mastication) par rapport aux attributs sensoriels.....	216
Figure IV.2-2 : Courbes DTS « arômes » du pain B1 (mie et croûte) pour les 4 « masticateurs lents » à gauche et les 4 « masticateurs rapides » à droite, représentant le taux de dominance en fonction du temps non standardisé (en secondes). D.M. = temps de déglutition moyen, S.L. = niveau de significativité, C.L. = niveau de chance. ....	217
Figure IV.3-1 : Les 3 pains Lesaffre .....	218
Figure IV.3-2 : Moyennes et écart-types de l'activité musculaire totale des échantillons de mie des 3 pains Lesaffre, représentés en fonction du module d'Young de la mie.....	219

## LISTE DES TABLEAUX

### **CHAPITRE I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

Tableau I.1-1 : Composition moyenne de la farine de blé (Goesaert <i>et al.</i> , 2005) .....	29
Tableau I.1-2 : Tableau récapitulatif des différentes réactions intervenant lors de la fermentation et à l'origine de la production de différentes molécules volatiles .....	33
Tableau I.1-3 : Principales caractéristiques et propriétés de la mie et de la croûte .....	40
Tableau I.1-4 : Composés d'arômes impactant positivement ou négativement l'arôme du pain (d'après Pico <i>et al.</i> , 2015) .....	41
Tableau I.2-1 : Descripteurs utilisés par des panélistes entraînés pour évaluer la texture du pain .....	44
Tableau I.2-2 : Exemples de méthodes sensorielles descriptives .....	50
Tableau I.3-1 : Exemples de nombre de cycles masticatoires mesurés lors de la consommation de pain par des individus en bonne santé .....	56
Tableau I.3-2 : Contribution moyenne (%) des différentes glandes salivaires à la production totale de salive sous différentes conditions de stimulation (Aps & Martens, 2005) .....	56
Tableau I.3-3 : Détails des études réalisées sur les propriétés de bols <i>in vivo</i> de pains. M : Mie, MC : Mie et croûte, cyc : cycles, $t_D$ : temps à déglutition. ....	59
Tableau I.3-4 : Récapitulatif des méthodes instrumentales de caractérisation de la taille des particules trouvées dans la littérature pour des produits céréaliers (adapté de Panouillé, Saint-Eve, & Souchon, 2016) .....	60
Tableau I.3-5 : Récapitulatif des méthodes instrumentales caractérisant les propriétés de texture et rhéologique des bols, mentionnées dans la littérature pour des produits céréaliers (adapté de Panouillé, Saint-Eve, & Souchon, 2016) .....	63
Tableau I.4-1 : Démarche de la thèse, présentée en 4 phases, chacune ayant un objectif et des types de produits utilisés différents pour y répondre .....	74

### **CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES**

Tableau II.1-1 : Quantité d'ingrédients utilisée (en g pour 100 g de farine) pour fabriquer les baguettes Lesaffre .....	79
Tableau II.1-2 : Description des procédés de panification utilisés pour les trois baguettes Lesaffre ...	80
Tableau II.1-3 : Provenance des 38 baguettes du commerce utilisées dans les phases 1, 4.1 et 4.2 ...	81
Tableau II.3-1 : Références des attributs aromatiques et définitions des attributs de texture utilisés lors de l'évaluation des échantillons de mie (M) et mie + croûte (MC) par DTS .....	87
Tableau II.3-2 : Références des attributs aromatiques et définitions des attributs de texture utilisés lors de l'évaluation des échantillons de mie (M) et mie + croûte (MC) par PP .....	89
Tableau II.3-3 : Définition des critères de contrôle des performances des panélistes et du panel lors de la réalisation du profil progressif des produits (pain x temps, soit 9 produits). F = facteur, en souligné : facteur observé pour le critère donné. ....	90
Tableau II.4-1 : Caractérisations effectuées sur les différents pains .....	90
Tableau II.5-1 : Caractéristiques des ions suivis lors des analyses PTR-MS <i>in vivo</i> (rapports masse/charge ( $m/z$ ), origine de l'ion, temps de balayage par masse et séries de mesure) .....	106

### **CHAPITRE III. RESULTATS**

Table III.1-1: Mean (M) and standard deviation (SD) of the structural and textural properties and the compositions of the four breads (three replicates). .....	131
Table III.1-2: Mean (M) and standard error of the mean (SE) for each time of the bolus properties for (a) the crumb samples, and (b) the crumb with crust samples.....	133
Table III.1-3: Mean (M) and standard error of the mean (SE) of the properties related to bolus formation for (a) crumb samples, and (b) crumb with crust samples. ....	137
Table III.1-4: Normalized coefficients obtained by Partial Least Square (PLS) regressions between boli and bread properties (crumb samples with or without crust), and subject characteristics at the end of oral processing (T3).....	141
Table III.2-1: List of texture attributes used for Temporal Dominance of Sensations and Progressive Profiling evaluations and their definitions. ....	150
Table III.2-2: Instrumental characterizations and visual aspect of B1, B2 and B3 breads (mean $\pm$ standard deviation). ....	153
Table III.2-3: Variations of averaged attribute intensities perceived over time. Mean (M) and error to the mean (SE) of texture attributes for each time of oral processing for (a) the CO samples and (b) the CC samples of the three breads.....	156
Table III.2-4: Regression coefficients obtained by MB-PLS between texture attributes (Y-variables) and bolus and bread properties (X-variables).....	161
Table III.3-1: The three bread types, the main characteristics of their bread making processes, and the structural properties of their crumbs. ....	168
Table III.3-2: Aroma attributes, definitions, and related references determined by the trained panel .....	170
Table III.3-3: Variation in the mean perceived attribute intensities over oral-processing stages. ....	173
Table III.4-1: Physical properties of the nine bread types studied (based on three replicates). ....	194
Table III.4-2: Ions that were monitored via <i>in vivo</i> PTR-MS. ....	194
Table III.4-3: Relative contribution of VOCs (with molar mass M) to corresponding ion fragments. This percentage was calculated based on VOC volatility (V), VOC proportion of fragmentation into the corresponding ion (F), and the mean R <sup>2</sup> for the linear regression between X (summed amount of VOCs as measured by GC-MS) and Y (the amount of ion released <i>in vitro</i> as measured by PTR-MS). ....	201
Table III.4-4: Values of chewing behavior variables for three study participants consuming crumb-only (CO) and crumb-with-crust (CC) samples of B1, B2, and B3 breads; electromyography was used. ....	205

## LISTE DES ABREVIATIONS

ACP	Analyse en composantes principales
AFD	Analyse factorielle discriminante
ANOVA	Analyse de la variance
COV	Composé organique volatil
CPG-FIP	Chromatographie en phase gazeuse - Détecteur à ionisation de flamme
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse
DTS	Dominance Temporelle des Sensations
EMG	Electromyographie
M	Mie
m/z	masse/charge
MC	Mie et croûte
MID	Détection multiple d'ions
PLS	Régression linéaire des moindres carrés partiels
PLS-MB	Régression linéaire des moindres carrés partiels - Multi blocs
PP	Profil Progressif
PTR-MS	Spectrométrie de masse couplée à une réaction de transfert de proton
QDA®	Quantitative Descriptive Analysis (profil conventionnel)
SAFE	Solvent Assisted Flavor Extraction
SPME	Solid Phase Micro Extraction
TI	Temps-Intensité
TPA	Analyse de profil de texture





# INTRODUCTION GENERALE



## Introduction générale

Le pain fait partie de l'alimentation humaine depuis plusieurs millénaires. Sa forme, sa composition et les procédés de panification ont beaucoup évolué jusqu'à aujourd'hui. Pendant très longtemps, le pain a été fabriqué à partir de levain, mélange de farine et d'eau que l'on laissait fermenter à partir de la flore endogène naturellement présente. Certaines recettes utilisées dans l'Égypte antique révèlent que le levain pouvait également être préparé par ensemencement de la pâte avec de la bière. Ce n'est qu'en 1670 que le Parlement français autorise la panification à partir de levure, après cinq ans de débat entre partisans et opposants à cette innovation technique. La levure de panification reste cependant employée mélangée au levain jusqu'en 1840, date de la première utilisation de levure seule en France (Fould-Springer, 1988). L'industrialisation et les progrès scientifiques, notamment dans le domaine de la microbiologie, ont bouleversé les secteurs de la meunerie et de la boulangerie au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle. L'apparition de farines raffinées, la mécanisation du pétrissage, et la commercialisation de la levure à pâte pressée ont contribué, entre autres, à transformer le procédé de panification ancestral pour donner naissance aux pains que l'on consomme aujourd'hui.

De nos jours, le pain est un produit présent sur tous les continents, sous des formes très diverses. Il peut être obtenu à partir de farine de blé, de seigle, d'orge et/ou d'autres céréales. Il peut être cuit dans un four sur sole, en moule ou à la vapeur. Cette diversité se décline dans les différentes cultures culinaires et contribue à satisfaire des consommateurs aux attentes variées. Ainsi, le pain est un produit de consommation courante dans un grand nombre de pays. En Europe, 59 kg de pain sont consommés en moyenne par personne et par an (AIBI, 2015). La France se situe dans la moyenne européenne avec environ 57 kg de pain consommés par personne et par an (AIBI, 2015). Le pain contribue ainsi en moyenne à 27 % de l'apport total en glucides des Européens (Wirfalt *et al.*, 2002). Avec sa faible teneur en matière grasse, le pain assure un apport nutritionnel de bonne qualité en glucides complexes, protéines et fibres. Sa consommation est donc recommandée dans le cadre d'une alimentation équilibrée.

Si les qualités nutritionnelles d'un produit sont importantes pour son acceptation par le consommateur, elle est également principalement pilotée par ses propriétés organoleptiques. Pour une grande partie de la population française, le pain est avant tout un aliment plaisir. Des critères de texture, comme une mie ferme et une croûte croustillante, ainsi que des critères aromatiques, comme des notes grillées, ont été définis comme responsables d'une « bonne » baguette, appréciée des consommateurs (Martin *et al.*, 2008). Ces caractéristiques sensorielles sont générées au cours des différentes étapes de la panification. Elles varient en fonction de la matière première utilisée (type de farine, quantités de levure et de sel, présence de levain...), mais aussi du procédé, et notamment de l'étape de fermentation, responsable de la formation de la structure de la mie et à l'origine de nombreux composés d'arômes. Pour autant, il est difficile de relier composition aromatique, structure et perceptions.

De nos jours, les services R&D des entreprises agroalimentaires disposent souvent d'outils instrumentaux permettant de caractériser les propriétés physicochimiques de leurs produits, ou de quantifier la concentration de leurs différents constituants. Cependant, les perceptions de texture et

d'arômes résultent de mécanismes complexes en bouche. Elles ne dépendent pas uniquement des caractéristiques de structure et de composition du produit, mais vont également être pilotées par les phénomènes de manipulations orales intervenant lors de la consommation. En effet, l'aliment est alors déstructuré par la mastication et lubrifié par la salive afin de former ce que l'on appelle un bol alimentaire. Au cours de cette étape qui prépare l'aliment à être dégluti puis digéré, les stimuli sensoriels comme les composés d'arômes ou les composés sapides sont libérés dans la cavité oronasale où ils sont susceptibles d'interagir avec les récepteurs sensoriels à l'origine des perceptions. La déstructuration du produit et la libération de stimuli sensoriels au cours du processus oral rendent difficile la prédiction des perceptions à partir d'analyses instrumentales effectuées sur le produit, car celles-ci ne rendent pas compte de la variabilité induite par la physiologie orale du consommateur.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la question de recherche de ce projet de thèse :

**« Quels sont les déterminants liés au produit (structure, composition aromatique) et à l'individu (physiologie, processus oral) à l'origine des perceptions de texture et d'arômes lors de la consommation du pain ? »**

En conséquence, l'objectif de la thèse est d'établir dans quelles mesures les perceptions temporelles sont influencées par différents facteurs, tels que les propriétés des pains, les caractéristiques physiologiques des individus et l'évolution des propriétés du pain et du bol alimentaire en bouche au cours du processus oral.

Le premier chapitre de ce manuscrit est consacré à l'état de l'art des connaissances actuelles sur le pain. Les effets des différentes étapes du procédé de panification sur les caractéristiques finales de structure et de composition aromatique des pains à croûte de type baguette française sont détaillés dans une première partie. Puis, les propriétés sensorielles issues de la consommation du pain, ainsi que les méthodes employées pour les étudier, sont présentées. La troisième partie de cette synthèse bibliographique porte sur les mécanismes intervenant lors de la transformation du pain en un bol alimentaire par le processus oral, les méthodes de caractérisations associées et les premiers liens établis entre processus oral et perceptions. Enfin, la démarche proposée pour répondre à la question de recherche est explicitée en dernière partie.

Le second chapitre du manuscrit détaille les matériels et les méthodes utilisés au cours des différentes phases de ce projet de thèse. Il est organisé par thématiques, nécessaires pour mener à bien ce projet, telles que les produits, les panels d'individus et les méthodes sensorielles, instrumentales et statistiques.

Le troisième chapitre du manuscrit présente les résultats associés à ces expérimentations. Il est composé de 4 sous-parties, rédigées en anglais sous forme d'articles (déjà publiés ou en cours de soumission). Dans la première sous-partie, les rôles des propriétés des pains (structure et composition), de la physiologie des individus sur les propriétés de déstructuration du pain en bouche ont été étudiés. Puis dans la deuxième sous-partie, les contributions respectives des propriétés structurelles du pain et des bols aux variations des perceptions de texture évaluées lors de la consommation ont été identifiées. La troisième sous-partie a pour but de déterminer le rôle du processus oral sur la libération des composés d'arômes et sur les variations des perceptions aromatiques au cours du temps. Enfin, dans la quatrième sous-partie, les cinétiques de libération de

marqueurs de composés d'arômes clés sont étudiées en conditions réelles de mastication et mises en relation avec les dynamiques de perception aromatique.

Le quatrième chapitre propose une synthèse des principaux résultats issus de ces travaux de thèse, suivi par les conclusions générales et perspectives.



CHAPITRE I.  
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE





## Chapitre I. Etude bibliographique

Le pain est un aliment consommé dans le monde entier : en 2010, 9 000 000 tonnes ont été produites sur l'ensemble du globe (Cho & Peterson, 2010). C'est un produit complexe, généralement composé de deux parties aux structures distinctes (la mie et la croûte), conduisant à des hétérogénéités de structure et de texture au sein du produit. De plus, la famille des pains couvre une grande diversité de compositions et de formes, lesquelles conduisent à une large gamme de propriétés nutritionnelles et sensorielles. Ces dernières sont connues comme étant des facteurs clés pour déterminer l'acceptabilité des produits par le consommateur et ses préférences. Si les liens entre les paramètres de panification, la structure des pains et les perceptions de texture commencent à être bien connus, les perceptions aromatiques sont plus difficiles à prédire. En effet, les perceptions d'arôme sont complexes et dépendent, à la fois, des propriétés intrinsèques des produits (structure, composition, interactions physico-chimiques entre les composés volatils et la matrice), des caractéristiques liées aux individus à travers la transformation de l'aliment au cours du processus oral (Brown & Wilson, 1996; Taylor & Linfoth, 1996), mais également des interactions sensorielles avec les autres perceptions, telles que la texture ou les saveurs. Mieux comprendre les perceptions et leurs relations avec la composition, la structure des pains et la formation du bol en bouche constitue un enjeu majeur pour l'industrie boulangère et pourrait conduire à l'élaboration de nouveaux produits, plus en adéquation avec les attentes des consommateurs.

L'objectif de la première partie de cette étude bibliographique est la compréhension des liens existant entre les différentes étapes du procédé de panification et les caractéristiques de structure et de composition aromatique des pains à croûte de type baguette française. Une attention toute particulière sera portée aux différences entre les deux parties constitutives du pain : la mie et la croûte.

Le second objectif de cet état de l'art est d'identifier les différentes perceptions sensorielles engendrées par la consommation du pain. Nous détaillerons alors quelques éléments de la littérature traitant de l'impact de la structure et de la composition aromatique du pain sur les perceptions de texture et d'arômes, ainsi que les différentes méthodes sensorielles utilisées pour caractériser ces perceptions.

Dans une troisième partie, un état des lieux des mécanismes physicochimiques et biochimiques déjà identifiés intervenant lors de la transformation du pain en un bol alimentaire par le processus oral seront présentés. Les méthodes de caractérisation des propriétés du bol d'un produit céréalier solide seront détaillées dans chacune des sous-parties. Les premiers travaux portant sur le lien entre propriétés des bols et dynamiques de perceptions de texture et d'arômes seront présentés à la fin de cette troisième partie.

Enfin les objectifs de la démarche du projet de thèse seront exposés dans une dernière partie.

## I.1. La baguette française : Impact de la composition et du procédé de panification sur ses caractéristiques finales

### I.1.1. Définitions et étapes de panification

En France, le pain est défini comme un aliment résultant de la cuisson d'une pâte fermentée, composée de farine, de levure ou de levain, de sel et d'eau (Landgraf, 2002). D'autres ingrédients, comme le sucre ou les matières grasses, sont couramment ajoutés dans le reste du monde bien que non essentiels à la panification. En 1993, le décret n°93-1074 de la législation française définit le « pain de tradition française » comme un pain n'ayant pas subi d'étape de surgélation lors de son élaboration et ne contenant pas d'additifs. Depuis 1996, le « pain courant français » peut contenir jusqu'à 14 additifs, selon la directive européenne 95/2/CE. Il s'agit d'acide ascorbique, de lécithine, de mono et diglycérides d'acides gras, ou encore d'acides lactiques et acétiques ainsi que leurs dérivés. Ils ont pour but de retarder le rassissement du pain ou encore de faciliter certaines étapes du procédé de panification.

Les différentes étapes du procédé de panification peuvent être réparties en trois grandes catégories : le pétrissage, la fermentation et la cuisson (Figure I.1-1), qui seront détaillées dans les paragraphes suivants.

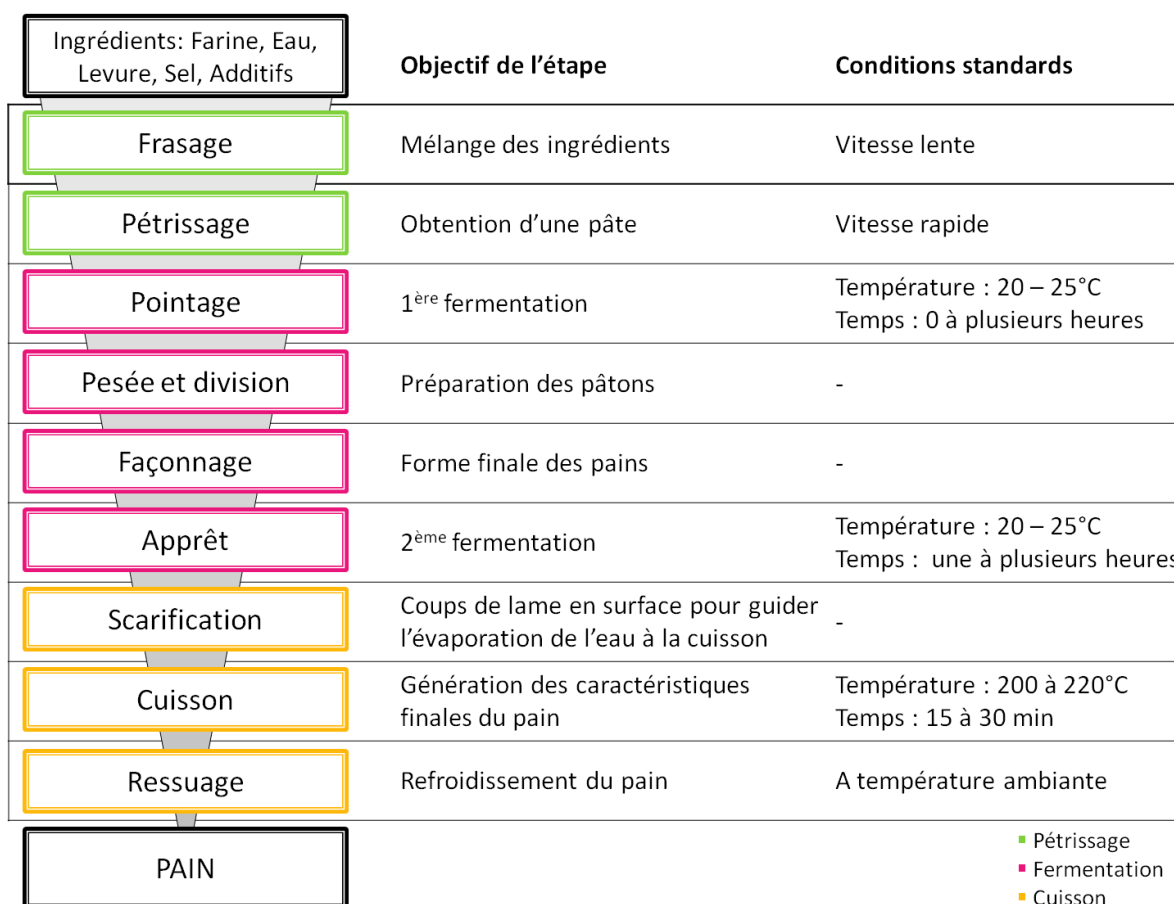


Figure I.1-1 : Etapes du procédé de panification, divisé en trois grandes catégories

Au cours de ce procédé, la farine et l'eau sont d'abord mélangées à vitesse lente (frasage). Puis, le reste des ingrédients est ajouté et mélangé à vitesse rapide jusqu'à l'obtention d'une pâte. Cette

pâte est ensuite laissée au repos pendant le pointage, qui constitue la première phase de fermentation. La pâte initiale est ensuite divisée en pâtons qui sont ensuite façonnés. C'est cette étape qui donnera la forme finale au pain : baguette, pain boule, flûte... Une deuxième phase de fermentation appelée apprêt est ensuite menée, suivie d'une étape de scarification des pâtons (le boulanger donne des coups de lames aux pâtons, pour permettre l'évaporation de la vapeur d'eau pendant la cuisson et éviter la déformation du pain), juste avant de les cuire au four. La dernière étape avant la consommation est le ressuage qui permet aux pains de redescendre à température ambiante. Cette étape dépend de la forme du pain et dure environ une heure.

Ces différentes étapes du procédé de panification et leurs impacts sur les caractéristiques finales de structure et d'arômes du pain sont détaillés dans les paragraphes suivants.

### I.1.2. Ingrédients

Le pain blanc français est majoritairement composé de farine de blé, d'eau, de levure et de sel. Pour une quantité de farine égale à 100 g, il est ajouté en moyenne 60 à 70 g d'eau, 1 à 3 g de levure et 1 à 2 g de sel (Fould-Springer, 1988).

#### I.1.2.1. *Farine*

La farine de blé est la farine la plus utilisée dans la fabrication du pain français et sa composition moyenne est donnée dans le **Tableau I.1-1**.

**Tableau I.1-1 : Composition moyenne de la farine de blé (Goesaert *et al.*, 2005)**

Constituants	Pourcentage moyen
Amidon	70-75%
Eau	14%
Protéines	10-12%
Polysaccharides (hors amidon)	2-3%
Lipides	2%

L'amidon est composé de deux types de polysaccharides, dont l'unité constitutive est le glucose : l'amylose (linéaire) et l'amylopectine (hautement ramifié). Le ratio entre ces deux polymères dépend fortement de l'origine botanique de l'amidon, mais on considère généralement que l'amidon de blé est composé par 25-29% d'amylose et par 71-75% d'amylopectine (Buléon, Colonna, Planchot, & Ball, 1998). L'amylose est un élément structurel essentiel du pain et impacte directement sa fermeté à cause de ses capacités rapides de rétrogradation (passage d'un état amorphe à un état cristallin) (Goesaert *et al.*, 2005).

Parmi les protéines présentes dans la farine, 20 % sont actives pour la plus part (enzymes comme l'amylase) et 80 % vont contribuer à la formation du gluten (Goesaert *et al.*, 2005). Ce réseau de gliadines et de glutenines donne ses propriétés viscoélastiques à la pâte et permet la rétention du gaz produit lors de la fermentation. Il est donc responsable du volume et de la structure finale du pain. Si une teneur faible en protéines semble induire un volume final de pain plus petit, il semblerait néanmoins que le volume du pain soit plus fortement impacté par le procédé de panification et notamment par l'étape de façonnage, que par la qualité de sa farine (Bardseth, Kvaal, Lea, Ellekjær, & Færgestad, 2000).

Les autres constituants de la farine ont un impact moindre sur la structure finale du produit. La farine contient également quelques molécules volatiles qui sont retrouvées dans la composition aromatique finale du pain, comme l'hexanal, l'heptanal, le pentanal et l'heptanol (Pico, Bernal, & Gómez, 2015). Mais ce sont la fermentation et la cuisson qui sont à l'origine de la majorité des composés volatils identifiés dans le pain (Cho & Peterson, 2010).

#### I.1.2.2. *Levure*

La levure est un ingrédient essentiel de la panification, car elle permet non seulement de faire lever la pâte, mais aussi de générer des composés volatils contribuant à l'arôme final du pain. Les levures utilisées en boulangerie sont toujours l'espèce *Saccharomyces cerevisiae*. Lors de la fermentation en milieu anaérobie, elles transforment principalement les sucres de la farine en dioxyde de carbone et en éthanol (cf. [section I.1.4](#)).

#### I.1.2.3. *Eau et sel*

L'eau ajoutée provoque le gonflement des grains d'amidon et aide à la formation du réseau glutineux (Landgraf, 2002). Le sel est un élément important dans la perception du goût du pain, sa couleur et sa conservation, mais il joue également un rôle dans les propriétés mécaniques de la pâte (Fould-Springer, 1988).

Les différents ingrédients entrant dans la composition du pain ont donc chacun un rôle dans la formation de la structure et des composés d'arômes du pain. Les caractéristiques finales du pain blanc vont cependant être impactées bien plus fortement par les différents paramètres du procédé de panification (temps de pétrissage et de fermentation, température de cuisson...) que par la qualité des ingrédients (Baardseth *et al.*, 2000; Cho & Peterson, 2010).

### I.1.3. Pétrissage

#### I.1.3.1. *Description du pétrissage*

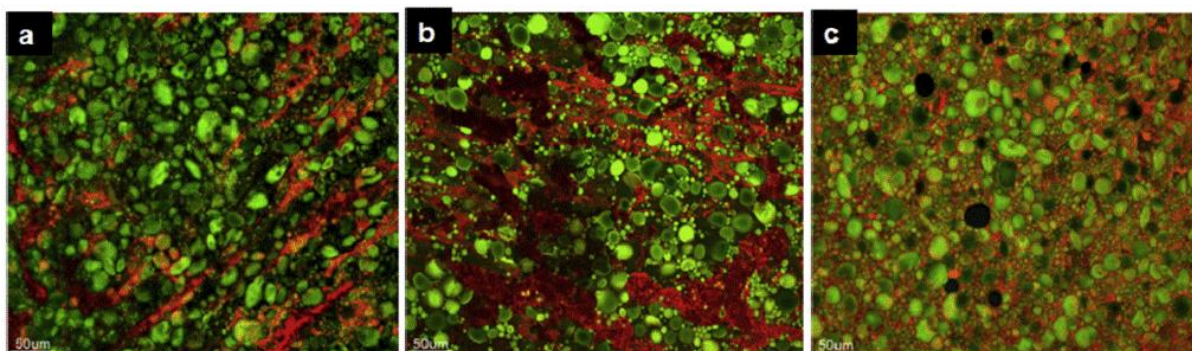
Le but du pétrissage est (i) de mélanger les ingrédients en une pâte quasi-homogène, (ii) de développer le réseau glutineux et (iii) d'incorporer de l'air à la pâte (Autio & Laurikainen, 1997).

Dans un premier temps, lors du mélange des ingrédients, la farine absorbe l'eau, faisant gonfler les grains d'amidon. Ceux-ci peuvent absorber jusqu'à 50 % de leur poids sec en eau (Goesaert *et al.*, 2005). Par la suite, l'énergie mécanique apportée par le mixeur permet aux protéines insolubles (gliadines et glutenines) de se lier entre elles par un réarrangement des ponts disulfures intra- et inter-moléculaires (Giannou, Kessoglou, & Tzia, 2003). Il se forme alors un réseau glutineux, complexé avec les lipides de la farine et certains composés glucidiques, emprisonnant les grains d'amidon et les bulles d'air (Scanlon & Zghal, 2001; Dobraszcyk & Morgenstern, 2003; Pareyt, Finnie, Putseys, & Delcour, 2011). Ce réseau protéique tridimensionnel, continu et viscoélastique, pourra s'étirer lors de la fermentation pour contenir le dioxyde de carbone produit.

L'impact du pétrissage sur la structure et la composition aromatique du pain est bien connu dans la littérature.

### I.1.3.2. *Impact du pétrissage sur la structure*

En formant le réseau glutineux, le pétrissage impacte directement la structure finale du pain. Une pâte sous-pétrie conduit à une répartition irrégulière des grains d'amidon et des protéines. Des masses compactes de protéines sont formées et étirées en feuillets lors du mélange (**Figure I.1-2a**). Si le pétrissage est prolongé sur une durée optimale, une phase continue de gluten se forme (**Figure I.1-2b**). Lors d'un sur-pétrissage de la pâte, le milieu est rendu très homogène mais la structure du gluten devient très fine, ce qui diminue sa capacité de rétention du gaz (**Figure I.1-2c**). L'intensité et la durée du pétrissage vont donc impacter le volume final du pain, mais aussi la structure de la mie (répartition plus ou moins homogène des bulles d'air).



**Figure I.1-2 : Images prises par microscopie confocale à balayage laser de (a) la pâte sous-pétrie, (b) la pâte pétrie de façon optimale et (c) la pâte sur-pétrie (adapté de Peighambardoust, Dadpour, & Dokouhaki, 2010). En vert : grains d'amidon, en rouge : protéines, en noir : bulles d'air.**

### I.1.3.3. *Impact du pétrissage sur les composés d'arômes*

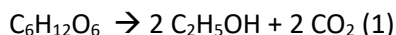
L'incorporation d'air dans la pâte active la lipoxygénase, responsable de l'oxydation des lipides présents dans la farine (principalement les acides linoléique et linoléique). Cette oxydation conduit à la formation de composés volatils, contribuant à l'arôme final du pain (Martínez-Anaya, 1996; Pico *et al.*, 2015). Les acides gras polyinsaturés se dégradent majoritairement en aldéhydes. L'hexanal est le composé majoritairement formé, mais on retrouve également le pentanal, le 2-(E)-heptenal, le 2-(E)-nonenal ou le 2,4-decadienal (Ullrich & Grosch, 1987). D'autres molécules comme la 1-octen-3-one, le 1-octen-3-ol et le 1-heptanol proviennent également de l'oxydation des lipides (Ullrich & Grosch, 1987; Birch, Petersen, & Hansen, 2014). Ces composés sont souvent considérés comme des composés aromatiques indésirables (Zehentbauer & Grosch, 1998b). Afin de limiter l'oxydation des lipides, plusieurs stratégies sont proposées dans la littérature, comme par exemple, ajouter de l'acide ascorbique pour entrer en concurrence avec l'enzyme sur les besoins en oxygène (Pozo-Bayón, Guichard, & Cayot, 2006b).

## I.1.4. Fermentation

### I.1.4.1. *Description de la fermentation*

Les objectifs de la fermentation sont (i) de produire du dioxyde de carbone afin de faire lever la pâte et (ii) de générer des composés d'arômes responsables de l'arôme final du pain. La fermentation s'effectue au cours de deux étapes, le pointage et l'apprêt, qui peuvent durer d'une à plusieurs heures. Dès qu'elles sont mélangées à la farine et l'eau, les levures consomment le glucose issu de

l'amidon de la farine et libéré par hydrolyse enzymatique. 95% des sucres fermentescibles sont ainsi transformés en éthanol et dioxyde de carbone selon l'équation (1) (Pico *et al.*, 2015).



Une grande partie de l'éthanol produit est évaporé lors de la cuisson. Les 5% de sucres restant participent à une réaction de fermentation secondaire appelée glycolyse, qui transforme le glucose en pyruvate. La dégradation du pyruvate par diverses réactions (enzymatiques ou non enzymatiques) conduit à la formation de nombreux composés volatils (Figure I.1-3).

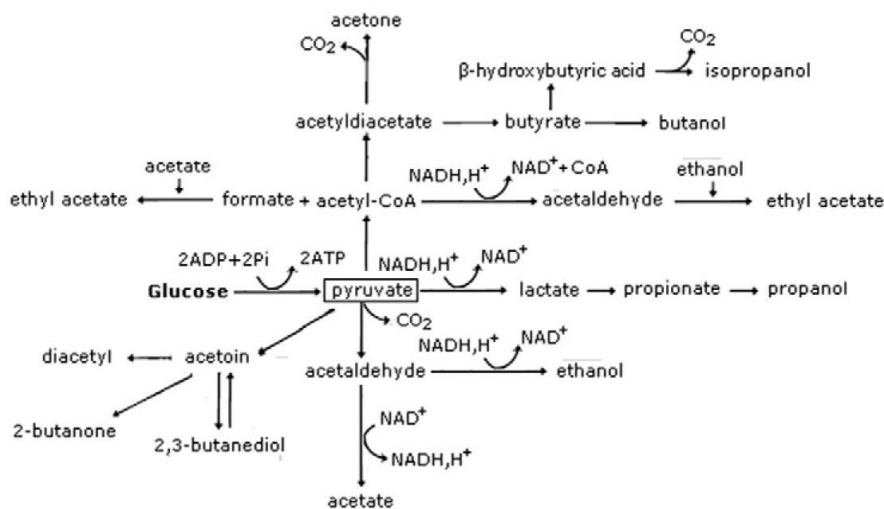


Figure I.1-3 : Réactions de dégradation du pyruvate suite à la glycolyse (Pico *et al.*, 2015)

Les levures transforment également les acides aminés de la farine en aldéhydes à chaînes longues et en alcools correspondants suivant la réaction d'Ehrlich (Figure I.1-4).

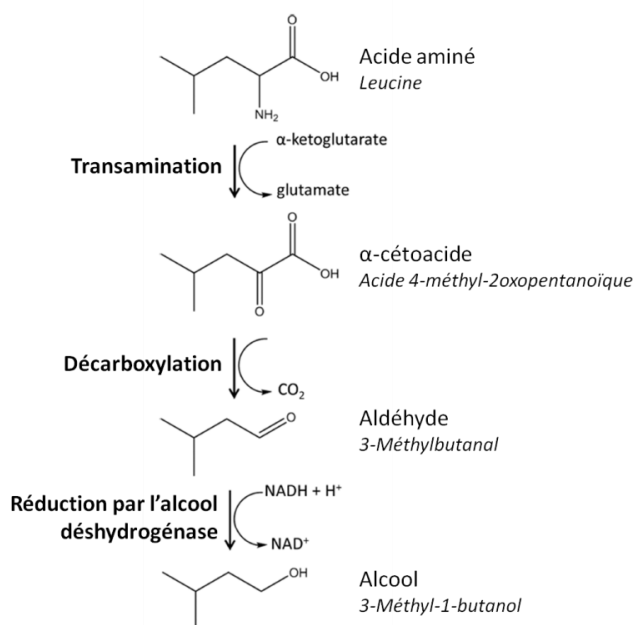


Figure I.1-4 : Exemple de la réaction d'Ehrlich appliqué à la leucine (adapté de Birch, Petersen, & Hansen, 2014)

Le **Tableau I.1-2** récapitule les différentes réactions intervenant lors de la fermentation, ainsi que les substrats utilisés et les produits formés.

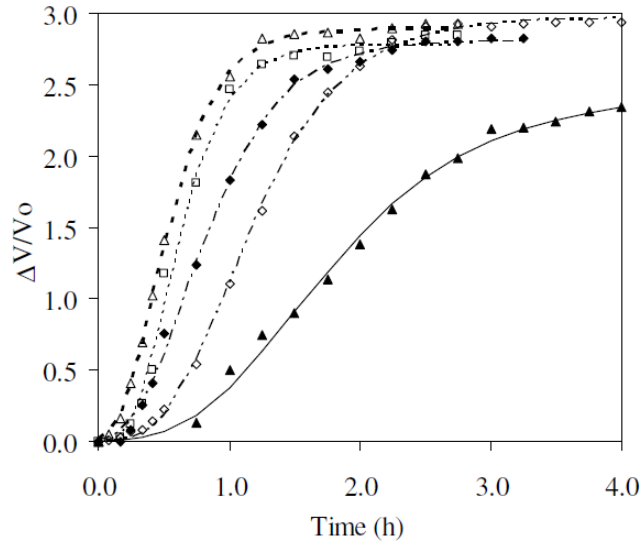
**Tableau I.1-2 : Tableau récapitulatif des différentes réactions intervenant lors de la fermentation et à l'origine de la production de différentes molécules volatiles**

Réactions	Substrats	→ Produits
Fermentation alcoolique	Glucose	→ Ethanol, dioxyde de carbone
Glycolyse	Glucose	→ Pyruvate
Réactions enzymatiques de dégradation du pyruvate	Lactate Acetyl-CoenzymeA + Acides carboxyliques + Ethanol	→ Propanol → Esters
Réaction non-enzymatique de dégradation du pyruvate	$\alpha$ -Acetolactate	→ 2,3-butanedione, 2-hydroxy-3-butanone (acétoïne)
Réaction d'Ehrlich	Acides aminés	→ Aldéhydes, alcools

#### I.1.4.2. Impact de la fermentation sur la structure du pain

A la fin du pétrissage, les bulles d'air incorporées à la pâte ont un diamètre compris entre 10 et 100  $\mu\text{m}$  (Autio & Laurikainen, 1997). Le dioxyde de carbone libéré par les levures migre de la phase aqueuse vers ces *nuclei*, et contribue à leur croissance en s'y accumulant. Le volume final du pain va donc dépendre à la fois de la capacité de production du dioxyde de carbone par la levure et de la capacité de rétention de ce gaz par la matrice. L'expansion du volume de la pâte au cours de la fermentation peut être prédite par un modèle mathématique basé sur celui de Gompertz, qui modélise la croissance des micro-organismes (Romano, Toraldo, Cavella, & Masi, 2007; Shehzad *et al.*, 2010). Ainsi, il a été montré que plus la quantité de levure incorporée est grande (de 0,6 à 3,4 g de levure pour 100 g de farine), plus l'expansion du volume de la pâte est rapide (Figure I.1-5). Cependant, au-delà de 0,8-1,0 g pour 100 g de farine, la quantité de levure ne joue plus sur le volume final de la pâte, qui dépend alors de sa capacité maximale de rétention du gaz (Romano *et al.*, 2007).





**Figure I.1-5 : Expansion du volume de la pâte pendant la fermentation en fonction de différents teneurs en levure (▲0,6g ; ◇1,1g ; ◆1,7g ; □2,3g ; △3,4 g de levure pour 100 g de farine) (Romano *et al.*, 2007)**

Le temps de fermentation et la quantité de levure sont donc étroitement liés, obligeant les auteurs à faire varier ces deux paramètres en parallèle s'ils souhaitent obtenir des pains de volume similaire (Birch, Petersen, Arneborg, & Hansen, 2013a; Nor Qhairul Izzreen, Hansen, & Petersen, 2016).

#### I.1.4.3. Impact de la fermentation sur les composés d'arômes

De nombreuses études et revues traitent des composés volatils formés dans le pain lors de l'étape de fermentation (Frasse, Lambert, Richard-Molard, & Chiron, 1993; Gassenmeier & Schieberle, 1995; Pozo-Bayón *et al.*, 2006b; Poinot *et al.*, 2008; Birch *et al.*, 2014; Pico *et al.*, 2015). Les alcools sont les composés majoritairement formés lors de la fermentation. Parmi eux, on peut citer l'éthanol, mais aussi le 1-propanol, le 2-méthyl-1-propanol, le 2-méthyl-1-butanol et le 3-méthyl-1-butanol qui sont retrouvés en grande quantité dans le pain blanc (Maeda *et al.*, 2009).

Il a été montré que la quantité de levure, le temps de fermentation et la température de fermentation impactent la formation des différents composés volatils.

En présence de levure (2,5 g pour 100 g de farine), la pâte à pain, avant cuisson, contiendrait 30 fois plus d'alcools, 10 fois plus d'esters, 9 fois plus de lactones et 1,9 fois moins d'aldéhydes qu'en absence de levure (Frasse *et al.*, 1993). En effet les alcools, esters et lactones vont être issus du métabolisme des levures alors que les aldéhydes vont être majoritairement formés lors de l'oxydation des lipides de la farine. Les proportions mesurées dans la pâte crue sont modifiées par la suite lors de l'étape de cuisson. Par conséquent, les études effectuées sur la mie ou sur la croûte ne montrent pas d'influence de la quantité de levure sur les composés issus de l'oxydation des lipides (Zehentbauer & Grosch, 1998b; Birch *et al.*, 2013b). Cependant, en augmentant la quantité de levure de 2 à 6 g pour 100 g de farine, les quantités de 2-méthyl-1-propanol, 2-phénylacétaldéhyde, 2,3-butanedione et 3-méthylbutanoate d'éthyle augmentent dans la mie du pain blanc (Birch *et al.*, 2013b). Une augmentation d'environ 30% du méthional (produit de la réaction d'Ehrlich) et de la 2-acétyl-1-pyrroline (formée lors de la cuisson) est observée dans la croûte d'un pain contenant 2,6 g de levure par rapport à un pain contenant 1,6 g pour 100 g de farine (Zehentbauer & Grosch, 1998b).

Le temps de fermentation, souvent dépendant de la quantité de levure introduite, a été parfois étudié de façon découplée. Il a alors été montré que la hausse du temps de fermentation (+3h) favorise l'augmentation des quantités de 3-méthyl-1-butanol et du 2-phényléthanol dans la mie (Schieberle & Grosch, 1991), deux molécules obtenues par la réaction d'Ehrlich. Plus généralement dans un échantillon de pain (mie et croûte ensemble), l'accroissement du temps de fermentation de 15 min à 5h favorise la formation d'alcools, esters et composés aromatiques, et la diminution des cétones et aldéhydes (Maeda *et al.*, 2009).

La température de fermentation est le seul paramètre qui semble impacter à la fois les composés issus de la fermentation et ceux issus de l'oxydation des lipides. Une fermentation à basse température (4 à 8°C) pourrait favoriser la formation d'esters (Birch *et al.*, 2013b; Nor Qhairul Izzreen *et al.*, 2016) et réduire la formation de composés carbonylés issus de l'oxydation dans la mie comme dans la croûte (Zehentbauer & Grosch, 1998b; Birch *et al.*, 2013b).

### I.1.5. Cuisson

#### I.1.5.1. *Description de la cuisson*

La cuisson a pour objectif de générer les caractéristiques structurales et aromatiques finales du pain. Le pain est généralement cuit entre 200°C et 220°C pendant 15 à 30 min suivant la taille des pâtons. En début de cuisson, le volume du pain augmente, en raison (i) de l'expansion des gaz et (ii) de la production de dioxyde de carbone par les levures jusqu'à leur inactivation à partir de 55°C (Fould-Springer, 1988). Puis la structure se fige : la gélatinisation de l'amidon et la coagulation des protéines transforment la pâte visqueuse en une mie élastique (Vanin, Lucas, & Trystram, 2009). En surface, la croûte se forme rapidement et brunit avec la formation de polymères à haut poids moléculaire, par caramélisation ou par réactions de Maillard. C'est également lors des réactions de Maillard (Figure I.1-6) que sont formés les composés d'arômes typiques de l'arôme de la croûte (Hodge, 1953; Cho & Peterson, 2010; Pico *et al.*, 2015).

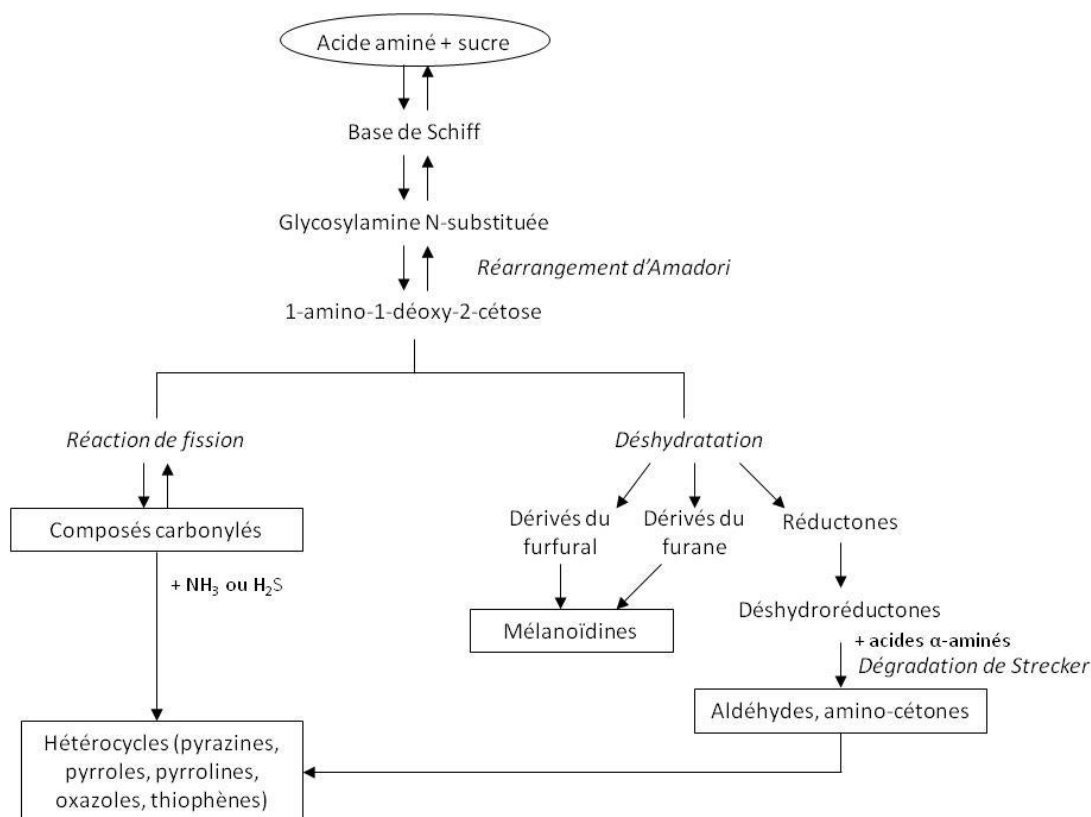


Figure I.1-6 : Réactions non enzymatiques de Maillard (d'après Hodge, 1953; Cho & Peterson, 2010)

#### I.1.5.2. Impact de la cuisson sur la structure

Lors de la cuisson, le cœur et la surface du pâton sont soumis à différents traitements thermiques et différentes vitesses de déshydratation, conduisant à la formation de deux entités aux propriétés distinctes : la mie et la croûte.

La mie est soumise à une faible vitesse de réchauffement (généralement inférieure à 3°C/min à cœur). Sa température n'excède généralement pas les 100°C, et elle garde une teneur en eau relativement constante comparée à celle de la pâte (autour de 50 g d'eau pour 100 g de pâte) (Vanin *et al.*, 2009). Dans ces conditions, l'amidon commence à se gélatiniser vers 60°C : les grains gonflent, puis leur structure cristalline est détruite de façon irréversible (Figure I.1-7). L'amylose est solubilisée, augmentant la viscosité du milieu (Goesaert *et al.*, 2005). En parallèle, les protéines sont dénaturées et coagulent, ce qui contribue à la rigidification de la structure (Landgraf, 2002).

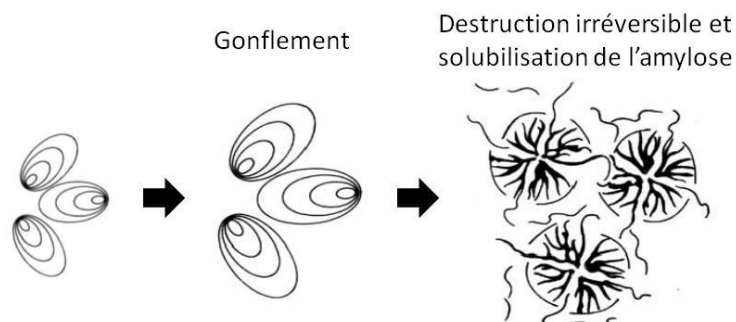
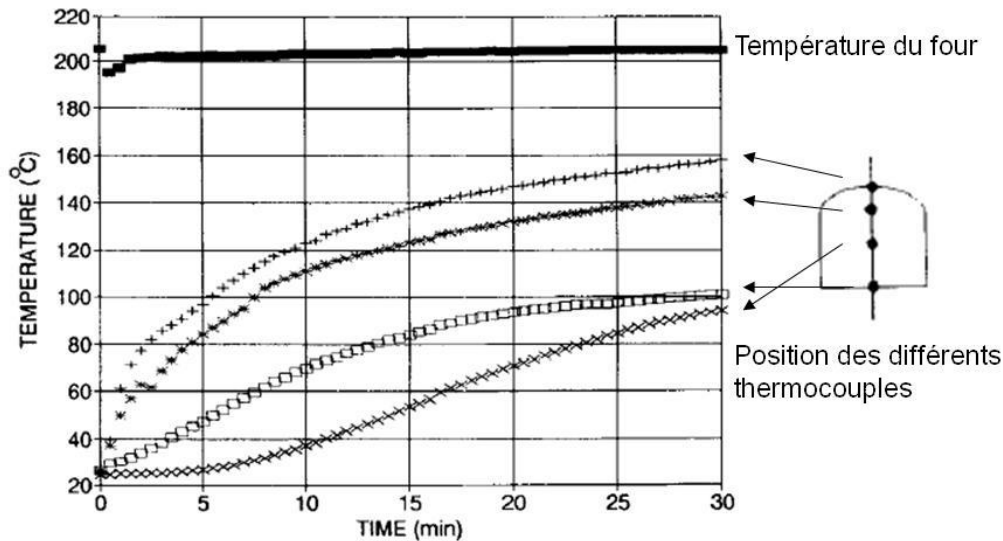


Figure I.1-7 : Evolution des grains d'amidon au cours de la cuisson (d'après Goesaert *et al.*, 2005)

L'expansion des gaz ( $\text{CO}_2$ , éthanol et vapeur d'eau) initiée en début de cuisson exerce alors une pression sur les parois devenues plus rigides, ce qui provoque leur rupture. La structure alvéolaire ouverte caractéristique de la mie est ainsi formée.

La croûte est soumise à des températures beaucoup plus élevées. Elle atteint rapidement  $100^\circ\text{C}$ , puis tend asymptotiquement vers la température du four (**Figure I.1-8**).



**Figure I.1-8 : Evolution de la température à différents endroits du pain (schématisé à droite) lors de la cuisson (Zanoni, Peri, & Pierucci, 1993)**

A cause de l'évaporation, la teneur en eau de la croûte diminue rapidement à des valeurs comprises entre 5 et 20 g d'eau pour 100 g de pâte (Vanin *et al.*, 2009). La température élevée et la faible teneur en eau empêchent la gélatinisation de l'amidon dans la croûte, et favorisent les réactions de caramélisation et de Maillard. Une étude portant sur les pains de type baguette a montré que, lors d'une cuisson sur sole, la croûte se forme d'abord par le dessous, au contact de la sole (transfert thermique par conduction). Au-delà de 10 min de cuisson, la croûte apparaît progressivement sur le pourtour du pâton, jusqu'à atteindre en fin de cuisson une épaisseur moyenne de 1,7 mm (mesurée par analyse d'images) (Della Valle, Chiron, Jury, Raitière, & Réguerre, 2012). Différentes valeurs d'épaisseur de croûte sont reportées dans la littérature ; elle peut être inférieure à 1 mm ou large de plusieurs mm en fonction du procédé de panification, mais également de la méthode de mesure (Zanoni *et al.*, 1993; Primo-Martín *et al.*, 2010).

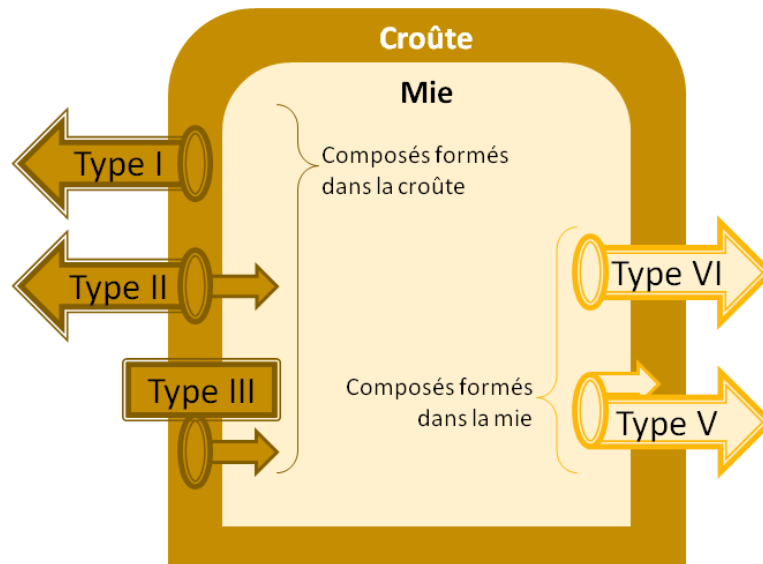
La cuisson du pain ne s'effectue pas dans un environnement complètement sec. De la vapeur d'eau est introduite dans le four avant d'enfourner les pâtons. Cette opération a pour objectifs (i) d'assouplir la pâte en l'entourant d'une fine pellicule d'eau afin de permettre la dernière expansion de la pâte, (ii) de limiter l'évaporation de l'eau du pâton et (iii) d'accentuer la finesse de la croûte (Landgraf, 2002).

Après cuisson, le pain est refroidi à température ambiante. Les chaînes d'amylose et d'amylopectine se réarrangent, provoquant le phénomène de rétrogradation de l'amidon qui conduit au rassissement du pain. La température de la croûte redescend en dessous des températures de transition vitreuse du gluten et de l'amidon, ce qui la rend rigide et cassante (Cuq, Abecassis, & Guilbert, 2003).

I.1.5.3. *Impact de la cuisson sur les composés d'arômes*

Lors de la cuisson, les composés d'arômes sont majoritairement formés par les réactions de Maillard (**Figure I.1-6**). Les différents sucres et acides aminés présents dans le milieu réagissent ensemble pour former des composés volatils typiques de l'arôme de la croûte, ainsi que des pigments bruns appelés mélanoidines (Hodge, 1953; Cho & Peterson, 2010; Pico *et al.*, 2015). La nature des sucres et des acides aminés impliqués ainsi que le temps, la température, le pH et la teneur en eau sont les facteurs clés de la réaction. La nature des sucres et acides aminés détermine la nature des composés formés, tandis que les autres facteurs influencent les vitesses de réaction (Jousse, Jongen, Agterof, Russell, & Braat, 2002). Les grandes familles de composés formés lors des réactions de Maillard sont : les composés carbonylés, les aldéhydes de Strecker, les pyrazines, les pyrroles et les furanes (van Boekel, 2006). Parmi ces différents composés, certains auteurs ont identifié des composés odorants clés de l'arôme de la croûte des baguettes : 2-acétyl-1-pyrroline, 4-hydroxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone, 2,3-butanedione (ou diacétyl), méthional, 2-(E)-nonéal, 2-méthylpropanal, 2- et 3-méthylbutanal (Zehentbauer & Grosch, 1998a). On peut noter que certains composés carbonylés comme le diacétyl, le méthional ou certains aldéhydes de Strecker (2-méthylpropanal, 2- et 3-méthylbutanal) sont également formés pendant la fermentation.

Certaines études sur les arômes de la mie utilisent des températures de cuisson faibles afin de former moins de croûte. Birch *et al.* (2013b) cuisent leurs pâtons pendant 31 min à 130°C, tandis que Schieberle et Grosch (1991) les cuisent 10 min à 200°C, suivies de 20 min à 170°C. Cependant, ce choix peut induire des biais dans la composition aromatique de la mie, car celle-ci peut également contenir des composés de Maillard ayant migré de la croûte vers la mie. En effet, pendant la formation de la croûte et après la cuisson, des transferts de matière (vapeur d'eau et composés volatils) ont lieu. Cinq types de transfert sont reportés dans la littérature (Onishi, Inoue, Araki, Iwabuchi, & Sagara, 2011) : (i) les composés formés dans la croûte et libérés immédiatement dans la phase gazeuse, (ii) les composés formés dans la croûte, en majorité libérés dans la phase gazeuse, et dont une petite partie s'accumule dans la mie, (iii) les composés formés dans la croûte et s'y accumulant, avec une petite partie transférée dans la mie, (iv) les composés formés dans la mie et transférés vers l'extérieur sans s'accumuler dans la croûte et enfin (v) les composés formés dans la mie et s'accumulant dans la croûte (**Figure I.1-9**). Une fois la croûte formée, celle-ci agit comme une barrière et empêche les transferts de la quatrième catégorie.



**Figure I.1-9 : Schéma des types de transferts de matière reportés pour les composés d'arômes formés dans la mie ou dans la croûte (d'après Onishi *et al.* 2011)**

Après la cuisson, la composition aromatique des pains continue d'évoluer. Les molécules présentes dans la croûte et responsables de notes aromatiques plaisantes comme le 3-méthylbutanal s'évaporent, alors que la quantité des molécules en lien avec l'oxydation des lipides, et responsables des notes déplaisantes comme le 2-(E)-nonéal n'évolue pas (Schieberle & Grosch, 1992).

L'évolution de la structure et de la composition aromatique du pain dès sa sortie du four en font un produit à courte durée de vie. Lors des essais expérimentaux de la thèse, une attention toute particulière a donc été portée au temps d'utilisation du pain après cuisson.

#### I.1.5.4. Cas particulier : les baguettes précuites

Il est possible de procéder à une cuisson en deux temps. Une précuisson est d'abord effectuée, permettant de solidifier la structure, puis les pâtons sont congelés ou surgelés pour permettre leur stockage. La cuisson finale est ensuite réalisée pour donner sa couleur et ses arômes à la croûte (Landgraf, 2002). Il a été montré que l'étape de précuisson ne modifiait pas la composition aromatique du pain (mie et croûte) par rapport à une cuisson en une seule fois (Poinot *et al.*, 2008). Cette étape ne modifierait pas non plus la densité, le ratio croûte/mie des pains et la teneur en eau de la mie, mais la mie des pains précuits serait plus ferme que celle des autres pains (Poinot *et al.*, 2008).

Les pains précuits, puis surgelés, ont l'avantage de pouvoir être transportés, stockés et conservés sur plusieurs mois. Pour ces raisons, cette technologie a été choisie pour les pains de cette étude.

#### I.1.6. Caractéristiques finales de la baguette française

En fonction des paramètres choisis pour les différentes étapes du procédé de panification décrites ci-dessus, différentes sortes de pains peuvent être obtenues, avec des caractéristiques bien spécifiques. Parmi elles, la baguette française se distingue par sa forme allongée et sa croûte.

La baguette, comme le pain, est un aliment hétérogène pourvu de deux entités très différentes : la mie et la croûte. Ces deux entités se distinguent en termes de couleur, de structure, de teneur en

eau et de propriétés mécaniques. Leurs principales caractéristiques et propriétés sont résumées dans le **Tableau I.1-3**.

**Tableau I.1-3 : Principales caractéristiques et propriétés de la mie et de la croûte**

	<b>Mie</b>	<b>Croûte</b>
<b>Couleur</b>	Crème	Brun
<b>Structure</b>	Alvéolaire	Vitreuse
<b>Teneur en eau</b>	Env. 50%	<15%
<b>Propriétés mécaniques</b>	Élastique	Rigide
<b>Origine des composés volatils</b>	Fermentation et oxydation des lipides	Réactions de Maillard

En effet, le pain est un matériau composé d'une mie alvéolée élastique entourée en surface par une croûte rigide (**Figure I.1-10**). La mie peut être considérée comme une mousse solide de porosité élevée ( $\Phi \approx 0,8$ ) (Scanlon & Zghal, 2001). La quasi-totalité des alvéoles communiquent entre elles, ce qui confère à la mie des propriétés d'hydratation intéressantes (Mathieu *et al.*, 2016).



**Figure I.1-10 : Photographie d'une tranche de baguette française**

La mie contient majoritairement des composés volatils issus du métabolisme des levures et de l'oxydation des lipides, tandis que les composés issus des réactions de Maillard sont en majorité retrouvés dans la croûte (Birch *et al.*, 2014). Si plusieurs centaines de composés volatils ont déjà été identifiés dans le pain blanc, seuls quelques-uns sont considérés comme ayant un pouvoir odorant et une concentration assez élevés pour impacter l'arôme du pain (Pozo-Bayón *et al.*, 2006; Pico *et al.*, 2015) (**Tableau I.1-4**).

**Tableau I.1-4 : Composés d'arômes impactant positivement ou négativement l'arôme du pain (d'après Pico *et al.*, 2015)**

Famille	Composé	Notes aromatiques
Impact positif		
Alcools	3-méthyl-1-butanol 2-méthyl-1-butanol Alcool benzylique 2-phényléthanol	Balsamique, alcool, malté Glue, alcool, vin, malté Arôme plaisant Fleuri
Aldéhydes	Acétaldéhyde 3-méthylbutanal 2-méthylbutanal Phénylacétaldéhyde Octanal Nonanal 2-méthylpropanal Furfural	Fruité Malté, torréfié Amande, malté Miel, sucré Citron, fleuri Citron, savon Malté Amande, pain, toasté
Cétones	2,3-butanedione (diacétyl) 3-hydroxy-2-butanone (acétoïne) 2-butanone	Beurre, caramel Caramel, beurre, yaourt Piquant, sucré
Esters	Hexyl acétate	Fruité, épicé, végétal
Acides carboxyliques	Acide 3-méthylbutanoïque Acide 2-méthylbutanoïque Acide 2-méthylpropanoïque	Sueur Fromage, rance, sueur Sueur, beurre, gras, acide
Hétérocycles	2-acétyl-1-pyrroline 6-acétyltétrahydropyridine 4-hydroxy-2,5-diméthyl-3(2H)-furanone (furaneol)	Popcorn, torréfié, pain Torréfié Caramel, fraise
Composés soufrés	Diméthyltrisulphide	Chou
Impact négatif		
Alcools	1-octen-3-ol	Champignon
Aldéhydes	2-(E)-nonéanal 2,4-(E,E)-décadiéanal Benzaldéhyde 2-décéanal Hexanal	Gras, vert, papier, suif Friture, cire Amande, caramel Métallique Herbe coupée
Acides carboxyliques	Acide butyrique Acide décanoïque	Sueur, rance Rance, gras, citron, sueur
Composés soufrés	Méthional	Pomme de terre, végétal



### I.1.7. Panification et propriétés des pains : synthèse

Dans cette première partie, nous avons vu que le rôle des différentes étapes de la panification dans l'élaboration des caractéristiques structurales et aromatiques finales du pain était bien décrit et connu dans la littérature. Pour [Baardseth \*et al.\* \(2000\)](#), le procédé est un levier plus important que la qualité de la farine pour modifier les caractéristiques finales du produit et notamment les propriétés sensorielles. Il est donc essentiel de bien comprendre les différentes étapes de la panification afin de pouvoir contrôler ou améliorer les propriétés sensorielles du pain.

Cependant, dans la plupart des cas, les études se focalisent uniquement sur des aspects structurels, ou sur des aspects aromatiques, mais jamais sur les deux. A notre connaissance, aucune étude ne porte sur les liens entre structure du pain et composition aromatique. Une des raisons est la difficulté d'élaborer des pains permettant de telles études, comme par exemple des pains de même structure mais présentant des composés d'arômes différents ou vice versa, car les différentes étapes du procédé ont à chaque fois des conséquences sur les structures et compositions aromatiques finales du pain. Un des premiers challenges de cette thèse a donc été d'élaborer, en modulant le procédé, des produits permettant de découpler structure et composition aromatique.

Les différentes caractéristiques des pains, comme leur structure ou leur composition aromatique, peuvent être évaluées sensoriellement par le consommateur. La partie suivante s'intéresse donc aux différentes propriétés sensorielles perçues lors de la consommation du pain et les méthodes permettant de les évaluer.

## **I.2. Les perceptions sensorielles intervenant lors de la consommation du pain**

Lors de la consommation d'un aliment, tous les systèmes sensoriels de l'être humain (systèmes visuel, tactile, olfactif, gustatif et auditif) sont sollicités de façon quasi-simultanée. Avant d'être mis en bouche, le pain va donc être perçu par les systèmes visuel, tactile et olfactif. Une fois dans la cavité buccale, les systèmes tactile, olfactif, gustatif et auditif sont stimulés. De part sa structure particulière (hétérogénéité liée à la présence de mie et de croûte), le pain conduit à des perceptions complexes. En effet, la mie et la croûte sont perçues différemment et peuvent être évaluées séparément ou conjointement en fonction du type de consommateur et de l'objectif de l'étude (Chang & Chambers, 1992; Lotong, Iv, & Chambers, 2000; Hersleth, Berggren, Westad, & Martens, 2005).

Les paragraphes suivants détaillent les différentes propriétés sensorielles identifiées lors de la consommation du pain et discutent de l'impact des caractéristiques du produit (principalement structure et composition) sur ces perceptions. Enfin, les différentes méthodes utilisées dans la littérature et leurs intérêts pour ce type de produit et de problématique sont présentées.

### I.2.1. Perceptions de texture (apparence, toucher, texture en bouche)

#### *I.2.1.1. Description des perceptions de texture*

La texture fut défini par Szczesniak comme étant « la manifestation sensorielle et fonctionnelle des propriétés structurales, mécaniques et surfacielles des aliments détectées par les sens visuel, auditif, tactile et kinesthésique » (Szczesniak, 2002). La texture d'un produit regroupe donc son apparence, son toucher et sa texture perçue en bouche. Elle est perçue par plusieurs sens, dont le plus important est celui du toucher.

Dans le cas du pain, la texture est un paramètre important pour le consommateur et est considérée comme un indicateur de fraîcheur (Hersleth *et al.*, 2005). Son évaluation est donc souvent effectuée dans le cadre d'études sur la conservation du pain (Gámbaro *et al.*, 2002; Gámbaro, Fiszman, Giménez, Varela, & Salvador, 2004; Heenan, Dufour, Hamid, Harvey, & Delahunty, 2008). Les différentes études traitant des perceptions de texture du pain montrent une diversité du vocabulaire utilisé (**Tableau I.2-1**). Certains attributs sont spécifiques à la mie ou la croûte (comme « porosity » ou « crispness ») et d'autres peuvent être utilisés pour évaluer les deux (comme « hardness » ou « stickiness »).

**Tableau I.2-1 : Descripteurs utilisés par des panélistes entraînés pour évaluer la texture du pain**

Famille d'attribut	Attributs évalués	Traduction éventuelle	Partie évaluée	Références
<b>Apparence</b>				
<b>Couleur</b>	Darkness, whiteness	Noirceur, blancheur	mie ou croûte	a, b, f
	Speckled	Tacheté	np	a
	Color hue	Coloration	mie	b
	Color intensity	Intensité de la couleur	mie	b
<b>Caractérisation des alvéoles</b>	Porosity	Porosité	mie	a, b
	Taille alvéoles		mie	c
	Finesse		mie	c
	Homogénéité des alvéoles		mie	c, f
	Crumb cell number	Nombre d'alvéoles	mie	f
<b>Texture visuelle</b>	Smoothness	Onctuosité	croûte	a
	Glossiness	Brillance	croûte	b
	Crispness	Croustillance	croûte	b
	Graininess	Granuleux	mie	b
<b>Autre</b>	Visual dryness	Visuellement sec	mie	e
<b>Toucher</b>				
	Firmness, hardness	Fermeté, dureté	mie	c, e, f
	Friable, crumbliness	Friabilité	mie	c, e
	Elastic, elasticity	Elastique, élasticité	mie	c, e, f
	Softness/roughness	Douceur/rugosité	mie	e
	Soft center area	Aire molle au centre	mie	e
	Cohesiveness	Cohésion	mie	e
<b>Texture en bouche</b>				
<b>Dureté</b>	Hardness, Hard, Soft	Dureté, dur, mou	mie ou croûte	a, b, d, e
	Chewy, chewiness	Elastique, élasticité	mie	d, e
	Toughness	Résistance	mie ou croûte	b
<b>Adhésion</b>	Adhesiveness	Adhésion	np	a
	Stickiness, sticky	Collant	mie ou croûte	b, d, e
<b>Hydratation</b>	Moistness	Humidité	np, mie	a, f
	Juiciness	Juteux	mie ou croûte	b
	Dry, hydrated, dryness	Sec, hydraté, sècheresse	mie	d, e
<b>Particules</b>	Coarse	Rugueux/grossier	np	a
	Graininess	Granuleux	mie ou croûte	b
	Crumbly	Friable	mie	d
<b>Autres</b>	Crispness	Croustillance	croûte	b
	Dense, aerated	Dense, aéré	mie	d
	Fat	Gras	np	a
	Cohesiveness	Cohésion	np	f

a : Heenan *et al.*, 2008;

b : Hersleth *et al.*, 2005;

c : Lassoued, Delarue, Launay, & Michon, 2008;

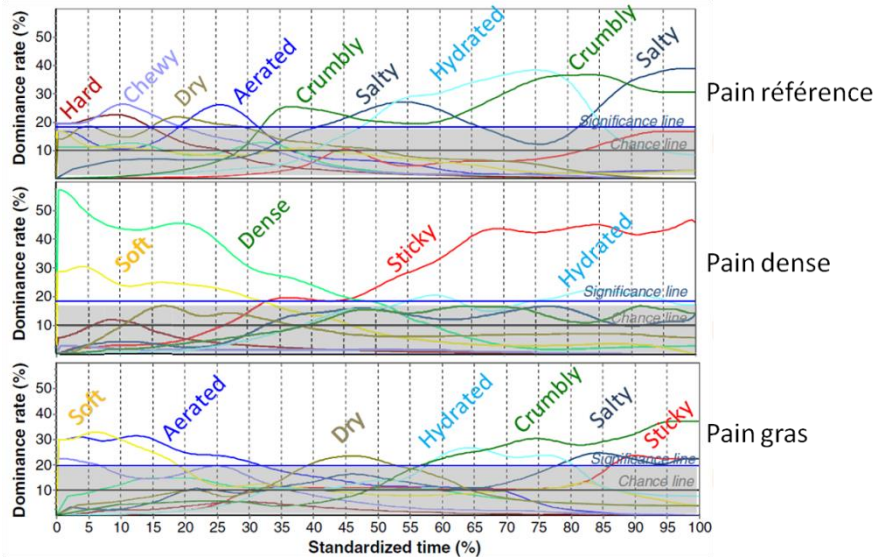
d : Panouillé, Saint-Eve, Déléris, Le Bleis, & Souchon, 2014;

e : Gámbaro *et al.*, 2002;

f : Callejo, Vargas-Kostiuk, & Rodríguez-Quijano, 2015 ;

np = non précisé.

Contrairement à l'évaluation de l'apparence ou du toucher, celle de la texture en bouche a lieu lors de la destruction de l'aliment jusqu'à son ingestion. La texture en bouche est donc une perception qui résulte de l'interaction entre l'aliment et les organes de la bouche (dents, langue, palais...). Son évaluation reflète la déstructuration du produit en particules et son hydratation par la salive. Elle peut être par exemple caractérisée par des descripteurs comme « friable » ou « hydraté ». Ces modifications de structure au cours du temps conduisent à des perceptions dynamiques, comme le montrent Panouillé *et al.* (2014) dans le cas de différents pains (Figure I.2-1).



**Figure I.2-1 : Dynamiques des perceptions de texture de 3 mies, évaluées par Dominance Temporelle des Sensations (Panouillé *et al.*, 2014)**

Dans cette étude, les auteurs ont observé que différentes perceptions dominantes se succèdent au cours du temps, dans un ordre différent pour les trois échantillons de mie. Ainsi, les pains référence et gras sont perçus avec des notes dominantes « élastique » et « aéré » au début de la mastication alors que le pain dense est perçu « mou » et « dense ». En fin de mastication, les différences sont plus faibles puisque tous les pains sont perçus « hydratés » et/ou « friables » et « salés ». A notre connaissance, une seule équipe (Gao, Chan, & Zhou, 2016) s'est penchée, très récemment, sur la problématique d'étudier les dynamiques de perception de texture dans le cas d'un échantillon hétérogène de pain, contenant à la fois de la mie et de la croûte.

#### 1.2.1.2. Impact de la structure du pain et de ses propriétés mécaniques sur la texture

D'après la définition de Szczesniak, la texture du pain est impactée par ses propriétés structurales et mécaniques. En effet, des corrélations ont été identifiées entre des attributs liés à la texture et évalués de manière visuelle, tactile ou orale, et des propriétés structurales et mécaniques évaluées par des méthodes instrumentales. Ainsi, Lassoued *et al.* (2008) ont montré dans une étude portant sur 15 pains moulés de densités variées (0,25 à 0,35 g/cm<sup>3</sup>) que i) les attributs « finesse de la mie » et « homogénéité des alvéoles » (apparence) étaient bien corrélés avec la finesse de la mie mesurée par analyse d'images, et que ii) la perception d'élasticité (toucher) était corrélée avec le module d'Young de la mie obtenu par un test de compression. Dans une autre étude, également sur des pains moulés, les attributs de texture (visuelle, tactile et orale) pouvaient être prédits par une régression des moindres carrés partiels (PLS) à partir de 4 paramètres instrumentaux de texture (Hardness (dureté), Springiness (élasticité), Cohesiveness (cohésion) et Chewiness (masticabilité, définie par Hardness x

Springiness x Cohesiveness) évalués par TPA (Texture Profile Analysis) (Gámbaro *et al.*, 2002). Le TPA est une méthode instrumentale qui a été justement développée dans le but de prédire les perceptions de texture en bouche, en « mimant » le début de l'acte de mastication par l'application une double compression sur un échantillon (Bourne, 2004). Le développement de telles méthodes montrent bien que la texture en bouche ne peut pas être expliquée uniquement par les propriétés structurelles et mécaniques de l'aliment. Il faut également tenir compte de la transformation du produit en un bol alimentaire, notamment pour étudier l'évolution des perceptions de texture au cours de la mastication (Panouillé *et al.*, 2014). Ce point sera discuté dans la **partie I.3** de ce chapitre.

## 1.2.2. Perceptions sapides

### 1.2.2.1. *Description des perceptions sapides*

Quatre saveurs sont évaluées dans le cas du pain : le salé, le sucré, l'acide et l'amer. Les saveurs sucrée, acide et amère sont généralement faiblement perçues dans les pains blancs (Heenan *et al.*, 2008). La saveur acide est plutôt une saveur caractéristique retrouvée dans les pains au levain, due à l'action des bactéries qui produisent des acides organiques (Heenan *et al.*, 2008; Lotong *et al.*, 2000). La saveur amère est une saveur typiquement retrouvée dans les pains complets. L'acide pinélique a notamment été identifié comme étant le contributeur majoritaire de la saveur amère dans la mie de pains complets et proviendrait de l'oxydation de l'acide linoléique apporté par la farine (Bin & Peterson, 2016). La perception salée est en revanche perçue dans les pains blancs et est importante pour l'acceptabilité du produit par les consommateurs. Il a d'ailleurs été démontré que la quantité de sel, permettant une acceptabilité maximale chez les consommateurs anglais, était de 1,43 g pour 100 g de pain blanc (Conner, Booth, Clifton, & Griffiths, 1988). En raison des recommandations nutritionnelles visant à réduire la consommation de sel dans les aliments, de nombreuses études portent sur les problématiques de réduction du sel dans le pain, comme par exemple la préservation des qualités sensorielles (Pflaum, Konitzer, Hofmann, & Koehler, 2013; Le Bleis, 2014; Panouillé *et al.*, 2014; Tournier, Grass, Septier, Bertrand, & Salles, 2014; Israr, Rakha, Sohail, Rashid, & Shehzad, 2016). Les saveurs du pain sont donc généralement impactées par les matières premières (levain, farine complète ou sel). Certaines études ont montré l'importance de la structure du pain sur les perceptions salées. Elles sont détaillées dans le paragraphe suivant.

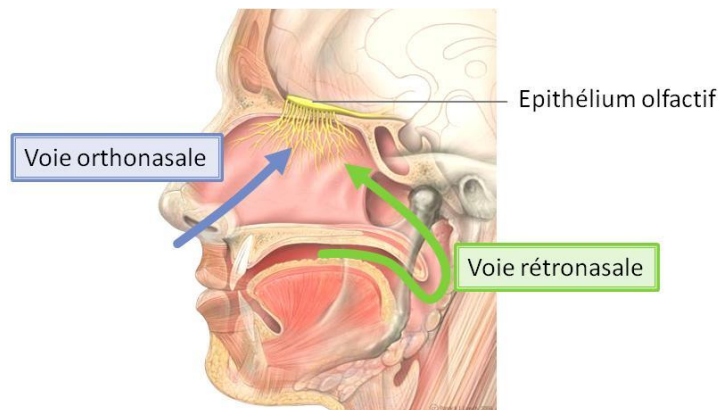
### 1.2.2.2. *Impact de la structure et de la composition sur la perception de sel*

La perception salée est non seulement influencée par la quantité initiale de sel ajoutée mais aussi par la structure et la texture du pain. Si on considère des pains de structure et de texture équivalentes, le pain perçu comme étant le plus salé est celui qui contient le plus de sel (Conner *et al.*, 1988). Par contre, si on considère des pains de teneur constante en sel (1,5 g pour 100 g de farine), un pain plus dense et avec des alvéoles plus fines est perçu moins salé (Pflaum *et al.*, 2013). Un résultat similaire a été obtenu entre deux pains blancs de même teneur en sel (1,2 % en masse par rapport à la masse totale des ingrédients avant cuisson) mais de densités différentes, par Panouillé *et al.* (2014). Dans cette étude (cf. **Figure I.2-1**), la perception salée n'est pas dominante dans le cas du pain dense, au contraire du pain de référence. Une des hypothèses probables avancées par Pflaum *et al.* (2013) est qu'une taille plus grande des alvéoles (pain moins dense) conduit à une libération plus rapide du sodium et donc provoque une hausse de la perception salée. Les mécanismes à l'origine de la perception salée commencent à être bien connus dans la littérature, c'est pourquoi nous ne nous y sommes pas intéressés dans ces travaux de thèse.

### 1.2.3. Perceptions aromatiques (odeurs et arômes)

#### 1.2.3.1. *Description des perceptions aromatiques*

Les perceptions aromatiques sont déclenchées lors de la stimulation des récepteurs olfactifs par des composés volatils odorants. On distingue l'odeur, qui correspond à la perception des composés odorants *via* la voie orthonasale et l'arôme, perçu *via* la voie rétronasale (**Figure I.2-2**). Ce dernier ne doit pas être confondu avec la flaveur, qui correspond à la « combinaison complexe des sensations olfactives, gustatives et trigéminales perçues au cours de la dégustation » (Norme ISO 5492, 2008).



**Figure I.2-2 : Perception de l'odeur (voie orthonasale) ou de l'arôme (voie rétronasale)**

Les descripteurs aromatiques (odeur ou arôme) concernant le pain, retrouvés dans la littérature, peuvent être classés en différentes catégories, dépendantes de la composition ou du procédé de fabrication des pains :

- le type de farine (blé, seigle, complète, orge...)
- la fermentation (levure, fermenté...)
- la cuisson (toasté, brulé, malté...)
- les ingrédients spéciaux (levain, graines...)
- autres (lacté, beurré, vanille, noisette...) (Lotong *et al.*, 2000; Hersleth *et al.*, 2005; Heenan *et al.*, 2008; Callejo *et al.*, 2015; Rødbotten *et al.*, 2015; Starr, Hansen, Petersen, & Bredie, 2015; Bagdi *et al.*, 2016).

Dans ces travaux portant sur la perception des pains, une large gamme de produits est étudiée, allant des pains spéciaux, tels que la foccacia, au pain de seigle (Heenan *et al.*, 2008) en passant par des pains typiques comme le pain au levain (Lotong *et al.*, 2000) ou le pain complet (Bagdi *et al.*, 2016). Les profils aromatiques décrits sont généralement riches (jusqu'à 23 descripteurs aromatiques utilisés pour décrire le pain au levain). A notre connaissance, une seule étude de la littérature a effectué le profil aromatique de pains de type baguette française (Martin *et al.*, 2008). Mais encore une fois, la gamme de produits était assez large puisque les baguettes étudiées étaient fabriquées à partir de différents types de farine et de différents procédés de panification (utilisation du levain notamment).

De même que les perceptions de texture en bouche, les perceptions d'arôme sont dynamiques (Taylor & Linforth, 1996). Cependant, ces dynamiques n'ont jamais été étudiées pour le pain, même si les résultats pourraient permettre de mieux concevoir des produits aux propriétés sensorielles ciblées.

### 1.2.3.2. *Impact de la composition aromatique des pains sur les perceptions aromatiques*

La perception aromatique est déterminée par la qualité et la quantité de molécules volatiles odorantes présentes en phase gazeuse au-dessus du pain et pouvant atteindre les récepteurs olfactifs. De nombreux composés volatils odorants contribuant à l'arôme du pain ont été identifiés dans la mie et la croûte (cf. **Tableau I.1-4**). Les perceptions aromatiques induites par ces composés pris individuellement sont bien connues. Par exemple, la 2-acétyl-1-pyrroline, ou le 3-méthylbutanal, identifiés comme des molécules clé de l'arôme de la croûte, sont perçus respectivement comme « torrifié » et « malté » (Zehentbauer & Grosch, 1998a). Cependant, en mélange, des phénomènes de synergie ou de masquage conduisent à la création d'une nouvelle perception aromatique (Salles, Briand, Brachais, & Voilley, 2012). Il est donc nécessaire de connaître l'ensemble des molécules volatiles libérées par le pain lors de sa consommation pour mieux comprendre les perceptions aromatiques.

Par le biais de modèles statistiques, certaines analyses chimiques permettent de prédire des descripteurs aromatiques perçus dans le pain. Dans le cadre d'une étude sur le vieillissement du pain, Jensen, Oestdal, Skibsted, Larsen, & Thybo, (2011) ont pu prédire, par le biais d'une régression PLS, la perception de différents attributs d'odeur et d'arômes de pain blanc ou de pain complet à partir de leur composition aromatique, mesurée par chromatographie en phase gazeuse (CPG-MS) couplée à une extraction Purge & Trap (entraînement des composés volatils par un gaz inerte et concentration sur un piège). Ainsi, le descripteur d'arôme « dough » (pâte), évalué en bouche dans le pain blanc et caractéristique d'un pain frais, serait lié à des concentrations élevées en 2,3-butanedione et décane, et dans une moindre mesure au phényléthanol et 1-propanol (Jensen *et al.*, 2011). Si le 2,3-butanedione est une molécule odorante caractérisée par une note « beurre », le décane n'est pas connu pour ces propriétés organoleptiques. Le modèle proposé par Jensen *et al.* ne permet donc pas forcément une meilleure compréhension des perceptions aromatiques. Cette étude montre les limites des liens que l'on peut trouver entre les composés volatils extraits du pain et les perceptions aromatiques.

Une autre étude portant sur l'univers produit plus vaste des pains spéciaux (ex : pain au seigle, au levain, multi graines, bagel, foccacia...) a pu prédire 5 descripteurs d'odeur, 5 de flaveur (arôme + goût) et 1 d'arrière-goût à partir de la composition aromatique des différents pains, mesurée par spectrométrie de masse couplée à une réaction de transfert de proton (PTR-MS) (Heenan, Dufour, Hamid, Harvey, & Delahunty, 2009). Cette méthode analytique ne comporte pas d'étape de séparation chromatographique, ce qui rend difficile l'identification des molécules. Malgré tout, elle permet de mesurer une empreinte aromatique composée d'ions. L'objectif de l'étude était donc de démontrer la faisabilité d'une approche visant à prédire les perceptions aromatiques à partir d'une empreinte et non de molécules individuelles. Les auteurs montrent que les perceptions de 4 descripteurs (les odeurs « dairy » (lacté), « malty » (malté), le goût « sweet » (sucré) et l'arôme « buttery » (beurre)) peuvent être prédites par le même groupe d'ions de rapport masse/charge  $m/z$  87, 97, 117 (corrélation positive) et 63 (corrélation négative). L'association de ces 4 descripteurs avec les ions  $m/z$  87 (potentiellement dus à la 2,3-butanedione, au 2-méthylbutanal ou au 2-pentanone, composés aux notes respectives de « beurré », « malté » ou « fruité ») et  $m/z$  97 (furfural, notes « amandes ») semble cohérente, et valide l'approche proposée.



#### 1.2.3.1. *Impact de la structure et de la texture des pains sur les perceptions aromatiques*

De nombreuses études de la littérature ont montré que la libération des composés volatils dépendait des interactions entre composés volatils et composition et structure de la matrice alimentaire. Dans le pain, l'amidon peut être à l'origine d'interactions chimiques avec les composés volatils. Plus particulièrement, il a été montré que l'amylose peut retenir certains composés d'arômes comme les alcools, par la formation de complexes chimiques (Arvisenet, Le Bail, Voilley, & Cayot, 2002; Delarue & Giampaoli, 2000). La structure du pain joue au niveau des phénomènes physiques de transfert de matière. L'épaisseur des parois et la porosité de la mie conduisent à une surface d'échange plus ou moins grande entre la matrice et l'air, ce qui peut impacter la libération des molécules d'arômes. En plus de la structure de l'aliment, sa texture (mesurée instrumentalement) impacte la libération des composés volatils. Boland, Buhr, Giannouli, & van Ruth, (2004) ont montré, en comparant des gels de gélatine, d'amidon et de pectine aromatisés avec concentrations équivalentes en composés d'arômes, qu'un gel plus ferme conduisait à une plus faible libération des composés volatils. A notre connaissance, l'impact de la structure et de la texture du pain sur la libération des composés d'arômes et sur les perceptions aromatiques n'a pas été étudié dans les travaux publiés de la littérature. Ces mécanismes semblent pourtant essentiels pour mieux comprendre les perceptions aromatiques du pain.

Un autre facteur pouvant influencer les perceptions aromatiques en bouche sont les interactions sensorielles avec les autres perceptions. En bouche, le cerveau perçoit simultanément les signaux olfactifs, sapides et tactiles, ce qui conduit à la formation d'interactions cognitives (Delwiche, 2004). Ces interactions peuvent être responsables de la sur- ou sous-évaluation de certaines perceptions, notamment aromatiques, en raison de la présence de perceptions congruentes ou anti-congruentes. Par exemple, les perceptions « fruitée » et « sucrée » sont congruentes car elles sont naturellement associées dans les fruits. En augmentant uniquement la quantité de sucre, la perception « fruitée » peut être surévaluée par rapport à la concentration réelle en composés d'arômes à l'origine de cette perception (Noble, 1996).

Les perceptions aromatiques sont donc des perceptions complexes issues d'interactions physico-chimiques, physiques, et sensorielles. Afin de mieux les comprendre, il est essentiel d'étudier les différents mécanismes à leur origine.

#### 1.2.4. Méthodes utilisées pour caractériser les propriétés sensorielles du pain

On peut distinguer deux types de méthodologies pour décrire et quantifier les propriétés sensorielles : (i) les méthodes descriptives, qui permettent d'obtenir une image sensorielle globale du produit et (ii) les méthodes dynamiques, qui permettent de caractériser les variations des différentes perceptions au cours de la consommation du produit.

##### 1.2.4.1. *Méthodes descriptives*

Selon un sondage réalisé en 2011 auprès de 104 professionnels de l'analyse sensorielle, la méthode descriptive la plus utilisée dans les études sensorielles est le profil conventionnel (de type QDA<sup>®</sup>, Quantitative Descriptive Analysis) (Delarue, Lawlor, & Rogeaux, 2014). Il est reconnu également comme étant la méthode de référence pour caractériser un produit. En plus du profil conventionnel,



il existe d'autres méthodes descriptives, dites alternatives, pouvant être classées en différentes catégories (**Tableau I.2-2**), dont les forces et les faiblesses ont été mises en avant par *Delarue et al.* (2014).

**Tableau I.2-2 : Exemples de méthodes sensorielles descriptives**

Catégorie	Méthodes	Principe	Références
<b>Méthodes basées sur la description verbale</b>	Profil Flaveur	Notation des produits sur une échelle d'intensité, sur la base d'attributs de flaveur	Cairncross & Sjostrom, 1950
	Profil Texture	Notation des produits sur une échelle d'intensité, sur la base d'attributs de texture	Brandt, Skinner, & Coleman, 1963
	Profil conventionnel (QDA®)	Notation des produits sur une échelle d'intensité, sur la base d'attributs communs (définis en amont)	Stone, Sidel, Oliver, Woolsey, & Singleton, 1974
	Profil libre choix	Notation des produits sur une échelle d'intensité, sur la base d'attributs individuels	Williams & Langron, 1984
	Spectrum®	Profil avec attributs universels applicables à tous types de produits	Muñoz & Cville, 1998
	Profil Flash	Classement des produits sur la base d'attributs individuels permettant la discrimination des produits	Dairou & Sieffermann, 2002
	Check-All-That-Apply (CATA)	Sélection des attributs qui décrivent le mieux le produit parmi une liste de termes	Dooley, Lee, & Meullenet, 2010
<b>Méthodes basées sur des mesures de similarité et différence</b>	Tri libre	Classement des produits en fonction de leurs similarités	Lawless, 1989
	Projective mapping ou Napping®	Positionnement des produits dans un espace défini (feuille de papier) en fonction de leurs similarités	Risvik, McEwan, Colwill, Rogers, & Lyon, 1994 ; Pagès, 2005
<b>Méthodes basées sur la comparaison à une référence</b>	Profil Pivot®	Description libre des différences un produit et une référence (appelé pivot)	Thuillier, 2007
	Polarized sensory positioning (PSP)	Positionnement des produits par rapport à 3 pôles ou produits de références	Teillet, Schlich, Urbano, Cordelle, & Guichard, 2010

Le choix de la méthode sensorielle dépend non seulement de l'objectif de l'étude et de son contexte, mais également du produit étudié. Dans la majorité des études sur le pain, la méthode utilisée est le profil conventionnel. Il a l'avantage de permettre la description et la quantification de tous les aspects sensoriels du pain (apparence, texture, arômes, odeur, etc.). Les panélistes sont amenés à noter l'intensité d'un descripteur dans un produit sur une échelle non structurée après avoir regardé, touché, flairé, ou mangé le produit. Les données quantitatives obtenues sont utilisées pour comparer des produits entre eux, ou peuvent être mises en relation avec des mesures instrumentales ou hédoniques. Sa mise en place nécessite un panel de juges, entraînés à utiliser un vocabulaire commun.

*Lassoued et al.* (2008) ont cependant montré que d'autres méthodes descriptives peuvent être appliquées au pain, comme par exemple le Profil Flash. Cette méthode descriptive rapide a permis à des experts (en évaluation sensorielle ou en boulangerie) de décrire en une session les caractéristiques visuelles et tactiles de 15 pains de compositions variées. Les résultats de Profil Flash

ont été corrélés avec succès à des mesures instrumentales de structure et de texture (cf. [section 1.2.1.2](#)).

Cependant, aucune de ces méthodes ne permet d’appréhender la dimension temporelle des perceptions. Pour cela, il existe des méthodes dynamiques plus spécifiques, présentées dans le paragraphe suivant.

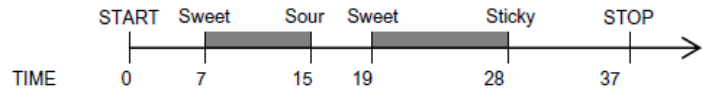
#### 1.2.4.2. *Méthodes dynamiques*

De nombreuses méthodes permettent d’étudier l’évolution des perceptions au cours du temps. La méthode de référence pour étudier la temporalité des perceptions est la méthode du Temps–Intensité (TI) ([Cliff & Heymann, 1993](#)). Cette méthode évalue en continu l’évolution de l’intensité d’un descripteur (ou deux avec la méthode TI double-attributs) au cours du temps. Elle permet d’obtenir des données quantitatives, mais peut être très lourde à mettre en place si le nombre de produits étudiés ou le nombre d’attributs sont élevés.

Une alternative à cette méthode pourrait être le profil progressif (PP) ([Jack, Piggott, & Paterson, 1994](#)) : les panelistes sont amenés à évaluer l’intensité de différents attributs à des instants définis de la mastication. Cette méthode permet donc d’obtenir l’évolution discontinue de l’intensité des attributs au cours du temps. Elle a l’avantage d’être quantitative comme le profil conventionnel ou le TI, tout en étant moins lourde que le TI si le nombre d’instants étudiés est assez restreint. Elle a été très peu utilisée jusqu’à maintenant.

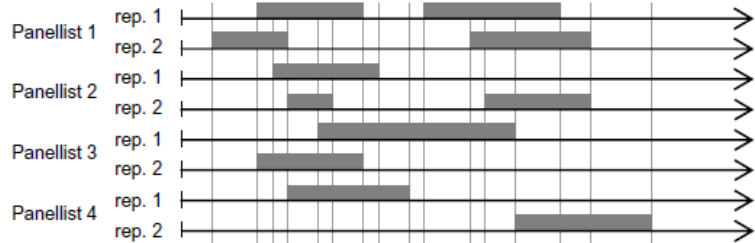
Récemment, d’autres méthodes plus rapides ont été développées, comme par exemple, la méthode de Dominance Temporelle des Sensations (DTS). Elle consiste à déterminer les attributs successifs perçus comme dominants au cours de la consommation d’un produit. Pour cela, les panélistes sont amenés à sélectionner, à chaque instant de la consommation, parmi une liste d’attributs, celui qui est dominant, *i.e.* celui qui attire leur attention sans pour autant être le plus intense ([Pineau et al., 2009](#)). Un taux de dominance pour chaque attribut à un instant donné est ensuite obtenu en calculant la fréquence de citation de chaque attribut pour l’ensemble du panel ([Figure 1.2-3](#)). Les courbes représentant le taux de dominance de chaque attribut en fonction de temps sont compilées sur le même graphe, permettant de visualiser les dynamiques de perceptions au cours de la consommation. Cette méthode a déjà été appliquée pour étudier les dynamiques de perceptions de texture et de sel lors de la consommation de la mie de pain ([Le Bleis, Billy, Saulnier, & Della Valle, 2014](#) ; [Panouillé et al., 2014](#) ; cf. [Figure 1.2-1](#)), mais aucune étude n’a effectué de DTS avec des attributs aromatiques sur le pain.

Data for one evaluation by one panellist

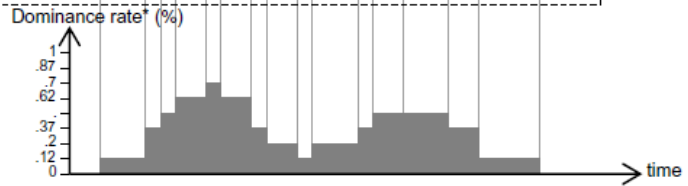


█ : Periods where sweet sensation is dominant

Periods where sweet sensation is dominant for one product at panel level (4 panellists x 2 replications in this example)



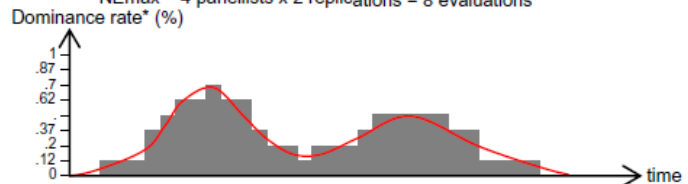
number of evaluations, NE, where the attribute Sweet is dominant in the course of the evaluation



Computation of the dominance rates for the panel

\* Dominance rate = NE / NEmax  
NEmax = 4 panellists x 2 replications = 8 evaluations

TDS curve : smoothing of the dominance rates for Sweet (TRANSREG, SAS ®)



Superimposition of the different attributes

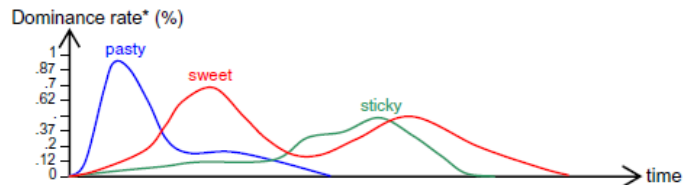


Figure I.2-3 : Méthodologie pour obtenir les courbes DTS (d'après Pineau *et al.*, 2009)

Une étude récente, réalisée sur des aliments modèles (gels de différentes propriétés mécaniques), a comparé la méthode DTS au PP et au QDA® (Devezeaux de Lavergne, van Delft, van de Velde, van Boekel, & Stieger, 2015a). Elle a montré que l'intérêt du PP, par rapport aux 2 autres méthodes, est de pouvoir suivre l'évolution de l'intensité d'un attribut au cours du temps. Cette méthode est donc d'intérêt dans le cadre d'études cherchant à comprendre les mécanismes à l'origine des dynamiques de perceptions, et a donc été choisie dans le cadre de ces travaux de thèse.

### 1.2.5. Propriétés des pains et perceptions sensorielles : synthèse

Dans cette deuxième partie, il a été montré qu'au-delà des liens « directs » entre structure et perception de texture, entre concentration en sel et perception salée, ou entre concentration en composés d'arômes et perception aromatique, les perceptions d'un produit tel que le pain sont bien plus complexes du fait des interactions physicochimiques, physiques et sensorielles qui existent.

Jusqu'à présent, les différentes perceptions intervenant lors de la consommation du pain ont majoritairement été évaluées grâce à des méthodes descriptives comme le profil conventionnel. Les aspects dynamiques des perceptions en bouche de ce type de produit sont donc très peu connus. Pourtant, la caractérisation de ces dynamiques de perception pourrait permettre de mieux comprendre les perceptions d'arômes et de texture ainsi que les mécanismes pouvant les engendrer.

En effet, pour pouvoir être dégluti puis digéré, l'aliment est transformé au cours du temps par le processus oral. Celui-ci engendre des modifications importantes de structure et contribue également à la libération de stimuli sensoriels comme les composés volatils, perçus par la sphère orosensorielle. Il est donc essentiel d'étudier ces transformations afin de mieux comprendre les perceptions en bouche, et à terme mieux comprendre les leviers sensoriels à l'origine de l'appréciation par les consommateurs.

### I.3. La transformation du pain en bouche lors du processus oral

Le processus oral a pour but de préparer l'aliment à la déglutition, afin que celui-ci soit transporté jusque dans l'estomac et digéré. La transformation de l'aliment va être dépendante à la fois de la structure de l'aliment et de l'individu qui réalise cet acte de consommation. Par exemple, un liquide va uniquement être dilué par la salive et rapidement avalé, tandis qu'un aliment solide va être gardé plus longtemps en bouche afin d'être réduit en particules et lubrifié pour former un bol alimentaire cohésif (Hutchings & Lillford, 1988).

J'ai choisi de focaliser cette partie de l'état de l'art sur le processus oral de produits céréaliers en particulier, dont le pain fait partie. Dans un premier temps, une rapide description de l'anatomie orale est proposée, puis les mécanismes de formation du bol alimentaire ainsi que le rôle du processus oral sur les perceptions de texture et d'arômes sont détaillés.

#### I.3.1. Généralités : anatomie orale et physiologie

##### I.3.1.1. Cavité orale

Lors de sa consommation, l'aliment est introduit dans la cavité orale. Elle est définie comme l'espace vide entre la langue et le palais, les lèvres et le velum (Figure I.3-1). Le velum, également appelé palais mou, permet la fermeture de la cavité orale lorsque le produit est en bouche et de la cavité nasale lorsque le produit est dégluti (Chen, 2009). Lors de la déglutition, l'épiglotte assure le guidage du bol alimentaire afin que celui-ci atteigne l'œsophage sans danger pour les voies respiratoires.

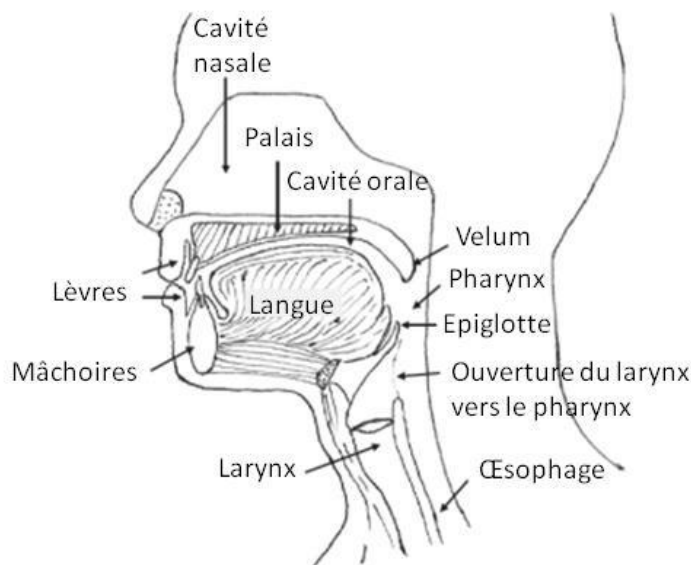
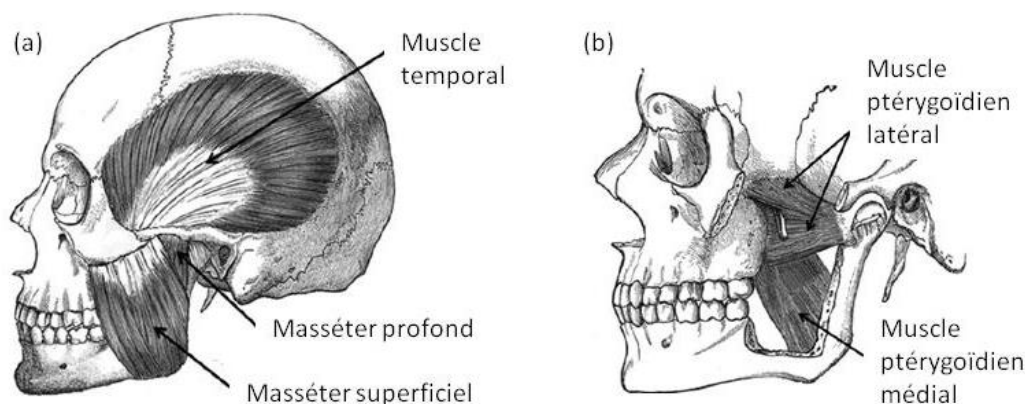


Figure I.3-1 : Anatomie de la cavité oro-nasale (Chen, 2009)

Dans la cavité orale, l'aliment est transformé progressivement en un bol alimentaire par deux processus principaux: la mastication et l'incorporation progressive de la salive. L'incorporation de la salive conduit d'une part à l'hydratation de l'aliment et d'autre part à l'hydrolyse enzymatique de ses constituants.

I.3.1.2. *Mastication*

La mastication résulte de l'action conjointe des dents, de la langue et des muscles de la mâchoire (**Figure I.3-2**).



**Figure I.3-2 : Principaux muscles (masséters, muscle temporal (a) et muscles ptérygoïdiens (b)) intervenant lors de la mastication d'un aliment (Foegeding *et al.*, 2011)**

Les contractions des muscles dits « de fermeture » – masséter, muscles temporal et ptérygoïdien médial – ou celles des muscles dits « d'ouverture » – muscle ptérygoïdien latéral, entre autres – entraînent respectivement la fermeture ou l'ouverture de la mâchoire (Foegeding *et al.*, 2011). La succession de ces deux événements correspond à un cycle masticatoire. Le signal indiquant à un muscle de se contracter génère une signature bioélectrique qui peut être enregistrée et quantifiée à l'aide de l'électromyographie (EMG) (Vinyard & Fiszman, 2016). Le nombre et la fréquence des cycles masticatoires effectués avant la déglutition ou encore la force appliquée par les mâchoires dépendent à la fois de l'aliment ingéré et de l'individu (Kohyama, Mioche, & Martin, 2002; van der Bilt, Engelen, Pereira, van der Glas, & Abbink, 2006). Par exemple, un morceau de 2 g de tartine de pain croustillant (marque « Wasa », Suède) subit en moyenne 37,4 cycles avant d'être dégluti par des sujets âgés (66,7 ans de moyenne, n=23), alors qu'il ne subit que 27,2 cycles pour des sujets jeunes (29,4 ans, n=14). En comparaison, un morceau de 5 g de pomme est mastiqué 21,1 par les sujets âgés et 12,9 fois par les sujets jeunes (Kohyama *et al.*, 2002).

La dentition est également un paramètre important de l'appareil masticatoire. En effet, les personnes dotées d'un dentier complet sont moins efficaces pour réduire un aliment en fines particules (nombre de cycles et durée de mastication plus élevés) que des personnes avec une dentition intacte du même âge (Mishellany-Dutour, Renaud, Peyron, Rimek, & Woda, 2008).

Enfin, le nombre de cycles masticatoires peut varier même au sein d'une famille d'aliment. Dans le cas du pain, le nombre de cycles masticatoires dépend du type de pain, de la présence de croûte et du volume introduit en bouche (**Tableau I.3-1**).

**Tableau I.3-1 : Exemples de nombre de cycles masticatoires mesurés lors de la consommation de pain par des individus en bonne santé**

Produits	Quantité/volume ingéré	Nombre moyen de cycles mesurés	Nombre de sujets	Age	Sexe	Réf.
Baguette de boulangerie	5 g de mie et croûte	43,7 (36,2 à 51,0)	5	32-50 ans	♀♂	a
Baguette de supermarché	5 g de mie et croûte	42,5 (31,2 à 50,2)	5	32-50 ans	♀♂	a
Pain blanc	8 cm <sup>3</sup> de mie	17,5 ± 8,3	15	20-40 ans	♀	b
Pain de seigle complet	8 cm <sup>3</sup> de mie	20,3 ± 8,1	15	20-40 ans	♀	b
Baguette	5 g de mie et croûte	62,7 ± 21,8	14	22-26 ans	♀♂	c
Pain enrichi en fibre	20 cm <sup>3</sup> de mie	30 ± 14	16	23-56 ans	♀♂	d

a : Tournier *et al.* (2014)

b : Pentikäinen *et al.* (2014)

c : Gao *et al.* (2015)

d : Le Bleis *et al.* (2016)

### I.3.1.3. Salive

L'incorporation de salive dans le bol alimentaire contribue également à la transformation de l'aliment en bouche. La salive est composée à 99% d'eau et à 1% d'électrolytes (sodium, potassium, chlorure, bicarbonate, calcium, magnésium et phosphates), d'enzymes (amylases, lipases), et de glycoprotéines (mucines) (Humphrey & Williamson, 2001). Une liste non exhaustive des composés retrouvés dans la salive et de leur concentrations moyennes est proposée en annexe de ce document (Féron & Salles, 2013).

La salive est produite par les glandes parotide, submandibulaire, sublinguale, et par de petites glandes mineures (Humphrey & Williamson, 2001). La production de salive par les différentes glandes salivaires évolue au cours de la journée et peut être stimulée par différents facteurs comme la mastication ou l'acidité (Tableau I.3-2).

**Tableau I.3-2 : Contribution moyenne (%) des différentes glandes salivaires à la production totale de salive sous différentes conditions de stimulation (Aps & Martens, 2005)**

Glande	Sommeil	Pas de stimulation	Stimulation mécanique	Stimulation par acide citrique
Parotide	0	21	58	45
Submandibulaire	72	70	33	45
Sublinguale	14	2	2	2
Mineures	14	7	7	8

Le flux salivaire varie de façon significative entre les différentes conditions de stimulation et entre les individus. Une étude portant sur 22 sujets a montré une différence significative entre le flux salivaire en condition non stimulée ( $0,38 \pm 0,18$  mL/min) et celui en condition stimulée par la mastication d'un

morceau de Parafilm ( $1,12 \pm 0,45$  mL/min) (Engelen, de Wijk, Prinz, van der Bilt, & Bosman, 2003). Dans cette étude, le sexe des individus ne semble pas induire de différences significatives entre les flux salivaires, quelque soient les conditions de stimulation ( $0,35 \pm 0,17$  mL/min pour les femmes et  $0,45 \pm 0,18$  mL/min pour les hommes, en conditions non stimulées).

Chaque individu est donc caractérisé par une physiologie orale unique. Cependant, la mesure seule des paramètres physiologiques ne reflète pas la façon dont le produit va être transformé au cours du temps. Par exemple, Engelen, Fontijn-Tekamp, & Bilt, 2005 ont montré que la physiologie orale des sujets ( $n=266$ ) expliquait seulement 10 % de la variabilité du nombre de cycles masticatoires nécessaires pour déglutir un produit dur tel que la carotte ou la cacahuète. Ces observations mettent en évidence le besoin d'étudier, en plus de la physiologie orale des individus, l'évolution des propriétés de l'aliment au cours du processus oral.

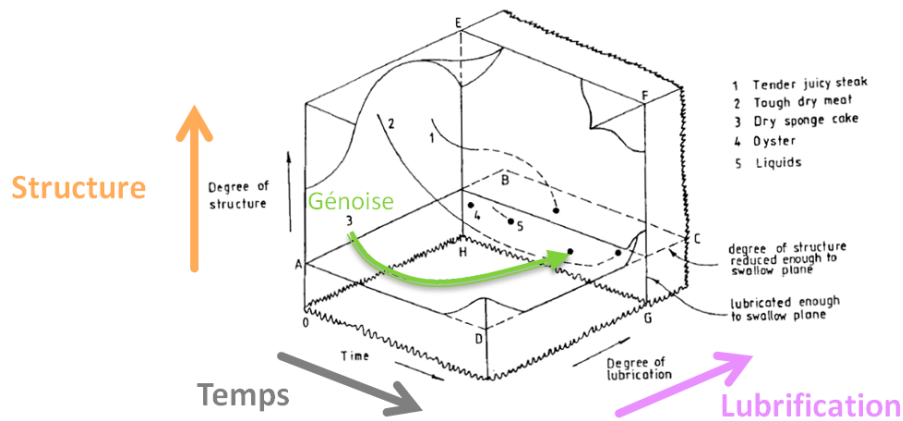
### 1.3.2. La formation du bol alimentaire

#### 1.3.2.1. *Les différentes étapes d'un processus dynamique*

Malgré les différences physiologiques interindividuelles, un schéma commun de manipulation des aliments solides en bouche est décrit dans la littérature (Lucas, Prinz, Agrawal, & Bruce, 2002; Hiimeae, 2004). Dans un premier temps, l'aliment est transporté de l'environnement extérieur vers la cavité orale où il est fracturé par le premier coup de dent. Le déplacement de l'aliment des incisives vers les molaires correspond à la première étape de transport (« stage I Transport ») du modèle d'Hiimeae (Hiimeae, 2004). Ensuite, l'aliment est réduit en particules par la mastication, et hydraté par la salive. Lors de cette étape, une opération de sélection des particules est mise en place (Chen, 2009). Les particules les plus grandes sont sélectionnées pour être de nouveau fractionnées par les molaires alors que les particules de plus petites tailles sont envoyées dans le fond de la cavité orale (Lucas *et al.*, 2002). Ce déplacement des morceaux d'aliments des molaires vers le fond de la cavité orale (appelé oropharynx) correspond à la deuxième étape de transport (« stage II Transport ») du modèle d'Hiimeae. Les particules lubrifiées qui s'accumulent ainsi dans l'oropharynx forment ce que l'on appelle un bol alimentaire (Hiimeae, 2004). La dernière étape du processus oral est la déglutition de ce bol. Elle correspond au transport du bol de la cavité orale vers l'œsophage en passant par le pharynx (Chen, 2009). Elle peut être réalisée en une ou plusieurs fois pour une seule et même bouchée. Entre plusieurs déglutitions, des opérations de nettoyage sont menées à l'aide de la langue afin de regrouper les morceaux restants en bouche.

Le processus oral correspond donc à l'ensemble du processus mis en œuvre pour déstructurer l'aliment et former un bol alimentaire déglutissable, ceci allant du premier coup de dent à jusqu'à la déglutition finale. C'est un processus dynamique qui induit des changements progressifs de structure de l'aliment puis du bol alimentaire au cours du temps. Afin de mettre en évidence cette évolution des propriétés des aliments au cours du processus oral, un modèle de « trajectoires » a été proposé par Hutchings & Lillford, en 1988 (Figure 1.3-3).





**Figure I.3-3 : Théorie des « trajectoires », Hutchings & Lillford (1988)**

Ces chercheurs ont défini un modèle en 3 dimensions (temps, structure et lubrification) au sein duquel les variations des propriétés des bols sont représentées sous forme de « trajectoires ». Par exemple, la génoise est rapidement déstructurée, mais ne peut pas être déglutée immédiatement car elle n'est pas suffisamment lubrifiée. Hutchings et Lillford précisent que ces trajectoires dépendent à la fois du type d'aliment et des caractéristiques physiologiques des individus.

Etant donné le caractère dynamique du processus oral, il est essentiel d'étudier les propriétés du bol à plusieurs instants au cours du processus oral, afin de mieux comprendre les différentes transformations qui s'y opèrent.

#### 1.3.2.2. Transformations macroscopiques du pain au cours du processus oral

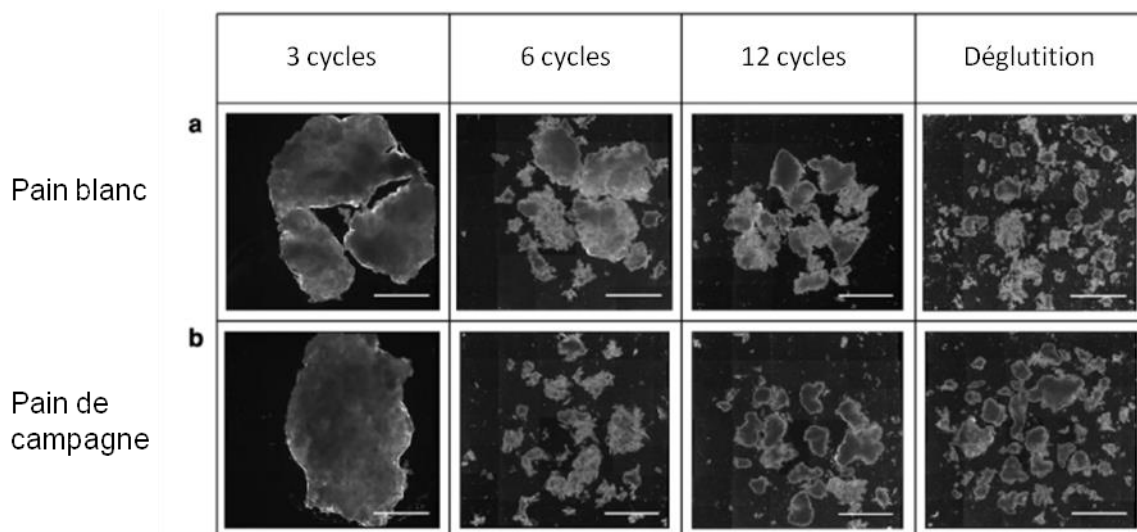
Jusqu'à présent, 8 études portant sur les propriétés de bols *in vivo* de pain sont référencées dans la littérature. Les objectifs et les principales conclusions de ces études sont résumés dans le **Tableau I.3-3**.

**Tableau I.3-3 : Détails des études réalisées sur les propriétés de bols *in vivo* de pains. M : Mie, MC : Mie et croûte, cyc : cycles, t<sub>D</sub> : temps à déglutition.**

Premier auteur (date)	Hoebler <i>et al.</i> (1998)	Tournier <i>et al.</i> (2012)	Le Bleis <i>et al.</i> (2013)	Panouillé <i>et al.</i> (2014)	Tournier <i>et al.</i> (2014)	Pentikäinen <i>et al.</i> (2014)	Gao <i>et al.</i> (2015)	Le Bleis <i>et al.</i> (2016)
<b>Produits</b>	Pain blanc (et pâtes)	Baguettes, pain de mie, pain de seigle	Pain blanc et pain de campagne	Pains blancs (référence, dense, avec mat. grasse)	Baguettes, pain de mie, pain de seigle	Pain blanc et pains de seigle (complets ou raffinés)	Pains blancs (baguette, pain four, pain vapeur)	Pains enrichis en fibres
<b>Sous-partie</b>	M	MC	M	M	MC	M	MC / M	M
<b>Volume/masse de l'échantillon</b>	Équivalent de 3 g de matière sèche	Format usuel de consommation	20 cm <sup>3</sup>	4 g	5 g	8 cm <sup>3</sup>	5 g / 13 cm <sup>3</sup>	20 cm <sup>3</sup>
<b>Temps étudiés</b>	t <sub>D</sub>	10, 20, 30 cyc., t <sub>D</sub>	3, 6, 12 cyc., t <sub>D</sub>	5 s, 10 s et t <sub>D</sub>	10, 20 cyc., t <sub>D</sub>	t <sub>D</sub>	t <sub>D</sub>	t <sub>D</sub> /3, 2t <sub>D</sub> /3, t <sub>D</sub>
<b>Nombre de sujets</b>	12	5	1	8	5	15	14 / 1	16
<b>Objectif</b>	Etudier les transformations physiques et chimiques en bouche dans 2 produits complexes	Elaborer une méthode d'analyse de texture d'images pour étudier la déstructuration des bols de pains	Caractériser les variations de la rhéologie, de la teneur en eau et de la taille des particules au cours du processus oral du pain	Evaluer l'effet de la structure et de la composition des pains sur la formation du bol et les perceptions de texture et de sel	Etudier l'influence des caractéristiques des pains et des individus sur la libération du sodium en bouche	Evaluer l'effet de la composition (blé ou seigle) sur le processus de mastication et l'hydrolyse de l'amidon	Etudier l'influence de la structure du pain sur le comportement de mastication et sur les propriétés des bols	Confirmer les mécanismes contrôlant la formation du bol de pain pendant la mastication
<b>Propriétés instrumentales du bol étudiées</b>	Taille des particules, teneur en eau, hydrolyse de l'amidon	Hétérogénéité	Taille des particules, teneur en eau, rhéologie capillaire et oscillatoire	Temps à déglutition, teneur en eau, rhéologie oscillatoire	Hétérogénéité, quantité de salive ajoutée, EMG, teneur en sodium	Taille des particules, teneur en eau, EMG, hydrolyse de l'amidon, microscopie	Taille des particules, teneur en eau, EMG, texture (back extrusion)	Taille des particules, teneur en eau, rhéologie capillaire
<b>Principale conclusion</b>	L'hydrolyse de l'amidon commence en bouche et dépend de la structure de l'aliment	La notion de contraste du bol par analyse d'images est le meilleur indice de la dégradation du pain en bouche	L'incorporation de la salive dans le bol de pain a plus d'impact sur son comportement rhéologique que sa fragmentation en particules	Les propriétés de structure et de texture des pains et des bols impactent les perceptions dynamiques salées et de texture	La libération du sel en conditions <i>in vivo</i> lors de la consommation de pain est en majorité expliquée par les paramètres de mastication	Les différences de structure entre le pain blanc et de seigle entraînent des différences de mastication et probablement de cinétiques de digestion	Une baguette avec une croûte sèche et épaisse demande une plus grande force de mastication et aboutit à un t <sub>D</sub> plus long qu'un pain vapeur sans croûte	Le degré de déstructuration du pain (caractérisé par des mesures rhéologiques) peut être prédit à partir de l'hydratation et de la fragmentation du bol

### Déstructuration de l'aliment en particules

Comme tout produit solide, le pain est progressivement réduit en particules par la mastication. A chaque instant du processus oral, une distribution de taille de particules peut être observée (**Figure I.3-4**).



**Figure I.3-4 : Illustration des variations de la taille des particules des bols issus de deux types de pain (pain blanc (a) et pain de campagne (b)) en fonction du nombre de cycles masticatoires d'un individu (Le Bleis, Chaunier, Della Valle, Panouillé, & Réguerre, 2013)**

La taille des particules des bols de pain peut être caractérisée soit par analyse d'images, soit par tamisage, soit par diffraction laser (**Tableau I.3-4**).

**Tableau I.3-4 : Récapitulatif des méthodes instrumentales de caractérisation de la taille des particules trouvées dans la littérature pour des produits céréaliers (adapté de Panouillé, Saint-Eve, & Souchon, 2016)**

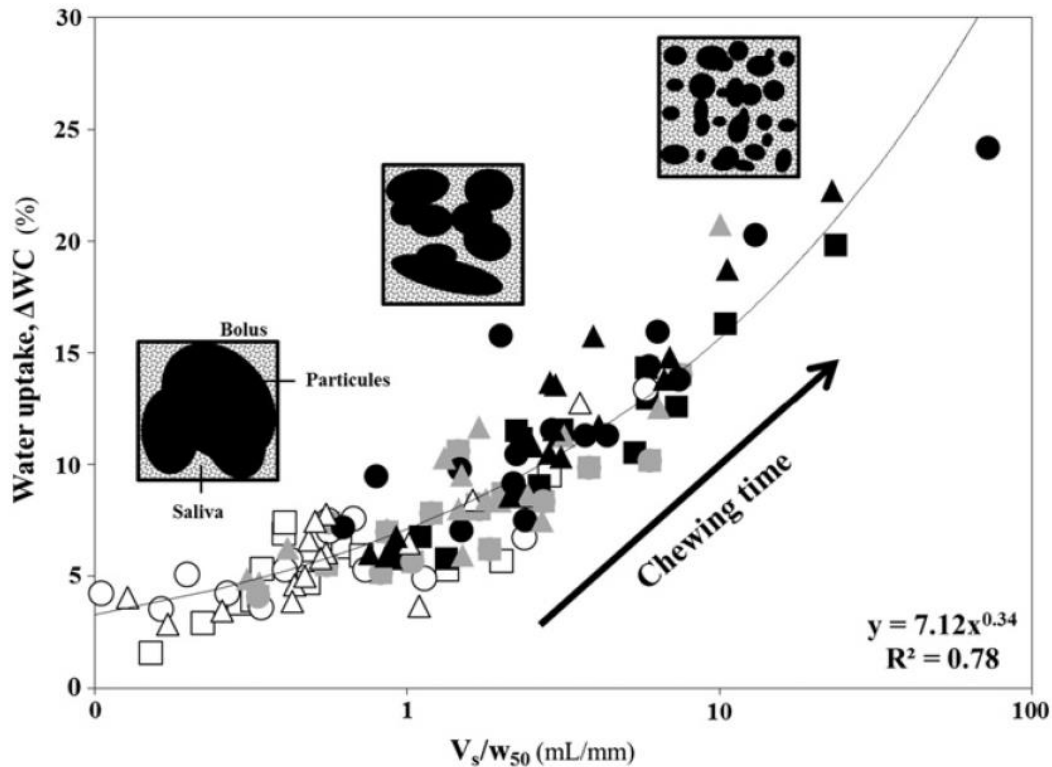
Méthodes	Paramètres mesurés	Produits	Références
<b>Analyse d'images</b>	Surface des particules	Pâtes	Hoebler <i>et al.</i> , 1998
	$W_{50}$ , $W_{25-75}$ , écart interquartile	Pain	Le Bleis <i>et al.</i> , 2013; 2016
	Surface des particules	Pain	Gao <i>et al.</i> , 2015
	Surface des particules	Pain	Pentikäinen <i>et al.</i> , 2014
	Histogramme de répartition de la taille des particules (diamètre de Féret), nombre de particules apparentes, D50 (diamètre médian des particules)	Biscuit	Rodrigues, Young, James, & Morgenstern, 2014
<b>Méthode de tamisage</b>	D50	Céréales de petit-déjeuner	Peyron <i>et al.</i> , 2011
<b>Diffraction laser</b>	Histogramme de répartition de la taille des particules	Pain	Hoebler <i>et al.</i> , 1998
	D50	Pain	Gao <i>et al.</i> , 2015

La méthode de tamisage, utilisée pour les céréales de petit-déjeuner, est plutôt réservée aux produits conduisant à des particules rigides (Peyron *et al.*, 2011). Dans le cas du pain, les particules

sont molles, collantes et se désagrègent facilement. Elles ne résistent donc pas aux nombreuses étapes successives de tamisage (Le Bleis *et al.*, 2013). La diffraction laser peut être utilisée pour les particules de tailles inférieures à 2 mm, alors que l'analyse d'images n'impose pas de contrainte de taille (Hoebler *et al.*, 1998; Gao *et al.*, 2015). Dans les deux cas, une taille médiane des particules peut être calculée à partir des courbes de distribution des tailles. Cependant, il n'est pas possible de comparer les méthodes d'analyse d'images entre elles, car le choix de l'unité de mesure n'est pas le même d'une étude à l'autre. Les particules peuvent être considérées comme des sphères et dans ce cas, un diamètre apparent est calculé (Devezeaux de Lavergne, van de Velde, van Boekel, & Stieger, 2015b). Une autre solution est d'appliquer un traitement de morphologie mathématique à l'image, comparable à un « tamisage » (Le Bleis *et al.*, 2013) et permettant d'obtenir une largeur médiane des particules  $w_{50}$ . Ainsi, Le Bleis *et al.* (2013) observent une diminution de la largeur médiane des particules allant de  $9,8 \pm 1,0$  mm après 3 cycles masticatoires à  $1,6 \pm 0,2$  mm à déglutition pour la mie de pain blanc (volume initial de  $20 \text{ cm}^3$ ) et de  $11,5 \pm 2,4$  mm à  $1,5 \pm 0,2$  mm pour la mie de pain de campagne ( $20 \text{ cm}^3$ ). A déglutition, Hoebler *et al.* (1998) mesurent des diamètres de particules compris entre 5 et  $1500 \mu\text{m}$  par diffraction laser pour les échantillons de mie. Ils observent que 5 % du volume total des particules (31% de la masse de matière sèche) sont des particules de  $30 \mu\text{m}$  de diamètre, qui correspondraient aux grains d'amidon. Dans le cas du pain, la mastication ne consiste donc pas uniquement à découper le produit en petites particules, mais elle conduit aussi à libérer les grains d'amidon emprisonnés dans le réseau de gluten.

### Hydratation

En parallèle de sa déstructuration en particules, le pain s'imprègne progressivement de salive. La mesure de cette hydratation est relativement simple. Il s'agit de mesurer la teneur en eau du bol obtenue en comparant les masses des produits avant et après déshydratation dans une étuve (Drago *et al.*, 2011). Une augmentation de la teneur en eau jusqu'à déglutition est généralement observée. Par exemple, une étude sur 12 sujets montre que la teneur en eau varie en moyenne de 43 g par 100 g de matière humide dans la mie de pain non mastiquée à 65 g par 100 g de matière humide dans un bol à déglutition (Hoebler *et al.*, 1998). Des valeurs proches sont retrouvées dans les autres articles de la littérature portant sur des pains blancs (Le Bleis *et al.*, 2013; Panouillé *et al.*, 2014; Pentikäinen *et al.*, 2014; Gao *et al.*, 2015). Les variations de quantité de salive absorbée au cours du temps par le bol pourraient être expliquées par le volume théorique de salive présent en bouche  $V_s$  et la taille médiane des particules du bol  $w_{50}$  (Figure I.3-5).



**Figure I.3-5 : Variations de la quantité de salive absorbée par le bol (water uptake  $\Delta WC$ ) en fonction du ratio entre la quantité théorique de salive  $V_s$  et la taille médiane des particules  $w_{50}$  pour trois temps de la mastication (symboles blancs :  $t_d/3$ , gris :  $2t_d/3$  et noirs :  $t_d$  = temps à déglutition), trois pains enrichis en fibres ( $\Delta$  : pain de référence ;  $\square$  : pain dense ;  $\circ$  : pain salé) et 16 sujets (Le Bleis, Chaunier, Montigaud, & Della Valle, 2016)**

Avec cette relation, Le Bleis *et al.* montrent que la quantité de salive absorbée par le bol dépend des caractéristiques physiologiques des juges et des propriétés initiales des pains. Les auteurs font l'hypothèse que le volume théorique de salive  $V_s$  présent en bouche peut être calculé à partir du flux salivaire de l'individu multiplié par la durée de mastication. Ainsi, plus le sujet a un flux salivaire important, plus il aura un volume théorique de salive important en bouche qui sera disponible à un temps donné pour hydrater les particules du bol. Au fur et à mesure du processus oral, la taille de ces particules diminue, augmentant leur surface d'échange, ce qui favorise l'absorption de la salive (Le Bleis *et al.*, 2016). Cependant, deux points importants doivent être considérés dans cette relation. Premièrement, les auteurs soulignent, à juste titre, le fait que le flux salivaire est calculé en conditions stimulées par la mastication d'un morceau de parafilm, ce qui ne représente pas complètement la quantité de salive sécrétée lors de la mastication du pain. Deuxièmement, il est possible que la quantité initiale de salive présente en bouche au moment de l'introduction du pain ait également un impact important sur l'hydratation du bol (comme le montrent Doyennette, de Loubens, Délérís, Souchon, & Trelea (2011a)). Cette quantité initiale devrait donc également être prise en compte dans la relation.

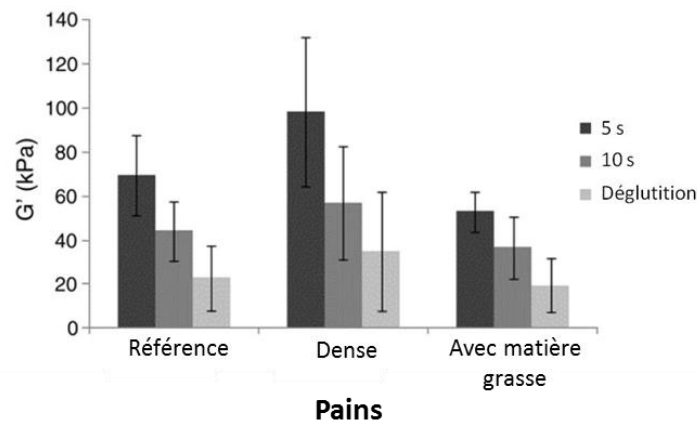
### Evolution de la rhéologie

Ces évolutions en termes de tailles de particules et d'hydratation contribuent à modifier les propriétés rhéologiques du bol au cours du temps. De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour mesurer la texture des bols au cours du processus oral (Tableau I.3-5).

**Tableau I.3-5 : Récapitulatif des méthodes instrumentales caractérisant les propriétés de texture et rhéologique des bols, mentionnées dans la littérature pour des produits céréaliers (adapté de Panouillé, Saint-Eve, & Souchon, 2016)**

Méthodes	Paramètres mesurés	Produits	Références
TPA	Hardness, cohesiveness, springiness, adhesiveness	Céréales du petit-déjeuner	Peyron (2011)
Double compressions consécutives	Force maximale, 'adhésion', 'cohésion'	Biscuit	Young (2013)
Test de pénétration	Force de cohésion	Pain	Bornhorst (2013)
Rétro-extrusion	Indice de rhéofluidification $n$ , consistance $K$ (loi d'Oswald)	Biscuit	Young (2013)
	Force maximale	Pain	Gao (2015)
Rhéométrie oscillatoire	Module de conservation $G'$ , module de perte $G''$ , seuil de déformation	Céréales du petit-déjeuner	Loret (2011)
	Module de conservation $G'$ , module de perte $G''$ , $\tan \delta$	Pain	Panouillé (2014)
Rhéométrie capillaire	Viscosité apparente $\eta_{app}$ , indice de rhéofluidification $n$ , consistance $K$ (loi d'Oswald)	Pain	Le Bleis (2013, 2016)
Rhéométrie en écoulement	Seuil d'écoulement statique	Céréales du petit-déjeuner	Loret (2011)

Dans le cas du pain, les bols ont été caractérisés aux petites déformations (rhéométrie oscillatoire) et aux grandes déformations (rhéométrie capillaire et rétro-extrusion). Aux petites déformations (< 1%), les bols de mie de pain ont un module de conservation  $G'$  supérieur au module de perte  $G''$ , ce qui indique que le comportement des bols est similaire à celui d'un gel ou à un solide visco-élastique (Le Bleis *et al.*, 2016). La mesure du module de conservation  $G'$  indique une division par 3 de ce paramètre entre le début de la mastication (5 secondes) et la déglutition (Figure I.3-6). La rhéologie initiale du pain semble influencer la rhéologie des bols, car le pain le plus dense est celui qui conduit aux bols avec un module  $G'$  le plus élevé, quel que soit le temps du processus oral (Panouillé *et al.*, 2014).



**Figure I.3-6 : Evolution du module  $G'$  (mesuré à 1Hz dans le domaine viscoélastique) au cours du processus oral pour 3 pains blancs (Panouillé *et al.* 2014)**

Les mesures aux petites déformations permettent de caractériser les produits sans les déstructurer. Cependant, elles ne sont pas représentatives des déformations appliquées en bouche lors de la mastication et de la déglutition. En effet, Shama *et al.* ont estimé que les vitesses de cisaillement lors d'une déglutition normale de fluides et de semi-solides étaient comprises entre 10 et 1000 s<sup>-1</sup> (Shama, Parkinson, & Sherman, 1973; Shama & Sherman, 1973). C'est donc dans le but de reproduire les déformations en bouche que sont utilisées les mesures rhéologiques aux grandes déformations. Ainsi, Le Bleis *et al.* ont mis au point une méthode de rhéométrie capillaire pour caractériser la viscosité apparente  $\eta_{app}$ , l'indice de rhéofluidification  $n$ , et la consistance  $K$  des bols de mie de pain à différents temps de la mastication (Le Bleis *et al.*, 2013). Ces chercheurs ont mis en évidence, dans le cas de leurs produits (pains blancs ou enrichis en fibres), que la consistance d'un bol pouvait être expliquée par la quantité de salive absorbée dans le bol et par un indice de plastification, propres au consommateur (Le Bleis *et al.*, 2013, 2016). L'influence de l'hydratation a également été observée sur des échantillons de mie et croûte par Gao *et al.* (2015). Ces auteurs ont montré que la force maximale mesurée par rétro-extrusion sur les bols à déglutition était négativement corrélée à leur teneur en eau ( $r = -0,954$ ;  $p < 0,001$ ). Ces résultats reflètent donc l'importance de l'hydratation pour ramollir les particules présentes dans le bol, afin de permettre une déglutition confortable et sans danger.

Pour la première fois, dans l'étude de Gao *et al.* (2015), l'influence de la croûte a été testée sur les paramètres d'hydratation, de taille des particules et de texture des bols et sur le comportement masticatoire des consommateurs. La présence d'une croûte épaisse et sèche serait un facteur majeur contribuant à l'augmentation de l'activité masticatoire du consommateur et donc à une déstructuration plus prononcée de la structure du pain. Cependant, ces résultats n'ont été obtenus qu'à partir d'un seul sujet et seraient donc à valider sur un échantillon plus représentatif d'individus.

#### 1.3.2.3. Transformations microscopiques et libération de stimuli au cours du processus oral du pain

Comme nous l'avons montré précédemment, de nombreuses études se sont portées sur les transformations macroscopiques qui interviennent lors du processus oral du pain. Les études portant sur les transformations microscopiques telles que les activités enzymatiques, ou sur la libération des stimuli (molécules d'arôme ou sapides) en bouche sont plus rares.

#### Activités enzymatiques

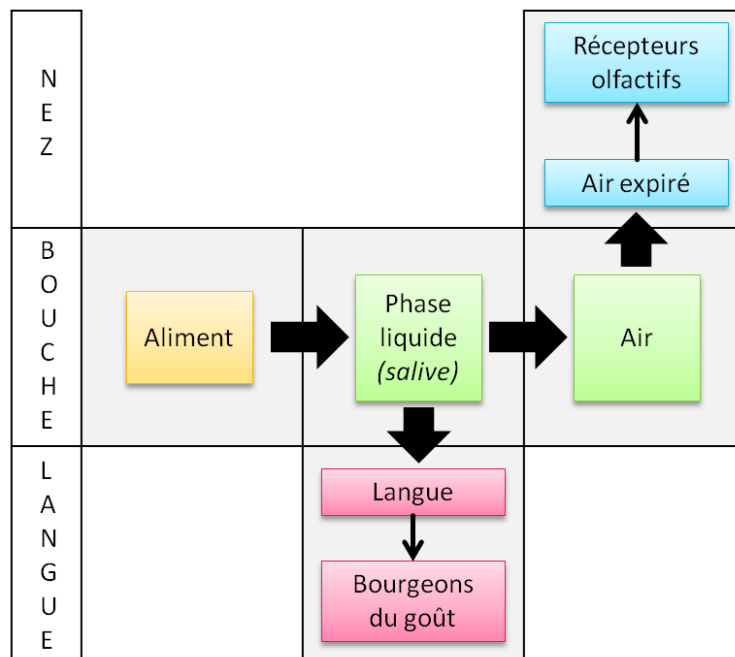
Le processus oral est considéré comme la première étape de la digestion. La mastication ainsi que l'incorporation de la salive et des enzymes qu'elle contient au bol alimentaire aident à la libération des nutriments lors des phases gastriques et intestinales (Grandfeldt, Björck, Drews, & Tovar, 1992). Parmi la trentaine d'enzymes présentes dans la salive humaine, l' $\alpha$ -amylase est une des plus actives dans le cas des produits céréaliers (cf. Annexe 1). Elle hydrolyse les liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,4 de l'amylose et de l'amylopectine pour libérer des sucres (Salles *et al.*, 2011). Son action lors du processus oral a longtemps été controversée étant donné le peu de temps que dure la mastication (quelques dizaines de secondes) en comparaison avec les phases gastriques et intestinales de la digestion (plusieurs heures). Cependant, le rôle de l' $\alpha$ -amylase sur les perceptions de fondant et d'épaisseur lors de la consommation de crèmes desserts à base d'amidon a été mis en évidence (de Wijk, Prinz, Engelen, & Weenen, 2004).



Le pain étant également composé d'amidon, quelques chercheurs se sont intéressés à la libération des sucres lors du processus oral. *Pentikäinen et al. (2014)* ont montré que l' $\alpha$ -amylase initiait l'hydrolyse de l'amidon du pain pendant le processus oral. Des bols issus de 4 pains (blancs ou seigles) ont été collectés à déglutition et analysés de 0 à 30 min après la collecte, afin d'établir une cinétique de libération de l'amidon en début de digestion. Ces auteurs observent une augmentation de l'amidon libéré au cours du temps pour atteindre 24 % de l'amidon total dans le pain blanc et 19 % en moyenne dans les pains de seigle au bout de 30 min. Seule une tendance montre que le pain blanc a une vitesse de libération de l'amidon plus grande que les pains au seigle ( $p = 0.098$ ). Une raison pouvant expliquer ce phénomène serait la présence, dans les pains au seigle, d'amylose recristallisée, plus résistante à l'amylase (*Pentikäinen et al., 2014*). Une autre étude sur le pain a permis d'identifier les produits majoritaires de l'hydrolyse de l'amidon du pain après 27 s de mastication chez 12 sujets (*Hoebler et al., 1998*). Les produits majoritaires seraient des  $\alpha$ -glucanes de haut poids moléculaire (38 % de l'amidon total) alors que les sucres et oligosaccharides représenteraient 12,5 %. La différence d'ordre de grandeur entre ces deux études est probablement due aux différents solvants d'extraction utilisés dans les analyses (l'eau et l'éthanol respectivement). Malgré cela, les deux études montrent que l' $\alpha$ -amylase est capable d'hydrolyser l'amidon pendant le processus oral. Il est donc essentiel de tenir compte de cette dégradation enzymatique lors de l'étude du processus oral du pain.

### Libérations de stimuli

Tous les phénomènes détaillés précédemment conduisent à la libération des molécules responsables de la flaveur des aliments. Les composés responsables du goût, comme le sel, vont être solubilisés dans la salive puis réagir avec les bourgeons du goût situés sur la langue, tandis que les composés d'arômes vont être libérés dans l'air jusqu'aux récepteurs olfactifs (**Figure I.3-7**).



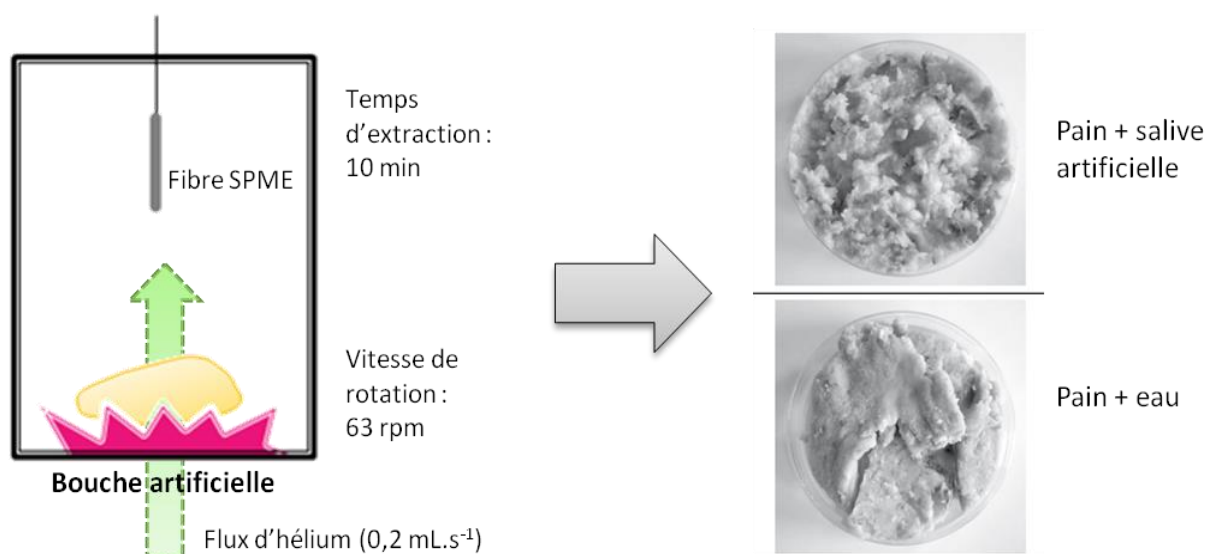
**Figure I.3-7 : Représentation schématique de la libération *in vivo*, dans la bouche et le nez, des composés responsables de la flaveur des aliments (Taylor, 2002)**



Les composés d'arômes sont des molécules organiques volatiles de faible poids moléculaire, inférieur à 400 g/mol, et de pression partielle de vapeur assez élevée en condition standard de température et de pression pour être partiellement à l'état gazeux (Richard, 1992). La répartition des composés d'arômes entre les différentes phases (vapeur et matrice alimentaire) s'effectue en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques et peut être quantifiée par un coefficient de partage air/produit. Celui-ci est le plus souvent défini comme le rapport des concentrations massiques du composé entre les deux phases (Atlan, Trelea, Saint-Eve, Souchon, & Latrille, 2006).

Ce coefficient de partage peut être modifié lors du processus oral, au fur et à mesure que le produit est déstructuré en particules et hydraté par la salive (Doyennette, Déléris, *et al.*, 2011b). La mastication conduit à l'augmentation de la surface d'échange permettant de diffuser les composés volatils et donc à l'augmentation de leur libération dans la cavité oro-nasale (Wilson & Brown, 1997). L'effet de la quantité de salive ajoutée sur la libération des composés volatils est dépendant du produit. Dans le cas des produits à faible teneur en matière grasse (comme par exemple les haricots verts (van Ruth & Roozen, 2000) ou les gels à base d'amidon (Boland *et al.*, 2004)), l'augmentation de la quantité de salive contribue à diminuer la libération des composés volatils à cause du phénomène de dilution de la matrice alimentaire. Au contraire, pour les produits à forte teneur en matière grasse (comme les fromages (Doyennette *et al.*, 2011b)), l'augmentation de la quantité de salive conduit à l'augmentation de la quantité des composés volatils hydrophobes libérés en phase gazeuse. En effet, les composés d'arômes hydrophobes ont plus d'affinité avec la phase lipidique. Le fait d'ajouter de la salive diminue le caractère hydrophobe de la matrice et conduit donc à une plus grande libération des composés volatils. Enfin, la composition de la salive joue également un rôle, en interagissant avec les composés d'arômes en bouche. Par exemple, Pagès-Hélary, Andriot, Guichard, & Canon (2014) ont montré sur des systèmes modèles que des effets hydrophobes entre la mucine, ou l' $\alpha$ -amylase, et les composés volatils pouvaient diminuer la libération des composés volatils hydrophobes.

Jusqu'à présent et à notre connaissance, un nombre limité d'études s'est intéressé à la libération des composés volatils lors de la consommation de pain. Poinot, Arvisenet, Grua-Priol, Fillonneau, & Prost (2009) ont comparé la composition aromatique de deux bols obtenus à l'aide d'une bouche artificielle, hydratés soit par de l'eau, soit par de la salive artificielle, avec un ratio pain / « salive » égal à 2. Ces bols ont été « mastiqués » par une bouche artificielle pendant 10 min. Pendant ce temps, les composés volatils étaient extraits à l'aide d'une fibre SPME (Solid Phase Micro Extraction) placée au-dessus du système (Figure I.3-8). Les composés ont ensuite été quantifiés et identifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).



**Figure I.3-8 : Schéma du dispositif expérimental mis en place par Poinot *et al.* (2009)**

Différents comportements ont été observés, non seulement entre les classes chimiques de molécules d'arôme, mais également au sein d'une même classe de composés d'arômes. Par exemple, la libération de l'éthanol est réduite en présence de salive artificielle, celle du 1-propanol augmente, alors que les 1-pentanol et 1-hexanol ne sont pas impactés (Poinot *et al.*, 2009). Ainsi, le rôle de la salive sur la libération des composés d'arômes lors du processus oral intervient aussi bien par des mécanismes physiques, tels que la dilution ou la modification des surfaces d'échange, que par des mécanismes chimiques ou biochimiques, comme par exemple, des interactions entre composés volatils et matrice alimentaire (ex. amylose) ou entre composés volatils et composés salivaires (ex. mucines). Les résultats obtenus par Poinot *et al.* n'ont pas permis de conclure quant aux mécanismes prépondérants mis en jeu lors de la mastication du pain et montrent les limitations d'étudier des systèmes modèles, peu représentatifs des produits réels.

Une autre étude compare la libération de quelques composés volatils présents dans le pain en conditions *in vitro* par rapport à celle *in vivo*, observée pour un seul sujet (Onishi, Inoue, Araki, Iwabuchi, & Sagara, 2012). Pour cela, les auteurs utilisent la spectrométrie de masse couplée à une réaction de transfert de proton (PTR-MS) en présélectionnant les ions issus de composés volatils qu'ils souhaitent suivre au cours du temps. Dans un premier temps, les conditions opératoires *in vitro* sont optimisées pour obtenir des proportions d'ions suivis similaires à celles obtenues en condition *in vivo*. Les conditions optimisées sont les suivantes : 2,5 g de pain (2 g de mie et 0,5 g de croûte) et 250 mL de solution tampon (jouant le rôle de « salive artificielle ») sont mixés à 350 rpm dans une enceinte maintenue à 38°C et sous un flux d'azote de 17 mL.s<sup>-1</sup>. Ces conditions, et notamment la quantité de solution tampon, sont très éloignées des phénomènes *in vivo*, mais les résultats *in vitro* montrent que la hausse de la quantité de solution tampon ajoutée (jouant le rôle de « salive artificielle ») implique une diminution des concentrations de 5 composés représentant différentes classes chimiques. L'étude *in vivo* apporte une preuve de faisabilité du suivi des composés volatils libérés dans la cavité nasale lors de la consommation de pain. Cependant, elle n'apporte pas de connaissances sur les mécanismes en jeu, car elle a été réalisée sur un seul produit et un seul juge et elle ne fait pas de liens avec les perceptions aromatiques.

La PTR-MS est donc une méthode d'intérêt pour suivre la libération des composés volatils en conditions réelles de consommation et sera utilisée dans ces travaux de thèse pour comparer les libérations des composés entre différents pains et différents individus.

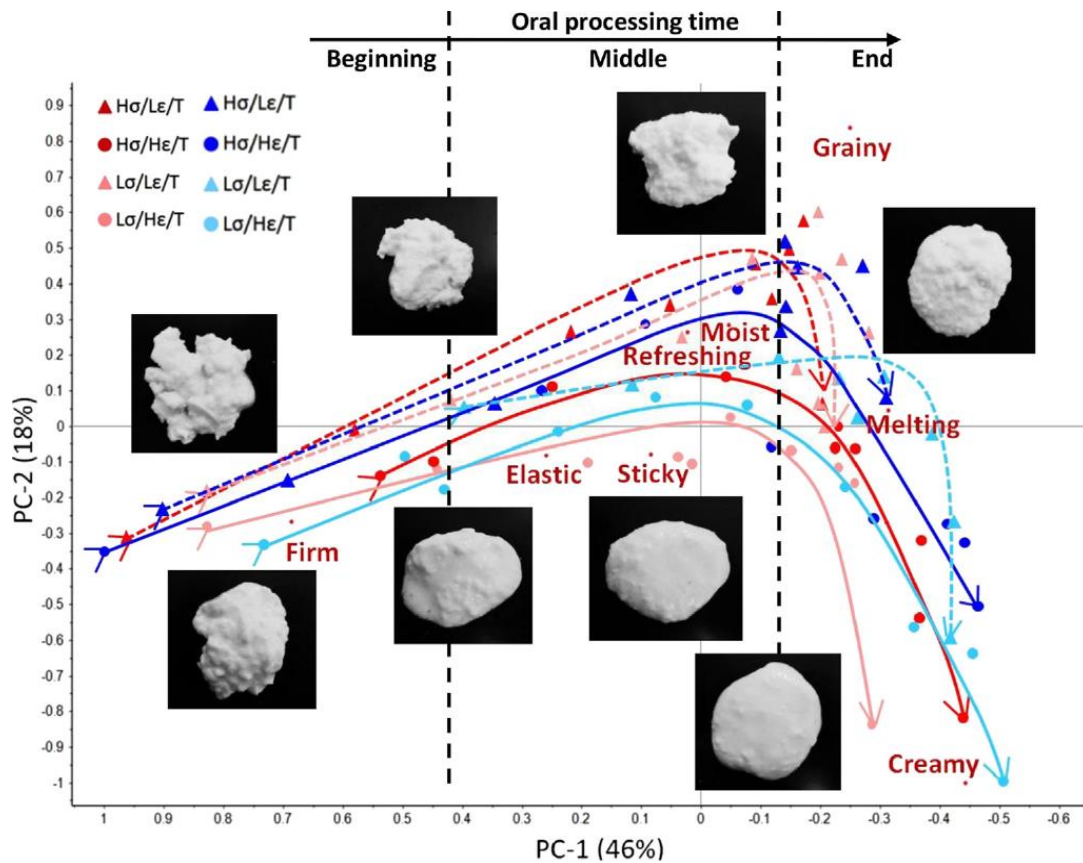
### 1.3.3. Rôle du processus oral sur les perceptions de texture et d'arômes du pain

Parmi les nombreuses études sur le pain, très peu se sont intéressées à son évolution au cours du processus oral, et un nombre encore plus réduit s'est penché, sur les liens entre processus oral et perceptions sensorielles (Panouillé, *et al.* 2016).

#### 1.3.3.1. *Rôle du processus oral sur les perceptions de texture*

Depuis quelques années, le rôle du processus oral sur les perceptions de texture intéresse une communauté de chercheurs de plus en plus nombreuse. Cependant, à notre connaissance, un seul article traite du pain, du processus oral et des perceptions de texture (Panouillé, *et al.* 2014). Cette étude met en relation les dynamiques de perceptions de texture caractérisées par DTS (*cf.* **Figure 1.2-1**) et l'évolution, au cours du processus oral, des paramètres rhéologiques (*cf.* **Figure 1.3-6**) et d'hydratation de 3 pains de structures et de compositions différentes. Les attributs dominants en début de mastication peuvent être reliés aux propriétés initiales du pain, comme la fermeté (perceptions « mou » ou « dur ») ou la densité (perceptions « dense » ou « aéré »). L'hydratation progressive du bol par la salive est aussi caractérisée sensoriellement par un panel de juges entraînés : par exemple, les pains « référence » et « contenant de la matière grasse » sont d'abord perçus « secs » en début de mastication, puis « hydratés » avant la déglutition. Cependant, ces premières relations entre les propriétés des pains, des bols et les perceptions dynamiques de texture restent des liens seulement qualitatifs. En effet, la limitation de la méthode DTS est qu'elle ne permet de sélectionner qu'un seul attribut au cours du temps (celui qui est dominant), alors que les autres attributs présents mais non dominants peuvent également impacter les perceptions de texture (Young *et al.*, 2016). Grâce à l'utilisation d'autres méthodes sensorielles comme le profil conventionnel ou le profil progressif en parallèle de la DTS, certaines études sont parvenues à établir des liens quantitatifs entre les différents paramètres (Devezeaux de Lavergne, *et al.*, 2015b; Saint-Eve, Panouillé, Capitaine, Délérès, & Souchon, 2015).

Par exemple, Devezeaux de Lavergne *et al.* (2015b) ont utilisé en parallèle les méthodes DTS et QDA® pour étudier les perceptions de texture sur 8 gels de différentes propriétés mécaniques. La DTS a servi à définir les attributs dominants en début, milieu et fin de mastication (**Figure 1.3-9**). Les auteurs ont ensuite corrélé les propriétés des bols mesurées à 4 temps du processus oral (5, 10, 15 et 20 secondes) avec les intensités des 8 descripteurs DTS évalués par QDA®.



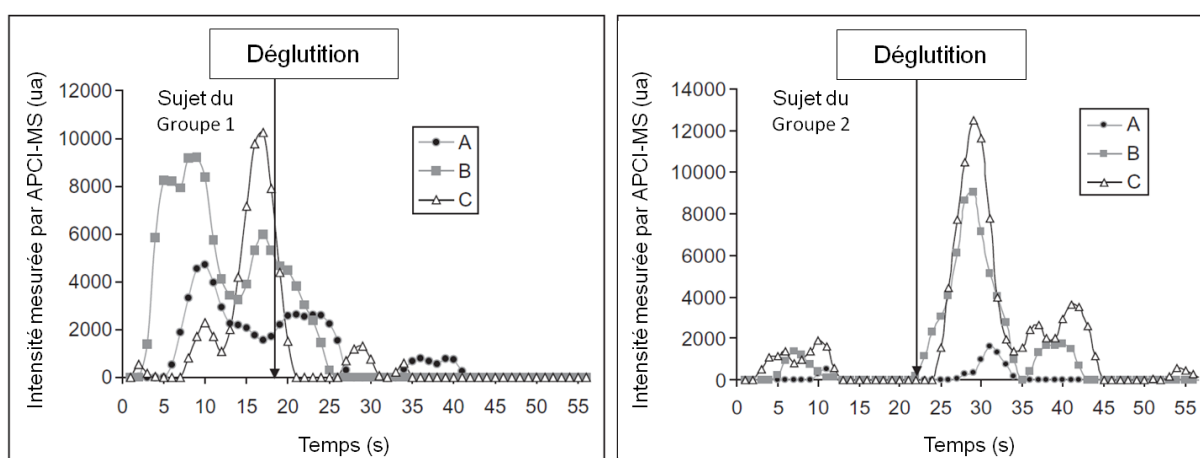
**Figure I.3-9 : Trajectoires sensorielles issues de la DTS réalisées sur 8 gels de différentes propriétés mécaniques. Les photos montrent l'évolution de la structure des bols recrachés à 5, 10, 15 et 20 secondes (Devezeaux de Lavergne, *et al.*, 2015b)**

Dans cette étude, le descripteur « ferme », perçu dominant au début du processus oral, est corrélé à la contrainte de rupture du gel et à la force maximale de compression du bol en début de mastication (5 et 10 secondes), ainsi qu'à l'indice de cohésion du bol (à tous les temps). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus sur le pain (Panouillé *et al.*, 2014), qui montrent que les attributs perçus en début de cycle masticatoire sont corrélés avec les propriétés initiales du produit. Pour aller plus loin, Devezeaux de Lavergne, *et al.* ont mesuré les variations du descripteur « ferme » en fonction des 4 temps du processus oral par profil progressif. Ils observent que le descripteur « ferme » peut être relié linéairement à la force maximale de compression du bol ( $R^2 = 0,6058$ ) et à l'indice de cohésion du bol ( $R^2 = 0,7565$ ). L'utilisation conjointe de la DTS et du profil progressif permet d'obtenir des informations complémentaires (Devezeaux de Lavergne, *et al.*, 2015a), car la première permet de connaître à quel moment du processus oral un descripteur va être dominant et le deuxième permet de suivre les variations d'intensité des descripteurs aux mêmes temps que les propriétés des bols sont mesurées. Cette stratégie expérimentale permet d'obtenir des jeux de données sensorielles et instrumentales pouvant être facilement mis en relation. Mais elle n'a été utilisée que dans le cadre d'aliments modèles simplifiés. Un des enjeux de ces travaux de thèse est donc d'appliquer cette stratégie dans le cadre d'un aliment réel tel que le pain.

### 1.3.3.2. Rôle du processus oral sur les perceptions aromatiques

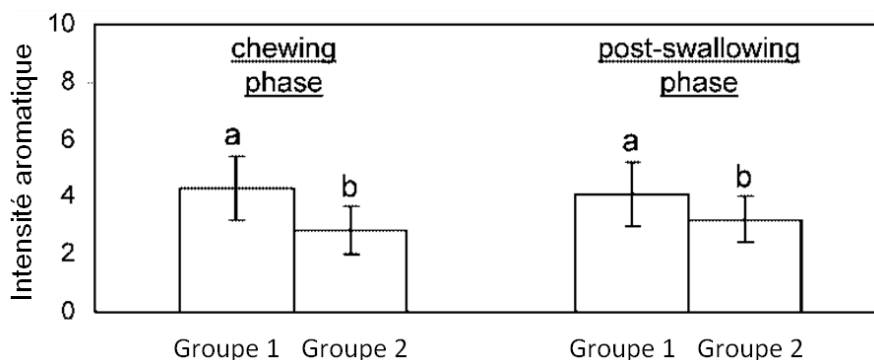
Il n'existe à ce jour aucune publication portant sur les liens entre propriétés des bols, libération des composés d'arômes au cours du processus oral et perceptions aromatiques du pain. Cependant, ce sujet a été étudié dans le cas d'autres produits alimentaires comme les boissons alcoolisées, les produits laitiers ou dans le cas de produits modèles (Fiches *et al.*, 2016; Frank *et al.*, 2015; Gierczynski, Guichard, & Laboure, 2011).

Une étude portant sur des gels laitiers de différentes fermetés et couplant libération des composés d'arômes et perceptions a permis de mettre en évidence les différences interindividuelles en termes de libération et de perception (Gierczynski, Laboure, & Guichard, 2008). Deux groupes de sujets sont distingués en fonction de leurs cinétiques de libération (**Figure I.3-10**).



**Figure I.3-10 : Cinétiques de libération de composés d'arômes au cours du temps pour 3 gels laitiers de textures différentes (A = mou, B = intermédiaire, C = ferme) chez 2 sujets représentant 2 comportements distincts de libération (adaptée de Gierczynski *et al.*, 2011, 2008)**

Le premier groupe d'individus (n=7) est caractérisé par une libération importante pendant la phase de mastication, alors que le deuxième groupe (n=7) libère essentiellement les composés d'arômes après déglutition. Cela peut être expliqué par des comportements masticatoires différents entre les deux groupes, entraînant une ouverture plus ou moins importante du velum pendant la phase de mastication. Les auteurs supposent que le groupe 1 mâcherait réellement le produit avec les dents, provoquant l'ouverture du velum par le mouvement des mâchoires, tandis que le groupe 2 utiliserait plutôt une compression langue-palais, ce qui réduirait l'ouverture du velum avant déglutition (Gierczynski *et al.*, 2008). Ces différentes stratégies de mastication entre les consommateurs ont également été identifiées par Jeltema, Beckley, & Vahalik, (2015) et montrent bien l'influence du processus oral sur la libération de composés volatils. Ces différences de libération conduisent également à des différences de perceptions entre les deux groupes (**Figure I.3-11**).



**Figure I.3-11 : Intensité aromatique globale perçue par les panélistes des 2 groupes, en moyenne sur les trois gels laitiers, avant et après déglutition (adaptée de Gierczynski *et al.*, 2008)**

Les panélistes du groupe 1 ont noté en moyenne les produits avec une note aromatique globale plus intense que les panélistes du groupe 2. Avant déglutition, cela peut être expliqué par une libération plus importante des composés volatils lors de la mastication des panélistes du groupe 1 (Gierczynski *et al.*, 2008). Par contre, après déglutition, le groupe 2 n'est pas celui qui perçoit les notes les plus intenses comme attendu. Les auteurs font donc l'hypothèse que les perceptions aromatiques post-déglutition sont plus influencées par la libération des composés au moment de la mastication qu'après la déglutition. De plus, pendant la mastication, le groupe 2 ne perçoit pas de différences significatives entre les 3 produits. Les différences de libération entre les produits avant déglutition pour ce groupe sont donc probablement trop faibles pour être perçues. Par contre, le groupe 1 est capable de distinguer les 3 produits suivant leur intensité aromatique, mais en ordre inverse par rapport aux résultats de libération. En effet, le gel le plus mou (gel C) est perçu plus intense que les autres, ce qui pourrait être expliqué par des interactions sensorielles entre texture et arôme.

#### I.3.4. Propriétés des pains et processus oral : synthèse

Cette troisième partie de la synthèse bibliographique a permis de montrer que les transformations macroscopiques (*i. e.* déstructuration, hydratation et rhéologie) du pain en un bol lubrifié et cohésif commencent à être bien connues dans la littérature. Toutefois, les transformations microscopiques (activité enzymatique ou libération de composés volatils en bouche) ont fait l'objet de moins de recherche jusqu'ici, alors qu'elles peuvent impacter les propriétés macroscopiques des bols et donc la perception. Tenir compte à la fois des échelles macroscopiques et microscopiques pourrait permettre de mieux comprendre le processus oral du pain dans son ensemble.

De plus, cette synthèse met en lumière le manque de connaissances sur les liens quantitatifs, et l'absence de modèles prédictifs, entre perceptions (surtout aromatiques) et variations des propriétés des bols au cours de la mastication du pain. Etant donnée la difficulté à relier des perceptions sensorielles de type texture et arômes avec les propriétés initiales de structure et de composition des pains, il semble nécessaire de prendre en compte le processus oral pour mieux comprendre les mécanismes conduisant aux différentes perceptions.

Enfin, le rôle des fibres sur les propriétés des bols a été étudié dans la littérature, mais celui de la structure de la mie ou de la présence de la croûte est encore peu connu. Ainsi, une seule étude s'est intéressée à l'impact de la croûte sur le processus oral alors que le pain peut être consommé soit mie et croûte ensemble, soit mie seule par les consommateurs. Pour représenter au mieux la consommation réelle de ce produit, il nous semble essentiel de tenir compte de l'ensemble mie et croûte et d'étudier l'impact de la croûte sur les perceptions de texture et d'arômes.

#### **I.4. Objectifs des travaux de thèse et démarche expérimentale**

Comme souligné dans la synthèse bibliographique, il est difficile de prédire les dynamiques de perceptions de texture et d'arômes en se basant uniquement sur les connaissances liées à la structure et à la composition aromatique initiale du pain. L'analyse de la littérature fait ressortir l'importance du rôle du processus oral sur les dynamiques de perception. Comprendre les mécanismes physiques, physicochimiques, sensoriels et physiologiques associés à ce processus oral pourra permettre par la suite de formuler des pains répondant aux attentes des consommateurs.

Dans ce contexte, les travaux réalisés dans ce projet de thèse visent à répondre à la question de recherche suivante : « Quels sont les déterminants liés au produit (structure et composition aromatique) et à l'individu (processus oral, physiologie) à l'origine des perceptions de texture et d'arômes lors de la consommation du pain ? »

En conséquence, l'objectif global de ce projet de thèse est d'établir le rôle (i) des propriétés des pains, (ii) des propriétés des bols et (iii) de la libération des composés d'arôme sur les perceptions temporelles.

Afin de répondre à cet objectif, différentes hypothèses ont été formulées :

- les propriétés des pains et les caractéristiques physiologiques des individus impactent les propriétés des bols,
- les propriétés des pains et des bols impactent les perceptions de texture,
- la composition aromatique des pains et les propriétés des bols impactent la libération des composés volatils dont ceux susceptibles d'interagir avec les récepteurs olfactifs et de conduire aux dynamiques de perceptions aromatiques.

Les études scientifiques sur le pain portent généralement sur les perceptions d'arômes ou de texture, mais aucune étude n'a mené en parallèle des recherches sur les perceptions d'arômes et de texture du pain, en découplant la structure de la composition aromatique des pains. De plus, bien que les transformations du pain au cours du processus oral commencent à être bien connues dans la littérature, il manque encore d'études approfondies prenant en compte l'ensemble des différents mécanismes du processus oral (hydratation, dégradations mécanique et enzymatique, modification de la rhéologie et libération de stimuli). Enfin, alors que la croûte contribue grandement à l'appréciation du pain par les consommateurs français, son impact sur le processus oral et les perceptions a été très peu étudié jusqu'à présent.

La stratégie choisie pour ce projet de thèse a donc été d'étudier les perceptions d'arômes et de texture engendrées par la consommation de mie avec ou sans croûte, provenant de pains de structures et de compositions aromatiques connues. Les différents mécanismes du processus oral ont été caractérisés au cours du temps et mis en relation avec ces perceptions.

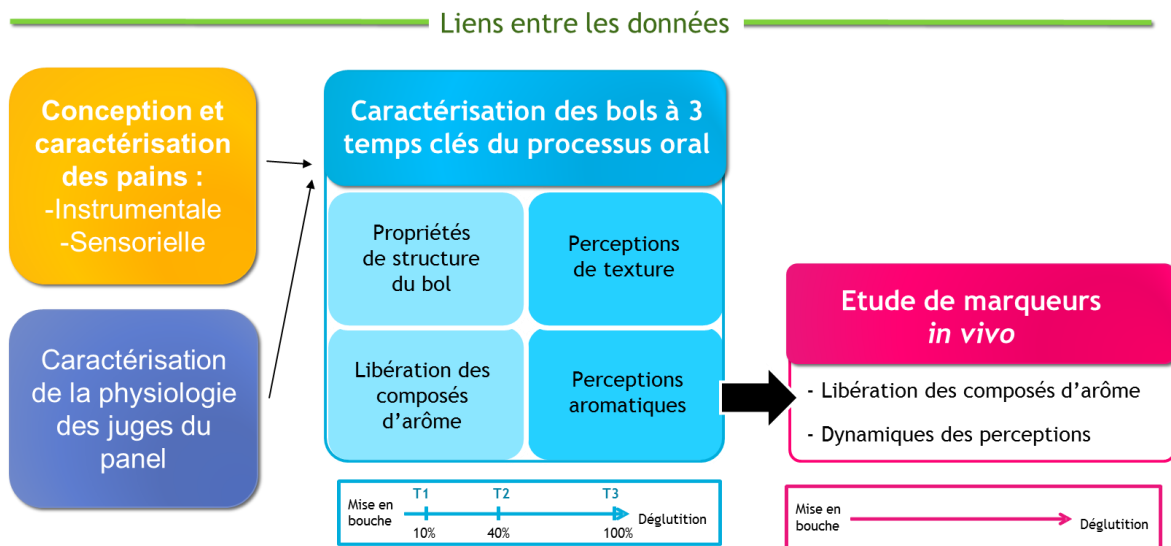
Pour répondre à la question de recherche, une démarche expérimentale en 4 phases a été entreprise. Deux volets, relatifs aux perceptions de texture (volet « texture ») et aux perceptions aromatiques (volet « arômes ») des pains, ont été définis. Les objectifs respectifs des différentes phases sont détaillés dans le **Tableau I.4-1**.



**Tableau I.4-1 : Démarche de la thèse, présentée en 4 phases, chacune ayant un objectif et des types de produits utilisés différents pour y répondre**

Phases	Volets	Objectifs	Produits
1.	Texture	Déterminer les contributions respectives des propriétés des pains (structure et composition) et de la physiologie des juges aux trajectoires de déstructuration en bouche	4 pains (3 baguettes Lesaffre et 1 pain complet du commerce)
2.	Texture	Déterminer les contributions respectives des propriétés structurelles du pain, puis du bol aux variations des perceptions de texture évaluées lors de la consommation	3 baguettes Lesaffre
3.	Arômes	Déterminer le rôle du processus oral sur la libération des composés volatils, mesurée <i>in vitro</i> par PTR-MS, et sur les dynamiques de perceptions aromatiques	3 baguettes Lesaffre
4.1	Arômes	Elaborer un modèle statistique reliant les ions marqueurs mesurés par PTR-MS aux composés volatils à leur origine	40 baguettes (3 baguettes Lesaffre et 37 baguettes du commerce)
4.2	Arômes	Etudier les dynamiques de libération <i>in vivo</i> des composés volatils marqueurs des perceptions aromatiques, par PTR-MS, en conditions réelles de mastication	9 baguettes (3 baguettes Lesaffre et 6 baguettes du commerce)

Les phases 1 et 2 concernent le volet « texture » de la thèse, relatif aux perceptions de texture des pains et des bols, alors que les phases 3 et 4 sont relatives aux perceptions aromatiques en lien avec ces propriétés de texture (Figure I.4-1 et Figure I.4-2).

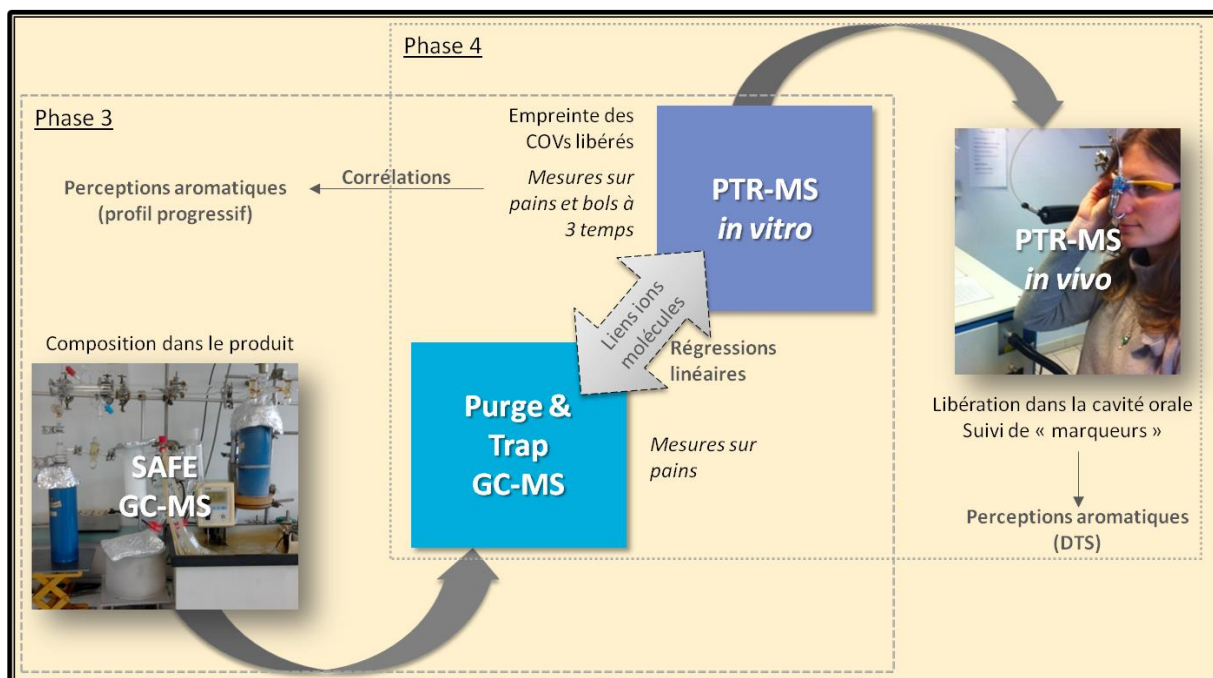


**Figure I.4-1 : Schéma présentant la démarche du projet de thèse**

La première phase du projet avait pour but d'évaluer les contributions respectives des propriétés des pains et des caractéristiques physiologiques des juges aux trajectoires de déstructuration du produit, (transformation en bol alimentaire prêt à être dégluti). Pour cela, 3 baguettes de structures différentes mais de composition identique (même farine et levure : baguettes Lesaffre) ont été

comparées à un quatrième pain de composition différente. Les trajectoires de déstructuration de ces pains en bouche ont été réalisées à partir de l'évolution des propriétés d'hydratation et des mécanismes de dégradations mécanique et enzymatique des bols de pain, collectés chez 8 juges, à 3 temps du processus oral, et sous 2 conditions (mie seule et mie + croûte). Les propriétés des bols à chacun de ces temps ont ensuite été expliquées par les propriétés des pains et les caractéristiques physiologiques des juges à l'aide de régressions linéaires des moindres carrés partiels (PLS).

La deuxième phase du projet avait pour objectif d'expliquer l'évolution des perceptions de texture par les propriétés des pains et celles des bols. Les 3 pains Lesaffre de la partie précédente ont été étudiés au regard des données de perception. En effet, ces 3 pains ont été évalués sensoriellement par profil progressif aux 3 temps du processus oral et par une analyse sensorielle temporelle continue (par la méthode DTS) sous les 2 conditions (mie et mie et croûte). Les données quantitatives du profil progressif ont été mises en relation avec les propriétés des pains, et les propriétés des bols réparties en 3 blocs de données (structure, texture, et hydratation) par régression PLS-Multi Blocs.



**Figure I.4-2 : Détails des phases 3 et 4 du projet de thèse (volet aromatique)**

La phase 3 avait pour objectif de déterminer le rôle du processus oral sur la libération des composés volatils, mesurée en conditions *in vitro* par la méthode PTR-MS, et sur les dynamiques de perceptions aromatiques. L'étude a été réalisée sur les 3 pains Lesaffre sous les 2 conditions. Les composés volatils présents dans les pains ont d'abord été identifiés par 2 méthodes basées sur la chromatographie en phase gazeuse (SAFE et Purge & Trap). Puis, l'empreinte aromatique (ions) gazeuse au-dessus des pains et des bols aux 3 temps de la consommation a été mesurée en conditions *in vitro* par PTR-MS et mise en relation avec les perceptions aromatiques évaluées par profil progressif.

Enfin, la phase 4 avait pour objectif d'étudier les dynamiques de libération en conditions *in vivo* des composés volatils marqueurs des perceptions aromatiques, par PTR-MS, en conditions réelles de mastication (mesure dans la cavité nasale des juges). 8 marqueurs (ions) ont été suivis lors de la

consommation d'échantillons de pains. Un modèle statistique permettant d'identifier ces ions mesurés par PTR-MS a été mis en place lors de la phase 4.1. Puis, la phase 4.2 a été réalisée chez 8 juges, sur un ensemble de 9 baguettes représentatives de l'espace produits baguettes à levure et farine blanche (dont les 3 baguettes Lesaffre), sous les 2 conditions. Les dynamiques de libération observées ont ensuite été mises en relation qualitativement avec les dynamiques de perceptions aromatiques mesurées par DTS.

La partie suivante reprend en détail les matériels et méthodes utilisés lors de ces 4 phases expérimentales.

CHAPITRE II.  
MATERIELS ET METHODES



## Chapitre II. Matériels et méthodes

Cette partie présente les produits et les protocoles mis en œuvre lors des différentes phases du projet de thèse pour répondre aux différents objectifs présentés dans le paragraphe précédent. Les pains utilisés lors des différentes phases du projet sont présentés dans le premier paragraphe. Puis, la description des panels et la caractérisation de différents paramètres liés à la physiologie orale des panélistes sont détaillées. Ensuite, les méthodes mises en place pour caractériser les perceptions sensorielles et les propriétés physicochimiques des pains et des bols sont détaillées. Pour finir, la dernière partie présente les analyses statistiques réalisées lors des différentes phases du projet de thèse entre les différents jeux de données de nature sensorielles et instrumentales. Etant donné que certaines techniques et méthodes sont communes à différentes phases du projet, une organisation thématique a été préférée à une organisation chronologique.

### II.1. Produits de l'étude

#### II.1.1. Pains Lesaffre

En amont du projet de thèse, trois pains ont été élaborés par le laboratoire R&D Baking Science de Lesaffre International avec pour objectif de découpler autant que possible les facteurs de structure et de composition aromatique des pains. Pour des raisons de transport entre le lieu de fabrication (Lille) et le lieu d'utilisation (Grignon) des pains, il a été choisi de travailler avec des produits précuits-surgelés, qui ont également l'avantage de pouvoir être conservés plusieurs mois avant la cuisson finale. De plus, afin de pouvoir disposer d'un ratio mie/croûte intéressant, il a été défini de travailler avec des baguettes.

Les 3 baguettes produites B1, B2 et B3 sont composées de la même farine et de la même levure, mais sont obtenues à partir de procédés de panification différents.

Plus précisément, elles sont composées de farine de blé type T55, d'eau, de levure de boulanger et de sel (**Tableau II.1-1**). La baguette B2 contient également 1 g d'améliorant pour 100 g de farine.

**Tableau II.1-1 : Quantité d'ingrédients utilisée (en g pour 100 g de farine) pour fabriquer les baguettes Lesaffre**

Identifiant	Nom	Farine	Eau	Levure	Sel	Améliorant
		Blé T55		Hirondelle Bleue		Ibis Bleu
<b>B1</b>	PLAC	100	70	0,5	1,8	0
<b>B2</b>	Indus	100	62	3	1,8	1
<b>B3</b>	Tradifast	100	68	3	1,8	0

Les trois baguettes sont fabriquées à partir de trois diagrammes de fabrication différents (**Tableau II.1-2**). La baguette B2 est soumise à un pétrissage deux fois plus long que les deux autres baguettes. Les baguettes B2 et B3 sont soumises à une étape de fermentation courte, au contraire de la baguette B1, soumise à une fermentation longue.

**Tableau II.1-2 : Description des procédés de panification utilisés pour les trois baguettes Lesaffre**

Identifiant	Nom	Autolyse	Pétrissage	1 <sup>ère</sup> ferm.	Façonnage	Apprêt	Précuisson
<b>B1</b>	PLAC	30 min	7 min	14h	manuel	1h	12 min
				8°C		22°C	250°C
<b>B2</b>	Indus	0 min	15 min	-	automatisé	1h45	10 min
				-		22°C	230°C
<b>B3</b>	Tradifast	30 min	7 min	50 min	automatisé	30 min	10 min
				22°C		22°C	250°C

Avant la précuisson, le four sur sole (Bongard, France) est préchauffé pour atteindre la température voulue et de la vapeur d'eau est introduite dans le four pendant 4 secondes. Puis, une fois que les pains sont introduits dans le four, de la vapeur d'eau est de nouveau injectée pendant 4 secondes dans le four. Après la précuisson et un ressuage de 30 min à température ambiante, les baguettes sont surgelées à -30°C et envoyées par camion frigorifique au laboratoire GMPA où ont été réalisés les essais expérimentaux du projet de thèse. Elles y sont stockés à -35°C pendant un maximum de 3 mois. Les baguettes B1, B2 et B3 sont recuites avant utilisation dans un four Wiesheu Minimat (Wiesheu GmbH, Allemagne) à 220°C pendant respectivement 9, 7 et 8 min.

Un protocole strict de cuisson a été mis en place et suivi tout au long du projet : les positions des pains dans le four, la température de celui-ci et le temps de cuisson étaient contrôlés à chaque cuisson.

Les pains sont utilisés après 2 heures de ressuage à 20°C, pendant une durée maximum de 2 heures.

Les pains B1, B2 et B3 ont été utilisés lors de toutes les phases du projet.

#### II.1.2. Pains du commerce

Un total de 38 baguettes achetées dans le commerce (supermarchés ou boulangeries des Yvelines) a été utilisé dans les phases 1, 4.1 et 4.2 (**Tableau II.1-3**). Tous les pains ont été achetés le matin des expérimentations et utilisés le jour même, ou échantillonnés et congelés à -80°C.

Tableau II.1-3 : Provenance des 38 baguettes du commerce utilisées dans les phases 1, 4.1 et 4.2

Numéro	Identifiant	Type de produit	Provenance	Phases
-	B4	Pain complet	Supermarché s1	1
4	S_O	Baguette ordinaire	Supermarché s1	4.1 et 4.2
35	b1_O1	Baguette ordinaire	Boulangerie b1	4.1 et 4.2
36	b1_O2	Pain ordinaire	Boulangerie b1	4.1 et 4.2
37	b1_T	Baguette tradition	Boulangerie b1	4.1 et 4.2
7	b2_T	Baguette tradition	Boulangerie b2	4.1 et 4.2
18	b3_T	Baguette tradition	Boulangerie b3	4.1 et 4.2
1	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b4	4.1
2	-	Baguette tradition	Boulangerie b4	4.1
3	-	Baguette tradition	Boulangerie b4	4.1
5	-	Baguette tradition	Supermarché s1	4.1
6	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b5	4.1
8	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b2	4.1
9	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b6	4.1
10	-	Baguette tradition	Boulangerie b6	4.1
11	-	Baguette tradition	Boulangerie b6	4.1
12	-	Baguette ordinaire	Supermarché s2	4.1
13	-	Baguette tradition	Supermarché s2	4.1
14	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b7	4.1
15	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b8	4.1
16	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b9	4.1
17	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b3	4.1
19	-	Baguette tradition	Boulangerie b3	4.1
20	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b10	4.1
21	-	Baguette tradition	Boulangerie b10	4.1
22	-	Baguette de campagne	Boulangerie b10	4.1
23	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b11	4.1
24	-	Baguette tradition	Boulangerie b11	4.1
25	-	Baguette tradition	Boulangerie b11	4.1
26	-	Baguette ordinaire	Supermarché s3	4.1
27	-	Baguette de campagne	Boulangerie b12	4.1
28	-	Baguette de campagne	Boulangerie b12	4.1
29	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b13	4.1
30	-	Baguette tradition	Boulangerie b13	4.1
31	-	Baguette de campagne	Boulangerie b13	4.1
32	-	Baguette tradition	Boulangerie b14	4.1
33	-	Baguette ordinaire	Boulangerie b15	4.1
34	-	Pain ordinaire	Boulangerie b16	4.1

**Phase 1. (Etude des bols – volet texture)** Le pain B4 a été ajouté aux pains B1, B2 et B3 lors de la phase 1. Il est fabriqué à partir de farine de blé complet contenant des grains de blé concassés. Ce pain est utilisé dans la phase 1 uniquement, et a été choisi pour sa densité proche de B1, sa teneur en eau proche de B2, et sa composition à base de farine complète. L'ajout du pain B4 aux 3 baguettes Lesaffre lors de la phase 1 du projet permet donc d'étudier l'impact de la composition (B4



« farine complète » vs. B1, B2 et B3 « farine blanche ») en plus de l'impact de la structure (B1 vs. B2 vs. B3) sur les dynamiques de formation du bol lors du processus oral.

**Phase 4.1. (Liens ions-molécules – volet arômes)** Les 37 baguettes achetées dans le commerce pour les phases 4.1 et 4.2 sont composées de farine blanche et sont sans levain. Leur procédé de fabrication ainsi que leur composition exacte en ingrédients sont inconnus. Elles sont vendues sous les appellations « baguette ordinaire », « baguette tradition », « pain ordinaire » ou « baguette de campagne ». L'ajout de ces baguettes à l'étude a permis d'élargir l'espace produits de manière à couvrir une diversité plus large en termes de composition aromatique.

**Phase 4.2. (Suivi *in vivo* – volet arômes)** Sur la base de la cartographie de la composition aromatique des 37 baguettes, 6 baguettes, sélectionnées pour leur diversité aromatique et pour leur facilité d'approvisionnement, ont été utilisées dans l'étude *in vivo* de libération des marqueurs aromatiques.

## II.2. Composition des panels et caractérisations physiologiques des panélistes

Deux panels différents ont été utilisés pendant le projet de thèse. Les panélistes étaient informés des conditions de l'étude (objectifs, organisation et fréquence des séances, durée totale de l'étude etc..) et ont signé un formulaire de consentement individuel précisant les conditions et consignes des tests. Ils ont reçu une compensation financière pour leur participation à la fin de chaque étude.

### II.2.1. Panel #1 : physiologie, bols et analyse sensorielle (phases 1, 2 et 3)

#### II.2.1.1. *Composition du panel #1*

Un panel de 14 volontaires (10 femmes et 4 hommes, âgés de 23 à 60 ans) a été recruté parmi le personnel du laboratoire GMPA. Ils ont tous participé à l'évaluation sensorielle des 3 baguettes Lesaffre par DTS et par profil progressif, puis 8 individus ont été sélectionnés en fonction de leur motivation, de leur disponibilité et de leur capacité à discriminer les produits. Ce panel de 8 individus (4 femmes et 4 hommes, âgés de 24 à 37 ans) a ensuite participé aux collectes des bols expectorés pour l'étude des propriétés physico-chimiques des bols. Différents paramètres de leur physiologie orale ont également été caractérisés.

#### II.2.1.2. *Caractérisation de la physiologie orale de 8 sujets du panel #1*

Les mesures du volume oral, des propriétés de la salive et de l'indice d'efficacité masticatoire ont été répétées trois fois chez les huit sujets du panel #1.

**Volume oral.** Le volume de la cavité orale des panélistes a été mesuré à l'aide d'un rhinopharyngomètre (Ecovision, Sleep Group Solutions, USA). L'embout du rhinopharyngomètre (support jetable, changé entre chaque sujet) était placé à l'entrée de la bouche des sujets. Pendant la mesure, il leur était demandé de respirer par la bouche.

**Flux salivaire.** Le flux salivaire des sujets ( $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) a été mesuré en condition stimulée par la mastication, selon la méthode définie par [Drago et al. \(2011\)](#). Les panélistes ont mastiqué un morceau de 0,5 g de Parafilm (American National Can Company, USA) pendant 6 min et devaient recracher la salive produite dans un flacon de masse connue toutes les 30 s. La salive collectée pendant la première minute n'a pas été prise en compte dans les calculs, car elle correspond à des conditions non optimales de stimulation. Le flux salivaire est calculé comme étant le ratio entre le

volume de salive collectée et la durée de la collecte, en supposant que le volume de la salive est égal à sa masse (densité proche de 1). Les trois répétitions ont été réalisées sur 3 jours différents à la même heure, en milieu de matinée, pour chacun des juges. Une partie de la salive collectée lors de la mesure du flux salivaire a été utilisée immédiatement pour mesurer la viscosité et l'extrait sec de la salive et l'autre partie a été congelée à -80 °C pour l'analyse de l'activité amylasique.

**Viscosité de la salive.** La viscosité de la salive (mPa.s) a été mesurée avec un rhéomètre MCR 301 (Anton Paar, Autriche), équipé d'une géométrie cône-plan (60 mm de diamètre, angle de 2°). Une quantité de 2,5 mL de salive est étalée sur le plateau et une fine couche de tensio-actif (SDS) est appliquée sur les bords du plateau pour limiter l'adsorption des protéines à l'interface air-liquide (Stokes & Davies, 2007). Les mesures ont été effectuées à 35°C et une rampe de vitesse de cisaillement de 2 à 450 s<sup>-1</sup> a été appliquée.

**Extrait sec de la salive.** L'extrait sec de la salive (g par 100 g de salive) a été mesuré par séchage de 1 mL de salive dans un four à 110°C pendant un minimum de 15 h (maximum 24 h). L'extrait sec est calculé comme étant le ratio entre la masse de matière sèche récupérée après séchage et la masse initiale de la salive, multiplié par un facteur 100.

**Activité amylasique de la salive.** L'activité amylasique de la salive (U.mL<sup>-1</sup>) a été mesurée à l'aide d'un kit commercial fourni par IBL International (référence RE80111, IBL International, GmbH, Allemagne) et par spectrophotométrie. Les échantillons de salive étaient décongelés 2 heures avant l'analyse à 4°C et centrifugés à 2000 rpm pendant 10 min pour enlever toutes les particules. 200 µL de salive étaient ensuite prélevés pour être analysés. Le principe de la méthode est de mesurer l'hydrolyse du 2-chloro-p-nitrophenyl- $\alpha$ -Dmaltotrioside (CNPG3) lors de l'ajout d'un échantillon contenant de l' $\alpha$ -amylase par le suivi de l'absorbance à 405 nm. La vitesse d'augmentation de l'absorbance après 5 min de réaction est alors proportionnelle à l'activité amylasique de l'échantillon.

**Indice d'efficacité masticatoire.** L'indice d'efficacité masticatoire de chaque sujet (sans unité) a été mesuré lors de la mastication d'un cylindre de pâte dentaire (silicone dentaire Optosil®, Heraeus Kulzer GmbH, Allemagne) de dimension  $h \times d$  : 1,8 cm x 1,4 cm (3g) pendant 20 cycles masticatoires. Au bout des 20 cycles, les morceaux d'Optosil® sont récupérés, séchés pendant une heure à 75°C et tamisés à l'aide d'un tamis (ouverture de 4mm). L'indice d'efficacité masticatoire est calculé comme étant le ratio entre la masse passée à travers le tamis et la masse initialement recrachée. Il représente la capacité du sujet à réduire de la pâte dentaire en fines particules au bout d'un nombre fixe de coups de dents.

**Traitement des données instrumentales de physiologie orale.** Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). Après avoir vérifié la normalité des données, une analyse de la variance (ANOVA à 1 facteur [juge],  $p < 0,05$ ) et un test de comparaison multiple (Fisher (LSD),  $p < 0,05$ ) ont été effectués sur les différentes variables de physiologie orale présentées dans ce paragraphe. Une analyse en composantes principales (ACP) et une classification ascendante hiérarchique (CAH) ont été réalisées sur les données centrées réduites.

## II.2.2. Panel #2 : Electromyographie et PTR-MS *in vivo* (phase 4.2)

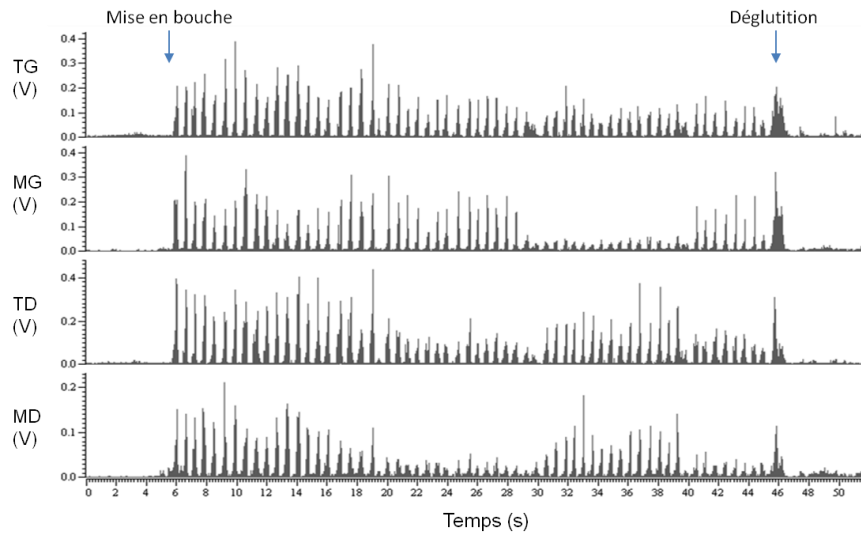
### II.2.2.1. *Composition du panel #2*

Le panel #2 a été recruté pour participer à la phase 4.2 (Suivi *in vivo* – volet arômes), suite au départ de nombreux panélistes du panel #1. Trois sujets sont cependant communs aux deux panels. Le panel #2 est composé de 8 volontaires (6 femmes et 2 hommes, âgés de 23 à 34 ans). Ils ont participé aux mesures de libération des composés d'arômes marqueurs suivis en conditions *in vivo* par PTR-MS et le comportement masticatoire de 3 d'entre eux a été caractérisé par électromyographie.

### II.2.2.2. *Caractérisation du comportement masticatoire des sujets du panel #2*

**Conditions expérimentales des mesures par électromyographie (EMG).** Le comportement masticatoire en condition normale de consommation de pain a été évalué chez 3 sujets communs au panel #1 et #2 à l'aide d'un appareil d'EMG de surface. L'activité des muscles masticatoires (masséters superficiels et muscles temporaux) de chaque côté de la mâchoire a été enregistrée lors de la consommation des 3 pains Lesaffre (sous deux conditions : mie seule et mie + croûte). Deux électrodes de surface (F-E5GH model, Astro-Med, USA) étaient placées à 1,5 cm l'une de l'autre le long de chaque muscle, détecté par palpation. Afin de minimiser le bruit de fond, une électrode double (F--E34DG model, Astro-Med, USA) était clipsée au lobe de l'oreille du sujet. L'analyse des 6 échantillons (3 pains avec ou sans croûte) a été répétée 3 fois lors de la même session, afin d'éviter les biais liés à la pose des électrodes. Les échantillons de mie seule ont été évalués d'abord, puis les échantillons de mie + croûte. Les échantillons étaient présentés aux juges à volume constant entre les pains (cylindre de mie [ $h : 2,5 \text{ cm} \times d : 3,0 \text{ cm}$ ] et demi-cylindre de mie + croûte [ $h : 2,5 \text{ cm} \times r : 3,0 \text{ cm}$ ]).

**Traitement des données EMG.** Le traitement des courbes EMG (**Figure II.2-1**) a été effectué à l'aide du logiciel Spike2 (version 3.16, CED, Royaume-Uni). Les paramètres suivants ont été extraits : nombre de cycles masticatoires, fréquence de mastication ( $\text{s}^{-1}$ ), durée moyenne d'un cycle (ms), travail masticatoire moyen par cycle (aires des pics par cycle, moyennées sur les 4 muscles, en  $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ) et travail masticatoire total de tous les cycles moyenné sur les 4 muscles (mV.s).



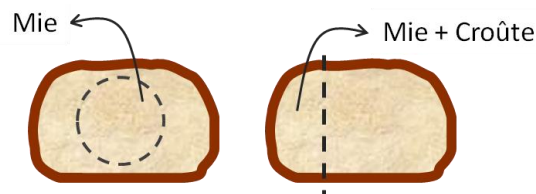
**Figure II.2-1 : Exemple de courbes EMG obtenues lors de la mastication d'un échantillon de mie + croûte pour les muscles temporaux gauche (TG) et droit (TD) et les masséters gauche (MG) et droit (MD) de la mise en bouche à la déglutition du produit**

Ces données ont ensuite été traitées par analyse de variance (ANOVA,  $p < 0.05$ ) avec test de comparaison multiple (Fisher (LSD),  $p < 0.05$ ) à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France).

### II.3. Caractérisations de l'évolution des perceptions de texture de d'arôme des pains au cours du temps

#### II.3.1. Conditions d'évaluation

Toutes les séances d'évaluation sensorielle ont été réalisées dans une salle d'analyse sensorielle, ventilée et climatisée à 20°C, et équipée de cabines sensorielles individuelles éclairées en lumière blanche. Les panélistes étaient informés qu'ils ne devaient ni boire, ni manger, ni fumer au moins une heure avant le début des séances. Les échantillons étaient présentés dans des barquettes en plastique refermables, codées aléatoirement par des nombres à trois chiffres, sous forme de tranches verticales de 2,5 cm d'épaisseur, découpées à l'aide d'une trancheuse universelle (F372, Krups, Allemagne). Les barquettes étaient préparées moins d'une heure avant le début des séances. Le protocole de dégustation a été mis au point par les panélistes lors des séances d'entraînement. Juste avant l'évaluation de l'échantillon, les juges découpaient eux-mêmes leur bouchée de mie ou de mie + croûte en suivant le schéma suivant (Figure II.3-1), avec l'instruction d'être répétable entre les bouchées et les pains.



**Figure II.3-1 : Schéma de découpe des échantillons à partir des tranches verticales de pain**

Nous avons choisi de laisser les panélistes découper leurs échantillons pour deux raisons : 1) éviter le dessèchement des échantillons et 2) garantir une liberté relative aux panélistes pour la dégustation des produits. Un produit de chauffe était présenté au début de chaque séance pour préparer les panélistes au test. Les échantillons étaient présentés en ordre aléatoire entre les panélistes afin d'éviter un biais dans les résultats. Les panélistes avaient la possibilité de se rincer la bouche entre les échantillons avec de l'eau minérale Evian (Danone, France).

**II.3.2. Entraînement du panel et plan d'expérience**

Au total, 12 sessions de 45 minutes chacune ont été dédiées à l'entraînement des panélistes. Pendant les 4 premières séances, les panélistes ont généré et sélectionné les attributs permettant de discriminer les produits de type baguette de farine blanche, en fonction de leurs caractéristiques de texture et d'arômes perçues en bouche. La 5<sup>e</sup> séance était dédiée à l'entraînement concernant la DTS. Elle a permis d'introduire la notion de dominance aux panélistes, définie comme étant la sensation qui attire l'attention du panéliste à un instant *t* (Lenfant, Loret, Pineau, Hartmann, & Martin, 2009). Après avoir réalisé les séances de DTS, les panélistes ont repris l'entraînement (7 séances) pour apprendre à évaluer les intensités des attributs sensoriels à des temps définis du processus oral à l'aide d'une échelle linéaire non structurée. Les séances d'entraînement ont toutes été réalisées sur des baguettes achetées dans le commerce.

S1	S2	S3	S4	S5
Génération et de sélection des attributs				Entraînement DTS
S6	S7	S8	S9	S10
DTS – 3 répétitions			Entraînement	
S11	S12	S13	S14	S15
Entraînement Profil progressif				
S16	S17	S18	S19	S20
Profil progressif - 1 <sup>ère</sup> répétition			Profil progressif -	
S21	S22	S23	S24	
2 <sup>ème</sup> répétition	Profil progressif – 3 <sup>ème</sup> répétition			

**Figure II.3-2 : Schéma représentant le planning de l'ensemble des séances d'entraînement et de tests sensoriels réalisés par le panel #1**

Les perceptions de texture et d'arôme des échantillons de mie ou de mie + croûte des 3 pains Lesaffre (B1, B2 et B3) ont été évaluées en bouche à l'aide de deux méthodes sensorielles : la méthode de Dominances Temporelles des Sensations (DTS) et la méthode du profil progressif (PP). Lors d'une séance (de DTS ou PP), les panélistes ont évalué les produits selon la séquence suivante : 1) les arômes de la mie (M), 2) les arômes de la mie + croûte (MC), 3) la texture de la mie (M) et 4) la texture de la mie + croûte (MC). Au final, pour chacune des méthodes, 4 listes d'attributs ont été utilisées (arômes-M, arômes-MC, texture-M et texture-MC).

II.3.3. Dominances Temporelles des Sensations (DTS)

La méthode de DTS permet d'évaluer au cours du temps l'évolution des dominances des sensations, jusqu'à ce que plus aucune sensation ne soit perçue. Cette méthode a été appliquée sur les 6 échantillons (3 pains B1, B2 et B3, sous les deux conditions M et MC), lors de la consommation d'une bouchée de produit. L'évaluation des 6 échantillons a été effectuée sur une séance répétée 3 fois à l'aide du logiciel Fizz Acquisition (Version 2.47A, Biosystemes, France).

Les attributs sélectionnés pour l'évaluation des échantillons de mie et de mie + croûte par DTS sont présentés dans le **Tableau II.3-1**.

**Tableau II.3-1 : Références des attributs aromatiques et définitions des attributs de texture utilisés lors de l'évaluation des échantillons de mie (M) et mie + croûte (MC) par DTS**

	<b>Attributs DTS</b>	<b>Références / Définitions</b>	<b>M</b>	<b>MC</b>
<b>Arômes</b>	Levure / fermenté	4 g de mie blanche surlevurée	x	x
	Farine mouillée	5 g de mie blanche mixée avec 7 g de farine et 7 g d'eau minérale Evian	x	x
	Beurre	5 g de mie blanche mixée avec 2 g de beurre doux	x	
	Céréales (Blé)	1 g de Craquette écrasée, mélangée avec 1 g d'eau	x	x
	Toasté	5 g de pain toasté (couleur blonde)		x
	Grillé	5 g de pain grillé (couleur noire)		x
	Céréales torréfiées	1 g de céréales cornflakes écrasées, mélangées avec 1 g d'eau		x
	Carton mouillé	1 g de carton et 10 g d'eau		x
<b>Texture</b>	Aéré	Produit donnant l'impression d'être rempli d'air	x	x
	Dur	Produit résistant à une déformation		x
	Mou	Produit s'écrasant très facilement après une compression mécanique	x	x
	Homogène	Absence de morceaux distincts (lisse)	x	x
	Hétérogène	Présence de morceaux ou grains répartis dans la salive	x	x
	Humide	Produit contenant beaucoup d'eau - peu d'hydratation par la salive	x	x
	Sec	Produit contenant peu d'eau - beaucoup d'hydratation par la salive		x
	Collant	Produit collant aux dents	x	x
	Pâteux	Produit ayant la consistance d'une pâte molle et épaisse	x	x
	Croustillant	Produit faisant du bruit pendant la mastication		x
	Elastique	Produit revenant à son volume initial après compression		x

Etant donné le caractère temporel de l'étude, nous avons défini les descripteurs en prenant soin de ne pas définir ni indiquer de moment d'évaluation (par exemple au premier coup de dent) afin de ne pas influencer les panélistes.

Lors de l'évaluation d'un échantillon, les panélistes commencent l'acquisition en cliquant sur le bouton « Start ». Au même moment, il leur est demandé d'introduire le morceau de pain en bouche. Il leur est ensuite demandé de choisir, à chaque instant, l'attribut perçu comme dominant. Une seule sélection à la fois est possible. Les attributs étaient présentés sous forme de liste, dans un ordre défini aléatoirement et différent entre chaque panéliste. Au moment de la première déglutition, les

panélistes cliquent sur le bouton « J'avale », puis continuent à sélectionner les attributs dominants jusqu'à la fin des perceptions. Il leur est alors demandé de cliquer sur le bouton « Stop ». Le moment de la déglutition n'étant pas imposé, il a été enregistré lors du test et a servi à calculer, pour chaque panéliste individuellement, les différents temps clés du processus oral utilisés lors des différentes phases du projet de thèse.

#### II.3.4. Détermination des trois temps clés du processus oral

Trois temps clés du processus oral du pain ont été identifiés et calculés à partir du temps de mastication entre la mise en bouche et la première déglutition de chaque panéliste. Ces trois temps correspondent au début de la mastication (T1 = 10 %), au moment de la déglutition (T3 = 100 %) et à un temps intermédiaire (T2 = 40 %). Ce temps T2 a été choisi à partir des courbes DTS et correspond au moment où le plus grand nombre de différences entre les échantillons étaient perçues. Ces trois temps ont été calculés individuellement pour chaque panéliste en fonction de leur temps à déglutition mesuré par DTS. Pour simplifier les expériences, le temps à déglutition moyen entre les 3 pains de chaque panéliste a été utilisé. En effet, la différence entre les 3 pains était faible (écart-type compris entre 1 et 5 s selon les panélistes) et du même ordre de grandeur que la précision pouvant être obtenue à chacun des temps. Cependant, comme les différences entre les échantillons de mie et ceux de mie + croûte étaient plus importantes, nous avons défini deux temps à déglutition pour chaque panéliste : un pour les échantillons de mie et un autre pour les échantillons de mie + croûte.

#### II.3.5. Profil progressif à trois temps du processus oral (PP)

La méthode du PP permet d'évaluer les intensités des descripteurs sensoriels perçues à différents temps liés au processus oral. Cette méthode a été appliquée sur six échantillons (trois pains B1, B2 et B3, sous les deux conditions M et MC) à l'aide du logiciel Fizz Acquisition (Version 2.47A, Biosystemes, France). Les attributs définis dans le **Tableau II.3-2**, ont tous été évalués aux trois temps T1, T2 et T3 mentionnés dans le paragraphe précédent.

Des chronomètres individualisés permettaient aux juges de savoir à quel moment recracher le produit et noter les perceptions. Pendant une séance, les panélistes évaluaient chacun des 3 pains sous les deux conditions, à un temps défini aléatoirement (T1, T2 ou T3) en présentation monadique séquentielle. Au total, 9 séances de 45 min ont été nécessaires pour évaluer, 3 fois, les 3 pains, les deux conditions et les trois temps.

**Tableau II.3-2 : Références des attributs aromatiques et définitions des attributs de texture utilisés lors de l'évaluation des échantillons de mie (M) et mie + croûte (MC) par PP**

	Attributs PP	Références / Définitions	M	MC
Arômes	Levure / fermenté	4 g de mie blanche surlevurée	x	x
	Farine mouillée	5 g de mie blanche mixée avec 7 g de farine et 7 g d'eau minérale Evian	x	x
	Beurre	5 g de mie blanche mixée avec 2 g de beurre doux	x	
	Céréales (Blé)	1 g de Craquette écrasée, mélangée avec 1 g d'eau	x	x
	Toasté	5 g de pain toasté (couleur blonde)		x
	Grillé	5 g de pain grillé (couleur noire)		x
	Céréales torréfiées	1 g de céréales cornflakes écrasées, mélangées avec 1 g d'eau		x
	Carton mouillé	1 g de carton et 10 g d'eau		x
Texture	Compact vs. <u>Aéré</u>	0 = Produit qui semble contenir beaucoup de matière 10 = Produit donnant l'impression d'être rempli d'air	x	x
	Dur vs. <u>Mou</u>	0 = Produit résistant à une déformation 10 = Produit s'écrasant très facilement après une compression mécanique	x	x
	Homogène vs. <u>Hétérogène</u>	0 = Absence de morceaux distincts (lisse) 10 = Présence de morceaux ou grains répartis dans la salive	x	x
	Humide vs. <u>Sec</u>	0 = Produit contenant beaucoup d'eau - peu d'hydratation par la salive 10 = Produit contenant peu d'eau - beaucoup d'hydratation par la salive	x	x
	Fondant	Produit réduisant en volume dans la salive sans beaucoup mastiquer	x	
	Collant	Produit collant aux dents	x	x
	Pâteux	Produit ayant la consistance d'une pâte molle et épaisse	x	x
	Croustillant	Produit faisant du bruit pendant la mastication		x
	Elastique	Produit revenant à son volume initial après compression		x

### II.3.6. Traitement des données sensorielles

Les résultats de l'évaluation DTS sont présentés sous forme de courbes de dominances moyennes pour l'ensemble du panel en fonction du temps standardisé (0 = mise en bouche et 100 = fin des perceptions) ; ces courbes sont réalisées par le logiciel Fizz Traitement (Version 2.47A, Biosystemes, France), d'après la méthode décrite par [Pineau et al. \(2009\)](#). La procédure Bézier a été utilisée pour lisser les courbes. Les niveaux de chance et de significativité ( $p < 0,05$ ) sont ajoutés aux graphes.

Les données du profil progressif ont été analysées à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). Les différences de perceptions entre les trois temps (T1, T2 et T3) ont été analysées par des tests non-paramétriques (Friedman,  $p < 0,05$ ), car les données n'étaient pas normales. Les différences entre les pains, les conditions, et les juges ainsi que les interactions entre ces facteurs ont été étudiées temps par temps, après transformation des données par logarithmes, racines carrées ou arc sinus pour obtenir des distributions normales, par des analyses de variance (ANOVA,  $p < 0,05$  ; Fisher (LSD),  $p < 0,05$ ).



Les performances globales et individuelles du panel en termes d'homogénéité, de pouvoir discriminant et de répétabilité ont été calculées sur les données du profil progressif, selon les critères présentés dans le **Tableau II.3-3**.

**Tableau II.3-3 : Définition des critères de contrôle des performances des panélistes et du panel lors de la réalisation du profil progressif des produits (pain x temps, soit 9 produits). F = facteur, en souligné : facteur observé pour le critère donné.**

	PANELISTE	PANEL
<b>Homogénéité</b>	Coefficient de <b>corrél</b> ation de Pearson ( $p < 0,05$ ) entre la moyenne des notes d'un juge et la moyenne du panel (par produit)	<b>ANOVA 2 F + interaction</b> : Attribut = Sujet + Produit + <u>Sujet*Produit</u> ( $p > 0,05$ )
<b>Répétabilité</b>	<b>Ecart-type</b> < 1,5 entre les 3 répétitions d'un même produit pour un attribut	<b>ANOVA 2 F</b> : Attribut = Produit + <u>Répétition</u> ( $p > 0,05$ )
<b>Pouvoir discriminant</b>	<b>ANOVA 1 F</b> : Attribut = <u>Produit</u> ( $p < 0,15$ )	<b>ANOVA 2 F + interaction</b> : Attribut = Sujet + <u>Produit</u> + <u>Sujet*Produit</u> ( $p < 0,05$ )

Les résultats sont rapidement présentés en annexe du manuscrit. Suite à cette analyse, 8 juges globalement performants et disponibles pour la suite de l'étude ont donc été sélectionnés. Les résultats du profil progressif présentés dans les publications associées aux phases 2 et 3 sont calculés sur la base de ces 8 panélistes.

## II.4. Caractérisations instrumentales de la composition, de la structure et de la texture des pains et des bols

### II.4.1. Caractérisations instrumentales de la composition, de la structure et de la texture des pains

Les différents pains ont été caractérisés par plusieurs méthodes instrumentales. Ces caractérisations, ainsi que les pains sur lesquelles elles ont été appliquées, sont regroupées dans le **Tableau II.4-1**, puis détaillées dans les paragraphes suivants.

**Tableau II.4-1 : Caractérisations effectuées sur les différents pains**

	Caractérisations	B1, B2 et B3	B4	37 baguettes
<b>Composition</b>	Teneur en amidon	X	X	
	Teneur en eau	X	X	X
<b>Propriétés d'hydratation</b>	Capacité d'absorption d'eau	X	X	
	Cinétiques d'absorption	X	X	
<b>Structure</b>	Densité	X	X	X
	Epaisseur de la croûte	X		
	Ratio mie/croûte	X		
	Structure alvéolaire	X		
<b>Propriétés mécaniques</b>	Compression/relaxation	X	X	X
	Multi-indentation	X		

#### II.4.1.1. *Composition en amidon total et en eau des pains*

**Teneur en amidon des pains.** La teneur totale en amidon de la mie (g par 100 g) a été déterminée selon le protocole décrit par [Goni, Garcia-Alonso, & Saura-Calixto \(1997\)](#). L'amidon présent dans la mie est totalement hydrolysé par l'ajout d'amyloglucosidase. Le glucose produit à l'issue de la réaction est mesuré à l'aide d'un kit commercial de mesure de glucose (v10-10321, Biosentec, France) qui s'appuie sur des mesures d'absorption UV à la longueur d'onde de 340 nm. La teneur en amidon des pains a été calculée à partir de la mesure de glucose obtenue, en lui appliquant un facteur de conversion de 0,9 prenant en compte la perte de molécules d'eau par les unités de glucose lorsqu'elles sont polymérisées sous forme d'amidon.

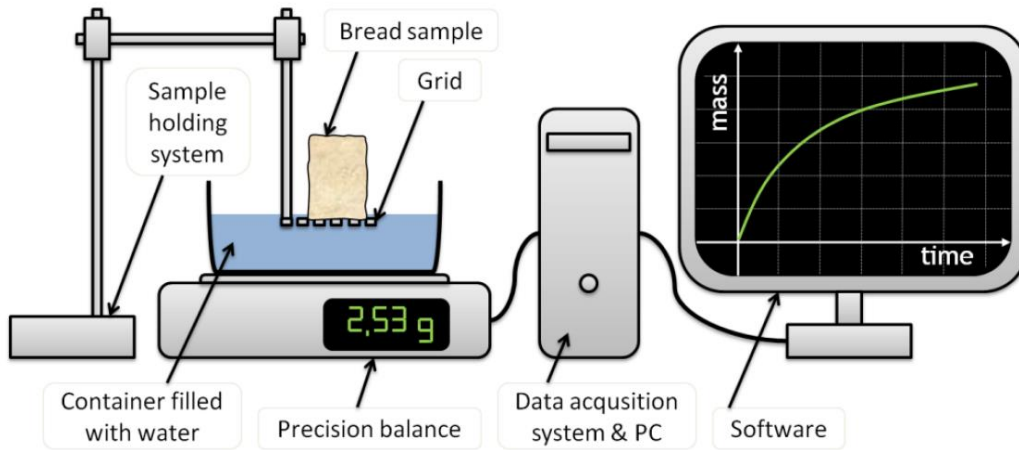
**Teneur en eau des pains.** La teneur en eau (g par 100 g) a été déterminée par séchage d'un échantillon de mie ou de mie + croûte dans un four à 110°C pendant un minimum de 15 h (maximum 24 h). La teneur en eau correspond au ratio entre la différence de masse (masse initiale – masse de matière sèche récupérée après séchage) et la masse initiale de l'échantillon, multiplié par un facteur 100.

Les mesures de teneur en amidon et de teneur en eau ont été répétées trois fois sur des tranches provenant de la même baguette. Les mesures de teneur en amidon concernent les pains B1, B2, B3 et B4. Les mesures de teneur en eau ont été utilisées comme mesures de contrôle des recuissons de pains Lesaffre (donc mesurée en triplicat à chaque cuisson), et ont été effectuées sur tous les pains du projet de thèse.

#### II.4.1.2. *Propriétés d'hydratation des pains*

**Capacité d'absorption d'eau des pains.** La capacité d'absorption a été déterminée à partir des échantillons de mie (cylindre de hauteur 2,5 cm et de diamètre 2,6 cm) et des échantillons de mie + croûte (tranche verticale de 2,5 cm d'épaisseur). Les échantillons étaient pesés puis immergés pendant 30 min dans un grand volume d'eau (35 mL pour les cylindres de mie, 400 mL pour les tranches de mie + croûte). Ils étaient ensuite égouttés sur une grille pendant 20 s puis pesés et séchés dans un four à 110°C pendant un minimum de 15 h (maximum 24 h). La capacité d'absorption d'eau est calculée comme étant le ratio entre la quantité d'eau absorbée et l'extrait sec de l'échantillon.

**Cinétiques d'hydratation de la mie.** Les cinétiques d'hydratation des cylindres de mie (h : 2,5 cm et d : 2,8 cm) ont été mesurées à l'aide du dispositif décrit par [Mathieu \*et al.\* \(2016\)](#) ([Figure II.4-1](#)).



**Figure II.4-1 : Représentation schématique du système d'acquisition des données de cinétique d'hydratation (Mathieu *et al.*, 2016)**

Au début de l'expérience, l'échantillon de mie est placé sur la grille (mailles de 1 mm<sup>2</sup>) au contact de la surface de l'eau. Un système d'acquisition (Precisa 320 XT/XB, Dietikon, Suisse) permet d'enregistrer en direct la diminution de la masse d'eau mesurée par la balance (XT1200C, Precisa, Dietikon, Suisse) au cours du temps. Cette masse correspond à la masse d'eau absorbée par le pain. Le détail des analyses associées à ces mesures est renseigné dans la partie « matériel et méthodes » de la publication « Kinetics of bread crumb hydration as related to porous microstructure » de Mathieu *et al.* (2016) en annexe du manuscrit de thèse.

Les mesures de capacité d'absorption d'eau et les cinétiques d'hydratation ont été effectuées sur les pains B1, B2, B3 et B4 (phase 1 : Etude des bols – volet texture) et répétées sur 3 tranches provenant de la même baguette.

#### II.4.1.3. Structure des pains

**Densité des pains.** La densité des pains a été déterminée à l'aide de la méthode de déplacement des graines de colza, réalisée dans un récipient rectangulaire de taille 32 cm x 22,5 cm x 9,5 cm. Cette méthode consiste à peser la masse d'un récipient contenant le pain et rempli manuellement à ras bord de graines de colza afin de calculer le volume du pain à partir de la masse des graines, de leur masse volumique et du volume du récipient. Le calcul associé afin de déterminer la densité est le suivant:

$$m_{graines} = m_{totale} - m_{pain} - m_{réc}$$

$$V_{graines} = \frac{m_{graines}}{\rho_{graines}}$$

$$V_{pain} = V_{réc} - V_{graines}$$

$$Densité = \frac{m_{pain}}{V_{pain}}$$

Avec :

$m_{graines}$  (kg) : masse de graines introduite dans le récipient une fois le pain déposé et recouvert

$m_{totale}$  (kg) : masse totale du récipient + pain + graines

$m_{pain}$  (kg) : masse du pain pesé au préalable

$m_{réc}$  (kg) : masse du récipient pesé à vide

$V_{graines}$  (dm<sup>3</sup>) : volume de graines introduit dans le récipient une fois le pain déposé

$\rho_{graines}$  (kg.dm<sup>-3</sup>) : masse volumique des graines égale à 0,730 kg.dm<sup>-3</sup>

$V_{pain}$  (dm<sup>3</sup>) : volume du pain

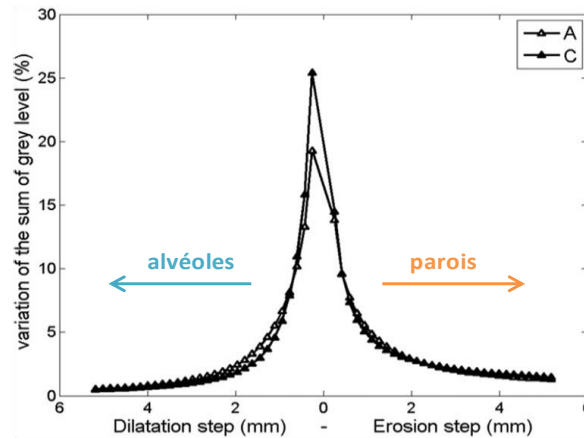
$V_{réc}$  (dm<sup>3</sup>) : volume du récipient égal à 68,4 dm<sup>3</sup>

L'étape critique de cette mesure est le remplissage manuel du récipient avec les graines de colza, qui est opérateur-dépendant. Les mesures de densité ont donc toujours été effectuées par le même opérateur, jugé extrêmement répétable.

**Épaisseur de la croûte.** L'épaisseur de la croûte (mm) a été mesurée sur des scans de tranches horizontales de pain, avec l'aide du logiciel ImageJ (version 1.48v, National Institutes of Health, USA). Les tranches découpées dans la longueur du pain, à mi-hauteur, ont été scannées par un scanner Epson GT-1500 (Seiko Epson Corporation, Japon) avec une résolution de 600 dpi. L'épaisseur de la croûte a été mesurée, à l'aide de la fonction « Mesure » du logiciel, en 40 positions déterminées manuellement par discrimination visuelle des couleurs.

**Ratio mie/croûte des pains.** Le ratio mie/croûte a été déterminé par pesée. La mie et la croûte d'une tranche de pain de 2,5 cm d'épaisseur ont été séparées manuellement et pesées séparément. La mie qui ne pouvait pas se détacher de la croûte était considérée comme étant de la croûte.

**Analyse de la structure alvéolaire des pains.** La structure alvéolaire des pains a été déterminée par analyse visuelle de texture selon le protocole décrit par Devaux, Reguerre, Chiron, & Lassoued (2005). Les mesures ont été réalisées avec l'aide du laboratoire BIA de Nantes. L'analyse visuelle de texture a été réalisée sur les scans des tranches horizontales de pain également utilisés pour calculer l'épaisseur de la croûte. Cette méthode consiste à analyser la mie comme une texture visuelle. Préalablement au traitement, les images sont converties en niveaux de gris. Ainsi, à chaque pixel est associé une teinte codée comprise entre 0 et 255 (le noir étant associé à 0 et blanc à 255). Un traitement par morphologie mathématique est alors appliqué et consiste à comparer chaque portion d'image à un masque de taille et de forme données appelé élément structurant puis à modifier l'image selon le résultat de ces comparaisons. Le niveau de gris du pixel au centre du masque est modifié en fonction des valeurs de ses voisins. Deux types de transformations sont appliqués : l'érosion et la dilatation. Dans le cadre de l'étape nommée dilatation, le pixel central prend la valeur maximale des niveaux de gris observés pour les pixels recouverts par l'élément structurant. À l'inverse, pour l'érosion, le pixel central prend la valeur minimale des niveaux de gris appartenant à l'élément structurant. Suite à ces transformations, une courbe finale comme présentée en **Figure II.4-2** est obtenue.

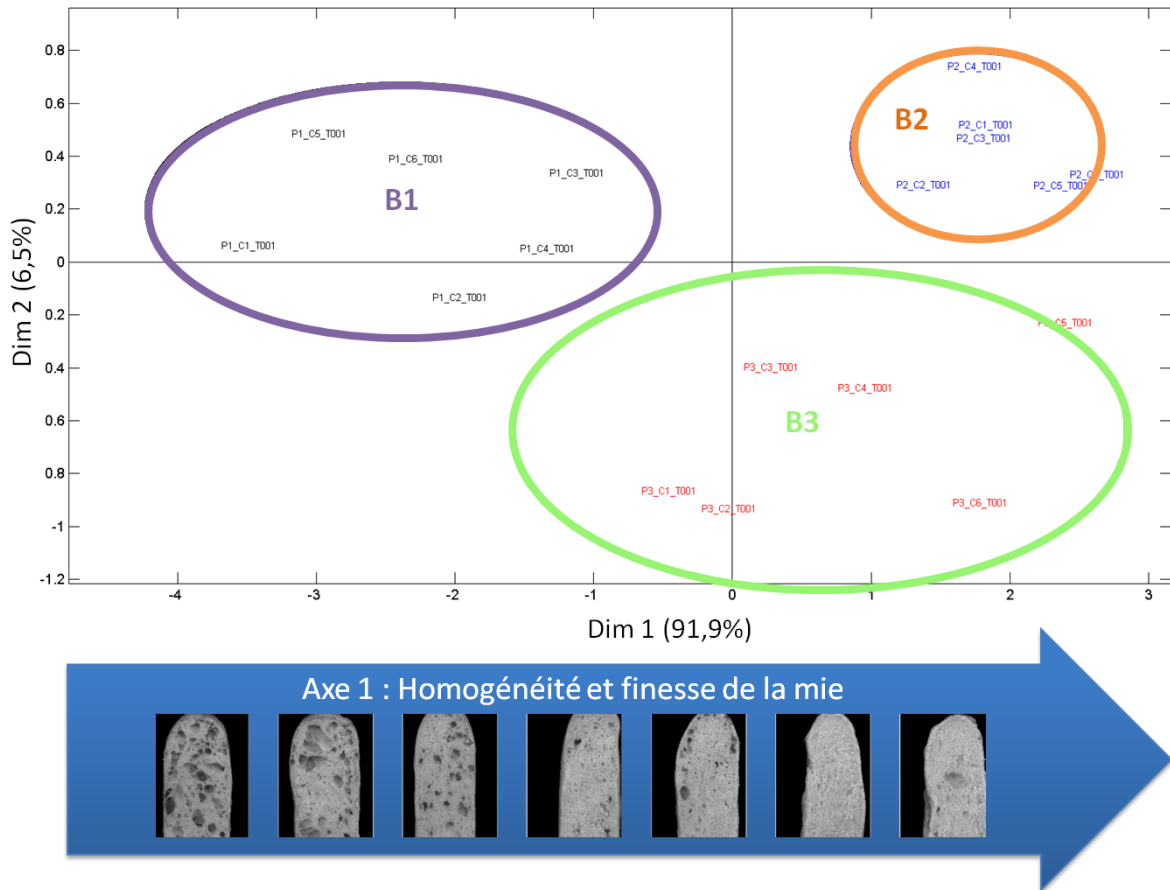


**Figure II.4-2 : Exemple de courbe de texture granulométrique**

Cette courbe représente l'impact de chaque étape de dilatation ou d'érosion. On remarque que les premières étapes impliquent de plus fortes variations que les dernières. Les variations concernant les alvéoles sont plus marquées et plus rapides que celles concernant les parois.

Ces courbes sont ensuite toutes réunies dans un même jeu de données en tant qu'individus statistiques ; les variables étant la taille des étapes de morphologie mathématique. Une analyse en composantes principales (ACP) est alors réalisée permettant ainsi que comparer les courbes. Chaque courbe étant associée à un produit, il est alors possible de comparer les produits entre eux.

Les résultats issus de cette analyse ont permis de classer les 3 pains Lesaffre sur un axe allant d'une mie très hétérogène, composée de grosses alvéoles (pain B1) jusqu'à une mie très homogène et fine (pain B2) (Figure II.4-3).



**Figure II.4-3 : Représentation graphique de la carte des produits de l'ACP réalisée à partir des données de l'analyse visuelle de texture des 3 pains Lesaffre. Un point correspond à une cuisson.**

Cette caractérisation n'a pas été appliquée aux autres produits étudiés et n'est pas présentée dans la partie résultats du manuscrit.

Les mesures d'épaisseur de croûte et du ratio mie/croûte ont été effectuées sur les pains B1, B2, B3 et B4, et répétées sur 3 tranches provenant de 3 baguettes cuites lors de différentes fournées ou provenant de la même baguette, respectivement. Les mesures de densité ont été utilisées comme mesures de contrôle des recuissons de pains Lesaffre (mesure en triplicat à chaque cuisson), et ont été effectuées sur tous les pains du projet de thèse.

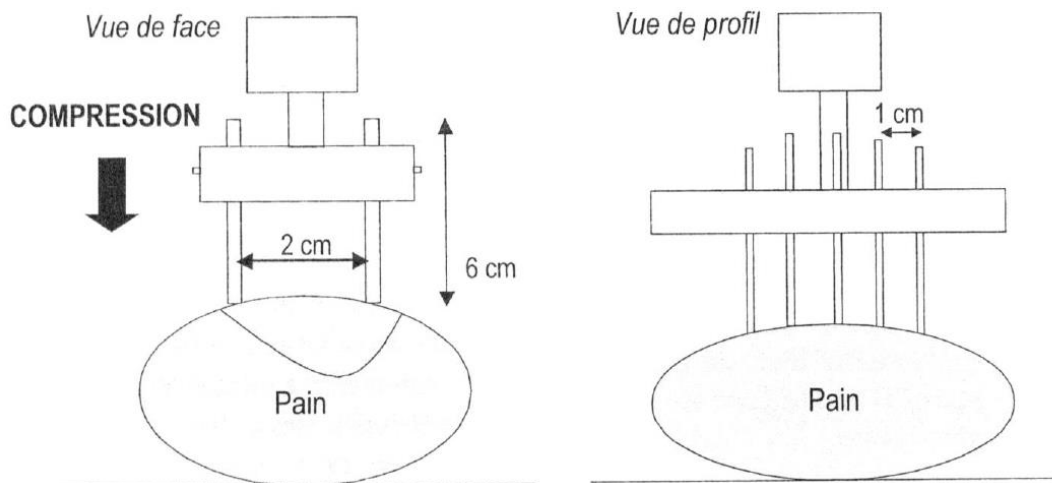
#### II.4.1.4. Propriétés mécaniques des pains

**Compression/relaxation.** La fermeté de la mie a été mesurée par compression/relaxation à l'aide d'un texturomètre TA.XT *plus* (Stable Micro System, Royaume-Uni), équipé d'un plateau de 3,0 cm de diamètre et d'un capteur de force de 30 kg. Un échantillon cylindrique de mie (h : 2,5 cm et d : 3,0 cm) était comprimé jusqu'à 66 % de sa hauteur initiale à une vitesse de 0,83 mm.s<sup>-1</sup> (compression), puis la position du plateau était maintenue pendant 120 s (relaxation). Ces paramètres sont classiquement retrouvés dans la littérature pour étudier les propriétés rhéologiques d'un aliment solide (Breene, 1975; Peyron *et al.*, 2011). Une courbe représentant la contrainte (force appliquée divisée par la surface du module de compression) en fonction de la déformation est obtenue pour chaque échantillon. La pente à l'origine de cette courbe donne la valeur du module d'Young de l'échantillon (kPa) et représente sa fermeté. Plus le module d'Young est grand, plus le produit est

ferme. A partir de cette mesure, il est également possible de tracer la courbe représentant la force appliquée à l'échantillon en fonction du temps, et de calculer un pourcentage de relaxation (ratio entre la force maximale et la force mesurée en fin de relaxation).

Les mesures de compression/relaxation de la mie ont été utilisées comme mesures de contrôle des recuissons de pains Lesaffre (mesure en triplicat à chaque recuisson), et ont été effectuées sur tous les pains du projet de thèse.

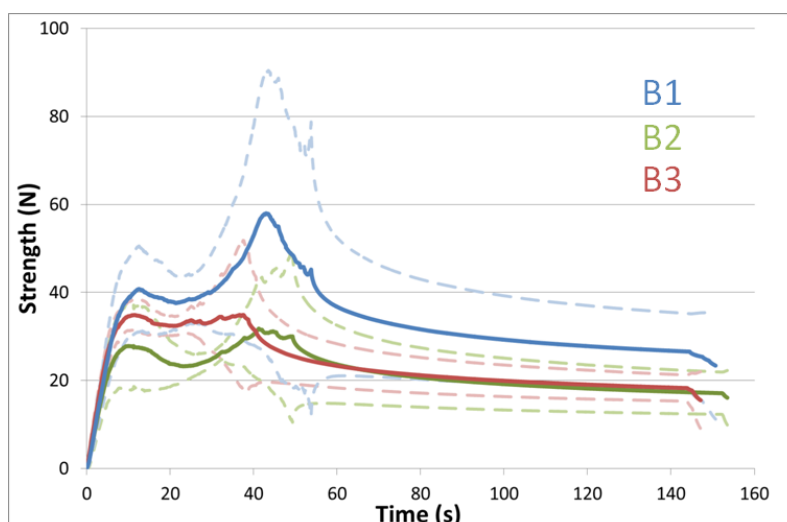
**Multi-indentation.** Afin d'évaluer les deux parties du pain (soit la mie et la croûte) dans une même mesure, une méthode d'évaluation de la texture par multi-indentation a été mise en place par Chaunier, Chiron, Della Valle, & Saulnier (2008). Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un texturomètre TA.XT2 (Stable Micro System, Royaume-Uni), équipé d'une cellule de compression multi-indentée et d'un capteur de force de 25 kg. La cellule de compression est composée de 2 rangées de 10 indents répartis conformément au schéma de la **Figure II.4-4**.



**Figure II.4-4 : Schéma du principe de la mesure de multi-indentation (Chaunier *et al.*, 2008). Sur le schéma seul 2 x 5 indents sont représentés.**

Les indents sont réglés individuellement de façon à être en contact avec la surface du pain, non homogène. Les mesures sont réalisées sur la baguette entière, et le même profil de compression/relaxation que pour les échantillons de mie est appliqué (66 % de déformation à une vitesse de  $0,83 \text{ mm.s}^{-1}$ , suivie de 120 s de relaxation). Une courbe représentant la force appliquée en fonction du temps est obtenue pour chaque échantillon (**Figure II.4-5**). Les mêmes paramètres que ceux présentés dans le paragraphe compression/relaxation sont calculés (module d'Young, pourcentage de relaxation), ainsi que l'énergie (aire sous la courbe (N.s) divisée par la vitesse de  $0,83 \text{ mm.s}^{-1}$ ).

Cependant, étant donnée la faible répétabilité des mesures, cette méthode n'a pas permis de discriminer les pains et n'est donc pas utilisée par la suite.



**Figure II.4-5 : Courbes représentant la force appliquée en fonction du temps mesurée par multi-indentation pour les trois baguettes Lesaffre. Courbes moyennes sur 12 mesures (4 pains x 3 fournées) en traits pleins et écart-types en traits pointillés.**

#### II.4.2. Caractérisations instrumentales de la composition, de la structure et de la texture des bols

##### II.4.2.1. *Collecte des bols à 3 temps*

La collecte des bols présentée ci-après a été réalisée dans le cadre de la phase 1 (Etude des bols – volet texture). Chaque sujet du panel #1 (réduit à huit participants) a participé à huit séances de collecte de bols, de durée égale à 30 min. Une séance était dédiée à un pain (parmi B1, B2, B3 et B4) et à une condition (mie ou mie + croûte). Les échantillons de mie (cylindre de h : 2,5 cm et d : 3,0 cm) et les échantillons de mie + croûte (demi-cylindre de h : 2,5 cm et r : 3,0 cm) ont été découpées à partir de tranches verticales de 2,5 cm d'épaisseur à l'aide d'un emporte-pièce cylindrique ou d'un couteau, moins d'une minute avant d'être présentés au sujet dans une coupelle. Le premier produit était considéré comme un produit de chauffe, afin de simuler la production de salive des sujets. Les trois temps du processus oral définis précédemment (T1 = 10 %, T2 = 40 % et T3 = 100 % du temps de mastication) étaient étudiés dans la même séance. Les répétitions ont été effectuées lors de la même séance. Les bols collectés étaient utilisés immédiatement, excepté pour les mesures de teneur en glucose, pour lesquelles les bols étaient immédiatement congelés dans de l'azote liquide et stockés à -80°C en attendant d'être analysés.

Les propriétés physiques des bols à trois temps du processus oral ont été caractérisées à partir des méthodes suivantes :

- Une méthode de dessiccation pour évaluer la teneur en eau et le taux d'hydratation, à partir desquels sont calculés l'activité amylasique et le pourcentage résiduel de pain en bouche après collecte ;
- Une méthode de granulométrie par analyse d'image pour évaluer la taille des particules et leur distribution ;
- Une méthode de texturométrie (analyse du profil de texture ou TPA) pour évaluer la texture des bols.



Deux autres méthodes ont également été appliquées aux bols, mais uniquement à ceux récoltés à déglutition :

- Une méthode de rhéologie oscillatoire, pour évaluer l'état viscoélastique aux petites déformations du bol à déglutition ;
- Une méthode de quantification du glucose soluble libéré par l'action de l' $\alpha$ -amylase.

Ces méthodes sont présentées dans les prochains paragraphes suivant un ordre thématique (composition, propriétés d'hydratation, structure et propriétés mécaniques).

#### II.4.2.2. *Composition en eau des bols et libération du glucose soluble*

**Teneur en eau des bols.** La teneur en eau des bols (g par 100 g de bol) a été déterminée au 3 temps du processus oral, de la même manière que pour les échantillons de pain (cf paragraphe II.4.1.1). Les mesures ont été réalisées trois fois sur des bols différents.

**Libération du glucose soluble.** La libération du glucose soluble dans l'eau (g par 100 g de pain) a été déterminée uniquement pour les bols à déglutition (T3). Pour cela, la teneur en glucose soluble des pains et des bols a été mesurée à l'aide d'un kit commercial (v10-10321, Biosentec, France). Les échantillons de pain (cylindre de mie et demi-cylindre de mie + croûte) ont été découpés en particules de 5 mm avec un couteau et pesés. Les bols ont été décongelés à 4°C et pesés. De l'eau Milli-Q (Merck Millipore, Merck KGaA, Allemagne) est ajoutée à chaque échantillon selon des ratios suivants : poids identique à l'échantillon pour les bols ou 2,5 fois le poids de l'échantillon pour les pains. Après une agitation manuelle jusqu'à homogénéisation et un repos de 10 min à 4°C, les échantillons étaient centrifugés à 11 000 rpm, pendant 5 min, à 4°C. Le surnageant récolté a été utilisé pour la mesure de la teneur en glucose avec le kit. Les données obtenues ont été corrigées par le facteur de dilution de l'échantillon. La mesure a été répétée sur trois échantillons de pain, et sur un échantillon de bol par juge. La libération du glucose soluble a été calculée comme étant la soustraction de la teneur en glucose dans le pain à la teneur en glucose dans le bol. Le glucose a été utilisé comme un indicateur de l'hydrolyse de l'amidon, bien qu'il ne soit pas le produit majoritaire de la réaction.

#### II.4.2.3. *Propriétés d'hydratation des bols*

A l'aide des mesures de teneur en eau des bols et des pains, plusieurs paramètres reflétant les propriétés d'hydratation des bols ont pu être calculés pour les trois temps du processus oral. Les mesures ont été répétées sur trois bols différents.

**Taux d'hydratation des bols.** La quantité de salive introduite dans le bol par rapport à la masse de matière sèche de l'aliment, aussi appelé taux d'hydratation  $h_s$  (g par 100 g de matière sèche), a été déterminée par le calcul selon le protocole décrit par [Drago et al. \(2011\)](#), et présenté ci-dessous :

$$M_{salive-exp} = M_{bol} - M_{alim-exp}$$

$$M_{alim-exp} = \frac{M_{bol} \times (1 - t_{bol})}{(1 - t_{alim})}$$

$$h_s = 100 \times \frac{M_{salive-exp}}{M_{s-alim-exp}}$$

Avec (cf. **Figure II.4-6**) :

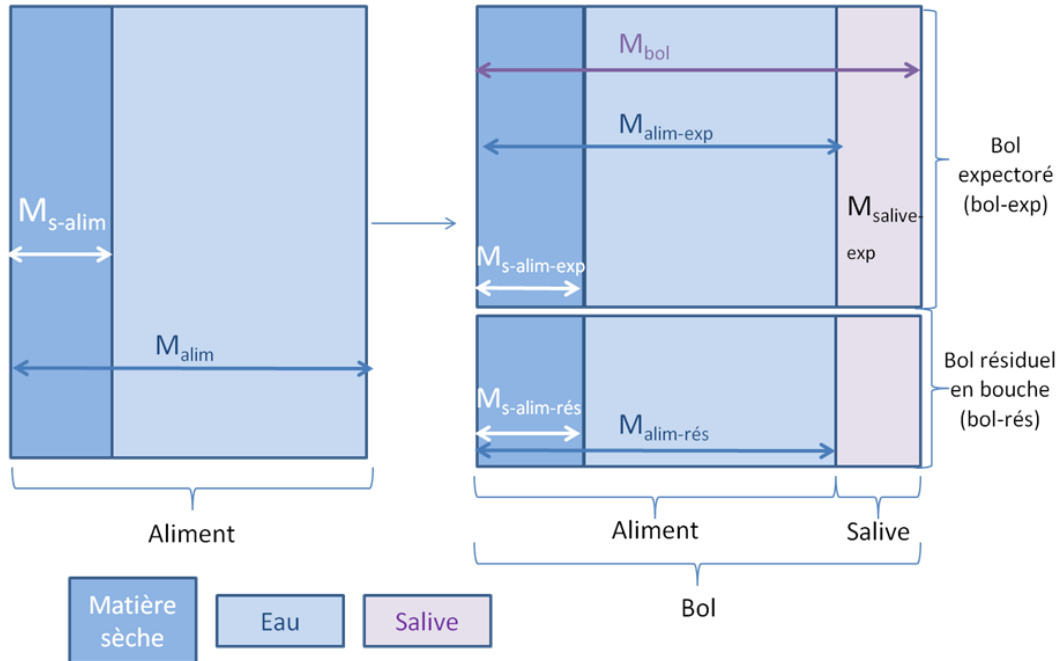
$M_{salive-exp}$  (g) : masse de salive introduite dans le bol expectoré

$M_{bol}$  (g) : masse de bol expectoré

$M_{alim-exp}$  (g) : masse de pain présent dans le bol expectoré

$t_{bol}$  (g par g de produit) : teneur en eau du bol

$t_{alim}$  (g par g de produit) : teneur en eau du pain



**Figure II.4-6 : Schéma explicatif des abréviations utilisées (Drago *et al.*, 2011)**

**Pourcentage de résidus.** Le pourcentage résiduel de pain en bouche (% massique) a été déterminé par le calcul selon le protocole décrit par Drago *et al.* (2011), et présenté ci-dessous :

$$M_{alim} = M_{alim-exp} + M_{alim-rés}$$

$$M_{s-alim} = M_{s-alim-exp} + M_{s-alim-rés}$$

En considérant que :  $M_{s-alim-exp} = M_{s-bol}$ ,

$$\begin{aligned} M_{s-alim-rés} &= M_{s-alim} - M_{s-alim-exp} \\ &= M_{alim} \times (1 - t_{alim}) - M_{bol}(1 - t_{bol}) \end{aligned}$$

$$M_{alim-rés} = \frac{M_{s-alim-rés}}{(1 - t_{alim})}$$

$$\%_{alim-rés} = \frac{M_{alim-rés}}{M_{alim}}$$

Avec (cf. **Figure II.4-6**) :

$M_{alim}(g)$  : masse de pain

$M_{alim-exp}(g)$  : masse de pain présent dans le bol expectoré

$M_{alim-rés}(g)$  : masse de pain non expectoré : résidus en bouche

$M_{s-alim}(g)$  : masse de matière sèche de pain

$M_{s-alim-exp}(g)$  : masse de matière sèche de pain présent dans le bol expectoré

$M_{s-alim-rés}(g)$  : masse de matière sèche de pain non expectoré

$M_{bol}(g)$  : masse de bol expectoré

$M_{s-bol}(g)$  : masse matière sèche de bol expectoré

$t_{bol}(g \text{ par } g \text{ de produit})$  : teneur en eau du bol

$t_{alim}(g \text{ par } g \text{ de produit})$  : teneur en eau du pain

**Activité amylasique des bols.** L'activité amylasique contenue dans les bols (U par g de matière sèche) a été déterminée à partir du taux d'hydratation des bols et de l'activité amylasique salivaire des sujets, selon le calcul suivant :

$$a_s = \frac{A \times h_s}{100}$$

Avec :

$A (U \cdot mL^{-1})$  : activité amylasique de la salive du sujet

$h_s (g \text{ de salive par } 100 g \text{ de matière sèche})$  : taux d'hydratation du bol

#### II.4.2.4. Structure des bols : taille des particules déterminée par analyse d'image

La préparation des échantillons pour l'analyse des particules a été réalisée selon le protocole développé par [Le Bleis et al. \(2013\)](#). Après mastication, le bol est dilué dans 150 mL de glycérol (Sigma Aldrich, USA) et agité à 170 rpm à 20 °C à l'aide d'une plaque d'agitation (Multitron Standard®, Infors AG, Suisse). Les particules de bols alors dispersées, sont versées dans des boîtes à Pétri de diamètre 140 mm de diamètre, de façon à ce qu'il n'y ait pas de contact entre les particules. Les images de particules ont été acquises à l'aide d'un appareil photo Canon EOS 700D (Canon Inc., Japon) et d'un ScanCube 308 (Altawak Technologie, France) qui confère une luminosité standardisée. L'acquisition des images a été pilotée par le logiciel Easy ScanCube 1.9 (Altawak Technologie, France). Les images obtenues (3434 x 3434 pixels) ont été analysées à l'aide du logiciel ImageJ (version 1.48v, National Institute of Health, USA). Un seuil noir et blanc a été appliqué aux images, puis la fonction « Analyse particules » a été utilisée afin de déterminer le nombre de particules et leurs aires. Les données ont ensuite été exportées sous Excel (2007, Microsoft Corporation, USA).

Le diamètre médian équivalent D50 (mm) et l'écart interquartile D75/D25 ont été calculés à partir de la courbe représentant le pourcentage d'aire cumulée en fonction de l'aire, en supposant que les particules peuvent s'apparenter à des disques. Ces deux paramètres représentent respectivement le degré de dégradation du bol et son hétérogénéité en termes de taille des particules. Une seule répétition a été réalisée à chaque temps, pour tous les pains et tous les juges.

## II.4.2.5. Propriétés mécaniques des bols

**Analyse de profil de texture (TPA).** Le profil de texture de type TPA a été mesuré sur les bols à l'aide d'un texturomètre TA.XT *plus* (Stable Micro System, Royaume-Uni) équipé d'un plateau de 6,0 cm de diamètre et d'un capteur de force de 30 kg. Deux compressions successives sont appliquées, à la vitesse constante de  $0,83 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ , à l'échantillon de bol préalablement modelé en un cylindre de 3,0 cm de diamètre à l'aide d'une seringue découpée. Une déformation de 65 % de la hauteur initiale est appliquée pour les deux compressions, qui étaient espacées d'une seconde.

Les paramètres « hardness », « adhesiveness » et « cohesiveness » ont été extraits de la courbe représentant la force appliquée en fonction du temps (Figure II.4-7).

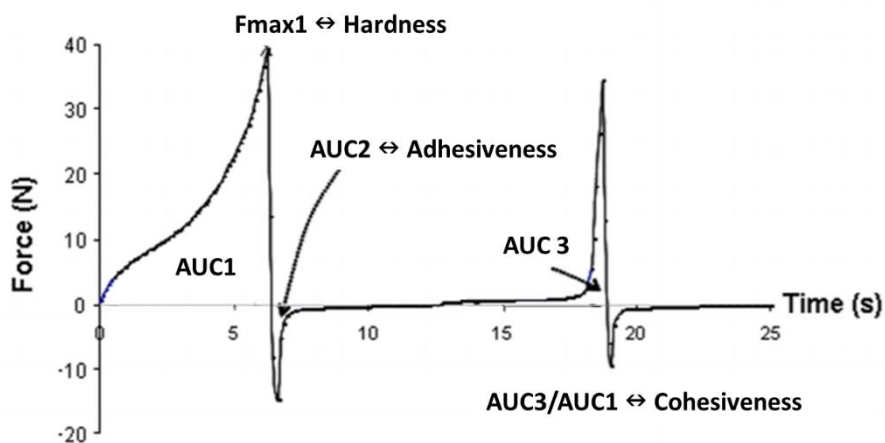


Figure II.4-7 : Exemple d'une courbe issue d'une analyse de profil de texture et les paramètres extraits de cette courbe (d'après Peyron *et al.*, 2011)

Les mesures de TPA ont été répétées sur trois bols différents.

**Rhéologie oscillatoire.** Des tests de cisaillement oscillatoires aux petites déformations ont été effectués sur les bols à déglutition à l'aide d'un rhéomètre MCR 301 (Anton Paar, Autriche), équipé d'une géométrie à ailettes (10 mm de diamètre, 8,8 mm de longueur, ST10-4V-8.8/88, Anton Paar, Autriche). Deux ou trois bols étaient nécessaires pour remplir la cuve de l'appareil (18 mm de diamètre, CC17/T200/SS, Anton Paar, Autriche). Après avoir déterminé le domaine viscoélastique linéaire, une déformation de 0,5 % et une fréquence de 1 Hz ont été choisies. Les mesures ont été réalisées pendant 1 min à 35 °C afin d'obtenir une valeur moyenne des modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  (kPa). Une seule répétition a été réalisée par pain et par juge.

II.4.3. Traitement des données instrumentales sur les pains et les bols

Les données instrumentales ont toutes été analysées à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). Les données instrumentales relatives à la caractérisation physico-chimique des pains ont été traitées par des tests non-paramétriques (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ) étant donné le faible nombre d'échantillons.

Les données instrumentales relatives à la caractérisation physico-chimique des bols ont été préalablement transformées par logarithme, racine carrée, ou fonction inverse pour obtenir des distributions normales. Des analyses de variance à quatre facteurs avec interactions (ANOVA,  $p <$

0,05 ; Fisher (LSD),  $p < 0,05$ ) ont été appliquées sur les données transformées pour étudier l'effet du pain, de la condition, du temps ou du juge sur les différentes variables. Une analyse en composantes principales (ACP, Pearson) a été utilisée pour tracer les trajectoires de déstructuration des bols au cours du processus oral. Des corrélations de Pearson ( $p < 0,05$ ) ont également été appliquées sur les données transformées, correspondant au temps à déglutition T3.

## **II.5. Caractérisations instrumentales de la composition aromatique des pains et des bols**

La quantification des composés volatils organiques (COVs) des échantillons de pain et de bol a été réalisée à l'aide de différentes méthodes analytiques. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a été couplée avec trois méthodes d'extraction : (i) une méthode d'extraction statique (SPME), (ii) une méthode d'extraction assistée par solvant (SAFE) et (iii) une méthode d'extraction dynamique (purge & trap), pour identifier et/ou quantifier les COVs présents dans la mie ou dans la mie + croûte des pains. En amont de ce projet de thèse, les trois méthodes ont été mises au point pour des échantillons de mie par le laboratoire CSGA de Dijon, partenaire du projet de recherche.

La technique de spectrométrie de masse couplée à une ionisation chimique par réaction de transfert de proton (PTR-MS) a également été utilisée en condition *in vitro* (aspiration de l'espace de tête au-dessus du produit) afin de caractériser les profils de fragments d'ions issus de COVs présents dans la mie ou dans la mie + croûte des pains, ou en condition *in vivo*, pour suivre la libération *in situ* des COVs lors de la mastication du pain.

### II.5.1. Caractérisation de la composition aromatique des pains

#### *II.5.1.1. CPG-FID couplée à l'extraction SPME sur les pains*

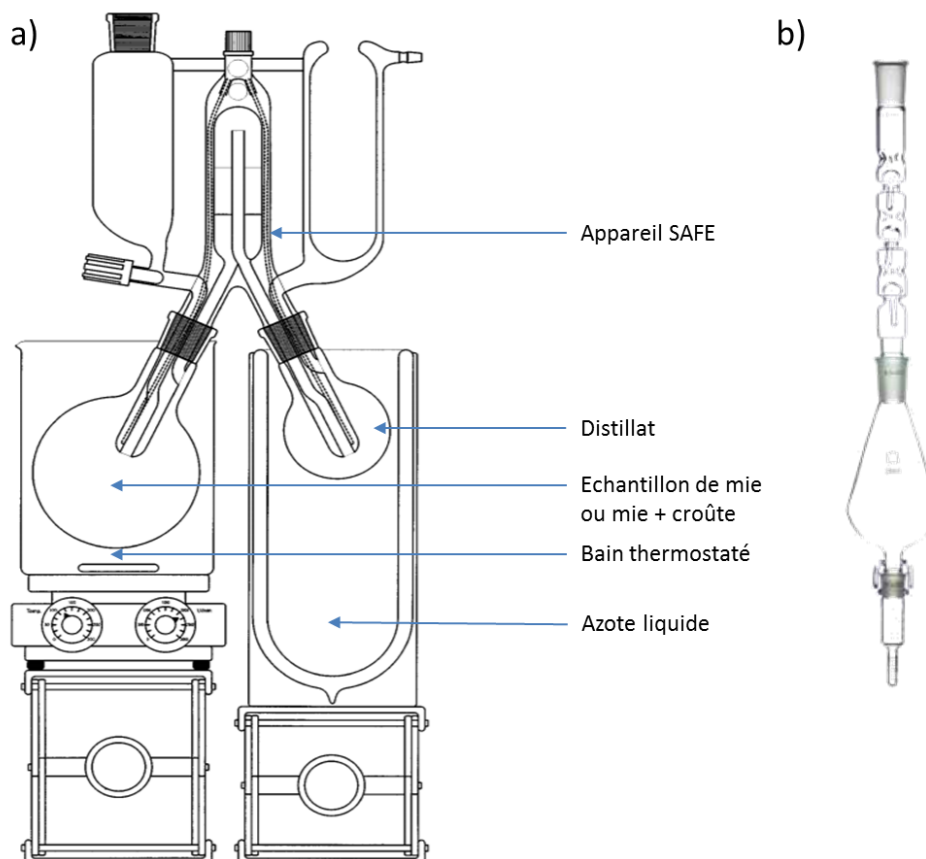
La méthode d'extraction par SPME (Solid-Phase MicroExtraction) permet l'adsorption des COVs présents dans l'espace de tête au-dessus du produit sur une phase polymérique supportée par une fibre en silice. L'extraction des COVs a été réalisée à l'aide d'une fibre Carboxen®-PDMS. Celle-ci était introduite dans un vial contenant 2 g de mie mélangée à 5 mL de solution étalon. Cette solution étalon était élaborée à partir d'une solution mère, composée d'hexanoate d'éthyle à 50 ppm et 2,5-diméthylpyrazine à 2000 ppm dans du propylène glycol, et diluée 100 fois dans de l'eau Milli-Q. Le vial était agité à 500 rpm pendant 30 min à 30 °C, une fois la fibre SPME introduite.

Après l'étape de concentration sur la fibre SPME, les composés chimiques étaient désorbés thermiquement dans l'injecteur du chromatographe à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID). Ce CPG-FID (6890A Agilent, USA) était équipé d'un injecteur en mode « splitless » maintenu à 240 °C et d'une colonne polaire CP-WAX 57CB (50 m x 0,25 mm; film d'épaisseur 0,2 µm; Agilent, USA). Le gaz vecteur était l'hélium (débit constant de 1,2 mL/min). La température du four était programmée pour rester à 40 °C pendant 1 min, puis augmenter de 4 °C par min jusqu'à 130°C, de 10 °C par min de 130 °C à 200 °C et rester à 200 °C pendant 5 min.

Les mesures SPME ont été réalisées sur les pains Lesaffre (B1, B2, B3) pour la mie uniquement et utilisées comme mesures de contrôle des recuissons de pains Lesaffre (mesure en triplicat à chaque recuisson) tout au long de la thèse.

## II.5.1.2. CPG-SM couplée à l'extraction SAFE sur les pains

La méthode d'extraction par SAFE (Solvent Assisted Flavor Extraction) consiste en une distillation sous vide dans un appareil SAFE (**Figure II.5-1a**) suivi d'une extraction par solvant. Les COVs sont ensuite concentrés à l'aide d'un système Kuderna Danish® (**Figure II.5-1b**).



**Figure II.5-1 : a) schéma de l'appareil SAFE et de l'équipement nécessaire pour la réalisation de la distillation. Température du bain thermostaté : 37 °C (Engel, Bahr, & Schieberle, 1999) et b) photo du système Kuderna-Danish®**

Vingt grammes de mie ou de mie + croûte ont été congelés à -20 °C dans des vials en verre. Avant d'être analysés, ils étaient décongelés une heure à 20 °C et broyés dans 100 mL d'eau Milli-Q (Merck Millipore, Merck KGaA, Allemagne) pendant 10 s dans un mixeur à basse vitesse (Waring Laboratory Science, USA). Un aliquot de 150 µL d'une solution de pentanoate d'éthyle à 97 ng/µL (dans l'eau Milli-Q) était ajouté comme étalon interne, pour vérifier la répétabilité des extractions.

Le mélange était introduit dans le ballon SAFE, plongé dans un bain thermostaté à 37 °C. L'eau du bain est également utilisée dans le montage pour condenser les vapeurs. Le système est alors placé sous vide ( $10^{-2}$  Pa) et la distillation débute lorsque le mélange entre en ébullition et que les vapeurs d'eau commencent à se former. La fraction aqueuse (ou distillat), contenant les COVs, est récupérée tout au long de l'extraction dans un ballon refroidi à l'azote liquide (-196 °C). Les COVs présents dans le distillat sont ensuite extraits au dichlorométhane (3 x 20ml pendant 15 min avec agitation), puis concentrés à l'aide d'un système Kuderna-Danish® plongé dans un bain thermostaté à 70 °C. L'étape de concentration est constituée de deux phases : une première permet de concentrer jusqu'à environ 5mL. Lors de la deuxième phase on utilise le même matériel mais de taille réduite, et les

extraits sont concentrés à un volume final de 400 µL. Les extraits sont ensuite conservés à -20°C jusqu'à l'analyse par CPG-SM (6890A Agilent, USA).

Le détail de l'analyse par CPG-SM est renseigné dans la partie « Matériel et méthodes » de la publication « Dynamics of bread aroma perception: impact of bread structure, volatile compounds, and oral processing », associée à la phase 3 (Suivi *in vitro* – volet arômes). Les mesures SAFE ont été réalisées au laboratoire CSGA à Dijon. Elles ont été répétées pour chaque condition sur 3 échantillons provenant de 3 pains de la même fournée. Les mesures ont été effectuées sur les pains Lesaffre uniquement (B1, B2 et B3).

#### II.5.1.3. CPG-SM couplée à l'extraction Purge & Trap sur les pains

La méthode d'extraction Purge & Trap permet l'entraînement dynamique des COVs par un gaz vecteur (« purge ») suivi de leur adsorption sur un piège recouvert d'un polymère Tenax®, où ils sont concentrés (« trap »). Pour cela, 5 g d'échantillon de mie ou de mie + croûte ont été découpés au couteau en particules d'un cm<sup>2</sup>, puis congelés à -80 °C dans des vials en verre, en attendant l'analyse. Avant d'être utilisés, ils étaient décongelés pendant 15 h à 4 °C, puis mixés à 4 °C à l'ultraturax (Polytron® PT 2100, VWR, USA) pendant 15 s dans 10 mL (pour la mie) ou 20 mL (pour la mie + croûte) d'eau milli-Q (Merck Millipore, Merck KGaA, Allemagne), afin d'obtenir une suspension homogène. Cinq mL de la suspension était ensuite introduite dans le tube du système Purge & Trap, chauffé à 37 °C. Une purge à l'hélium a été réalisée pendant 20 min par bullage, de la suspension vers le piège Tenax®, à un débit de 20 mL/min. Le piège était chauffé à une température de 40 °C. Le piège était ensuite désorbé thermiquement par une montée en température à 250 °C pendant 2 min. Les COVs étaient concentrés dans un cryomodule à -150 °C avant d'être injecté dans le CPG-SM (6890A Agilent, USA).

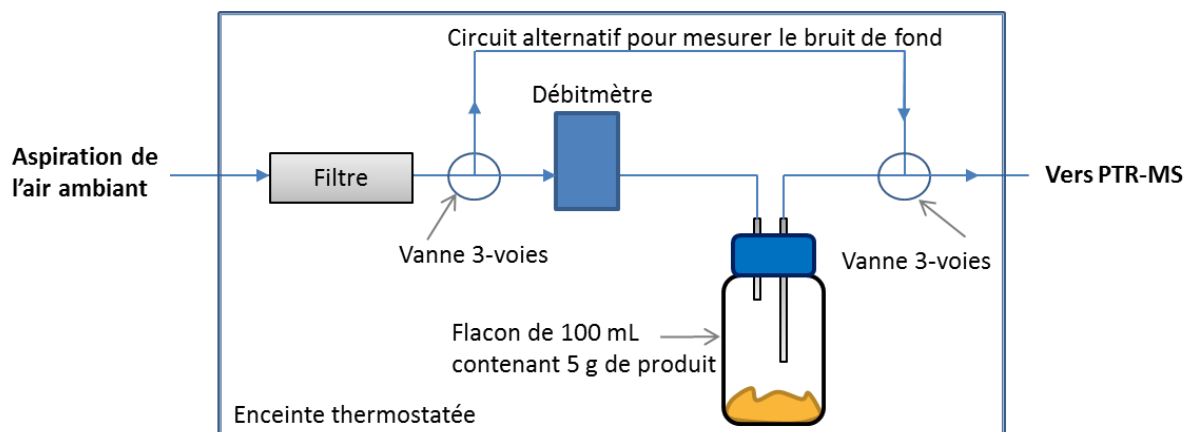
Le détail de l'analyse par CPG-SM est renseigné dans la partie « Matériel et méthodes » de la publication « Dynamics of bread aroma perception: impact of bread structure, volatile compounds, and oral processing », associée à la phase 3 (Suivi *in vitro* – volet arômes). Les mesures par Purge & Trap ont été répétées trois fois sur les échantillons de mie et de mie + croûte des pains Lesaffre (B1, B2, B3). Les 37 baguettes du commerce (phase 4.1 : Liens ions-molécules – volet arômes) ont également été analysées par Purge & Trap, selon le même protocole, mais une seule répétition sur les échantillons de mie a été réalisée.

#### II.5.1.4. PTR-MS en conditions *in vitro* sur les pains

La technique PTR-MS a été utilisée en conditions *in vitro* sur les pains afin d'obtenir un balayage des masses des fragments ioniques issus des COVs libérés dans l'espace de tête au-dessus des échantillons. La méthode repose sur une technique d'ionisation des COVs par échange de proton. La source de l'appareil génère des ions H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> qui réagissent avec les composés organiques présents dans le gaz aspiré en les ionisant. Ces ions formés sont ensuite détectés et quantifiés par le détecteur de type quadripôle du spectromètre de masse. Cette méthode ne permet donc pas de séparer les COVs présents dans un gaz, mais donne une empreinte aromatique en temps réel de l'échantillon.

Cinq grammes de mie ou de mie + croûte, découpés en morceaux de 1 cm<sup>2</sup>, ont été congelés à -80 °C en attendant l'analyse. Le matin des analyses, les échantillons étaient placés à -20 °C pendant 30 min au minimum (temps nécessaire pour atteindre -20 °C à cœur). Ils étaient ensuite transférés dans des

flacons Schott de 100 mL équipés de bouchons à valves (GL 45, Duran Group, Allemagne) et stockés à 20 °C pendant une heure, le temps de décongeler et d'établir l'équilibre thermodynamique entre l'échantillon et l'espace de tête. Les données étaient collectées à l'aide d'un PTR-MS à haute résolution (Ionicon Analytik, Autriche). Le mode SCAN a été utilisé pour balayer l'ensemble des rapports masse/charge ( $m/z$ ) 21 à 150 avec un temps de balayage par masse de 100 ms. Les valves du flacon analysé étaient connectées à un circuit (**Figure II.5-2**) qui permet de passer de la mesure de l'air de la pièce à la mesure de l'espace de tête du flacon en moins d'une seconde.



**Figure II.5-2 : Schéma du dispositif expérimental utilisé pour les mesures *in vitro* par PTR-MS (adapté de Laverjat, Loubens, Délérès, Tréléa, & Souchon, 2009)**

L'air ambiant était mesuré pendant 78 s (6 cycles), puis le PTR-MS était connecté au flacon et l'espace de tête était aspiré pendant 260 s (20 cycles) à un débit moyen de 28 mL/min. Les conditions opératoires standard d'analyse ont été utilisées :  $P_{\text{drift}} = 195$  Pa,  $T_{\text{drift}} = 60$  °C et  $U_{\text{drift}} = 600$  V ( $E/N = 156$  Td).

Les mesures par PTR-MS ont été répétées trois fois sur les échantillons de mie et de mie + croûte des pains Lesaffre (B1, B2, B3). Les 37 baguettes du commerce (phase 4.1 : Liens ions-molécules – volet arômes) ont également été analysées par PTR-MS *in vitro*, mais une seule répétition sur les échantillons de mie a été réalisée.

## II.5.2. Caractérisation de la composition aromatique des bols

### II.5.2.1. *Collecte des bols à 3 temps*

Une collecte de bol a été réalisée auprès des 8 panélistes du panel #1 pendant les séances de profil progressif. Il était demandé aux panélistes de recracher les bols dans des flacons en verre brun de 60 mL juste avant de noter l'intensité des descripteurs perçus. Les flacons étaient immédiatement congelés dans de la Carboglace® pour éviter la dégradation du bol et stockés à -80 °C en attendant d'être analysés. Ces échantillons ont été utilisés uniquement pour l'analyse des composés aromatiques par Purge & Trap ou par PTR-MS.

### II.5.2.2. *CPG-SM couplée à Purge & Trap sur les bols*

Les bols à déglutition de mie et de mie + croûte issus des pains B1, B2, et B3, ont été analysés par Purge & Trap selon le protocole présenté dans le paragraphe **II.5.1.3**. Trois répétitions ont été réalisées sur trois bols différents pour 5 juges (J1, J3, J4, J6 et J8).



Ces mesures avaient pour objectif de vérifier qu'il n'y avait pas de libération de nouvelles molécules lors de la mastication des bols par rapport au pain.

#### II.5.2.3. PTR-MS *in vitro* sur les bols

Les bols de mie et de mie + croûte, issus des pains B1, B2, et B3 et collectés aux trois temps du processus oral, ont été analysés par PTR-MS selon le protocole présenté dans le paragraphe II.5.1.4. Trois répétitions ont été réalisées sur des trois bols différents pour les 8 juges sélectionnés du panel #1, à chacun des temps.

#### II.5.3. Suivi des cinétiques de libération des arômes en conditions réelles de consommation par PTR-MS *in vivo*

Les cinétiques de libération *in vivo* des ions dans la cavité nasale des panélistes lors de la consommation de mie ou de mie + croûte ont été suivies par PTR-MS (Ionicon Analytik, Autriche). Le mode de détection multiple d'ions (MID) a été utilisé pour suivre 8 ions d'intérêt et 3 ions de contrôle (Tableau II.5-1). Pour avoir une haute sensibilité, deux séries de mesures, comprenant chacune 4 ions d'intérêt et les 3 ions de contrôle, ont été effectuées par échantillon. Ainsi, la durée de mesure des 7 ions (temps de balayage cumulé égal à 0,55 s) était inférieure à la durée moyenne d'une respiration, égale à environ une seconde (Fiches *et al.*, 2016).

**Tableau II.5-1 : Caractéristiques des ions suivis lors des analyses PTR-MS *in vivo* (rapports masse/charge ( $m/z$ ), origine de l'ion, temps de balayage par masse et séries de mesure)**

$m/z$	Origine de l'ion	Temps de balayage (ms)	Série 1	Série 2
21	Contrôle (ions réactants)	50	x	x
37	Contrôle (ions réactants)	50	x	x
45	Présent dans le pain	100	x	
47	Présent dans le pain	100	x	
57	Présent dans le pain	100	x	
59	Contrôle (respiration)	50	x	x
71	Présent dans le pain	100	x	
73	Présent dans le pain	100		x
87	Présent dans le pain	100		x
95	Présent dans le pain	100		x
97	Présent dans le pain	100		x

Les ions  $m/z$  21 et  $m/z$  37 ont été suivis pour mesurer les intensités respectives des ions  $H_3O^+$  et  $H_2O-H_3O^+$ . Le suivi des ions  $m/z$  21 et  $m/z$  37 a permis de contrôler respectivement les niveaux des ions réactants primaires et des clusters d'eau (témoins de l'humidité). L'ion  $m/z$  59, résultat de la protonation de l'acétone, a été suivi pour contrôler la respiration des participants. Les ions  $m/z$  45, 47, 57, 71, 73, 87, 95 et 97 ont été sélectionnés à l'issue de la phase 3 (Suivi *in vitro* – volet arômes) car i) ils étaient présents en quantité suffisante dans les échantillons de mie et/ou de mie + croûte

pour être suivi *in vivo*, et ii) ils permettent de discriminer les pains Lesaffre entre eux. Leur identification a fait l'objet d'une étude annexe et est détaillée dans le paragraphe **II.6.3**.

L'analyse d'un échantillon en conditions *in vivo* commence avec la mesure de l'air ambiant pendant 10 s. Puis le sujet se connecte au PTR-MS via un dispositif en acier inoxydable fixé sur une monture de lunettes qui permet d'aspirer l'air présent dans la cavité nasale du sujet sans le gêner pour consommer le produit. Pendant 30 s, il est demandé au participant de respirer par le nez, bouche fermée, le plus normalement possible. Puis un échantillon de mie (cylindre  $h : 2,5 \text{ cm} \times d : 3,0 \text{ cm}$ ) ou un échantillon de mie + croûte (demi-cylindre de  $h : 2,5 \text{ cm} \times r : 3,0 \text{ cm}$ ) prédécoupé, est présenté au sujet qui l'introduit en bouche et le mastique normalement, en gardant la bouche fermée, jusqu'à la déglutition, indiquée par un signe de la main. La mesure continue jusqu'à ce que les signaux des ions d'intérêt soit revenus à leur niveau initial. Les sujets devaient se rincer la bouche entre chaque échantillon avec de l'eau minérale Evian (Danone, France).

L'échantillon de gaz aspiré était introduit dans le système PTR-MS, à un débit de 85 mL/min, *via* un capillaire chauffé à 110 °C afin d'éviter la condensation de l'eau sur les parois du capillaire. Les conditions opératoires standard d'analyse ont été utilisées :  $P_{\text{drift}} = 200 \text{ Pa}$ ,  $T_{\text{drift}} = 60 \text{ °C}$  et  $U_{\text{drift}} = 600 \text{ V}$  ( $E/N = 152 \text{ Td}$ ).

Les mesures ont été effectuées sur 9 pains (3 pains Lesaffre et 6 pains du commerce) et sur les 8 participants du panel #2. Une séance était dédiée à un pain, et incluait les mesures en triplicat des échantillons de mie et de mie + croûte pour les deux séries d'ions.

#### II.5.4. Traitement des données aromatiques

##### II.5.4.1. *Traitement des données CPG*

Les données ont été collectées grâce au logiciel MSD Chemstation (2003, Agilent, USA) et analysées ensuite à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). Les différents composés ont été identifiés, suite aux analyses par CPG-FID et CPG-SM, sur la base de leur indice de rétention (CPG-FID et SM) et de leur spectre de masse (CPG-SM). La bibliothèque de données Wiley a été utilisée. Les composés étaient caractérisés par leurs aires sous la courbe du chromatogramme en courant ionique total (TIC). Les données étaient analysées par analyse de la variance (ANOVA,  $p < 0,05$ ) et tests de comparaison multiples (Fisher's LSD,  $p < 0,05$ ).

##### II.5.4.2. *Traitement des données PTR-MS in vitro*

Les données ont été collectées grâce au logiciel PTR-MS control (Ionicon Analytik, Autriche), et traitées d'un logiciel (appliID) développé en interne par le laboratoire GMPA. Les analyses statistiques ont ensuite été réalisées à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France).

Le traitement des données effectué par le logiciel peut être dissocié en six phases, effectuées pour chaque fragment de masse  $m/z$  et chaque échantillon :

- Correction des données brutes par le facteur de transmission propre à chaque masse et par les valeurs des masses  $m/z$  21 et 37 selon l'équation suivante

$$I_{corr-Tr} = \frac{I_{brut}}{Tr}$$

$$I_{norm} = \frac{I_{corr-Tr} \times 10^6}{I_{21} + I_{37}} \times \frac{2}{P_{drift}} \times \frac{(T_{drift} + 273,15)}{298,15}$$

Avec :

$I_{brut}$  (cps) : Intensité brute d'un ion  $m/z$  donné

$Tr$  (sans unité) : Facteur de transmission propre à chaque ion  $m/z$

$I_{corr-Tr}$  (cps) : Intensité de l'ion corrigé par le facteur de transmission de l'ion

$I_{21}$  (cps) : Intensité de l'ion  $m/z$  21

$I_{37}$  (cps) : Intensité de l'ion  $m/z$  37

$P_{drift}$  (mbar) : Pression de la chambre de réaction

$T_{drift}$  (°C) : Température de la chambre de réaction

- Calcul de l'intensité moyenne du signal ( $I_{bruit}$ ) et de l'aire sous la courbe ( $AUC_{bruit}$ ) correspondant à l'air (bruit de fond, 6 premiers cycles de la mesure) ;
- Calcul de l'intensité moyenne du signal ( $I_{signal}$ ) et de l'aire sous la courbe ( $AUC_{signal}$ ) correspondant au produit (5 derniers cycles) ;
- Calcul du ratio signal sur bruit  $RSB = I_{signal} / I_{air}$  ;
- Calcul de l'aire sous la courbe  $AUC_{produit} = AUC_{signal} - AUC_{air}$ .
- Correction de l'aire sous la courbe par la quantité d'air aspirée (mL) par le PTR-MS pendant la mesure.

A l'issue de ce traitement, les ions dont le ratio RSB était supérieur à 2 étaient sélectionnés. Les clusters liés à l'eau ( $m/z$  37 et 55), et à l'éthanol ( $m/z$  65, 75, 83 et 93) ont été exclus, ainsi que les isotopologues (composés de même structure atomique mais contenant au moins un atome isotope, comme  $^{18}O$  ou  $^{13}C$ ). Les fragments de masse inférieure à  $m/z$  45 ont été également exclus, car ces petits fragments sont généralement partagés par un grand nombre de molécules (Buhr, van Ruth, & Delahunty, 2002).

Une étude préliminaire a été menée afin de déterminer le facteur de standardisation à appliquer sur les données des bols. En effet, les bols utilisés pour les mesures d'empreinte aromatique par PTR-MS ont été collectés lors des analyses sensorielles. Lors de celles-ci, la quantité de pain prise par les panélistes était laissée libre (volume supposé constant). De plus, en fonction des panélistes, l'incorporation de salive est plus ou moins importante, ce qui conduit à des masses de bols très variées (en fonction des panélistes, mais aussi des temps et des pains). Il a été choisi de mesurer les empreintes aromatiques au-dessus des bols entiers afin de se rapprocher au plus près des conditions réelles de libération en bouche, mais ce choix contribue à obtenir une variabilité maximale des données.

Plusieurs standardisations ont donc été envisagées et testées :

- Pas de standardisation (« conditions réelles », forte variabilité) ;
- Standardisation par la masse de pain (affranchissement de l'effet « quantité différente ») ;

- Standardisation par la masse de bol (affranchissement de l'effet « quantité et hydratation différentes »).

Pour tester la standardisation par masse de pain, la quantité totale d'ions mesurée au-dessus des échantillons de mie des pains B1, B2 et B3 a été comparée entre des échantillons à masse constante et des échantillons à volume constant, corrigé par la masse de pain introduit. Cette expérience a montré que lorsque les 3 échantillons ont une masse constante, la quantité totale d'ions est inférieure pour le pain B2, par rapport aux pains B1 et B3. Cependant, lorsque les échantillons ont un volume constant et que la quantité totale d'ions est corrigée par la masse, l'ordre inverse est obtenu. La quantité d'ions de B2 est alors surestimée, à cause de sa faible densité. Cette standardisation n'est donc pas satisfaisante.

Les essais de standardisation par masse des bols ont été réalisés sur des échantillons de pains (B1, B2 et B3) à masse constante additionnés d'eau à un taux d'hydratation de 0, 50 et 100 %. En divisant la quantité totale d'ions de ces différents échantillons par leur masse (pain + eau = « masse de bol »), l'effet hydratation est accentué, et les différences entre pains sont diminuées. De plus on observe le même problème que pour la standardisation par masse de pain, avec le pain B2.

Il a donc été choisi de ne pas standardiser les quantités d'ions mesurées au-dessus des bols, d'autant plus que l'objectif de ces mesures est d'expliquer les perceptions aromatiques évaluées aux différents temps du processus oral (cf. paragraphe II.6.4). Les bols analysés en PTR-MS étant les mêmes que ceux évalués par les juges (récupération des bols pendant les séances), cela permet d'approximer la quantité d'arômes réellement perçue en bouche par les panélistes.

Les propriétés des pains ont été analysées par analyse de la variance (ANOVA,  $p < 0,05$ ) et tests de comparaison multiples (Fisher's LSD,  $p < 0,05$ ).

Les propriétés des bols ont été analysées par des analyses factorielles discriminantes (AFD). Dans un premier temps, les effets des facteurs Pain (B1, B2, B3), Condition (M, MC), Temps (T1, T2, T3), Panélistes (J1 à J8) et Répétitions (R1, R2, R3) ont été étudiés séparément en réalisant des AFD successives. Puis, une AFD (facteur Pain x Condition) couplée à une régression stepwise a été effectuée afin de déterminer quels fragments permettaient de mieux discriminer les pains ( $p < 0,05$ ).

#### II.5.4.3. *Traitement des données PTR-MS in vivo*

Les données ont été collectées grâce au logiciel PTR-MS control (Ionicon Analytik, Autriche), et traitées par le logiciel ptrms2xl, développé en interne par le laboratoire GMPA. Les analyses statistiques ont ensuite été réalisées à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France).

Le bruit de fond correspondant à la mesure de l'air de la pièce pendant les 10 premières secondes et de l'haleine du sujet (de 10 à 40 s) était soustrait au signal correspondant à la phase orale (de l'introduction du produit en bouche à la fin de la mesure). A partir du signal corrigé, les variables suivantes ont été extraites des courbes : intensité maximale de la courbe ( $I_{max}$ , en cps), temps correspondant à l'intensité maximale ( $t_{max}$ , en s) et l'aire totale sous la courbe ( $A_{tot}$ , en cps.s). Ces trois variables ont été analysées par analyse de la variance (ANOVA,  $p < 0,05$ ) et tests de comparaison multiples (Fisher's LSD,  $p < 0,05$ ). Seuls les résultats de la variable  $I_{max}$  sont présentés dans la phase 4.2 (Suivi *in vivo* – volet arômes).

## II.6. Approches statistiques utilisées pour relier les différents jeux de données instrumentales et sensorielles

Plusieurs méthodes statistiques ont été utilisées entre les différents jeux de données obtenus expérimentalement. Elles ont été choisies parmi un large panorama de méthodes statistiques multidimensionnelles afin de répondre au mieux aux différents objectifs des quatre phases du projet de thèse.

### II.6.1. Construction d'un modèle statistique expliquant les propriétés des bols par les propriétés des pains et les caractéristiques physiologiques des individus

L'objectif du premier modèle statistique (et présenté dans le paragraphe ci-dessous) était de modéliser les propriétés physico-chimiques des bols à partir des propriétés physico-chimiques des pains et des caractéristiques physiologiques des juges. Pour répondre à cet objectif, nous avons choisi d'utiliser un modèle de régression des moindres carrés partiels (PLS). Cette méthode de régression consiste à relier deux blocs de variables quantitatives X et Y, avec l'avantage de pouvoir traiter des jeux de données présentant une forte colinéarité entre variables et un nombre d'observations inférieur à celui des variables (Tenenhaus, 1999; Wold, Kettaneh, & Tjessem, 1996).

#### II.6.1.1. *Structure des jeux de données*

Les jeux de données participant à la construction du modèle expliquant les propriétés des bols par les propriétés des pains et les caractéristiques physiologiques des individus sont les suivants :

- Données « propriétés physico-chimiques des bols » composées de 10 variables x 144 produits (3 pains\*2 conditions\*8 juges\*3 temps = 144 bols) → variables y à expliquer
- Données « propriétés physico-chimiques des pains » composées de 7 variables x 6 produits (3 pains\*2 conditions) → variables explicatives x
- Données « caractéristiques physiologiques des individus » composées de 7 variables x 8 produits (8 juges) → variables explicatives x

Pour les données avec 3 répétitions, nous avons considéré la moyenne des répétitions. Etant donné les différences de taille des jeux de données, il a été décidé de traiter les 3 temps du processus oral séparément, et de dupliquer les données « pains » et « individus » pour obtenir, respectivement, 3 matrices Y [10 variables x 48 produits] et une matrice X [14 variables x 48 produits] (Figure II.6-1).

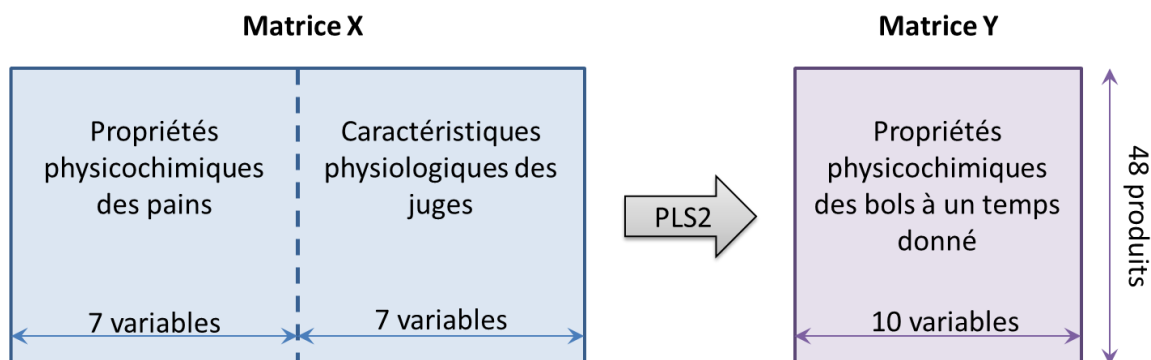


Figure II.6-1 : Structure des jeux de données associés à la phase 1 (Etude des bols – volet texture) du projet de thèse

II.6.1.2. Analyse par régression des moindres carrés partiels (PLS)

Deux types de régression PLS peuvent être distingués : la PLS1 (une variable  $y$  à expliquer) et la PLS2 (plusieurs variables  $y$  à expliquer). Dans les deux cas, la régression PLS consiste à rechercher les composantes orthogonales  $t_k$ , combinaisons linéaires des variables  $x$  et expliquant au mieux à la fois les variables  $x$  et  $y$ . Pour cela, les matrices  $X$  (composée de  $p$  colonnes noté  $x_i$ ) et  $Y$  (composée de  $q$  colonnes noté  $y_j$ ) sont décomposées en combinaisons linéaires :

$$X = TP^T + E = \sum_{k=1}^K t_k p_k^T + E$$

$$Y = UQ^T + F = \sum_{k=1}^K u_k q_k^T + F$$

Avec :

$t_k$  : vecteur score de la matrice  $X$  associé à la  $k^{ième}$  composante

$p_k$  : vecteur loading associé à  $t_k$

$E$  : matrices de résidus de la régression de  $X$  sur  $t_1, \dots, t_k$

$u_k$  : vecteur score de la matrice  $Y$  associé à la  $k^{ième}$  composante

$q_k$  : vecteur loading associé à  $u_k$

$F$  : matrices de résidus de la régression de  $Y$  sur  $u_1, \dots, u_k$

A chaque étape  $k$ , les scores  $t_k$  et  $u_k$  sont optimisés de façon à maximiser leur covariance (Figure II.6-2).

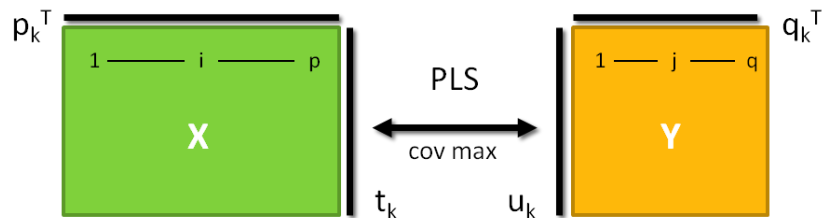


Figure II.6-2 : Schéma du principe de la PLS

Les équations de régression PLS sont ensuite obtenues en régressant les variables  $y_j$  sur les composantes  $t_k$ , puis en exprimant ces régressions en fonction des variables  $x_i$  (Tenenhaus, 1999).

$$Y \approx t_1 c_1 + \dots + t_k c_k$$

En exprimant les composantes  $t_k$  en fonction de  $X$ , on obtient la relation  $t_k = X w_k^*$ , qui est réintroduite dans l'équation de  $Y$  :

$$Y \approx X[w_1^* c_1 + \dots + w_k^* c_k]$$

$$Y \approx X W_k^* C_k$$

Soit  $Y \approx XB$  avec  $B = W_k^* C_k$  la matrice des coefficients de régression PLS  $b_{i,j}$ .

On en déduit l'équation de régression PLS reliant les variables  $y_j$  aux variables  $x_i$  :

$$y_j \approx \sum_{i=1}^p b_{i,j} x_i \approx \sum_{i=1}^p \left( \sum_{l=1}^k w_{l,i}^* c_{l,j} \right) x_i$$

La qualité prédictive du modèle calculé pour l'ensemble des variables  $Y$  est donnée par l'indice  $Q^2$ , qui devait être supérieur à 0,40 (critère arbitraire). La qualité des régressions est également calculée pour chaque variable  $y$  individuellement et est donnée par l'indice  $R^2$ .

Une PLS2 par temps du processus oral a donc été réalisée entre les jeux de données présentés en **Figure II.6-1** (soit trois PLS2 au total), à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). L'algorithme NIPALS a été choisi pour construire le modèle, et le nombre de composantes a été fixé arbitrairement à 3. La régression associée à une variable  $y$  était considérée comme significative si  $R^2 > 0,50$ . Une variable  $x$  était considérée comme significative quand l'intervalle de confiance autour de son coefficient normalisé ne contenait pas la valeur zéro.

### II.6.2. Construction d'un modèle statistique expliquant les perceptions de texture par les propriétés des pains et des bols

L'objectif du second modèle statistique présenté dans le paragraphe ci-dessous est de quantifier les contributions respectives des propriétés physico-chimiques des pains et des bols aux dynamiques de perceptions de texture en bouche. Pour cela, nous avons également choisi d'utiliser un modèle de régression de type PLS. Afin d'aider à l'interprétation des résultats, une PLS-Multi Blocs (PLS-MB) a cette fois été réalisée. Cette méthode permet en effet de regrouper les variables par blocs de même concept et de calculer les contributions respectives de chacun de ces blocs. Cette méthode a notamment été utilisée par les équipes des laboratoires CSGA et Oniris ([Feron et al., 2014](#)), qui ont développé le script permettant la réalisation du modèle sous R.

#### II.6.2.1. *Structure des jeux de données*

Les jeux de données participant à la construction du modèle expliquant les perceptions de texture par les propriétés des bols et celles des pains sont les suivants :

- Données « perceptions de texture » composées de 6 variables (attributs évalués pour les échantillons de mie et de mie + croûte par profil progressif) x 144 produits (3 pains\*2 conditions\*8 juges\*3 temps) → variables  $y$  à expliquer
- Données « propriétés physico-chimiques des bols » composées de 10 variables x 144 produits (3 pains\*2 conditions\*8 juges\*3 temps) → variables explicatives  $x$
- Données « propriétés physico-chimiques des pains » composées de 3 variables x 6 produits (3 pains\*2 conditions) → variables explicatives  $x$

Le jeu de données « propriétés physicochimiques des bols » a été scindé entre 3 blocs de variables, correspondant aux mesures instrumentales de texture (X1, 3 variables), aux mesures de propriétés d'hydratation (X2, 4 variables) et aux mesures instrumentales de structure (X3, 3 variables), afin de réaliser une PLS-MB. Un 4<sup>e</sup> bloc représentant les propriétés des pains est également considéré (**Figure II.6-3**). Pour les données avec 3 répétitions, la moyenne des répétitions était considérée.

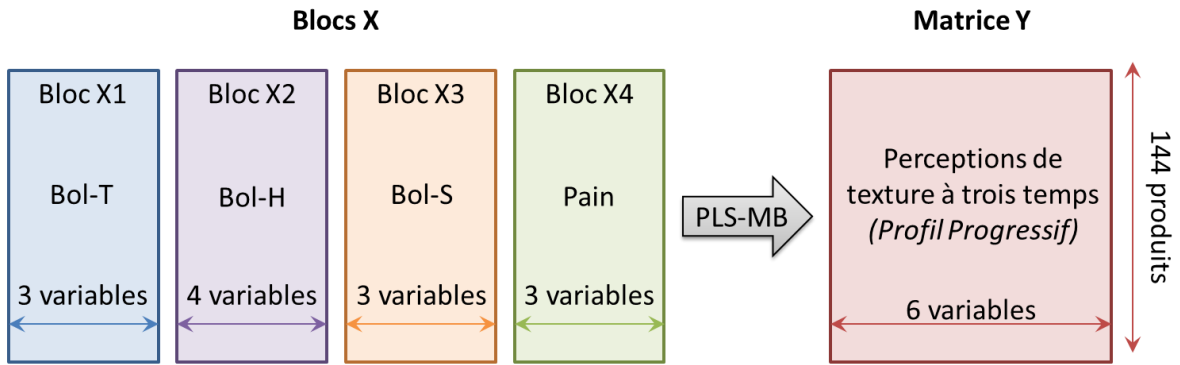


Figure II.6-3 : Structure des jeux de données associés à la phase 2 (Perceptions – volet texture) du projet de thèse (T : texture, H : hydratation, S : structure)

II.6.2.2. Analyse par régression des moindres carrés partiels multi-blocs (PLS-MB)

La régression PLS-MB repose sur le même principe que la régression PLS simple, à la différence que la PLS-MB permet le regroupement de variables en blocs de données représentant un même concept (Chiang, Wang, & McKeown, 2012; Wold *et al.*, 1996). Ce regroupement de variables est effectué arbitrairement par l’opérateur. Il conduit à un modèle à 2 étages : l’étage supérieur (ou « super-level ») dans lequel est effectuée la PLS entre un super-bloc prédicteur  $R_k$  et un super-bloc réponse  $S_k$ , et l’étage inférieur (ou « sub-level ») qui contient les informations des blocs individuels  $X_i$  et  $Y_j$  (Figure II.6-4). A l’étage inférieur, chaque bloc  $X_i$  est décomposé en combinaison linéaire de vecteurs scores  $r_{i,k}$  et loadings  $p_{i,k}$  (avec  $i$  correspondant à l’indice du bloc  $X_i$  et  $k$  à l’indice de la composante de la combinaison linéaire). Les scores  $r_{i,k}$  de chacun des blocs sont ensuite regroupés dans le super-bloc prédicteur  $R_k$  de l’étage supérieur. La même approche est effectuée sur les blocs  $Y_j$ .

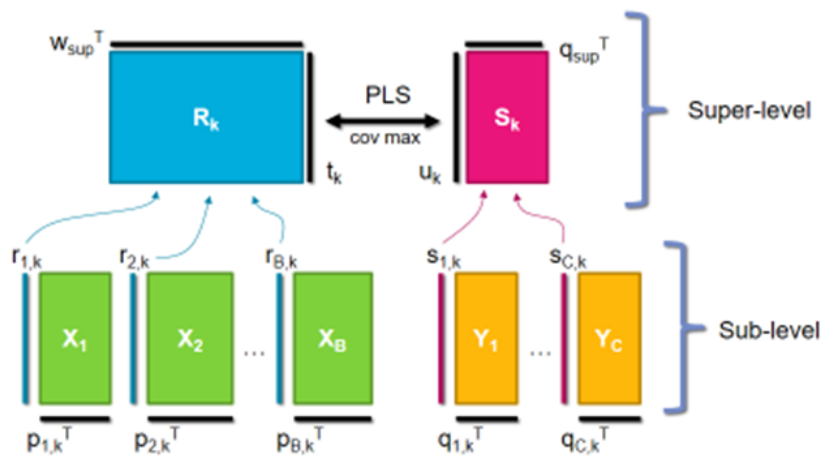


Figure II.6-4 : Schéma du principe de la PLS-MB (adapté de Chiang *et al.*, 2012)

L’intérêt de la PLS-MB, par rapport à la PLS, est de connaître l’importance respective des différents blocs  $X_i$  dans la prédiction de  $Y$ , grâce au vecteur loading associé au super-bloc prédicteur  $R_k$ . Le modèle de régression a été mis en place à l’aide du logiciel R (version 2.15.2, 2012). L’algorithme Kernel a été choisi pour construire le modèle, et la procédure de « Leave-one-out » a été utilisée pour déterminer la dimension du modèle. La qualité de la régression a été jugée selon la valeur du  $R^2$



( $R^2 > 0,50$ ). La significativité du coefficient associé à la variable  $x$  a été testée à l'aide de la procédure « jack-knife » ( $p < 0,05$ ).

II.6.3. Construction d'un modèle statistique permettant l'identification des ions analysés par PTR-MS *in vivo* et calcul des contributions respectives de chacune des molécules

L'objectif du modèle statistique présenté dans le paragraphe ci-dessous est de quantifier la contribution des composés volatils (COVs) du pain aux ions mesurés par PTR-MS et suivis *in vivo*. Des régressions linéaires simples ont été réalisées pour expliquer les 8 ions suivis *in vivo* par la composition en composés volatils.

II.6.3.1. *Structure des jeux de données*

Les jeux de données participant à la construction du modèle permettant l'identification des ions analysés par PTR-MS *in vivo* sont les suivants (Figure II.6-5) :

- Données « ions-pains » composés de 8 variables (quantités des ions mesurées par PTR-MS *in vitro*) x 40 produits (37 baguettes du commerce + 3 baguettes Lesaffre) → variables  $y$  à expliquer
- Données « composés volatils-pains » composés de 31 variables (quantités des COVs mesurées par Purge & Trap / CPG-SM) x 40 produits (37 baguettes du commerce + 3 baguettes Lesaffre) → variables explicatives  $x$

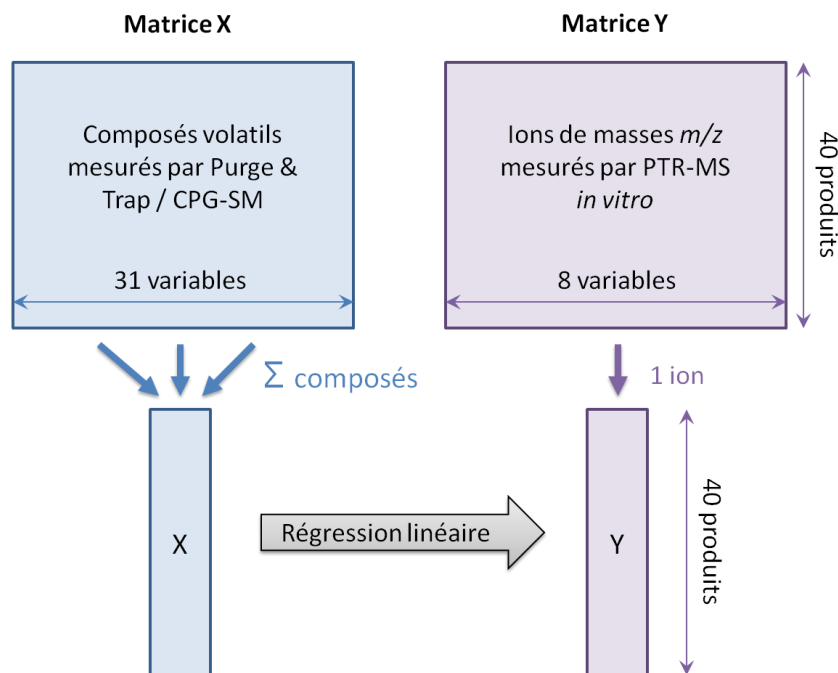


Figure II.6-5 : Structure des jeux de données associés à la phase 4.1 (Liens ions-molécules – volet arômes) du projet de thèse

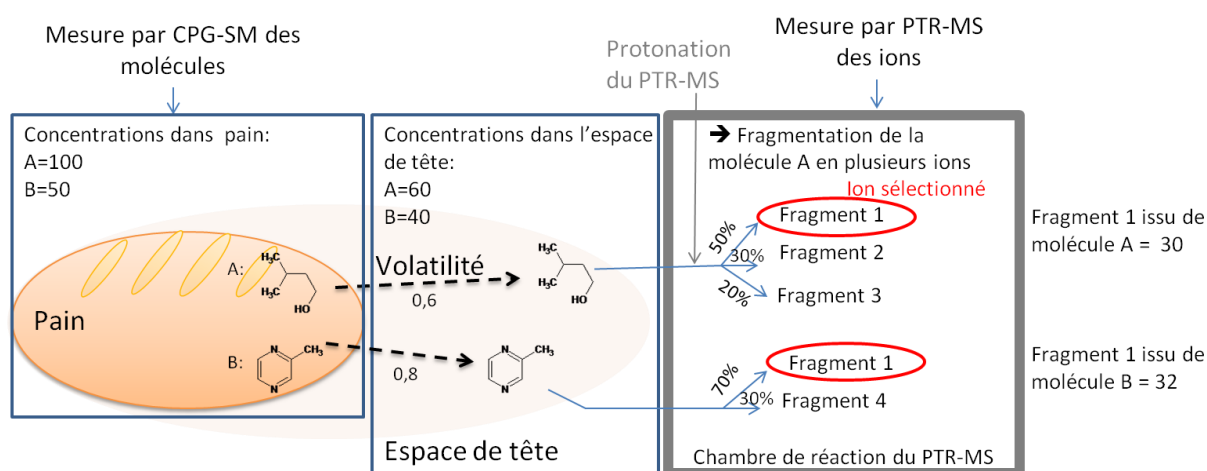
II.6.3.2. *Analyse par régression linéaire et méthode bootstrap*

**Problèmes rencontrés et hypothèses formulées.** Afin d'identifier les ions mesurés par PTR-MS à des COVs, nous avons cherché à établir des liens statistiques entre les données mesurées par CPG-SM et

celles mesurées par PTR-MS. Le lien entre ces deux méthodes n'est pas simple, pour plusieurs raisons :

- Quand un COV est protonné dans la chambre de réaction du PTR-MS, il conduit à la formation d'un ou plusieurs ions ;
- Ces ions ne sont pas formés en proportion égale, donc un coefficient de fragmentation est associé à chaque couple composé volatil/ion ;
- Un ion, et notamment ceux de petite masse, peut être commun à plusieurs COVs ;

De plus, la quantité de COVs présents dans l'espace de tête analysé par PTR-MS est directement impactée par la volatilité de ces composés. La concentration d'un COV dans le pain n'est donc pas directement proportionnelle à celle de l'ion associé (**Figure II.6-6**).



**Figure II.6-6 : Schéma explicatif des phénomènes impliqués lors d'une analyse par PTR-MS avec l'exemple de deux COVs A et B de concentration, volatilité et fragmentation différentes**

Afin de relier ces deux jeux de données, il a donc fallu poser les hypothèses suivantes :

- La quantité d'un ion de masse  $m/z$  est proportionnelle à la somme des quantités de COVs contribuant à cet ion et présents dans l'espace de tête du pain ;
- La quantité d'un composé volatil présent dans l'espace de tête peut être approximée par la quantité du composé mesurée par Purge & Trap et pondérée par un coefficient de volatilité ;
- Cette quantité pondérée doit également être corrigée par la proportion de fragmentation du composé en cet ion.

Sur la base de ces hypothèses, le modèle de régression linéaire suivant a été construit.

**Modèle de régression linéaire.** Les modèles ont été effectués sur les 8 ions suivis *in vivo* dans la phase 4.2 (Suivi *in vivo* – volet arômes) de ce projet de thèse, *i.e.* les ions de masse  $m/z$  45, 47, 57, 71, 73, 87, 95 et 97 (une régression par ion). Une régression linéaire simple a été établie entre une variable Y (un ion mesuré *in vitro* sur la mie de plusieurs pains) et une variable X (calculée à partir des mesures Purge & Trap sur la mie des mêmes pains). La variable X était calculée selon l'équation suivante :

$$X = \sum_{i=1}^N AUC_i \times V_i \times F_{i,y}$$

Avec :

$N$  : nombre de molécules contribuant à l'ion  $Y$

$AUC_i$  : aire sous la courbe du composé  $i$  mesurée par Purge & Trap

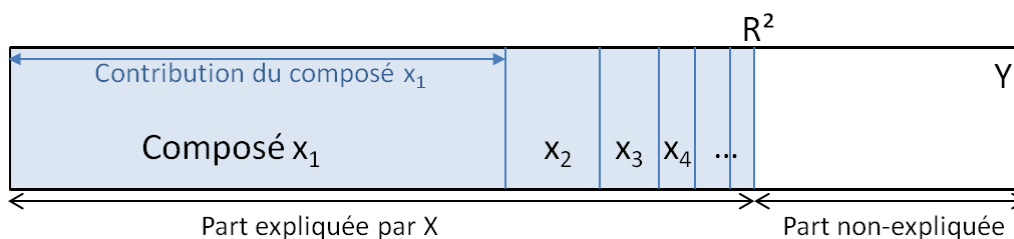
$V_i$  : coefficient de volatilité du composé  $i$  caractérisé par la constante d'Henry (coefficient de partition du composé entre l'air et l'eau à 25°C) calculée à l'aide du logiciel EPI Suite (données expérimentales)

$F_{i,y}$  : la proportion de fragmentation du composé  $i$  en l'ion  $y$

Une méthode bootstrap (sélection de 30 lignes sur 40 avec remise, 1000 itérations) a été utilisée, à l'aide du logiciel RStudio (Version 1.0.44, RStudio, USA), afin d'estimer la moyenne et l'écart-type du  $R^2$  de la régression. Cette approche a été effectuée avec l'aide des scientifiques du laboratoire GENIAL à Massy.

### II.6.3.3. Calcul des contributions

Le pourcentage de contribution de chaque COV à l'ion a été calculé en tenant compte de la volatilité du composé, de sa proportion de fragmentation en l'ion donné et de l'indice  $R^2$  de la régression, qui représente la part de  $Y$  expliqué par  $X$  (Figure II.6-7).



**Figure II.6-7 : Schéma expliquant le calcul du pourcentage de contribution d'un COV  $x$  à un ion  $y$  en fonction du  $R^2$  de la régression**

L'équation pour calculer le pourcentage de contribution du COV  $x$  est la suivante :

$$\% \text{ contribution } (x, y) = 100 \times R^2 \times \frac{AUC_x \times V_x \times F_{x,y}}{\sum_1^N AUC_i \times V_i \times F_{i,y}}$$

Les % contribution ont été calculés pour les ions dont les régressions présentaient un  $R^2$  supérieur à 0,5. Ce calcul a été effectué pour les 9 pains étudiés lors de la phase 4.2 (Suivi *in vivo* – volet arômes).

### II.6.4. Construction d'un modèle statistique expliquant les perceptions aromatiques par les composés volatils libérés lors du processus oral

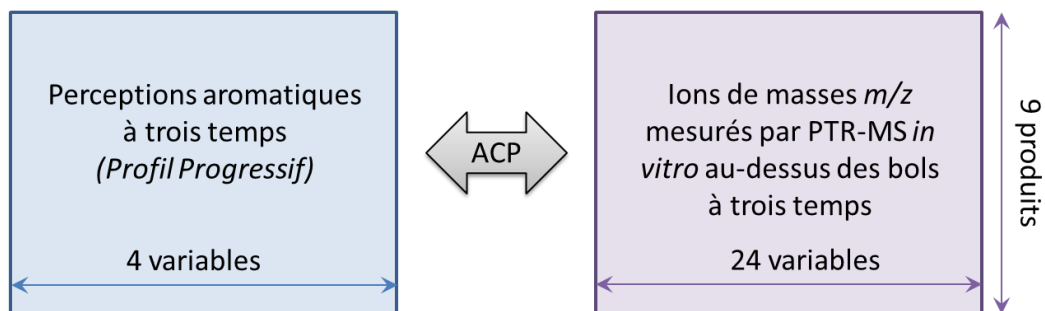
Enfin, l'objectif du dernier modèle statistique utilisé dans ce projet et présenté ci-dessous est de modéliser les liens entre les ions libérés dans l'espace de tête au-dessus des bols de pain par le processus oral et les perceptions aromatiques évaluées au cours de la consommation. Des modèles de régression de type PLS ont été testés sur ces deux jeux de données et se sont avérés non pertinents, suggérant qu'il n'y aurait pas de lien de régression linéaire entre les jeux de données. Nous avons donc choisi de présenter les données associées simplement par une analyse en composantes principales (ACP).

II.6.4.1. *Structure des jeux de données*

Les jeux de données participant à la construction du modèle expliquant les perceptions aromatiques par les composés volatils libérés lors du processus oral sont les suivants (**Figure II.6-8**):

- Données « perceptions aromatiques » composées de 4 variables (attributs évalués pour les échantillons de mie + croûte par profil progressif) x 9 produits (3 pains\*3 temps)
- Données « ions-bols » composés de 24 variables (quantités des ions mesurées par PTR-MS *in vitro*) x 9 produits (3 pains\*3 temps)

La moyenne des 3 répétitions et des 8 juges a été considérée pour les deux jeux de données.



**Figure II.6-8 : Structure des jeux de données associés à la phase 3 (Suivi *in vitro* – volet arômes) du projet de thèse**

II.6.4.2. *Analyse par composantes principales*

Avant le traitement statistique, les données « ions-bol » ont été cumulées entre chaque temps du processus oral ( $T1'=T1$  ;  $T2'=T1+T2$  ;  $T3'=T1+T2+T3$ ) afin d'approximer la quantité totale de composés volatils libérés en bouche et susceptibles d'atteindre les récepteurs sensoriels. En effet, en bouche, les COVs libérés à T1 et à T2 sont certainement toujours présents dans les cavités orales à T3.

Une ACP (Pearson) a été réalisée, à l'aide du logiciel XLStat (Version 2010.4.02, Addinsoft, France), sur le jeu de données « ions-bol » ainsi modifié. Puis les 4 variables du jeu de données « perceptions aromatiques » ont été ajoutées comme variables supplémentaires.



CHAPITRE III.  
RESULTATS



## Chapitre III. Résultats

Ce chapitre présente les résultats issus de ces travaux de thèse sous forme de quatre articles scientifiques rédigés en anglais. Le contexte, les objectifs et la démarche de l'article, ainsi que les paragraphes de matériels et méthodes associés aux résultats présentés, sont proposés au début de chaque partie. Un résumé en français des principaux résultats à retenir est proposé à la suite de chaque article.

### III.1. Trajectoires de formation de bols de pain pendant le processus oral : impact des structures de la mie et de la croûte sur les propriétés des bols

#### III.1.1. Contexte, objectifs et démarche de l'article 1

Le processus oral est la première étape de la digestion et permet l'évolution de la structure de l'aliment et la libération de stimuli sensoriels de l'aliment vers la cavité oronasale. Ce processus est dynamique et conduit à transformer un aliment en un bol alimentaire hydraté et cohésif pouvant être dégluti.

La synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence qu'un petit nombre de travaux scientifiques s'est intéressé à l'étude du processus oral à l'origine des propriétés des bols issus de pain variés en termes de composition et de structure (Le Bleis *et al.*, 2016, Pentikäinen *et al.*, 2014, Gao *et al.*, 2015). Ils ont montré l'importance des phénomènes d'hydratation et de fragmentation sur le comportement rhéologique des bols (Le Bleis *et al.*, 2016, Panouillé *et al.*, 2014). Parmi ces travaux sur le pain, très peu se sont intéressés aux dégradations enzymatiques provoquées par l'action de l'alpha-amylase (Hoebler *et al.*, 1998, Pentikäinen *et al.*, 2014), alors que ces réactions enzymatiques peuvent induire des modifications au niveau de la texture comme montré dans le cas de crème dessert (de Wijk *et al.*, 2004). Ainsi, l'étude conjointe de ces trois phénomènes (hydratation, fragmentation et dégradations enzymatiques) et de leur évolution au cours du temps semblent pertinentes pour comprendre l'état et l'évolution du bol alimentaire, mais pourtant ces travaux n'ont, à notre connaissance, jamais été étudiés.

En plus des propriétés de l'aliment, les caractéristiques physiologiques de l'individu, soumises à de fortes variations interindividuelles, impactent les dynamiques de formation du bol et ses propriétés physico-chimiques. Ces dynamiques peuvent être associées à des trajectoires de déstructuration (ou « breakdown pathways » en anglais) (Hutchings & Lillford, 1988).

Dans ce contexte, l'objectif de cette première partie des travaux de thèse était de déterminer les contributions respectives des propriétés des pains et des caractéristiques physiologiques des sujets, aux propriétés des bols incluant les phénomènes d'hydratation, de fragmentation et de dégradation enzymatique. L'impact de la croûte, ainsi que celui de la composition et de la structure de la mie, sur les trajectoires de formation du bol de pain, ont été étudiés. Ces travaux constituent une première étape dans la compréhension des perceptions de texture et d'arômes en se focalisant sur l'évolution des propriétés physico-chimiques du pain en bouche. Pour cela, nous avons collecté des bols issus de



4 pains, de structure et de composition différentes, chez huit sujets, à trois moments de leur processus oral (10, 40 et 100% de la durée de mastication individuelle).

Paragraphe de Matériels et Méthodes associés :

- Description des pains utilisés : paragraphes II.1.1 et II.1.2
- Caractérisation des propriétés des pains : paragraphe II.4.1
- Caractérisation de la physiologie des sujets : paragraphe II.2.1
- Caractérisation des propriétés des bols : paragraphe II.4.2
- Description du modèle statistique établi : paragraphe II.6.1

III.1.2. Article 1 : “Breakdown pathways during oral processing of different breads: impact of crumb and crust structures”

*Publication n°1 parue dans Food & Function*

*Food Funct.*, 2016, **7**, 1446-1457

**Breakdown pathways during oral processing of  
different breads: impact of crumb and crust structures**

S. Jourdren <sup>a,b</sup>, M. Panouillé <sup>\*a</sup>, A. Saint-Eve <sup>a</sup>, I. Délérís <sup>a</sup>, D. Forest <sup>a</sup>, P. Lejeune <sup>b</sup>, I. Souchon <sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR GMPA, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 78850, Thiverval-Grignon, France

<sup>b</sup> Lesaffre International, 59700, Marcq-en-Baroeul, France

\* Corresponding author: [maud.panouille@agroparistech.fr](mailto:maud.panouille@agroparistech.fr)

---

**Abstract**

Oral processing during bread consumption is a key process related to the dynamics of texture perceptions, sensory stimuli release and starch digestion. The aim of this study was to determine the respective contribution of bread properties (composition and structure of crumb and crust) and of the oral physiology of subjects to the breakdown pathways in the mouth. The properties of the *in vivo* bread bolus obtained from eight healthy subjects were studied at three key points in time during their oral processing. The progressive lubrication and breakdown of bread were observed, as well as the beginning of the enzymatic degradation of starch. The study showed that "time" was the factor responsible for the greatest variability in bolus properties. Breakdown pathways were established for crumbs with and without crust. The presence of crust modified the oral processing, increasing, for instance, the heterogeneity of particle size at the middle of the oral processing sequence. Moreover, the hydration capacity of crust contributed to high starch degradation at swallowing time, in comparison with crumb alone. The main subject characteristics impacting bolus properties were the in-mouth duration, the individual masticatory index and the mouth volume, while the main bread properties explaining the bolus properties were the initial composition and the water-absorbing capacity. We concluded that both crumb and crust structures had an impact on the oral processing, affecting the capacity of hydration, the rheology and the breakdown degree of the bolus.

---

## 1. Introduction

Carbohydrates are the main source of energy in human nutrition, supplying up to 45% of the energy requirements in developed countries, and up to 85% in developing countries (Caballero, Allen, & Prentice, 2012). Bread is a widely consumed food and thus a major source of carbohydrates in the European diet, contributing an average of 27% of the total carbohydrate intake (Wirfält *et al.*, 2002). A wide diversity of breads in terms of composition and structure exists all over the world, leading to a wide range of sensory and nutritional properties. These functional properties are known to be key factors for product acceptance by consumers and are also largely driven by food oral processing. There is a need to better understand the relationship that exists between bread characteristics, oral processing and functionalities to develop products consistent with consumer expectations.

Food oral processing is an essential step in the eating process, which aims at preparing the food for swallowing and digestion. It is also involved in the release of sensory stimuli responsible for perception (Foster *et al.*, 2011), essential for the palatability of foods. During oral processing, food is progressively transformed through different stages, occurring successively or simultaneously, into a bolus suitable for swallowing (Chen, 2009). Bolus formation is thus a dynamic process involving at least three simultaneous phenomena: (i) the mechanical breakdown of the food product into several particles by mastication (Bourne, 2004; Mioche & Peyron, 1995; Mishellany, Woda, Labas, & Peyron, 2006); (ii) particle hydration and lubrication by saliva to form a bolus (Bongaerts, Rossetti, & Stokes, 2007; Drago *et al.*, 2011); and (iii) enzymatic degradation, in particular, by salivary amylase in the case of starch products (Hoebler *et al.*, 1998). Both food properties and individual oral physiology have an impact on the dynamics of bolus formation and, consequently, its physicochemical properties, leading to specific "breakdown pathways" (Hutchings & Lillford, 1988).

The bolus formation of starch-based products has been largely studied in the literature. For instance, in the case of starch-based custard, the role of salivary  $\alpha$ -amylase seems to be essential to explain sweetness (de Wijk, Prinz, & Janssen, 2006). As illustrated with breakfast cereals, the rheological properties of the bolus such as adhesiveness, cohesiveness and springiness, and the sensory perceptions such as stickiness were identified as potential factors for swallowing initiation (Peyron *et al.*, 2011). In the case of bread, oral processing and bolus properties have been identified as drivers for texture and salty perceptions (Panouillé, Saint-Eve, Délérís, Le Bleis, & Souchon, 2014). The lubrication of a crumb bolus by saliva induces a decrease in some rheological variables ( $G'$  and  $G''$  moduli), and depends on particle size during oral processing (Le Bleis, Chaunier, Della Valle, Panouillé, & Réguerre, 2013). However, it seems that bolus lubrication by saliva has a greater impact on its rheology than on its comminution. Saliva acts as a lubricant during bolus formation but is also responsible for carrying stimuli such as salt from the product to the receptors. The amount of salt released in saliva has been linked to mastication parameters: greater chewing muscle activity induced a faster release of sodium (Tournier, Grass, Septier, Bertrand, & Salles, 2014). Lubrication and breakdown are not the only mechanisms that occur during the oral processing of bread. It has been shown that the digestion of starch begins in the mouth with its degradation into oligosaccharides (Hoebler *et al.*, 1998). Moreover, the density of bread had an impact on the digestibility of starch. When the bread had a higher density, the accessibility of amylase to the starch could be limited, resulting in a poor hydrolysis of the starch (Lau, Soong, Zhou, & Henry, 2015).

Bread is a heterogeneous food composed of crumb and crust. It can be consumed in two different ways during the same meal (crumb and crust together or crumb alone). The comparison of these two

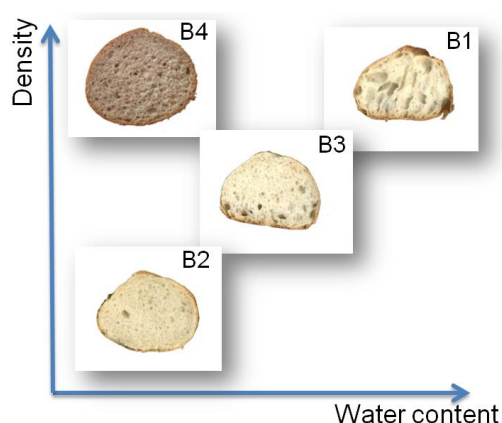
types of consumption was recently performed to study their impact on food oral processing (Gao, Wong, Lim, Henry, & Zhou, 2015). The crust had an impact on the chewing behavior of the panelist. A thick and dry crust induced the extensive breakdown of bread structure.

The mechanisms involved in bread oral processing are complex, notably due to its multiphase structure. Only one study (Gao *et al.*, 2015) has dealt with the impact of crust on oral processing, but with only one panelist, and to our knowledge, mechanical breakdown, hydration and enzymatic degradation have not been studied simultaneously to better understand their dynamics and their respective contribution. In this context, the aims of this study are to investigate the temporal aspect of the bolus formation of a heterogeneous food during oral processing, and to determine the respective impact of bread properties and of subject characteristics on bolus properties, including breakdown, hydration and enzymatic degradation. For this purpose, the properties of bolus obtained *in vivo* from crumb alone or from crumb and crust were explored at three key stages of oral processing.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

Three breads, B1, B2 and B3, were par-baked and frozen French baguettes manufactured by Lesaffre International (Marcq-en-Baroeul, France). They contained the same wheat flour but were produced through different processes to obtain different structural properties. Bread B4 was a commercial bread (Auchan, Plaisir, France) manufactured from whole wheat flour containing milled wheat grains. This bread was selected to have a density close to the one of bread B1 and a water content close to the one of bread B2 (Figure III.1-1). These four breads were used to study the impact of crumb structure and bread density (B1 vs. B2 vs. B3) and composition (B4 vs. B1, B2, B3) on the dynamics of bolus formation.

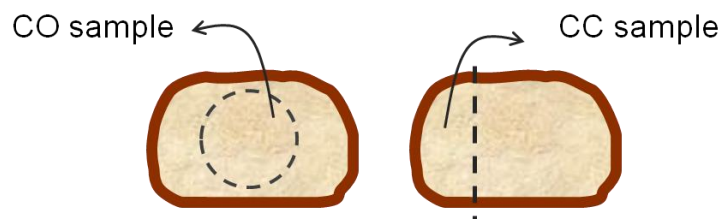


**Figure III.1-1: Schematic representation of the products in relation to their density and water content**

Breads B1, B2 and B3 were baked in a Wiesheu Minimat oven (Wiesheu GmbH, Germany) at 220 °C for 9, 7 and 8 min, respectively. A strict baking protocol was applied (control of bread positions in the oven and of baking temperature and time), and the density and Young modulus of the bread after each baking was controlled to check baking repeatability. The breads were used for tests after 2

hours of cooling and within a 2-hour interval. The commercial bread was always bought the morning of the experimentation day.

The sample size was close to the one used in natural eating behavior, as suggested by Hutchings and coworkers (Hutchings *et al.*, 2009). In order to have similar volumes for all breads for the tests, the following sampling protocol was applied (Figure III.1-2): crumb samples were die-cut in a cylinder (h: 2.5 cm; d: 3.0 cm) and crumb with crust samples were cut with a knife in a half-cylinder from the side of a vertical slice (h: 2.5 cm; r: 3.0 cm). In this way, the sample contained every part of the crust (bottom, side and top).



**Figure III.1-2: Sampling protocol performed on a vertical slice of bread to prepare crumb or crumb and crust samples.**

CO = Crumb Only, CC = Crumb with Crust.

## 2.2. Bread properties

### 2.2.1. Water and starch contents

*Water content* (g/100 g) was determined after drying for a minimum of 15 h and a maximum of 24 h at 110 °C in an oven for both crumb and crumb with crust samples from three baking replicates.

*Total starch content of the crumb* (g/100 g) was determined in triplicate according to the procedure described by Goni, Garcia-Alonso & Saura-Calixto (1997). Briefly, it consisted of a total hydrolysis of starch by amyloglucosidase. The glucose was then measured using a commercial kit from Biosentec (v10-10321, Biosentec, France).

### 2.2.2. Bread structure

*Crust thickness* (mm) was measured with the help of the ImageJ software (version 1.48v, National Institutes of Health, USA) on breads from three baking replicates. A horizontal slice along the complete length of the bread was scanned by an Epson GT-1500 scanner (Seiko Epson Corporation, Japan) with a resolution of 600 dpi. The crust thickness was then measured on 40 positions of the picture by visual discrimination of colors.

*Crumb/crust ratio* was determined in triplicate by separately weighing the crumb and the crust of a slice of bread (2.5 cm length). The crumb was separated from the crust. The crumb that could not be detached by hand was considered as part of the crust.

*Bread density* (no unit) was measured with the rapeseed displacement method on three baking replicates (AACC, 2000). The rapeseeds had a bulk density of 0.73 g/cm<sup>3</sup>. The measurements were performed in a rectangular box (32 cm x 22.5 cm x 9.5 cm), which was manually filled with rapeseed.

### 2.2.3. Bread properties

*Crumb firmness* (Young modulus, kPa) was measured by performing a compression test on crumb cylinders (h: 2.5 cm; d: 3.0 cm) from three different baking batches with a TA.XT *plus* Texture Analyzer (Stable Micro System, UK) equipped with a 3.0-cm-diameter plate and a 30-kg load cell. Compression was set at 66% of the strain of the initial height, at a speed of 0.83 mm.s<sup>-1</sup>. The Young modulus is the initial slope of the stress-strain curve obtained.

*Water-absorbing capacity* (WAC, g of absorbed water/g of dry matter) was determined in triplicate for crumb cylinders (h: 2.5 cm; d: 2.6 cm) and crumb with crust slices (length: 2.5 cm). The cylinders and the slices were weighed and submerged in a fixed volume of Milli-Q water (Merck Millipore, Merck KGaA, Germany), 35 mL and 400 mL, respectively, for 30 min. They were then drained for 20 s on a grid. The wet cylinders and the wet slices were weighed and dried in an oven for a minimum of 15 h and a maximum of 24 h at 110 °C. The water-absorbing capacity is the ratio between the amount of water that is absorbed and the dry extract of the sample.

### **2.3. Oral physiology of the subjects**

Eight healthy subjects (four male and four female, aged from 24 to 37 years old) with good dental status were recruited for the study. Subjects gave their written informed consent to participate in this study. They were asked not to eat or drink for at least one hour before the sessions. The individual masticatory index, the salivary properties and the volume of the oral cavity were determined for every panelist in triplicate.

#### 2.3.1. Oral volume

The panelists' *mouth volume* was measured with an acoustic rhinopharyngometer from Eccovision (Sleep Group Solutions, North Miami Beach, FL, USA). During measurement, subjects were asked to breathe through their mouths. Mouth volume (cm<sup>3</sup>) was calculated as described by [Doyennette, de Loubens, Déléris, Souchon, & Trelea \(2011a\)](#).

#### 2.3.2. Saliva properties

*Salivary flow rate* (g/min) was measured in stimulated conditions ([Drago et al., 2011](#)). Subjects were asked to chew a piece of 0.5 g of Parafilm (American National Can Company, Menasha, WI, USA) for 6 min and to spit their saliva into a pre-weighed vessel every 30 s. Saliva collected during the first minute was not considered for calculation. The salivary flow rate was determined as the ratio between the mass of saliva that was spit out and the sampling duration, assuming that the weight of saliva is equal to its volume (density close to 1.0). A part of the saliva that was collected was immediately used after expectoration to determine salivary viscosity and dry extract, and the other part was frozen at -80 °C for salivary amylase activity analysis.

The *salivary viscosity* (mPa.s) was measured with a MCR 301 rheometer (Anton Paar, Austria), fitted with a cone geometry (60 mm in diameter, 2° angle) and a plate measuring 60 mm in diameter. A quantity of 2.5 mL of saliva was spread on the plate, and a thin layer of SDS solution was applied around the rim of the plates in order to minimize protein adsorption at the air-liquid interface ([Stokes & Davies, 2007](#)). Measurements were performed at 35 °C and a shear-rate ramp from 2 to 450 s<sup>-1</sup> was applied.

The *salivary dry extract* (g/100 g of saliva) was measured by drying 1 mL of saliva in an oven for a minimum of 15 h and a maximum of 24 h at 110 °C.

The *salivary amylase activity* (U/mL) was measured on 200 µL of saliva using a commercial kit from IBL International (ref: RE80111, IBL International GmbH, Germany). The saliva samples were defrosted two hours before the analysis at 4 °C and centrifuged at 2000 rpm for 10 min to remove all particles (Enberg, Alho, Loimaranta, & Lenander-Lumikari, 2001).

### 2.3.3. Individual masticatory index.

*Individual masticatory index* was measured for each subject by chewing standardized cylinders (3 g; h: 1.8 cm; d: 1.4 cm) of Optosil dental silicone during 20 masticatory cycles (Panouillé *et al.*, 2014). The particles obtained were dried in an oven for 1 h at 75 °C. The index was calculated as the ratio of the amount of sample that passed through a 4 mm sieve over the amount of expectorated sample.

## **2.4. Determination of in-mouth duration for each subject**

The in-mouth duration (s) was determined per subject and per bread, for crumb with and without crust during three sensory sessions (data not shown). During these sessions, subjects performed a sensory method (Temporal Dominance of Sensations), which allowed to record the in-mouth duration on line, from the first bite to the first swallowing. The in-mouth durations that were measured here were probably longer than during natural eating due to the simultaneous achievement of a sensory evaluation task, as already shown by Devezeaux de Lavergne, van Delft, van de Velde, van Boekel, & Stieger (2015a). Significant differences were observed between breads and between samples with and without crust. However, the difference between breads was too small to be controlled (especially at the beginning of oral processing). The mean values of in-mouth duration were therefore calculated for each subject and for crumb and crumb with crust samples. From these mean values, three moments of oral processing were determined: T1 = 10% of in-mouth duration, T2 = 40% of in-mouth duration and T3 = in-mouth duration (Panouillé *et al.*, 2014).

## **2.5. Properties of expectorated boli**

### 2.5.1. Bolus collection

Each subject participated in eight individual sessions of 30 min for bolus collection. One session was dedicated to one bread (B1, B2, B3 or B4) and one condition (crumb or crumb with crust). Subjects were asked not to eat or drink for at least one hour before the sessions. Samples (cylinder for crumb, half-cylinder for crumb with crust) were cut for a maximum of one minute before presenting them to subjects in a cup. The first sample was a warm-up product, used to stimulate salivary production. Three moments of oral processing were studied (T1, T2 and T3). Samples from these three times and all replicates were performed during the same session. The bolus was used immediately after expectoration for every analysis except for soluble glucose content analysis, for which the bolus was immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C.

### 2.5.2. Image analysis of particles on expectorated boli

For image analysis of particles, bolus samples were prepared as described by Le Bleis and coworkers (2013). After the dispersion of bolus particles in glycerol, solutions were poured into Petri dishes (diameter: 140 mm). One replicate was performed for each time (T1, T2 and T3) of oral processing

for all breads and all panelists. Particle images were acquired using a Canon EOS 700D camera (Canon Inc., Japan) and a ScanCube 308 (Altawak Technologie, France) that conferred a standardized brightness. Image acquisitions were monitored with Easy ScanCube 1.9 software (Altawak Technologie, France). Images were digitized as matrices of 3434 x 3434 pixels. Their analysis was performed with ImageJ software (version 1.48v, National Institutes of Health, USA) as follows. A black and white threshold was applied to images to provide the *number of particles* and their area. After exporting these data to Excel (2007, Microsoft Corporation, USA), the *median equivalent diameter D50* (mm) and the *interquartile range D75/D25* (no unit) were calculated, assuming that particles could be modeled by a disc. The median equivalent diameter and the interquartile range represented the degree of degradation and the heterogeneity of the bolus, respectively. When the interquartile range D75/D25 increased, the heterogeneity of the particle size of the bolus also increased.

### 2.5.3. Water content, hydration rate and amylase activity of expectorated boli and amount of residual bolus after spitting

The *water content* of expectorated bolus (g/100 g of bolus) was determined in triplicate for each oral processing time by drying samples in an oven at 110 °C for a minimum of 15 h. The amount of saliva that was incorporated (*hydration rate h<sub>s</sub>*, g/100 g of dry matter) and the amount of food remaining in the mouth after spitting (*w/w % residues*, no unit) were calculated as described by [Drago and coworkers \(2011\)](#). The *amylase activity in bolus a<sub>s</sub>* (U/g of dry matter) was calculated as follows:

$a_s = h_s \times A / 100$ , where  $h_s$  is the amount of saliva incorporated into the bolus and A the salivary amylase activity of the subject.

### 2.5.4. Texture analysis on expectorated boli

Textural properties were measured by a Texture Profile Analysis (TPA) using a TA.XT *plus* Texture Analyzer (Stable Micro System, UK), fitted with a 6.0-cm-diameter plate and a 30-kg load cell. Two successive compression cycles were set at a constant speed of 0.83 mm.s<sup>-1</sup>. A compression ratio of 65% of the strain of the initial height was selected. A resting time of 1 s between the two compressions was applied. Boli were gently shaped in a cylinder of 3.0 cm in diameter, with the help of a cut syringe. The surface was smoothed with the piston of the syringe. Three replicates were performed for each moment of oral processing (T1, T2 and T3). The parameters, hardness, adhesiveness and cohesiveness, were extracted from force-time curves. The *hardness parameter* (N) is defined as the maximal peak force obtained during the first compression, the *adhesiveness parameter* (N.s) is defined as the area under the negative curve obtained during the first decompression, and the *cohesiveness parameter* (no unit) is defined as the ratio between the area under the curve obtained during the second compression and the area under the curve obtained during the first compression ([Peyron et al., 2011](#)).

### 2.5.5. Rheological analysis of expectorated boli at swallowing time

Small-amplitude oscillatory shear tests were conducted on expectorated boli at swallowing time (T3) with a rheometer MCR 301 (Anton Paar, Austria), equipped with four-blade vane geometry (10 mm in diameter, 8.8 mm in length, ST10-4V-8.8/88, Anton Paar, Austria). Two or three bolus samples were directly expectorated into the apparatus cup (18 mm in diameter, CC17/T200/SS, Anton Paar, Austria) so that the cup was full. After determining the linear viscoelastic domain, a constant strain of



0.5% and a frequency of 1 Hz were chosen to perform the tests. Measurements were carried out for 1 min at 35 °C in order to obtain *average storage (G') and loss (G'') moduli* (kPa). One replicate was performed for each sample.

#### 2.5.6. Release of soluble glucose in the bolus at swallowing time

Soluble glucose content (g/100 g of bread) was measured in breads and boli at swallowing time using a commercial kit from Biosentec (v10-10321, Biosentec, France). Bread samples (crumb and crumb with crust) were cut into 5-mm particles with a knife and weighed. Bolus samples had previously been defrosted at 4 °C and weighed. Milli-Q water (Merck Millipore, Merck KGaA, Germany) was added to the samples. The amount of water that was added was equal to the bolus weight or 2.5 times the bread weight for the bolus and bread analysis, respectively. After manual stirring and resting for 10 min, samples were centrifuged at 11000 rpm for 5 min at 4 °C. The supernatant was recovered and glucose content was determined with the kit. One replicate was performed on bolus samples at swallowing time (T3) for the eight subjects. Three replicates were performed on bread samples. The data were corrected by the factor of dilution. The *release of soluble glucose ( $\Delta$ Glucose)* was calculated by subtracting the glucose content in the bread from the glucose content in the bolus. Glucose was used as an indicator of starch hydrolysis, although it is not the main reaction product.

### 2.6. Statistical analyses

All statistical analyses were carried out with XLStat software (Version 2010.4.02, Addinsoft, France). A Kruskal-Wallis non-parametric test was performed on the bread property data. A significant level of  $p < 0.05$  was chosen.

One-way ANOVA (Subject,  $p < 0.05$ ) was performed with a multiple comparison test (Fisher's LSD test) on oral physiology parameters. A Principal Component Analysis (PCA) and a Hierarchical Clustering Analysis (HCA) were performed on reduced and centered data of oral physiology.

To obtain normally distributed data, the bolus parameters were transformed into logarithms, square roots or inverses, when necessary. Four-way ANOVA ( $p < 0.05$ ) was performed with a multiple comparison test (Fisher's LSD test) on the transformed data of bolus properties. For crumb data and crumb with crust data, two-way ANOVA ( $p < 0.05$ ) were performed with a multiple comparison test (Fisher's LSD test). PCA were performed on reduced and centered data of bolus properties, and were used to establish breakdown pathways.

Pearson's correlations ( $p < 0.05$ ) between the bolus properties of crumb and crumb with crust samples were performed at swallowing time.

Partial Least Square (PLS) regressions were carried out separately for each time. The PLS were carried out to explain bolus properties (crumb with and without crust samples, Y-variables) by crumb properties, crumb with crust properties and oral physiology parameters (X-variables). The quality of the regression was judged on the  $R^2$  value ( $R^2 > 0.500$ ), and an X-variable was significant when the confidence interval of its normalized coefficient did not include the zero value.

## 3. Results and discussion





### 3.1. Bread properties

The four breads had different compositions and structural properties (**Table III.1-1**). Bread B1 was characterized as a dense bread with a firm crumb and a thick crust. Its crumb and crust contained

about 10% more water than the others. Bread B2 was characterized as a bread with a low density, a soft crumb and a thick crust. Contrary to the other breads, the crust mass in a slice was higher than the crumb mass. This bread was also characterized by a high water-absorbing capacity (WAC) both for crumb and crumb with crust samples. Bread B3 had an intermediary density, a firm crumb and a thin crust. The crust of bread B3 had the capacity to absorb water (WAC of crumb with crust > WAC of crumb), which was not the case for the other breads. Bread B4 was characterized as a dense bread with a very firm crumb and a very thin crust. Its crumb contained almost 20% less starch than the others, probably because of the presence of fibers and of milled wheat grains in its composition.

**Table III.1-1: Mean (M) and standard deviation (SD) of the structural and textural properties and the compositions of the four breads (three replicates).**

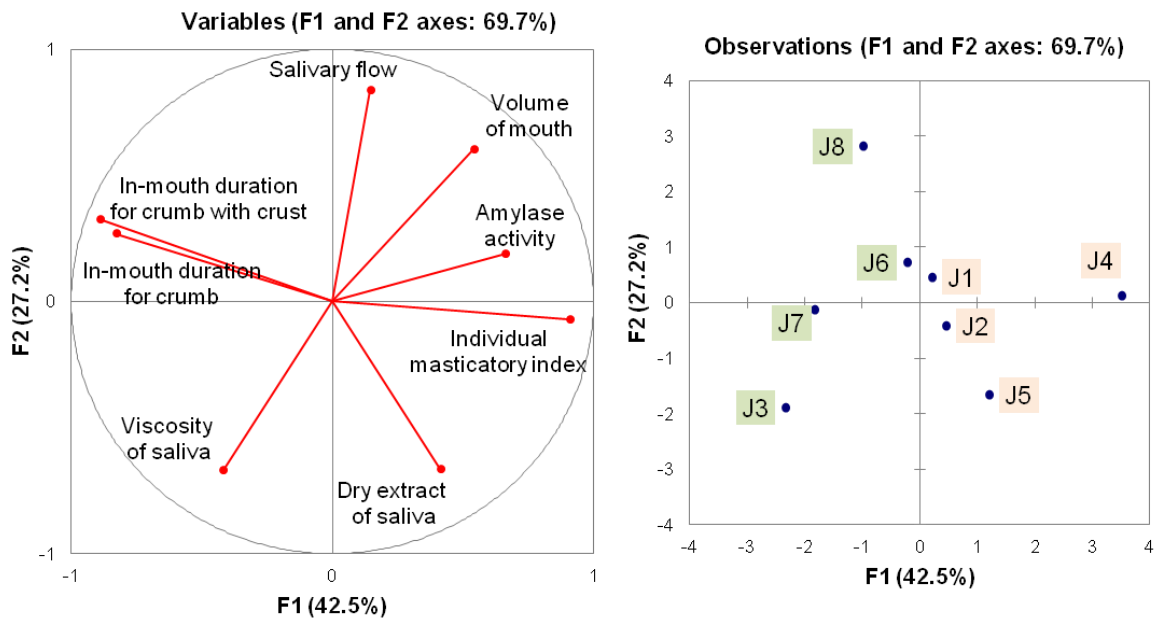
Product effect was determined by Kruskal-Wallis tests on each variable. Letters A, B and C indicate means that significantly differ between products at  $p < 0.05$  (Dunn procedure).

Parameter	Sample	Unit	B1 		B2 		B3 		B4 					
			M	SD	M	SD	M	SD	M	SD				
Water content	Crumb	<i>g/100 g of crumb</i>	<b>51.6</b>	0.3	C	<b>49.1</b>	0.2	AB	<b>50.7</b>	0.2	BC	<b>48.6</b>	0.1	A
	Crumb + crust	<i>g/100 g of bread</i>	<b>37.2</b>	1.9	B	<b>33.4</b>	1.4	A	<b>37.2</b>	0.9	B	<b>33.9</b>	1.1	AB
Total starch content	Crumb	<i>g/100 g of crumb</i>	<b>42.2</b>	4.3	AB	<b>43.4</b>	1.3	B	<b>43.6</b>	2.6	B	<b>34.0</b>	1.1	A
Crust thickness	Crust	<i>mm</i>	<b>1.07</b>	0.17	B	<b>1.03</b>	0.28	B	<b>0.82</b>	0.13	AB	<b>0.09</b>	0.01	A
Crumb/crust ratio (w/w)	Crumb + crust	-	<b>1.22</b>	0.12	B	<b>0.92</b>	0.04	A	<b>1.17</b>	0.09	AB	<b>1.14</b>	0.14	AB
Water-absorbing capacity	Crumb	<i>g of water/g of DM</i>	<b>5.9</b>	0.3	A	<b>12.5</b>	0.5	B	<b>6.1</b>	0.2	AB	<b>6.3</b>	0.8	A
	Crumb + crust		<b>4.9</b>	0.2	A	<b>8.2</b>	0.3	B	<b>6.6</b>	0.1	AB	<b>4.6</b>	0.2	A
Density	Crumb + crust	-	<b>0.25</b>	0.02	B	<b>0.16</b>	0.01	A	<b>0.22</b>	0.01	AB	<b>0.26</b>	0.01	B
Young modulus	Crumb	<i>kPa</i>	<b>7.7</b>	1.7	AB	<b>3.3</b>	0.3	A	<b>6.9</b>	1.1	AB	<b>9.9</b>	2.3	B

### 3.2. Subjects characteristics

The eight subjects presented a wide range of physiologic properties. The in-mouth duration varied between 18 and 41 s for crumb samples, and between 25 and 50 s for crumb with crust samples. Their individual masticatory index ranged from 0.24 to 0.77 and their mouth volume from 27 to 74 cm<sup>3</sup>. The stimulated saliva was characterized as a shear-thinning fluid, with a viscosity measured at 100 s<sup>-1</sup> ranging between 1.07 and 2.65 mPa.s. The salivary flow of subjects varied from 1.16 to 2.59 g/min and the dry extract of saliva from 0.21 to 0.64 g/100 g of saliva. Salivary amylase activity ranged between 38 and 400 U/mL of saliva. These values were on the same order of magnitude as the ones found in the literature (Enberg *et al.*, 2001; Saint-Eve, Panouillé, Capitaine, Délérís, & Souchon, 2015). By using a HCA, two groups of subjects could be distinguished, differing in terms of the time required for swallowing and individual masticatory index: J1, J2, J4 and J5 panelists were

characterized by a short in-mouth duration and a high masticatory index and were opposed to J3, J6, J7 and J8 panelists, as illustrated in **Figure III.1-3**. The individual masticatory index and the in-mouth durations were correlated ( $p < 0.001$ ).



**Figure III.1-3: Principal Component Analysis (Pearson (n-1)) performed on physiological data (salivary characteristics, individual masticatory index and oral volumes) for the eight panelists. Two groups of panelists (colored in orange and green) were distinguished by the Hierarchical Clustering Analysis on reduced centered data.**

### 3.3. Bread breakdown pathways

#### 3.3.1. Variation over time of the properties of expectorated boli

During the oral processing, all of the parameters significantly changed over time (**Table III.1-2**). Moreover, the effect of time is greater than the one of bread properties ( $F(\text{time}) > F(\text{bread})$ ) for almost all of the parameters, except for heterogeneity (and adhesiveness in the case of crumb samples). This result was highlighted, in **Figure III.1-4**, by the fact that 59.1% of the variability of the PCA was contained by axis 1 that separated the three studied oral processing times. The second axis (16.0%) separated the samples of crumb and crumb with crust, and the four breads.

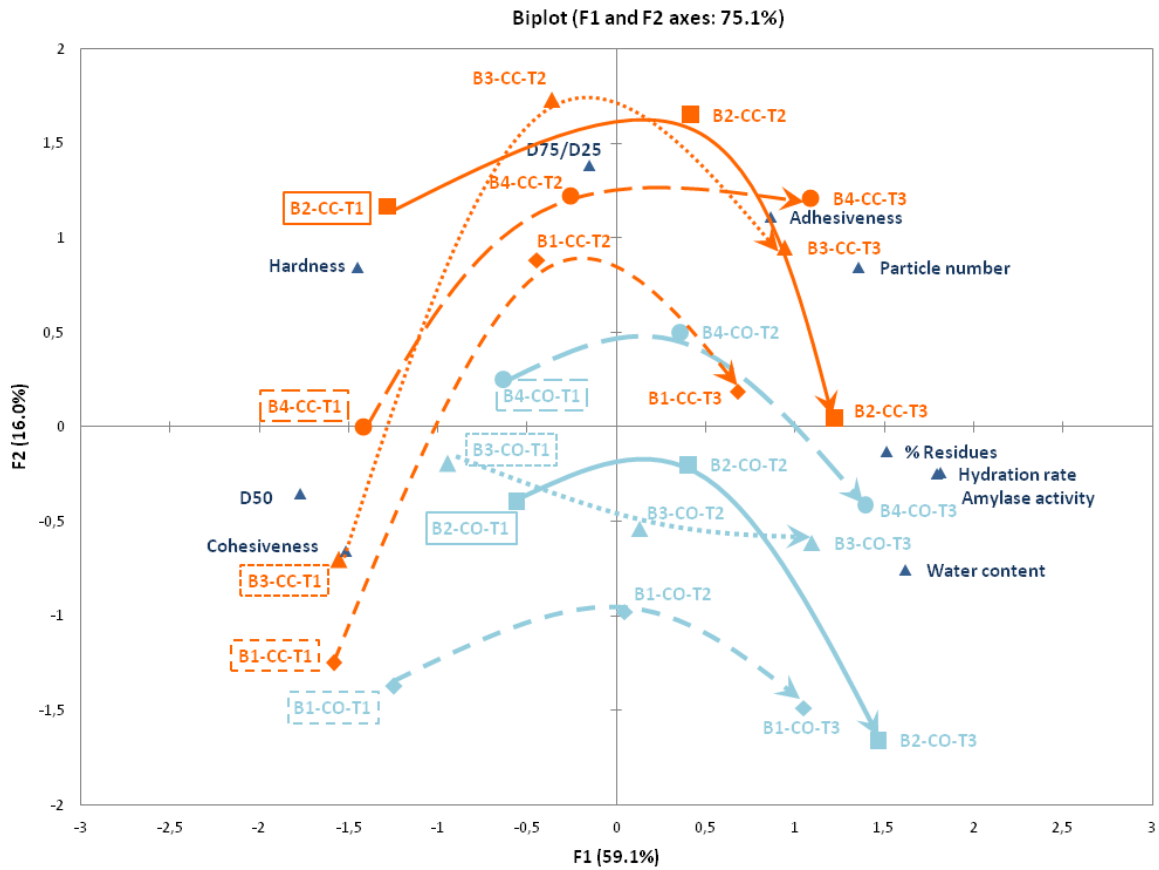
**Table III.1-2: Mean (M) and standard error of the mean (SE) for each time of the bolus properties for (a) the crumb samples, and (b) the crumb with crust samples.**

F factors are derived from a two-way ANOVA (bread, time, time\*bread).

Probabilities are encoded as follows: NS: non-significant; \*: p<0.05; \*\*: p<0.01; \*\*\*: p<0.001.

Letters A, B, and C indicate means that significantly differ between times at p < 0.05 (Fisher (LSD)).

Parameter	Unit	F factor Time	Variation over time	T1			T2			T3		
				M	SE		M	SE		M	SE	
<b>a) Crumb bolus properties</b>												
Number of particles	-	62.0 ***		629	75	C	1400	80	B	2578	252	A
Hydration rate	g/100 g DM	328.5 ***		19.1	0.8	C	47.7	1.8	B	106.8	5.5	A
Water content	g/100 g bolus	284.8 ***	↗	54.0	0.2	C	59.1	0.3	B	66.3	0.5	A
Amylase activity	U/g DM	86.2 ***		33.3	2.5	C	82.3	5.7	B	178.7	12.6	A
Quantity of residues	%	172.1 ***		1.3	0.3	C	3.9	0.4	B	11.8	0.8	A
Adhesiveness	N.s	5.9 **		1.21	0.06	B	1.39	0.08	A	1.50	0.08	A
D50	mm	144.4 ***	↘	16.8	1.3	A	5.2	0.4	B	3.0	0.3	C
Hardness	N	324.9 ***		11.67	0.61	A	5.01	0.47	B	1.75	0.11	C
Cohesiveness	-	212.5 ***	↘↗	0.48	0.01	A	0.27	0.01	C	0.34	0.01	B
D75/D25	-	2.5 NS	→	4.2	0.4		3.9	0.2		3.2	0.1	
<b>b) Crumb with crust bolus properties</b>												
Number of particles	-	80.6 ***		474	68	C	1339	91	B	2640	244	A
Hydration rate	g/100 g DM	278.3 ***		17.4	1.4	C	42.8	2.0	B	87.7	3.7	A
Water content	g/100 g bolus	307.3 ***	↗	41.6	0.4	C	49.0	0.5	B	58.0	0.6	A
Amylase activity	U/g DM	92.5 ***		28.0	2.6	C	70.2	5.2	B	145.5	10.3	A
Quantity of residues	%	42.4 ***		4.0	0.6	B	4.9	0.6	B	11.5	1.0	A
Adhesiveness	N.s	189.2 ***		0.84	0.07	C	2.53	0.13	B	3.85	0.20	A
D50	mm	214.8 ***		24.4	1.1	A	8.8	1.1	B	4.1	0.3	C
Hardness	N	160.3 ***	↘	24.46	1.07	A	17.99	1.02	B	8.33	0.66	C
Cohesiveness	-	388.1 ***		0.53	0.01	A	0.33	0.01	B	0.29	0.00	C
D75/D25	-	8.3 ***	↗↘	3.9	0.6	B	5.6	0.5	A	4.0	0.2	B



**Figure III.1-4: Breakdown pathways of the bolus in the mouth obtained by PCA on normalized bolus properties.**

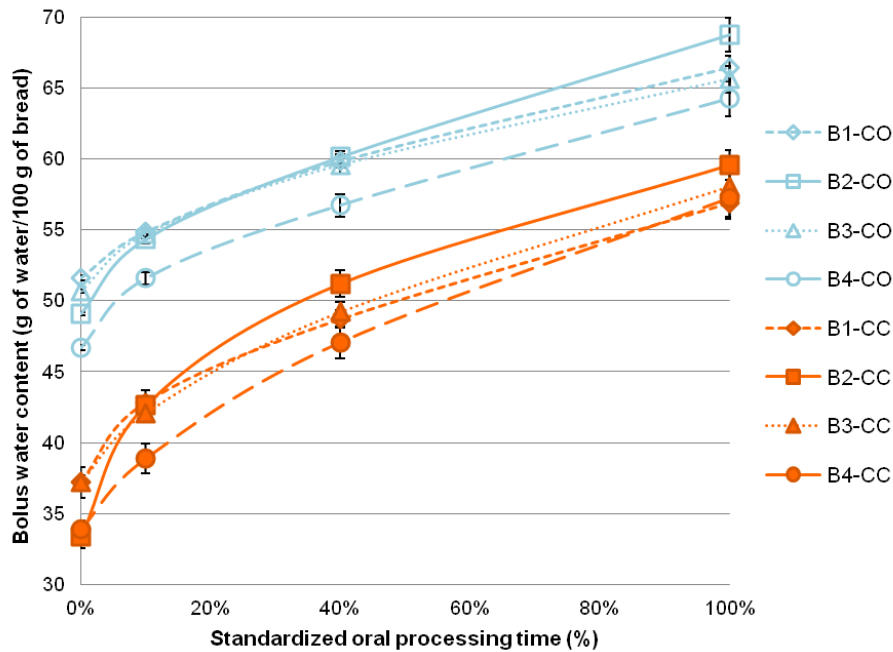
Boli of crumb with and without crust at three key stages of oral processing (T1 = 10%, T2 = 40% and T3 = 100% of swallowing time) were plotted over physical properties.

CO = Crumb Only (blue), CC = Crumb with Crust (orange).

Lines were drawn to guide the reader.

In the case of *crumb samples* (Table III.1-2.a), a 4-fold factor can be observed on the number of particles between T1 and T3 for crumb boli ( $p < 0.0001$ ), regardless of the bread. At the same time, the particle size decreased ( $p < 0.0001$ ) due to the mastication process: the median equivalent diameter varied from 16.8 mm at T1 to 3.0 mm at T3. This variation had already been observed for crumb (Le Bleis *et al.*, 2013). However, no variation in the D75/D25 heterogeneity over time was observed in the case of crumb samples ( $p = 0.087$ ). The percentage of in-mouth residues increased ( $p < 0.0001$ ) from 1.35% at T1 to 11.8% at T3, probably because of the higher number of small particles. As expected, water content increased ( $p < 0.0001$ ) from 54.0 g/100 g at T1 to 66.3 g/100 g at T3, as more and more saliva was added (increase in hydration rate,  $p < 0.0001$ ). The water content increased more quickly between the bread (before being put in the mouth) and the bolus at T1 than between the times T1 and T3 (Figure III.1-5). This is probably due to the saliva already present in the mouth before introducing food. The saliva is thus mainly incorporated at the beginning of oral processing. This result was also observed on products with a low water content like biscuits and Dutch cake (Motoi, Morgenstern, Hedderley, Wilson, & Balita, 2013). The activity of salivary amylase in the bolus was multiplied by five between T1 and T3 ( $p < 0.0001$ ), which is explained by the increase in saliva content in the bolus during oral processing. Adhesiveness generally increased between bread introduction in the mouth (T1) and T2 ( $p = 0.003$ ). The hardness parameter was

divided by six between T1 and T3 ( $p < 0.0001$ ). Similar variations for this hardness parameter were found for cereal boli (Peyron *et al.*, 2011), even if we did not observe an increase in the cohesiveness parameter over time in the present case but, instead, a decrease between T1 and T2 and an increase between T2 and T3 ( $p < 0.0001$ ). In fact, cohesiveness seems to depend on the number of pieces of food that were initially taken into the mouth: cereals were composed of several petals, while the bread was in one piece when it was taken into the mouth. Several petals can form a cohesive bolus as their lubrication increases, whereas, in the case of bread, the initial piece of crumb probably first becomes less cohesive with its destruction into particles through mastication, and could then possibly be reassembled due to hydration by saliva to form a bolus ready to be swallowed.



**Figure III.1-5: Bolus water contents over standardized oral processing time of the four breads for crumb samples (open symbols) and crumb with crust samples (filled symbols).**

Error bars indicate the standard error of the mean ( $n=24$ ).

CO = Crumb Only (blue), CC = Crumb with Crust (orange).

In the case of *crumb with crust samples* (Table III.1-2.b), the same trends were observed between crumb and crumb with crust samples for particle number and size, hydration rate, water content, amylase activity and bolus hardness. Results from the four-way ANOVA indicated a significant crust effect for these bolus properties ( $p < 0.01$ ), except for particle number ( $p = 0.342$ ). Thus, the presence of crust in the bolus induced some changes in bolus properties: larger particles, lower water content over time, lower amylase activity and a harder bolus. For the other properties, the variations over time were not the same for crumb and crumb with crust samples and led to different breakdown pathways (Figure III.1-4). Heterogeneity and adhesiveness were the parameters that were the most impacted by the presence of crust (main contribution to axis 2 of the PCA, separating crumb with and without crust). The D75/D25 heterogeneity was maximal at T2, while there was no variation in this parameter for the crumb samples. The unequal particle size probably reflected the difficulty to breakdown a heterogeneous food composed of both hard and soft materials. Boli from crust and crumb samples were more adhesive, especially at the end of the oral processing. We observed a decrease in the cohesiveness parameter, which was probably due to interactions

between adhesiveness and cohesiveness, as suggested by [Chen \(2014\)](#). Since crumb with crust boli were sticky, cohesiveness was probably interfering with adhesiveness. Moreover, the differences in structure between boli at T1 (bread barely deconstructed) and boli at T3 (thousands of particles pulled together with saliva) probably mean that the physical origin of cohesiveness is different. On the one hand, cohesiveness is ensured by the walls of air cells in the bread, while, on the other hand, cohesiveness is due to particle lubrication by saliva. Contrary to crumb boli, the percentage of in-mouth residues did not change between T1 and T2, but increased between T2 and T3. At T1, the amount of in-mouth residues was higher in crumb with crust samples than in crumb samples. We can assume that the bite force required in the presence of crust was greater at the beginning of oral processing, as already shown by other authors ([Mioche & Peyron, 1995](#); [van der Bilt, Engelen, Pereira, van der Glas, & Abbink, 2006](#)). This could lead to the formation of little particles at T1 that are difficult to expectorate because of their low lubrication degree. The presence of crust thus induced an adaptation of the oral processing over time.

### 3.3.2. Differences between breads





*Boli resulting from the four crumbs* presented different characteristics ([Table III.1-3.a](#)). The initial composition of the bread had an impact on the breakdown and hydration mechanisms, as well as on the textural properties of boli. At every studied stage of oral processing, boli from B4 had twice as many particles as boli of B1 ( $p < 0.0001$ ) and these particles were smaller ( $p = 0.001$ ). This higher fragmentation could be explained by the presence of fibers and milled wheat grains in this bread. They induced a disrupted gluten network, leading to a weakening of the structure. Boli obtained from B4 crumb had a lower water content than the others at each stage of oral processing ( $p < 0.0001$ ), but the amount of saliva that was added was the same as in breads B1 and B3 (parallel curves in [Figure III.1-5](#)). Finally, bread B4 led to the hardest bolus, but only at T2 and T3 (significant interaction between bread and time,  $p < 0.0001$ ). This was probably because its crumb was the firmest. At swallowing time, the most adhesive bolus was the one obtained from bread B4 (significant interaction between bread and time,  $p = 0.022$ ).

The crumb structure mainly had an impact on the hydration and the texture of boli. The variation over time of the bolus water content was the same for breads B1 and B3, but the boli from the B2 crumb was hydrated faster and higher than the others ([Figure III.1-5](#)). This hydration capacity during oral processing could probably be explained by the water-absorbing capacity (WAC) of breads, which was also high for B2 crumb. In the case of crumb alone, boli were not very adhesive. A slight increase in the adhesiveness parameter was observed over time, except for bread B3, which explained why the pathway of this crumb was different from the others ([Figure III.1-5](#)).



**Table III.1-3: Mean (M) and standard error of the mean (SE) of the properties related to bolus formation for (a) crumb samples, and (b) crumb with crust samples.**

The average of the three times that were studied (10%, 40% and 100% of the in-mouth duration) was calculated for each bread. F factors were derived from a two-way ANOVA (bread, time, time\*bread). Probabilities are encoded as follows: NS: non-significant; \*: p<0.05; \*\*: p<0.01; \*\*\*: p<0.001. Letters A, B, and C indicate means that significantly differ between products at p < 0.05 (Fisher (LSD)). *Italic letters indicate that these differences are significant for the mean but not for all times (time\*bread interaction significant).*

Parameter	Unit	F factors		B1 		B2 		B3 		B4 					
		Bread	Time*Bread	M	SE	M	SE	M	SE	M	SE				
<b>a) Crumb bolus properties</b>															
Number of particles	-	10.1 ***	1.0 NS	<b>1062</b>	149	C	<b>1304</b>	191	BC	<b>1567</b>	242	B	<b>2211</b>	313	A
D50	mm	6.2 ***	1.0 NS	<b>10.3</b>	1.8	A	<b>7.6</b>	1.6	BC	<b>8.8</b>	1.6	AB	<b>6.7</b>	1.3	C
D75/D25	-	2.8 *	0.5 NS	<b>3.0</b>	0.2	B	<b>4.0</b>	0.4	A	<b>4.0</b>	0.3	A	<b>4.0</b>	0.3	A
Hydration rate	g/100 g DM	9.9 ***	1.2 NS	<b>51.4</b>	5.0	B	<b>72.0</b>	7.1	A	<b>52.5</b>	4.9	B	<b>55.7</b>	5.7	B
Water content	g/100 g bolus	11.9 ***	1.1 NS	<b>60.4</b>	0.7	A	<b>61.1</b>	0.8	A	<b>60.0</b>	0.7	A	<b>57.6</b>	0.8	B
Amylase activity	U/g DM	2.7 *	0.3 NS	<b>86.1</b>	10.5	B	<b>117.9</b>	13.8	A	<b>86.7</b>	10.2	B	<b>103.3</b>	12.0	AB
Quantity of residues	%	10.1 ***	2.5 *	<b>5.2</b>	0.8	B	<b>8.1</b>	1.1	A	<b>4.2</b>	0.6	B	<b>5.3</b>	0.6	B
Adhesiveness	N.s	8.3 ***	2.5 *	<b>1.08</b>	0.06	C	<b>1.29</b>	0.07	B	<b>1.48</b>	0.09	AB	<b>1.62</b>	0.11	A
Hardness	N	13.7 ***	6.8 ***	<b>5.54</b>	0.62	BC	<b>4.08</b>	0.41	C	<b>6.98</b>	0.78	B	<b>7.97</b>	0.87	A
Cohesiveness	-	35.1 ***	10.6 ***	<b>0.40</b>	0.02	A	<b>0.37</b>	0.01	A	<b>0.37</b>	0.01	A	<b>0.30</b>	0.01	B
G'	kPa	2.9 NS	-	<b>8.7</b>	1.7		<b>8.5</b>	2.1		<b>9.0</b>	2.2		<b>28.6</b>	10.2	
G''	kPa	4.5 *	-	<b>1.7</b>	0.3	B	<b>1.7</b>	0.4	B	<b>1.8</b>	0.4	B	<b>6.0</b>	1.8	A
ΔGlucose	mg/100 g bread	1.7 NS	-	<b>33</b>	4		<b>48</b>	3		<b>29</b>	5		<b>63</b>	16	
<b>b) Crumb with crust bolus properties</b>															
Number of particles	-	6.9 ***	1.0 NS	<b>996</b>	168	C	<b>1793</b>	257	A	<b>1401</b>	264	BC	<b>1749</b>	293	AB
D50	mm	16.4 ***	1.5 NS	<b>16.7</b>	2.3	A	<b>9.2</b>	1.6	C	<b>13.4</b>	2.2	B	<b>10.4</b>	1.8	C
D75/D25	-	8.8 ***	2.4 *	<b>3.6</b>	0.4	B	<b>6.5</b>	0.8	A	<b>4.4</b>	0.5	B	<b>3.6</b>	0.3	B
Hydration rate	g/100 g DM	11.8 ***	1.9 NS	<b>42.6</b>	3.8	B	<b>61.2</b>	4.6	A	<b>45.4</b>	4.4	B	<b>48.4</b>	5.0	B
Water content	g/100 g bolus	7.5 ***	1.5 NS	<b>49.4</b>	0.8	B	<b>51.1</b>	1.0	A	<b>49.8</b>	0.9	AB	<b>47.8</b>	1.1	C
Amylase activity	U/g DM	3.7 *	0.5 NS	<b>72.8</b>	8.6	B	<b>101.1</b>	10.5	A	<b>77.2</b>	10.2	B	<b>74.1</b>	9.5	B
Quantity of residues	%	11.8 ***	0.4 NS	<b>6.5</b>	0.7	A	<b>10.1</b>	1.3	A	<b>4.5</b>	0.6	B	<b>6.2</b>	1.1	B
Adhesiveness	N.s	13.9 ***	7.6 ***	<b>2.44</b>	0.24	B	<b>1.57</b>	0.11	C	<b>2.95</b>	0.26	A	<b>2.70</b>	0.21	AB
Hardness	N	33.7 ***	16.6 ***	<b>15.23</b>	1.13	B	<b>13.37</b>	1.67	C	<b>16.54</b>	0.96	B	<b>22.45</b>	1.22	A
Cohesiveness	-	27.2 ***	17.5 ***	<b>0.41</b>	0.01	A	<b>0.36</b>	0.01	B	<b>0.40</b>	0.01	A	<b>0.36</b>	0.02	B
G'	kPa	3.7 *	-	<b>25.6</b>	3.3	B	<b>28.8</b>	9.8	B	<b>27.6</b>	4.6	B	<b>65.4</b>	10.5	A
G''	kPa	4.6 *	-	<b>5.2</b>	0.6	B	<b>6.1</b>	1.9	B	<b>5.7</b>	0.9	B	<b>13.7</b>	2.0	A
ΔGlucose	mg/100 g bread	4.0 *	-	<b>33</b>	7	B	<b>46</b>	6	AB	<b>42</b>	6	B	<b>78</b>	14	A



The properties of boli obtained from samples with crumb and crust are also dependent on the type of bread (**Table III.1-3.b**). Hardness, adhesiveness and heterogeneity were the main factors impacted by the presence of crust. The impact was different depending on their crust structures, leading to a range of breakdown pathways (**Figure III.1-4**).

The crust thickness probably induced a difference in variation of bolus hardness: the decrease between T1 and T3 in the hardness parameter was greater for breads B1 and B2 than for breads B3 and B4 (significant interaction between bread and time,  $p < 0.0001$ ). At the beginning of oral processing, the crust was probably still partially intact, strengthening the bolus structure. The thicker the crust was, the more reinforcement that was provided, whereas the breakdown of the crust led to a decrease in the hardness parameter. Moreover, we observed that the boli from B2 were composed of more particles of a smaller size than the other boli. A thick and dry crust induced a high muscular activity and led to a high breakdown of the bread structure (*Gao et al., 2015*). Thus, the thickness and dryness of B2 crust could explain why these boli were harder at the beginning of oral processing and were quickly broken down into small particles.

A significant interaction between bread and time was also observed for the heterogeneity of particle size ( $p = 0.036$ ). The bolus from bread B4 behaved differently than the other boli: its heterogeneity was constant over time (data not shown), like that of the other crumb samples. The presence of crust had no impact on the heterogeneity of the B4 bolus, probably because of its very thin crust.

The presence of crust induced a considerable increase in the adhesiveness parameter of boli from breads B1, B3 and B4, compared to the crumb sample (**Figure III.1-4**). The bolus from bread B2 was less adhesive than the others, even at swallowing time.

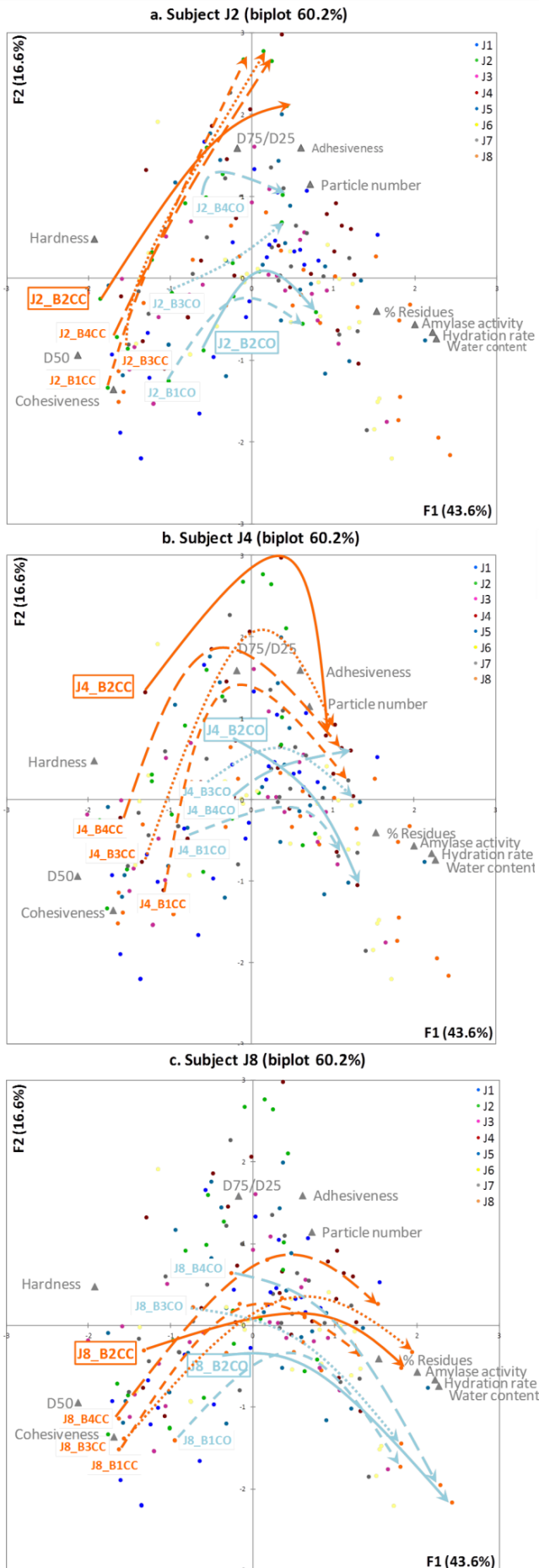
### 3.3.3. Differences between eating behavior of subjects

The breakdown pathways varied over time and between breads, but also between individuals (**Figure III.1-6**). First, regardless of the subject, and especially for samples of crumb with crust, bread B2 always presented different breakdown pathways, often leading to higher hydrated boli at swallowing time than the other breads.

For five of the eight subjects (illustrated with breakdown pathways of J2 and J4 in **Figures III.1-6.a** and **III.1-6.b**), the breakdown pathways of crumb samples were different from the ones of samples of crumb and crust. For the others, like subject J8 (**Figure III.1-6.c**), few differences were observed between breakdown pathways of samples with or without crust.

Among the eight subjects that composed the panel, three subjects (J2, J4 and J8) were representative of the wide range of variability of eating behaviors. For example, for subject 2, the heterogeneity of particle size from his boli of crumb with crust was still increasing at the end of oral processing (T3) (contrary to the other subjects for whom a maximum of heterogeneity was observed at T2), and his boli were 25% less hydrated than the panel mean. Moreover, while subject J4 had distinct breakdown pathways for all of the breads, few differences were observed for subject J8. This could possibly be due to an adaptation of the oral processing of this last subject, in order to obtain similar properties of boli at swallowing.

Different eating behaviors were recently categorized in the literature (*Jeltema, Beckley, & Vahalik, 2015*). “Chewer” and “cruncher” consumers prefer to process the food with their teeth, while “smoosher” and “sucker” consumers use their tongue. Following this categorization, subject J2 could be considered as a “cruncher”, leading to a more rapid breakdown of food, whereas the other subjects tend to be “chewers”.



**Figure III.1-6: Breakdown pathways of the bolus in the mouths of selected subjects (J2 (a), J4 (b) and J8 (c)) obtained by PCA on normalized bolus properties.** Boli of crumb with and without crust, for all subjects, at three key stages of oral processing (T1 = 10%, T2 = 40% and T3 = 100% of swallowing time) were plotted over physical properties. The three graphs are derived from the same PCA, but only one subject is highlighted in each graph. Lines were drawn to guide the reader. CO = Crumb Only (blue), CC = Crumb with Crust (orange).

### 3.4. Bolus properties at swallowing time

#### 3.4.1. Rheological properties

For crumb samples, the  $G'$  modulus (tendency,  $p = 0.066$ ) and the  $G''$  modulus (significant difference,  $p = 0.010$ ) from bread B4 differed from the others (Table 3). The bolus obtained from B4 was more elastic and viscous than the others at swallowing. Bread density could not completely explain the difference between the  $G'$  and  $G''$  moduli of the four bread boli (in the range of density used in this study). However, when the range of density was high (from 0.25 to 0.50), it was shown that density had an impact on the  $G'$  and  $G''$  moduli by increasing in these parameters (Panouillé *et al.*, 2014). In our case, the Young modulus of bread crumb probably had an impact on the  $G'$  and  $G''$  moduli of the crumb bolus at swallowing. The same results were found with crumb with crust samples.

#### 3.4.2. Enzymatic degradation

Between 29 and 63 mg of glucose per 100 g of bread were released (Table 3), but no significant difference was observed between the four crumbs ( $p = 0.180$ ). However, for crumb with crust samples, boli from bread B4 had the highest release of glucose ( $p = 0.017$ ). The presence of milled wheat grains induced a disrupted gluten network, which probably led to a better accessibility of starch to alpha-amylase. Moreover, boli from bread B3 had a 44% increase in glucose release in the crumb and crust sample compared to the crumb sample. This large increase was not observed for the other breads. This could be explained by the high capacity of B3 crust to become hydrated (WAC of crumb with crust > WAC of crumb). This hydration capacity led to a better incorporation of saliva in the crust and, therefore, to a better degradation of starch by  $\alpha$ -amylase.

#### 3.4.3. Correlations between bolus properties

During oral processing, the action of alpha-amylase led to starch hydrolysis. The more saliva and  $\alpha$ -amylase that were incorporated, the more glucose that was released (correlation between amylase activity in the bolus and glucose release,  $r = 0.492$ ,  $p < 0.0001$ ).

At swallowing time, boli were composed of large amounts of small particles lubricated with saliva. The incorporation of saliva depended on the particle size (correlation between hydration rate and D50,  $r = -0.534$ ,  $p < 0.0001$ ) and on the heterogeneity of particle size (correlation between hydration rate and D75/D25,  $r = -0.329$ ,  $p = 0.008$ ). A homogeneous distribution of small particles presented a high exchange surface, facilitating the incorporation of saliva.

The lubrication and the deconstruction of the bread had an impact on the rheology parameters of the bolus. The incorporation of saliva led to an increase in the water content of the bolus ( $r = 0.876$ ,  $p < 0.0001$ ), which tended to soften the bolus (correlation between water content and hardness  $r = -0.856$ ,  $p < 0.0001$ ). The lubrication by saliva reduced bolus adhesiveness ( $r = -0.628$ ,  $p < 0.001$ ). Boli composed of small particles were less hard and viscous ( $r = 0.485$ ,  $p < 0.0001$ , and  $r = 0.371$ ,  $p < 0.0001$ , respectively). It is important to reduce the size of food particles to allow the food to pass through the esophagus, as well as to decrease the hardness. The risk of injury during swallowing is prevented in this way.

**3.5. Respective contributions of product properties and oral physiology characteristics on the variation of bolus properties during oral processing**

As highlighted in the present study, bolus formation is a dynamic process that is influenced by bread composition and structure. The physiological characteristics of subjects also play an important role in the oral processing (Chen, 2014). The purpose of this section is to determine the respective contribution of each parameter (bread or physiological properties) on bolus formation.

At swallowing time (Table III.1-4), bolus hardness, adhesiveness, water content, hydration rate and heterogeneity could be explained by bread properties (mainly water content, water-absorbing capacity and the Young modulus) and subject characteristics (mainly individual masticatory index, mouth volume and in-mouth duration). Thus, a greater number of bolus properties could be explained at swallowing time than at the beginning and middle of oral processing (data not shown). It can be assumed that even if subjects have different strategies (for example, high individual masticatory index and short in-mouth duration), they all aim at producing a bolus suitable for swallowing (Mishellany *et al.*, 2006). The differences in oral processing strategies used by subjects would have different impacts on the bolus properties at times T1 and T2 than at time T3. Despite individual approaches, boli at swallowing time are similar, making it possible to establish statistical models.

**Table III.1-4: Normalized coefficients obtained by Partial Least Square (PLS) regressions between boli and bread properties (crumb samples with or without crust), and subject characteristics at the end of oral processing (T3).**

Blue colored coefficients are significant.

Only the relevant regressions ( $R^2 > 0.500$ ) are presented here.

WAC = Water-absorbing capacity.

Bolus properties at swallowing time		Hardness	Adhesiveness	Water content	Hydration rate	Heterogeneity
<b>R<sup>2</sup></b>		<b>0.587</b>	<b>0.546</b>	<b>0.774</b>	<b>0.627</b>	<b>0.506</b>
Product properties	Density	0.056	0.033	-0.023	-0.060	-0.118
	Water content	-0.434	-0.445	0.509	0.276	-0.470
	WAC	-0.193	-0.182	0.205	0.171	-0.064
	Young modulus	0.121	0.095	-0.086	-0.080	-0.055
	Total starch content	-0.111	-0.079	0.049	0.010	0.049
	Crust thickness	-0.150	-0.114	0.077	-0.006	0.000
	Crumb/Crust ratio	0.014	0.003	-0.008	-0.068	-0.107
Physiology characteristics	Salivary flow	-0.050	-0.068	0.129	0.202	-0.017
	Salivary dry extract	-0.047	-0.036	-0.002	-0.123	-0.103
	Salivary amylase activity	-0.095	-0.101	0.118	0.065	-0.118
	Viscosity of saliva	-0.005	-0.002	-0.012	-0.052	-0.033
	Individual masticatory index	0.180	0.203	-0.278	-0.254	0.196
	Mouth volume	-0.192	-0.212	0.277	0.225	-0.217
In-mouth duration	-0.128	-0.157	0.241	0.262	-0.153	

The main subject characteristics that explained bolus properties at swallowing were the mouth volume, individual masticatory index and in-mouth duration. These parameters were also the ones that made it possible to discriminate between subjects in the two groups. It appears that the slow eaters produced boli that were softer, more homogeneous and more hydrated (more saliva added), and less sticky. Thus, the swallowing was safer when the eater kept the food in the mouth for a long time. Similar results were also found in the literature (Devezeaux de Lavergne, Derks, Ketel, de Wijk,

& Stieger, 2015c). The in-mouth duration was also considered as a key factor to discriminate between subjects and to explain bolus properties at swallowing in a previous study (Saint-Eve *et al.*, 2015). At swallowing time, the bolus water content and the hydration rate were also explained by the salivary flow, the mouth volume, the individual masticatory index and the in-mouth duration. As expected, subjects with a high salivary flow, a big mouth and a long in-mouth duration have a higher hydration of products. When the volume of the mouth is bigger, more saliva is present to lubricate the food product.

The main bread property that determined bolus properties at swallowing was the water content of the initial samples (crumb alone or crumb with crust). The water content of the bolus could be explained by the water content of the initial sample at each stage, and it was also explained by the water-absorbing capacity at times T2 and T3. These results were expected since more saliva is added to the dry product in these cases (Motoi *et al.*, 2013). The present results suggest that, in addition to the initial bread water content (which is responsible for the absorption of saliva in the bolus), the water-absorbing capacity of the product is also a key factor for understanding hydration mechanisms. This product property should be taken into account when designing new products that would be easy to hydrate, notably for the elderly, since the salivary flow decreases with age (Nassar, Hiraishi, Islam, Otsuki, & Tagami, 2014).

#### 4. Conclusions

The effects of hydration and mechanical and enzymatic breakdowns on the dynamics of bolus formation were explored through the analysis of *in vivo* bolus properties for real complex products. The main result was that the variations over time had a greater impact on bolus properties than crumb and crust structures. Therefore, in the case of a restricted category of products such as bread, major differences in bolus properties are due to the time spent in the mouth. Despite that, the heterogeneity of the food, studied here with the presence of crust, induced a modification of the oral processing. For example, the variations over time of the heterogeneity of particle size were affected. Moreover, bread properties such as water-absorbing capacity or the presence of fibers contributed to a modification of hydration and breakdown mechanisms.

The oral physiology of the subjects, especially their oral processing times and mouth volumes, also had a major effect on the formation of the bolus. The individual breakdown pathways revealed an adaptation of oral processing to the product for some subjects. This reinforces the fact that a panel of individuals with different oral characteristics should always be used in food oral processing studies.

Swallowing time is the moment when the greatest number of bolus properties could be explained by bread properties and subject characteristics, suggesting that this is the most relevant time to study the physical aspects of oral processing. Nevertheless, breakdown pathways could help to understand the sensory trajectories of bread. For this purpose, it is essential to study the oral processing over time.

This work helps understanding the impact of bread structure on bolus characteristics, especially the hydration phenomena and the amylase activity. This knowledge should be useful to better understand the drivers of glucose release during digestion, and also the impact of bread densities on glycemic index. All these results, linked to nutritional and sensory properties, should provide a solid knowledge foundation to help design new products.

### **Acknowledgements**

The authors would like to acknowledge Lesaffre International for their financial support. Anne-Flore Monnet is gratefully thanked for her contribution to the characterization of bread water-absorbing capacity and Hélène Hy for her help with subjects and bolus characterizations. Elisabeth Guichard and Guy Della Valle are gratefully acknowledged for their fruitful discussions. Finally, the authors would like to thank Gail Wagman for her precious help in proofreading the English.

**Principaux résultats à retenir (Article 1)**

L'élaboration de trajectoires de formation du bol a permis de mettre en évidence que le « temps » était la principale source de variabilité entre les bols, plus que les différences de structure ou de composition des pains, la présence de croûte ou les différences de physiologie des sujets. Ces travaux ont également montré que la présence de croûte est responsable d'une grande hétérogénéité dans la distribution des tailles de particules au temps intermédiaire de la mastication. La capacité d'hydratation de la croûte contribue à une dégradation de l'amidon plus intense que pour les échantillons de mie seule.

Un modèle de régression PLS entre les propriétés des bols à déglutition (Y) et les propriétés des pains et des sujets (X) a permis d'identifier les facteurs les plus impactants. Les principales caractéristiques physiologiques expliquant les différences entre les bols étaient le temps de séjour en bouche, l'indice d'efficacité masticatoire et le volume oral des sujets. Les principales propriétés des pains impactant les propriétés des bols étaient la composition initiale et la capacité d'absorption d'eau des pains.

Pour conclure, la structure de la mie et celle de la croûte ont un impact sur le processus oral, affectant les capacités d'hydratation, de fragmentation et la rhéologie des bols.

## **III.2. Etude des contributions respectives de la structure du pain et du processus oral aux dynamiques de perception de texture à l'aide d'une analyse multi blocs**

### III.2.1. Contexte, objectifs et démarche de l'article 2

Les résultats de la partie précédente ont permis de mettre en évidence l'importance de la structure du pain et de la présence de la croûte sur l'évolution des propriétés des bols au cours du processus oral. Nous avons également observé que la physiologie orale des sujets (notamment la durée de mastication, leur efficacité masticatoire et leur volume oral) était un facteur contribuant à la variabilité des propriétés des bols. En effet, les trajectoires de déstructuration du bol ont montré une forte évolution des propriétés de ces derniers au cours du temps, pour chacun des individus du panel.

Nous avons vu précédemment que la perception de texture était liée à un phénomène dynamique et dépendait à la fois de la structure du pain et de son évolution au cours du processus oral. L'objectif de cette étude était donc de quantifier les contributions respectives des propriétés des pains et des bols à différents temps du processus oral aux dynamiques de perceptions de texture, en prenant en compte la variabilité interindividuelle des sujets.

Pour cela, nous avons utilisé les données de caractérisation des bols de la partie précédente, en nous focalisant sur les 3 pains de même composition (farine de blé type T55 et levure Hironnelle Bleue [Lesaffre, France]). Les dynamiques de perception de texture de ces 3 pains Lesaffre, aux structures différentes, ont été caractérisées par deux méthodes sensorielles : par Dominance Temporelle des Sensations (DTS) et par profil progressif (PP). La perception des échantillons de mie avec ou sans croûte a été évaluée par des panélistes entraînés, afin d'étudier l'impact de la croûte sur les perceptions de texture. Les intensités de 9 attributs ont été évaluées à 3 temps du processus oral (10, 40 et 100% de la durée de mastication individuelle) par PP. Six de ces attributs, communs aux échantillons de mie et de mie et croûte, ont été reliés statistiquement par régression PLS-Multi Blocs aux propriétés des bols collectés aux trois mêmes temps, ainsi qu'aux propriétés des pains. Cette méthode basée sur la régression PLS a été choisie afin de faciliter l'interprétation des résultats en découpant le jeu de données en 4 blocs : trois relatifs aux propriétés des bols représentant les aspects « structure », « hydratation » et « texture » des bols, et un quatrième bloc relatif aux propriétés des pains.

#### Paragraphe de Matériels et Méthodes associés :

- Description des pains utilisés : paragraphe II.1.1
- Caractérisation des propriétés des pains : paragraphe II.4.1
- Caractérisation des propriétés des bols : paragraphe II.4.2
- Description du panel : paragraphe II.2.1
- Description des méthodes sensorielles utilisées : paragraphe II.3.
- Description du modèle statistique établi : paragraphe II.6.2



III.2.2. Article 2 : “Respective impact of bread structure and oral processing on dynamic texture perceptions through statistical multiblock analysis”

*Publication n°2 parue dans Food Research International*

Food Research International 87 (2016) 142–151

**Respective impact of bread structure and oral processing on dynamic texture perceptions through statistical multiblock analysis**

S. Jourden <sup>a,b</sup>, A. Saint-Eve <sup>\*a</sup>, M. Panouillé <sup>a</sup>, P. Lejeune <sup>b</sup>, I. Délérís <sup>a</sup>, I. Souchon <sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR GMPA, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 78850, Thiverval-Grignon, France

<sup>b</sup> Lesaffre International, 59700, Marcq-en-Baroeul, France

\* Corresponding author: [anne.saint-eve@agroparistech.fr](mailto:anne.saint-eve@agroparistech.fr)

---

**Abstract**

Texture perception is a multidimensional and dynamic phenomenon resulting from both the initial structure of food and its breakdown during oral processing. The aim of this study is to identify the respective contribution of food and bolus properties to temporal changes in texture perceptions during bread consumption. For this purpose, the perception dynamics of three French baguettes with different structures were assessed through Temporal Dominance of Sensations and Progressive Profiling. Samples of crumb with and without crust were tasted by trained panelists. The intensities of nine texture attributes were evaluated at three key stages of oral processing (10%, 40% and 100% of individual swallowing time) using the Progressive Profiling method. Six of them were related with a Multiblock Partial Least Squares (MB-PLS) regression to the initial bread properties and to some bolus properties measured at these three stages. The evolution during oral processing of some attributes such as "soft", "dry", "doughy" and "sticky" was more influenced by modifications of bolus properties than by the initial characteristics of the breads. Among bolus properties, the MB-PLS highlighted that the hydration and texture properties of the bolus had a greater impact on texture perceptions than bolus structure. The "aerated" perception was more affected by the crumb structure, while the "heterogeneous" and the "crispiness" were more affected by the presence of crust. This study thus contributes to improving our understanding of dynamic texture perceptions through a statistical model that takes the physical properties of bread and bolus during oral processing into account.

---

## 1. Introduction

The primary purpose of eating is to provide calories and nutrients to the human body so that it can sustain its energy levels. To do this, oral processing transforms the food into a bolus that is suitable for swallowing and digestion (Chen, 2009). Oral processing induces structural transformations to food through different complex mechanisms such as comminution, agglomeration, hydration and lubrication by saliva associated with enzymatic hydrolysis (de Wijk, Prinz, Engelen, & Weenen, 2004; Hoebler *et al.*, 1998; Lucas, Prinz, Agrawal, & Bruce, 2002; Witt & Stokes, 2015). Consumers adapt their oral processing to the bolus properties throughout a chewing sequence (Foegeding, Vinyard, Essick, Guest, & Campbell, 2015), depending on the degree of breakdown of the food (Hedjazi, Guessasma, Yven, Della Valle, & Salles, 2013; Mioche, Bourdiol, & Monier, 2003), but also depending on their preferred mouth behavior (Brown & Braxton, 2000). According to Jeltema and coworkers (Jeltema, Beckley, & Vahalik, 2015), consumers are classified in four groups depending on their mouth behavior and in relation with their texture preferences.

In addition to its nutritional value, when eaten, food also provides pleasure through perceived sensations such as aroma, taste and texture. These perceptions vary continuously during consumption, notably because of the breakdown of food, the modification of the bolus structure and the progressive release of the different stimuli. To better characterize foods during their consumption, different dynamic sensory methodologies have been established to study the changes in perceptions over time. Reference methods such as Time-Intensity (TI) or dual TI have been designed to continuously monitor the intensity of one or two selected attributes during food consumption (Cliff & Heymann, 1993). Even if the TI method seems to be well adapted to monitoring one specific attribute, the differences in the panelists' signatures are difficult to process (Vázquez-Araújo, Parker, & Woods, 2013). Progressive Profiling (PP) can be used to evaluate the intensities of many attributes at chosen discrete points in time during food oral processing. This method was first used to study variations in texture perceptions in the case of cheddar (Jack, Piggott, & Paterson, 1994): the intensity scores of some texture attributes were recorded at each chew during consumption. New sensory methodologies such as the Temporal Dominance of Sensations (TDS) method (Pineau *et al.*, 2009) and the Temporal Check-All-That-Apply method (Castura, Antúnez, Giménez, & Ares, 2016) have emerged in the past few years, and are lowly time-consuming (Delarue, Lawlor, & Rogeaux, 2014). The TDS method has often been used to describe changes in texture perceptions during food consumption (Laguna, Varela, Salvador, & Fiszman, 2013; Lenfant, Loret, Pineau, Hartmann, & Martin, 2009). For example, in Laguna's study (Laguna *et al.*, 2013), biscuits were perceived at first to be "hard", and then "crispy" or "crunchy" depending on their fat content. Moreover, the dominant sensation at the end of mastication was "dry mouthfeel" for biscuits with added fiber only.

Texture perceptions are not only impacted by the initial properties of food, but also by the oral processing and the kinetics of bolus formation, as shown by numerous recent studies and reviews (Chen, 2014; Cheong *et al.*, 2014; Foegeding *et al.*, 2015; Koç, Vinyard, Essick, & Foegeding, 2013). Oral processing plays a greater role in the breakdown of solid foods than for semi-solid and liquid foods (Hutchings & Lillford, 1988). For solid food products, a distinction can be made between moist and dry foods. Moist foods are mainly broken down into particles but are still moderately hydrated by saliva at the end of mastication. For example, in the case of emulsion-filled agar/gelatin gels, the "moist" and "refreshing" sensations were not correlated with the incorporation of saliva in the bolus.

However, the "firmness" perception was correlated with the mechanical properties of boli obtained at the early stages of mastication (Devezeaux de Lavergne, van de Velde, van Boekel, & Stieger, 2015b). In contrast, dry foods such as cake, biscuits and bread have higher hydration capacities (Motoi, Morgenstern, Hedderley, Wilson, & Balita, 2013). For example, at the middle stage of biscuit mastication, the absorption of saliva had a greater impact than the fracture properties of biscuits, leading to a dominance in "dry" perception (Young, Cheong, Hedderley, Morgenstern, & James, 2013). In the case of bread, "sticky" and "hydrated" attributes were perceived to be dominant at swallowing time, whereas the G' and G'' moduli of the expectorated boli decreased and their water content increased until that time (Panouillé, Saint-Eve, Déléris, Le Bleis, & Souchon, 2014).

Bread is an essential part of our diet. A European consumer eats an average of 59 kg of bread per year (AIBI, 2015). With its low fat content, bread consumption ensures a relatively significant part of the recommended daily amount of carbohydrates, proteins and fibers. Even if nutritional properties are an important criterion for consumers, sensory properties are also known to be key factors for product acceptability. For French consumers in particular, texture criteria (such as crumb firmness and crust crispiness) have a great impact on bread acceptability (Martin, Courcoux, Chiron, & Issanchou, 2008). To be consistent with consumer expectations and preferences, a better understanding of the variation of texture perceptions during consumption constitutes a real challenge for manufacturers.

In this context, this study aimed at identifying the respective contributions of bread and bolus properties to dynamic texture perceptions during consumption. For this purpose, two dynamic sensory methods (PP and TDS) were used. Sensory data were linked to the instrumental properties of bread and boli to determine the drivers at the origin of the texture perceptions of bread.

## 2. Material and methods

### 2.1. Materials

Three breads, B1, B2 and B3 (par-baked and frozen French baguettes), were investigated. They were manufactured with the same raw materials but using different baking processes in order to obtain breads with different crumb and crust structures. The final baking of the par-baked and frozen breads, B1, B2 and B3, took place in a Wiesheu Minimat oven (Wiesheu GmbH, Germany) at 220°C for 9, 7 and 8 min, respectively (Jourden *et al.*, 2016), in order to reach the same core temperature (95°C). Some instrumental parameters such as Young's modulus and density were controlled after each batch was baked to check production repeatability. The breads were served to panelists after two hours of cooling and within a 2-hour interval.

### 2.2. Sensory assessment

#### 2.2.1. Sensory tasting conditions

A panel of 14 volunteers (ten women and four men, with an average age of  $32.9 \pm 12.9$  years) was recruited based on their motivation and discrimination abilities. They gave their free and informed consent and received compensation for their participation. All sensory analyses were carried out in an air-conditioned room (20°C), in individual booths, under white light. Bread samples were

presented in pre-cut vertical slices (thickness: 2.5 cm) in plastic boxes labeled with randomly selected three-digit numbers. Just before the evaluation, panelists were asked to cut samples of crumb only (CO) or crumb with crust (CC) themselves from the pre-cut slice according to a well-defined protocol (Jourdren *et al.*, 2016a), and with the instruction to be reliable between samples. A warm-up product was introduced at the beginning of each session to prepare the panelist for the test. The samples were presented in randomized order across panelists to avoid a bias in the results. Panelists were provided with mineral water (Evian, Danone, France) to rinse their mouths.

### 2.2.2. Experimental design

The breads samples were evaluated for both aroma and texture perceptions using two different sensory tests: the Temporal Dominance of Sensations (TDS) and the Progressive Profiling (PP). During one session of sensory evaluation (TDS or PP), the panelists assessed 1) the aroma of crumb, 2) the aroma of crumb with crust, 3) the texture of crumb and 4) the texture of crumb with crust. So, for TDS and PP, four different lists of attributes were used to assess texture and aroma of CO or CC samples. The present article focuses only on texture perceptions, so only texture data are presented here.

In addition to sensory evaluation, supplementary sessions of bolus collection were performed later, to assess their instrumental properties (detailed in the subsection 2.3.2). This data has been published in Jourdren *et al.*, 2016a.

### 2.2.3. Temporal Dominance of Sensations (TDS)

The panelists were trained during five training sessions of 45 min each. During the four first sessions, the panelists generated sensory attributes based on the differences between the products and then worked on the attribute definitions and the associated protocols to assess these attributes. The last session was devoted to TDS training. This session was used to introduce the notion of dominance to the panelists, defined as the sensation that triggers the most attention at a given time (Lenfant *et al.*, 2009). TDS evaluation was performed on six samples (three breads, B1, B2 and B3, with and without crust) using Fizz Acquisition software (Version 2.47A, Biosystemes, France) during a single session, which was triplicated. Panelists were asked to click on the "start" button when they introduced the bread sample into their mouth. They were then able to select the dominant attributes until the end of perception ("stop" button). By a click on an "I'm swallowing" button, they indicated when they swallowed the product. Seven texture attributes were selected for TDS evaluation of CO samples and eleven texture attributes were selected for CC samples (Table III.2-1). The list of attributes was presented in randomized order for each panelist, but was always the same for a given panelist.

**Table III.2-1: List of texture attributes used for Temporal Dominance of Sensations and Progressive Profiling evaluations and their definitions.**

TDS attributes		Progressive profiling attributes	
Attributes	Definitions	Attributes	Definitions
<b>Crumb</b>			
Aerated	Product feels full of air	Compact Aerated	0 = Product feels full of matter / 10 = Product feels full of air
Soft	Easily crushed after mechanical compression	Hard / Soft	0 = Resists deformation / 10 = Easily crushed after mechanical compression
Homogeneous	Absence of separate particles	Homogeneous / Heterogeneous	0 = Absence of separate particles / 10 = Presence of pieces or particles in saliva
Heterogeneous	Presence of pieces or particles in saliva		
Moist	Product feels full of water	Moist / Dry	0 = Product feels full of water / 10 = Product contains little water
Sticky	Product sticks to teeth	Sticky	Product sticks to teeth
Doughy	With the consistency of a soft and thick dough	Doughy	With the consistency of a soft and thick dough
		Melting	Reduction of sample volume in saliva without a lot of chewing
<b>Crumb with crust</b>			
Aerated	Product feels full of air	Compact Aerated	0 = Product feels full of matter / 10 = Product feels full of air
Hard	Resist the deformation	Hard / Soft	0 = Resists deformation / 10 = Easily crushed after mechanical compression
Soft	Easily crushed after mechanical compression		
Homogeneous	Absence of separate particles	Homogeneous / Heterogeneous	0 = Absence of separate particles / 10 = Presence of pieces or particles in saliva
Heterogeneous	Presence of pieces or particles in saliva		
Moist	Product feels full of water	Moist / Dry	0 = Product feels full of water / 10 = Product contains little water
Dry	Product contains little water		
Sticky	Product sticks to teeth	Sticky	Product sticks to teeth
Doughy	Product with the consistency of a soft and thick dough	Doughy	Product with the consistency of a soft and thick dough
Crispy	Product makes noise during chewing	Crispy	Product makes noise during chewing
Elastic	Product returns to its initial volume after compression	Elastic	Product returns to its initial volume after compression

2.2.4. Determination of three key times of oral processing

Three key times of bread eating (T1 = 10% of swallowing time, T2 = 40% of swallowing time, and T3 = swallowing time) were identified. These three times corresponded to the first manipulations of the product in the mouth (T1), the swallowing time (T3) measured with TDS, and an intermediary time (T2). The latter time was chosen from TDS profiles and corresponds to the time when clear differences between the three breads were observed for both CO and CC samples. The three times were calculated for each panelist. To simplify the experiments, the mean swallowing time per subject of the three breads was used. This simplification was possible because the swallowing time

differences between the three breads (standard deviation between 1 and 5 s) were on the same order of magnitude as the precision that was possible to obtain at each key time. Nevertheless, the swallowing times of crumb samples were different from the ones of crumb with crust samples. So, we defined two swallowing times for each panelist: one for the CO samples and one for the CC samples (Jourdren *et al.*, 2016a).

#### 2.2.5. Progressive Profiling (PP)

Eight panelists were selected from the TDS panel to perform progressive profiling (four women and four men, with an average age of  $28.9 \pm 4.2$  years), based on their motivation and availability. They performed seven supplementary training sessions, which focused on the ability to evaluate sensory intensities of attributes at discrete times of oral processing with a linear unstructured scale. After the generation and selection step, seven texture attributes were selected for PP evaluation of crumb samples and eight texture attributes were selected for crumb with crust samples (Table III.2-1). Each of these attributes was evaluated at the three stages of oral processing for the six samples using Fizz Acquisition software (Version 2.47A, Biosystemes, France). Individual timers were used to indicate to panelists when they had to spit out and to score the perception of the tested product. During a session, panelists evaluated each of the three breads (samples of crumb with and without crust) at one randomly chosen time (T1, T2 or T3), in monadic sequential presentation. In total, nine sessions of 45 min were performed to evaluate the three breads (six samples: three crumb samples and three crumb with crust samples) at the three times and in triplicate.

At the end of the progressive profiling assessment, the panel performances were validated in terms of global and individual homogeneity, discrimination ability and repeatability, using XLStat software (Version 2010.4.02, Addinsoft, France).

### **2.3. Instrumental characterization of bread and bolus**

#### 2.3.1. Breads

Physicochemical, structural and textural characterizations of breads (with and without crust) were previously determined (Jourdren *et al.*, 2016a). Water content and water-absorbing capacity (WAC) of crumb samples with and without crust were calculated from dry matter measurements. The water-adsorbing capacity is the ratio between the maximal amount of water that is absorbed by the sample, and the dry matter content of the sample. Bread density was measured with the rapeseed displacement method (AACC, 2000). Crumb firmness was measured from compression tests performed on crumb cylinders (h: 2.5 cm, d: 3.0 cm) from three different batches with a TA.XT plus Texture Analyser (Stable Micro System, UK). Crust thickness was estimated by visual discrimination of colors (Jourdren *et al.*, 2016a), using ImageJ software (Version 1.48v, National Institutes of Health, USA).

#### 2.3.2. Expectorated boli

All the instrumental data on bolus properties are coming from the article of Jourdren *et al.* (2016a). The eight panelists from the PP evaluation participated in sessions for bolus collection. They performed individual sessions of 30 min, during which the bolus of one bread (B1, B2 or B3) and one condition (crumb or crumb with crust) was sampled at the three stages of oral processing (T1, T2 and T3). Particle number, particle size and heterogeneity of particle size were characterized by image

analysis. Water content, hydration rate (amount of saliva that was incorporated in the bolus), amylase activity and percentage of in-mouth residues were calculated from dry matter measurements. Hardness, adhesiveness and cohesiveness parameters were obtained from Texture Profile Analysis (TPA).

## 2.4. Statistical analyses

Statistical analyses were carried out with Fizz Traitement software (Version 2.47A, Biosystemes, France), XLStat software (Version 2010.4.02, Addinsoft, France) and R software (Version 2.15.2, free software).

### 2.4.1. Instrumental data analyses

Because of the small size of the dataset (3 breads x 3 repetitions), Kruskal-Wallis non-parametric tests were performed on bread properties. A significant level of  $p < 0.10$  was chosen, also due to the small size of the dataset.

### 2.4.2. Sensory data analyses

Dominance rates were calculated from TDS data: for each given point in time, the citation rate of an attribute was calculated for the totality of panelists, and gave the dominance rate (in percent). These proportions, smoothed using the Bézier procedure of Fizz Traitement software, were plotted against normalized time (0 = start of mastication and 100 = end of perceptions). The curves of all the attributes were gathered on the same graph. The "chance level" line, which represents the dominance rate that an attribute can reach by chance, and the "significance level" line, which is the smallest dominance rate significantly different from the "chance level" ( $p < 0.05$ ) were added to the graph (Pineau *et al.*, 2009).

The data do not follow a normal distribution when the three times were put together. So, instead of a repeated measure ANOVA, a Friedman non-parametric test was performed on attribute intensities from Progressive Profiling to study the differences of perception between the three oral processing times (T1, T2 and T3). A significant level of  $p < 0.05$  was chosen. The intensities of the PP attributes at each key time were then transformed into logarithms, square roots or arc sines to obtain normally distributed data. ANOVAs ( $p < 0.05$ ) were also performed on PP data (T1, T2 and T3 separately) with a multiple comparison test (Fisher's LSD test).

### 2.4.3. Statistical models to explain sensory data from instrumental properties

Multiblock Partial Least Squares (MB-PLS) regressions (Chiang, Wang, & McKeown, 2012; Wold, Kettaneh, & Tjessem, 1996) were carried out for all samples together (CO + CC) to explain PP intensities (Y-variables) by bread and bolus properties (X-variables) at the three times of oral processing. The Y-variables were the six common sensory attributes between crumb samples and crumb with crust samples. The X-variables were split into four blocks: the textural properties of bolus derived from TPA (X1); the hydration properties of bolus derived from dry matter measurements (X2); the structural properties of bolus derived from image analysis (X3); and the bread properties (X4). Each block was iteratively decomposed into a sum of  $k$  components. Each component is the product of a score  $r$  and a loading vector  $p$ . All scores  $r$  are reassembled in a super-block  $R$ , which is then treated as the predictor block in the regular PLS2. The loading vector associated to the



superblock R gives us the importance of the different blocks X in the prediction of the response variables. The quality of the regression was judged according to the  $R^2$  value ( $R^2 > 0.50$ ). The regression coefficients for X-variables were tested for their significance using a jack-knife procedure ( $p < 0.05$ ).


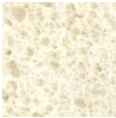




### 3. Results

#### 3.1. Bread properties

As shown in a previous study (Jourden *et al.*, 2016a), the three breads presented different structural properties (Table III.2-2). The bread B1 was characterized by a higher density, a firmer crumb and a thicker crust than the others. Its crumb was heterogeneous and composed of large air cells. The bread B2 was characterized by a low density. The crumb of bread B2 was soft and composed of small air cells distributed homogeneously. This bread was also characterized by a high water-absorbing capacity (WAC) for both crumb and crumb with crust samples. The bread B3 had an intermediary density, a firm crumb and a thin crust. The crust of bread B3 also had a higher capacity to absorb water (WAC of crumb with crust  $>$  WAC of crumb) than the other breads (WAC of crumb with crust  $<$  WAC of crumb).

**Table III.2-2: Instrumental characterizations and visual aspect of B1, B2 and B3 breads (mean  $\pm$  standard deviation).**

Density was measured on whole bread (crumb and crust). Water content and water-absorbing capacity were measured on whole bread and on crumb. Young's modulus characterized the firmness of the crumb. Letters A and B indicate means that significantly differ between breads at  $p < 0.10$  (Kruskal-Wallis test).

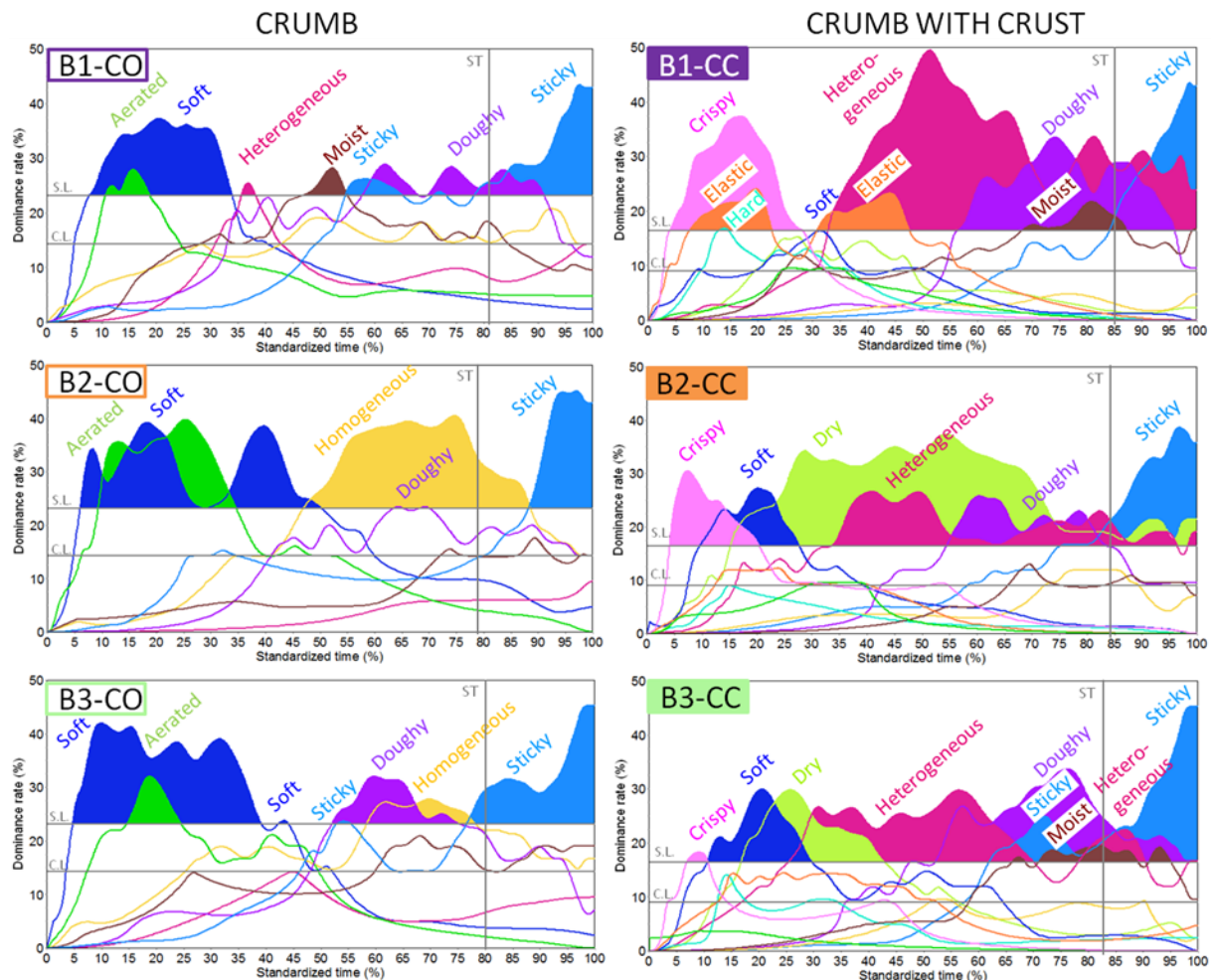
Product			B1		B2		B3	
Bread	Density	-	0.25 $\pm$ 0.02	B	0.16 $\pm$ 0.01	A	0.22 $\pm$ 0.01	AB
	Water content	<i>g/100 g of bread</i>	37.2 $\pm$ 1.9	B	33.4 $\pm$ 1.4	A	37.2 $\pm$ 0.9	B
	Water-Absorbing Capacity	<i>g of water/g of DM</i>	4.9 $\pm$ 0.2	A	8.2 $\pm$ 0.3	B	6.6 $\pm$ 0.1	AB
Crumb	Young's modulus	<i>kPa</i>	7.7 $\pm$ 1.7	B	3.3 $\pm$ 0.3	A	6.9 $\pm$ 1.1	B
	Water content	<i>g/100 g of crumb</i>	51.6 $\pm$ 0.3	B	49.1 $\pm$ 0.2	A	50.7 $\pm$ 0.2	AB
	Water-Absorbing Capacity	<i>g of water/g of DM</i>	5.9 $\pm$ 0.3	A	12.5 $\pm$ 0.5	B	6.1 $\pm$ 0.2	AB
	Visual aspect	-						
Crust	Crust thickness	<i>mm</i>	1.07 $\pm$ 0.17	A	1.03 $\pm$ 0.28	A	0.82 $\pm$ 0.13	A
	Visual aspect	-						



### 3.2. Temporal Dominance of Sensations (TDS)

The dynamics of the dominant sensations of the six samples (three breads, B1, B2 and B3, and two modalities, crumb only (CO) and crumb with crust (CC)) were established by the method of Temporal Dominance of Sensations (Figure III.2-1). Perception sequences differed between samples.

In the case of samples with crumb only (CO samples), the three breads had common sequences at the beginning and at the end of oral processing. The "softness" and "aerated" attributes were perceived to be dominant in the first seconds after introducing samples into the mouth. Just before swallowing, the "doughy" attribute was perceived to be dominant for all breads, whereas, "stickiness" was perceived to be dominant after swallowing. The three breads could be distinguished by different dominant attributes during the intermediate period of oral processing. For this specific period, the bread B1 had a successive dominance of "heterogeneousness", "moistness" and "stickiness" attributes. The bread B2 was only characterized by one specific dominant attribute ("homogeneous"). The bread B3 was characterized by a dominance of the "stickiness" and "homogeneousness" attributes.



**Figure III.2-1: Dominance rate of crumb samples (left: CO = Crumb Only) or crumb with crust samples (right: CC = Crumb with Crust) during consumption obtained by TDS for texture evaluation.** Time was normalized (% of perception time). S.L. = significance line, C.L. = chance line, S.T. = mean swallowing time. B1 = French baguette with a coarse crumb, B2 = French baguette with a thin crumb, and B3 = French baguette with an intermediary crumb.

With the presence of crust (CC samples), the temporal sequences of dominance increased in complexity. Once again, common sequences were observed at the beginning (dominance of "crispiness" and "softness") and the end (dominance of "heterogeneous", "doughy" and "sticky" attributes) of the oral processing. However, the attributes were different from the ones considered to be dominant for CO samples. Concerning product specificities, results showed that "hardness" and "elasticity" attributes appeared to be dominant at the beginning for the bread B1. During the intermediate period of oral processing, the bread B1 was characterized by a dominance of "elasticity", whereas "dryness" was the dominant attribute for the breads B2 and B3. Just before swallowing, the "moistness" attribute was perceived as being dominant for the bread B1, and "moist" and "sticky" were the dominant attributes for the bread B3.

The TDS swallowing time of each panelist was comprised between 18 and 41 s for crumb samples, and between 25 and 50 s for crumb with crust samples. In both case, the standard deviation on the swallowing time within repetitions was about 3 s for all panelists, which shows the good subject repeatability.

### 3.3. Progressive profiling (PP)

With progressive profiling, the intensities of all attributes were evaluated at three stages of oral processing (T1 = 10%, T2 = 40% and T3 = 100% of TDS swallowing time).

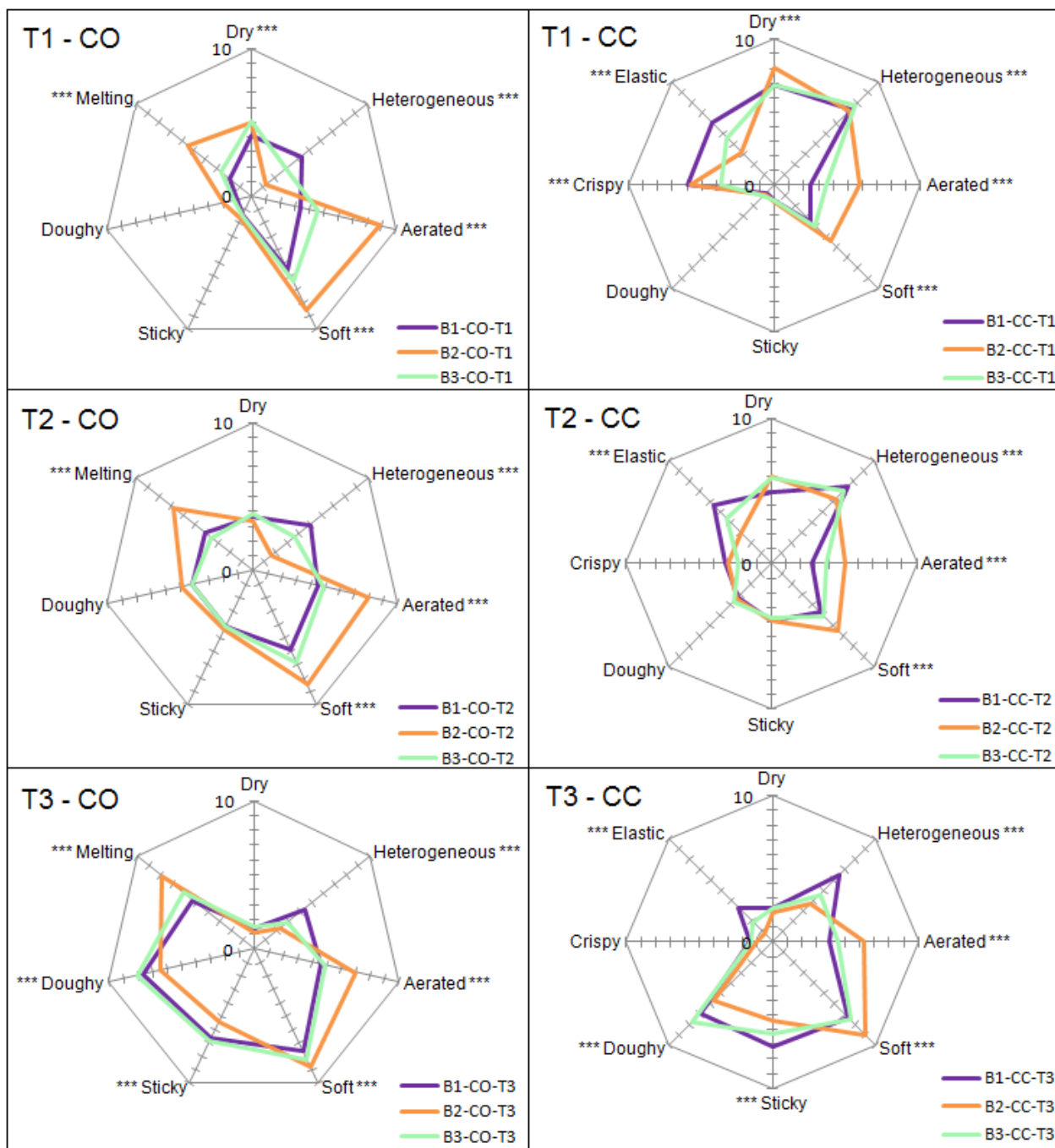
Results showed that the variation over time of sensory intensities was different depending on texture attributes (**Table III.2-3**). For example, the CO and CC samples were perceived to be increasingly "soft", "doughy" and "sticky", and less "dry" over mastication time ( $p < 0.0001$ ). The variation over time was also dependent of the presence of crust. The "heterogeneous" attribute varied slightly for CO samples ( $p = 0.008$ ), but decreased by 35% for CC samples ( $p < 0.0001$ ). The CC samples were perceived to be less and less "crispy" and "elastic" over mastication time ( $p < 0.0001$ ), and the CO samples, more and more "melting" ( $p < 0.0001$ ). Some differences were observed between breads for the variations over time of the attributes "soft", "aerated" and "heterogeneous". The B2-CO sample was different from the others: the "softness" was constant, the "aerated" attribute decreased and the "heterogeneousness" increased over mastication time (**Figure III.2-2**).

**Table III.2-3: Variations of averaged attribute intensities perceived over time. Mean (M) and error to the mean (SE) of texture attributes for each time of oral processing for (a) the CO samples and (b) the CC samples of the three breads.**

Letters A, B, and C indicate means that significantly differ between times at  $p < 0.05$  (Friedman test). NS= non significant.

Attribute	Probability	Variation over time	T1		T2		T3				
			M	SE	M	SE	M	SE			
<b>a) CO samples</b>											
Aerated	0.288	NS	5.6	0.3	A	5.8	0.3	A	5.5	0.3	A
Heterogeneous	0.008	↗↘	2.8	0.3	A	3.4	0.3	B	3.2	0.3	AB
Dry	< 0.0001	↘	4.7	0.2	C	3.6	0.2	B	1.4	0.2	A
Soft	< 0.0001		6.9	0.2	A	7.1	0.2	A	8.2	0.2	B
Melting	< 0.0001		3.3	0.3	A	4.8	0.4	B	6.4	0.3	C
Doughy	< 0.0001	↗	1.4	0.2	A	4.4	0.3	B	7.4	0.3	C
Sticky	< 0.0001		1.6	0.2	A	4.2	0.3	B	6.3	0.3	C
<b>b) CC samples</b>											
Crispy	< 0.0001		5.1	0.3	C	2.8	0.3	B	1.3	0.2	A
Elastic	< 0.0001	↘	4.6	0.3	B	4.3	0.3	B	2.0	0.3	A
Dry	< 0.0001		7.3	0.2	C	5.6	0.2	B	2.2	0.2	A
Heterogeneous	< 0.0001		7.5	0.3	C	7.0	0.2	B	4.9	0.3	A
Soft	< 0.0001		4.3	0.2	A	5.5	0.2	B	7.9	0.2	C
Aerated	0.001	↗	4.0	0.3	A	3.9	0.2	A	4.9	0.3	B
Doughy	< 0.0001		0.9	0.2	A	3.5	0.3	B	6.8	0.3	C
Sticky	< 0.0001		1.1	0.2	A	3.8	0.3	B	6.3	0.3	C

Differences between CO and CC samples were observed at given times (**Figure III.2-2**). At the beginning of mastication, the CC samples were significantly perceived as being less "sticky" (at T1) and less "soft" (at T1 and T2) than the CO samples ( $p < 0.001$ ). The CC samples were perceived as being less "doughy" ( $p < 0.05$ ), drier ( $p < 0.001$ ), less "aerated" ( $p < 0.001$ ) and more "heterogeneous" ( $p < 0.001$ ) at every stage of oral processing.



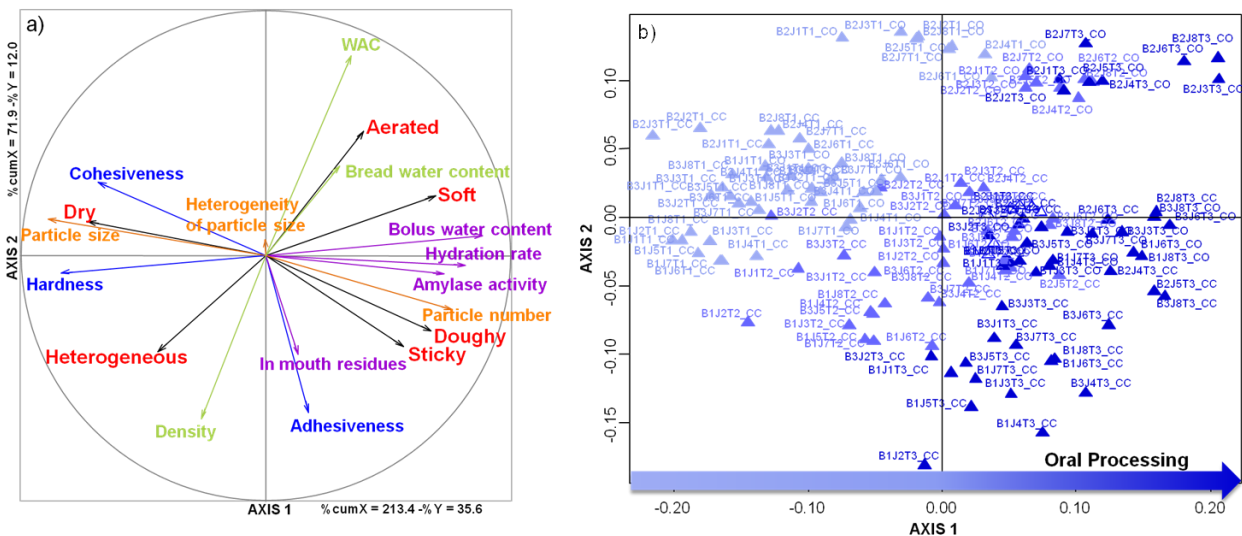
**Figure III.2-2: Means of perceived intensities for all attributes (dry, heterogeneous, aerated, soft, sticky, doughy, melting, crispy, and elastic) at the three times of oral processing for crumb samples (left charts: CO = Crumb Only) and crumb with crust samples (right charts: CC = Crumb with Crust).** Stars indicate a significant bread effect with a probability of  $p < 0.001$  (three-way ANOVAs). B1 = French baguette with a coarse crumb, B2 = French baguette with a thin crumb, and B3 = French baguette with an intermediary crumb.

Differences between breads were perceived for all attributes at given times (**Figure III.2-2**). At the beginning of mastication, the three breads were distinguished by differences in "dryness" and "crispiness" perception. For CO samples, the breads B2 and B3 were perceived to be drier than bread B1. For CC samples, the bread B3 was perceived as being less "crispy" than the other breads at T1. While all of the breads were perceived with dominant "softness" perception at the beginning of

mastication (TDS), the intensities of these attributes varied between breads at the three oral processing times ( $p < 0.001$ ) (PP). For CC and CO samples, the bread B2 was perceived as the "softest" one. Differences in "stickiness" and "doughy" perceptions were only observed between breads at swallowing time. The bread B2 was then considered as the least "sticky" and "doughy" bread, with or without crust. At every stage of oral processing, the bread B1 was perceived as the most "dense", "heterogeneous" bread, with the most "elastic" crumb and crust. The bread B2 was perceived as being more "aerated" and "homogeneous" than the other breads, with a crumb with a higher "melting" texture.

### 3.4. Statistical model to explain texture perception for CC and CO samples during consumption from instrumental data

The six sensory attributes (Y-variables), common to crumb and crumb with crust samples, were related to the bread and bolus properties (X-variables) through MB-PLS (Figure III.2-3.a and III.2-4.a). As described in the Material and Methods section, four blocks were considered in the MB-PLS: bolus texture properties (X1-block), bolus hydration properties (X2-block), bolus structure properties (X3-block) and bread properties (X4-block). The three first dimensions of the developed model explained 50.6% of the variability of the Y-variables. The first axis separates the three studied stages of the oral processing (Figure III.2-3.b). The second axis separates the three breads, while the third axis separates the CO samples from the CC samples (Figure III.2-4.b).



**Figure III.2-3: Correlation circle (a) and graphical representation of the products (b) for axes 1 and 2 from MB-PLS regression between Progressive Profiling data (Y-variables, in red) and the following X-variables: bolus texture properties (X1-block, in blue), bolus hydration properties (X2-block, in violet), bolus structure properties (X3-block, in orange) and bread properties (X4-block, in green). WAC: Water-Absorbing Capacity, % cum X: Cumulative percentage of the X-variables, CO: Crumb Only, CC: Crumb with Crust, B1: French baguette with a coarse crumb, B2: French baguette with a thin crumb, and B3: French baguette with an intermediary crumb.**





## 4. Discussion

### 4.1. Assessment of TDS and PP methods to explain sensory perceptions from instrumental data

In the literature, the TDS method has been used more often than the PP method to describe the changes in texture perceptions during oral processing (Cheong *et al.*, 2014; Laguna *et al.*, 2013; Lenfant *et al.*, 2009). However, to our knowledge, there are no studies that attempt to statistically predict TDS from instrumental measurements because of the difficulty to establish links between dominance, which is a global score for the panel, and individual instrumental characteristics of boli.

With the TDS method, the panelist has to choose "the attribute that most triggers attention" at a point in time (Lenfant *et al.*, 2009). This selected attribute is not necessarily the one with the highest intensity (Pineau *et al.*, 2009). In fact, TDS and PP are based on two different concepts. Dominance is based on a decision process that leads to the selection of the key sensations, but with the risk of losing information on non-selected attributes, or with the risk of halo-dumping (Thomas-Danguin, Sinding, Tournier, & Saint Eve, 2016). Intensity is a less intuitive concept than dominance. Panelists need practice to learn the lowest and highest references of each attribute. Once these notions are acquired, a comparison process is used to locate the products on a scale between these two bounds.

Despite the fact that the two methods do not evaluate the same parameters (dominance rate for TDS and intensity for PP), they provide coherent and complementary results, as already mentioned in previous works (Devezeaux de Lavergne, van Delft, van de Velde, van Boekel, & Stieger, 2015a; Labbe, Schlich, Pineau, Gilbert, & Martin, 2009). Both the TDS and the PP methods revealed that the texture perceptions of breads varied during consumption and between products. For example, in the present study, the "elastic" attribute was perceived to be dominant for the B1-CC sample alone, which was also perceived as the most "elastic" sample with the PP method.

As sensory intensities are easier to relate to instrumental data than dominances, a MB-PLS model was built using sensory data from the PP method to explain texture attributes on the basis of bread and bolus properties.

### 4.2. Role of bread and bolus characteristics in texture perception

The three first dimensions of the model made it possible to explain 51% of the variability of the texture attributes. This  $R^2$  value is considered as sufficient to draw conclusions considering the large number and the wide variability of the data. Besides, it is on the same order of magnitude as the ones found in the literature (Feron *et al.*, 2014).

The structure of the dataset (2 blocks: CO-samples and CC-samples) could have minimized the differences between products within a same block, because of the large differences observed between both blocks. Such a structure of dataset (6 samples) was more statistically robust than the two separated blocks (2 x 3 samples), and has already been observed in literature, as for example, gels with and without contrasting mechanical properties (Devezeaux de Lavergne *et al.*, 2016). But, despite this drawback, interesting results were highlighted.

4.2.1. Ranking of the blocks by MB-PLS

Thanks to the model, we were able to quantify the impact of bolus properties on the temporal variations of texture perceptions. This high impact can be explained by the evolution of breads through the oral processing (axis 1 of MB-PLS; **Figure III.2-3**). Among bolus properties, hydration and texture parameters had the greatest influence on the variations of texture perceptions (**Figure III.2-5**). Therefore, for a soft solid food like bread, the capacity to absorb saliva modified texture perceptions much more than structure breakdown into small particles. This result was also suggested by *Young et al. (2013)* in the case of biscuit consumption, but was not clearly demonstrated. A recent study on bread bolus properties (*Le Bleis, Chaunier, Montigaud, & Della Valle, 2016*), nevertheless showed that the hydration rate of the bolus could be related to the particle size and the theoretical amount of saliva in the mouth, suggesting that the structure of the bolus could control its hydration during oral processing.

4.2.2. Sensory attributes affected by oral processing: "dry", "soft", "doughy" and "sticky"

"Dry", "soft" and "doughy" perceptions can be significantly explained by bread and bolus properties, as shown by the results of the MB-PLS ( $R^2 > 0.50$ ; **Table III.2-4**). The variations of "dryness" perception during consumption were mainly explained by the variations in bolus hardness, bolus water content, bread water content, bolus particle size and bolus hydration rate ( $p < 0.001$ ). The bolus water content was one of the most influential parameters on "dryness" perception, as illustrated by the 33%-contribution of the hydration block X2 to the first axis (the most correlated with the "dry" attribute). It was shown in the literature that the capacity of bread to absorb water and the amount of added saliva played a key role in the bolus water content at swallowing (*Jourdren et al., 2016a; Motoi et al., 2013*). However, it seemed that only the amount of added saliva (bolus hydration rate) had a direct impact on the "dryness" perception.

**Table III.2-4: Regression coefficients obtained by MB-PLS between texture attributes (Y-variables) and bolus and bread properties (X-variables).**

The significance of the regression coefficients was calculated using a jack-knife procedure.

Dark gray cells:  $p < 0.001$ ; Gray cells:  $p < 0.01$ ; Light gray cells:  $p < 0.05$ ; White cells: non significant.

Blocks	Parameters	Dry	Soft	Doughy
<b>X1: Bolus texture properties</b>	Hardness	4.182	-2.868	-2.909
	Adhesiveness	-2.559	-0.554	3.058
	Cohesiveness	2.121	-1.479	-3.085
<b>X2: Bolus hydration properties</b>	Bolus water content	-4.007	2.879	2.548
	In-mouth residues	0.521	-0.295	0.965
	Hydration rate	-2.343	2.184	2.334
	Amylase activity	-1.005	1.858	1.683
<b>X3: Bolus structure properties</b>	Particle size	3.266	-2.381	-3.554
	Heterogeneity of particle size	1.808	0.201	-0.655
	Particle number	-1.346	1.840	2.412
<b>X4: Bread properties</b>	Density	-1.994	-2.814	1.840
	Bread water content	-3.628	2.212	0.592
	Water-Absorbing Capacity	0.439	3.584	-1.529



The variations in "softness" were mainly explained by the variations in the water-absorbing capacity of bread, bolus hardness, bolus water content and bread density ( $p < 0.001$ ). This suggests that the TPA measurements on bolus were good parameters to explain "softness", but not sufficient. The "soft" attribute was perceived to be more intense when the bolus had a high water content and when the bread had a high water-absorbing capacity. Thus, in the case of moisture-absorbing solid foods like bread, the role of saliva is not only to lubricate the food but also to soften its texture, as highlighted by [Chen \(2014\)](#).

The "doughy" perception was defined as "with the consistency of a soft and thick dough". The variations in the "doughy" attribute were thus mainly explained by the variations in bolus hardness, adhesiveness and cohesiveness and in bolus particle size over consumption ( $p < 0.001$ ). This attribute thus revealed the degree of breakdown of the bread in the mouth.

The model to explain "stickiness" perception was not significant. However, interesting results could be observed. At swallowing time, the bread B2 was perceived as the least "sticky". Moreover, the TDS curves showed that all breads were perceived as being "sticky" after swallowing, but dominance duration was not the same for all breads. The bread B2 had the shortest dominance duration for "stickiness" (4.2 s and 7.4 s for crumb and crumb with crust samples, respectively). This bread was also the most hydrated at swallowing time ([Jourdren et al., 2016a](#)). The low "stickiness" dominance of bread B2 could thus be explained by the saliva action, which prevented the adhesion of the bolus to the mouth mucosa and to the teeth ([Lucas et al., 2002](#)).

This work could potentially help in designing new products easier to swallow ("softer", more hydrated and less "sticky"), for example for patients suffering dysphagia or xerostomia (dry mouth).

#### 4.2.3. Sensory attribute affected by the different structures of breads: "aerated"

Even if no significant model was observed for the attribute "aerated", interesting results were obtained for this attribute. "Aerated" perception was most highly correlated with the second axis of the PLS, which was mainly explained by the bread properties (69% contribution). At each studied moment of oral processing, the three breads were classified in the same order for the "aerated" attribute as for their densities. Denser bread was thus perceived as being less "aerated" throughout oral processing.

#### 4.2.4. Sensory attributes affected by the presence of crust: "heterogeneous" and "crispy"

The perception of "heterogeneousness" was higher in the case of CC samples than CO samples (**Figure III.2-2**). In addition, this attribute was perceived to be dominant in the CC samples during most of the bread consumption time (Fig. 1). The study of the bolus properties ([Jourdren et al., 2016a](#)) showed that the presence of crust had a high impact on the heterogeneity of the particle size in the bolus. The CC samples were composed of both large and small particles, while the particle size in CO samples was more homogeneous. This bolus property could explain why CC samples were perceived as being more "heterogeneous".

As expected, the CC samples were perceived to be "crispy" due to the presence of crust. The bread B3 was perceived as the least "crispy" in PP and had the shortest dominance of "crispy" in TDS. In the literature ([Hirte, Primo-Martín, Meinders, & Hamer, 2012](#)), it has been shown that the crispiness (instrumental) of a bread was more impacted by crust properties than by crumb morphology. We can

thus assume that crust properties had a major impact on "crispy" perception. Therefore, the low "crispiness" perceived in the bread B3 could be due to its thin crust (30% less thick than the others) and to the higher capacity of its crust to absorb water (**Table III.2-2**). This result could be helpful to design breads with sensory contrasts. As an example, more crispy breads could be design by controlling the crust permeability to water.

## 5. Conclusions

The aim of linking a sensory dataset to bread and bolus properties was to provide a better understanding of the texture perception of breads.

A multiblock regression model made it possible to highlight the respective contribution of bread and bolus properties on texture perceptions. The kinetics of sensory attribute variation during food consumption were more highly impacted by the variations in bolus properties than by the initial characteristics of the breads. This study confirmed that oral processing is a key process to better understand texture perceptions. The use of MB-PLS enabled the identification of the contributions of bolus hydration and texture properties (and not so much their structure properties) on texture perceptions. Since hydration seems to be a key parameter to explain the texture perception of bread during oral processing, a better understanding of the links between bread structure and hydration mechanisms could be necessary.

To conclude, this study proposes an original statistical methodology to better understand the different mechanisms that occur in texture perceptions. This work could help in the formulation of new products with targeted texture perceptions, as for example, softer bread, easier to swallow, for patients suffering dysphagia or xerostomia.

## Acknowledgements

The authors would like to acknowledge Lesaffre International for their financial support. David Forest is gratefully thanked for his technical support. Camille Dupuy, Guy Della Valle and Elisabeth Guichard are gratefully acknowledged for their fruitful discussions. Finally, the authors would like to thank Gail Wagman for her precious help in proofreading the English.

**Principaux résultats à retenir (Article 2)**

Les résultats ont confirmé que les perceptions de texture des pains étaient dynamiques et multidimensionnelles. L'évolution des attributs « mou », « sec », « pâteux » et « collant » est plus influencée par les modifications des propriétés des bols au cours du processus oral que par les propriétés initiales des pains. Parmi les propriétés des bols, l'importance des propriétés d'hydratation et de texture des bols par rapport à leur structure (fragmentation en particules) a été mise en évidence par la méthode de PLS-Multi Blocs. Par ailleurs, la perception « aérée » semble être plutôt influencée par la structure initiale de la mie, alors que les attributs « hétérogène » et « croustillant » sont impactés par la présence de croûte.

### **III.3. Impact de la structure du pain, de sa composition aromatique et du processus oral sur les perceptions aromatiques et leur évolution au cours de la consommation**

#### III.3.1. Contexte, objectifs et démarche de l'article 3

Suite aux deux premières parties de ce chapitre, portées sur les variations de structure et de texture des pains et des bols au cours du temps, les résultats relatifs aux propriétés et perceptions d'arôme sont présentés dans les parties III.3 et III.4.

A l'instar des perceptions de texture, les perceptions aromatiques perçues par voie rétronasale sont complexes et dynamiques. Elles dépendent à la fois de l'aliment consommé (quantité et qualité des composés d'arômes présent dans le produit, structure de celui-ci et interactions physico-chimiques impliquant les composés d'arômes avec les différents composés de la matrice alimentaire) mais également des mécanismes liés au processus oral de celui-ci comme la mastication et l'incorporation de la salive. Dans le but de mieux comprendre les perceptions aromatiques et leurs dynamiques au cours de la consommation du pain, nous avons souhaité caractériser, dans un premier temps, les empreintes aromatiques de l'espace de tête au-dessus des échantillons de pains, et de bols à différents temps du processus oral, avant d'aller plus loin en suivant, en condition *in vivo*, des composés marqueurs identifiés pendant la première phase.

Dans ce contexte, les objectifs de la présente étude étaient de i) mieux comprendre le rôle du processus oral dans la libération des composés organiques volatils et ii) d'identifier les impacts respectifs de la structure et de la composition aromatique initiale des pains sur les dynamiques de perceptions aromatiques.

Pour y parvenir, nous avons d'abord caractérisé les compositions initiales en molécules volatiles des échantillons de mie avec ou sans croûte des 3 pains Lesaffre, à l'aide de trois méthodes analytiques (CPG-MS couplée à une extraction SAFE, à une extraction Purge & Trap, et PTR-MS). Les perceptions aromatiques des 3 pains ont ensuite été évaluées à trois temps du processus oral (10, 40 et 100% de la durée de mastication individuelle) par 8 panélistes entraînés au profil progressif. Puis, nous avons étudié, par PTR-MS, les quantités de composés volatils libérées au-dessus des bols collectés chez ces 8 panélistes aux trois temps du processus oral. Ces quantités ont ensuite été mises en relation avec les perceptions aromatiques mesurées par profil progressif pour les échantillons de mie et croûte.

#### Paragraphe de Matériels et Méthodes associés :

- Description des pains utilisés : paragraphe II.1.1
- Caractérisation de la composition aromatique des pains : paragraphe II.5.1
- Caractérisation de la composition aromatique des bols : paragraphe II.5.2
- Description du panel : paragraphe II.2.1
- Description du profil progressif : paragraphe II.3.5
- Description des analyses statistiques réalisées : paragraphes II.5.4 et II.6.4

III.3.2. Article 3 : “Gaining deeper insight into aroma perception: an integrative study of the oral processing of breads with different structures”

*Publication n°3 parue dans Food Research International*  
Food Research International 92 (2017) 119-127

**Gaining deeper insight into aroma perception: an integrative study of the oral processing of breads with different structures**

S. Jourdren <sup>a,b</sup>, A. Saint-Eve <sup>\*a</sup>, B. Pollet <sup>a</sup>, M. Panouillé <sup>a</sup>, P. Lejeune <sup>b</sup>,  
E. Guichard <sup>c</sup>, I. Déléris <sup>a</sup>, I. Souchon <sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR GMPA, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 78850, Thiverval-Grignon, France

<sup>b</sup> Lesaffre International, 59700, Marcq-en-Baroeul, France

<sup>c</sup> UMR CSGA, INRA, CNRS, Université de Bourgogne Franche-Comté, 21000, Dijon, France

\* Corresponding author: [anne.saint-eve@agroparistech.fr](mailto:anne.saint-eve@agroparistech.fr)

---

**Abstract**

The objective of this study was to investigate for the first time the influence of bread structure, volatile compounds, and oral processing on aroma perception. 3 types of French baguette were created using the same raw ingredients but different bread-making processes; they consequently varied in their crumb and crust structures. We characterized the initial volatile profiles of two bread structural subtypes—namely bread crumb and bread crumb with crust—using proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) headspace analysis. Three types of bread were characterized by thirty-nine ion fragments from  $m/z$  45 to 139. We then conducted a study in which 8 participants scored aroma attribute intensities for the different bread types and subtypes at 3 key stages of oral processing (10, 40, and 100% of individual swallowing time). At these 3 time points, we collected boli from the participants and characterized their volatile profiles using PTR-MS headspace analysis. The results suggest saliva addition dilutes volatile compounds, reducing volatile release during oral processing. Thus, a bread with high porosity and high hydration capacity was characterized by a low volatile release above boli. We examined the relationships between 4 aroma attributes of bread crumb with crust and 24 discriminatory fragment ions found in boli headspace. This study demonstrated for the first time that the perceived aroma of crumb with crust was influenced more by volatile profiles than by crumb texture. It thus contributes to our understanding of aroma perception dynamics and the mechanisms driving volatile release during oral processing in bread.

---

## 1. Introduction

Among the different sensory characteristics, aroma is one of the most important criteria determining consumer acceptance. But, aroma perception is dynamic and complex. It is necessary to better understand the mechanisms underlying aroma perception to design food products with target aromas that correspond to consumer expectations and preferences. Aroma, which is perceived retronasally, depends on several factors linked to the food matrix (e.g., initial chemical composition, structure, and physicochemical interactions involving volatile organic compounds [VOCs]) as well as individual-specific mechanisms involved in oral processing (e.g., mastication and salivation) (Buettner & Beauchamp, 2010; Foster *et al.*, 2011; Taylor & Linforth, 1996; Wilson & Brown, 1997).

This complexity makes it difficult to predict how the different VOCs found in food are released in the mouth and contribute to aroma perception. Nevertheless, some researchers have successfully characterized the relationship between initial volatile profiles, analyzed through rapid and non-invasive techniques such as proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS), and sensory characteristics in food (Biasioli *et al.*, 2006; Heenan, Dufour, Hamid, Harvey, & Delahunty, 2009; Ting *et al.*, 2015). In one study, the PTR-MS data were used to construct a model relating volatile profiles and sensory characteristics, namely aroma perceived orthonasally and flavor, in twenty bread varieties (Heenan *et al.*, 2009). However, it is not possible to predict variation in aroma perception over the course of consumption based solely on a food's initial profile; we must also account for oral-processing dynamics.

During oral processing, food structure varies dramatically over time (Hutchings & Lillford, 1988). In the case of solid foods, food items are comminuted by mastication (Chen, 2009), increasing the surface area that can diffuse VOCs, which could thus increase their release in the oronasal cavity (Wilson & Brown, 1997). Saliva also plays a role by hydrating food items. Furthermore, saliva composition and the amount added to the bolus seem to influence the release of VOCs by the food in the mouth. Greater amounts of saliva can i) decrease volatile release in low-fat foods (e.g., French beans (van Ruth & Roozen, 2000) or starch gels (Boland, Buhr, Giannouli, & van Ruth, 2004)) or ii) increase volatile release in high-fat foods (e.g., cheeses (Doyennette *et al.*, 2011b)). In the former case, dilution is the predominant mechanism, while in the latter case, the modification of the water-to-oil ratio induces changes in the physicochemical properties (such as the partition and transfer coefficients) of the VOCs in the bolus. Saliva composition can also affect volatile release. For example, subjects with a high amount of salivary proteins present a low amount of aroma release in their nasal cavity when eating model cheeses (Feron *et al.*, 2014). In another study, Pagès-Hélary, Andriot, Guichard, & Canon (2014) showed, in model systems, that mucin and alpha-amylase interact with VOCs by hydrophobic effect, and thus impeding the release of hydrophobic compounds.

To better understand aroma perception, it may be helpful to study the underlying mechanisms operating during the oral processing of a low-fat food such as bread. Indeed, the relative part of the two conflicting mechanisms affecting volatile release in bread (i.e., the positive effect of mastication vs. the negative effect of saliva) remains poorly characterized. Bread aroma is composed of hundreds of VOCs; recently, a total of 326 were identified in the wheat-bread family (Pico, Bernal, & Gómez, 2015). These compounds are essentially formed during kneading, fermentation, and baking (Pozo-Bayón, Guichard, & Cayot, 2006b). However, only a small number (about 30) ultimately have an impact on aroma perception (Birch, Petersen, & Hansen, 2013b; Pico *et al.*, 2015; Pozo-Bayón *et al.*,

2006b). Several chemical classes are represented. Aldehydes, ketones, esters, carboxylic acids, and heterocycles such as furans, pyrroles, and pyrazines are commonly found in bread crumb and crust, but alkanes, benzenes, and sulfurs have also been observed (Pico *et al.*, 2015). In addition to its complex chemical composition, bread has a complex structure (a porous crumb surrounded by a rigid crust (Scanlon & Zghal, 2001)), which could also affect the release and perception of the VOCs contributing to aroma.

To date and to our knowledge, no study investigates the links between the VOCs released above expectorated bread bolus, collected at different stages of oral processing, and the dynamics of bread aroma perceptions. In this study, the objectives were thus as follows: i) to better understand the role of oral processing in volatile release and dynamics of aroma perception and ii) to clarify how bread structure and volatile profiles influence the dynamics of perceived aroma.




## 2. Materials and methods

### 2.1. Bread samples

In this study, we used three types of parbaked, then frozen French baguettes, which were called B1, B2, and B3 (Table III.3-1). They were manufactured by Lesaffre International (Marcq-en-Baroeul, France) using the same raw ingredients but different bread-making processes, resulting in breads with different crumb and crust structures. The main differences between the three bread-making processes are summarized in Table 1. The methodology used to characterize the three bread types has been described elsewhere (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a; Jourden, Saint-Eve, *et al.*, 2016b; Mathieu *et al.*, 2016). The breads were allowed to cool 2 h and were then used within the next 2 hours.

**Table III.3-1: The three bread types, the main characteristics of their bread making processes, and the structural properties of their crumbs.**

Young modulus and porosity, values presented in the paper of Mathieu *et al.*, 2016.

Name	Visual appearance	Amount of yeast	Fermentation time	Baking temperature	Young modulus of crumb	Porosity of crumb
		<i>g/100g of flour</i>	<i>hours</i>	<i>°C</i>	<i>kPa</i>	<i>%</i>
<b>B1</b>		0.5	15	250	7.7 ± 1.7	75.99
<b>B2</b>		3	1.75	230	3.3 ± 0.3	87.23
<b>B3</b>		3	1.33	250	6.9 ± 1.1	77.78

## 2.2. Analyses of the volatile profiles of bread crumb and crust by PTR-MS

To describe the initial volatile profiles of the bread types (B1, B2 and B3) and the bread subtypes (namely crumb only and crumb with crust), we used PTR-MS with direct headspace injection. We also used gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) coupled with two extraction methods: (a) solvent-assisted flavor extraction (SAFE) and b) purge-and-trap extraction. The GC-MS results (presented in Supplementary material section) were used to generate hypotheses regarding the origins of the fragment ions observed via PTR-MS.

Five-gram CO or CC samples were cut by knife into 1-cm squares and frozen at 80°C in glass vials. First, the samples were left at 20°C for at least 30 min (enough time to reach a core temperature of 20°C). They were then transferred to 100-mL Schott flasks, equipped with valved caps (GL 45, Duran Group, Wertheim, Germany), and stored at 20°C for one hour, during which time samples were allowed to slowly defrost and VOCs reached equilibrium between the bread and the headspace. The mass spectrometry data were collected using a high-sensitive PTR-MS apparatus (Ionicon Analytik, Innsbruck, Austria) in SCAN mode over a mass spectrum of  $m/z$  21 to 150; dwell time was 100 ms per peak. The vial valves were connected to a circuit (Lauverjat, Loubens, Délérís, Tréléa, & Souchon, 2009), which made it possible to: i) draw in ambient air for 78 s (6 cycles); ii) switch between ambient air and flask headspace; and iii) purge the headspace for 260 s (20 cycles) at a mean flow rate of 28 mL/min. The PTR-MS instrument drift tube had the following parameter settings: P = 195 Pa; T = 60°C; U = 600 V (E/N = 156 Td).

## 2.3. Analyses of boli obtained at three oral-processing stages

### 2.3.1. Panel and experimental design

Eight volunteers (4 women and 4 men; 24–37 years old) were recruited for the study based on their motivations for participating and their discrimination abilities. They gave their free and informed consent and received compensation for their participation. They were asked to not eat or drink for at least one hour before the study sessions.

Over the course of the aroma perception study, we examined the following: i) the panelists' sensory evaluation of bread aroma and texture; ii) the structural and textural properties of the panelists' expectorated boli; and iii) the volatile profiles of these boli. All measurements were performed at T1=10%, T2=40%, and T3=100% of individual swallowing time (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a) for the three bread types (B1, B2, and B3) and two bread subtypes (CO and CC).

The perceptions of bread aroma and texture were assessed separately using progressive profiling (PP). During a given study session, panelists were asked to assess 1) the aroma of the CO sample; 2) the aroma of the CC sample; 3) the texture of the CO sample; and 4) the texture of the CC sample. The boli used in the instrumental analyses of volatile profiles were collected during the PP process.

The texture-related PP results have been published elsewhere (Jourden, Saint-Eve, *et al.*, 2016b) and are not the focus of the present study. The structural and textural properties of the expectorated boli are also discussed elsewhere (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a).



### 2.3.2. Sensory assessment

The sensory analyses were carried out under the same conditions as those described in Jourden, Saint-Eve, *et al.* (2016b). Prior to the study sessions, panelists were trained in PP based evaluation over 11 sessions of 45 min. Then, during the PP sessions, they were asked to score the CO samples based on four aroma attributes and the CC samples based on seven aroma attributes over the three predefined stages of oral processing (Table III.3-2). Individual timers signaled to panelists when they had to spit out boli and score the food's attributes. In total, we performed 9 sessions of 45 min over which six foods (three bread types x two bread subtypes) were evaluated in triplicate for three oral-processing stages.

At the end of the PP sessions, we statistically assessed panel performance in terms of global and individual homogeneity, discrimination ability, and repeatability using ANOVAs (XLStat software, version 2010.4.02, Addinsoft, France).

**Table III.3-2: Aroma attributes, definitions, and related references determined by the trained panel**

Attributes	Definitions	References
<i>Crumb</i>		
Fermented	Perceived fermented flavor	4 g of highly fermented white crumb
Wet flour	Perceived wet-flour flavor	5 g of crumb mixed with 7 g of flour and 7 g of water (Evian)
Wheat	Perceived wheat flavor	1 g of milled wheat crispbread (Cracotte, LU) and 1 g of water (Evian)
Butter	Perceived butter flavor	5 g of crumb mixed with 2 g of butter
<i>Crumb with crust</i>		
Fermented	Perceived fermented flavor	4 g of highly fermented white crumb
Wet flour	Perceived wet-flour flavor	5 g of crumb mixed with 7 g of flour and 7 g of water (Evian)
Wheat	Perceived wheat flavor	1 g of milled wheat crispbread (Cracotte, LU) and 1 g of water (Evian)
Roasted cereals	Perceived roasted-cereal flavor	1 g of milled cornflakes and 1 g of water (Evian)
Grilled	Perceived grilled flavor	5 g of grilled crust (black color)
Toasted	Perceived toasted flavor	5 g of toasted bread (golden color)
Cardboard	Perceived cardboard flavor	1 g of cardboard in 10 g of water

### 2.3.3. Bolus collection and PTR-MS of expectorated boli

Expectorated boli were collected in 60-mL brown glass bottles during the PP sessions, immediately frozen using dry ice to avoid bolus degradation, and stored at -80°C. Bolus collection was performed in triplicate for the three oral-processing stages.

The boli were then analyzed in vitro using PTR-MS (Ionicon Analytik, Innsbruck, Austria) as described in section 2.2.

## 2.4. Data analysis

Statistical analyses were carried out using XLStat software (version 2010.4.02, Addinsoft, France).

#### 2.4.1. Analysis of the PTR-MS data

Prior to the analysis, all the PTR-MS values were corrected for the fragment ion transmission rates. We chose to exclude fragment ions with a mass of less than  $m/z$  45, because these small fragments are generally shared by a large number of VOCs (Buhr, van Ruth, & Delahunty, 2002). Water and ethanol clusters as well as isotopologs were also excluded. The AUC for each retained fragment ion was then used in further analyses. These values were divided by the amount of intake air (mL) to account for variation in flow rate. For the initial bread profiles, these data were also corrected by bread volume to account for differences in porosity.

For the dataset of initial profiles, we performed ANOVAs ( $p < 0.05$ ) followed by comparison tests (Fisher's LSD). For the dataset of bolus profiles, we performed discriminant analyses (DAs). The effects of bread type, bread subtype, oral-processing stage, panelist and replicate number were studied. Then, a stepwise DA (bread type x bread subtype) was used to determine which fragment ions could at best discriminate the 6 products ( $p < 0.05$ ).

#### 2.4.2. Analysis of attribute scores

We performed a Friedman non-parametric test ( $p < 0.05$ ) on the attribute scores to study differences in perceived aroma among the three oral-processing stages (T1, T2, and T3). The scores were log- or square-root-transformed to obtain normal distributions for each stage separately. We then carried out stage-specific ANOVAs ( $p < 0.05$ ) followed by comparison tests (Fisher's LSD).

#### 2.4.3. Relationship between attribute scores and volatile profiles

To examine the relationship between the attribute scores and volatile profiles (i.e., from expectorated boli analyzed via PTR-MS), we calculated mean values for the eight participants and three replicates. The PTR-MS data for each oral-processing stage were cumulated ( $T1'=T1$ ;  $T2'=T1+T2$ ;  $T3'=T1+T2+T3$ ) to approximate total volatile release in the mouth. Indeed, at T3, VOCs released at T1 and T2 would still be present in the oronasal cavities. We used principal components analyses (PCAs) to examine the volatile profiles of the CC samples; we focused on the 24 fragment ions highlighted as discriminatory by the stepwise DA (bread type x bread subtype). Aroma attributes with significant bread type effect were included as supplementary variables.

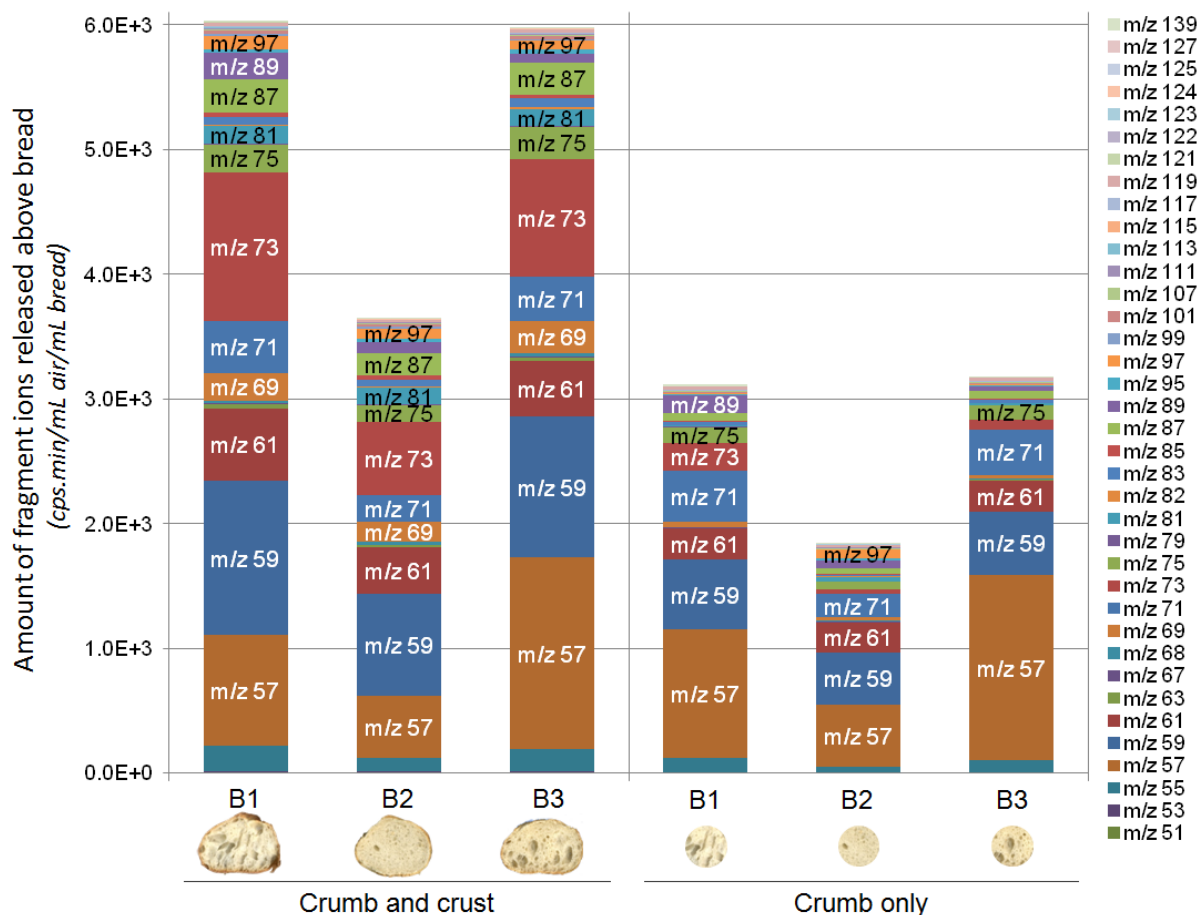
### **3. Results**

#### **3.1. Initial fragment ion profiles of bread types and subtypes: PTR-MS results**

The VOCs present in the headspace above the CO and CC samples were characterized using PTR-MS. Thirty-nine fragment ions ( $m/z$  45 to 139) were detected. About 95% of the headspace signal was composed of fragment ions  $m/z$  47 (85%) and 45 (10%), which are related to ethanol and acetaldehyde, respectively (Lindinger *et al.*, 2008; Makhoul *et al.*, 2014). Ethanol is the main product when yeasts metabolize the carbohydrates present in flour, while acetaldehyde is formed during both secondary fermentation and Strecker degradation. The composition of the remaining 5% of the headspace is represented in **Figure III.3-1**. Levels of fragment ions were two times higher in the CC samples than in the CO samples, regardless of bread type. Levels were lowest for B2, for both CO and

CC samples. The fragment ions  $m/z$  57, 59, 61, 69, 71, 75, 81, 87, and 97 were present in the greatest amounts in CC samples, while the fragment ions  $m/z$  57, 59, 61, 71, 73, and 75 were the main constituents of CO samples. B1 had greater amounts of the fragment ions  $m/z$  73 and 89 than did the other bread types.

Conversely to classical GC-MS, there is no molecule separation in PTR-MS. However, one can tentatively identify fragment ion peaks, using data from the literature and by measuring pure standards (Biasioli *et al.*, 2006). The relationships between VOCs and certain fragment ions will be addressed in **subsection 3.3**.



**Figure III.3-1: Stacked bar graph of the mean areas under the curve (AUCs) of each detected fragment ions (except for  $m/z$  45 and 47; i.e. representing 5% of the headspace) for the three bread types (B1, B2 and B3) and two bread subtypes (crumb and crust and crumb only).**

### 3.2. Aroma perception and volatile release at three key stages of oral processing

#### 3.2.1. Assessment of aroma via progressive profiling

The results show that attribute scores varied differently over time and these variations depended on sample subtype (Table III.3-3). CO samples were perceived as having significantly more wet-flour and wheat notes over time ( $p < 0.001$ ). CC samples were perceived as having significantly more fermented, wet-flour, wheat, and cardboard-like notes over time ( $p < 0.01$ ). Certain attributes, such

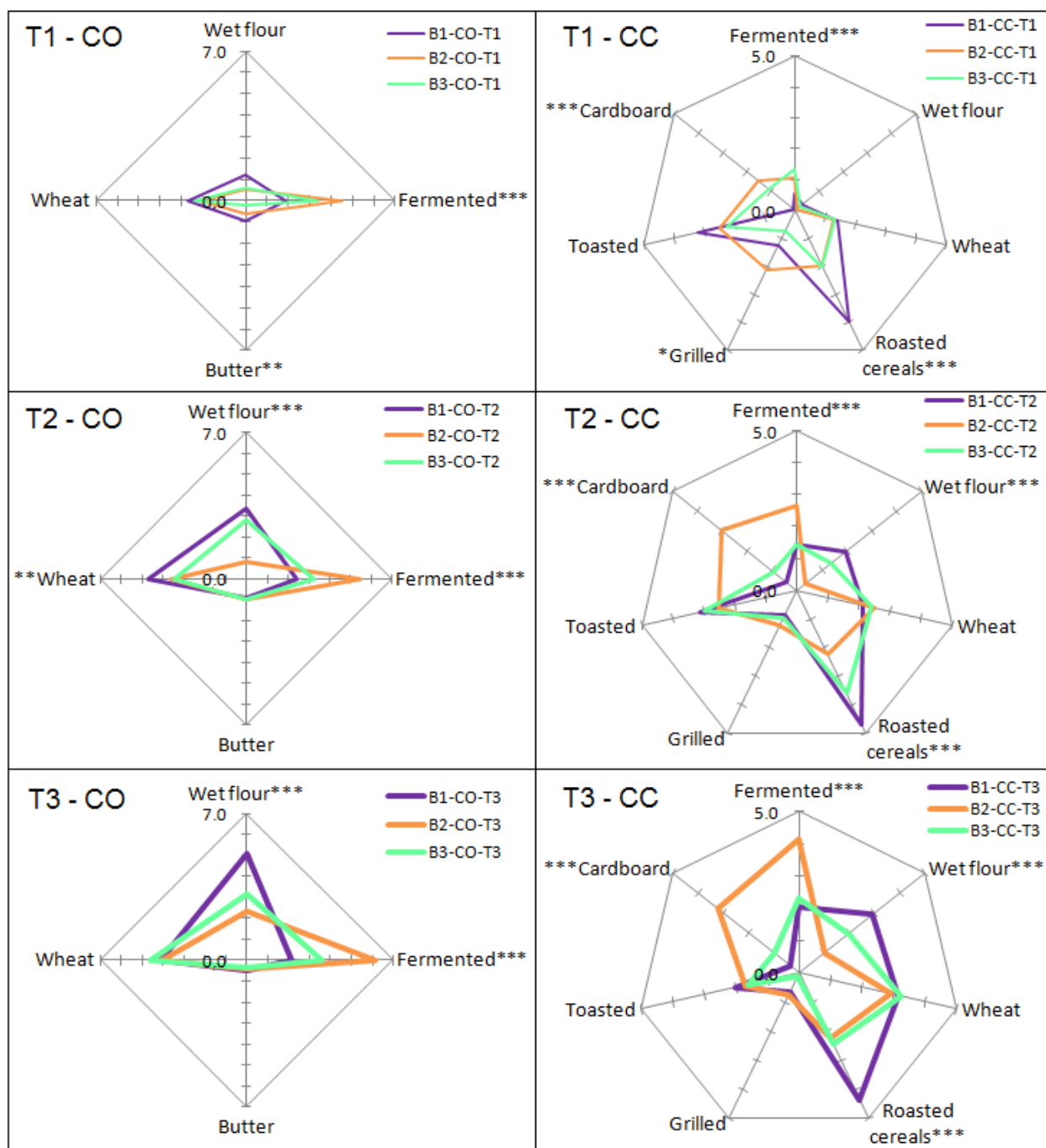
as fermented and butter notes for CO samples or roasted-cereal, toasted, and grilled notes for CC samples, had scores that varied only slightly over time.

**Table III.3-3: Variation in the mean perceived attribute intensities over oral-processing stages.** Mean (M) and standard error (SE) of the aroma attribute scores at three key stages of processing for the (a) CO samples and (b) CC samples of the three bread types. Letters A, B, and C indicate means that significantly differed between stages ( $p < 0.05$ ; Nemenyi procedure).

Attribute	p-value	Variation over stages	T1			T2			T3		
			M	SE		M	SE		M	SE	
<i>a) Crumb</i>											
Fermented	0.039	→	<b>3.3</b>	0.3	A	<b>3.7</b>	0.3	A	<b>4.0</b>	0.4	A
Wet flour	< 0.0001	↗	<b>0.8</b>	0.2	A	<b>2.3</b>	0.3	B	<b>3.5</b>	0.3	C
Wheat	< 0.0001	↗	<b>2.4</b>	0.3	A	<b>3.9</b>	0.3	B	<b>4.3</b>	0.3	B
Butter	0.001	↗↘	<b>0.6</b>	0.1	A	<b>1.0</b>	0.2	B	<b>0.4</b>	0.1	A
<i>b) Crumb with crust</i>											
Fermented	< 0.0001	↗	<b>1.0</b>	0.1	A	<b>1.8</b>	0.3	B	<b>2.8</b>	0.3	B
Wet flour	< 0.0001	↗	<b>0.2</b>	0.1	A	<b>1.2</b>	0.2	B	<b>2.0</b>	0.3	B
Wheat	< 0.0001	↗	<b>1.3</b>	0.2	A	<b>2.3</b>	0.3	B	<b>3.1</b>	0.3	B
Cardboard	< 0.0001	↗	<b>0.9</b>	0.2	A	<b>1.5</b>	0.3	B	<b>1.5</b>	0.3	B
Roasted cereals	0.0002	↗↘	<b>2.7</b>	0.3	A	<b>3.5</b>	0.3	B	<b>3.0</b>	0.3	A
Toasted	0.0003	↗↘	<b>2.7</b>	0.2	AB	<b>2.9</b>	0.2	B	<b>1.8</b>	0.2	A
Grilled	0.011	→	<b>1.4</b>	0.3	A	<b>1.0</b>	0.2	A	<b>0.5</b>	0.1	A

Differences in the perceived aroma of the three bread types were observed at given stages (**Figure III.3-2**). At the beginning of mastication (T1), B2 and B3 CO samples were perceived as being more fermented and less buttery than B1 CO samples, and the B2 and B3 CC samples were more fermented and cardboard like with fewer roasted-cereal notes than those of B1 ( $p < 0.01$ ). Then, at the second and third stages of oral processing (T2 and T3), perceptions of B3 began to resemble those of B1. The CO and CC samples for both bread types were perceived as having more wet-flour and fewer fermented notes than those of B2. The B1 and B3 CC samples were also perceived as being less cardboard like than those of B2 ( $p < 0.001$ ). However, the CC samples of B1 were always perceived as having a more pronounced roasted-cereal note than those of B2 and B3 ( $p < 0.001$ ).

Consequently, even though large differences were observed between the three stages, panelists were able to discriminate between the three bread types at each stage.



**Figure III.3-2: Mean perceived intensities of all the aroma attributes at three oral-processing stages for crumb samples (on the left; CO = crumb only) and crumb with crust samples (on the right; CC = crumb with crust).**

The stars indicate there was a significant effect of bread type (two-way ANOVA; \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , and \*\*\* =  $p < 0.001$ ). Abbreviations are as follows: T1 = 10%, T2 = 40%, and T3 = 100% of oral processing, respectively.

### 3.2.2. Fragment ion profiles in the expectorated boli: the PTR-MS results

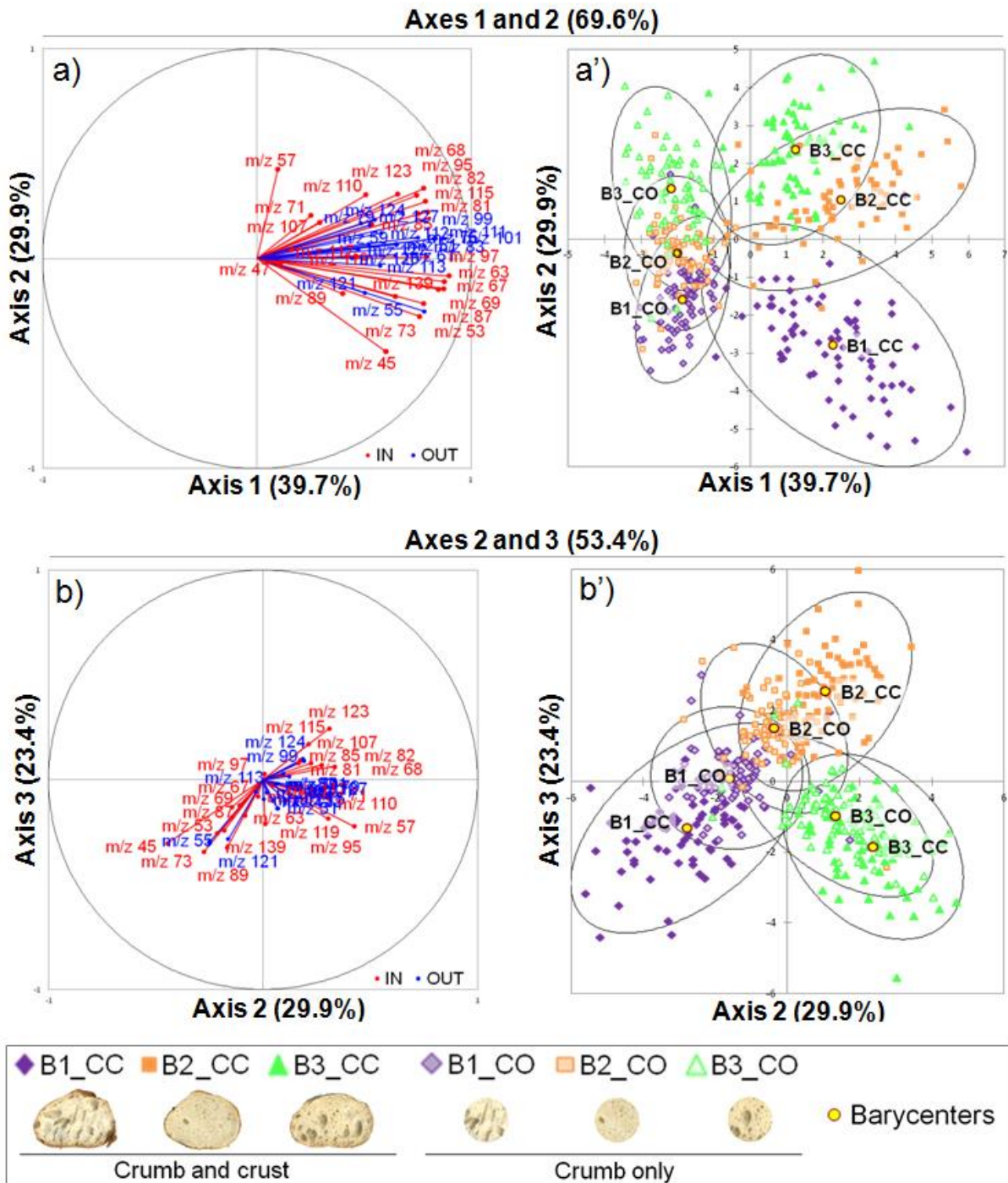
The VOCs present in the headspace above the expectorated boli were analyzed using PTR-MS. Forty-one fragment ions (from  $m/z$  45 to 139) were detected in boli across the three stages. The same fragment ions were found in the profiles of the initial bread samples and the boli, with the exception

of two fragment ions ( $m/z$  110 and 112). As in the initial bread profiles, the fragment ions  $m/z$  47 (related to ethanol) and  $m/z$  45 (related to acetaldehyde) were the most abundant ions in the boli. The fragment ions  $m/z$  110 and  $m/z$  112 were only found in boli and mainly in the CC samples; they each represented 0.02% of the total fragment amount (excluding  $m/z$  45 and 47), defined as the sum of all the fragment ion amounts.

The **Figure III.3-3** shows the results from the stepwise DA performed on the PTR-MS data. Differences on fragment ion profiles between CO and CC boli can be observed on the first axis (39.7%) (**Figures III.3-3.a.** and **III.3-3.a'**). The CC boli contained higher levels of most of the fragment ions than the CO boli. The profiles of CO boli were less variable across stages and among panelists than were the profiles of CC boli (ellipse size), and the three CO boli were more similar than were the three CC boli (ellipse overlap). **Figures III.3-3.b** and **III.3-3.b'** display the differences in fragment ion profiles among the three bread types (DA axes 2 and 3). The second axis (29.9%) distinguished B1 (both subtypes) from B2 and B3 (both subtypes). The third axis (23.4%) separated out B2 and B3. The profiles of the B1 CO and CC boli contained relatively higher levels of the fragment ions  $m/z$  45, 53, 55, 63, 69, 73, 87, 89, 121, and 139. The profiles of the B2 CO and CC boli were largely composed of the fragment ions  $m/z$  68, 81, 82, 85, 99, 107, 115, 123, and 124. The profiles of the B3 boli (both subtypes) were mainly made up of the fragment ions  $m/z$  57, 71, 95, and 110.

For all bread types and subtypes, the total fragment amount (41 fragment ions) decreased over the course of oral processing. **Figure III.3-4** shows the variation over stages for 22 of the 24 fragment ions that were found to have the greatest discriminatory ability. As previously for the initial profile results, fragment ions  $m/z$  45 and 47 were excluded because of their extreme values (mean of  $8.8 \cdot 10^5$  and  $2.2 \cdot 10^6$  cps.min.mL<sup>-1</sup>, respectively). As already shown in **Figure III.3-3**, the CC samples are clearly more differentiated than the CO samples in terms of fragment ion quantity and profile variation over stages. It is also interesting to notice that the B1 CC samples varied differently over stages than did the others: the levels of 12 ions increased between T1 and T2 and then decreased between T2 and T3. However, this pattern was only observed in the boli of three panelists.





**Figure III.3-3: Graph of discriminant analysis axes 1 and 2 (a. and a'.) and axes 2 and 3 (b. and b'.), based on the PTR-MS data for the different foods.** Bread type x bread subtype was chosen as a discriminant factor. In blue (correlation circles a. and b.) are the fragment ions that were not selected by the stepwise regression; in red are the fragment ions that were found were to best discriminate among the six foods. A single point (in a'. and b'.) represents a single bread type, bread subtype, processing stage, and panelist.

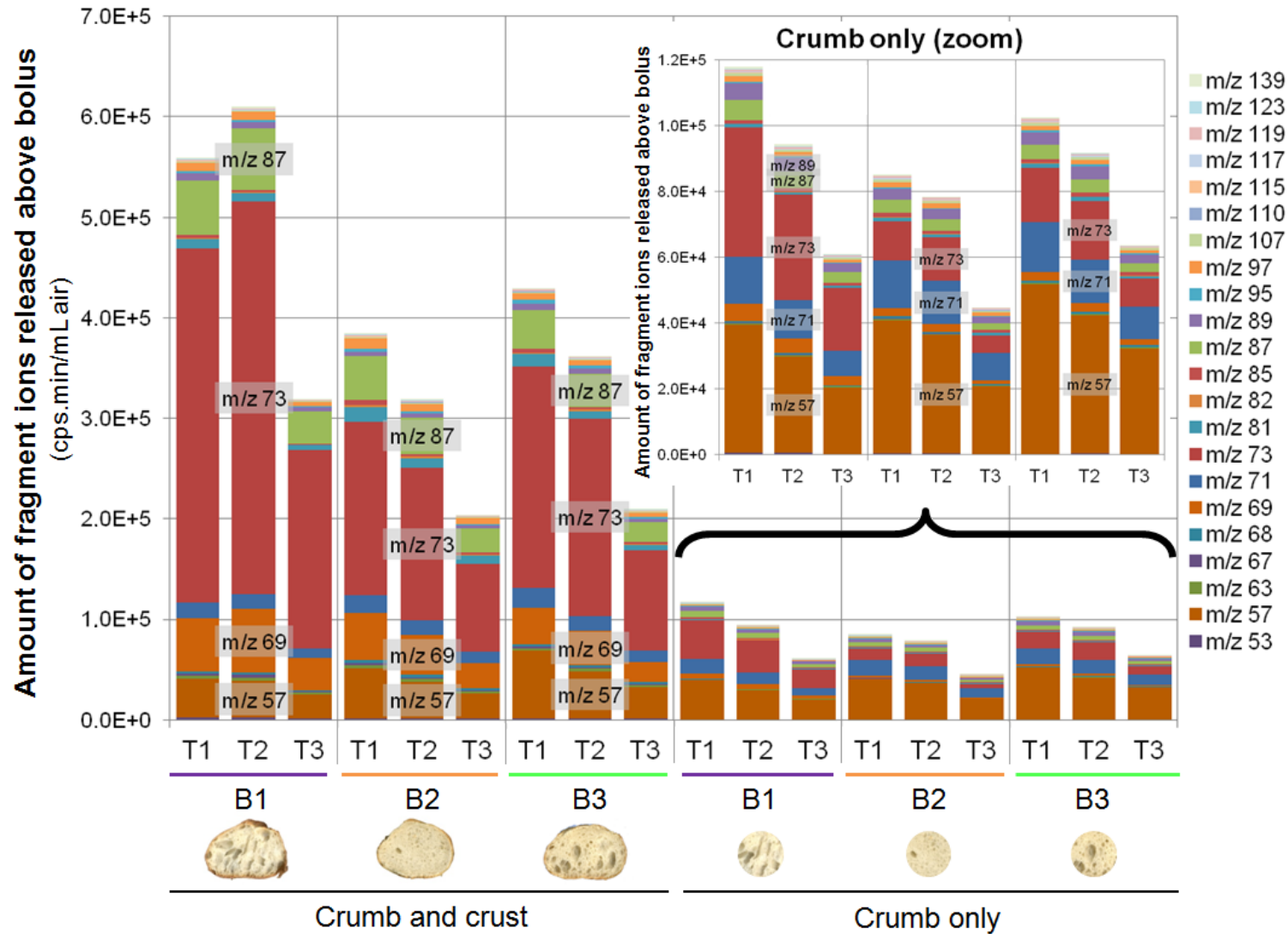


Figure III.3-4: Stacked bar graph of the mean areas under the curve (AUCs), corrected for the amount of intake air, for the 22 most-discriminatory ions in the boli (n = 8 panelists x 3 replicates), at three stages (T1 = 10%, T2 = 40%, and T3 = 100% of oral processing).



### 3. 3. Fragment ions that could be involved in aroma perception

To generate hypotheses regarding which fragment ions are involved in aroma perception, we used the CC samples to examine the links between four aroma attributes and the 24 most discriminatory fragment ions (Figure III.3-5). The first PCA axis (Figure III.3-5.a and III.3-5.a') discriminated among the three oral-processing stages (73.6%). The perceived intensities of the four aroma attributes increased over stages, presumably as VOCs accumulated in the oronasal cavity. The second and third axes (19.4 and 6.7% respectively) discriminated among the three bread types (Figure III.3-5.b') and revealed relationships among aroma attributes and fragment ions (Figure III.3-5.b).

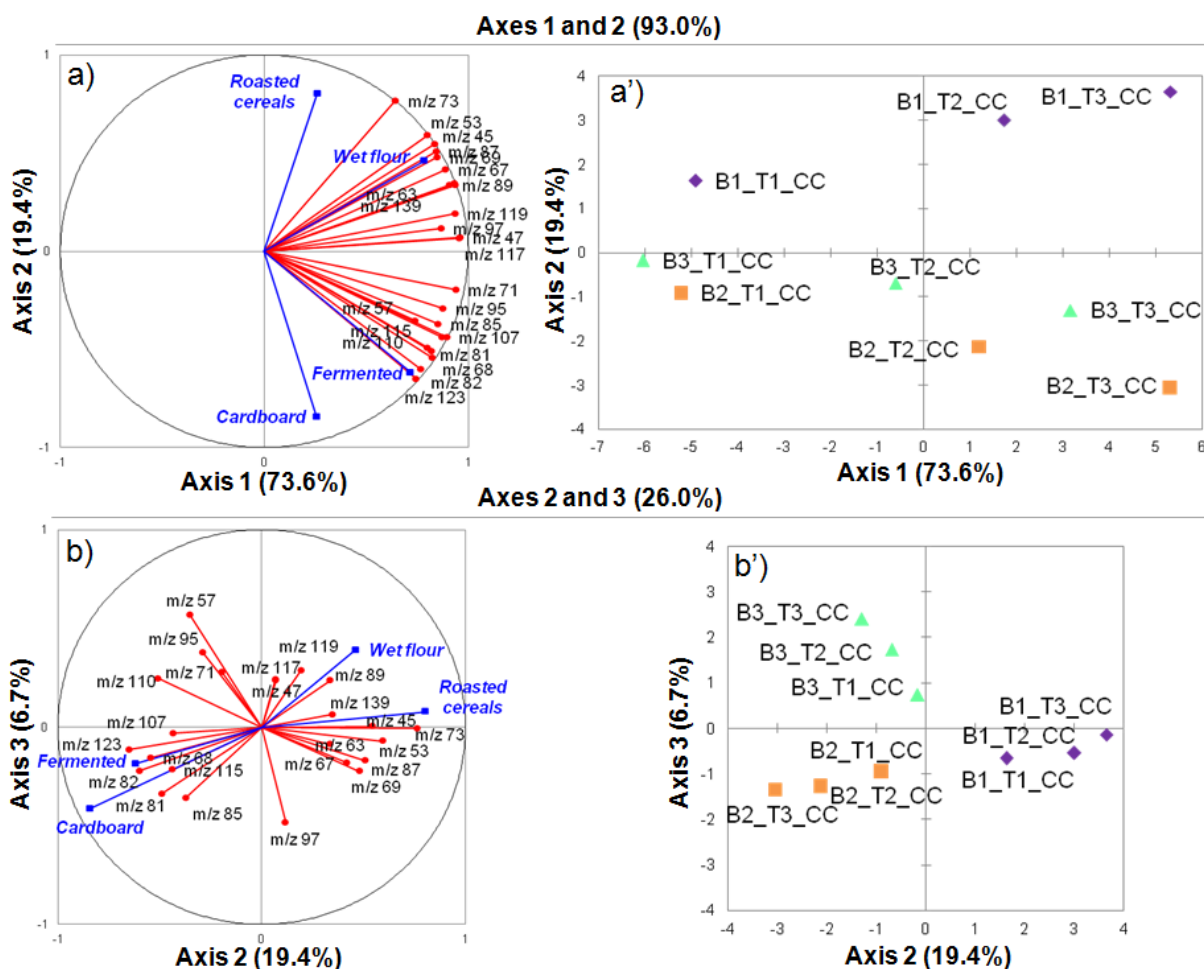


Figure III.3-5: Graph of principal component analysis axes 1 and 2 (a. and a'.) and axes 2 and 3 (b. and b'.), based on the PTR-MS values for the CC samples (in red).

In blue are the supplementary variables. Abbreviations are as follows: T1 = 10%, T2 = 40%, and T3 = 100% of oral processing, respectively.

Higher scores for roasted cereals were associated with the fragment ions  $m/z$  45, 53, 63, 67, 69, 73, and 87. Based on the literature and given the compounds composing the initial profiles of the three bread types, we can propose some assumptions on the origins of certain fragment ions. As mentioned in sections 3.1. and 3.2.2, the fragment ion  $m/z$  45 is often associated with acetaldehyde. The fragment ion  $m/z$  73 could be related to 2-methylpropanal (van Ruth, Boscaini, Mayr, Pugh, & Posthumus, 2003). The fragment ions  $m/z$  69 and 87 could be related to 2-, 3-methylbutanal or pentanal (Buhr *et al.*, 2002; van Ruth *et al.*, 2003). These molecules are products of Strecker degradation (especially 2-methylpropanal and 2-, 3-

methylbutanal) and are known to contribute positively to crust aroma (Zehentbauer & Grosch, 1998a). Individually, these three compounds are perceived with malty, malty/almond or malty/roasty notes, respectively (Pico *et al.*, 2015). We can therefore assume that the fragment ions  $m/z$  69, 73, and 87 played a key role in the perception of a roasted-cereal note, which is a positive attribute of bread.

The perception of a wet-flour note was largely associated with the fragment ion  $m/z$  89, which could be related to ethyl acetate (Biasioli *et al.*, 2006). This compound has been associated with extended fermentation (Poinot *et al.*, 2008). So, surprisingly, although B1 had a long fermentation time, and composed by fermentation-related fragments, it was described using a flour-related descriptor rather than a fermentation-related descriptor. The perception of a wet-flour note could thus be prompted by sensory interactions involving taste or texture.

In contrast, samples were perceived as fermented and cardboard like when the fragment ions  $m/z$  68, 81, 82, 85, 115, and 123 were present. The fragment ions  $m/z$  68 and 82 could be associated with pyrrole and 1-methylpyrrole (corresponding to their protonated molecular ion), respectively (Wang, Španěl, & Smith, 2004). The fragment ion  $m/z$  115 could be related to 2-heptanone (Buhr *et al.*, 2002). These compounds are produced during the Maillard reaction. We can therefore assume that the fragment ions  $m/z$  68, 82, and 115 played a key role in samples being perceived as cardboard like, a crust attribute, which was unpleasant for panelists. Consequently, the production of such compounds should be avoided during bread making. Since the scores for the fermented attribute were highly correlated with those for the cardboard attribute ( $r = 0.802$ ), it was difficult to link the perception of a sample as fermented with specific fragment ions.

## 4. Discussion

### 4.1. Impact of oral processing on volatile release in bread

The PTR-MS analysis of the boli, which were collected at specific oral-processing stages, showed that fragment ion amounts decreased over stages. Because mastication is known to enhance volatile release, the main driver for this trend in the case of bread is likely the action of added saliva. Both saliva volume and composition can have an impact on volatile release, resulting in a dilution effect or contributing to binding reactions between salivary components and VOCs, respectively (van Ruth & Roozen, 2000). Onishi, Inoue, Araki, Iwabuchi, & Sagara (2012) highlighted, in the case of bread, the impact of “saliva” volume (represented by a buffer solution) on volatile release and observed that the concentration of VOCs decreased when the buffer volume increased. In another study, the effect of saliva composition on volatile release was reported. Specifically, two bread boli were processed using an artificial mouth under the same hydration conditions, except that water was used in one case and artificial saliva in the other (Poinot, Arvisenet, Grua-Priol, Fillonneau, & Prost, 2009). The researchers found that saliva affected the release of some but not all VOCs; there was no clear influence of chemical group or hydrophobicity. In a previous study, we observed that, on average, between initial mastication and swallowing, the amount of saliva climbed from 20 g to 105 g per 100 g of dry matter for crumb boli (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a). So, given the large differences in the amounts of VOCs released and the increasing amount of saliva added over the course of oral processing, saliva dilution seems to be the main factor affecting volatile release during bread consumption.

We also found that the water content and amount of added saliva in boli were largely influenced by the bread's water-absorbing capacity (Jourden, Panouillé *et al.*, 2016a). Consequently, this characteristic would seem to be responsible for the differences in volatile release among bread types. Indeed, B2, which had a high water-absorbing capacity, had the smallest total fragment amount associated with its boli, likely because this bread type takes up more saliva during oral processing and thus its volatile release is impeded.

The decrease in volatile release over stages was observed for all bread types and subtypes, except for the B1 CC boli of three panelists. Considering the two conflicting mechanisms acting on volatile release (i.e., the positive effect of increased surface area vs. the negative effect of saliva dilution), we can assume that the B1 CC boli of these three panelists were relatively more comminuted than hydrated at the beginning of mastication. It is thus important to consider individual differences in oral processing because they can affect volatile release kinetics.

#### **4.2. Impact of crumb texture on aroma perception**

The differences in volatile release observed among the CO samples for the three bread types were small compared to those observed for the CC samples. However, the former were well differentiated in terms of their perceived aromas. We had previously found that they were also well differentiated in terms of their perceived textures, with B2 differing dramatically from the two others (Jourden, Saint-Eve, *et al.*, 2016b). It is thus possible that the differences in perceived aroma among the CO samples were due more to cognitive interactions involving texture than to differences in volatile profiles, as observed in dairy products (Saint-Eve, Laverjat, Magnan, Déléris, & Souchon, 2009).

#### **4.3. Impact of crust presence on volatile profile, volatile release, and aroma perception**

Differences among recipes resulted in greater variability in the CC samples than in the CO samples for initial bread volatile profiles, boli volatile release, and thus perceived aroma. This result suggests that the baking step influences perceived aroma more than the fermentation step; the same yeast was used to generate all three bread types. However, fermentation is responsible for forming the precursors used in Maillard reactions (Cho & Peterson, 2010). Furthermore, it is practically impossible for baking to be perfectly homogeneous along the full length of the loaf, which means CC samples will always be more heterogeneous than CO samples. Consequently, we can conclude that baking as well as the amount of yeast used and the length of fermentation time have a major impact on the VOCs released by the crust.

Volatile release was three to five times higher for the CC versus the CO boli, while it was only two times higher for the CC versus the CO initial samples. The presence of crust thus seemed to induce a greater release of volatiles during oral processing. The low water content of the CC boli (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a) could explain this phenomenon. There were clear differences in the perceived aroma of the CC samples but small differences in perceived texture for the three bread types were previously observed (Jourden, Saint-Eve, *et al.*, 2016b). Therefore, crust volatile profile and volatile release greatly influenced the perceived aroma of the CC samples.

## 5. Conclusions

Oral processing is an important process that must be taken into account if we are to better understand the dynamics of aroma perception. In this study, we found that the main factor affecting volatile release during bread consumption was saliva dilution of the bolus. For the first time, a PTR-MS headspace analysis of the expectorated boli was performed. The PTR-MS was an efficient method for characterizing volatile release at three key stages of oral processing and also helped explain aroma perception. Links were established between the sensory attributes of crumb with crust samples and the fragment ions associated with VOCs released during oral processing. The combination of this work with other experimental approaches that studied the effects of composition or bread-making steps on volatile profile of bread (as for example the effects of different bakery yeast starters [Makhoul *et al.*, 2014]) would be useful to design new breads with targeted sensory characteristics.

## Acknowledgments

The authors would like to acknowledge Lesaffre International for its financial support in the form of a PhD grant. We gratefully thank D. Forest, A. Dellile, M. Beugin, K. Gourrat, and C. Willard for their technical support and H. Guillemin for his help automating the treatment of the PTR-MS data. C. Dupuy and G. Della Valle are kindly acknowledged for engaging in fruitful discussions with us. Finally, we would like to thank J. Pearce-Duvet for her precious help in proofreading the manuscript's English.

## Supplementary materials

### 1) Supplementary methods

#### GC-MS coupled with solvent-assisted flavor extraction (SAFE)

Twenty grams of crumb-only (CO) or crumb-with-crust (CC) samples were taken from each bread type. The samples were frozen at -20°C in glass vials; maximum storage time was one week. Before processing, the samples were defrosted for one hour at 20°C and then mechanically ground with 100 mL of Milli-Q water (Merck Millipore, Merck KGaA, Germany) for 10 s at low speed using a blender (Waring Laboratory Science, Stamford, USA). An aliquot of 150 µL of ethyl pentanoate (97 ng/µL in Milli-Q water) was added as an internal standard, to check repeatability of extractions. Following vacuum distillation ( $10^{-2}$  Pa) in the SAFE apparatus, the bread's aqueous fraction was extracted using dichloromethane (3 x 20 mL). The extract was then concentrated to 400 µL using a Kuderna-Danish apparatus. The SAFE extractions were carried out in triplicate for each bread type and subtype.

Then, the VOCs in the extracts were separated and identified using GC-MS (6890A Agilent, Santa Clara, USA); the apparatus was equipped with a splitless injector kept at 240°C and a DB-Wax polar capillary column (30 m x 0.32 mm; film thickness of 0.5 µm; J&W Scientific, Folsom, USA). Helium was the carrier gas (constant flow rate of 1.5 mL/min). Oven temperature increased from 40°C to 240°C at a rate of 4°C/min and then remained at 240°C for 10 min.

#### GC-MS coupled with purge-and-trap extraction

CO or CC samples of each bread type were cut by knife into 1-cm squares and frozen at -80°C in glass vials; maximum storage time was one month. Before processing, samples were defrosted for 15 h at 4°C; then, 5 g of each sample were mixed with 10 mL (for CO samples) or 20 mL (for CC samples) of Milli-Q water (Merck Millipore, Merck KGaA, Germany) at 4°C. The mixture was placed in a crushed ice bath and homogenized for 15 s at a speed setting of 11 using a Polytron® PT 2100 (VWR, Radnor, USA). Five mL of the suspension were placed in the sampling tube of the purge-and-trap system, which had been heated to 37°C. A helium purge was run for 20 min at a flow rate of 20 mL/min, during which time VOCs were retained in a TENAX trap at 40°C. The trap was subsequently heated to 250°C and kept there for 2 min to induce desorption. The VOCs were concentrated in the cryomodule at -150°C, just before the injection step at 180°C.

The VOCs were then separated and identified using GC-MS (6890A Agilent, Santa Clara, USA); the apparatus was equipped with a splitless injector kept at 180°C and a CP-Wax 57CB polar capillary column (50 m x 0.25 mm; film thickness of 0.2 µm; Agilent, Santa Clara, USA). Helium was the carrier gas (constant flow rate of 1.2 mL/min). Oven temperature increased from 40°C to 200°C at a rate of 4°C/min and then remained at 200°C for 9 min.

## 2) Supplementary tables

**Tables A to E:** Volatile profiles of the three bread types obtained using mass spectrometry and two extraction methods (SAFE; purge and trap).

Henry's law constant  $K_H$  (partition coefficient of volatile compounds between air and water at 25°C) and  $\log(K_{OW})$  were calculated using the EPI Suite's experimental database; they characterize a compound's volatility and hydrophobicity, respectively.

$p$ -value for each variable in the two-way ANOVAs (bread type, bread subtype, and their interaction) are provided.

A difference in color (dark blue to light blue for SAFE and dark orange to light orange for purge and trap) indicates significantly different means between bread types (B1, B2, and B3) or bread subtypes (CO and CC) (Fisher's LSD test). The darkest color indicates the highest mean.

The abbreviations are as follows:

M = molar mass;

Int. = interaction;

N/A = not available;

NS = not significant;

abs = absent;

CO = crumb only;

CC = crumb with crust;

B1 = traditional type baguette;

B2 = industrial type baguette;

B3 = intermediary type baguette.

**Table A:** List of alcaans and aldehydes detected in the three bread types

	M (g/mol)	K <sub>H</sub> (Pa.m <sup>3</sup> /mol)	log(K <sub>ow</sub> )	SAFE						Purge and trap																			
				Bread subtype effect			Bread type effect			Int.	Bread subtype effect			Bread type effect			Int.												
				p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p	p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p										
<i>Alcaans</i>																													
pentane	72	1.27E+05	3.39															0.001			NS					NS			
hexane	86	1.82E+05	3.90																		< 0.0001			< 0.0001			NS		
heptane	100	2.03E+05	4.66																		NS					NS			
octane	114	3.25E+05	5.18																		0.048					NS			
<i>Aldehydes</i>																													
acetaldehyde	44	6.76E+00	-0.34																		0.026					0.001			NS
propanal	58	7.44E+00	0.59																		0.002					NS		NS	
2-methylpropanal	72	1.82E+01	N/A																		< 0.0001					0.048		NS	
2-propenal	60	1.24E+01	-0.01																		NS					NS		NS	
3-hydroxybutanal	88	N/A	N/A																		0.0002					NS		NS	
2-methylbutanal	86	N/A	N/A																		0.0001					NS		NS	
3-methylbutanal	86	4.10E+01	N/A																		< 0.0001					0.003			0.006
pentanal	86	1.49E+01	N/A	NS				NS					NS								0.002					NS		0.041	
hexanal	100	2.34E+01	1.78	NS				NS					NS								< 0.0001					NS		0.038	
heptanal	114	2.74E+01	N/A	NS				NS					NS																
2-ethylhexanal	128	7.69E+01	N/A	NS				NS					NS																
octanal	128	5.21E+01	N/A	NS				NS					NS																
nonanal	142	7.44E+01	N/A	NS				NS					NS																
(E)-2-octenal	126	7.44E+00	N/A	0.003				NS					NS																
decanal	156	1.82E+02	N/A	NS				NS					NS																
(E)-2-nonenal	140	N/A	N/A	< 0.0001				< 0.0001					0.001																
(E,E)-2,4-nonadienal	138	N/A	N/A	NS				NS					NS																
(E,Z)-2,4-decadienal	152	N/A	N/A	0.0001				NS					0.001																
(E,E)-2,4-decadienal	152	N/A	N/A	NS				NS					NS																
dodecanal	184	N/A	N/A			abs		0.027																					

**Table B:** List of ketones, esters, carboxylic acids, and lactones detected in the three bread types

	M (g/mol)	K <sub>H</sub> (Pa.m <sup>3</sup> /mol)	log(K <sub>ow</sub> )	SAFE						Purge and trap											
				Bread subtype effect			Bread type effect			Int.	Bread subtype effect			Bread type effect			Int.				
				p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p	p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p		
<i>Ketones</i>																					
propan-2-one	58	3.55E+00	-0.24										0.0001				NS				NS
butan-2-one	72	5.77E+00	0.29										< 0.0001				0.115				NS
2,3-butanedione	86	N/A	-1.34	< 0.0001				0.028				0.018	0.004				0.0001				NS
2,3-pentanedione	100	N/A	N/A	< 0.0001				NS				NS	0.005				NS				NS
heptan-2-one	114	1.71E+01	1.98	NS				NS				NS	0.0002				NS				0.025
3-hydroxy-2-butanone	88	N/A	N/A	NS				0.003				NS	0.006				0.0002				NS
1-hydroxy-2-propanone	74	N/A	N/A	< 0.0001				NS				NS	NS				NS				NS
3-hydroxy-3-methylbutanone	102	N/A	N/A	NS				NS				NS									
nonan-2-one	142	3.72E+01	3.14	NS				NS				NS									
octa-3,5-dien-2-one	124	N/A	N/A	NS				NS				NS									
geranylacetone	194	N/A	N/A			abs		NS													
<i>Esters</i>																					
ethyl acetate	88	1.36E+01	0.73										< 0.0001				0.016				NS
ethyl butanoate	116	4.04E+01	N/A										0.010				NS				NS
ethyl octanoate	172	N/A	N/A			abs		NS													
methyl furoate	126	N/A	1.00			abs		NS													
<i>Carboxylic acids</i>																					
octanoic acid	144	9.04E-02	3.05			abs		0.042		abs											
heptanoic acid	130	6.59E-02	2.42			abs		0.0002		abs	abs										
<i>Lactones</i>																					
butyrolactone	86	5.34E-03	-0.64	< 0.0001				0.0003				0.001									
γ-ethylbutyrolactone	114	N/A	N/A	NS				NS				NS									
γ-nonalactone	156	N/A	N/A	0.017				0.0005				NS									



**Table C:** List of alcohols detected in the three bread types

	M (g/mol)	K <sub>H</sub> (Pa.m <sup>3</sup> /mol)	log(K <sub>ow</sub> )	SAFE							Purge and trap										
				Bread subtype effect			Bread type effect				Int.	Bread subtype effect			Bread type effect				Int.		
				p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p	p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p		
<i>Alcohols</i>																					
ethanol	46	5.07E-01	-0.31											NS			0.003				0.020
1-propanol	60	7.84E-01	0.25	NS				NS				NS	0.0001			< 0.0001					0.040
2-methylpropan-1-ol	74	9.91E-01	0.76	NS				0.019				NS	0.034			< 0.0001					0.021
pentan-2-ol	88	1.50E+00	1.19										0.003			0.003					0.001
1-methoxypropan-2-ol	90	9.32E-02	N/A										NS			NS					NS
1-butanol	74	8.92E-01	0.88	NS				NS				NS	NS			0.003					NS
pent-1-en-3-ol	86	N/A	N/A										NS			0.046					0.029
2-methylbutanol	88	1.43E+00	1.29										0.038			< 0.0001					0.036
3-methylbutanol	88	1.43E+00	1.16	NS				NS				NS	0.012			< 0.0001					0.008
3-methylbut-3-en-1-ol	86	N/A	N/A										0.006			< 0.0001					0.003
1-pentanol	88	1.32E+00	1.51	0.010				NS				NS	NS			NS					0.043
1-butoxypropan-2-ol	132	N/A	N/A	0.004				0.007				NS									
(Z)-2-penten-1-ol	86	N/A	N/A										NS			NS					NS
hexanol	102	1.73E+00	2.03	NS				NS				NS	NS			0.003					0.008
3-ethoxypropan-1-ol	104	N/A	N/A	NS				0.036				NS									
2-butoxyethanol	118	1.62E-01	0.83	NS				NS				NS									
2-methyl-4-heptanol	130	N/A	N/A	NS				NS				NS									
1-octen-3-ol	128	2.34E+00	N/A	0.039				NS				NS									
heptanol	116	1.90E+00	2.62	NS				NS				NS									
2,6-dimethylheptan-4-ol	144	1.31E+01	N/A	NS				NS				NS									
2-ethylhexan-1-ol	130	2.69E+00	N/A	NS				NS				NS									
octanol	130	2.48E+00	3.00	NS				NS				NS									
(Z)-3-nonen-1-ol	142	N/A	N/A	NS				< 0.0001				NS									
dec-7-en-1-ol	156	N/A	N/A			abs		NS													
2,3-butanediol	90	2.92E-03	-0.92										0.009			NS					NS

**Table D:** List of sulfur compounds and pyrazines detected in the three bread types

	M (g/mol)	K <sub>H</sub> (Pa.m <sup>3</sup> /mol)	log(K <sub>ow</sub> )	SAFE						Purge and trap																	
				Bread subtype effect			Bread type effect			Int.	Bread subtype effect			Bread type effect			Int.										
				<i>p</i>	CO	CC	<i>p</i>	B1	B2	B3	<i>p</i>	<i>p</i>	CO	CC	<i>p</i>	B1	B2	B3	<i>p</i>								
<i>Sulfur compounds</i>																											
dimethyl sulfide	62	1.63E+02	N/A															< 0.0001				NS					NS
methional	104	N/A	N/A	0.006				0.011				0.027															
2-(methylthio)-ethanol	92	N/A	N/A			abs		NS																			
3-(methylthio)-propan-1-ol	106	N/A	N/A			abs		NS										0.008				NS					NS
<i>Pyrazines</i>																											
pyrazine	80	N/A	-0.26	< 0.0001				< 0.0001				< 0.0001															
methylpyrazine	94	2.23E-01	0.21	< 0.0001				0.000				0.003						0.001				NS					NS
2,5-dimethylpyrazine	108	N/A	0.63	< 0.0001				0.002				0.013															
2,6-dimethylpyrazine	108	N/A	0.54	< 0.0001				0.000				0.002															
ethylpyrazine	108	2.48E-01	0.69	< 0.0001				< 0.0001				< 0.0001															
2,3-dimethylpyrazine	108	N/A	0.54	< 0.0001				< 0.0001				0.001															
2-ethyl-6-methylpyrazine	122	N/A	N/A	< 0.0001				0.014				0.050															
2-ethyl-3-methylpyrazine	122	N/A	1.07	< 0.0001				< 0.0001				0.001															
vinylpyrazine	106	N/A	N/A	0.0002				0.001				0.009															
3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine	136	N/A	N/A			abs		0.013																			
2-ethenyl-6-methylpyrazine	120	N/A	N/A			abs		0.000																			
2-isopropenylpyrazine	120	N/A	N/A			abs		0.001																			

**Table E:** List of furans, and other compounds detected in the three bread types

	M (g/mol)	K <sub>H</sub> (Pa.m <sup>3</sup> /mol)	log(K <sub>ow</sub> )	SAFE							Purge and trap							
				Bread subtype effect			Bread type effect			Int.	Bread subtype effect			Bread type effect			Int.	
				p	CO	CC	p	B1	B2	B3	p	p	CO	CC	p	B1	B2	B3
<i>Furanes</i>																		
2-methylfuran	82	N/A	1.85									0.014			NS			NS
tetrahydrofuran	72	7.14E+00	0.46									0.009			0.008			0.007
2-pentylfuran	138	N/A	N/A	NS						NS		0.004			NS			NS
furfural	96	N/A	0.41	< 0.0001						0.000		0.001			NS			NS
2-acetylfuran	110	N/A	0.52	< 0.0001						0.001								
5-methylfurfural	110	N/A	0.67	< 0.0001						0.001								
2-furanmethanol	98	N/A	N/A	< 0.0001						0.000			abs		NS			
2(5H)-Furanone	84	N/A	-0.60	< 0.0001						0.001								
2-methyltetrahydrofuran-3-one	100	N/A	N/A		abs					< 0.0001			0.011		NS			0.045
5-methyl-2-furanmethanol	112	N/A	N/A		abs					0.024								
<i>Others compounds</i>																		
benzene	78	5.62E+02	2.13									NS			NS			NS
toluene	92	6.73E+02	2.73									0.0002			NS			0.028
ethylbenzene	106	7.93E+02	3.15									NS			NS			NS
1-methylpyrrole	81	N/A	1.21									0.0004			NS			NS
styrene	104	2.79E+02	2.95									0.001			0.009			NS
pyrrole	67	1.82E+00	0.75	< 0.0001						0.001					NS			NS
pyridine	79	1.11E+00	0.65												NS			NS
benzaldehyde	106	2.71E+00	1.48	NS						NS		0.001			NS			NS
benzeneacetaldehyde	120	N/A	1.78	0.009						NS								
α,α-dimethyl-benzenemethanol	136	N/A	N/A	NS						0.025								
benzyl alcohol	108	3.41E-02	1.10	NS						NS								
phenylethyl alcohol	122	2.59E-02	1.36	NS						0.024								
2-acetylpyrrole	109	N/A	0.93	< 0.0001						0.0002								0.001
phenol	94	3.37E-02	1.46	< 0.0001						0.010								0.042
4-vinyl-2-methoxyphenol	150	N/A	N/A	< 0.0001						0.008								0.041
α-terpineol	154	1.24E+00	3.28		abs					NS								
N-acetyl-(4H)-pyridine	123	N/A	N/A		abs					0.001								
maltol	126	N/A	0.09		abs					NS								

**Principaux résultats à retenir (Article 3)**

La complémentarité des méthodes d'extraction SAFE et Purge & Trap a permis d'identifier plus de 110 composés dans les échantillons de mie et/ou de mie et croûte des 3 pains. Cette cartographie de la composition aromatique des pains a permis de proposer des tentatives d'identification pour les 39 fragments d'ions détectés par PTR-MS. Si les mêmes composés volatils, mais avec des quantités différentes, ont été retrouvés dans les trois pains, certains composés n'étaient présents que dans les échantillons de mie et croûte. La présence de la croûte a contribué à une plus forte variabilité entre les pains, ce qui laisse supposer que la cuisson est responsable d'une plus grande diversité de composés volatils que la fermentation (dans le cas où la même levure est utilisée).

L'étude de la libération des composés volatils au-dessus des bols collectés chez 8 panélistes suggère que l'incorporation progressive de salive au cours du processus oral contribue à diminuer les composés volatils libérés au-dessus du bol. Les mies des 3 pains ont été décrites par 4 attributs aromatiques (« céréales (Blé) », « levure/fermenté », « farine mouillée » et « beurre »), et les échantillons de mie et croûte par 7 descripteurs aromatiques (« toasté », « grillé », « céréales torréfiées », « carton mouillé », « céréales (blé) », « levure/fermenté » et « farine mouillée »). Les attributs « céréales torréfiées », « carton mouillé », « levure/fermenté » et « farine mouillée » des échantillons de mie et croûte, évalués aux trois temps, ont été mis en relation avec 24 ions permettant de discriminer les 3 pains. Par exemple, il semblerait que les ions  $m/z$  69, 73 et 87, probablement issus des aldéhydes de Strecker, soient à l'origine des notes « céréales torréfiées » perçues majoritairement dans le pain B1.

Il semblerait également que si les perceptions aromatiques des échantillons de mie et croûte sont bien expliquées par leur composition aromatique, celles des échantillons de mie seraient plutôt influencées par la texture de la mie.

### **III.4. Impact de la structure du pain sur les cinétiques de libération *in vivo* de marqueurs volatils et sur les perceptions aromatiques, à travers l'étude du processus oral du pain**

#### III.4.1. Contexte, objectifs et démarche de l'article 4

Les résultats présentés dans la partie III.3. ont permis d'établir une cartographie des ions associés aux composés volatils libérés au-dessus des bols collectés à trois temps du processus oral. Certains de ces ions ont ensuite été mis en relation avec les perceptions aromatiques évaluées par profil progressif aux mêmes trois temps.

Cette étape *in vitro* a permis de sélectionner des ions « marqueurs » pouvant être suivis en condition *in vivo* lors de leur libération dans la cavité nasale pendant la consommation de pain. Dans un premier temps, un modèle statistique permettant de calculer les contributions des composés volatils à ces « marqueurs » a été mis en place afin d'identifier ces différents ions. Ensuite, l'objectif de cette étude était d'étudier l'impact de la structure du pain (mie et croûte) sur la libération des composés volatils et sur les dynamiques de perceptions en prenant en compte le comportement masticatoire des individus.

Pour cela, 6 baguettes du commerce, composées de farine de blé et de levure, ont été étudiées en plus des 3 baguettes Lesaffre. La libération des « marqueurs » volatils a été mesurée en conditions *in vivo* par PTR-MS pendant la consommation d'échantillons de mie avec ou sans croûte par les 8 individus du panel #2. Pour aller plus loin dans la compréhension des mécanismes responsables de la libération et la perception, les comportements masticatoires de 3 individus ont été mesurés par électromyographie, et les dynamiques des perceptions aromatiques des trois pains Lesaffre ont été évaluées par la méthode DTS.

#### Paragraphe de Matériels et Méthodes associés :

- Description des pains utilisés : paragraphes II.1.1 et II.1.2
- Caractérisation de la composition aromatique des pains : paragraphe II.5.1
- Description du panel et caractérisation du comportement masticatoire : paragraphe II.2.2
- Suivi *in vivo* des « marqueurs » : paragraphe II.5.3
- Description du DTS : paragraphe II.3.3
- Description des analyses statistiques réalisées : paragraphes II.5.4 et II.6.3.

#### Correspondance entre juges du panel #1 et du panel #2 :

- J3 = paneliste #1
- J8 = panéliste #3
- J7 = panéliste #8

III.4.2. Article 4 : “Effect of bread crumb and crust structure on the *in vivo* release of volatiles and the dynamics of aroma perception”

*Publication n°4 parue dans Journal of Agricultural and Food Chemistry  
J. Agric. Food Chem., 2017, 65, 3330-3340*

**Effect of bread crumb and crust structure on the *in vivo* release of volatiles and the dynamics of aroma perception**

S. Jourdren <sup>a,b</sup>, M. Masson <sup>c</sup>, A. Saint-Eve <sup>\*a</sup>, M. Panouillé <sup>a</sup>, D. Blumenthal <sup>c</sup>,  
P. Lejeune <sup>b</sup>, I. Déléris <sup>a</sup>, I. Souchon <sup>a</sup>

<sup>a</sup> UMR GMPA, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 78850, Thiverval-Grignon, France

<sup>b</sup> Lesaffre International, 59700, Marcq-en-Baroeul, France

<sup>c</sup> UMR GENIAL, AgroParisTech, INRA, Université Paris-Saclay, 91300, Massy, France

\* Corresponding author: [anne.saint-eve@agroparistech.fr](mailto:anne.saint-eve@agroparistech.fr)

---

**Abstract**

This study examined the effects of bread crumb and crust structure on volatile release and aroma perception during oral processing. French baguettes with different crumb structures were procured from a supermarket or local bakeries (n=6) or produced in the laboratory via par baking (n=3). Eight study participants consumed crumb-only and crumb-and-crust samples, and the resulting volatile release was measured *in vivo* using proton transfer reaction-mass spectrometry. A statistical model was then used to examine the contributions of volatile compounds to target ion production (i.e., crumb or crust markers). Utilizing the three laboratory-produced breads, chewing behavior and aroma perception were measured via electromyography and the temporal dominance of sensations method, respectively. The results revealed that the initial levels of crumb markers as well as crumb firmness affected crumb markers release. Crust markers were released more quickly than were crumb markers, leading to different perception dynamics.

---

## 1. Introduction

When a food is being eaten, its aroma compounds are released into the consumer's oral cavity; there, the compounds can interact with olfactory receptors, leading to retronasal aroma perception (Linforth, Martin, Carey, Davidson, & Taylor, 2002; Salles *et al.*, 2011; Taylor & Linforth, 1996). Release dynamics depend on food-related physicochemical processes and on consumer-related physiological parameters. Together, these factors determine the quantity and kinetics of the volatile organic compounds (VOCs) released in the oral cavity and thus contribute to how consumers perceive the food they are eating (Buettner & Beauchamp, 2010; Taylor, 2002). Therefore, it is important to study volatile release during food consumption to better understand aroma perception and its dynamics, the ultimate goal being to create products that meet consumer expectations and match consumer preferences.

In this context, nose-space analyses such as atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (APCI-MS) (Taylor, Linforth, Harvey, & Blake, 2000) or proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS) (Lindinger, Hansel, & Jordan, 1998) are very useful tools to monitor the release of aroma compounds in the air exhaled by a subject consuming food. They have been extensively employed over the past twenty years to study VOC release by different food types (Guichard & Salles, 2016). PTR-MS is a soft chemical ionization technique in which protons are transferred from the protonated reagent,  $\text{H}_3\text{O}^+$ , to VOCs that have a greater affinity for protons than does  $\text{H}_2\text{O}$  (Lindinger *et al.*, 1998). Although the ionization mainly produces the protonated molecular ion  $\text{MH}^+$ , smaller fragments can also result, especially from alcohols (Buhr, van Ruth, & Delahunty, 2002). For this reason, and because there is no separation step, it is often difficult to identify the fragments yielded by foods with complex volatile profiles. However, despite this limitation, PTR-MS has been described as an efficient method for quantitating the relationship between the volatile fingerprints and sensory characteristics of foods (Biasioli *et al.*, 2006; Heenan, Dufour, Hamid, Harvey, & Delahunty, 2009; Jourden *et al.*, 2017).

In particular, PTR-MS has been used to examine differences in VOC release among liquid, semi-solid, and solid foods. Food structure has been found to play an important role. For example, liquid foods such as orange or carrot juice tend to release aromas post-swallow, while solid foods such as peanuts or carrot pieces display pre-swallow release (Frank, Eyres, Piyasiri, & Delahunty, 2012). These results, which are focused on large structural differences, show that it is important to study the impact of structure on VOC release. Furthermore, nose-space analyses have highlighted that there is a large degree of interindividual variability in VOC release profiles, which could be linked to differences in oral processing—including mastication, salivation, and velum opening—that then lead to differences in aroma perception among individuals (Gierczynski, Laboure, & Guichard, 2008; Labouré, Repoux, Courcoux, Feron, & Guichard, 2014; Repoux, Labouré, *et al.*, 2012; Tarrega, Yven, Sémon, & Salles, 2008). This variation must thus be accounted for when seeking to understand aroma perception.

Bread is a good tool with which to study the impact of structure on VOC release because of its structural complexity: it is composed of a soft porous crumb surrounded by a rigid crust. In a recent study, the volatile profiles of bread boli collected at three stages of oral processing were analyzed *in vitro* using PTR-MS (Jourden *et al.*, 2017). The results showed that the incorporation of saliva into the boli impeded the release of VOCs. Furthermore, the presence of crust increased the quantity of released ion fragments likely responsible for perceived notes of “roasted cereals” or “cardboard”.

However, *in vitro* studies cannot reveal the natural dynamics of VOC release from breads. To date, only one study has followed the *in vivo* release of VOCs during bread consumption (Onishi, Inoue, Araki, Iwabuchi, & Sagara, 2012). It showed that release largely occurred post swallowing. A major constraint is that only one bread type and one subject were used.

The objective of this study was therefore to gain insight into the effect of bread crumb and crust structure on VOC release and aroma perception over the course of oral processing. To this end, a statistical model was used that revealed the contribution of VOCs to the production of key ion fragments observed during nose-space analysis.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Characterizing bread and sample types

Nine types of French baguettes were used in this study; all had the same composition (white flour, water, yeast, and salt). One came from a supermarket (S), and five came from three local bakeries (b1, b2, and b3). These baguettes fell into two categories: (i) ordinary breads (O), produced using short fermentation times and possibly containing additives, and (ii) traditional breads (T), produced using long fermentation times and containing no additives (Landgraf, 2002). Three other baguettes were produced in the laboratory run by Lesaffre International (B1, B2, and B3; Marcq-en-Baroeul, France), as described in previous studies (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a; Jourden, Saint-Eve, *et al.*, 2016b); they were par baked and frozen until usage. Two sample types were studied: crumb only (CO) and crumb with crust (CC). The supermarket/bakery baguettes were used within 4 hours of purchase (which occurred in the morning), and the laboratory-produced baguettes were used no more than 2 hours after the cooling phase had ended.

The nine baguette types were characterized based on their density, crumb water content, and crumb elasticity as performed in Jourden *et al.* (2016a). Bread density was measured using the rapeseed displacement method. Crumb water content was determined by weighing samples before and after oven drying. Crumb elasticity (i.e., Young's modulus) was estimated using compression tests performed on crumb cylinders (h: 2.5 cm; d: 3.0 cm) with a TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro System, UK). All measurements were performed in triplicate (Table III.4-1).



**Table III.4-1: Physical properties of the nine bread types studied (based on three replicates).**  
The effect of bread type was determined using a one-way ANOVA. The letters a through g indicate when means differed significantly (Fisher's LSD test;  $p < 0.05$ ).

Bread code name	Origin	Type	Density (-)	Water content of crumb (g per 100 g of crumb)	Young's modulus of crumb (kPa)
<b>B1</b>	Laboratory	Par-baked	0.273 ± 0.001 a	51.5 ± 0.2 a	15.0 ± 4.1 b
<b>B2</b>	Laboratory	Par-baked	0.164 ± 0.001 g	49.3 ± 0.1 b	3.8 ± 0.9 e
<b>B3</b>	Laboratory	Par-baked	0.220 ± 0.003 c	50.6 ± 0.1 a	12.5 ± 0.6 bc
<b>S_O</b>	Supermarket	Ordinary	0.164 ± 0.001 g	45.4 ± 0.3 e	7.8 ± 0.9 cde
<b>b1_O1</b>	Local bakery 1	Ordinary	0.180 ± 0.002 e	46.6 ± 1.8 d	11.0 ± 4.2 bcd
<b>b1_O2</b>	Local bakery 1	Ordinary	0.171 ± 0.001 f	47.1 ± 0.3 cd	7.1 ± 4.6 de
<b>b1_T</b>	Local bakery 1	Traditional	0.216 ± 0.002 c	48.2 ± 0.5 bc	11.5 ± 3.5 bcd
<b>b2_T</b>	Local bakery 2	Traditional	0.192 ± 0.001 d	48.5 ± 0.3 b	5.7 ± 1.1 e
<b>b3_T</b>	Local bakery 3	Traditional	0.265 ± 0.006 b	46.6 ± 0.5 d	25.3 ± 2.1 a

## 2.2. Monitoring *in vivo* aroma compound release via PTR-MS

### 2.2.1. Preliminary *in vitro* studies: selection and identification of target ions.

An *in vitro* study was conducted to help select the ions to be monitored by PTR-MS (Jourden *et al.*, 2017). The ions were selected based on (i) their ability to be detected by *in vivo* measurements (determined using pretests involving equipment sensitivity) and (ii) their ability to represent sensory differences (Table III.4-2).

**Table III.4-2: Ions that were monitored via *in vivo* PTR-MS.**

<i>m/z</i> ion	Chemical formula	Dwell time (ms)	Series 1	Series 2
21	H <sub>2</sub> O, H <sup>+</sup>	50	x	x
37	(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> , H <sup>+</sup>	50	x	x
45	-	100	x	
47	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, H <sup>+</sup>	100	x	
57	-	100	x	
59	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O, H <sup>+</sup>	50	x	x
71	-	100	x	
73	-	100		x
87	-	100		x
95	-	100		x
97	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> , H <sup>+</sup>	100		x

To identify these target ions, the VOCs released by the crumbs of 40 French baguettes (the 9 baguette types described above plus 31 additional baguettes obtained from supermarkets and bakeries) were characterized. The 31 additional baguettes were mainly composed of white flour, water, yeast, and salt; they did not contain any sourdough, fat, or sugar. Their *in vitro* VOC profiles were quantified using two methods: (i) gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) coupled

with purge-and-trap extraction and (ii) proton transfer reaction-mass spectrometry (PTR-MS). For both the GC-MS and PTR-MS analyses, the crumbs of each baguette ( $n=40$ ) were cut into 1-cm squares and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  in glass vials. No replicates were performed in this preliminary study.

In the **GC-MS analyses**, 5 g of bread crumb (defrosted at  $4^{\circ}\text{C}$  for 15 h) were mixed with 10 mL of Milli-Q water (Merck Milipore, Merck KGaA, Germany) at  $4^{\circ}\text{C}$ . Five mL of the mixture, homogenized using a Polytron<sup>®</sup> PT 2100 (VWR, Radnor, USA), were introduced into the sampling tube of a purge-and-trap system, which was heated to  $37^{\circ}\text{C}$ . A helium purge was run for 20 min at a flow rate of 20 mL/min, during which time VOCs were retained in a TENAX trap at  $40^{\circ}\text{C}$ . The trap was subsequently heated to  $250^{\circ}\text{C}$  and kept there for 2 min to induce desorption. The VOCs were concentrated in the cryomodule at  $-150^{\circ}\text{C}$ , just before the injection step at  $180^{\circ}\text{C}$ . The apparatus was equipped with a DB-Wax polar capillary column (30 m x 0.32 mm; film thickness of 0.5  $\mu\text{m}$ ; J&W Scientific, Folsom, USA). Oven temperature increased from  $40^{\circ}\text{C}$  to  $240^{\circ}\text{C}$  at a rate of  $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$  and then remained at  $240^{\circ}\text{C}$  for 10 min.

In the **PTR-MS analyses**, 5 g of crumb (frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  for 30 min) were stored at  $20^{\circ}\text{C}$  for one hour in 100-mL Schott flasks that were equipped with valved caps (GL 45, Duran Group, Wertheim, Germany). A highly sensitive PTR-MS apparatus (Ionicon Analytik, Innsbruck, Austria) was used in SCAN mode over a mass range of  $m/z$  20 to 200; dwell time was 100 ms per peak. Five cycles (90 s) were dedicated to measuring the ambient air (i.e., the background signal), and 15 cycles (290 s) were dedicated to measuring the sample headspace. The gas above the samples was introduced into the system through a capillary line heated to  $110^{\circ}\text{C}$  at a flow rate of 100 mL/min. The PTR-MS settings were as follows:  $\text{H}_2\text{O}$  flow rate of 7.0 mL/min; drift tube pressure of 200 Pa; drift tube temperature of  $60^{\circ}\text{C}$ ; and drift voltage of 600 V ( $E/N = 153 \text{ Td}$ ).

The PTR-MS dataset was then statistically linked to the GC-MS dataset: the goal was to associate the specific ion fragments detected by PTR-MS with the VOCs identified by GC-MS (see the **section 2.5** for more details).

### 2.2.2. In vivo study

A panel of eight volunteers (six women and two men between the ages of 23 and 34) was recruited from the staff of the Grignon center of the French National Institute for Agricultural Research (INRA) to participate in the *in vivo* PTR-MS study. They gave their free and informed consent and received compensation for their participation. They were asked not to drink or eat for at least one hour before the sessions. They took part in nine 30-min PTR-MS sessions. One session was dedicated to each baguette type. During the sessions, participants were asked to eat naturally pre-cut CO samples (cylinder: h: 2.5 cm; d: 3.0 cm) and CC samples (half-cylinder: h: 2.5 cm; r: 3.0 cm). Samples were cut from a vertical slice that was 2.5 cm thick; no more than one minute passed before the samples were given to the participants (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a). The participants were asked to rinse their mouths with mineral water (Evian, Danone, France) between sample types.

### 2.2.3. Measuring in vivo dynamics

The *in vivo* release of aroma compounds was characterized using the multiple ion detection (MID) mode of the PTR-MS apparatus. Three monitoring ions ( $m/z$  21, 37, and 59) and eight target ions ( $m/z$  45, 47, 57, 71, 73, 87, 95, and 97) were studied. Two series of measurements were performed

(Table III.4-2). As a result, the cumulative dwell time of a given series was 0.55 s, which did not exceed the expiration time of the participants (Fiches *et al.*, 2016). Three replicates were performed for each series. In each series, levels of  $m/z$  21, 37, and 59 were quantified to verify measurement conditions.

The  $m/z$  21 ion, which corresponds to  $\text{H}_3^{18}\text{O}^+$ , is the isotopolog of the  $m/z$  19 reagent ion. It is measured instead of  $m/z$  19 to protect the PTR-MS apparatus from excessively high levels of the latter (natural isotopic ratio of  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O} \approx 0.2$ ) (Lindinger *et al.*, 1998). Humidity levels were checked by monitoring the abundance of the  $m/z$  37 ion, which must represent less than 2% of reagent ion signal intensity to limit the background signal. The relative amounts of the  $m/z$  30 ( $\text{NO}^+$ ) and 32 ( $\text{O}_2^+$ ) ions were considered to be low enough that they did not contribute to ionization. The  $m/z$  59 ion (resulting from propan-2-one protonation) was monitored to trace participant breath (Fiches *et al.*, 2016).

Each *in vivo* analysis began with a 10-s measurement of ambient air. Then, the breath expired via the participants' noses was measured for 30 s, and they subsequently introduced the samples into their mouths. For each participant, nose air space was sampled by inserting the two inlets of a stainless steel nosepiece into the nostrils. The system was affixed to eyeglasses so that the participants could eat relatively normally. The gas produced by the samples was introduced into the PTR-MS apparatus through a capillary line heated to 110°C at a mean flow rate of 85 mL/min. The PTR-MS settings were as follows:  $\text{H}_2\text{O}$  flow rate of 6.0 mL/min; drift tube pressure of 200 Pa; drift tube temperature of 60°C; drift voltage of 600 V ( $E/N = 152$  Td).

### 2.3. Characterizing aroma perception dynamics using the temporal dominance of sensations (TDS) method

#### 2.3.1. Panel

A panel of 14 volunteers was formed (ten women and four men between the ages of 23 and 60) by recruiting participants from the PTR-MS study and additional staff from INRA-Grignon. Individuals were invited to join based on their motivation for participating and their aroma discrimination abilities. They gave their free and informed consent and received compensation for their participation. They were asked not to eat or drink for at least one hour before the sessions.

#### 2.3.2. Sensory assessment

All sensory analyses were carried out in individual booths under white light in an air-conditioned room (20°C). Participants were presented with pre-cut vertical slices of bread (2.5 cm thick) placed in plastic boxes labeled with randomly selected three-digit numbers. They were asked to cut a CO or CC sample from the vertical slice using the same protocol as in the PTR-MS sessions; they were also instructed to be consistent in their sample cutting. This approach was employed to maximize sample freshness.

After four sessions dedicated to the generation and selection of aroma attributes, a training session was devoted to the temporal dominance of sensations (TDS) test. The participants were introduced to the notion of dominance: a dominant sensation is the sensation that triggers the most attention at a given point in time (Lenfant, Loret, Pineau, Hartmann, & Martin, 2009). Only six samples (CO and CC samples of B1, B2, and B3) were tested using TDS, which was implemented using Fizz Acquisition

software (Version 2.47A, Biosystemes, France). All six samples were tested during a single session; three replicates were performed. The samples were presented in randomized order to the different participants to avoid a bias in the results.

Participants were instructed to click on the "start" button when they introduced the sample into their mouths. Then, they were asked to select its dominant attributes until they could no longer perceive anything, at which point they were to click on the "stop" button. They indicated when they had swallowed the sample by clicking on the "I'm swallowing" button. Four aroma attributes ("wet flour", "fermented", "wheat", and "butter") were used in the assessment of the CO samples, and seven ("wet flour", "fermented", "wheat", "roasted cereals", "cardboard", "toasted", and "grilled") were used in the assessment of the CC samples (Jourden *et al.*, 2017). The list of attributes was presented in a randomized order to the participants, but the order was always the same for a given participant. To prepare participants for the test, a warm-up sample was introduced at the beginning of each session.

#### **2.4. Chewing behavior quantified by electromyography**

Three participants (#1, #3, and #8) were chosen, and their chewing behavior during natural bread consumption was characterized. The same samples were used as in the TDS tests (CO and CC samples of B1, B2, and B3).

The activity of the muscles of mastication (the superficial masseter and the anterior temporalis), which are located on both sides of the face, was recorded using surface electromyography (EMG). Two surface electrodes (F-E5GH model, Astro-Med, USA) were placed 1.5 cm apart along the length of each of the muscles, which were located via palpation. To minimize electrical background noise, an ear clip electrode (model F-E34DG, Astro-Med, USA) was placed on the participant's ear lobe.

The six samples were assessed in triplicate during the same session to avoid any bias linked to electrode positioning. The participants ate pre-cut CO and CC samples first and second, respectively; they were asked to chew as naturally as possible. Sample dimensions were the same as in the PTR-MS study.

#### **2.5. Data analyses**

Statistical analyses were carried out with Fizz Traitement software (Version 2.47A, Biosystemes, France) for sensory data and XLStat software (Version 2010.4.02, Addinsoft, France) for other data.

##### 2.5.1. Breads properties

A one-way analysis of variance (ANOVA,  $p < 0.05$ ) followed by a multiple comparisons test (Fisher's LSD test,  $p < 0.05$ ) was used to assess differences in properties among bread types. A multiple factor analysis (MFA) was used to examine bread structural properties (density, water content, and Young's modulus) and the initial volatile fingerprints (*in vitro* PTR-MS data) for CO samples for the nine bread types.

##### 2.5.2. Relative contribution of VOCs to target ions

To follow VOCs release and not only fragments, it was necessary to relate with statistical models VOCs and ions. For that, we selected precursors VOCs using the literature and the results of the GC-

MS analysis (Biasioli *et al.*, 2003; Buhr *et al.*, 2002; Lindinger *et al.*, 1998; Mayr, Märk, Lindinger, Brevard, & Yeretian, 2003; Španěl, Van Doren, & Smith, 2002; van Ruth, Boscaini, Mayr, Pugh, & Posthumus, 2003; Wang, Španěl, & Smith, 2004). The  $m/z$  47 and 97 ions can only be produced by the fragmentation of ethanol and furfural, respectively. However, the other ions can result from several different VOCs (ranging from three to ten). Therefore, to identify the VOC that most contributed to producing a given ion, it was assumed that the contribution depended on the amount of the VOC in the sample, VOC volatility, and the VOC's proportion of fragmentation into the target ion. We estimated VOC volatility using Henry's law constant ( $\text{atm}\cdot\text{m}^3/\text{mole}$ ), which was calculated with the Bond contribution method in 25°C water (EPI Suite, US Environmental Protection Agency, USA). We used the VOC's proportion of fragmentation observed in pure solution (Biasioli *et al.*, 2003; Buhr *et al.*, 2002; Lindinger *et al.*, 1998; Mayr *et al.*, 2003; Španěl *et al.*, 2002; van Ruth *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2004). When no F was found in literature, we choose to maximize the contribution of this molecule to 100.

The respective contribution of the VOC  $x$  to the ion  $y$  can be given by the equation (1):

$$\% \text{ contribution } (x, y) = 100 \times \frac{AUC_x \times V_x \times F_{x,y}}{\sum_1^N AUC_i \times V_i \times F_{i,y}} \quad (1)$$

where  $N$  is the number of molecules, AUC is the area under the curve obtained by GC-MS,  $V$  is volatility and  $F$  is the proportion of fragmentation of VOC  $x$  to ion  $y$ .

To confirm that this value was consistent, a simple linear regression was performed between the intensity of the ion  $y$  and  $X$ , the sum of the corrected AUCs (equation (2)).

$$X = \sum_1^N AUC_i \times V_i \times F_{i,y} \quad (2)$$

A linear regression was performed using the data on the 40 bread types, by bootstrapping 30 randomized lines (1000 iterations). The  $R^2$  distributions of these linear regressions were plotted, and the mean  $R^2$  was calculated.

The % contribution was weighted by the percentage of  $y$  explained by  $X$  as expressed by the  $R^2$  value (when mean  $R^2 > 0.5$ ) according to the following equation (3):

$$\% \text{ contribution } (x, y) = 100 \times R^2 \times \frac{AUC_x \times V_x \times F_{x,y}}{\sum_1^N AUC_i \times V_i \times F_{i,y}} \quad (3)$$

This parameter was calculated for each bread type. The means and standard deviations of the nine bread types in the *in vivo* study are presented in **Table III.4-3**.

### 2.5.3. Kinetics of ion release

Ion release curves were drawn using PTR-MS software (Ionicon Analytik, Innsbruck, Austria). The background noise was removed by subtracting the mean signal for the ambient air and the mean signal for the participant's breath from the signal obtained during oral processing. Since the objective was to compare ion release kinetics among bread types, arbitrary units (intensity in ion counts per second [cps]) were used. The following variables were calculated from each individual release curve and for each ion: maximum intensity ( $I_{\text{max}}$ ), the time at which maximum intensity occurred ( $T_{\text{max}}$ ), and the total area under the curve (AUC). A three-way ANOVA followed by a multiple comparisons

test was performed using the PTR-MS data ( $p < 0.05$ , Fisher's LSD test). The model included bread type (the nine breads), sample type (CO vs. CC), participant identity (ID), and the following interactions: bread type\*sample type, bread type\*participant ID, and sample type\*participant ID. Since the differences between the CO and CC samples were highly significant, we also performed two-way ANOVAs on the CO and CC datasets separately to study the differences among bread types; the models included bread type, participant ID, and bread type\*participant ID.

#### 2.5.4. TDS data

Sensation dominance, expressed as a percentage, was calculated at each point in time: it was the relative frequency of a given attribute being described as dominant by the participants. These percentages were smoothed using the Bézier procedure in Fizz Traitement software and were plotted against standardized time (0 = start of mastication and 100 = end of perceived sensations). The curves for all the attributes were plotted on the same graph, along with the “chance level” line and the “significance level” line (Pineau *et al.*, 2009).

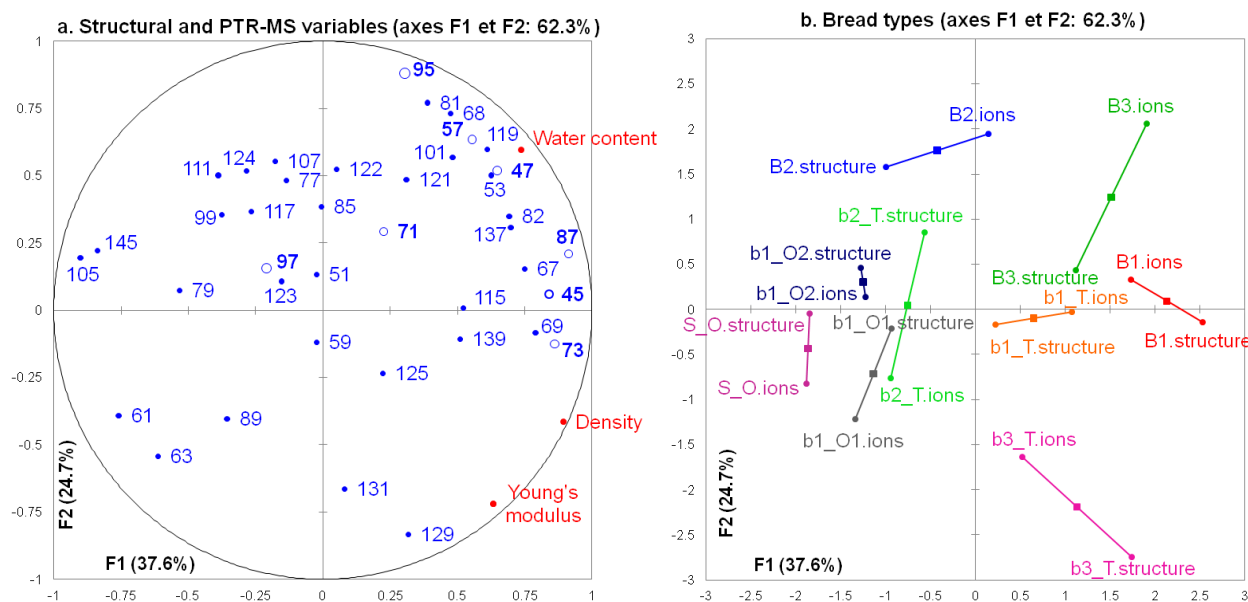
#### 2.5.5. EMG data

The following variables were calculated from the EMG curves: number of bites, chewing frequency ( $s^{-1}$ ), mean burst duration (ms), mean EMG activity (mean of the peak areas per masticatory cycle averaged across the four muscles;  $\mu V.s$ ) and total EMG activity (sum of the peak areas for all the masticatory cycles averaged across the four muscles;  $mV.s$ ) (Tournier, Grass, Septier, Bertrand, & Salles, 2014). A three-way ANOVA followed by a multiple comparisons test ( $p < 0.05$ , Fisher's LSD test) was performed; the model included bread type, sample type, participant ID, and all possible interactions.

### **3. Results**

#### **3.1. Bread crumb properties**

The nine breads differed in the structural properties and VOC profiles of their crumbs (Table III.4-1 and Figure III.4-1). Figure III.4-1 displays the results of the MFA, notably the variable correlation circle (Figure III.4-1.a) and bread position along axes 1 and 2 (Figure III.4-1.b). Bread types B1, B2, and B3 had significantly higher crumb water content than the other bread types. They had also larger amounts of the main VOC ion fragments. Bread type b3\_T, a traditional bread from a bakery (b3), had the firmest, densest crumb. Breads B2 and S\_O had the least dense crumb. On average, the crumb of the three ordinary breads (b1\_O1, b1\_O2, and S\_O) was less dense and dryer than that of the three traditional breads (b1\_T, b2\_T, and b3\_T). Moreover, the ordinary breads had very similar crumb structures and VOC profiles; the traditional breads showed greater differentiation. Among the par-baked breads, breads B1 and B3 were similar in crumb structure, while breads B2 and B3 had similar crumb VOC profiles.



**Figure III.4-1: Correlation circle (a) and the graphical representation of bread type features (b) along axes 1 and 2 in the multiple factor analysis (MFA) performed on structural data (in red) and PTR-MS data (in blue) for the crumb of the nine bread types.**

The target ions from the *in vivo* analyses are represented with open symbols.

### 3.2. Relative VOC contributions to target ions

To identify the ions to monitor, the contributions of each VOC to ion production were determined based on the linear regression between the amount of a given ion, as measured by PTR-MS, and the sum of the amount of contributing VOCs, as measured by GC-MS (Table III.4-3). The calculations were based on data for the crumb samples of the nine bread types. As expected,  $m/z$  47 was closely associated with ethanol ( $R^2 = 0.78$ ); indeed, it is the main ion produced by the protonation of ethanol during PTR-MS (Buhr *et al.*, 2002; Fiches *et al.*, 2016). This result confirms that it is possible to relate the GC-MS data to the PTR-MS data. The  $R^2$  values of the linear regressions for  $m/z$  57 and 87 were significantly higher than 0.5, suggesting that each set of VOCs explained most of the variability in each ion's abundance. For example,  $m/z$  57 could result from any one of 10 VOCs found in bread crumb, but in this study, it was mainly related (58%) to 2-methyl-1-propanol, which was found in the nine bread types used. This VOC is produced during fermentation, occurs in large quantities in bread crumb, and is associated with sensory notes such as "glue", "alcoholic", "wine-like", and "malty" (Pico, Gómez, Bernal, & Bernal, 2016). The  $m/z$  87 ion seems to result from 2-methylbutanal (34%) and 3-methylbutanal (15%). In the crumb, these compounds are mainly produced during fermentation (via the Ehrlich pathway); they are also known as Maillard compounds. (Birch, Petersen, & Hansen, 2014) They have been identified as key odorants in baguette crusts with "malty", "almond", and "roasted" notes (Pico *et al.*, 2016; Zehentbauer & Grosch, 1998a). For  $m/z$  45 and 73, the  $R^2$  values were higher than 0.5 but not significantly so. Some hypotheses may nonetheless be proposed. The  $m/z$  45 ion could mainly be produced by acetaldehyde, as observed in other studies (Lindinger *et al.*, 1998; Makhoul *et al.*, 2014; Ting *et al.*, 2015). The  $m/z$  73 ion could be generated by 2-butanone and 2-methylpropanal, compounds produced by fermentation or Maillard reactions. Finally, the regression results were not significant for  $m/z$  71, 95, and 97.



**Table III.4-3: Relative contribution of VOCs (with molar mass M) to corresponding ion fragments. This percentage was calculated based on VOC volatility (V), VOC proportion of fragmentation into the corresponding ion (F), and the mean R<sup>2</sup> for the linear regression between X (summed amount of VOCs as measured by GC-MS) and Y (the amount of ion released *in vitro* as measured by PTR-MS).**

Compounds were identified based on their linear retention indices and mass spectra. We used a mass standard MS database: the Wiley Registry of Mass Spectral Data. Identification was not confirmed by standard injection. The volatility (V) was characterized using Henry's law constant (the partition coefficient of VOCs between air and water at 25°C), and calculated using the EPI Suite's experimental database. The proportion of fragmentation (F) was taken from the literature. When unavailable, the maximum coefficient was used (100, in italics). SD = standard deviation of R<sup>2</sup>.

m/z	VOC	M (g.mol <sup>-1</sup> )	V (atm.m <sup>3</sup> /mol)	F (%)	R <sup>2</sup>	SD	% contribution
45	acetaldehyde	44	6.78E-05	100 <sup>25</sup>	0.520	0.077	43 ± 5
	2-methylbutanal	86	1.59E-04	32 *			8 ± 5
	2-pentanone	86	8.73E-05	82 <sup>9</sup>			<1
	2-heptanol	116	2.34E-05	100			<1
47	ethanol	46	5.67E-06	70 <sup>9</sup>	0.780	0.049	78
57	2-methyl-1-propanol	74	9.99E-06	100 <sup>28</sup>	0.823	0.079	58 ± 24
	2-propenal	56	3.58E-05	100 <sup>25</sup>			10 ± 13
	nonanal	142	4.93E-04	9 <sup>9</sup>			6 ± 19
	1-butanol	74	9.99E-06	90 <sup>9</sup>			<5
	1-pentanol	88	1.33E-05	89 <sup>9</sup>			<5
	1-hexanol	102	1.76E-05	16 <sup>9</sup>			<5
	1-hydroxypropan-2-one	74	1.73E-06	20 *			<1
	1-heptanol	116	2.34E-05	100			<1
	2-heptanol	116	2.34E-05	100			<1
1-octen-3-ol	128	2.31E-05	3 <sup>9</sup>	<1			
71	2-butenal	70	5.61E-05	100 <sup>28</sup>	0.318	0.096	
	3-hydroxybutan-2-one	88	1.03E-05	100			
	2-methylbutanol	88	1.33E-05	100			
	3-methylbutanol	88	1.33E-05	39 <sup>9</sup>			
	2-pentanol	88	1.33E-05	39 <sup>25</sup>			
73	2-butanone	72	6.58E-05	100 <sup>9</sup>	0.609	0.126	38 ± 8
	2-methylpropanal	72	1.20E-04	100 <sup>28</sup>			18 ± 10
	tetrahydrofuran	72	8.43E-05	77 <sup>26</sup>			<5
87	2-methylbutanal	86	1.59E-04	49 *	0.622	0.116	34 ± 9
	3-methylbutanal	86	1.59E-04	10 *			15 ± 6
	pentanal	86	1.59E-04	5 <sup>9</sup>			9 ± 11
	2-pentanone	86	8.73E-05	85 <sup>9</sup>			<5
	2,3-butanedione	86	1.97E-07	89 <sup>9</sup>			<1
	3-methylbut-3-en-1-ol	86	1.55E-05	1 *			<1
	1-penten-3-ol	86	9.88E-06	100			<1
	2-penten-1-ol	86	1.17E-05	100			<1
95	methylpyrazine	94	3.22E-06	100 *	0.185	0.120	
	phenol	94	5.61E-07	98 *			
	2,3-pentanedione	100	2.62E-07	3 *			
97	furfural	96	3.77E-06	96 *	0.429	0.131	

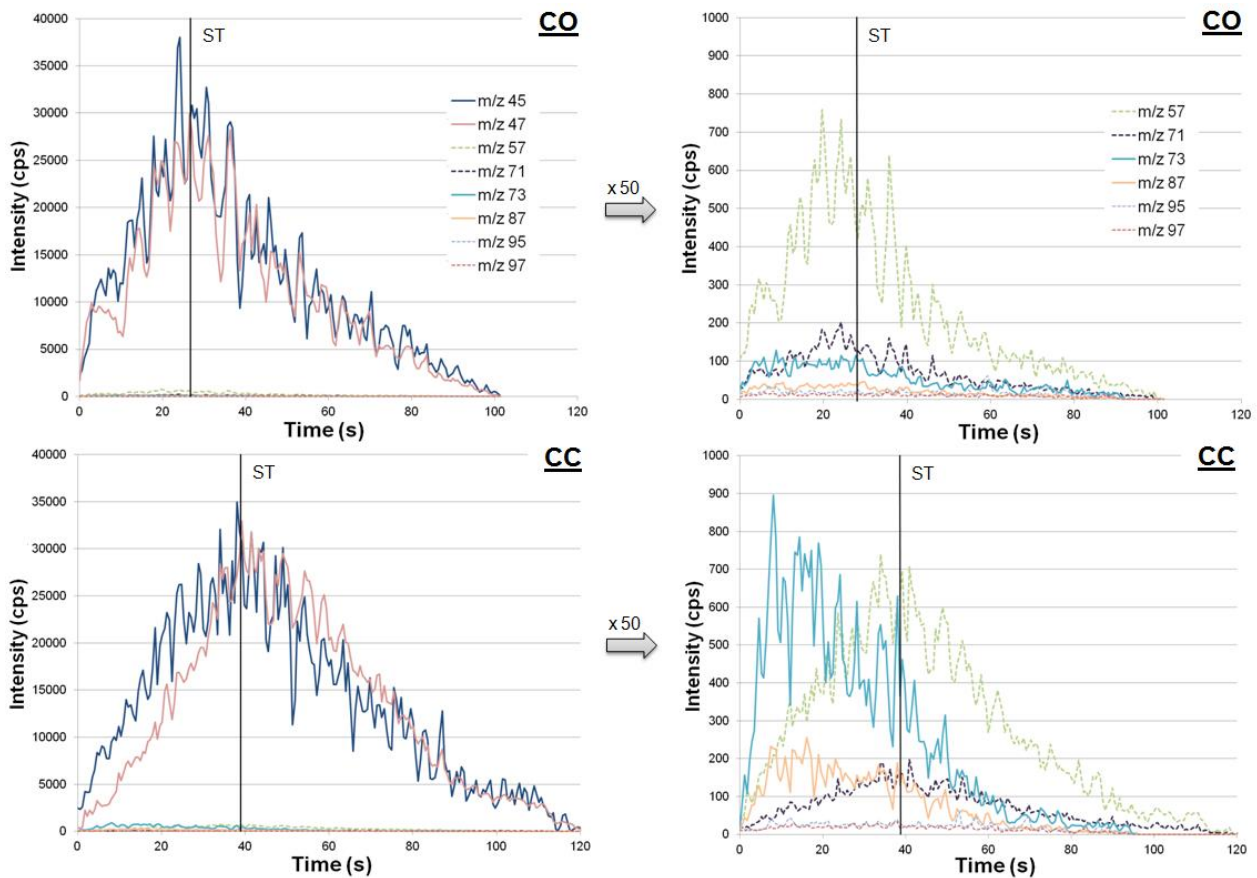
\*IONICON Analytik GmbH data (2008)



### 3.3. *In vivo* release

#### 3.3.1. Differences in ion release dynamics

In **Figure III.4-2**, an example of the mean release curves for the different ions across all the participants is provided; the data come from the B1 CO and CC samples. Ion release kinetics differed for the different bread types. The intensities of the  $m/z$  45, 47, 57, and 71 ions rose progressively from the time the sample was introduced into the mouth until it was swallowed; they peaked at swallowing for both sample types. Since release dynamics were the same for the CO and CC samples, it appears that the presence of crust did not impact their release. Consequently, these ions can be seen as crumb markers. In contrast,  $m/z$  73 and 87 release differed between the CO and CC samples: it was close to nine times higher when crust was present. Moreover, the ions' intensities peaked at the beginning of mastication, just after the sample entered the mouth. Then, they decreased slightly and were not impacted by swallowing. These ions can thus be seen as crust markers. The  $m/z$  95 and 97 ions occurred at very low levels in both the CO and CC samples ( $RSB < 1.5$ ), so their results were not analyzed further.



**Figure III.4-2: Example mean release curves for the eight target ions; they were generated using data for crumb-only (CO) and crumb-with-crust (CC) samples of bread type B1.**

Intensity (in counts per seconds [cps]) was plotted against consumption time (s). The mean swallowing time (ST) is indicated by the vertical line.

3.3.2. Differences in VOC release among bread types and sample types

Maximum ion release intensities were determined for each participant for all the bread types and sample types (Figure III.4-3). We observed differences in release profiles among breads for all the ions detected in the CO and/or CC samples. In the CO samples, the par-baked breads, especially B1 and B3, had the highest maximum intensities for the crumb markers ( $m/z$  45, 47, 57, and 71). This result makes sense, given that the initial VOC profiles for the CO samples of these breads were rich in  $m/z$  45, 47, and 57 (Figure III.4-1). In the CC samples, the par-baked breads had the lowest maximum intensities for the crust markers ( $m/z$  73 and 87). Their crusts were probably poorer in Maillard compounds than those of the other breads. The intensities of  $m/z$  73 and 87 were highest in bread b1\_O2, suggesting, for example, it was subject to more intensive baking than the others. Finally, there was no clear distinction between ion intensities in ordinary versus traditional breads for either the CO or CC samples.

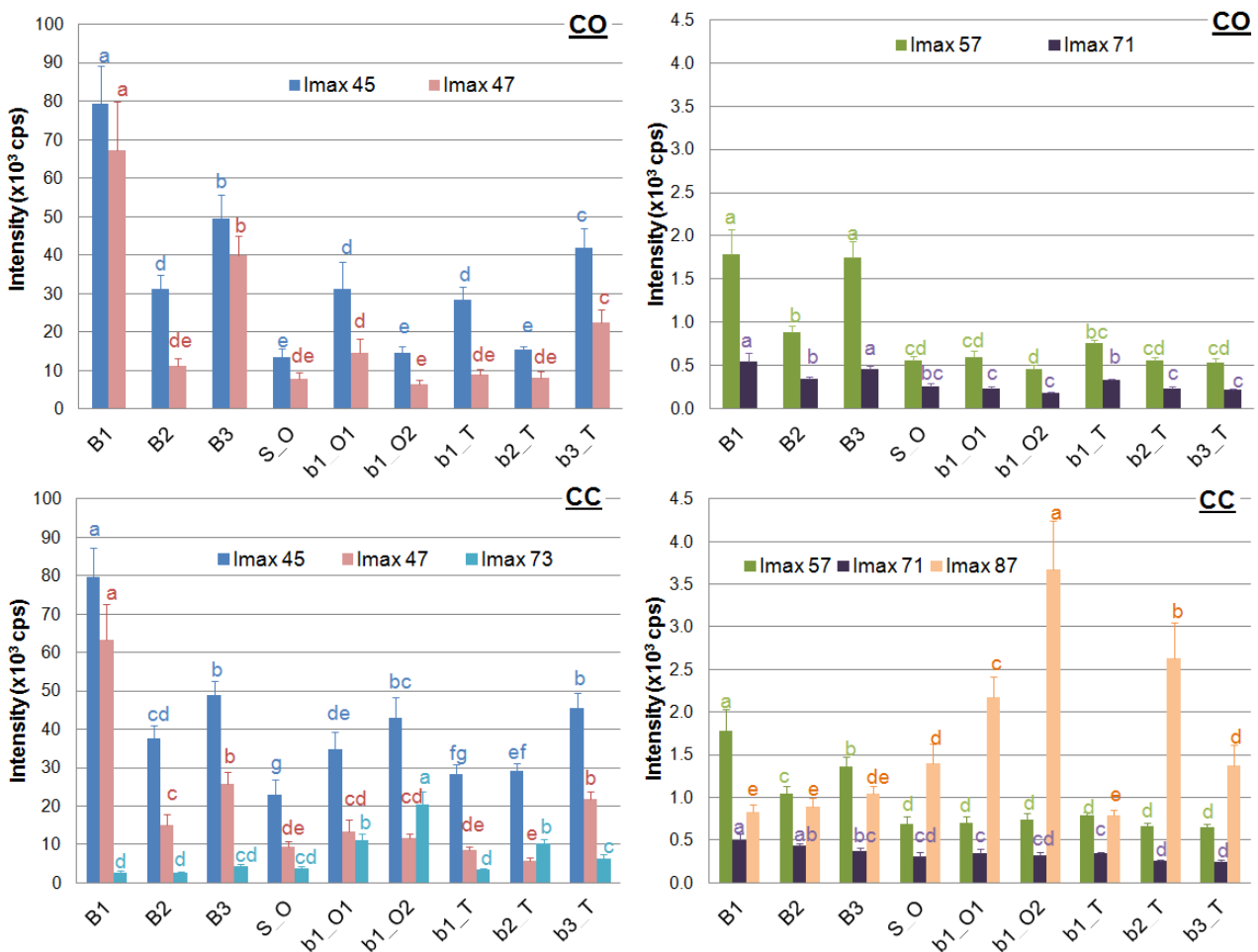
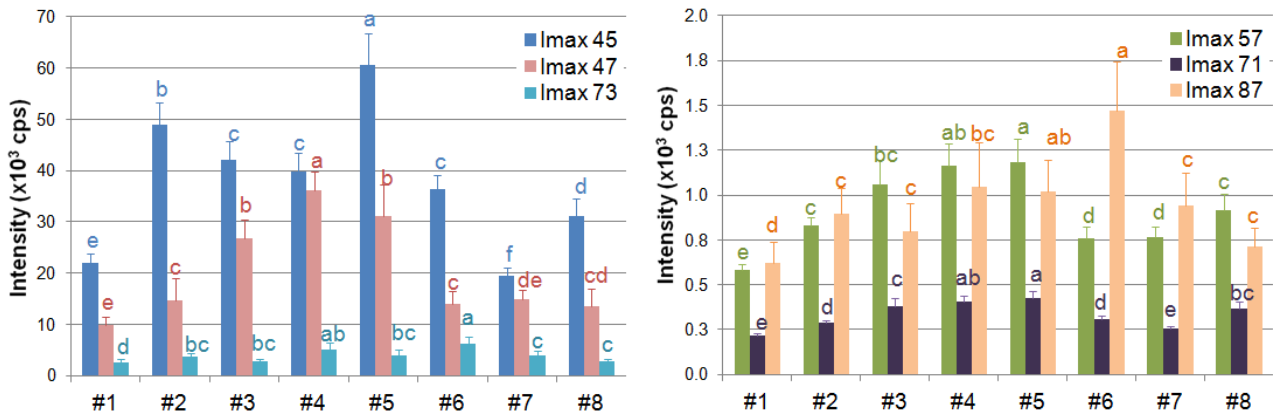


Figure III.4-3: Mean maximum intensities ( $I_{max}$ , in cps) and the associated standard errors ( $n=24$ ) for the nine bread types (for crumb-only [CO] or crumb-with-crust [CC] samples).

The letters a through e indicate when means differed significantly among bread types (Fisher's LSD test;  $p < 0.05$ ).

### 3.3.3. Differences in ion release among participants

Individuals differed in their ion release dynamics (**Figure III.4-4**). Participants #1 and #7 had low maximum intensities for all the ions (except  $m/z$  87 with medium intensity), whereas the opposite was true for participants #2, #3, #4, and #5. Participants #6 and #8 had intermediate maximum intensities across the board, but the highest intensity of  $m/z$  87 for participant #6.



**Figure III.4-4: Mean maximum intensities (Imax, in cps) and the associated standard errors (n=54) for the eight study participants.**

The letters a through e indicate when means differed significantly among participants (Fisher's LSD test;  $p < 0.05$ ).

### 3.4. Chewing behavior dynamics

Using EMG, the chewing behavior of three participants (#1, #3, and #8) was characterized as they consumed CO and CC samples of the three par-baked breads (B1, B2, and B3) (**Table III.4-4**). As expected, some differences were observed between the CO and CC samples. When crust was present, the mean number of bites increased 1.25 to 1.5 times, and the mean activity required to break down the CC versus the CO samples was 2-fold higher. The three par-baked breads also showed significant differences, which seemed to be driven by bread density and crumb firmness. The densest and firmest bread—B1—was associated with the greatest number of bites, the lowest chewing frequency, the highest mean burst duration, and the highest mean and total EMG activity for both the CO and CC samples (data not shown). Finally, the participants differed in their chewing behavior. Participant #1 was a slow eater and displayed an intermediate level of EMG activity. It appears that this individual did not adapt her chewing behavior to sample type because she showed no difference in chewing frequency or mean burst duration for the CO versus the CC samples. Participant #3 was also a slow eater but displayed a high level of EMG activity. Participant #8 consumed all the samples faster than did the two others and had a low level of EMG activity. His mean burst duration was higher than that of the other two, which was suggestive of a different oral management strategy.

**Table III.4-4: Values of chewing behavior variables for three study participants consuming crumb-only (CO) and crumb-with-crust (CC) samples of B1, B2, and B3 breads; electromyography was used.**

Mean and standard deviation of bite number, chewing frequency, mean burst duration, mean EMG activity, and total EMG activity. The letters a through e indicate when means differed significantly for participants and samples (Fisher's LSD test;  $p < 0.05$ ).

		CO samples			CC samples		
		Panelist #1	Panelist #3	Panelist #8	Panelist #1	Panelist #3	Panelist #8
Bite number	-	49 ± 6 <i>b</i>	41 ± 2 <i>c</i>	25 ± 3 <i>e</i>	61 ± 7 <i>a</i>	61 ± 6 <i>a</i>	34 ± 4 <i>d</i>
Chewing frequency	s <sup>-1</sup>	1.46 ± 0.06 <i>ab</i>	1.34 ± 0.08 <i>c</i>	1.40 ± 0.07 <i>b</i>	1.47 ± 0.04 <i>a</i>	1.41 ± 0.09 <i>ab</i>	1.46 ± 0.07 <i>a</i>
Mean burst duration	ms	284 ± 16 <i>d</i>	339 ± 19 <i>b</i>	381 ± 31 <i>a</i>	274 ± 17 <i>d</i>	310 ± 9 <i>c</i>	326 ± 15 <i>b</i>
Mean EMG activity	μV.s	26 ± 7 <i>c</i>	29 ± 6 <i>c</i>	17 ± 2 <i>d</i>	44 ± 4 <i>b</i>	59 ± 7 <i>a</i>	39 ± 1 <i>b</i>
Total EMG activity	mV.s	1.30 ± 0.41 <i>c</i>	1.22 ± 0.26 <i>c</i>	0.44 ± 0.09 <i>d</i>	2.66 ± 0.38 <i>b</i>	3.60 ± 0.70 <i>a</i>	1.33 ± 0.41 <i>c</i>

### 3.5. Dynamics of perceptions of the three parbaked breads

The dynamics of the dominant sensations associated with the CO and CC samples of the three parbaked breads (B1, B2, and B3) were characterized using the TDS method (Figure III.4-5). These three breads were used because they are well characterized, especially with regards to their bolus properties (Jourdren *et al.*, 2016a; 2016b; 2017). Therefore, clarifying how these breads break down during oral processing could enhance our understanding of perception dynamics. The results show that the different bread types and sample types resulted in different sensations over time.

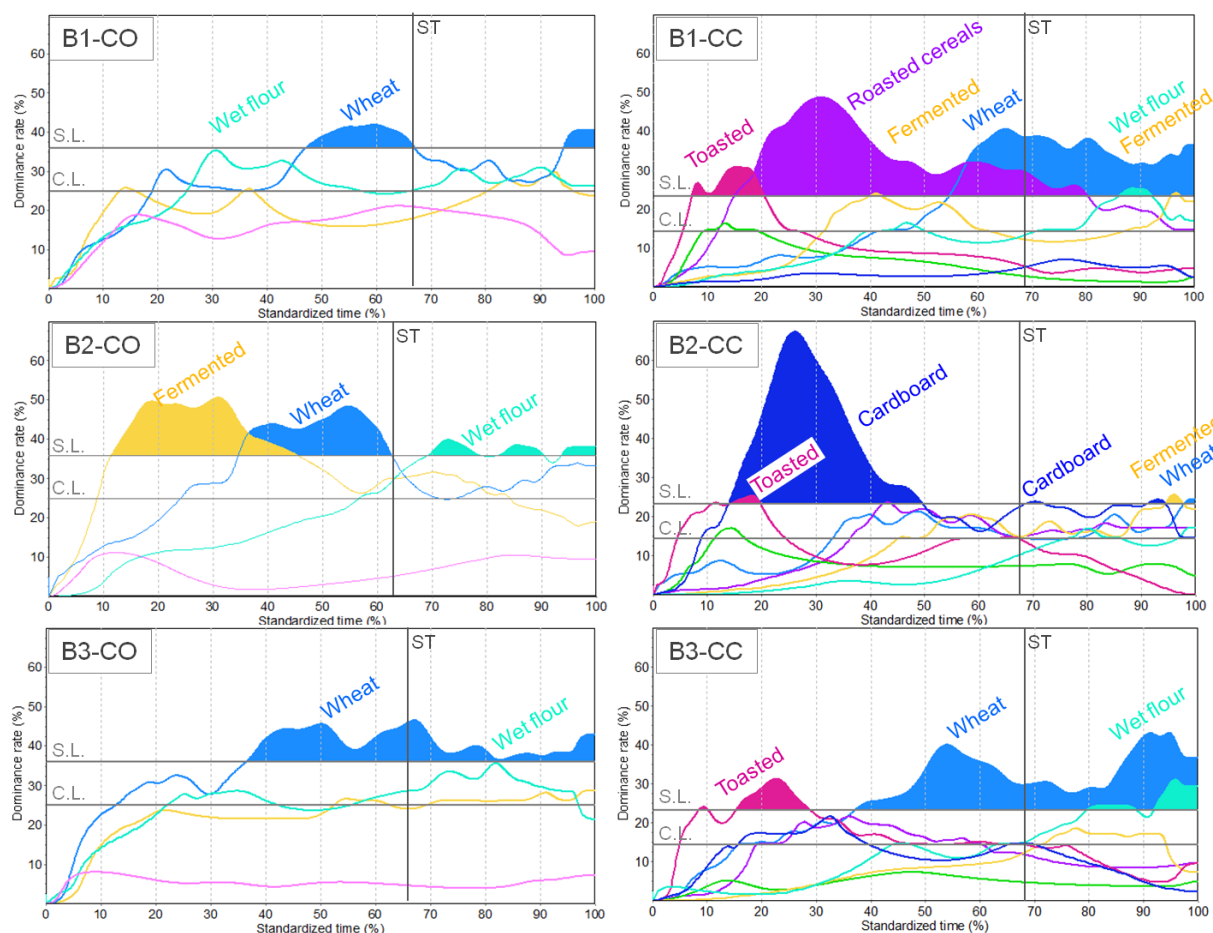
When participants consumed the CO samples, they perceived all three breads as having dominant “wheat” notes just before swallowing. Furthermore, bread B2 conveyed a dominant “fermented” sensation at the beginning of consumption. Otherwise, there was no agreement among participants with regards to the dominant sensations experienced until the intermediate phase of crumb consumption. After swallowing, “wet flour” and “wheat” notes persisted in association with breads B2 and B3, respectively.

When participants consumed the CC samples, they attributed a greater number of dominant attributes to the breads. At the beginning of consumption, they perceived the three breads as having dominant “toasted” notes. As oral processing proceeded, “roasted cereals” and “cardboard” notes emerged for breads B1 and B2, respectively. For breads B1 and B3, the dominance of “wheat” emerged prior to swallowing, as for the CO samples. In contrast, there were no commonalities between B2 CO and CC samples.

## 4. Discussion

### 4.1. VOC contribution to ion fragments

To our knowledge, this study is the first to statistically relate ion fragment data obtained using PTR-MS to VOC data obtained using GC-MS with the purpose of quantitating the contributions of VOCs to ion fragments. An important caveat is that the relationships described here are only applicable to the study food: French baguette crumb. For  $m/z$  71, 95, and 97, the linear regressions were not significant. There could be different explanations for this finding: (i) all the VOCs capable of generating these ions were not included in the statistical models; (ii) background noise (i.e., excessive variability) could be obscuring the relationship given that both the ions and the VOCs occurred at low levels; and/or (iii) some of the VOCs could display a lesser affinity for the purge-and-trap sorbent (i.e., Tenax<sup>®</sup>), skewing their abundance and ratios relative to their actual occurrence in bread (Maeda *et al.*, 2009). However, for five of the target ions, the coefficients of determination were high enough that a percentage contribution could be calculated. The results are consistent with those found with data on baker’s yeast starters obtained via PTR-MS utilizing a time-of-flight mass analyzer (Makhoul *et al.*, 2014); however, the latter study focused exclusively on VOCs produced during fermentation. In this study, the VOCs produced during both fermentation and baking were examined. These statistical analyses have helped clarify the dynamics behind the ion fragments generated by complex food products such as bread; it has also shown that ion fragments are not always related to a VOC’s protonated ion.



**Figure III.4-5: Temporal patterns of sensation dominance for crumb-only (CO) samples (on the left) and crumb-with-crust (CC) samples (on the right) during consumption.**

Time was standardized (% of time available for perception). SL = significance line; CL = chance line; ST = swallowing time.

#### 4.2. Impact of bread structure and composition on *in vivo* aroma release

As expected, the release of crumb markers (i.e.,  $m/z$  45, 47, 57, and 71) during crumb consumption was influenced by the crumb's initial VOC profile. In breads B1, B2, B3, and b1\_T, both the initial content and intensity of crumb markers were high. Furthermore, the release of crumb markers was also impacted by crumb firmness. Indeed, breads with high Young's modulus values, such as b3\_T or b1\_O1, also displayed high intensity values for crumb markers, even though these markers were present at intermediate or low levels. The greater release of crumb markers in breads with firm crumb could be explained by the fact that firm breads induced more intense chewing activity. This result concurs with results found for model cheeses varying in hardness (Tarrega *et al.*, 2008). So, the high degree of muscular activity associated with firm crumbs (Gao, Wong, Lim, Henry, & Zhou, 2015) could lead to a more thorough breakdown of the food product and thus result in greater ion release. When crust was present, there was a large release of crust markers ( $m/z$  73 and 87). Indeed, crust markers had a greater rate of release than did crumb markers. Structural differences between the crumb and the crust could be at the origin of this observation. The soft and elastic crumb is surrounded by the rigid and brittle crust (Chaunier, Chiron, Della Valle, & Saulnier, 2008; Scanlon & Zghal, 2001). During consumption, the crust is probably broken down more rapidly than the crumb

due to its placement on the bread's surface and its brittle structure, thus leading to a faster release of crust markers.

To conclude, in addition to initial VOC profile, crumb firmness and, in all likelihood, crust brittleness are important factors that can impact the *in vivo* release of VOCs. They should therefore be accounted for when designing the aromatic properties of breads.

#### 4.3. Impact of chewing behavior on *in vivo* aroma release

It is well known that individuals vary in their oral processing and thus release aromas differently (Gierczynski *et al.*, 2008; Repoux, Sémon, Feron, Guichard, & Labouré, 2012). Mastication, saliva volume, and saliva composition all have a major impact (van Ruth & Roozen, 2000). To delve further into aroma release dynamics, we studied the chewing behavior of three of the participants in the *in vivo* study. The results revealed that greater muscular activity appears to release greater amounts of VOCs. However, although a previous *in vitro* study (Jourden *et al.*, 2017) had found that the volume of saliva added to the bolus plays a key role in limiting aroma release, the links were not obvious here. In fact, contrary to expectations, participant #3, who had a more hydrated bolus than did participants #1 and #8, also showed more intense chewing activity and greater levels of ion release (bolus data come from a previous study involving the same three subjects (Jourden, Panouillé, *et al.*, 2016a)). Thus, under *in vivo* conditions, mastication appears to have a greater effect on aroma release than does salivation. However, this result must be confirmed with a greater number of subjects. In summary, participant physiology affects VOC release. More specifically, intense chewing activity releases greater amounts of VOCs in the oronasal cavity. However, the differences in VOC release were more dramatic among bread types than among participants. A study involving a larger number of subjects would be required to validate these results.

#### 4.4. Impact of *in vivo* aroma release on perception dynamics

Differences in the release of crumb and crust markers could explain the perception dynamics observed via TDS. It was difficult to link a specific marker with a specific attribute, because a perceived aroma is the result of a combination of several VOCs, and all the compounds responsible for generating aroma perceptions were not monitored. Nonetheless, some relationships could be established at the level of sample type. Crumb markers such as acetaldehyde ( $m/z$  45), ethanol ( $m/z$  47), and 2-methyl-1-propanol ( $m/z$  57) were progressively released until a sample was swallowed, which is when they reached maximum intensity. They could thus contribute to dominant sensations at the end of the mastication phase and post swallowing. These sensations were associated with crumb-specific attributes such as “wheat”, “wet flour”, or “fermented”. In contrast, when crust was present, crust markers such as Strecker aldehydes (2- and 3-methylbutanal [ $m/z$  87] and 2-methylpropanal [ $m/z$  73]) were released in larger quantities from the beginning of mastication. They likely contributed to initial dominant sensations such as “toasted”, “roasted cereals”, or “cardboard”. However, although the release of crumb markers was generally similar between CO and CC samples, the B2 CC sample was not perceived as having dominant “wheat” and “wet flour” notes like the B1 and B3 CC samples at the end of mastication. For B2, this absence could have resulted from the bread's low-density, elastic crumb structure, rapidly broken crust, or a masking effect of the crust's “cardboard” note.



In conclusion, crumb and crust markers were released at different rates, which apparently led to different sequences of sensation dominance between crumb and crust attributes. Overall, this study underscores that characterizing bread texture is essential to better understanding volatile release dynamics and, thus, the way in which bread aroma is perceived. These results could help inform the development of new bread types (e.g., via yeast selection or customizing specific steps in the bread-making process) that better target consumer needs and desires. To go further with the project, the effect of crumb and crust structure could have been investigated in *in vitro* conditions (e.g. using a model –mouth and applying different break forces), in order to get more insights and to eliminate subject variation in chewing. The ion/flavor release during consumption could have been analyzed with and without chewing, to gain information of static and dynamic flavor release including the effect of saliva.

### **Abbreviations**

APCI-MS, Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry; PTR-MS, Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry; VOC, volatile organic compound; TDS, Temporal Dominance of Sensations; ANOVA, analysis of variance; CO, crumb only; CC, crumb with crust.

### **Acknowledgments**

The authors would like to acknowledge Lesaffre International for providing financial support in the form of a PhD grant. We also thank J. Jeandel for her helpful contributions to the *in vivo* monitoring of aroma release and D. Forest for his technical support. We are grateful to C. Tournier for her precious advice regarding the acquisition and analysis of EMG data. C. Dupuy, E. Guichard, and G. Della Valle are kindly acknowledged for having participated in fruitful discussions with us. Finally, we would like to thank J. Pearce-Duvel for copyediting the manuscript.



**Principaux résultats à retenir (Article 4)**

Le modèle statistique mis en place à partir des compositions aromatiques mesurées par CPG-SM et PTR-MS d'échantillons de mie provenant de 40 baguettes françaises fabriquées à partir de farine de blé et de levure, a permis d'identifier les contributeurs majoritaires de 5 ions suivis sur 8.

Les résultats de libération *in vivo* ont mis en évidence deux types de « marqueurs » : ceux libérés en présence de mie et ceux libérés en présence de croûte. Ces « marqueurs » sont caractérisés par des différences de libération : celle-ci est plus rapide pour les composés « marqueurs » de la croûte que pour ceux de la mie. Ces différences de cinétique conduisent à des dynamiques de perceptions aromatiques différentes entre les attributs liés à la croûte et ceux liés à la mie. Des séquences de dominances communes ont été observées entre les pains, en début de mastication pour les échantillons de mie et croûte avec la dominance de « toasté », et également au moment de la déglutition pour tous les échantillons avec la dominance de « céréales (blé) ». Des notes sensorielles plus spécifiques aux pains étaient observées au milieu de la mastication. En plus de la quantité de molécules volatiles initialement présentes dans la mie, la rigidité de celle-ci est également responsable d'une libération plus intense des composés « marqueurs » de la mie. La structure du pain impacte donc bien la libération des composés volatils, conduisant à des dynamiques de perceptions différentes.

CHAPITRE IV.  
DISCUSSION GENERALE



## Chapitre IV. Discussion générale

Les résultats issus des travaux réalisés dans ce projet de thèse ont permis de mettre en avant des avancées scientifiques, tant au niveau de la connaissance des produits et de leurs comportements au cours du processus oral, qu'au niveau méthodologique. Les objectifs de cette discussion générale sont d'intégrer et de discuter l'ensemble des résultats obtenus ainsi que les différentes méthodologies employées. Dans un premier temps, un résumé des principales conclusions émises dans le chapitre précédent est présenté. Puis une interprétation et une discussion des résultats, centrées sur les variabilités interindividuelles d'une part, puis sur les différences inter-produits d'autre part, sont proposées en intégrant les résultats liés à la texture et à l'arôme des pains. Dans un deuxième temps, les avancées méthodologiques seront discutées.

### **IV.1. Comment expliquer les perceptions de texture et d'arômes à partir des propriétés des pains, de la physiologie des juges et du processus oral ?**

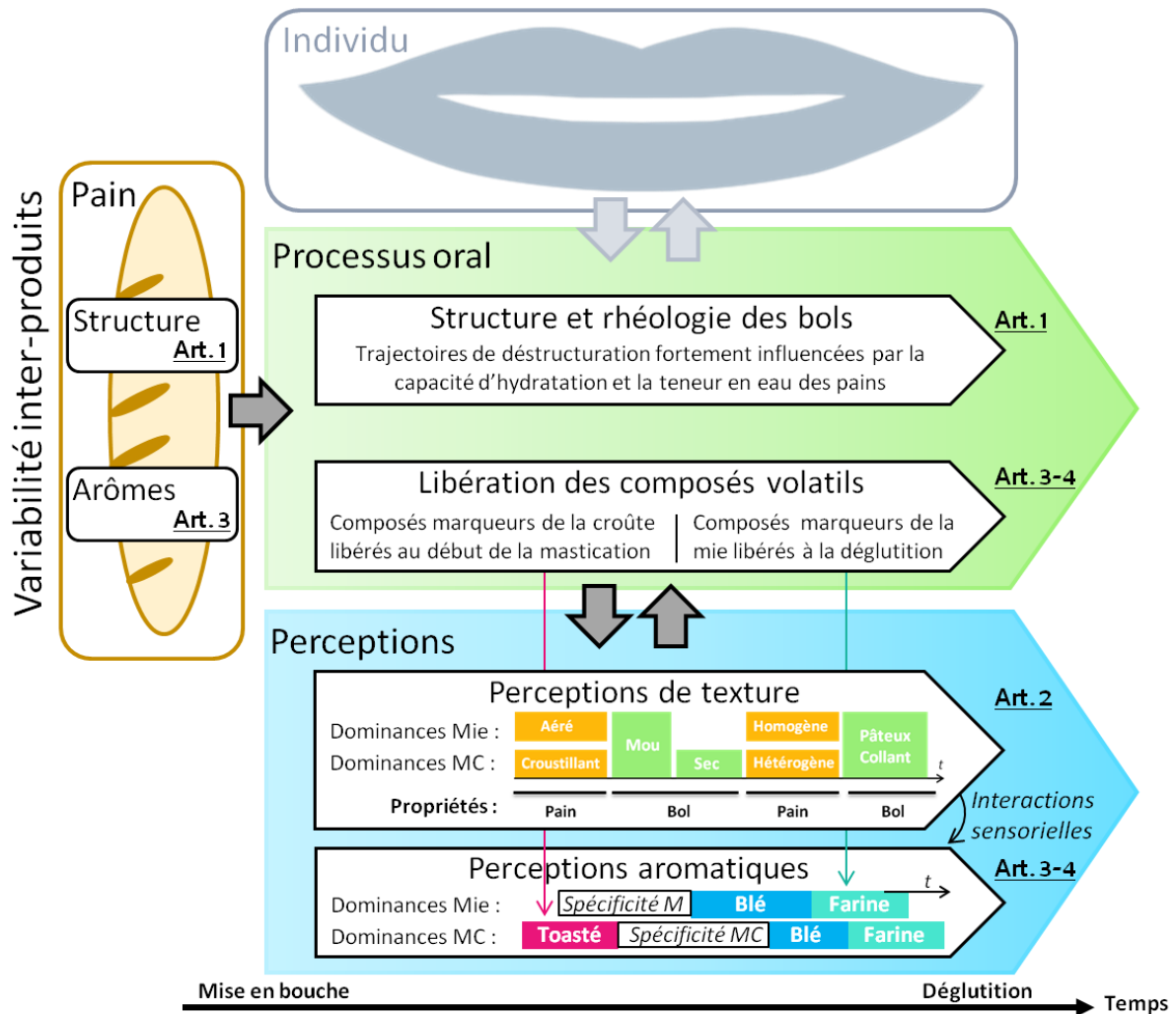
Un premier schéma général, synthétisant les liens et les facteurs impliqués entre les perceptions et les propriétés des pains et des bols, est présenté en **Figure IV.1-1**.

Malgré le caractère multidimensionnel des perceptions de texture, les mécanismes à leurs origines sont plus facilement identifiables que ceux responsables des perceptions d'arômes. Les perceptions de texture peuvent être divisées en deux grandes catégories :

- (i) les attributs affectés en majorité par le processus oral (sec, mou, collant et pâteux), et donc soumis à une forte évolution au cours du temps,
- (ii) les attributs affectés en majorité par la structure du pain (aéré, hétérogène, croustillant), et donc dépendants des propriétés initiales du pain.

L'évolution au cours de la mastication des attributs de la première catégorie est essentiellement impactée par la fermeté du bol, sa teneur en eau et la taille de ses particules. Ces propriétés de bol sont elles-mêmes impactées par les propriétés des pains, comme leur capacité d'hydratation et leur teneur en eau, et par les caractéristiques physiologiques des individus. Les attributs de la deuxième catégorie sont impactés, soit par la structure de la mie (les pains les moins denses sont perçus plus « aérés »), soit par la présence de croûte, avec l'apparition de la notion de « crouillance » et une augmentation du caractère « hétérogène ».

Les perceptions aromatiques sont beaucoup plus impactées par la présence de croûte que les perceptions de texture. Non seulement la croûte apporte de nouvelles molécules aromatiques, mais celles-ci sont libérées plus rapidement que les composés volatils provenant de la mie, conduisant à des dynamiques de perception différentes. La composition aromatique initiale du pain est donc qualitativement importante, mais les quantités effectivement libérées en bouche semblent être principalement influencées par les conditions d'hydratation du bol (plus un bol est hydraté, plus la quantité libérée à l'équilibre sera faible) et par l'activité masticatoire du sujet (une forte activité masticatoire coïncide avec une forte libération). De plus, des interactions sensorielles texture-arômes pourraient intervenir lors de la consommation de la mie seule, conduisant à une meilleure discrimination des produits par les panélistes par rapport aux différences de compositions aromatiques mesurées instrumentalement.

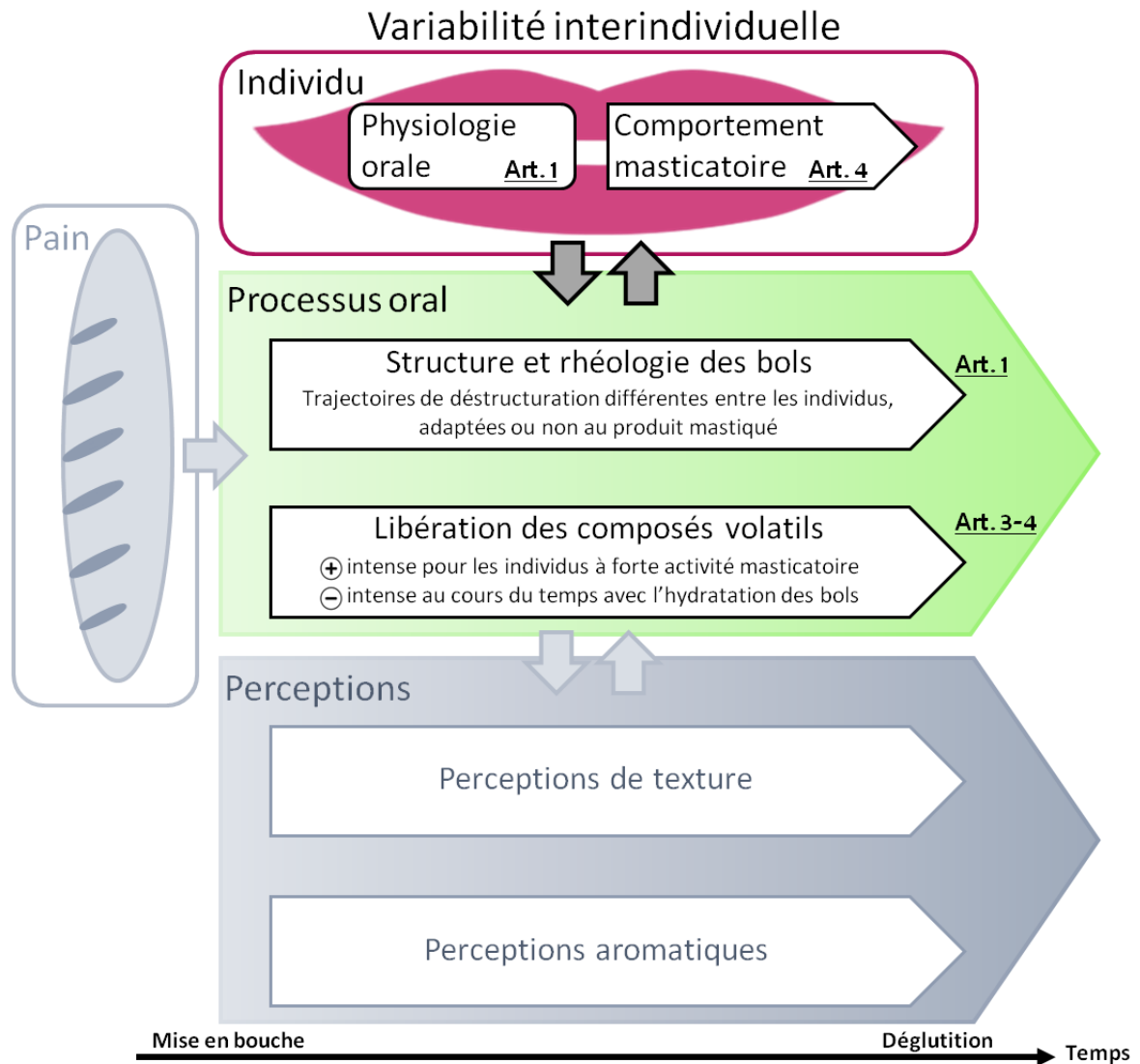


**Figure IV.1-1: Résumé schématique des principaux résultats prenant en compte les variabilités inter-produits**

Un second schéma, résumant les résultats obtenus en lien avec la physiologie orale et le comportement masticator des individus, est présenté en **Figure IV.1-2**.

Dans le chapitre précédent, les caractéristiques physiologiques des individus tels que le temps de mastication, l'efficacité masticator et le volume de la bouche, ont été mis en évidence comme les paramètres, liés à l'individu, les plus impactants pour les propriétés des bols à déglutition. Des trajectoires individuelles de déstructuration du pain ont été observées. Elles révèlent des différences de stratégies masticator entre les individus, certains adaptant leur processus oral au produit mastiqué alors que d'autres non.

Seuls les liens entre variabilité individuelle et processus oral ont jusqu'à présent été discutés. Dans le paragraphe suivant, l'influence de la variabilité individuelle sur les perceptions sera donc présentée.



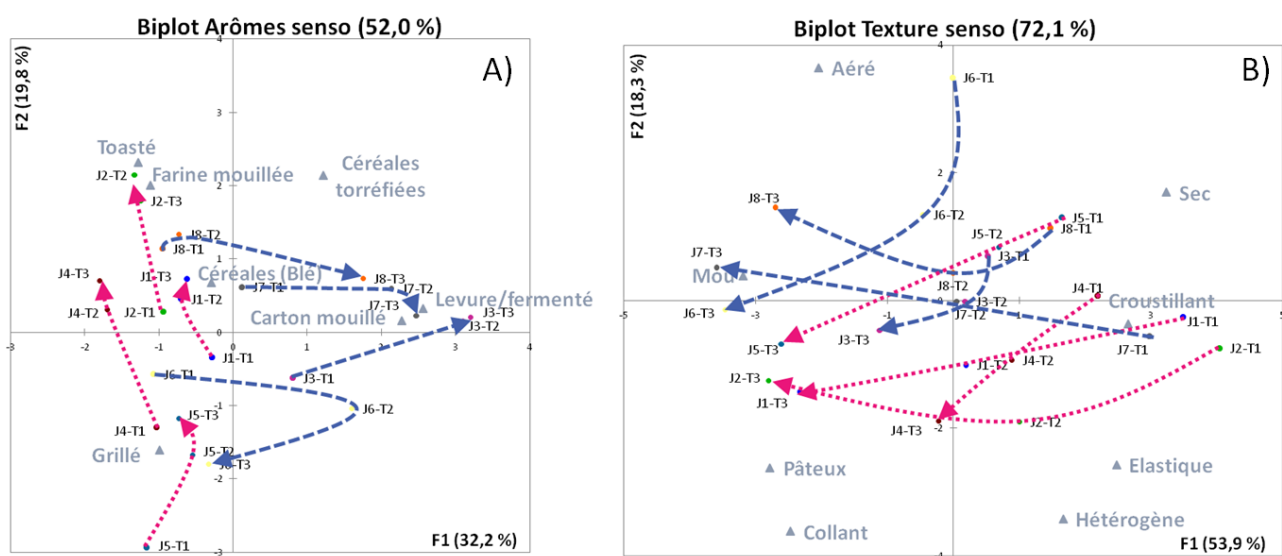
**Figure IV.1-2 : Résumé schématique des principaux résultats prenant en compte les variabilités interindividuelles**

## IV.2. Perceptions sensorielles et variabilité interindividuelle

Au cours des différents travaux de la thèse, la variabilité interindividuelle a été prise en compte par l'étude d'un petit groupe d'adultes en bonne santé (n=8). Ce nombre est légèrement inférieur à ceux retrouvés dans la littérature (entre 10 et 20 individus pour les études du même type [Devezeaux de Lavergne, 2015; Gierczynski *et al.*, 2008; Le Bleis *et al.*, 2016]). Les observations et conclusions apportées par ces travaux de thèse devront donc être validées sur un nombre plus conséquent d'individus.

Cependant, malgré la taille réduite de cet échantillon, des différences ont pu être observées entre les individus du point de vue de la physiologie orale, de la durée de mastication, des propriétés physico-chimiques des bols ou des cinétiques de libération des composés d'arômes. L'analyse des caractéristiques physiologiques des sujets du panel #1, présentée dans la partie III.1, a notamment permis de définir 2 groupes : les sujets ayant plutôt une durée de mastication longue et un faible

indice individuel de mastication (groupe des « masticateurs lents », composé des juges J3, J6, J7 et J8) et les sujets ayant plutôt une courte durée de mastication et un fort indice individuel de mastication (groupe des « masticateurs rapides », composé des juges J1, J2, J4 et J5). Le temps de mastication est un des critères fréquemment retrouvés dans la littérature pour distinguer les comportements masticatoires des sujets (Brown, Langley, Martin, & MacFie, 1994; Devezeaux de Lavergne *et al.*, 2015c). Il a d'ailleurs été montré très récemment que la durée de mastication pouvait induire des différences au niveau des propriétés physico-chimiques des bols à l'origine de différentes dynamiques de perceptions de texture (Devezeaux de Lavergne *et al.*, 2015c). Nous avons donc cherché à savoir si les 2 groupes de sujets percevaient la texture et les arômes du pain de la même façon. Pour cela, les trajectoires sensorielles des 8 sujets ont été tracées sur les cartes ACP obtenues à partir des données des profils progressifs arômes et texture. La **Figure IV.2-1** illustre ces trajectoires avec l'exemple de l'échantillon mie et croûte du pain B1.



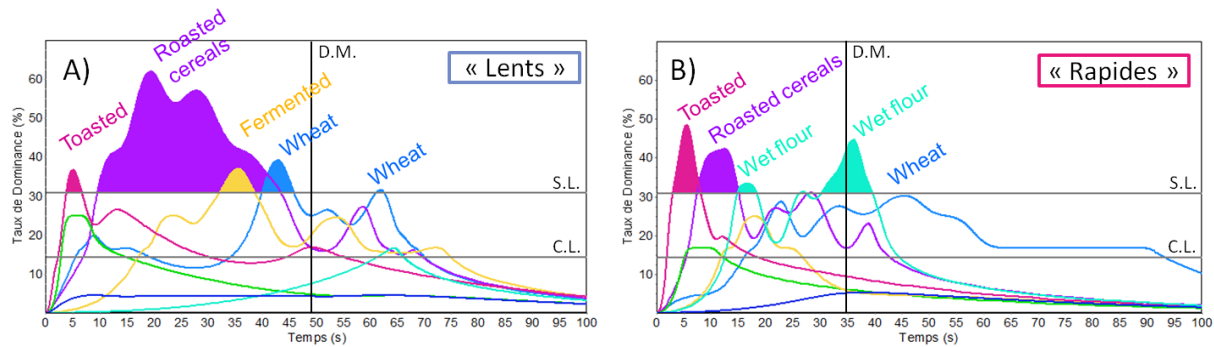
**Figure IV.2-1 : Trajectoires sensorielles de chaque juge pour les perceptions d'arômes et de texture issues du profil progressif pour le pain B1 (mie et croûte). Ces trajectoires ont été tracées sur les biplots obtenus par ACP normées représentant les positions des juges aux 3 temps (T1 = 10 %, T2 = 40 % et T3 = 100 % du temps de mastication) par rapport aux attributs sensoriels.**

Légende : Graphe A) = Arômes ; Graphe B) = Texture ;

Flèches bleues, trait pointillé large = « masticateurs lents », long temps en bouche ;

Flèches roses, trait pointillé court = « masticateurs rapides », court temps en bouche.

Les 2 groupes de sujets présentent des différences de trajectoires sensorielles plus grandes pour les perceptions aromatiques que pour les perceptions de texture. Le groupe des « masticateurs lents » (en bleu, trait pointillé large) est caractérisé par des trajectoires tendant vers les perceptions de « levure/fermenté », « carton mouillé » et parallèles à l'axe 1 pour l'arôme, et tendant vers « mou » pour la texture. D'un autre côté, les 4 sujets appartenant au groupe des « masticateurs rapides » (en rose, trait pointillé court) sont caractérisés par des trajectoires parallèles à l'axe 2 et tendant vers les perceptions de « farine mouillée », « toasté » pour l'arôme et vers « pâteux » et « collant » pour la texture. Ces résultats ont par ailleurs été confirmés par les courbes DTS « arômes » tracées séparément pour les deux groupes de sujets (**Figure IV.2-2**).



**Figure IV.2-2 : Courbes DTS « arômes » du pain B1 (mie et croûte) pour les 4 « masticateurs lents » à gauche et les 4 « masticateurs rapides » à droite, représentant le taux de dominance en fonction du temps non standardisé (en secondes). D.M. = temps de déglutition moyen, S.L. = niveau de significativité, C.L. = niveau de chance.**

Les différences de perceptions entre les 2 groupes ont pu être expliquées par des différences de propriétés des bols au cours de la mastication. En effet, les bols du groupe des « masticateurs lents » sont significativement plus mous (mesures TPA,  $p = 0,035$ ), moins collants (mesures TPA,  $p = 0,0002$ ) et plus riches en eau (mesures de dessiccation,  $p < 0,0001$ ) que ceux du groupe des « masticateurs rapides ». En conclusion, plus le sujet garde longtemps le pain en bouche, plus il va l'hydrater et moins il va le percevoir « collant ». On peut supposer qu'un bol mastiqué plus longtemps sera moins riche en composés d'arômes car il est plus hydraté.

Afin de vérifier cette hypothèse, les résultats issus des mesures de libération des composés d'arômes en conditions *in vivo* (partie III.4), réalisées sur le panel #2, ont été utilisés pour comparer les cinétiques de libération entre « masticateurs lents » (juges #1, #3, #4 et #8) et « masticateurs rapides » (juges #2, #5, #6 et #7). Le premier constat est que, quel que soit l'ion suivi, les « masticateurs lents » atteignent l'intensité maximale de libération au bout d'une durée plus longue que les « masticateurs rapides » ( $T_{max}$  significativement plus élevé pour le groupe des « masticateurs lents »,  $p < 0,05$ ). Ensuite, des différences entre les composés « marqueurs » de la mie et de la croûte ont été observées. Les composés « marqueurs » de la mie ont une intensité maximale plus élevée chez les « masticateurs lents » (tendance non significative) alors que les « marqueurs » de la croûte ont une intensité maximale plus élevée chez les « masticateurs rapides » (significatif pour l'ion  $m/z$  87,  $p < 0,05$ ). L'hypothèse de départ est donc vérifiée pour les « marqueurs » de la croûte, mais ne s'applique pas aux composés de la mie. Pour ces « marqueurs », il semblerait que la libération ait lieu tant que le bol est présent en bouche, provoquant une accumulation plus importante en fin de mastication en cas d'une durée de mastication longue. Au niveau des perceptions aromatiques, il semblerait que les bols moins hydratés soient perçus avec des notes de « farine mouillée » avant la déglutition par les « masticateurs rapides » et que les bols les plus hydratés soient perçus « fermentés » par les « masticateurs lents ». Les différences de temps de mastication impliquent donc des différences de propriétés des bols, conduisant à des libérations de composés d'arômes et des dynamiques de perceptions d'arômes et de texture différentes. Ces résultats sont en accord avec les résultats de [Devezeaux de Lavergne et al. \(2015c\)](#) sur les dynamiques perceptions de texture. De plus, ils montrent l'importance de tenir compte du comportement masticatoire naturel du juge pour étudier les libérations de composés d'arômes si le but est ensuite d'aller expliquer les perceptions aromatiques.

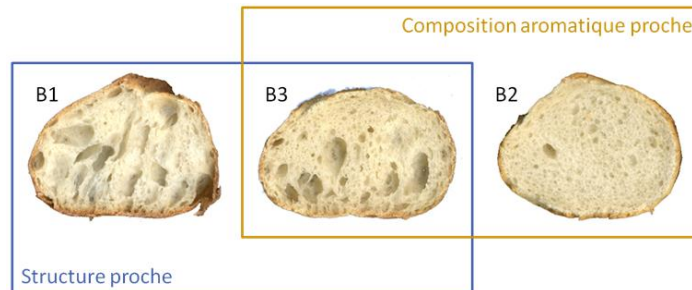


Tous ces résultats restent cependant à valider sur un plus grand nombre d'individus. Il serait par ailleurs intéressant d'étudier, pour cela, des individus appartenant aux différentes typologies de consommateurs identifiés par *Jeltema et al., (2015)* et définis selon leurs préférences alimentaires au niveau de la texture.

### IV.3. Processus oral, perceptions sensorielles et variabilité inter-produits

Même si la variabilité interindividuelle existe, celle-ci n'a pas empêché d'observer des différences entre les produits et entre les échantillons de mie ou de mie et croûte, qui restent donc prédominantes devant les différences entre individus.

L'espace produits a été, dans un premier temps, restreint à 3 pains élaborés de manière à avoir 2 pains de structures proches (B1 et B3), 2 pains de compositions aromatiques proches (B2 et B3) et 2 pains très différents à la fois en texture et en arômes (B1 et B2) (**Figure IV.3-1**). Ces trois pains ont tous été caractérisés au niveau de la structure, de la texture et des arômes.



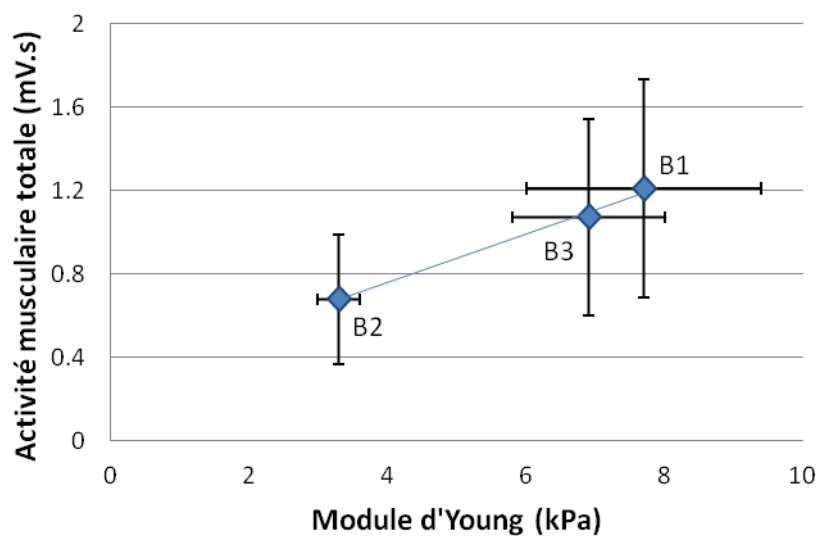
**Figure IV.3-1 : Les 3 pains Lesaffre**

L'étude de ces 3 pains a permis de mettre en avant que la capacité d'hydratation est le paramètre semblant avoir le plus d'incidence sur les propriétés des bols, la libération des composés d'arômes et les perceptions. En effet, plus un pain a une capacité d'hydratation élevée, plus il va s'hydrater au cours du processus oral, ce qui va entraîner une meilleure déstructuration (partie III.1). Ainsi, le pain B2, qui a une capacité d'hydratation deux fois supérieure aux pains B1 et B3, se décompose en particules environ 1,4 fois plus petites. De plus, le modèle PLS, mis en place entre les propriétés des pains, les caractéristiques physiologiques des juges et les propriétés des bols, a montré que la capacité d'hydratation est un paramètre impactant également les propriétés instrumentales de texture des bols, comme la fermeté (Hardness) et le collant (Adhesiveness) mesurés par TPA. Ce n'est donc pas étonnant que la capacité d'hydratation influence également les perceptions de texture, et en particulier les descripteurs « mou » ou encore « croustillant » (partie III.2). La comparaison des capacités d'hydratation mesurées sur les échantillons de mie et de mie et croûte a permis de mettre en évidence le comportement singulier du pain B3. Ce dernier est caractérisé par une croûte qui s'hydrate beaucoup, conduisant à des perceptions de croustillance moins intenses. Enfin, il est probable que la capacité d'hydratation puisse jouer sur la libération des arômes, à travers son rôle dans l'incorporation de la salive dans le bol, mais il est difficile de conclure sur ce point à l'aide de nos expériences, en raison d'une composition aromatique initiale différente entre les pains.

A notre connaissance, c'est la première fois que la capacité d'hydratation est utilisée pour caractériser des pains et pour expliquer leur comportement face à un phénomène majeur du processus oral qu'est l'hydratation par la salive. L'impact de la structure des pains sur leur capacité

d'hydratation a été étudié dans des travaux annexes au projet de thèse (Mathieu *et al.*, 2016). Ces résultats ont montré que la capacité d'hydratation de la mie n'est pas seulement due à sa porosité, mais également à l'action de la capillarité exercée par les alvéoles de taille inférieure à 2 mm de diamètre. Une forte densité de ces alvéoles provoque une probabilité élevée d'interconnexions entre celles-ci permettant à l'eau de s'infiltrer plus rapidement et en plus grande quantité dans l'échantillon. En jouant sur la structure initiale de la mie de pain, il est donc possible d'élaborer des pains avec une capacité d'hydratation plus ou moins élevée selon le but recherché.

La rigidité de la mie est également un paramètre impactant les propriétés des bols, la libération des composés d'arômes et les perceptions. Ce paramètre, caractérisé par le module d'Young de la mie, a été identifié comme étant en partie responsable du comportement masticator des sujets. Nous avons montré dans la partie III.4. que, plus un pain a une mie rigide, plus l'activité musculaire mesurée par EMG pour la déstructurer sera élevée (Figure IV.3-2).



**Figure IV.3-2 : Moyennes et écart-types de l'activité musculaire totale des échantillons de mie des 3 pains Lesaffre, représentés en fonction du module d'Young de la mie**

Dans les études de la littérature sur le pain, ce lien entre propriété mécanique du pain et activité musculaire n'est pas toujours observé. Dans le cas des échantillons de mie seule, Pentikäinen *et al.* (2014) observent bien, sur 15 individus, que l'activité musculaire totale est plus élevée pour la mie de pain la plus ferme. Par contre dans le cas des échantillons de mie et croûte, il n'y a pas de lien entre fermeté de l'échantillon et activité musculaire. Cela peut être dû à la difficulté de mesurer la fermeté de l'échantillon de mie et croûte, étant donnée son hétérogénéité. Tournier *et al.* (2014) ont mesuré la fermeté de l'ensemble mie et croûte à l'aide d'une compression par multi-indentation et les valeurs obtenues ne sont pas corrélées aux valeurs d'activités musculaires obtenues. Dans notre étude, nous avons également tenté de mesurer la rigidité de l'échantillon de mie et de croûte par multi-indentation. Mais nous n'avons pas observé de différences significatives entre les échantillons, permettant d'expliquer les différences d'activités musculaires observées entre les échantillons de mie et croûte. De leur côté, Gao *et al.* (2015) ont mesuré séparément la fermeté de mie et la dureté de la croûte. Ils ont montré que la présence de croûte modifie le comportement masticator : plus sa dureté est élevée (quelle que soit la fermeté de la mie), plus l'activité musculaire totale sera élevée pendant la mastication.

La présence de croûte est également responsable d'une hausse de la variabilité des compositions aromatiques des 3 pains Lesaffre. En effet, l'étape de la cuisson permet la formation de nombreux composés volatils issus des réactions de Maillard. De plus, la présence de la croûte induit une hausse de l'activité masticatoire, pouvant conduire à une meilleure libération des composés d'arômes, comme cela a été montré dans la partie III.4. sur les échantillons de mie. Donc la variabilité initiale en composés d'arômes de la croûte, ainsi que la meilleure libération de ces composés en bouche contribuent au fait que la présence de la croûte permette une meilleure discrimination des 3 pains en termes de perceptions aromatiques par rapport à la mie évaluée seule. Du côté des perceptions de texture, les échantillons de mie des 3 pains semblaient être mieux discriminés entre eux que les échantillons de mie et croûte, surtout aux temps T1 et T2 (cf **Fig. 2** de la partie III.2). On peut donc faire l'hypothèse que, dans le cas de la baguette française, les propriétés de la mie piloteraient les perceptions de texture, alors que celles de la croûte piloteraient les perceptions aromatiques. Il serait intéressant de confirmer cette hypothèse en étudiant les perceptions de texture et d'arômes des échantillons de mie et de mie et croûte sur un plus grand nombre de produits.

Les propriétés des pains telles que la capacité d'hydratation des pains, l'élasticité de la mie et la présence de croûte sont en partie à l'origine des variabilités de texture et d'arômes perçues entre les trois pains de l'étude. Ces propriétés sont donc à prendre en compte dans la conception de nouveaux pains pour des populations de consommateurs cibles, tels que les personnes âgées.

#### **IV.4. Analyses critiques du choix des méthodes pour l'étude des liens entre processus oral et perceptions**

Ces travaux de thèse ont été l'occasion d'utiliser de nombreuses méthodes pour caractériser la structure, la texture et la composition aromatique de pains et de bols de pains, ainsi que pour caractériser leurs dynamiques de perceptions de texture et d'arôme. Certaines méthodes se sont révélées plus adaptées que d'autres à notre objectif, qui était d'expliquer les perceptions sensorielles au cours du processus oral par des mesures instrumentales.

Au niveau des **méthodes sensorielles**, les méthodes DTS et profil progressif ont été utilisées dans la partie III.2 traitant du volet texture et ont généré des résultats cohérents. Cela a également été le cas pour le volet arômes, puisque les 2 méthodes ont mis en avant les caractéristiques « céréales torréfiées » du pain B1, « carton mouillé » du pain B2 et la « non-typicité » du pain B3, ainsi que les dynamiques suivantes : perception « toasté » à la mise en bouche et « farine mouillée » au moment de la déglutition. La cohérence de ces méthodes a également été montrée dans la littérature (Devezeaux de Lavergne *et al.*, 2015a). Chaque méthode a ses avantages (visualisation de l'ordre de succession des sensations dominantes pour la DTS et suivi de l'intensité au cours du temps pour le profil progressif), mais aussi quelques faiblesses par rapport à l'objectif souhaité (pas d'intensité pour la DTS et évaluation discontinue pour le profil progressif). Le choix de la méthode la plus pertinente, voire l'utilisation des deux méthodes conjointes, dépend donc de l'objectif de l'étude.

Pour aller plus loin, il serait intéressant de connaître les notes hédoniques associées aux descripteurs sensoriels étudiés dans ces travaux de thèse. Intégrer le consommateur, dès les premières étapes de conception, dans l'évaluation des produits (au niveau hédonique mais également descriptif), tel est l'enjeu majeur de l'analyse sensorielle actuellement.

Concernant les **méthodes de caractérisation des propriétés des pains**, les résultats ont montré que les paramètres les plus impactants pour comprendre les propriétés des bols et les perceptions étaient la capacité d'hydratation des pains et le module d'Young de leur mie (pouvant s'apparenter à une « capacité de déformation »). Ces 2 méthodes permettent de mieux comprendre le comportement des différents échantillons par rapport à l'action de la salive (et plus particulièrement l'hydratation) et à la mastication (et plus particulièrement les phénomènes de compression). En suivant cette logique, la mesure d'une « capacité de déstructuration » pourrait permettre de mieux comprendre l'évolution de la structure du bol (taille et nombre des particules) au cours du processus oral. Cette mesure permettrait de valider notre observation concernant l'importance des phénomènes d'hydratation pour expliquer les perceptions d'arôme et de texture du pain.

De nombreuses autres méthodes ont été utilisées dans ces travaux de thèse, mais elles se sont révélées moins pertinentes pour répondre à l'objectif fixé. Ce travail laborieux de caractérisation des pains va permettre d'optimiser les futurs travaux portant sur des produits similaires. L'utilisation de bouche artificielle permettant de découpler les mécanismes identifiés d'hydratation, de compression et de déstructuration pourrait alors être envisagée.

Enfin, plusieurs méthodes nous ont permis de **caractériser la composition aromatique des pains**. Une comparaison de ces méthodes (SAFE ou Purge & Trap couplé à une CPG-SM, ou PTR-MS) est proposée dans la partie III.3. Ces 3 méthodes permettent de discriminer les échantillons de mie avec ou sans croûte. L'avantage des méthodes couplées à la CPG-SM est de pouvoir identifier et quantifier les composés volatils (COVs) présents dans le pain. Cependant, les méthodes d'extraction SAFE ou Purge & Trap induisent un biais quant aux ratios réels des différents COVs dans le produit initial (Maeda *et al.*, 2009; Thomsen *et al.*, 2014). Au contraire, la PTR-MS permet de caractériser les quantités réelles des COVs susceptibles de réagir avec les récepteurs olfactifs. La sensibilité, la rapidité et la non-destruction de l'échantillon analysé par PTR-MS sont les atouts de cette méthode. Elle permet ainsi de suivre la libération des COVs dans la cavité nasale des sujets pendant la mastication et donc de mieux comprendre les dynamiques des perceptions aromatiques. Cependant, la PTR-MS ne permet pas l'identification des ions suivis. Deux solutions sont donc envisageables : (i) étudier un aliment modèle, qui a été aromatisé par un nombre réduit de molécules connues, ou (ii) dans le cas d'un aliment complexe comme le pain, établir un lien statistique entre les ions mesurés par PTR-MS et ceux mesurés par CPG-MS en s'aidant de la littérature. C'est la deuxième solution que nous avons envisagée pour ces travaux de thèse. La méthode mise au point a permis de relier les ions aux COVs dont ils sont issus et de calculer un pourcentage de contribution de chacun des COVs à un ion donné. Bien que les résultats obtenus ne puissent s'appliquer qu'à l'espace produits étudié, la méthode pourrait être transposée à d'autres espaces produits.

Ces travaux de thèse ont mis en évidence l'importance du choix de la méthode d'extraction pour caractériser la composition aromatique des pains. Un des enjeux des travaux futurs est de concevoir une méthode d'extraction des composés volatils permettant d'obtenir un extrait aromatique qui corresponde aux composés libérés pendant le processus oral. Cela permettrait de s'affranchir des expériences *in vivo* et d'aller plus loin dans la compréhension des perceptions aromatiques.

Au cours de ce projet de thèse, nous avons choisi de **travailler avec un nombre réduit de panélistes entraînés**, au lieu d'un grand nombre de consommateurs. Le travail sur un nombre réduit de panélistes est une première étape pour évaluer les mécanismes et les propriétés clés, avant une

validation à une plus grande échelle qui s'avère plus coûteuse en temps et en argent. Nous avons ainsi privilégié de réaliser un grand nombre de caractérisations effectuées sur les bols à plusieurs temps du processus oral par rapport à un grand nombre de consommateurs. Pour autant, nous avons fait en sorte de respecter le comportement masticatoire des individus. Ainsi, chaque sujet mastiquait les échantillons pendant une durée correspondant à sa durée de mastication propre. Il leur était demandé de mâcher et respirer normalement pendant les séances. Ils ont uniquement été entraînés à recracher le bol au temps demandé (10, 40 ou 100% de leur dure de mastication) et à évaluer les perceptions, juste avant cet instant donné. Dans la littérature, les études de ce type portant sur un panel supérieur à 20 personnes sont assez rares. Les scientifiques font parfois le choix de travailler avec plusieurs individus mais en leur imposant un protocole de dégustation (Frank, Eyres, Piyasiri, & Delahunty, 2012). Cela revient à lisser les différences individuelles et apporte donc peu d'intérêt par rapport à une étude sur un seul sujet (Aprea, Biasioli, Gasperi, Märk, & van Ruth, 2006).

Enfin, un des enjeux de cette thèse a été de **gérer le nombre restreint de produits**, initialement prévu au nombre de 3 (pains développés dans le cadre de cette étude par la société Lesaffre). Ce nombre avait été déterminé initialement pour des raisons expérimentales. Il a été fait le choix de travailler sur des produits aux propriétés parfaitement contrôlées, ce qui a conduit à internaliser leur fabrication et donc à alourdir les conditions expérimentales. Cependant, avec ce nombre de produits, il n'est pas recommandé d'utiliser les analyses statistiques multidimensionnelles classiques de type ACP, pourtant très utiles pour représenter un jeu de données comprenant un grand nombre de variables. L'étude des échantillons de mie seule et de mie et croûte a donc permis de doubler le nombre de produits dans certains cas. Mais, dans le cas des perceptions d'arômes, par exemple, les différences étaient tellement grandes entre les échantillons de mie seule et de mie et croûte que les panélistes n'ont pas évalué les deux catégories selon la même liste d'attributs. Il n'a alors pas été possible de considérer un ensemble de 6 produits, mais il a fallu considérer 2 sous-ensembles de 3 produits. Dans la mesure du possible également, les 3 temps du processus oral et les données individuelles des juges ont été considérés comme des produits différents. Malgré la large variabilité engendrée, des modèles de régression PLS ont pu être établis pour expliquer les propriétés des bols puis les perceptions de texture. La régression PLS est justement une méthode qui permet de gérer un jeu de données dont le nombre de produits est inférieur au nombre de variables (Wold *et al.*, 1996). Quand cela a été possible, nous avons également cherché à augmenter le nombre de pains étudiés (comme dans les parties III.1 et III.4) par l'ajout de pains achetés dans le commerce. Cela nous a notamment permis pour le volet aromatique de constater la proximité aromatique de la mie de nos 3 pains par rapport à un espace produits de 40 baguettes françaises à base de farine de blé et de levure. Une des limites des résultats associés au volet arômes réside dans cette proximité des compositions aromatiques.

La conception de 3 autres pains de même structure que les 3 pains Lesaffre mais composés de farine complète, ou fermentées par des souches de levure différentes ou des levains, pourrait être une piste d'amélioration permettant d'augmenter la variabilité des compositions aromatiques et le nombre de produits. Toute fois, la gestion lourde de la fabrication de tels produits pendant la durée du projet plus les coûts associés doivent être pris en compte.

# CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES



## Conclusions générales et perspectives

Les propriétés organoleptiques du pain comme ses arômes ou sa texture sont à l'origine de son appréciation par le consommateur. Mieux comprendre les mécanismes à l'origine de ces perceptions est donc essentiel pour tendre vers une formulation raisonnée de produits aux caractéristiques sensorielles attendues par les consommateurs. Cependant les perceptions des arômes et de la texture en bouche ne peuvent pas être expliquées uniquement par la composition aromatique du pain ou par sa structure, car elles dépendent également de phénomènes dynamiques, résultant de la déstructuration du pain lors du processus oral, très dépendant de chaque individu. Tenir compte des différences individuelles, pour mieux comprendre les mécanismes et propriétés clé à l'origine des perceptions, constitue donc un véritable enjeu.

Ainsi, ce travail de thèse a contribué à mieux comprendre l'impact de la structure du pain et de sa déstructuration en bouche sur les dynamiques de perceptions de texture et d'arômes. La démarche multidisciplinaire mise en œuvre, alliant analyses sensorielles, caractérisations physico-chimiques, analyses chimiques et analyses statistiques, a permis d'identifier les méthodes pertinentes pour répondre à la question de recherche. Elle a consisté à caractériser dans un premier temps les propriétés physicochimiques et structurales des pains, les caractéristiques physiologiques des individus, et les propriétés sensorielles, physicochimiques et chimiques des bols étudiées à trois temps du processus oral. Puis, un suivi *in vivo* de marqueurs aromatiques de la mie et de la croûte a été effectué afin de mettre en regard les dynamiques de libération et de perceptions aromatiques.

A l'issue de ce travail, nous avons pu établir, que deux sources de variabilité (celle liée à la physiologie orale et au comportement masticatoire des juges et celle liée aux propriétés des pains) impactaient les perceptions d'arômes et de texture de la mie et de la croûte, par le biais du processus oral. Deux types de comportements masticatoires ont été mis en évidence entre les individus du panel. Des masticateurs « lents » et des masticateurs « rapides » ont été identifiés, conduisant à des bols aux propriétés différentes au moment de la déglutition. Celles-ci sont à l'origine de perceptions, et de leurs dynamiques, différentes entre ces deux groupes pour un même pain, que ce soit au niveau de l'arôme ou de la texture. La prise en compte du comportement masticatoire de chaque individu est donc essentielle pour mieux comprendre les dynamiques de perception.

Concernant les propriétés des pains, ce travail de thèse a permis de montrer que la capacité d'hydratation et la rigidité de la mie jouent un rôle majeur dans l'évolution des propriétés des bols et des perceptions de texture et d'arômes. Ainsi, plus un pain a une capacité d'hydratation élevée, plus il sera facilement déstructuré et hydraté. De plus, l'étude conjointe de la mie et de la croûte comparée à la mie seule a permis de mettre en évidence la variabilité aromatique apportée par la croûte. Ainsi, il semblerait que la croûte de la baguette française influence principalement les perceptions aromatiques, tandis que les propriétés structurales de la mie piloteraient les perceptions de texture, quelle que soit la croûte. La structure de la mie jouerait dans une moindre mesure sur les perceptions aromatiques en permettant une libération plus grande des composés d'arômes susceptibles d'interagir avec les récepteurs olfactifs sensoriels quand la mie est plus ferme.



A plus long terme, ce projet s'inscrit dans une démarche d'optimisation des procédés de panification pour formuler des pains dont les perceptions seraient conformes aux attentes des consommateurs. Pour cela, ces travaux de thèse devront être combinés avec des outils d'ingénierie reverse permettant de sélectionner le procédé de panification et la composition qui conduiraient aux propriétés sensorielles souhaitées.

Une première étude sur l'impact de la phase orale et de la structure de la mie sur les cinétiques de digestion de l'amidon a été réalisée. Ces travaux s'inscrivent dans une démarche de valorisation des propriétés nutritionnelles des pains. Pour aller plus loin, il serait intéressant d'étudier l'impact de la structure et de la composition du pain sur l'indice glycémique, ce qui permettrait à terme de combiner propriétés nutritionnelles et sensorielles pour la conception de nouveaux produits.

L'émergence de nouvelles tendances de consommation, comme l'alimentation personnalisée, pourrait conduire dans un futur proche à l'élaboration de produits ciblés pour un type de population donné (personnes âgées, sportives, diabétiques...). Ainsi, pour faciliter la formation des bols chez les séniors dont la mastication est altérée, des pains avec une forte vitesse d'hydratation, obtenue en modulant la structure de la mie, pourraient être conçus. A l'inverse, cette propriété serait à moduler pour les personnes atteintes de sécheresse buccale. Les connaissances accumulées et les méthodologies développées lors de ce projet de thèse pourront être réutilisées à plus grande échelle afin de concevoir des produits aux qualités nutritionnelles adaptées à la population visée. L'intégration des préférences des consommateurs au plus tôt des futurs projets de recherche permettra ainsi de concevoir de nouveaux produits aux propriétés nutritionnelles et sensorielles optimisées.

# RÉFÉRENCES



## A

- AACC. (2000). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists* (10th Ed.). St Paul, MN.
- AIBI. (2015). *Bread Market Report 2013*.
- Aprèa, E., Biasioli, F., Gasperi, F., Märk, T. D., & van Ruth, S. (2006). In vivo monitoring of strawberry flavour release from model custards: effect of texture and oral processing. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(1), 53–58.
- Aps, J. K. M., & Martens, L. C. (2005). Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International*, 150(2–3), 119–131.
- Arvisenet, G., Le Bail, P., Voilley, A., & Cayot, N. (2002). Influence of Physicochemical Interactions between Amylose and Aroma Compounds on the Retention of Aroma in Food-like Matrices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 7088–7093.
- Atlan, S., Trelea, I. C., Saint-Eve, A., Souchon, I., & Latrille, E. (2006). Processing gas chromatographic data and confidence interval calculation for partition coefficients determined by the phase ratio variation method. *Journal of Chromatography A*, 1110(1–2), 146–155.
- Autio, K., & Laurikainen, T. (1997). Relationships between flour/dough microstructure and dough handling and baking properties. *Trends in Food Science & Technology*, 8, 181–185.

## B

- Baardseth, P., Kvaal, K., Lea, P., Ellekjær, M. R., & Færgestad, E. M. (2000). The Effects of Bread Making Process and Wheat Quality on French Baguettes. *Journal of Cereal Science*, 32(1), 73–87.
- Bagdi, A., Tóth, B., Lőrincz, R., Szendi, S., Gere, A., Kókai, Z., ... Tömösközi, S. (2016). Effect of aleurone-rich flour on composition, baking, textural, and sensory properties of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 762–769.
- Biasioli, F., Gasperi, F., Aprèa, E., Colato, L., Boscaini, E., & Märk, T. D. (2003). Fingerprinting mass spectrometry by PTR-MS: heat treatment vs. pressure treatment of red orange juice—a case study. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223–224, 343–353.
- Biasioli, F., Gasperi, F., Aprèa, E., Endrizzi, I., Framondino, V., Marini, F., ... Märk, T. D. (2006). Correlation of PTR-MS spectral fingerprints with sensory characterisation of flavour and odour profile of “Trentingrana” cheese. *Food Quality and Preference*, 17(1–2), 63–75.
- Bin, Q., & Peterson, D. G. (2016). Identification of bitter compounds in whole wheat bread crumb. *Food Chemistry*, 203, 8–15.
- Birch, A. N., Petersen, M. A., Arneborg, N., & Hansen, Å. S. (2013a). Influence of commercial baker’s yeasts on bread aroma profiles. *Food Research International*, 52(1), 160–166.
- Birch, A. N., Petersen, M. A., & Hansen, Å. S. (2013b). The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 480–488.
- Birch, A. N., Petersen, M. A., & Hansen, Å. S. (2014). Review: Aroma of Wheat Bread Crumb. *Cereal Chemistry Journal*, 91(2), 105–114.

- Boland, A. B., Buhr, K., Giannouli, P., & van Ruth, S. M. (2004). Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems. *Food Chemistry*, *86*(3), 401–411.
- Bongaerts, J. H. H., Rossetti, D., & Stokes, J. R. (2007). The lubricating properties of human whole saliva. *Tribology Letters*, *27*(3), 277–287.
- Bourne, M. (2004). Relation between texture and mastication. *Journal of Texture Studies*, *35*(2), 125–143.
- Brandt, M. A., Skinner, E. A., & Coleman, J. A. (1963). Texture profile method. *Journal of Food Science*, *28*, 404–409.
- Breene, W. M. (1975). Application of Texture Profile Analysis to Instrumental Food Texture Evaluation. *Journal of Texture Studies*, *6*(1), 53–82.
- Brown, W. E., & Braxton, D. (2000). Dynamics of food breakdown during eating in relation to perceptions of texture and preference: a study on biscuits. *Food Quality and Preference*, *11*(4), 259–267.
- Brown, W. E., Langley, K. R., Martin, A., & MacFie, H. J. h. (1994). Characterisation of Patterns of Chewing Behaviour in Human Subjects and Their Influence on Texture Perception. *Journal of Texture Studies*, *25*(4), 455–468.
- Brown, W. E., & Wilson, C. E. (1996). Individuality of flavour perceptions - The influence of mastication patterns. In *Flavour Science - Recent Developments* (pp. 451–455).
- Buettner, A., & Beauchamp, J. (2010). Chemical input – Sensory output: Diverse modes of physiology–flavour interaction. *Food Quality and Preference*, *21*(8), 915–924.
- Buhr, K., van Ruth, S., & Delahunty, C. (2002). Analysis of volatile flavour compounds by Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry: fragmentation patterns and discrimination between isobaric and isomeric compounds. *International Journal of Mass Spectrometry*, *221*(1), 1–7.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, *23*(2), 85–112.

### C

- Caballero, B., Allen, L. H., & Prentice, A. (2012). *Encyclopedia of human nutrition* (3rd ed.). Academic Press.
- Cairncross, S., & Sjostrom, I. (1950). Flavor profile. A new approach to flavor problems. *Food Technology*, *4*, 308–311.
- Callejo, M. J., Vargas-Kostiuk, M.-E., & Rodríguez-Quijano, M. (2015). Selection, training and validation process of a sensory panel for bread analysis: Influence of cultivar on the quality of breads made from common wheat and spelt wheat. *Journal of Cereal Science*, *61*, 55–62.
- Castura, J. C., Antúnez, L., Giménez, A., & Ares, G. (2016). Temporal Check-All-That-Apply (TCATA): A novel dynamic method for characterizing products. *Food Quality and Preference*, *47*, Part A, 79–90.
- Chang, C. Y., & Chambers, E. (1992). Flavor characterization of breads made from hard red winter wheat and hard white winter wheat. *Cereal Chemistry*, *69*, 556–556.

- Chaunier, L., Chiron, H., Della Valle, G., & Saulnier, L. (2008). Evaluation instrumentale de la texture contrastée croûte/mie de pains miniaturisés présentant des teneurs en fibres variées. *Industrie Des Céréales*, 160, 2–8.
- Chen, J. (2009). Food oral processing—A review. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 1–25.
- Chen, J. (2014). Food oral processing: Some important underpinning principles of eating and sensory perception. *Food Structure*, 1(2), 91–105.
- Cheong, J. N., Foster, K. D., Morgenstern, M. P., Grigor, J. M. V., Bronlund, J. E., Hutchings, S. C., & Hedderley, D. I. (2014). The Application of Temporal Dominance of Sensations (TDS) for Oral Processing Studies: An Initial Investigation. *Journal of Texture Studies*, 45(6), 409–419.
- Chiang, J., Wang, Z. J., & McKeown, M. J. (2012). A multiblock PLS model of cortico-cortical and corticomuscular interactions in Parkinson's disease. *NeuroImage*, 63(3), 1498–1509.
- Cho, I. H., & Peterson, D. G. (2010). Chemistry of Bread Aroma: A Review. *Food Science Biotechnologies*, 19(3), 575–582.
- Cliff, M., & Heymann, H. (1993). Development and use of time-intensity methodology for sensory evaluation: A review. *Food Research International*, 26(5), 375–385.
- Conner, M. ar. T., Booth, D. avi. A., Clifton, V. erit. J., & Griffiths, R. ichar. P. (1988). Individualized Optimization of the Salt Content of White Bread for Acceptability. *Journal of Food Science*, 53(2), 549–554.
- Cuq, B., Abecassis, J., & Guilbert, S. (2003). State diagrams to help describe wheat bread processing. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(7), 759–766.

## D

- Dairou, V., & Sieffermann, J.-M. (2002). A Comparison of 14 Jams Characterized by Conventional Profile and a Quick Original Method, the Flash Profile. *Journal of Food Science*, 67(2), 826–834.
- de Wijk, R. A., Prinz, J. F., Engelen, L., & Weenen, H. (2004). The role of  $\alpha$ -amylase in the perception of oral texture and flavour in custards. *Physiology & Behavior*, 83(1), 81–91.
- de Wijk, R. A., Prinz, J. F., & Janssen, A. M. (2006). Explaining perceived oral texture of starch-based custard desserts from standard and novel instrumental tests. *Food Hydrocolloids*, 20(1), 24–34.
- Delarue, J., & Giampaoli, P. (2000). Study of Interaction Phenomena between Aroma Compounds and Carbohydrate Matrixes by Inverse Gas Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2372–2375.
- Delarue, J., Lawlor, B., & Rogeaux, M. (2014). *Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods* (1st ed.). Elsevier.
- Della Valle, G., Chiron, H., Jury, V., Raitière, M., & Réguerre, A.-L. (2012). Kinetics of crust formation during conventional French bread baking. *Journal of Cereal Science*, 56(2), 440–444.
- Delwiche, J. (2004). The impact of perceptual interactions on perceived flavor. *Food Quality and Preference*, 15(2), 137–146.

- Devaux, M.-F., Reguerre, A.-L., Chiron, H., & Lassoued, N. (2005). Caractérisation par analyse d'images de produits céréaliers alvéolaires selon leur texture visuelle. *Cahiers Techniques INRA*, *56*, 17–32.
- Devezeaux de Lavergne, M. (2015). *Bolus matters : Impact of food oral breakdown on dynamic texture perception*. Wageningen University.
- Devezeaux de Lavergne, M., van Delft, M., van de Velde, F., van Boekel, M. A. J. S., & Stieger, M. (2015a). Dynamic texture perception and oral processing of semi-solid food gels: Part 1: Comparison between QDA, progressive profiling and TDS. *Food Hydrocolloids*, *43*, 207–217.
- Devezeaux de Lavergne, M., van de Velde, F., van Boekel, M. A. J. S., & Stieger, M. (2015b). Dynamic texture perception and oral processing of semi-solid food gels: Part 2: Impact of breakdown behaviour on bolus properties and dynamic texture perception. *Food Hydrocolloids*, *49*, 61–72.
- Devezeaux de Lavergne, M., Derks, J. A. M., Ketel, E. C., de Wijk, R. A., & Stieger, M. (2015c). Eating behaviour explains differences between individuals in dynamic texture perception of sausages. *Food Quality and Preference*, *41*, 189–200.
- Devezeaux de Lavergne, M., Tournier, C., Bertrand, D., Salles, C., van de Velde, F., & Stieger, M. (2016). Dynamic texture perception, oral processing behaviour and bolus properties of emulsion-filled gels with and without contrasting mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, *52*, 648–660.
- Dobraszczyk, B. ., & Morgenstern, M. . (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, *38*(3), 229–245.
- Dooley, L., Lee, Y., & Meullenet, J.-F. (2010). The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. *Food Quality and Preference*, *21*(4), 394–401.
- Doyennette, M., de Loubens, C., Déléris, I., Souchon, I., & Trelea, I. C. (2011a). Mechanisms explaining the role of viscosity and post-deglutitive pharyngeal residue on in vivo aroma release: A combined experimental and modeling study. *Food Chemistry*, *128*(2), 380–390.
- Doyennette, M., Déléris, I., Saint-Eve, A., Gasiglia, A., Souchon, I., & Trelea, I. C. (2011b). The dynamics of aroma compound transfer properties in cheeses during simulated eating conditions. *Food Research International*, *44*(10), 3174–3181.
- Drago, S. R., Panouillé, M., Saint-Eve, A., Neyraud, E., Feron, G., & Souchon, I. (2011). Relationships between saliva and food bolus properties from model dairy products. *Food Hydrocolloids*, *25*(4), 659–667.

## E

- Enberg, N., Alho, H., Loimaranta, V., & Lenander-Lumikari, M. (2001). Saliva flow rate, amylase activity, and protein and electrolyte concentrations in saliva after acute alcohol consumption. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *92*(3), 292–298.
- Engel, W., Bahr, W., & Schieberle, P. (1999). Solvent assisted flavour evaporation—a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *European Food Research and Technology*, *209*(3–4), 237–241.

Engelen, L., de Wijk, R. A., Prinz, J. F., van der Bilt, A., & Bosman, F. (2003). The relation between saliva flow after different stimulations and the perception of flavor and texture attributes in custard desserts. *Physiology & Behavior*, *78*(1), 165–169.

Engelen, L., Fontijn-Tekamp, A., & Bilt, A. van der. (2005). The influence of product and oral characteristics on swallowing. *Archives of Oral Biology*, *50*(8), 739–746.

## F

Féron, G., Ayed, C., Qannari, E. M., Courcoux, P., Laboure, H., & Guichard, E. (2014). Understanding Aroma Release from Model Cheeses by a Statistical Multiblock Approach on Oral Processing. *PLoS ONE*, *9*(4), e93113.

Féron, G., & Salles, C., (2013). Chapitre 2 : Rôle de la sphère orale. In *Structure des aliments et effets nutritionnels* (Editions Quae), pp 35-55.

Fiches, G., Saint Eve, A., Jourden, S., Déléris, I., Brunerie, P., & Souchon, I. (2016). Temporality of perception during the consumption of French grape brandies with different aging times in relation with aroma compound release. *Flavour and Fragrance Journal*, *31*(1), 31–40.

Foegeding, E. A., Daubert, C. R., Drake, M. A., Essick, G., Trulsson, M., Vinyard, C. J., & Van De Velde, F. (2011). A comprehensive approach to understanding textural properties of semi- and soft-solid foods. *Journal of Texture Studies*, *42*(2), 103–129.

Foegeding, E. A., Vinyard, C. J., Essick, G., Guest, S., & Campbell, C. (2015). Transforming Structural Breakdown into Sensory Perception of Texture. *Journal of Texture Studies*, *46*(3), 152–170.

Foster, K. D., Grigor, J. M. V., Cheong, J. N., Yoo, M. J. Y., Bronlund, J. E., & Morgenstern, M. P. (2011). The Role of Oral Processing in Dynamic Sensory Perception. *Journal of Food Science*, *76*(2), R49–R61.

Fould-Springer. (1988). *Levure et panification* (Techno-Nathan).

Frank, D. C., Eyres, G. T., Piyasiri, U., & Delahunty, C. M. (2012). Effect of food matrix structure and composition on aroma release during oral processing using in vivo monitoring. *Flavour and Fragrance Journal*, *27*(6), 433–444.

Frank, D., Eyres, G. T., Piyasiri, U., Cochet-Broch, M., Delahunty, C. M., Lundin, L., & Appelqvist, I. M. (2015). Effects of Agar Gel Strength and Fat on Oral Breakdown, Volatile Release, and Sensory Perception Using in Vivo and in Vitro Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*, 9093–9102.

Frasse, P., Lambert, S., Richard-Molard, D., & Chiron, H. (1993). The influence of fermentation on volatile compounds in French bread dough. *LWT - Food Science and Technology*, *26*, 126–132.

## G

Gámbaro, A., Fiszman, S., Giménez, A., Varela, P., & Salvador, A. (2004). Consumer Acceptability Compared with Sensory and Instrumental Measures of White Pan Bread: Sensory Shelf-life Estimation by Survival Analysis. *Journal of Food Science*, *69*(9), S401–S405.

Gámbaro, A., Varela, P., Giménez, A., Aldrovandi, A., Fiszman, S. M., & Hough, G. (2002). Textural Quality of White Pan Bread by Sensory and Instrumental Measurements. *Journal of Texture Studies*, *33*(5), 401–413.



- Gao, J., Chan, R., & Zhou, W. (2016). *Influence of individual eating behaviour and oral physiology on oral processing of bread*. Poster presented at the 4th International Conference on Food Oral Processing, Lausanne (Suisse).
- Gao, J., Wong, J. X., Lim, J. C.-S., Henry, J., & Zhou, W. (2015). Influence of bread structure on human oral processing. *Journal of Food Engineering*.
- Gassenmeier, K., & Schieberle, P. (1995). Potent aromatic compounds in the crumb of wheat bread (French-type)—Influence of pre-ferments and studies on the formation of key odorants during dough processing. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung*, 201(3), 241–248.
- Giannou, V., Kessoglou, V., & Tzia, C. (2003). Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 99–108.
- Gierczynski, I., Guichard, E., & Laboure, H. (2011). Aroma perception in dairy products: the roles of texture, aroma release and consumer physiology. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(3), 141–152.
- Gierczynski, I., Laboure, H., & Guichard, E. (2008). *In Vivo* Aroma Release of Milk Gels of Different Hardnesses: Inter-individual Differences and Their Consequences on Aroma Perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5), 1697–1703.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., & Delcour, J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1–3), 12–30.
- Goni, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427–437.
- Grandfeldt, Y., Björck, I., Drews, A., & Tovar, J. (1992). An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, 649–660.
- Guichard, E., Salles, C. (2016) Chap 1- Retention and Release of Taste and Aroma Compounds from the Food Matrix during Mastication and Ingestion. In *Flavor*. pp 3–22.

## H

- Hedjazi, L., Guessasma, S., Yven, C., Della Valle, G., & Salles, C. (2013). Preliminary analysis of mastication dynamics and fragmentation during chewing of brittle cereal foods. *Food Research International*, 54(2), 1455–1462.
- Heenan, S. P., Dufour, J.-P., Hamid, N., Harvey, W., & Delahunty, C. M. (2008). The sensory quality of fresh bread: Descriptive attributes and consumer perceptions. *Food Research International*, 41(10), 989–997.
- Heenan, S. P., Dufour, J.-P., Hamid, N., Harvey, W., & Delahunty, C. M. (2009). Characterization of fresh bread flavour: Relationships between sensory characteristics and volatile composition. *Food Chemistry*, 116(1), 249–257.
- Hersleth, M., Berggren, R., Westad, F., & Martens, M. (2005). Perception of Bread: A Comparison of Consumers and Trained Assessors. *Journal of Food Science*, 70(2), S95–S101.

- Hiemae, K. (2004). Mechanisms of food reduction, transport and deglutition: how the texture of food affects feeding behavior. *Journal of Texture Studies*, 35(2), 171–200.
- Hirte, A., Primo-Martín, C., Meinders, M. B. J., & Hamer, R. J. (2012). Does crumb morphology affect water migration and crispness retention in crispy breads? *Journal of Cereal Science*, 56(2), 289–295.
- Hodge, J. E. (1953). Dehydrated foods, chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(15), 928–943.
- Hoebler, C., Karinthi, A., Devaux, M.-F., Guillon, F., Gallant, D. J. G., Bouchet, B., ... Barry, J.-L. (1998). Physical and chemical transformations of cereal food during oral digestion in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 80(5), 429–436.
- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162–169.
- Hutchings, J. B., & Lillford, P. J. (1988). The Perception of Food Texture - the Philosophy of the Breakdown Path. *Journal of Texture Studies*, 19(2), 103–115.
- Hutchings, S. C., Bronlund, J. E., Lentle, R. G., Foster, K. D., Jones, J. R., & Morgenstern, M. P. (2009). Variation of bite size with different types of food bars and implications for serving methods in mastication studies. *Food Quality and Preference*, 20(6), 456–460.

I

- Israr, T., Rakha, A., Sohail, M., Rashid, S., & Shehzad, A. (2016). Salt reduction in baked products: Strategies and constraints. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 98–105.

J

- Jack, F. R., Piggott, J. R., & Paterson, A. (1994). Analysis of Textural Changes in Hard Cheese during Mastication by Progressive Profiling. *Journal of Food Science*, 59(3), 539–543.
- Jeltema, M., Beckley, J., & Vahalik, J. (2015). Model for understanding consumer textural food choice. *Food Science & Nutrition*, 3(3), 202–212.
- Jensen, S., Oestdal, H., Skibsted, L. H., Larsen, E., & Thybo, A. K. (2011). Chemical changes in wheat pan bread during storage and how it affects the sensory perception of aroma, flavour, and taste. *Journal of Cereal Science*, 53(2), 259–268.
- Jourdren, S., Panouille, M., Saint-Eve, A., Déléris, I., Forest, D., Lejeune, P., & Souchon, I. (2016a). Breakdown pathways during oral processing of different breads: impact of crumb and crust structures. *Food & Function*, 7, 1446–1457.
- Jourdren, S., Saint-Eve, A., Panouillé, M., Lejeune, P., Déléris, I., & Souchon, I. (2016b). Respective impact of bread structure and oral processing on dynamic texture perceptions through statistical multiblock analysis. *Food Research International*, 87, 142–151.
- Jourdren, S., Saint Eve, A., Pollet, B., Panouillé, M., Lejeune, P., Guichard, E., Déléris, I., & Souchon, I. (2017). Gaining deeper insight into aroma perception: an integrative study of the oral processing of breads with different structures. *Food Research International*, 92, 119-127.
- Jousse, F., Jongen, T., Agterof, W., Russell, S., & Braat, P. (2002). Simplified Kinetic Scheme of Flavor Formation by the Maillard Reaction. *Journal of Food Science*, 67(7), 2534–2542.

## K

- Koç, H., Vinyard, C. J., Essick, G. K., & Foegeding, E. A. (2013). Food Oral Processing: Conversion of Food Structure to Textural Perception. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(1), 237–266.
- Kohyama, K., Mioche, L., & Martin, J.-F. (2002). Chewing Patterns of Various Texture Foods Studied by Electromyography in Young and Elderly Populations. *Journal of Texture Studies*, 33(4), 269–283.

## L

- Labbe, D., Schlich, P., Pineau, N., Gilbert, F., & Martin, N. (2009). Temporal dominance of sensations and sensory profiling: A comparative study. *Food Quality and Preference*, 20(3), 216–221.
- Labouré, H., Repoux, M., Courcoux, P., Feron, G., & Guichard, E. (2014). Inter-individual retronasal aroma release variability during cheese consumption: Role of food oral processing. *Food Research International*, 64, 692–700.
- Laguna, L., Varela, P., Salvador, A., & Fiszman, S. (2013). A new sensory tool to analyse the oral trajectory of biscuits with different fat and fibre contents. *Food Research International*, 51(2), 544–553.
- Landgraf, F. (2002). Produits et procédés de panification. In *Techniques de l'ingénieur* (Vol. F6180).
- Lassoued, N., Delarue, J., Launay, B., & Michon, C. (2008). Baked product texture: Correlations between instrumental and sensory characterization using Flash Profile. *Journal of Cereal Science*, 48(1), 133–143.
- Lau, E., Soong, Y. Y., Zhou, W., & Henry, J. (2015). Can bread processing conditions alter glycaemic response? *Food Chemistry*, 173, 250–256.
- Lauverjat, C., Loubens, C. de, Déléris, I., Tréléa, I. C., & Souchon, I. (2009). Rapid determination of partition and diffusion properties for salt and aroma compounds in complex food matrices. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 407–415.
- Lawless, H. T. (1989). Exploration of fragrance categories and ambiguous odors using multidimensional scaling and cluster analysis. *Chemical Senses*, 14(3), 349–360.
- Le Bleis, F. (2014). *Élaboration et déstructuration orale de pains enrichis en fibres alimentaires et à teneur réduite en sel*. Nantes.
- Le Bleis, F., Billy, L., Saulnier, L., & Della Valle, G. (2014). Déstructuration orale et acceptabilité de pains enrichis en fibres et à teneur réduite en sel. *Innovations Agronomiques*, 36, 97–110.
- Le Bleis, F., Chaunier, L., Della Valle, G., Panouillé, M., & Réguerre, A. L. (2013). Physical assessment of bread deconstruction during chewing. *Food Research International*, 50(1), 308–317.
- Le Bleis, F., Chaunier, L., Montigaud, P., & Della Valle, G. (2016). Deconstruction mechanisms of bread enriched with fibers during mastication. *Food Research International*, 80, 1–11.
- Lenfant, F., Loret, C., Pineau, N., Hartmann, C., & Martin, N. (2009). Perception of oral food breakdown. The concept of sensory trajectory. *Appetite*, 52(3), 659–667.
- Le Thanh, M., Thibeau, P., Thibaut, M. A., & Voilley, A. (1992). Interactions between volatile and non-volatile compounds in the presence of water. *Food Chemistry*, 43(2), 129–135.

- Lindinger, W., Hansel, A., & Jordan, A. (1998). On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 173(3), 191–241.
- Lindinger, C., Labbe, D., Pollien, P., Rytz, A., Juillerat, M. A., Yeretian, C., & Blank, I. (2008). When Machine Tastes Coffee: Instrumental Approach To Predict the Sensory Profile of Espresso Coffee. *Analytical Chemistry*, 80(5), 1574–1581.
- Linforth, R., Martin, F., Carey, M., Davidson, J., & Taylor, A. J. (2002). Retronasal Transport of Aroma Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1111–1117.
- Lotong, V., Iv, E. C., & Chambers, D. H. (2000). Determination of the Sensory Attributes of Wheat Sourdough Bread 1. *Journal of Sensory Studies*, 15(3), 309–326.
- Lucas, P. W., Prinz, J. F., Agrawal, K. R., & Bruce, I. C. (2002). Food physics and oral physiology. *Food Quality and Preference*, 13(4), 203–213.

### M

- Maeda, T., Kikuma, S., Araki, T., Ikeda, G., Takeya, K., & Sagara, Y. (2009). The effects of mixing stage and fermentation time on the quantity of flavor compounds and sensory intensity of flavor in white bread. *Food Science and Technology Research*, 15(2), 117–126.
- Makhoul, S., Romano, A., Cappellin, L., Spano, G., Capozzi, V., Benozzi, E., ... Biasioli, F. (2014). Proton-transfer-reaction mass spectrometry for the study of the production of volatile compounds by bakery yeast starters: PTR-MS study of bakery yeast starters. *Journal of Mass Spectrometry*, 49(9), 850–859.
- Martin, C., Courcoux, P., Chiron, H., & Issanchou, S. (2008). Caractéristiques sensorielles clés de l'acceptabilité d'un pain de type baguette française. *Industries Des Céréales*, 159, 6–19.
- Martínez-Anaya, M. A. (1996). Enzymes and Bread Flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2469–2480.
- Mathieu, V., Monnet, A.-F., Jourden, S., Panouillé, M., Chappard, C., & Souchon, I. (2016). Kinetics of bread crumb hydration as related to porous microstructure. *Food & Function*, 7, 3577–3589.
- Mayr, D., Märk, T., Lindinger, W., Brevard, H., & Yeretian, C. (2003). Breath-by-breath analysis of banana aroma by proton transfer reaction mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223–224, 743–756.
- Mioche, L., & Peyron, M. A. (1995). Bite force displayed during assessment of hardness in various texture contexts. *Archives of Oral Biology*, 40(5), 415–423.
- Mioche, L., Bourdiol, P., & Monier, S. (2003). Chewing behaviour and bolus formation during mastication of meat with different textures. *Archives of Oral Biology*, 48(3), 193–200.
- Mishellany-Dutour, A., Renaud, J., Peyron, M.-A., Rimek, F., & Woda, A. (2008). Is the goal of mastication reached in young dentates, aged dentates and aged denture wearers? *British Journal of Nutrition*, 99(1).
- Motoi, L., Morgenstern, M. P., Hedderley, D. I., Wilson, A. J., & Balita, S. (2013). Bolus Moisture Content of Solid Foods during Mastication. *Journal of Texture Studies*, 44(6), 468–479.

Muñoz, A. M., & Civille, G. V. (1998). Universal, Product and Attribute Specific Scaling and the Development of Common Lexicons in Descriptive Analysis. *Journal of Sensory Studies*, 13(1), 57–75.

N

Nassar, M., Hiraishi, N., Islam, M. S., Otsuki, M., & Tagami, J. (2014). Age-related changes in salivary biomarkers. *Journal of Dental Sciences*, 9(1), 85–90.

Noble, A. C. (1996). Taste-aroma interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 439–444.

Nor Qhairul Izzreen, M. N., Hansen, Å. S., & Petersen, M. A. (2016). Volatile compounds in whole meal bread crust: The effects of yeast level and fermentation temperature. *Food Chemistry*, 210, 566–576.

O

Onishi, M., Inoue, M., Araki, T., Iwabuchi, H., & Sagara, Y. (2011). Odorant transfer characteristics of white bread during baking. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 75(2), 261–267.

Onishi, M., Inoue, M., Araki, T., Iwabuchi, H., & Sagara, Y. (2012). A PTR-MS-Based Protocol for Simulating Bread Aroma During Mastication. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1228–1237.

P

Pagès, J. (2005). Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, 16(7), 642–649.

Pagès-Hélary, S., Andriot, I., Guichard, E., & Canon, F. (2014). Retention effect of human saliva on aroma release and respective contribution of salivary mucin and  $\alpha$ -amylase. *Food Research International*, 64, 424–431.

Panouillé, M., Saint-Eve, A., Déléris, I., Le Bleis, F., & Souchon, I. (2014). Oral processing and bolus properties drive the dynamics of salty and texture perceptions of bread. *Food Research International*, 62, 238–246.

Panouillé, M., Saint-Eve, A., & Souchon, I. (2016). Instrumental methods for bolus characterization during oral processing to understand food perceptions. *Current Opinion in Food Science*, 9, 42–49.

Pareyt, B., Finnie, S. M., Putseys, J. A., & Delcour, J. A. (2011). Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. *Journal of Cereal Science*, 54(3), 266–279.

Peighambaroust, S. H., Dadpour, M. R., & Dokouhaki, M. (2010). Application of epifluorescence light microscopy (EFLM) to study the microstructure of wheat dough: a comparison with confocal scanning laser microscopy (CSLM) technique. *Journal of Cereal Science*, 51(1), 21–27.

Pentikäinen, S., Sozer, N., Närväinen, J., Ylätaalo, S., Teppola, P., Jurvelin, J., ... Poutanen, K. (2014). Effects of wheat and rye bread structure on mastication process and bolus properties. *Food Research International*, 66, 356–364.

Peyron, M.-A., Gierczynski, I., Hartmann, C., Loret, C., Dardevet, D., Martin, N., & Woda, A. (2011). Role of Physical Bolus Properties as Sensory Inputs in the Trigger of Swallowing. *PLoS ONE*, 6(6), e21167.

- Pflaum, T., Konitzer, K., Hofmann, T., & Koehler, P. (2013). Influence of Texture on the Perception of Saltiness in Wheat Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(45), 10649–10658.
- Pico, J., Bernal, J., & Gómez, M. (2015). Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International*, *75*, 200–215.
- Pico, J., Gómez, M., Bernal, J., & Bernal, J. L. (2016). Analytical methods for volatile compounds in wheat bread. *Journal of Chromatography A*, *1428*, 55–71.
- Pineau, N., Schlich, P., Cordelle, S., Mathonnière, C., Issanchou, S., Imbert, A., ... Köster, E. (2009). Temporal Dominance of Sensations: Construction of the TDS curves and comparison with time–intensity. *Food Quality and Preference*, *20*(6), 450–455.
- Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Colas, D., Fillonneau, C., Le Bail, A., & Prost, C. (2008). Influence of formulation and process on the aromatic profile and physical characteristics of bread. *Journal of Cereal Science*, *48*(3), 686–697.
- Pozo-Bayón, M. A., Guichard, E., & Cayot, N. (2006a). Feasibility and application of solvent assisted flavour evaporation and standard addition method to quantify the aroma compounds in flavoured baked matrices. *Food Chemistry*, *99*(2), 416–423.
- Pozo-Bayón, M. A., Guichard, E., & Cayot, N. (2006b). Flavor Control in Baked Cereal Products. *Food Reviews International*, *22*(4), 335–379.
- Pozo-Bayón, M. A., Guichard, E., & Cayot, N. (2006). Flavor Control in Baked Cereal Products. *Food Reviews International*, *22*(4), 335–379.
- Primo-Martín, C., van Dalen, G., Meinders, M. B. J., Don, A., Hamer, R. H., & van Vliet, T. (2010). Bread crispness and morphology can be controlled by proving conditions. *Food Research International*, *43*(1), 207–217.

R

- Repoux, M., Labouré, H., Courcoux, P., Andriot, I., Sémon, É., Yven, C., ... Guichard, E. (2012). Combined effect of cheese characteristics and food oral processing on in vivo aroma release. *Flavour and Fragrance Journal*, *27*(6), 414–423.
- Repoux, M., Sémon, E., Feron, G., Guichard, E., & Labouré, H. (2012). Inter-individual variability in aroma release during sweet mint consumption. *Flavour and Fragrance Journal*, *27*(1), 40–46.
- Richard, H. (1992). *Les arômes alimentaires*. Lavoisier / Tec & Doc.
- Risvik, E., McEwan, J. A., Colwill, J. S., Rogers, R., & Lyon, D. H. (1994). Projective mapping: A tool for sensory analysis and consumer research. *Food Quality and Preference*, *5*(4), 263–269.
- Rødbotten, M., Tomic, O., Holtekjølen, A. K., Grini, I. S., Lea, P., Granli, B. S., ... Sahlstrøm, S. (2015). Barley bread with normal and low content of salt; sensory profile and consumer preference in five European countries. *Journal of Cereal Science*, *64*, 176–182.
- Rodrigues, S. A., Young, A. K., James, B. J., & Morgenstern, M. P. (2014). Structural Changes Within a Biscuit Bolus During Mastication. *Journal of Texture Studies*, *45*(2), 89–96.
- Romano, A., Toraldo, G., Cavella, S., & Masi, P. (2007). Description of leavening of bread dough with mathematical modelling. *Journal of Food Engineering*, *83*(2), 142–148.

## S

- Saint-Eve, A., Laverjat, C., Magnan, C., Déléris, I., & Souchon, I. (2009). Reducing salt and fat content: Impact of composition, texture and cognitive interactions on the perception of flavoured model cheeses. *Food Chemistry*, *116*(1), 167–175.
- Saint-Eve, A., Panouillé, M., Capitaine, C., Déléris, I., & Souchon, I. (2015). Dynamic aspects of texture perception during cheese consumption and relationship with bolus properties. *Food Hydrocolloids*, *46*, 144–152.
- Salles, C., Briand, L., Brachais, L., & Voilley, A. (2012). Chapitre 1. Molécules aromatisantes et sapides. In *Texture et flaveur des aliments* (Educagri éditions).
- Salles, C., Chagnon, M.-C., Feron, G., Guichard, E., Laboure, H., Morzel, M., ... Yven, C. (2011). In-Mouth Mechanisms Leading to Flavor Release and Perception. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(1), 67–90.
- Scanlon, M. G., & Zghal, M. C. (2001). Bread properties and crumb structure. *Food Research International*, *34*(10), 841–864.
- Schieberle, P., & Grosch, W. (1991). Potent odorants of the wheat bread crumb. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung*, *192*(2), 130–135.
- Schieberle, P., & Grosch, W. (1992). Changes in the concentrations of potent crust odourants during storage of white bread. *Flavour and Fragrance Journal*, *7*(4), 213–218.
- Shama, F., Parkinson, C., & Sherman, P. (1973). IDENTIFICATION OF STIMULI CONTROLLING THE SENSORY EVALUATION OF VISCOSITY I. Non-Oral Methods. *Journal of Texture Studies*, *4*(1), 102–110.
- Shama, F., & Sherman, P. (1973). Identification of stimuli controlling the sensory evaluation of viscosity II. Oral Methods. *Journal of Texture Studies*, *4*(1), 111–118.
- Shehzad, A., Chiron, H., Della Valle, G., Kansou, K., Ndiaye, A., & Réguerre, A. L. (2010). Porosity and stability of bread dough during proofing determined by video image analysis for different compositions and mixing conditions. *Food Research International*, *43*(8), 1999–2005.
- Španěl, P., Van Doren, J. M., & Smith, D. (2002). A selected ion flow tube study of the reactions of  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{NO}^+$ , and  $\text{O}_2^+$  with saturated and unsaturated aldehydes and subsequent hydration of the product ions. *International Journal of Mass Spectrometry*, *213*(2), 163–176.
- Starr, G., Hansen, Å. S., Petersen, M. A., & Bredie, W. L. P. (2015). Aroma of wheat porridge and bread-crumbs is influenced by the wheat variety. *LWT - Food Science and Technology*, *63*(1), 590–598.
- Stokes, J. R., & Davies, G. A. (2007). Viscoelasticity of human whole saliva collected after acid and mechanical stimulation. *Biorheology*, *44*(3), 141–160.
- Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woolsey, A., & Singleton, R. (1974). Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. *Food Technology*, *28*(11), 24–34.
- Szczesniak, A. S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, *13*(4), 215–225.

## T

- Tarrega, A., Yven, C., Sémon, E., & Salles, C. (2008). Aroma release and chewing activity during eating different model cheeses. *International Dairy Journal*, *18*(8), 849–857.

- Taylor, A. J. (2002). Release and Transport of Flavors *In Vivo*: Physicochemical, Physiological, and Perceptual Considerations. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1(2), 45–57.
- Taylor, A. J., & Linforth, R. S. T. (1996). Flavour release in the mouth. *Trends in Food Science & Technology*, 7(12), 444–448.
- Taylor, A. J., Linforth, R. S. T., Harvey, B. A., & Blake, A. (2000). Atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry for in vivo analysis of volatile flavour release. *Food Chemistry*, 71(3), 327–338.
- Teillet, E., Schlich, P., Urbano, C., Cordelle, S., & Guichard, E. (2010). Sensory methodologies and the taste of water. *Food Quality and Preference*, 21(8), 967–976.
- Tenenhaus, M. (1999). L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée*, 47(2), 5–40.
- Thomas-Danguin, T., Sinding, C., Tournier, C., & Saint Eve, A. (2016). Chapter 5. Multimodal Interactions. In *Flavor: From food to behaviors, wellbeing and health*. Elsevier.
- Thomsen, M., Gourrat, K., Thomas-Danguin, T., & Guichard, E. (2014). Multivariate approach to reveal relationships between sensory perception of cheeses and aroma profile obtained with different extraction methods. *Food Research International*, 62, 561–571.
- Thuillier, B. (2007). *Rôle du CO<sub>2</sub> dans l'appréciation organoleptique des champagnes-Expérimentation et apports méthodologiques*. URCA, Reims.
- Ting, V. J. L., Romano, A., Silcock, P., Bremer, P. J., Corollaro, M. L., Soukoulis, C., ... Biasioli, F. (2015). Apple Flavor: Linking Sensory Perception to Volatile Release and Textural Properties. *Journal of Sensory Studies*, 30(3), 195–210.
- Tournier, C., Grass, M., Septier, C., Bertrand, D., & Salles, C. (2014). The impact of mastication, salivation and food bolus formation on salt release during bread consumption. *Food & Function*, 5(11), 2969–2980.
- Tournier, C., Grass, M., Zope, D., Salles, C., & Bertrand, D. (2012). Characterization of bread breakdown during mastication by image texture analysis. *Journal of Food Engineering*, 113(4), 615–622.

## U

- Ullrich, F., & Grosch, W. (1987). Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 184(4), 277–282.

## V

- van Boekel, M. A. J. S. (2006). Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances*, 24(2), 230–233.
- van der Bilt, A., Engelen, L., Pereira, L. J., van der Glas, H. W., & Abbink, J. H. (2006). Oral physiology and mastication. *Physiology & Behavior*, 89(1), 22–27.
- van Ruth, S., Boscaini, E., Mayr, D., Pugh, J., & Posthumus, M. (2003). Evaluation of three gas chromatography and two direct mass spectrometry techniques for aroma analysis of dried red bell peppers. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223–224, 55–65.



- van Ruth, S. M., & Roozen, J. P. (2000). Influence of mastication and saliva on aroma release in a model mouth system. *Food Chemistry*, 71(3), 339–345.
- Vanin, F. M., Lucas, T., & Trystram, G. (2009). Crust formation and its role during bread baking. *Trends in Food Science & Technology*, 20(8), 333–343.
- Vázquez-Araújo, L., Parker, D., & Woods, E. (2013). Comparison of Temporal–Sensory Methods for Beer Flavor Evaluation. *Journal of Sensory Studies*, 28(5), 387–395.
- Vinyard, C. J., Fiszman, S. (2016). Using electromyography as a research tool in food science. *Current Opinion in Food Science*, 9, 50-55.

W

- Wang, T., Španěl, P., & Smith, D. (2004). A selected ion flow tube, SIFT, study of the reactions of  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{NO}^+$  and  $\text{O}_2^+$  ions with several N- and O-containing heterocyclic compounds in support of SIFT-MS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 237(2–3), 167–174.
- Williams, A. A., & Langron, S. P. (1984). The use of free-choice profiling for the evaluation of commercial ports. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(5), 558–568.
- Wilson, C. E., & Brown, W. E. (1997). Influence of Food Matrix Structure and Oral Breakdown During Mastication on Temporal Perception of Flavor. *Journal of Sensory Studies*, 12(1), 69–86.
- Wirfält, E., McTaggart, A., Pala, V., Gullberg, B., Frasca, G., Panico, S., ... Slimani, N. (2002). Food sources of carbohydrates in a European cohort of adults. *Public Health Nutrition*, 5(6B), 1197–1215.
- Witt, T., & Stokes, J. R. (2015). Physics of food structure breakdown and bolus formation during oral processing of hard and soft solids. *Current Opinion in Food Science*, 3, 110–117.
- Wold, S., Kettaneh, N., & Tjessem, K. (1996). Hierarchical multiblock PLS and PC models for easier model interpretation and as an alternative to variable selection. *Journal of Chemometrics*, 10(5–6), 463–482.

Y

- Young, A. K., Cheong, J. N., Hedderley, D. I., Morgenstern, M. P., & James, B. J. (2013). Understanding the Link between Bolus Properties and Perceived Texture. *Journal of Texture Studies*, 44(5), 376–386.
- Young, A. K., Cheong, J. N., Foster, K. D., Hedderley, D. I., Morgenstern, M. P., & James, B. J. (2016). Exploring the links between texture perception and bolus properties throughout oral processing. Part 1: Breakdown paths. *Journal of Texture Studies*, n/a-n/a.

Z

- Zanoni, B., Peri, C., & Pierucci, S. (1993). A study of the bread-baking process. I: A phenomenological model. *Journal of Food Engineering*, 19(4), 389–398.
- Zehentbauer, G., & Grosch, W. (1998a). Crust aroma of baguettes I. Key odorants of baguettes prepared in two different ways. *Journal of Cereal Science*, 28(1), 81–92.
- Zehentbauer, G., & Grosch, W. (1998b). Crust aroma of baguettes II. Dependence of the concentrations of key odorants on yeast level and dough processing. *Journal of Cereal Science*, 28(1), 93–96.

# ANNEXES



**Annexe 1 : Tableau non exhaustif des éléments de composition de la salive et de leur concentration dans la salive (Féron & Salles, 2013)**

Ce tableau est extrait du chapitre 2 : Role de la sphère orale (Féron & Salles), de l'ouvrage *Structure des aliments et effets nutritionnels* (Fardet, Souchon & Dupont, 2013) aux éditions Quae.

Composé ou fonction	Activité/ concentration/ valeur	Nombre de sujets étudiés	Références	
<b>Enzymes</b>				
Lypolyse (lipase)	0-12 mU/mL	51	Stewart <i>et al.</i> , 2010	
	0-335 mU/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012	
	37-874 mU/mL	85	Voho <i>et al.</i> , 2006	
	0-28 mU/mL	56	Chauncey <i>et al.</i> , 1954	
Protéolyse	210 ± 80 mU/mL	5	Drago <i>et al.</i> , 2011	
	0,8 ± 0,1 mU/mL	7	Helmerhorst <i>et al.</i> , 2018	
	29-290 mU/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012	
Amylase	16-419 U/mL	85	Voho <i>et al.</i> , 2006	
	11-81 U/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012	
	38-1325 U/mL	14	Ferry <i>et al.</i> , 2006	
	163 ± 77 U/mL	24	Enberg <i>et al.</i> , 2001	
Estérase	0-78 mU/mL	56	Chauncey <i>et al.</i> , 1954	
Lysozyme	173-1600 U/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012	
	0-649 U/mL	56	Chauncey <i>et al.</i> , 1954	
	268 ± 67 U/mL	5	Drago <i>et al.</i> , 2011	
	1603 ± 797 U/mL	30	Lee <i>et al.</i> , 2007	
	3,94 ± 5,35 mg/L	202	Rudney, 1989	
Peroxydases	12 mU/mL	30	Lee <i>et al.</i> , 2007	
	5,04 ± 3,05 µg/mL <sup>1</sup>	202	Rudney, 1989	
	50-160 mU/mL	12	Gorelik <i>et al.</i> , 2007	
	283,9 ± 20 mU/mL	19	Nagler <i>et al.</i> , 2002	
	260 ± 110 mU/mL <sup>2</sup>	44 <sup>2</sup>	Kanehira <i>et al.</i> , 2006	
Superoxyde dismutase (SOD)	165 ± 260 ng/mL <sup>2</sup>	44 <sup>2</sup>	Kanehira <i>et al.</i> , 2006	
	790 ± 110 mU/mL	19	Nagler <i>et al.</i> , 2002	
<b>Composés sapides</b>				
Sodium	140-275 µg/mL	5	Delwiche & O'Mahony, 1996	
	140 ± 20,34 µg/mL	8	Dawes, 1972	
Calcium	22,6-1800 µg/mL	?	Spielman, 1990	
	34 ± 18 µg/mL	22	Larsen & Pearce, 2003	
Lipides	13,6 µg/mL	10	Larsson <i>et al.</i> , 1996	
	5,3 ± 2,1 µg/mL	17	Poette <i>et al.</i> , 2013	
	- Triglycérides	2,9 µg/mL		Larsson <i>et al.</i> , 1996
	- Diglycérides	2,6 µg/mL		Larsson <i>et al.</i> , 1996
	- Monoglycérides	1 µg/mL		Larsson <i>et al.</i> , 1996
- Acides gras libres	1 µg/mL		Larsson <i>et al.</i> , 1996	
Hydrates de carbone (dont sucres)	26,3 ± 13,1 µg/mL	30	Lee <i>et al.</i> , 2007	
	- Hexoses	98,3 ± 16 µg/mL	11	Johansson <i>et al.</i> , 1984
	- Fucose	58 ± 12,3 µg/mL	11	Johansson <i>et al.</i> , 1984
Peptides	1-70 nM <sup>5</sup>	1	Perinpanayagam <i>et al.</i> , 1995	

Acides aminés			
Alanine	1,81 ± 0,4 µg/mL	8	Nagata <i>et al.</i> , 2006
Glycine	1,1 ± 0,12 µg/mL	18	Brand <i>et al.</i> , 1997
	3,2 ± 0,8	18	Brand <i>et al.</i> , 1997
	10,3 ± 5,7	5	
Glutamate	0,24 ± 0,06 µg/mL	8	Woldring, 1955
	3 µg/mL	?	Nagata <i>et al.</i> , 2006
	6,23 ± 1,3 µg/mL	20	
	2,2 ± 0,6 µg/mL	18	Spielman, 1990
Histidine	4,1 ± 2,9 µg/mL	5	Rajda <i>et al.</i> , 1999
	7,4 ± 3,8 µg/mL	5	Brand <i>et al.</i> , 1997
Leucine	1,8 ± 0,8 µg/mL	2	Woldring, 1955
	3,3 ± 1,2 µg/mL	5	Woldring, 1955
Phénylalanine	0,6 ± 0,14 µg/mL	2	Kirch <i>et al.</i> , 1953
	3,5 ± 1,1 µg/mL	5	Woldring, 1955
Tryptophane	1,8 ± 0,8 µg/mL	2	Kirch <i>et al.</i> , 1953
	7 µg/mL	20	Woldring, 1955
Tyrosine	0,3 ± 0,14 µg/mL	2	Kirch <i>et al.</i> , 1953
	10 ± 1,9 µg/mL	18	Rajda <i>et al.</i> , 1999
	8 µg/mL	20	Kirch <i>et al.</i> , 1953
	4,7 ± 2,3 µg/mL	5	Brand <i>et al.</i> , 1997 Woldring, 1955
Autres			
Protéines	1,09 ± 0,1 mg/mL	69	Repoux <i>et al.</i> , 2012
	2,25 ± 1,2 mg/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012
	1,76 ± 0,58 mg/mL	5	Drago <i>et al.</i> , 2011
Lipocalines	1,02 ± 0,75 eq LCN1/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012
	134,4 ± 84,4 ng/mL	17	Poette <i>et al.</i> , 2013
Glutathion	0,24-0,61 µg/mL	12	Gorelik <i>et al.</i> , 2007
	3,1 ± 2,4 µg/mL	44	Kahenira <i>et al.</i> , 2006
	0,122-0,52 µg/mL	40	Zappacosta <i>et al.</i> , 1999
Acide urique	2,52-9,24 µg/mL	12	Gorelik <i>et al.</i> , 2007
	50,7 ± 24 µg/mL	13	Neyraud <i>et al.</i> , 2012
	28,7 ± 5 µg/mL	19	Nagler <i>et al.</i> , 2002
	51,7 ± 13 µg/mL	30	Liskmann <i>et al.</i> , 2007
Nitrites	60-400 µM	12	Gorelik <i>et al.</i> , 2007
Cystatine SN (antiprotéasique)	64 896-34 973 <sup>3</sup> ± 45 %	29	Dsamou <i>et al.</i> , 2011
Mucines, dont :	366 ± 166 µg/mL	60	Rayment <i>et al.</i> , 2000
- MG1	233 ± 146 µg/mL		
- MG2	133 ± 116 µg/mL		
<i>Prolin rich proteins</i>	0,7-2,45 mg/mL <sup>4</sup>	n/a	Bennick, 1982 Schenkels <i>et al.</i> , 1995

<sup>1</sup> : en équivalent lactoperoxydase ; <sup>2</sup> : valeur estimée ; <sup>3</sup> : données relatives et normalisées ; <sup>4</sup> : valeurs estimées à partir de valeurs de concentrations en protéines de salive parotidienne. Les PRP représentent 70 % de ces protéines ; <sup>5</sup> : peptides variés de faibles poids moléculaires, valeurs estimées, salive parotidienne.

## **Annexe 2 : Performances globales et individuelles du panel #1**

Les performances globales et individuelles du panel en termes d'homogénéité, de pouvoir discriminant et de répétabilité ont été calculées sur les données du profil progressif, selon les critères présentés dans le Tableau II.3-3 du chapitre Matériel et méthodes. Les résultats sont rapidement présentés dans les **Tableaux 1 et 2**.

**Tableau 1 : Nombre d'attributs répondant aux critères de performance du panel #1 (14 juges)**

	<b>Arômes - M</b>	<b>Arômes - MC</b>	<b>Texture-M</b>	<b>Texture-MC</b>
<b>Répétabilité</b>	3/4	7/7	7/7	8/8
<b>Homogénéité</b>	0/4	1/7	0/7	0/8
<b>Pouvoir discriminant</b>	4/4	7/7	7/7	8/8

Le panel #1 est globalement répétable avec un bon pouvoir discriminant, mais manque d'homogénéité. L'analyse des performances individuelles a permis d'identifier un juge en complet désaccord sur quasiment tous les descripteurs (J12), qui pourrait contribuer à la mauvaise homogénéité du panel. Les juges J1 à J8, J11 et J13 sont considérés comme performants. Cependant les juges J11 et J13 n'ont pas pu continuer la suite de l'étude pour des raisons de disponibilité.

**Tableau 2 : Résumé des performances individuelles des panélistes pour chacun des attributs. + : discriminant et en accord ; = : non discriminant ; - : discriminant et en désaccord ; ! : non répétable.**

	Descripteurs	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14
<b>Arômes-M</b>	Levure/Fermenté	+	+	=!	+	+	=!	-	=!	=!	+	=!	-	+	=!
	Farine mouillée	+	+	=	+	-	=	+	+	=!	+	=	+	=	=!
	Beurre	=	+	=	-	=	-	-	=	=!	-	+	-	+	=!
	Céréales (Blé)	-	+	=!	+	+	-	-	=!	=!	-	=	-	=	=!
<b>Arômes-MC</b>	Levure/fermenté	-	+	+	+	-	=	=!	-	-	=	=!	-!	+	-!
	Farine mouillée	+	+	=	+	-	=	+	-	=!	=	=	+	-	-!
	Céréales (Blé)	+	+	=	-	-	=	=	=!	=	=!	=!	+	-	=!
	Toasté	=	+	-	=	=	-!	=	=!	=!	-	=!	-	=!	=!
	Grillé	=!	=	=	=	-	=	-	=	-	=!	=!	-	=	=!
	Céréales torrifiées	-	+	=!	+	+	=	+	=!	-!	=!	=!	-	+	=!
	Carton mouillé	+	+	-!	+	+	-	=	+	=	=!	=	-	-	=!
<b>Texture-M</b>	Aéré	-	+	+	+	+	+	+	-	=!	-	+	-	-	-!
	Mou	+	+	+	+	+	+	-	+	=	-	+	-	+	=!
	Hétérogène	+	+	=	+	+	-!	-	=	=!	-	+	+	-	=!
	Sec	+	+	=!	=	-	+	+	+	=!	+	=!	-	+	=!
	Fondant	+	+	+	+	+	-!	-	+	=!	-!	=!	=	+	=!
	Collant	+	+	-	+	+	+	+	+	=!	=!	+	-	+	=!
	Pâteux	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-!
<b>Texture-MC</b>	Aéré	=	+	+	+	+	=	+	-	+	-	=	-	-	+
	Mou	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	+	-	+	=!
	Hétérogène	+	+	=	-	+	-	+	+	=	+	=	-	+	=!
	Sec	+	+	+	+	+	+	+	+	=	+	=	-	+	=!
	Collant	+	+	=!	+	+	=!	+	+	=	=	+	-	+	=!
	Pâteux	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	=!
	Croustillant	+	+	+	-	+	-	+	+	=	=	=!	-	+	=!
	Elastique	+	+	=!	-	=!	+	+	=!	-	=	=	-	-	=!

Suite à cette analyse, 8 juges globalement performants et disponibles pour la suite de l'étude ont donc été sélectionnés.

**Annexe 3 : Publication de Mathieu et al. (2016)**

*Publication parue dans Food & Function*  
*Food Funct.*, 2016, **7**, 3577-3589

# Kinetics of bread crumb hydration as related to porous microstructure

---

Vincent Mathieu<sup>1</sup>, Anne-Flore Monnet<sup>1</sup>, Solenne Jourden<sup>1,2</sup>, Maud Panouillé<sup>1</sup>, Christine Chappard<sup>3</sup>,  
Isabelle Souchon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR GMPA, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78850 Thiverval-Grignon, France

<sup>2</sup> Lesaffre International, 59700 Marcq-en-Barœul, France

<sup>3</sup> UMR B2OA, CNRS, Université Diderot - Sorbonne-Paris Cité, 75010 Paris, France

Corresponding author: [vincent.mathieu@inra.fr](mailto:vincent.mathieu@inra.fr)



## Abstract

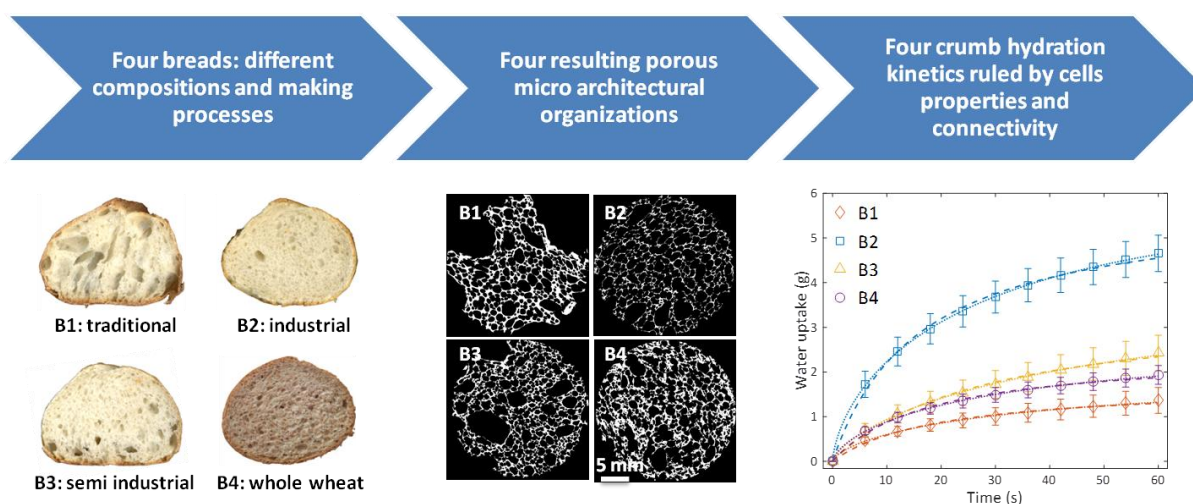
During oral processing and throughout the digestion process, hydration mechanisms have a key influence on the functional properties of food. This is the case with bread, for which hydration may affect the kinetics of starch hydrolysis as well as taste, aroma and texture perceptions. In this context, the aim of the present study is to understand how crumb porous micro-architecture impacts hydration kinetics.

Four types of French baguettes were considered, varying in structure and/or composition. An experimental set-up was developed for the real-time measurement of water uptake in crumb samples. Mathematical models were then fitted to extract quantitative parameters of use for the description and the understanding of experimental observations. Finally, bread crumb samples were analyzed before and after hydration through X-ray micro-computed tomography for the assessment of crumb micro-architectural properties.

Distinct hydration behaviors were observed for the four types of bread. Higher hydration rates and capacities were reported for industrial baguettes (highest porosity) compared to denser semi-industrial, whole wheat and traditional baguettes. However, crumb porosity alone is not sufficient to predict hydration behavior. The study made it possible to point out the importance of capillary action in crumb hydration mechanisms, with a strong role of cells with diameters of 2 mm and under. The high density of these small cells generates high interconnection probabilities that may have an impact both on crumb hydration duration and capacity.

As a consequence, accounting for microstructural features resulting from bread formulation may provide useful leverages for the control of functional properties.

## Graphical abstract



## Nomenclature

<i>WAC</i>	Water absorbing capacity (in grams of water per gram of crumb dry matter)
$m_c(t)$	Time evolution of container mass loss during hydration kinetics measurements (g)
$\Delta$	Water uptake mass artifact due to surface tension (g)
$m(t)$	Time evolution of water uptake in crumb samples (g)
$k_1$	Peleg rate constant ( $s \cdot g^{-1}$ )
$k_2$	Peleg capacity constant ( $g^{-1}$ )
$R_0$	Initial instantaneous sorption rate ( $g \cdot s^{-1}$ )
$M_\infty$	Mass of water uptake at equilibrium (g)
$\alpha$	Weibull shape parameter (no unit)
$\beta$	Weibull rate parameter ( $s^{-1}$ )
$M_\infty$	Mass of water uptake at equilibrium (g)
<i>xR-<math>\mu</math>CT</i>	X-ray micro-computed tomography
<i>VOI</i>	Volume of interest
$M_\infty$	Mass of water uptake at equilibrium (g)
$\phi$	Porosity (%)
$\phi_{op}$	Open porosity (%)
$\phi_{cl}$	Close porosity (%)
<i>BV/TV</i>	Bread volume over total volume fraction (%)
<i>BS/TV</i>	Bread surface over total volume fraction: specific surface (%)
<i>w.Th</i>	Crumb cell wall thickness ( $\mu m$ )
<i>c.Wi</i>	Crumb cell width ( $\mu m$ )

## Introduction

Living up to its reputation in the traditional food landscape, bread is a highly appreciated and consumed food product in France. Moreover, due to its content in carbohydrates, fibers and plant proteins, bread also presents interesting nutritional properties. However, beyond its composition and nutritional features, bread has a complex structure with a large impact on many functional properties such as texture perception and glycemic index<sup>1,2</sup>. Bread crumb is a solid foam composed of pores with anisotropic shapes and orientations, and heterogeneous dimensions and connectivity<sup>3</sup> (consequence of the respective and interactive contributions of composition (ingredients) and processing<sup>4</sup>). The resulting wide range of bread structures leads to various behaviors in terms of sensory perception<sup>5</sup> and digestion<sup>6,7</sup>, with the particular importance of the oral processing step. Due to the presence of multiple sensory receptors in the oral cavity, oral processing enables the full appreciation of food texture and flavor dynamic perceptions<sup>8</sup>. Moreover, oral processing is the first stage of a complex cascade of mechanisms involved in food digestion. With high starch content in bread and the secretion of salivary alpha-amylase, oral processing plays an important role in bread digestion<sup>9</sup>.

Oral processing ensures the transformation of a food product (with its initial shape, dimensions and rheological properties) into a safe and comfortable form to be swallowed, the bolus<sup>10</sup>. Bread oral processing can be broken down into three main steps: (i) particle size reduction due to mechanical softening<sup>11</sup>; (ii) starch digestion by salivary alpha-amylase<sup>12</sup>; and (iii) bread bolus hydration by saliva<sup>13</sup>. One of the most important barriers to the understanding of these phenomena is that they operate simultaneously, making it difficult to identify individual contributions to bolus formation.

The relation between structure of bread and oral processing has been investigated in several recent studies<sup>14,15</sup>, considering breads based on identical composition and different making processes (determinant for the formation of the structure of bread<sup>3</sup>). Water absorbing capacity of crumb has been shown by Jourden *et al.*<sup>14</sup> to be one of the most important properties of bread explaining the evolution of bolus properties during oral processing. The importance of hydration mechanisms was confirmed by Gao *et al.*<sup>15</sup> who reported significant correlations between bolus moisture content and texture. Based on these observations, the present study proposes to focus on the specific relationship between bread crumb porous structure and hydration mechanisms. The characterization and the understanding of bread crumb hydration kinetics may be helpful because hydration takes part in several mechanisms that occur during oral processing. First, saliva absorption by bread crumb alters the mechanical properties of cell walls and contributes to mechanical breakdown and particle size reduction<sup>13</sup>. Second, saliva enables the aggregation of particles and the lubrication of the bolus in order: (i) to enhance taste, aroma and texture perception<sup>16</sup>; and (ii) to meet the criteria to trigger the swallowing reflex<sup>17</sup>. Third, saliva ensures the transport of alpha-amylase to the cell walls and, as a consequence, plays a key role in starch enzymatic hydrolysis<sup>18,19</sup>. The combined action of all these mechanisms is responsible for the major influence of bread bolus hydration on the consistency of the bread bolus<sup>20</sup>.

Hydration phenomena were studied in different works on porous food products, including sponge cakes<sup>21</sup> and breakfast cereals<sup>22-25</sup>. These studies have shown the importance of liquid phase composition and temperature<sup>23</sup>, as well as of food product composition and structure<sup>24,25</sup>. Theoretical and empirical models have been used to describe hydration phenomena in starch products such as spaghetti<sup>26,27</sup>, penne<sup>28</sup>, rice<sup>29</sup> and sponge cake<sup>21</sup>. Theoretical models based on Fick's

first and second laws of diffusion have been proposed<sup>30,31</sup>. However, Fick's laws do not make it possible to take all of the complex phenomena involved in bread crumb hydration into account (influence of medium geometry, structure, porosity, temperature, density, capillary action, swelling, etc.). Empirical models have thus been preferred, along with exponential models, Peleg's equation and Weibull's distribution function<sup>32</sup>. These models enabled the identification of quantitative parameters relevant for the description, the understanding and the prediction of hydration kinetics.

Faced with the importance of bread crumb microstructure, several modalities of characterization have been investigated, including liquid extrusion porosimetry, scanned image analysis, volume displacement methods and scanning electron microscopy<sup>33</sup>. During the last ten years, numerous studies have proposed (with success) the use of X-ray micro-computed tomography ( $\mu$ CT) for the quantitative characterization of the microstructure of cellular food products<sup>34</sup> and particularly of bread<sup>35,36</sup>. In the literature, the two main challenges of non-invasive characterization of food microstructure were: (i) to quantify and understand the relative contributions of composition and process in the formation of food structure<sup>37</sup>; and (ii) to study the relationship between structure and mechanical properties<sup>38</sup>, which may influence the kinetics of food mechanical breakdown during oral processing and digestion.

X-ray  $\mu$ CT thus made it possible to monitor the kinetics of bubble growth and foam setting in bread dough during fermentation and proofing<sup>39,40</sup>. Morphological parameters have also been used to quantify effects related to bread production like heating temperature<sup>41</sup> and flour quality<sup>42</sup>. X-ray  $\mu$ CT also provided relevant structure descriptions to be meshed and used in numerical simulations for the purpose of mechanical characterization<sup>43-45</sup> or crack propagation analysis<sup>46</sup>. More recently, a study comparing synchrotron radiation and conventional X-ray  $\mu$ CT modalities for the assessment of cellular food product micro-architecture revealed that even though food products have similar values of porosity, their cellular structures may be very different<sup>47</sup>. As a consequence, both averages and distributions of morphological parameter values have to be taken into account for the characterization and classification of different cellular food products<sup>48</sup>.

The originality of the present study is to investigate the relationship between the micro-architecture and the kinetics of bread crumb hydration. To do so, four French baguettes with different compositions and/or making processes were considered. An experimental set-up was developed for the real-time measurement of water uptake in bread crumb cylinders. Peleg and Weibull empirical models were used to derive quantitative information about the different stages of the kinetics of hydration of each type of bread. The four types of bread crumb were then analyzed by X-ray micro-computed tomography in order to show the evolution of bread micro-architecture before, during and after full hydration.

## Material and Methods

### 1. Bread samples and preliminary characterization

#### 1.a. Bread types and samples preparation

Four types of French baguettes (referred to as B1, B2, B3 and B4, respectively) were considered in the study. To ensure standardized bread making processes, the manufacturing of the four types of breads was outsourced to an industrial partner for breads B1, B2 and B3 (Lesaffre, Marc-en-Baroeul, France) and to a major firm of food retail in France for bread B4 (Auchan, Croix, France).

B1, B2 and B3 were par-baked and frozen French baguettes manufactured at the baking center of an industrial partner (Lesaffre, Marc-en-Baroeul, France) following rigorously controlled and standardized bread making processes. The three breads are made with the same wheat flour and have very close compositions. Their various structures rely on differences in critical making steps (mixing, fermenting, baking) that have been shown to strongly influence the structure of bread<sup>3,15</sup>. Mixing duration is short for B1 and B3, long for B2. Fermentation duration is short for B2, mid short for B3 and long for B1. The final baking was realized in the lab using a dedicated oven (Wiesheu Minimat, Affalterbach, Germany) at 220°C (durations of 9, 7 and 8 min respectively for B1, B2 and B3). In addition of strict baking durations and temperature, the position of the breads in the oven was controlled. Moreover, the experiments were realized after a 2 hours period of cooling, and within a 2 hours time interval. These three breads enable to investigate the effect of crumb structure on hydration behavior.

Bread B4 was provided by a major firm of food retail in France (Auchan, Croix, France), which offers high process standardizations. This bread differs from the three other breads both by its composition (made with whole wheat flour and containing milled wheat grains) and by its elaboration process (unknown). Bread B4 was bought the morning of each day of experiments. It was selected for its water content (close to B1, B2 and B3) and its density (close to bread B1). Comparing B4 to B1, B2 and B3 thus enables to discuss the combined effects of crumb density, composition and structure.

To prevent from any deviations in the quality of the products analyzed in the study, crumb density, water content and Young's modulus were systematically measured in order to detect any deviations in the quality of each batch of breads.

Most of the experiments required to prepare cylindrical crumb samples. The regular shaping of these samples was a critical step. First, a bread slicer was used to cut (Krupps universal slicer F372, Solingen, Germany) bread slices with the desired thickness (typically 25 mm). Second, sharpened cylindrical cutters (Facom, Morangis, France) varying in diameter (26, 28 or 30mm) were positioned above the center of bread slices and delicately pushed down all by making circular movements. The obtained crumb cylinders were carefully examined in order to remove from the study any sample with an irregular shape or with a damaged edge structure.

#### 1.b. Density

Crumb density was calculated in triple replications for each type of bread, following the rapeseed displacement method already validated for bread<sup>33,49</sup>. Briefly, it consists in determining the irregular volume of a baguette by the measurement of its equivalent rapeseed volume (known mass density of 0.73 g.cm<sup>-2</sup>). The bread density is then obtained from the ratio between bread and water mass densities.

### **1.c. Water and starch content**

Water content measurements were carried out following a procedure adapted from Loret *et al.*<sup>50</sup>. Crumb samples (approximately 3 grams) were weighted using a 0.1 mg precision balance (Precisa 303 A, Newport Pagnell, UK) before ( $m_1$ ) and after ( $m_2$ ) being placed in an oven set at 110°C for 15 h (Memmert UF 160, Schwabach, Germany). The temperature and time of the oven were determined in a preliminary study. Water content (WC, in grams of water per 100 grams of crumb) was then determined as a percentage of initial weight, following  $WC=100 \times (m_1 - m_2) / m_1$ . Water content measurements were carried out in three baking replicates for each type of bread.

A procedure described in details by Goni *et al.*<sup>51</sup> was followed for the measurement of total starch content in bread crumb. Briefly, it consisted in the total hydrolysis of starch by amyloglucosidase, followed by the measurement of resulting glucose using a commercial kit from Biosentec (v10-10321, Biosentec, Auzeville-Tolosane, France). Total starch content in bread crumb was measured in triplicate for each type of bread and expressed in g of starch per 100g of crumb.

### **1.d. Young's Modulus**

Compression tests were carried out using a tensile/compressive instrument (TA.XT+, Stable Microsystems, Godalming, UK) equipped with a flat 30 mm diameter circular probe and a 500 N load cell. The calibration of probe height was performed before each measurement. Cylindrical crumb samples (30 mm in diameter, 25 mm in height) were prepared following the procedure described in section 1.a. Samples were carefully centered under the circular probe, that was automatically lowered until contact with the top surface of the cylinders (0.05 N threshold force). Then, 66% strain rate compressions were realized with an imposed velocity of 50 mm.min<sup>-1</sup>. Young's modulus were determined from the calculation of the slope of the stress-strain curve between in the 0-5% range of deformation (linear interpolation), included in the range of linear elasticity. For each type of bread, Young's modulus measurements were carried out on three different samples collected on three different baguettes.

### **1.e. Crumb water absorbing capacity**

Two types of crumb samples were considered for water absorbing capacity (WAC) measurements. The first one consisted of cylinders of 26 mm in diameter and 25 mm in height. For the second one, identical crumb cylinders were ground during four sequences of 5 seconds (Multi-moulinette Moulinex 400W, Moulinex, Ecully, France). Samples were weighed and immersed in milli-Q water for 30 minutes. Ground samples were then centrifuged at 1000 rpm for 10 minutes (Eppendorf S804-R, Hamburg, Germany), whereas cylinders were drained on a grid (1 mm<sup>2</sup> mesh size). Samples were then weighed and dried for 15 to 24 hours at 110°C. Finally, WAC (in grams of water per grams of dry matter) was determined as the ratio between the mass of water absorbed by the sample and its corresponding dry matter mass. Three replicates were performed for each type of bread and of samples (intact cylinders or ground samples). The WAC of ground samples is thus related to the hydration capacity of cell walls, whereas the WAC of cylindrical samples provides information about the whole crumb structure hydration capacity.

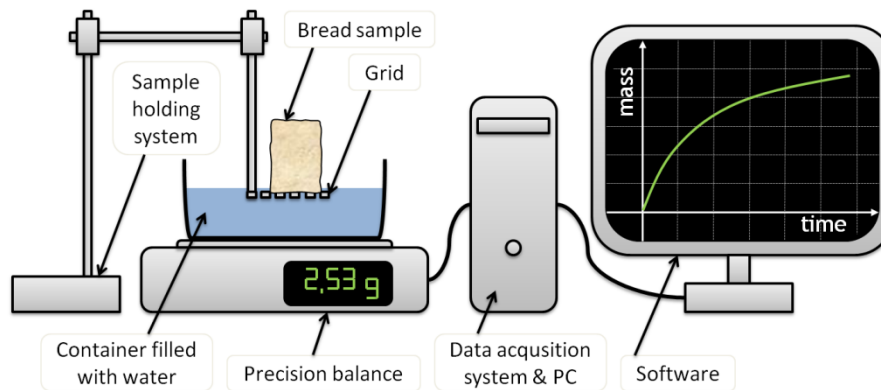
## **2. Kinetics of water uptake**

### **2.a. Experiments**

The set-up (see Figure 1) is made of a grid (1 mm<sup>2</sup> mesh size) partly immersed in a glass container filled with distilled water (mimicking saliva) and placed on a scale (XT1200C, Precisa, Dietikon, Switzerland) (precision: 0.01 g). The mesh size was chosen to be wide enough to avoid flow

rate limitation effects during absorption at the interface between water and the bread crumb sample. The immersion depth of the grid (approximately 1 mm) and the diameter of the container (200 mm) were chosen in order to prevent variations in artifacts related to water surface tension due to water level variations in the container during the experiments. Before each experiment, the glass container was refilled to the same initial volume and the balance was tared.

**Figure 1** - Schematic representation of the experimental device for water uptake kinetics measurements.



For each type of bread, a total of eight cylindrical crumb samples were prepared (28 mm in diameter, 25 mm in length) using a bread slicer (Krupps universal slicer F372, Solingen, Germany) and a cylindrical cutter (Facom, Morangis, France). At the beginning of an experiment, the crumb cylinder was placed on the grid. A data acquisition system (Precisa 320 XT/XB, Dietikon, Switzerland) enabled the real-time measurement of mass loss  $m_c(t)$  in the container, related to the mass of water  $m(t)$  absorbed by the sample (acquisition frequency: 4 Hz). Samples were weighed before and after 60 seconds of hydration to obtain an accurate estimation of the final mass  $m_{60}$  of water absorbed. A non-negligible and reproducible difference  $\Delta$  was observed between  $m_c(t=60)$  and  $m_{60}$ , independently from the type of bread ( $\Delta = 0.74 \pm 0.18$  g). This difference (representing around 10% of the total mass of water uptake in samples) is the result of: (i) surface tension artifacts; and (ii) the 1-mm-thick volume of sample immersed in the container. Assuming that the effect of this artifact is constant as a function of time, the following correction was applied to obtain the mass  $m(t)$  of water absorbed by the crumb sample:

$$m(t) = m_c(t) - \Delta \quad (1)$$

### 2.b. Empirical models

The experimental results of water uptake were compared to Peleg and Weibull models. These models have shown promising results for the description of hydration phenomena in porous food products<sup>32</sup>.

The Peleg model<sup>52</sup> is a two-parameter model expressed as follows:

$$m(t) = \frac{t}{k_1 + k_2 \cdot t} \quad (2)$$

where  $m(t)$  is the mass of water absorbed by the bread crumb sample at time  $t$ ,  $k_1$  is the Peleg rate constant and  $k_2$  is the Peleg capacity constant.

Indeed, the initial instantaneous sorption rate  $R_0$ , corresponding to  $dm/dt(t=0)$ , is related to the Peleg rate constant  $k_1$  and expressed as:

$$R_0 = \frac{1}{k_1} \quad (3)$$

In the same way, the mass of water absorbed by the bread sample at equilibrium  $M_\infty$ , corresponding to the limit of  $m(t)$  when  $t$  tends to infinity, is related to the  $k_2$  Peleg capacity constant and expressed as:

$$M_\infty = \frac{1}{k_2} \quad (4)$$

The Weibull probabilistic distribution has been used to describe water or milk sorption in porous food products like breakfast cereals<sup>22,24,53</sup>. The three-parameter model is obtained from the integration of the Weibull probabilistic distribution over time and expressed as:

$$m(t) = M_\infty \cdot \left( 1 - e^{-\left(\frac{t}{\beta}\right)^\alpha} \right) \quad (5)$$

where  $M_\infty$  is the mass of water absorbed by the bread sample at equilibrium,  $\alpha$  is Weibull shape parameter and  $\beta$  is Weibull rate parameter. The value of  $M_\infty$  was taken from the results of the Peleg model (Eqs. 2 and 4), leading to a Weibull model with only two unknown parameters<sup>21</sup>.

For both models, data fitting was performed for each experimental curve using a solver for nonlinear curve-fitting problems in the least-squares sense (Matlab, The MathWorks, Natick, MA USA). The models were evaluated with coefficients of determination  $R^2$  and root-mean-squared errors  $RMSE$ , defined by:

$$RMSE = \frac{1}{n} \sqrt{\sum_{t_i=1}^n (m(t_i) - m_m(t_i))^2} \quad (6)$$

where  $n$  is the number of discrete time points in experimental mass curves, and  $m(t_i)$  and  $m_m(t_i)$  are the experimental and simulated values of water uptake mass at time  $t_i$ , respectively.

### 3. Micro-architectural characterization of bread crumb

#### 3.a. Sample preparation

Cylindrical bread samples (26 mm in diameter, 45 mm in length) were prepared using the same materials as for water uptake kinetic tests (see section 2.a). Before each experiment, the mass of each sample was measured to determine the theoretical Water Absorbing Capacity (WAC) based on characteristics obtained from Section 1.e with cylindrical samples. The choice of sample dimensions was a compromise between a size (i) large enough to consider volumes representative of the whole baguette, and (ii) sufficiently small to overcome issues related to scanner sample volume capacity and to image processing calculations. In the literature, various numbers and dimensions of samples have been considered for bread crumb characterization (one sample of 1 cm<sup>3</sup> (Lassoued *et al.*<sup>54</sup>), five samples of 1 cm<sup>3</sup> (Pentikainen *et al.*<sup>55</sup>), and two samples of 7.5 cm<sup>3</sup> (Falcone *et al.*<sup>36</sup>). Here, a single sample of 24 cm<sup>3</sup> was considered for each configuration tested. The aim of this choice is to limit errors of structure measurements related (i) to the crumb heterogeneity (particularly for



traditional and intermediate breads with large air cells), and (ii) to truncated cells on the external boundaries.

Two different series of measurements were conducted. In the first one, the aim was to compare the micro-architectural properties of the four types of bread crumbs before and after hydration. To do so, four bread crumb cylinders (one per type of bread) were analyzed: (i) freshly cut; and (ii) after full hydration.

The aim of the second set of measurements was to reveal the micro-architectural properties of bread crumb at different intermediate levels of hydration. To do so, a cylinder of B2 bread crumb was prepared and analyzed freshly cut and after successive water intakes corresponding to 33%, 67% and 100% of WAC determined with crumb cylinders.

### **3.b. X-ray micro-computed tomography acquisitions**

Experiments were performed on a benchtop X-ray micro-computed tomography device (Skyscan 1176, Bruker, Kontich, Belgium) at the IMOSAR platform (Joint Research Unit B20A 7052, CNRS - Université Paris Diderot, France). The bread sample was placed in an airtight cylindrical container rigidly secured on the specimen holder. The X-ray beam emitter (50 kV, 500  $\mu$ A) and the CCD camera (2000 x 1336 pixels) located on both sides of the sample make a 180° rotation around the sample and record projection images of the different levels of X-ray absorption of the sample. For each angular position (rotation step set to 0.7°), the average image of four exposures of a duration of 130 ms was acquired. Pixel size was equal to 18  $\mu$ m. Due to sample dimensions, three different scans (with partial overscan) were necessary to cover the whole sample frame.

### **3.c. 3-D image processing**

Image processing was decomposed in four main steps: (i) 3-D reconstruction, (ii) noise reduction, (iii) segmentation and (iv) 3-D analyses.

(i) The sets of 2-D radiographic projections were reconstructed using *NRecon* software (SkyScan, Bruker, Kontich, Belgium) to obtain stacks of around 2000 cross-sectional images per sample. Cross-sectional images illustrate the intensity of X-ray absorption by the samples in 18x18x18  $\mu$ m<sup>3</sup> voxels coded on an 8-bit gray scale.

(ii) A 3-D median filter (voxel size: 2) was applied with ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) on cross sectional images to remove noisy voxels that may disrupt calculations.

(iii) Then comes the segmentation step, consisting in separating 8-bit grey scale voxels into two groups: radiolucent voxels (shadows) corresponding to air cell volume, and radio-opaque voxels (highlights) corresponding to crumb walls and water. The segmentation threshold was adjusted by comparison of the 8-bit gray scale images with the obtained binary images (air cells in black coded with 0; crumb walls and water in white coded with 1). Variations in the segmentation threshold were limited to +/-10 in order to conform to recommendations obtained from sensitivity studies on cellular foods<sup>47</sup>.

(iv) After segmentation, Volumes of Interest (VOIs) were selected using a semi-automatic procedure based on manual circular contouring of samples crumb sections, followed by interpolation.

All the parameters defined hereafter were calculated in the VOIs using the 3-D analysis routine of *CT-An* software (SkyScan, Bruker, Kontich, Belgium)<sup>56</sup>. Porosity (symbol  $\Phi$ , unit %) is the ratio between pore volume and total volume. Bread volume over total volume fraction (symbol  $BV/TV$ , unit %) is related to porosity ( $BV/TV=100-\Phi$ ). Two groups of pores can be distinguished: closed pores (assemblage of black voxels fully surrounded on all sides in 3-D by white voxels) and open pores (which are connected to the outer boundaries of the VOI). Closed (symbol  $\Phi_{cl}$ , unit %) and open





(symbol  $\Phi_{op}$ , unit %) porosities were thus determined. The specific surface (symbol  $BS/TV$ , unit  $\text{mm}^{-1}$ ) is the ratio between bread surface and the volume of the VOI. With 3-D image analysis, the distribution of wall thicknesses within the VOIs can be determined. Local thickness for a point in a wall is defined as the diameter of the largest sphere that fulfils the following two conditions: (i) the sphere encloses the point (not necessarily the center); and (ii) the sphere is entirely bounded with bread surfaces. Based on this definition, the algorithm can yield a distribution of wall thicknesses (symbol:  $w.Th$ ; unit:  $\mu\text{m}$ ) in two-pixel intervals ( $36 \mu\text{m}$ ). The same method was applied to the void volumes in order to derive the distribution of cell width (symbol:  $c.Wi$ ; unit:  $\mu\text{m}$ ). The last parameter determined for each type of bread crumb was the density of connectivity. It is a calculation of the number of connections in a 3-D structure that can be removed before the structure separates into two distinct pieces, standardized by the volume of the sample. Because of the lack of contrast between bread and water on cross-sectional images, 3-D analysis for partially or fully hydrated bread crumb samples was restricted to the study of pores with the measurements of  $\Phi$ ,  $\Phi_{cl}$ ,  $\Phi_{op}$  and of the distribution of  $c.Wi$ .

## Results

### 1. Preliminary characterization

Table 1 summarizes the results of the preliminary characterization of the four breads<sup>2</sup>. Weak but significant variations were reported for water content throughout the four breads, with values ranging from 48.5 to 51.6%. B2 had the lowest density and Young's modulus, and the highest water holding capacity for cylindrical samples (twice as high as the three other breads). B1 and B4 had the highest density, with a slightly higher Young's modulus for B4. Equivalent ground crumb WHC values were reported for the three breads of identical composition (B1, B2 and B3), slightly but non-significantly higher than for B4.

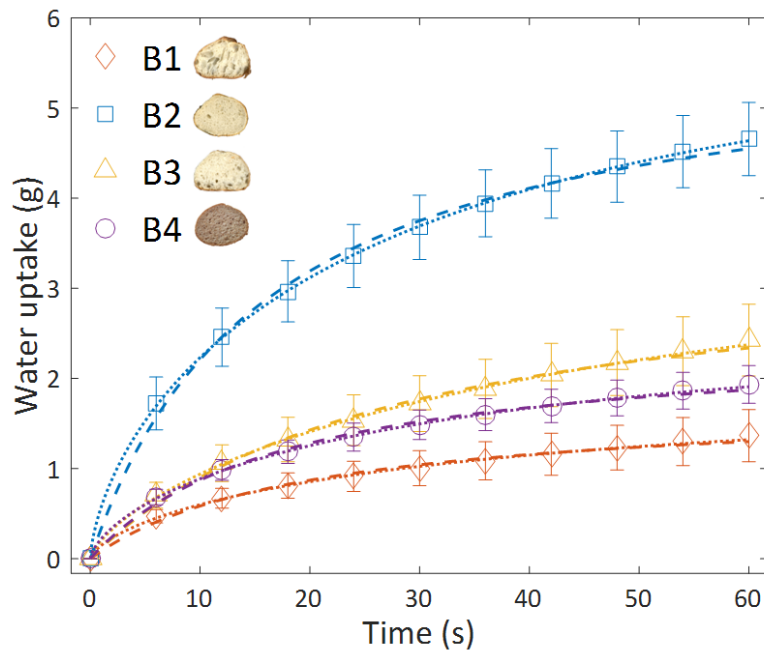
**Table 1** - Mean  $\pm$  standard deviations of density, water content, total starch content, Young's modulus and water holding capacity for each type of bread: traditional baguette B1, industrial baguette B2, semi-industrial baguette B3 and whole wheat baguette B4. Letters following standard deviation values indicate mean values significantly differing among the four products (Kruskal Wallis,  $p < 0.05$ ).

Parameters	Bread type			
	B1 	B2 	B3 	B4 
Water content (g/100 g of crumb)	51.6 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	49.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	50.7 $\pm$ 0.2 <sup>bc</sup>	48.6 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
Total starch content (g/100g of crumb)	42.2 $\pm$ 4.3 <sup>ab</sup>	43.4 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	43.6 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	34.0 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>
Density	0.25 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.16 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.26 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
Young's Modulus (kPa)	7.7 $\pm$ 1.7 <sup>ab</sup>	3.3 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	6.9 $\pm$ 1.1 <sup>ab</sup>	9.9 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>
WAC (cylinders) (g/g of dry matter)	5.9 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	12.5 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>	6.1 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	6.3 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>
WAC (ground) (g/g of dry matter)	7.4 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	7.9 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	7.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>

## 2. Hydration kinetics





Figure 2 represents averages and standard deviations of the eight replicates of water uptake kinetics obtained for each bread. For the sake of clarity, only 1% of experimental points were plotted. Figure 2 also represents the average of the eight associated modeled curves for each bread (both for Peleg and Weibull models). A good qualitative agreement was observed between experimental data and both the Peleg and Weibull models. Table 2 summarizes the averages and standard deviations of the parameters derived from the two models. The values of  $R^2$  greater than 0.983 and of RMSE less than 0.089 confirm the good fit between experimental and simulated results.

**Figure 2** - Averages and standard deviations of experimental water uptake kinetics: B1 (traditional baguette) with diamonds, B2 (industrial baguette) with squares, B3 (semi-industrial baguette) with triangles and B4 (whole wheat baguette) with circles. Corresponding average curves of Peleg (dashed line) and Weibull (dotted line) models are also plotted.



The values of the Weibull shape parameter  $\alpha$  reported in Table 2 are in agreement with the literature for equivalent sample geometries<sup>57</sup>. They suggest that diffusion phenomena dominate over external limitations during the experiments<sup>58</sup>, confirming that experimental configurations were suitable for investigating structure/composition effects.

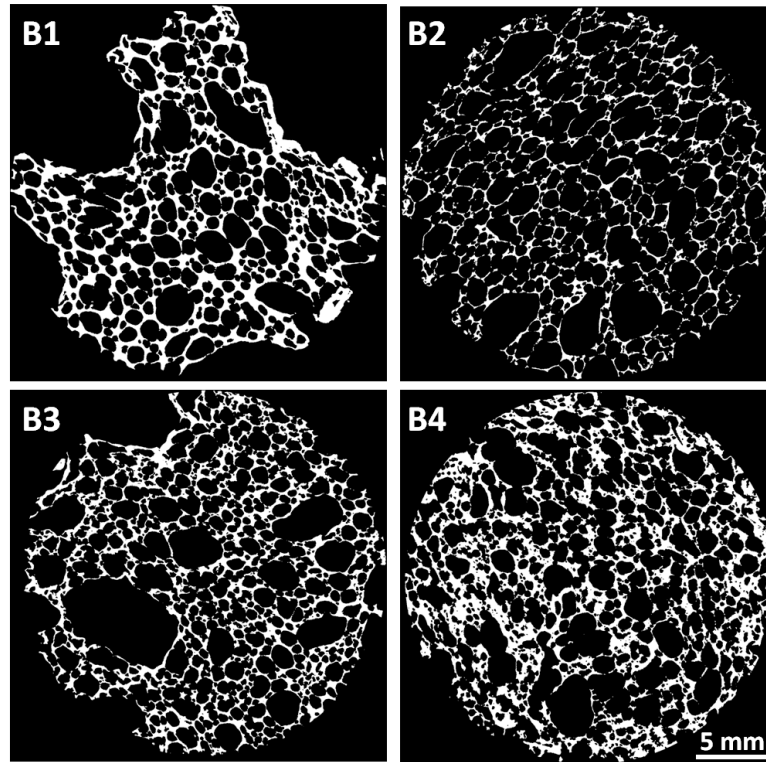
**Table 2** - Averages  $\pm$  standard deviations of the parameters of Peleg and Weibull models of water uptake kinetics for the four types of crumb. Letters following standard deviation values indicate mean values significantly differing among the four products (Kruskal Wallis,  $p < 0.05$ ).

Model parameters	Bread type			
	B1 	B2 	B3 	B4 
<b>Peleg model</b>	$m(t) = \frac{t}{k_1 + k_2 \cdot t}$			
$k_1$ ( $s \cdot g^{-1}$ )	11.35 $\pm$ 1.76 <sup>a</sup>	2.87 $\pm$ 0.60 <sup>c</sup>	8.47 $\pm$ 1.73 <sup>b</sup>	7.45 $\pm$ 1.13 <sup>b</sup>
$k_2$ (g)	0.61 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.17 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.30 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.42 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
$R_0$ ( $g \cdot s^{-1}$ )	0.090 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup>	0.361 $\pm$ 0.073 <sup>a</sup>	0.123 $\pm$ 0.028 <sup>b</sup>	0.137 $\pm$ 0.020 <sup>b</sup>
$M_\infty$ (g)	1.73 $\pm$ 0.44 <sup>d</sup>	5.80 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	3.45 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	2.44 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>
<i>Model performance</i>				
$R^2$	0.983 $\pm$ 0.008	0.993 $\pm$ 0.005	0.991 $\pm$ 0.003	0.991 $\pm$ 0.005
RMSE	0.039 $\pm$ 0.008	0.089 $\pm$ 0.031	0.055 $\pm$ 0.011	0.042 $\pm$ 0.008
<b>Weibull model</b>	$m(t) = M_\infty \cdot \left(1 - e^{-\left(\frac{t}{\beta}\right)^\alpha}\right)$			
$\alpha$	0.67 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.67 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.73 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>
$\beta$ (s)	35.01 $\pm$ 7.08 <sup>b</sup>	29.63 $\pm$ 4.65 <sup>b</sup>	46.96 $\pm$ 7.11 <sup>a</sup>	32.80 $\pm$ 4.32 <sup>b</sup>
<i>Model performance</i>				
$R^2$	0.995 $\pm$ 0.003	0.999 $\pm$ 0.001	0.998 $\pm$ 0.001	0.999 $\pm$ 0.001
RMSE	0.021 $\pm$ 0.004	0.030 $\pm$ 0.012	0.023 $\pm$ 0.006	0.016 $\pm$ 0.003

### 3. Micro-architectural properties





Figure 3 shows 2-D cross-sectional xR- $\mu$ CT binary images representative of the four different crumbs. The segmentation step made it possible to separate radiolucent areas (air cells coded in black) from radio-opaque areas (bread crumb walls coded in white). With thinner cell walls, B2 appears as being the most porous bread. Conversely, B1 seems to have the thickest walls, with a few oversized air cells in comparison with the others. B3 and B4 seem to have similar structures, both in terms of air cell dimensions and cell wall thickness. The four images suggest that the bread crumb network consists of a continuous pathway between interconnected walls.

**Figure 3** - Typical cross-sectional xR- $\mu$ CT binary images of bread crumbs (traditional baguette B1; industrial baguette B2; semi-industrial baguette B3; whole wheat baguette B4).



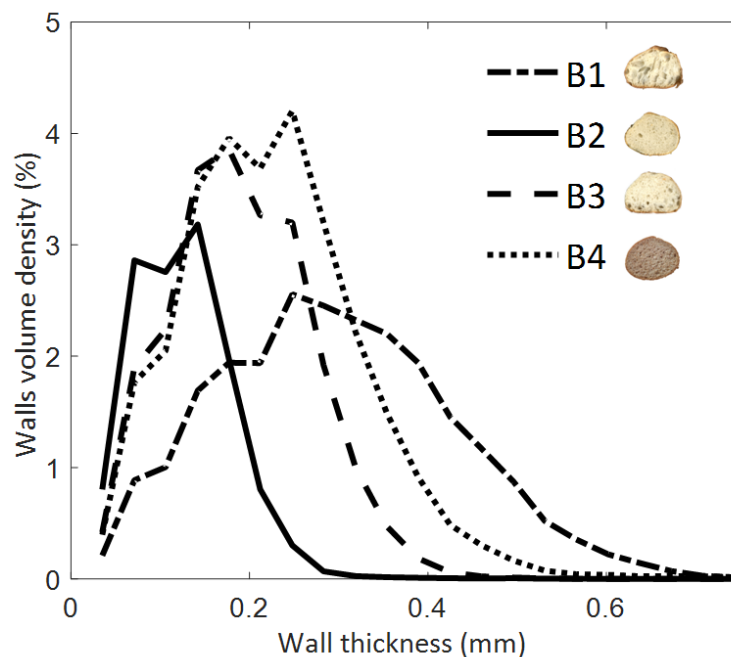
To confirm the microstructural qualitative differences derived from 2-D cross-sectional images, 3-D image analyses were carried out to determine quantitative parameters representative of bread crumb micro-architecture (Table 3). Open ( $\Phi_{op}$ ) and closed ( $\Phi_{cl}$ ) porosity values show that the four crumbs are almost exclusively composed of interconnected pores. Variations of BV/TV throughout the four types of breads are in agreement with density evolution (Table 2). The rankings of BS/TV and average wall thickness are in agreement with variations of equilibrium mass  $M_{\infty}$ . B1 has the largest average air cell width value, followed by B3, B2 and B4.

**Table 3** - Micro-architectural parameters obtained from 3-D image analysis of xR- $\mu$ CT measurements carried out on the four types of bread: traditional baguette B1, industrial baguette B2, semi-industrial baguette B3 and whole wheat baguette B4.

Parameters	Bread type			
	B1 	B2 	B3 	B4 
BV/TV (%)	24.01	12.77	22.21	29.10
$\Phi$ (%)	75.99	87.23	77.78	70.90
$\Phi_{cl}$ (%)	0.06	0.03	0.06	0.37
$\Phi_{op}$ (%)	75.93	87.20	77.72	70.53
BS/BV ( $\text{mm}^{-1}$ )	11.97	28.65	18.40	15.54
$w.Th$ (mm)	0.30	0.13	0.19	0.24
$c.Wi$ (mm)	2.34	1.01	1.24	0.84
Connectivity density ( $\text{mm}^{-3}$ )	3.45	15.29	10.11	11.19

To go one step further, the distributions of wall volume density (percentage of total volume) as a function of wall thickness are represented in Figure 4. The results confirm the tendencies observed on average values in Table 3 and provide additional information about the heterogeneity of walls thickness in the samples. With the broadest distribution, B1 has the highest heterogeneity of walls thickness, followed by B3, B4 and B2. B2 is almost exclusively composed of walls with a thickness of under 0.25 mm. The category between 0.15 and 0.25 mm occurs more often with B3 and B4. Finally, B1 is mainly composed of cell walls with a thickness greater than 0.15  $\mu\text{m}$ .

**Figure 4** - Distribution of walls volume density as a function of walls thickness in freshly cut cylindrical bread samples: traditional baguette B1 (dash-dot line), industrial baguette B2 (solid line), semi-industrial baguette B3 (dashed line) and whole wheat baguette B4 (dotted line) bread.



Concerning cells width, four distinct charts were considered in Figure 5 in order to separately observe the evolutions of cells volume density distributions (percentage of total volume) for each type of bread as a function of cell width before and after full hydration. With the broadest distribution (yielding a maximum width value of 7 mm), B1 has the highest heterogeneity of air cell width, followed by B3, B2 and B4. For all of the breads, the first part of the distributions is composed of continuous bell curves that yield a maximum value of around 2 mm. After hydration, the bell curves still exist, with attenuated amplitudes due to water sorption. The area between dry and hydrated sample bell curves is related to the fill rate of cells with a width of 2 mm and under. B2 is the product with the highest hydration rate, followed by B3, B4 and B1. The second part of the distributions is composed of discontinuous peaks corresponding to isolated air cells with width values ranging from 2 to 7 mm. Some of these cells (out of the bell curves) are clearly visible in Figure 5 for B1 and B3. When comparing curves before and after hydration, both the amplitude of the peaks and their corresponding position on the x-axis decrease, showing that air cells in this category are only partially filled with water.

**Figure 5-** Distributions of cells volume density as a function of cells width in freshly cut (dotted line) and fully hydrated (solid line) cylindrical bread samples: traditional baguette B1, industrial baguette B2, semi-industrial baguette B3 and whole wheat baguette B4.

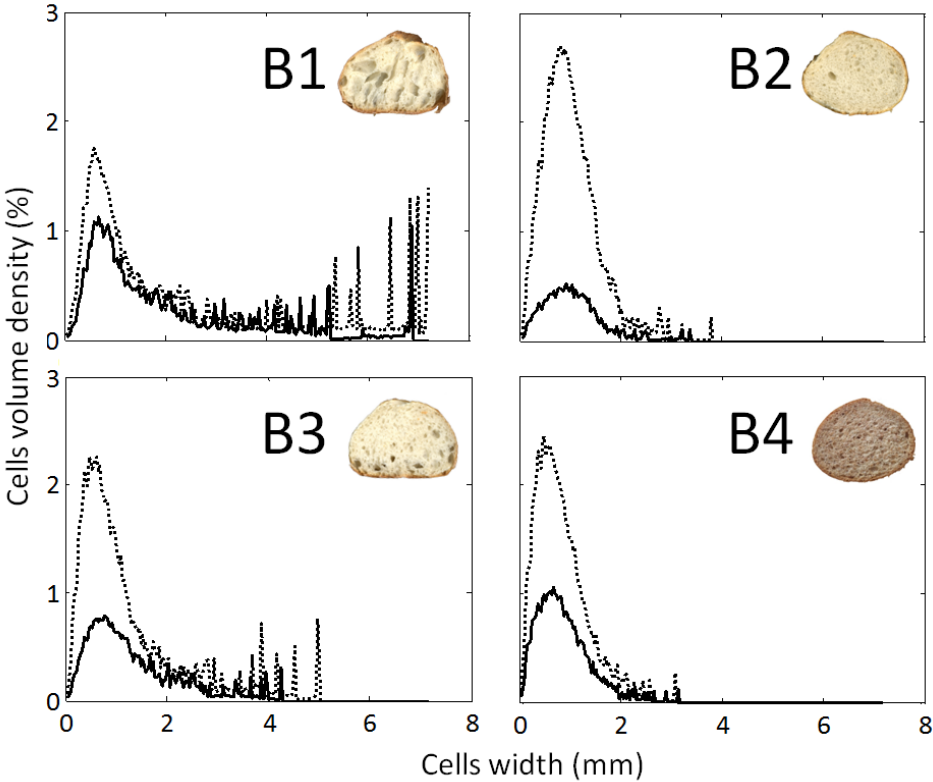
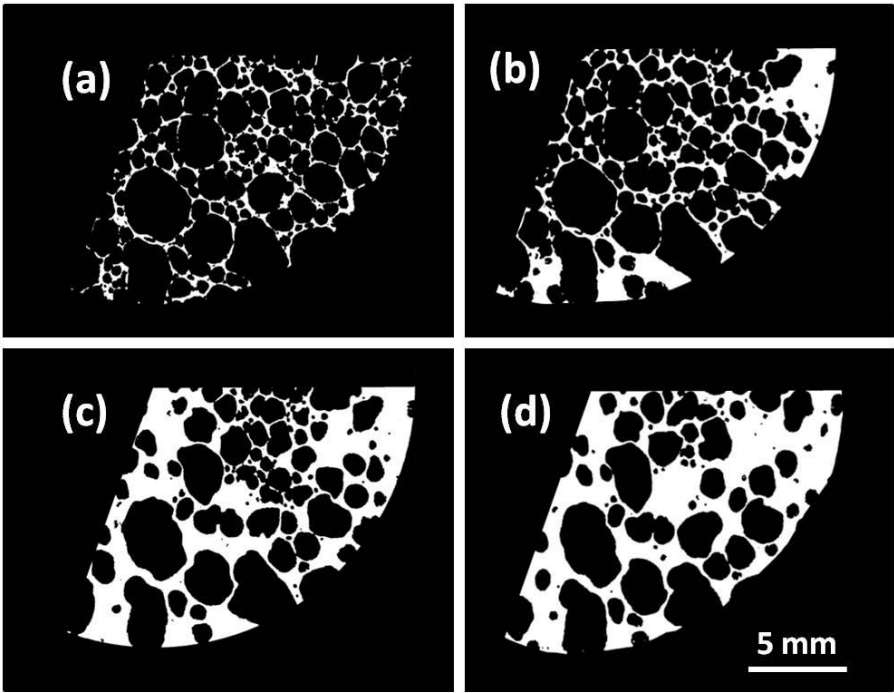
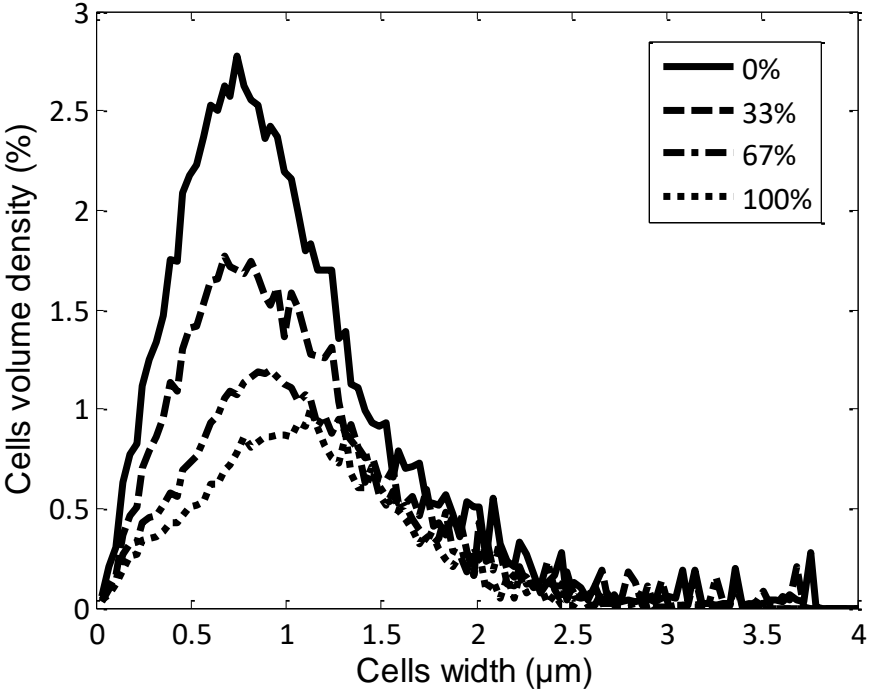


Figure 6 represents four cross-sectional 2-D images of an industrial bread sample (B2) at different steps of hydration (0, 33, 67 and 100% of the WAC reported for cylindrical samples). The identification of air cells with singular shapes throughout hydration made it possible to facilitate the adjustment and the choice of images corresponding to identical regions. Images revealed the gradual progress of water from external boundaries to the center of the sample. The biggest cells seem to be poorly affected by hydration, with a slight volume decrease as a function of the hydration level. On the contrary, the smallest cells seem to constitute a pathway for water from the external boundaries to the center of the sample. These qualitative observations are confirmed in Figure 7 with the distributions of cells volume density (percentage of total volume) as a function of cells width for the four intermediate hydration steps. The results confirm that hydration phenomena are mainly governed by cells with diameters varying between 0 and 2 mm (bell curves).

**Figure 6** - Cross-sectional xR- $\mu$ CT binary images of an industrial bread sample (B2) at different levels of hydration: (a) freshly cut (dry), and hydrated to (b) 33%, (c) 67 % and (d) 100% of water absorbing capacity.



**Figure 7** - Distribution of cells volume density as a function of cells width for bread B2 for the following four intermediate levels of hydration: 0, 33, 67 and 100% of water absorbing capacity.





## Discussion

The first aim of the present study was to demonstrate the influence of structure and composition on the kinetics of bread crumb hydration. Based on this observation and on the analysis of crumb micro-architectural properties, the main resulting challenges were: (i) to identify the physical mechanisms involved in the hydration process; and (ii) to investigate the potential relationships between crumb structural properties and the different levels of hydration. Such an approach should provide significant insights into the understanding of the kinetics of bread crumb functional property release.

### ***Hydration kinetics experiments confirm the importance of crumb structure.***

As breads B1, B2 and B3 have identical initial compositions, the differences reported in the kinetics of hydration curves (see Figure 2) may be the consequence of bread processing, which has been shown to strongly influence (i) the nanostructure of gluten and starch networks, and (ii) the resulting porous microstructure of bread<sup>3,59,60</sup>. The evolution of water distribution and mobility between gluten and starch networks has become a challenging issue, tackled by a growing number of articles and reviews in the literature. Such interactions are not only altered at each step of bread making process (including mixing, fermenting and baking<sup>59,61–64</sup>), but also vary with storage conditions (depending on time or temperature<sup>65,66</sup>). As a consequence, hydration mechanisms investigated in the present study are very likely to be also influenced by the interaction between water and starch/proteins networks. However, although water-starch/proteins interactions may vary throughout the different types of breads considered in the present study, several observations suggest that the differences in hydration mechanisms reported in Figure 2 are mainly ruled by physical phenomena due to porous micro structure, rather than by chemical interactions between water and crumb components at the nano scale. First, the high variations of water absorbing capacity (see Table 1) reported for breads B1, B2 and B3 in cylindrical samples were not confirmed in ground cylinders (in which porous structure has been broken down, but nano structure and chemical interactions remained unchanged). Second, relatively similar hydration behaviors were reported for breads B3 and B4 (which have different compositions, but similar porous micro structures).

Although the water-gluten/starch interactions at the nanoscale do not seem to be the major phenomenon related to the different hydration behaviors reported in Figure 2, the evolution and the formation of this nanoscale structure during bread processing is of prime importance to explain resulting crumb porous microstructure<sup>3,59,60</sup>. Bread dough is a complex foam of gas cells dispersed in a medium mainly composed of water, starch, gluten, dissolved solutes and yeast cells<sup>59</sup>. At the nanoscale, mixing of dough leads to the progressive transformation of flour hydrated proteins to an arrangement of gluten sheets constituting a continuous cohesive viscoelastic network<sup>67</sup>. For its part, starch also absorbs water, but keeps a granular identity during mixing, acting as inert filler in dough protein matrix<sup>59</sup>. This structured network then enables the encapsulation of air cells that are later expanded by the production of gas by yeast cells during fermenting<sup>59</sup>. As a consequence, intensive mixing of dough (as for bread B2) has been shown to lead to a strong gluten network and to high densities of trapped gas cells. This may explain the origin of the particularly high density of cells with diameter under 2 mm reported for bread B2 (see Figure 5). This density of cells may be explained by the intensive mixing conditions for bread B2 processing, which has been shown to promote the encapsulation of air bubbles<sup>59</sup>. Moreover, long fermenting durations (as for bread B1) promote gas generation and pores enlarging<sup>15</sup>, which may explain why bread B1 is the sample containing the largest cells (see Figure 5).

### ***Influences of porosity and density.***

Porosity has been shown to play an important role in food hydration mechanisms, where high values of porosity are associated with high hydration capacities<sup>68</sup>. Here, this is the case for B2 when compared to B1, B3 and B4, but not for B1 and B4. As a consequence, even if porosity values are consistent with previous studies on bread crumb<sup>36,55</sup>, they are not sufficient to understand hydration mechanisms. Nevertheless, it is interesting to note that weak variations of the ratio between density (0.25, 0.22 and 0.16, respectively) and BV/TV (24, 22 and 13%, respectively) were reported for breads B1, B2 and B3 (identical composition). This ratio, corresponding to cell wall mass density, reveals the consistency between density measurements (at the scale of the whole baguette) and BV/TV measurements (at the scale of the samples). This consistency thus strengthens the choice of sample size, which has to be representative of the structure of whole baguettes.

### ***Capillary action, a dominating phenomenon.***

Cross-sectional images of the progressive hydration of the B2 bread sample (see Figure 6) make it possible to identify the capillary action mechanisms involved in crumb hydration. Capillary action of water in crumb corresponds to the capacity of water to flow in narrow void spaces of crumb porosity until reaching the mechanical equilibrium between i) external forces, ii) cohesive forces in water and iii) adhesive forces between alveolar walls and water. Capillary action is influenced by two main characteristics: (i) the wettability of water on alveolar walls and (ii) the roughness and curvature of alveolar walls surfaces<sup>69-71</sup>. As a consequence, the literature reports the existence of cut-off radii of curvature of surfaces until which capillary action is promoted<sup>72</sup>. Following a pathway through the smallest pores, the water front evolves from the outer boundaries toward the center of the sample (see Figure 6). Capillary action is thus of importance in the hydration process, all the more so since the sample porous fraction is an interconnected network almost exclusively composed of open pores (see Table 3). As a consequence, crumb hydration is partly determined by cell walls wetting properties and by their radii of curvature. Progressively, the networks of hydrated cells stimulate water transfer from the pores to surrounding cell walls<sup>22,23</sup>. This phenomenon is illustrated in Figure 6 by the swelling of walls connected to hydrated pores. However, the qualitative observation of cross sectional images shows that walls hydration is negligible in comparison with cells filled by capillary action. Moreover, walls hydration has been shown to be a long-term phenomenon<sup>22</sup> compared to the duration of hydration kinetics experiments in the present study. As a consequence, capillary action in this case seems to be the main phenomenon involved in the hydration process. The next step consists in investigating the relative contributions of structure and composition on the different steps of hydration.

### ***Connecting the different steps of hydration to crumb microstructure.***

The values of the  $R_0$  Peleg parameter reflect the different hydration behaviors reported at the initial steps: lowest rate for B1, slightly higher for B3 and B4, and the highest for B2. Two main structural features may be responsible for the variations of  $R_0$ . The first one is the density of connectivity, which follows the same trend of variations as  $R_0$ : when the density of connectivity increases, the radii of curvature of crumb-water interfaces decrease, promoting capillary action rate. The second one is the density of cells with diameters of less than 2 mm, which has been shown to play a key role in the hydration process (see Figure 5). The increase of cells density in this category leads to an increase of their probability of interconnections. High interconnections between these cells constitute wide continuous pathways that may promote capillary action in bread crumb porous networks.

The Peleg model exhibits significant differences for parameter  $M_{\infty}$  for the four types of breads. This parameter provides an estimation of the mass of water absorbed at equilibrium by bread crumb samples in the experimental configuration (specific to the study). The values of  $M_{\infty}$  were converted to facilitate comparison with WAC measurements, leading to 0.99, 4.71, 1.69 and 1.09 grams of water per gram of dry matter for B1, B2, B3 and B4, respectively. The values of  $M_{\infty}$  are less than WAC measurements because water uptake equilibrium was driven by resistive effects (gravity) during hydration kinetics experiments<sup>73</sup>, and by promoting effects (immersion pressure) in the case of WAC measurements.

Distributions of cells width before hydration and their corresponding fill rates after hydration (see Figure 5) show that cells with diameters of less than 2 mm represent the major part of sample volume available for hydration. Higher densities of cells in this category are associated with high values of  $M_{\infty}$ . Moreover, large fill rate variations were reported for the four types of bread, leading to the different values of  $M_{\infty}$ . Several structural parameters may inhibit capillary action and hydration capacity: low values of connectivity, high walls thickness (increasing distance between pores) or low specific surfaces (decreasing density of exchange surfaces). The variations of these parameters are consistent with variations of the values of  $M_{\infty}$ .

The values of the Weibull rate parameter  $\beta$  provide characteristic time constants of the hydration process<sup>22</sup>. This duration depends (i) on sample volume available for hydration, and (ii) on the evolution of the hydration rate throughout the process. As described above, high hydration rates are also associated with high hydration capacities, resulting in compensating effects regarding process duration. This may explain why in spite of different structural organizations, similar values of  $\beta$  could be obtained for B1, B2 and B4. However, the rigorous understanding of crumb structure contribution to hydration duration would make it necessary to consider a larger number of bread types. Interestingly, in spite of slight structural differences, breads B3 and B4 follow two distinct trajectories of hydration when time increases ( $\beta$  around 50% higher for B3). The main hypothesis to explain this difference is based on the presence of wide cells (> 2 mm) for B3, with lower rates of hydration and which may narrow the hydration pathway and regulate the hydration process over a longer period.

From the very start (highest initial hydration rate) and until the end (highest hydration capacity) of hydration experiments, industrial bread B2 crumb samples have a singular hydration behavior when compared to the other breads. Figure 5 shows that bread B2 has the highest density of cells with diameter inferior to 2 mm, which represent the most important reserve for water uptake in samples. Moreover, bread B2 has the highest density of connectivity between alveolar cells, leading to a wide continuous pathway that promotes water uptake velocity. These special characteristics of bread B2 may explain its singular hydration behavior when confronted to the three other breads.

#### ***Potential consequences on oral processing.***

Using water instead of saliva constitutes a major simplification of hydration mechanisms during oral processing. The main reason for this choice is that using water enables to prevent from the action of starch hydrolysis induced by alpha-amylase. However, water and human whole saliva have been shown to have distinct lubricating behaviors<sup>74</sup>, due to the presence of large glycoproteins, like mucins, affecting both viscosity and elastic properties<sup>75</sup>. As a consequence, the rheological differences between water and saliva may have an impact on cohesive and adhesive forces governing capillary action during crumb hydration. Nevertheless, as saliva substitutes do not reproduce adequately the rheology of saliva<sup>76</sup>, using water has emerged as the best acceptable alternative.

Even if the chemical interactions at the nanoscale between water and cell walls may not be the main phenomenon responsible for the various hydration kinetics observed in the present study, they are very likely to vary as a function of bread composition and making process (strongly affecting the structure of starch/gluten networks). X-ray  $\mu$ -CT does not enable to look at these interactions because of resolution and contrast issues. Future studies combining dedicated instruments like atomic force or electron microscopy<sup>67</sup>, as well as nuclear magnetic resonance<sup>59</sup> could help to tackle this issue. Such investigations would be helpful to characterize and understand the influence of water migration in cell walls, with potential consequences on (i) the accessibility of alpha-amylase to starch and (ii) the resulting kinetics of digestion.

In spite of experimental conditions that are substantially different from the oral processing configuration, this work may be helpful to better understand the dynamics of bread bolus formation. Bread structure has been shown to influence the evolution of bread bolus rheological properties during oral processing<sup>2,77</sup>, which are strongly related to the dynamics of salty and texture perception<sup>5</sup>. Several studies agree that due to equivalent times of residence in the mouth, the quantity of saliva incorporated into the bread bolus at swallowing does not differ across structures and compositions<sup>77,78</sup>. However, saliva incorporation into the bolus during oral processing is not a linear function of time and depends on the type of bread considered<sup>77</sup>. Bread crumb structure may influence this non-linear behavior and may have an influence on the temporal variations of sensory perception (like, for example, "dry" perception at early stages of oral processing)<sup>78</sup>. During oral processing, bread bolus rheological properties progressively evolve and are perceived as sticky or hydrated. The relationship between structural properties and hydration kinetics may also help to understand the temporal perception of these sensory attributes, which are essential for triggering the swallowing process<sup>5,79</sup> as well as for starch digestion<sup>9</sup>.

## Conclusion and perspectives

The results show that bread making process has a strong impact on bread crumb hydration behavior. The analysis of crumb samples through X-ray  $\mu$ -computed tomography made it possible to quantify the variations of structural parameters resulting from differences in bread composition and processing. The main result was that beyond porosity, X-ray  $\mu$ -CT revealed that specific surface, connectivity, and cells and walls width distributions have a strong influence on the bread crumb kinetics of hydration. Future works will consist, for the same types of bread, of comparing the results of the present study with the dynamics (i) of sensory perception on human volunteers during oral processing, and (ii) of starch digestion in *in vitro* conditions representative of oral and gastric levels. All these results should pave the way for new insights into food design for the purpose of improving functional properties.

## Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the CEPIA Division of INRA for its financial support (project "ProDiPain") and Lesaffre International for providing three of the four breads considered in the study. All the staff of IMOSAR (FRE3616 CNRS-Paris Diderot) is acknowledged for making X-ray analyses of bread samples possible on a platform dedicated to osteo-articular research. We are grateful to Thomas Cattenoz, David Forest and Hervé Guillemin for their technical support with the experimental set-up, and to Gail Wagman for her precious help in revising the English in the manuscript. Finally, the authors would like to thank Guy Della Valle and Steven Le Feunteun for scientific discussions, and David Legland (PLASTIC software platform, CEPIA Division of INRA) for image processing support.

## References

- 1 P. Burton and H. J. Lightowler, *Br. J. Nutr.*, 2006, **96**, 877–882.
- 2 S. Jourdren, M. Panouillé, A. Saint-Eve, I. Déléris, D. Forest, P. Lejeune and I. Souchon, *Food Funct.*, 2016, 10.1039/C5FO01286D.
- 3 M. G. Scanlon and M. C. Zghal, *Food Res. Int.*, 2001, **34**, 841–864.
- 4 G. Della Valle, H. Chiron, L. Cicerelli, K. Kansou, K. Katina, A. Ndiaye, M. Whitworth and K. Poutanen, *Trends Food Sci. Technol.*, 2014, **36**, 5–14.
- 5 M. Panouillé, A. Saint-Eve, I. Deleris, F. Le Bleis and I. Souchon, *Food Res. Int.*, 2014, **62**, 238–246.
- 6 J. Keogh, F. Atkinson, B. Eisenhauer, A. Inamdar and J. Brand-Miller, *Appetite*, 2011, **57**, 707–710.
- 7 F. Scazzina, S. Siebenhandl-Ehn and N. Pellegrini, *Br. J. Nutr.*, 2013, **109**, 1163–1174.
- 8 M. Hersleth, R. Berggren, F. Westad and M. Martens, *J. Food Sci.*, 2005, **70**, S95–S101.
- 9 G. M. Bornhorst and R. P. Singh, *Food Biophys.*, 2013, **8**, 50–59.
- 10 J. S. Chen, *Food Hydrocoll.*, 2009, **23**, 1–25.
- 11 C. Tournier, M. Grass, D. Zope, C. Salles and D. Bertrand, *J. Food Eng.*, 2012, **113**, 615–622.
- 12 P. J. Butterworth, F. J. Warren and P. R. Ellis, *Starch-Starke*, 2011, **63**, 395–405.
- 13 G. M. Bornhorst and R. P. Singh, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2012, **11**, 101–118.
- 14 S. Jourdren, M. Panouille, A. Saint-Eve, I. Deleris, D. Forest, P. Lejeune and I. Souchon, *Food Funct.*, 2016, **7**, 1446–1457.
- 15 J. Gao, J. X. Wong, J. C.-S. Lim, J. Henry and W. Zhou, *J. Food Eng.*, 2015, **167**, 147–155.
- 16 E. Silletti, M. H. Vingerhoeds, W. Norde and G. A. Van Aken, *Food Hydrocoll.*, 2007, **21**, 596–606.
- 17 M.-A. Peyron, I. Gierczynski, C. Hartmann, C. Loret, D. Dardevet, N. Martin and A. Woda, *PLoS One*, 2011, **6**, e21167.
- 18 C. Hoebler, A. Karinthi, M. F. Devaux, F. Guillon, D. J. G. Gallant, B. Bouchet, C. Melegari and J. L. Barry, *Br. J. Nutr.*, 1998, **80**, 429–436.
- 19 C. Hoebler, M. F. Devaux, A. Karinthi, C. Belleville and J. L. Barry, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2000, **51**, 353–366.
- 20 F. Le Bleis, L. Chaunier, P. Montigaud and G. Della Valle, *Food Res. Int.*, 2016, **80**, 1–11.
- 21 M. Diaz-Ramirez, G. Calderon-Dominguez, J. Jorge Chanona-Perez, A. Janovitz-Klapp, R. Lopez-Santiago, R. R. Farrera-Rebollo and M. de la Paz Salgado-Cruz, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2013, **48**, 1649–1660.
- 22 M. D. Machado, F. a. R. Oliveira, V. Gekas and R. P. Singh, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1998, **33**, 225–237.
- 23 M. F. Machado, F. a. R. Oliveira and L. M. Cunha, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1999, **34**, 47–57.
- 24 G. Sacchetti, P. Pittia, M. Biserni, G. G. Pinnavaia and M. D. Rosa, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2003, **38**, 135–143.
- 25 G. Sacchetti, P. Pittia and G. G. Pinnavaia, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2005, **40**, 655–663.
- 26 U. Aimoto, T. Ogawa and S. Adachi, *Food Sci. Technol. Res.*, 2013, **19**, 17–22.
- 27 T. Ogawa, T. Kobayashi and S. Adachi, *Food Bioprod. Process.*, 2011, **89**, 135–141.
- 28 S. E. Cunningham, W. a. M. McMinn, T. R. A. Magee and P. S. Richardson, *J. Food Eng.*, 2007, **82**, 600–607.
- 29 E. Cheevitsopon and A. Noomhorm, *J. Food Process. Preserv.*, 2011, **35**, 840–849.
- 30 M. Bello, M. P. Tolaba, R. J. Aguerre and C. Suarez, *J. Food Eng.*, 2010, **97**, 95–100.
- 31 V. Guillard, B. Broyart, C. Bonazzi, S. Guilbert and N. Gontard, *J. Food Sci.*, 2003, **68**, 555–562.
- 32 I. S. Saguy, A. Marabi and R. Wallach, *Trends Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 495–506.
- 33 A. K. Datta, S. Sahin, G. Sumnu and S. O. Keskin, *J. Food Eng.*, 2007, **79**, 106–116.
- 34 K. S. Lim and M. Barigou, *Food Res. Int.*, 2004, **37**, 1001–1012.
- 35 P. M. Falcone, A. Baiano, F. Zanini, L. Mancini, G. Tromba, F. Montanari and M. A. del Nobile, *J. Food Sci.*, 2004, **69**, FEP38–FEP43.
- 36 P. M. Falcone, A. Baiano, F. Zanini, L. Mancini, G. Tromba, D. Dreossi, F. Montanari, N. Scuur and M. A. Del Nobile, *J. Food Sci.*, 2005, **70**, E265–E272.
- 37 L. Chaunier, G. Della Valle and D. Lourdin, *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 493–503.
- 38 F. Robin, J. Engmann, N. Pineau, H. Chanvrier, N. Bovet and G. Della Valle, *J. Food Eng.*, 2010, **98**, 19–27.
- 39 P. Babin, G. Della Valle, H. Chiron, P. Cloetens, J. Hoszowska, P. Pernot, A. L. Reguerre, L. Salvo and R. Dendievel, *J. Cereal Sci.*, 2006, **43**, 393–397.

- 40 A. Turbin-Orger, E. Boller, L. Chaunier, H. Chiron, G. Della Valle and A.-L. Reguerre, *J. Cereal Sci.*, 2012, **56**, 676–683.
- 41 E. Besbes, V. Jury, J.-Y. Monteau and A. Le Bail, *J. Food Eng.*, 2013, **115**, 415–423.
- 42 S. Wang, P. Austin and S. Bell, *J. Cereal Sci.*, 2011, **54**, 203–210.
- 43 P. Babin, G. Della Valle, R. Dendievel, N. Lassoued and L. Salvo, *J. Mater. Sci.*, 2005, **40**, 5867–5873.
- 44 S. Guessasma, P. Babin, G. Della Valle and R. Dendievel, *Int. J. Solids Struct.*, 2008, **45**, 2881–2896.
- 45 S. Guessasma, L. Chaunier, G. Della Valle and D. Lourdin, *Trends Food Sci. Technol.*, 2011, **22**, 142–153.
- 46 L. Hedjazi, S. Guessasma, G. Della Valle and N. Benseddiq, *Carbohydr. Polym.*, 2011, **83**, 1696–1706.
- 47 S. Chevallier, A. L. Reguerre, A. le Bail and G. della Valle, *Food Biophys.*, 2014, **9**, 219–228.
- 48 B. Cafarelli, A. Spada, J. Laverse, V. Lampignano and M. A. Del Nobile, *J. Food Eng.*, 2014, **124**, 64–71.
- 49 S. O. Keskin, G. Sumnu and S. Sahin, *Food Res. Int.*, 2004, **37**, 489–495.
- 50 C. Loret, M. Walter, N. Pineau, M. A. Peyron, C. Hartmann and N. Martin, *Physiol. Behav.*, 2011, **104**, 855–864.
- 51 I. Goni, A. GarciaAlonso and F. SauraCalixto, *Nutr. Res.*, 1997, **17**, 427–437.
- 52 M. Peleg, *J. Food Sci.*, 1988, **53**, 1216–.
- 53 W. K. Solomon, *Food Sci. Nutr.*, 2014, **2**, 39–45.
- 54 N. Lassoued, P. Babin, G. Della Valle, M.-F. Devaux and A.-L. Reguerre, *Food Res. Int.*, 2007, **40**, 1087–1097.
- 55 S. Pentikainen, N. Sozer, J. Narvainen, S. Ylatalo, P. Teppola, J. Jurvelin, U. Holopainen-Mantila, R. Torronen, A.-M. Aura and K. Poutanen, *Food Res. Int.*, 2014, **66**, 356–364.
- 56 A. Ostertag, F. Peyrin, S. Fernandez, J. D. Laredo, M. C. de Vernejoul and C. Chappard, *Bone*, 2014, **63**, 7–14.
- 57 A. Marabi, S. Livings, M. Jacobson and I. S. Saguy, *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **217**, 311–318.
- 58 L. M. Cunha, F. a. R. Oliveira, L. A. Ilincanu and M. C. Drumond, *Proc. 3rd Main Meet. Copernic. Proj. Process Optim. Minimal Process. Foods CIPA-CT94-0195 Vol 3 Dry.*, 1998.
- 59 S. M. Loveday, V. T. Huang, D. S. Reid and R. J. Winger, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2012, **52**, 390–409.
- 60 A. Mondal and A. K. Datta, *J. Food Eng.*, 2008, **86**, 465–474.
- 61 B. K. Patel, R. D. Waniska and K. Seetharaman, *J. Cereal Sci.*, 2005, **42**, 173–184.
- 62 C. Rondeau-Mouro, M. Cambert, R. Kovrlija, M. Musse, T. Lucas and F. Mariette, *Food Bioprocess Technol.*, 2015, **8**, 777–790.
- 63 B. Cuq, J. Abecassis and S. Guilbert, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2003, **38**, 759–766.
- 64 G. M. Bosmans, B. Lagrain, L. J. Deleu, E. Fierens, B. P. Hills and J. A. Delcour, *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60**, 5461–5470.
- 65 G. M. Bosmans, B. Lagrain, N. Ooms, E. Fierens and J. A. Delcour, *Food Chem.*, 2014, **165**, 149–156.
- 66 G. M. Bosmans, B. Lagrain, N. Ooms, E. Fierens and J. A. Delcour, *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 4646–4654.
- 67 V. Kontogiorgos, *Food Res. Int.*, 2011, **44**, 2582–2586.
- 68 A. Marabi and I. S. Saguy, *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **84**, 1105–1110.
- 69 H. Geistlinger, I. Ataei-Dadavi, S. Mohammadian and H.-J. Vogel, *Water Resour. Res.*, 2015, **51**, 9094–9111.
- 70 H. Geistlinger, I. Ataei-Dadavi and H.-J. Vogel, *Transp. Porous Media*, 2016, **112**, 207–227.
- 71 T. Suekane, N. Zhou, T. Hosokawa and T. Matsumoto, *Transp. Porous Media*, 2010, **82**, 111–122.
- 72 R. Hazlett, *Transp. Porous Media*, 1995, **20**, 21–35.
- 73 J. I. Siddique, D. M. Anderson and A. Bondarev, *Phys. Fluids*, 2009, **21**, 13106.
- 74 J. H. H. Bongaerts, D. Rossetti and J. R. Stokes, *Tribol. Lett.*, 2007, **27**, 277–287.
- 75 R. G. Schipper, E. Silletti and M. H. Vinyerhoeds, *Arch. Oral Biol.*, 2007, **52**, 1114–1135.
- 76 C. E. Christersson, L. Lindh and T. Amebrant, *Eur. J. Oral Sci.*, 2000, **108**, 418–425.
- 77 F. Le Bleis, L. Chaunier, G. Della Valle, M. Panouillé and A. L. Reguerre, *Food Res. Int.*, 2013, **50**, 308–317.
- 78 M. Panouille, A. Saint-Eve, I. Deleris, F. Le Bleis and I. Souchon, *Food Res. Int.*, 2014, **62**, 238–246.
- 79 C. Loret, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2015, **55**, 140–145.





**Titre :** Le processus oral, une étape clé à l'origine des propriétés sensorielles de texture et d'arôme du pain. Quels sont les rôles de sa structure et de sa déstructuration en bouche sur les dynamiques de perceptions ?

**Mots clés:** Baguette, structure, composés d'arômes, bol alimentaire, dynamiques de perception.

**Résumé:** L'appréciation du pain par le consommateur est largement impactée par ses propriétés sensorielles, notamment les perceptions d'arômes et de texture en bouche. Ces perceptions ne peuvent pas être uniquement expliquées par la composition aromatique du pain ou par sa structure. Elles dépendent également de phénomènes dynamiques, résultant de la déstructuration du pain en bouche, très dépendante de chaque individu.

L'objectif de ce projet de thèse est donc de mieux comprendre les déterminants liés au produit et à l'individu à l'origine des dynamiques de perceptions d'arômes et de texture du pain. Une stratégie multidisciplinaire, basée sur l'étude du processus oral en conditions réelles de mastication, a été mise en place pour répondre à cet objectif.

Les résultats de cette étude montrent d'une part

que la capacité d'hydratation et la rigidité de la mie jouent un rôle majeur dans l'évolution des propriétés des bols et des perceptions de texture et d'arômes au cours de la consommation. Ainsi, plus un pain a une capacité d'hydratation élevée, plus il sera facilement déstructuré et hydraté. De plus, un pain avec une mie rigide provoquerait une plus grande libération des composés d'arômes susceptibles d'interagir avec les récepteurs olfactifs sensoriels.

D'autre part, deux types de comportements masticatoires, basés sur la durée de mastication, ont été identifiés entre les individus participant à l'étude. Ces comportements conduisent à des bols aux propriétés différentes au moment de la déglutition et à des dynamiques différentes de perception de texture et d'arôme.

**Title:** Food oral processing, a key step at the origin of texture and aroma perceptions of bread. What are the roles of its structure and its in-mouth breakdown on the dynamics of perception?

**Keywords:** French baguette, structure, volatile compounds, food bolus, dynamics of perception.

**Abstract:** The liking of the bread by the consumers is largely impacted by its sensory properties, and notably the aroma and texture perceived during in-mouth consumption. These perceptions cannot be only explained by the volatile composition of the bread or by its structure. In fact, they also depend on dynamic phenomena, resulting from the breakdown of the bread in mouth, which depends on each individual.

This PhD project aims thus to better understand the determinants linked to the product and to the individual at the origin of the dynamics of aroma and texture perceptions of bread. A multidisciplinary strategy, based on the study of the oral processing in real conditions of mastication was set up to fulfill this objective.

The results show firstly that the hydration capacity and the rigidity of the crumb have a main impact on the evolution of bolus properties and texture and aroma perceptions during consumption. In this way, the higher the hydration capacity of the bread is, the more easily broken and hydrated it will be. Moreover, a bread with a rigid crumb could cause a higher release of volatile compounds susceptible to interact with the sensory olfactory receptors.

In addition, two types of masticatory behavior, based on masticatory duration, were highlighted between the individuals of the study. These behaviors lead to bolus with different properties at swallowing time and at different dynamics of aroma and texture perceptions.