



HAL
open science

Analyse et modélisation de la réactivité au cours de la cuisson d'un produit modèle mimétique d'un produit céréalier type génoise

Jeehyun Lee

► **To cite this version:**

Jeehyun Lee. Analyse et modélisation de la réactivité au cours de la cuisson d'un produit modèle mimétique d'un produit céréalier type génoise. Chimie analytique. Université Paris Saclay (COMUE), 2019. Français. NNT : 2019SACLS606 . tel-03171491

HAL Id: tel-03171491

<https://theses.hal.science/tel-03171491v1>

Submitted on 17 Mar 2021

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.

Analyse et modélisation de la réactivité au cours de la cuisson d'un produit modèle mimétique d'un produit céréalier type génoise

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université Paris-Sud et à AgroParisTech

École doctorale n°581 – Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement, Santé (ABIES)
Spécialité de doctorat : Génie des aliments

Thèse présentée et soutenue à Massy, le 16 décembre 2019
par **Jeehyun LEE**

Composition du Jury :

Xuân-Mi Meyer Professeure INP-ENSIACET (LGC)	Présidente
M.A.J.S. (Tiny) van Boekel Professeur Université de Wageningen (Food Quality and Design)	Rapporteur
Erwan Engel Directeur de recherche INRA (Unité QuaPa)	Rapporteur
Nawel Achir Maître de Conférences – HDR Montpellier SupAgro (UMR QualiSud)	Examinatrice
Céline Jouquand Enseignante chercheuse UniLaSalle (Unité Transformations & Agro-ressources)	Examinatrice
Catherine Bonazzi Directrice de recherche INRA (UMR GENIAL)	Directrice de thèse
Barbara Rega Maître de Conférences AgroParisTech (UMR GENIAL)	Co-encadrante
Stéphanie Roux Maître de Conférences AgroParisTech (UMR GENIAL)	Co-encadrante, invitée

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier Mme Catherine Bonazzi, Directrice de Recherche à l'INRAE et directrice de thèse pour m'avoir chaleureusement accueillie dans l'équipe Calipro de l'UMR GENIAL (désormais équipe Gépro de l'UMR Sayfood), pour son encadrement tout au long de ce travail, sa disponibilité et ses précieux conseils scientifiques. Je me sens infiniment privilégiée de l'avoir rencontrée et d'avoir grandi auprès d'elle.

Je remercie Mme Barbara Rega, Maître de Conférences à AgroParisTech pour son soutien et sa bienveillance. En tant que co-encadrante, elle m'a formée et m'a fait bénéficier de sa connaissance en chimie des arômes et chimie analytique.

Je souhaiterais remercier Mme Stéphanie Roux, Maître de Conférences à AgroParisTech pour nos nombreuses discussions, sa disponibilité, son écoute, son aide et sa confiance.

J'adresse mes remerciements à Mme Xuân-Mi Meyer, professeure à l'ENSIACET, M. Bertrand Broyart, Professeur à AgroParistech et M. Heiko Oertling, qui, en tant que membres de mon comité de thèse, ont apporté un regard éclairé sur l'ensemble de travail.

Je tiens à remercier vivement M. MAJS (Tiny) Van Boekel, Professeur à l'Université de Wageningen et M. Erwan Engel, Directeur de Recherche à l'INRAE d'avoir accepté de rapporter cette thèse.

Je voudrais remercier Mme Xuân-Mi Meyer, Professeure à l'ENSIACET, Mme Nawel Achir, Maître de Conférences à Montpellier SupAgro et Mme Céline Jouquand, enseignante chercheur à UniLaSalle d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Mes remerciements s'adressent également à M. Alexandre Péry, Mme. Irina Vassilieva et M. Pierre Larraufie pour leur aide administrative tout au long de la thèse.

Ce travail n'aurait pas vu le jour final sans l'aide précieux de M. Nicolas Descharles, en particulier pour la partie analytique en TD-GC-MS, celui de M. Even Le Roux pour la préparation d'échantillons et les analyses chimiques en chromatographie en phase liquide et celui de Mme. Séverine Keller pour la préparation d'échantillons et la titration des NH_2 libres. Je les remercie également pour leur soutien moral, leur bonne humeur et leur bienveillance.

J'affectionne l'ensemble de mon équipe : Mme. Paola Soto, M. Emmanuel Bernuau, Mme. Marie-Noëlle Maillard, Mme. Martine Esteban-Decloux, Mme. Aline Boussard, M. Julien Cartailier, Mme. Marie-Elisabeth Cuvelier, M. Pierre Giampaoli, M. Daniel Goujot et Mme. Colette Wong. Merci beaucoup pour votre soutien. Je pense aussi à M. Richard Rocca.

Je n'oublie pas les stagiaires, qui m'ont apporté une grande aide lors de ma thèse : Joseph-Paul Kenene (M1), Athénaïs Marchand (M1), Kelly Saycocie (BTS) et Pallavi Shriyan (M1).

Mes années en tant que doctorante ont été une joie également grâce aux autres doctorants, en particulier, Aurélia Pernin, Thibaut Viné, Josselin Bousquières, Pierre Awad, Mayela Cepeda-Vasquez, Grégoire Delaporte, Miguel De Figueiredo, Marine Moussier, Marion Gaff, Adrien Douady, Crisitian Puentes Mancipe, Benoît Basse, Mathieu Maréchal, Laurena Masbernat, Valérie Guénard Lampron, Svenja Krause... J'espère n'oublier personne ! Mais si jamais c'est le cas, faites-le moi savoir, je vous offrirai une bière, hein !

Merci à tous mes amis qui, de près ou de loin, m'ont soutenu jusqu'au bout ! Une pensée particulière à ceux qui n'ont pas encore soutenu leurs thèses. Bon courage !

Je remercie également Paul. Merci de ton soutien, ta patience et ton aide, en particulier durant la rédaction. Je me sens très chanceuse de t'avoir auprès de moi.

변함없이 저를 보살펴 주시고, 저를 생각해주시는 아빠, 엄마, 이 자리를 빌어 감사드립니다. 앞으로도 항상 자랑스러운 딸이 되도록 노력할게요. 사랑해요 ! 내 자랑스러운 지수야, 항상 고맙고 언니랑 평생 행복하게 살자 !

Table des matières

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIERES	1
COMMUNICATIONS	8
LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEAUX	16
LISTE DES EQUATIONS	18
ABRÉVIATIONS	20
NOMENCLATURE	22
INTRODUCTION	23
1 - ÉTAT DE L'ART	27
1.1 PHYSICAL AND CHEMICAL CHANGES DURING BAKING OF CEREAL PRODUCTS.....	29
1.1.1 Description of main mechanisms of heat and mass transfer during baking	29
1.1.2 Modeling of heat and mass transfer during baking	31
1.1.3 Main chemical reactions occurring in bakery products.....	33
1.1.3.1 The Maillard reaction.....	33
1.1.3.2 Caramelization	35
1.1.4 Different reaction mediums for studying reactivity.....	36
1.1.5 Approaches in understanding the Maillard and caramelization reactions.....	38
1.1.5.1 Study of the mechanisms of the Maillard reaction and caramelization: the fate of precursors followed step by step	38
1.1.5.2 Study of the Maillard reaction and caramelization products: focus on quality-related compounds	39
1.1.5.3 Comprehension and modeling of reaction rates: kinetic modelling approach	41
1.2 KEY REACTION MARKERS AND THEIR FORMATION AND DEGRADATION PATHWAYS.....	42
1.2.1 Precursors.....	42
1.2.2 Reactive α -dicarbonyl compounds.....	44
1.2.2.1 Formation of reactive long-chain α -dicarbonyl compounds through enaminals in the presence of amino compounds.....	46

1.2.2.2	Formation of reactive short chain α -dicarbonyl compounds.....	48
1.2.3	Acids	51
1.2.4	Pyrroles and pyridine derivatives.....	52
1.2.5	3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihdropyran-4-one (DMDP).....	52
1.2.6	Furanic compounds.....	53
1.2.6.1	5-HMF and furfural	53
1.2.6.2	2-hydroxyacetylfuran and 2-acetylfuran	56
1.2.6.3	5-methylfurfural and 2,5-furandicarboxaldehyde.....	57
1.2.6.4	Furfuryl alcohol	57
1.2.7	Strecker aldehydes	58
1.2.8	Pyrazines.....	60
1.2.9	Brown pigments	64
1.3	ELABORATION OF A COMPLETE REACTION SCHEME BASED ON LITERATURE	65
2	- STRATÉGIE.....	66
2.1	CONTEXTE ET PRESENTATION DE LA METHODOLOGIE	67
2.2	ADAPTATION DE LA MÉTHODOLOGIE	69
2.2.1	Problématiques soulevées par des travaux antérieurs.....	69
2.2.2	Choix des précurseurs et des conditions opératoires.....	70
2.2.3	Démarche détaillée du travail de thèse et structuration du manuscrit	72
3	- MATÉRIELS ET MÉTHODES	74
3.1	PREPARATION DE LA PATE DE GENOISE MODELE.....	76
3.1.1	Ingrédients de la pâte de génoise modèle.....	76
3.1.2	Protocole de préparation de la pâte de génoise modèle	76
3.2	FOUR PILOTE ET CONDITIONS OPERATOIRES DE CUISSON	78
3.2.1	Description du four instrumenté.....	78
3.2.2	Caractérisation des flux thermiques	79
3.2.3	Conditions opératoires de cuisson et positionnement des moules dans le four instrumenté	80
3.2.4	Géométrie des moules et quantité de pâte dans chaque moule pour les génoises	82
3.2.5	Définition des campagnes de cuisson avec échantillonnage en ligne pour le suivi cinétique des marqueurs réactionnels	83
3.3	MESURES DES TEMPERATURES DANS LE FOUR ET LES GENOISES.....	84
3.3.1	Étalonnage des thermocouples.....	84

3.3.2	Caractérisation des températures des génoises modèles et des vapeurs au cours de la cuisson.....	85
3.4	ÉCHANTILLONNAGE ET CONDITIONNEMENT DES GENOISES MODELES AU COURS DE LA CUISSON.....	86
3.5	MESURES DE L'AVANCEMENT DE LA CUISSON.....	87
3.5.1	Mesure de la perte en eau des génoises au cours de la cuisson	87
3.5.2	Détermination des teneurs en matière sèche (TMS) et en eau (TE et TE _{bs}).....	87
3.5.3	Suivi de la formation des acides par mesure du pH et des polymères bruns par spectrophotométrie.....	88
3.5.4	Détermination du taux de brunissement de surface par analyse d'image.....	89
3.6	QUANTIFICATION DES MARQUEURS A PARTIR DES GENOISES MODELES PRELEVEES	90
3.6.1	Etalons et solvants.....	90
3.6.2	Analyse quantitative des sucres.....	90
3.6.2.1	Extraction et préparation des échantillons.....	90
3.6.2.2	Phases mobiles et gradient utilisé	91
3.6.2.3	Séparation et identification par UHPLC-CAD.....	91
3.6.2.4	Étude de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles.....	92
3.6.3	Analyse quantitative du furfural et du 5-HMF.....	94
3.6.3.1	Extraction et préparation des échantillons.....	94
3.6.3.2	Séparation et identification par UHPLC-DAD.....	94
3.6.3.3	Étude de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles.....	95
3.6.4	Analyse quantitative des NH ₂ libres.....	96
3.6.4.1	Préparation des réactifs, extraction et titration de la leucine.....	96
3.6.4.2	Domaine de linéarité, répétabilité de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles	97
3.6.5	Analyse quantitative des composés dicarboxylés	97
3.6.5.1	Extraction et préparation des échantillons.....	97
3.6.5.2	Séparation et identification par UHPLC-MS.....	98
3.6.5.3	Quantification des marqueurs	100
3.6.5.4	Détermination des limites de détection et de quantification	100
3.7	ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE QUANTITATIVE DES MARQUEURS VOLATILS DANS LES VAPEURS DE CUISSON.....	100
3.7.1	Échantillonnage en ligne des vapeurs de cuisson	100
3.7.2	Désactivation des colonnes en verre pour l'échantillonnage des vapeurs de cuisson	101
3.7.3	Désorption des composés piégés sur les tubes d'adsorbant.....	102
3.7.4	Séparation et identification des composés par GC-MS	102

3.7.5	Préparation de la gamme d'étalonnage et des étalons internes.....	103
3.7.6	Quantification des marqueurs volatils	104
3.7.7	Détermination des limites de détection et de quantification	105
4	- VALIDATION ET EXPLOITATION DE LA GENOISE MODELE EN TANT QUE BASE D'ETUDE DE LA REACTIVITE	106
4.1	POTENTIAL OF MODEL CAKES TO STUDY REACTION KINETICS DURING BAKING THROUGH THE DYNAMIC ON-LINE EXTRACTION OF VOLATILE MARKERS AND TD-GC-MS ANALYSIS (ARTICLE 1)	108
4.1.1	Introduction.....	109
4.1.2	Materials and Methods	112
4.1.2.1	Ingredients and reagents	112
4.1.2.2	Batter preparation and baking conditions.....	112
4.1.2.3	Cake sampling during baking and sample preparation for precursor analysis 113	
4.1.2.4	Glucose and fructose quantification using UHPLC-CAD	113
4.1.2.5	Quantification of free NH ₂ by titration	114
4.1.2.6	Determination of dry matter content.....	114
4.1.2.7	Determination of the level of browning using image analysis	115
4.1.2.8	On-line extraction of baking vapors by sorbent tubes	115
4.1.2.9	Analysis of volatile compounds using TD-GC-MS	116
4.1.3	Results and Discussion	117
4.1.3.1	Analytical performance of the thermal desorption method for selected volatile compounds	117
4.1.3.2	Non reactivity of the model cake.....	118
4.1.3.3	Activation of reactions in model cakes supplemented with G and G+L at high temperatures.....	119
4.1.3.4	Reactivity determined by the degree of browning in model cakes G and G+L 121	
4.1.3.5	Kinetic study during baking at high temperature	122
4.1.3.6	Effect of baking temperature on kinetics	125
4.1.4	Conclusions.....	127
4.1.5	Funding.....	128
4.1.6	Acknowledgements	128
4.2	ÉTUDE DE LA REACTIVITE PAR BRUNISSEMENT	128
4.2.1	Étude cinétique du brunissement de surface des génoises modèles G et G+L	129
4.2.2	Étude cinétique du brunissement global des génoises modèles G et G+L	131
4.3	ÉTUDE DE L'AVANCEMENT DES REACTIONS PAR MESURE DE L'ACIDITE	133
4.4	CONCLUSIONS SUR LA VALIDITE DE LA GENOISE MODELE EN TANT QUE MATRICE D'ETUDE DE LA REACTIVITE	136

5 - MISE AU POINT DES METHODES DE QUANTIFICATION DES MARQUEURS REACTIONNELS 138

5.1	QUANTITATIVE DETERMINATION BY TD-GC-MS OF VOLATILE MARKERS FORMED DURING HEAT TREATMENT OF FOOD (ARTICLE 2).....	140
5.1.1	Introduction.....	140
5.1.2	Materials and Methods.....	142
5.1.2.1	Reagents and ingredients.....	142
5.1.2.2	Preparation of standard solutions.....	143
5.1.2.3	Optimization and validation of adsorbent tubes calibration.....	144
5.1.2.4	Thermal desorption.....	146
5.1.2.5	Quantification by GC-MS.....	146
5.1.2.6	TD-GC-MS analysis of volatile markers formed during baking.....	147
5.1.3	Results and discussions.....	148
5.1.3.1	Choice of sorbent tube spiking method.....	148
5.1.3.2	Introduction mode for deuterated I.S.....	150
5.1.3.3	Performances of the quantitative TD-GC-MS analysis of target analytes.....	153
5.1.3.4	Application to the on-line analysis of baking vapors.....	154
5.1.4	Conclusions.....	156
5.2	CONCLUSIONS SUR LA MISE AU POINT DE LA METHODE DU PIEGEAGE DE VAPEURS DE CUISSON ET DE QUANTIFICATION DES MARQUEURS VOLATILS PAR TD-GC-MS.....	158

6 - ÉTUDE CINETIQUE DES MARQUEURS REACTIONNELS AU COURS DE LA CUISSON159

6.1	UNDERSTANDING CARAMELIZATION AND THE MAILLARD REACTION IN GLUCOSE/LEUCINE MODEL CAKES. PART I – FORMATION AND DEGRADATION KINETICS OF PRECURSORS, α -DICARBONYL INTERMEDIATES, AND FURANIC COMPOUNDS DURING BAKING.(ARTICLE 3).....	161
6.1.1	Introduction.....	161
6.1.2	Materials and Methods.....	162
6.1.2.1	Ingredients and chemicals.....	162
6.1.2.2	Preparation, baking and sampling of model cakes.....	163
6.1.2.3	Analysis of glucose and fructose using UHPLC-CAD.....	164
6.1.2.4	Analysis of free NH_2 by titration.....	165
6.1.2.5	Analysis of α -dicarbonyl intermediates using UHPLC-MS.....	165
6.1.2.6	Analysis of furfural and 5-HMF using UHPLC-DAD.....	167
6.1.3	Results and discussions.....	168
6.1.3.1	Building of a simplified reaction scheme in the model cakes for glucose or glucose + leucine added as precursors.....	168
6.1.3.2	Impact of temperature, convection and formulation on the consumption of the precursors.....	170
6.1.3.3	Impact of temperature, convection and formulation on the kinetics of long chain α -dicarbonyl intermediates.....	172

6.1.3.4	Impact of temperature, level of convection and formulations on kinetics of formation of short chain α -dicarbonyl intermediates	176
6.1.3.5	Impact of temperature, level of convection and formulations on formation of 5-HMF and furfural	177
6.1.4	Conclusions.....	178
6.2	UNDERSTANDING CARAMELIZATION AND THE MAILLARD REACTION IN GLUCOSE/LEUCINE MODEL CAKES. PART II– KINETIC STUDY OF VOLATILE MARKERS EXTRACTED FROM BAKING VAPOR (ARTICLE 4).....	180
6.2.1	Introduction.....	180
6.2.2	Materials and Methods	181
6.2.2.1	Ingredients and chemicals	181
6.2.2.2	Batter preparation and baking of model cakes	182
6.2.2.3	Kinetic analysis of volatile compounds by TD-GC-MS	182
6.2.3	Results and discussions	184
6.2.3.1	Theoretical reaction scheme for model cakes with glucose and leucine.	184
6.2.3.2	Global impact of temperature and level of convection on kinetic curves	186
6.2.3.3	Insights on 2,3-enolization pathway in G and G+L models.....	187
6.2.3.4	Formation of volatile markers specific to the Strecker degradation.....	191
6.2.4	Conclusions.....	193
6.3	CONCLUSIONS SUR LES RESULTATS CINETIQUES	195
7	– PROPOSITION DE MODELISATION CINETIQUE DES REACTIONS CHIMIQUES COUPLEES AUX TRANSFERTS DE MATIERE ET DE CHALEUR	196
7.1	TENEURS EN EAU DANS LES GENOISES ET CALCUL DES FRACTIONS MASSIQUES DE MATIERE SECHE LOCALES.....	198
7.1.1	Profils expérimentaux des teneurs en eau pendant la cuisson	198
7.1.2	Prédiction de la fraction massique locale en matière sèche par un modèle de type compartimental	199
7.2	TEMPÉRATURES DANS LES GÉNOISES	204
7.2.1	Profils expérimentaux des températures pendant la cuisson	204
7.2.2	Prédiction des cinétiques de température locales par un modèle de conduction thermique	206
7.3	MODELE CINETIQUE DE CALCUL DES CONCENTRATIONS DES DIFFERENTS MARQUEURS CHIMIQUES .	211
7.3.1	Construction d'un schéma réactionnel observable	211
7.3.2	Ecriture du modèle chimique.....	212
7.3.3	Modèle couplé.....	213
7.4	CONCLUSION	217
	BILAN ET PERSPECTIVES	219

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	224
ANNEXES	241

Communications

Publications

Article 1. Lee^a, J., Bousquière^a, J., Descharles, N., Roux, S., Michon, C., Rega, B., Bonazzi, C., (2020) Potential of model cakes for studying reaction kinetics by dynamic on-line extraction of volatile markers and TD-GC-MS analysis, *Food Research International*, 132, 109087

Article 2. Lee, J., Roux, S., Descharles, N., Bonazzi, C., Rega, B., Quantitative determination by TD-GC-MS of volatile markers formed during heat treatment of food, en préparation pour *Talanta*

Article 3. Lee, J., Roux, S., Le Roux, E., Keller, S., Rega, B., Bonazzi, C., Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part I – Formation and degradation kinetics of precursors, α -dicarbonyl intermediates, and furanic compounds during baking, en préparation pour *Food chemistry*

Article 4. Lee, J., Roux, S., Descharles, N., Rega, B., Bonazzi, C.*(2019), Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part II– Kinetic study of volatile markers extracted from baking vapor, en préparation pour *Food chemistry*

Communications orales

Lee, J., Roux, S., Rega, B., Bonazzi, C. (2019). Analyse et modélisation de la réactivité au cours de la cuisson d'un produit modèle mimétique d'un produit céréalier type génoise. XVIIème Congrès de la Société Française de Génie des Procédés (SFGP), Nantes, France

Lee, J., Roux, S., Rega, B., Bonazzi, C. (2019). Unravelling food thermal reactivity by an original methodology to analyze and model reactions during baking of a model cake. 12th European Congress of Chemical Engineering, Florence, Italy

Lee, J., Roux, S., Rega, B., Bonazzi, C. (2018). Monitoring the reactivity during baking of a sponge model cake. Journées des doctorants de l'école doctorale ABIES, Paris, France

*1^{er} prix des présentations orales

Lee, J., Roux, S., Rega, B., Bonazzi, C. (2018). Monitoring the reactivity during baking of a sponge model cake. Journées des doctorants de l'UMR GENIAL, Massy, France

Posters

Lee, J., **Roux, S.**, Rega, B., Bonazzi, C. (2019). Unravelling Maillard reaction and caramelization extents in a model cake by the quantitative analysis of reaction substrates, intermediates and products for baking at different levels of temperature and convection. International Conference on Agronomy and Food Science and Technology (Agrofood), Istanbul, Turkey

Lee, J., Roux, S., Rega, B., Bonazzi, C. (2018). A solid food model for the study of Maillard reaction kinetics in realistic baking conditions. 32nd EFFoST International Conference, Nantes, France

Lee, J., Roux, S., Bonazzi, C., Rega, B. (2018). An original methodology to follow reactivity during baking by the use of a solid and inert model cake. 13th International Symposium on The Maillard Reaction, Montreal, Canada

Liste des figures

Figure 1. Physical processes and their coupling in bread baking (Zhang et al., 2006)	30
Figure 2. Simultaneous heat and mass transfer mechanism during baking of bread (Chhanwal et al., 2012).....	30
Figure 3. Temperature evolution at the center and surface (a) and total moisture content (dry basis) evolution (b) during baking (◆ experimental, – simulation) (Ousegui et al., 2010) ...	32
Figure 4. Subdivision of the Maillard reaction (Nursten, 2005, adapted from Hodge, 1953) .	34
Figure 5. Classification of reaction media from the literature by composition and structure	36
Figure 6. Initial stage of Maillard reaction for glucose (Belitz et al., 2009)	43
Figure 7. Lobry de Bruyn-van Ekenstein rearrangement and dehydration steps for monosaccharides (Bousquières, 2017 adapted from Kroh, 1994)	43
Figure 8. Early state of caramelization of glucose as the first step towards the formation α -dicarbonyl intermediates (Belitz et al., 2009)	45
Figure 9. Formation of 1-deoxyosone and 3-deoxyosone from sugar degradation without amino compounds (Kocadağlı, 2016 adapted from Belitz et al., 2009).....	46
Figure 10. Glucosone formation from glucose in caramelization (Kocadağlı, 2016 adapted from Belitz et al., 2009).....	46
Figure 11. Formation of 3-deoxyosone and 1-deoxyosone through the early stage of the Maillard reaction from glucose (adapted from Belitz et al., 2009).....	47
Figure 12. Formation of glucosone by oxidation of the Amadori product (Kocadağlı, 2016 adapted from Velíšek, 2014).....	48
Figure 13. Formation of glyoxal and methylglyoxal from 3-deoxyosone and 1-deoxyosone (adapted from Nursten, 2005)	49
Figure 14. Formation of glyoxal from glucosone (adapted from Hofmann et al., 1999).....	49
Figure 15. Formation of glyoxal by oxidation from Schiff's base through the Maillard reaction (Kocadağlı, 2016 adapted from Namiki et al., 1975; Hayashi et al., 1980, 1981).....	49
Figure 16. Formation of methylglyoxal from fructose (Belitz et al., 2009).....	51
Figure 17. Formation of diacetyl from 1-deoxyosone (adapted from Shibamoto, 2014)	51
Figure 18. Formation of 2-formyl-5 hydroxymethylpyrrole from 3,4-dideoxyosone (Belitz et al., 2009).....	52
Figure 19. Formation of pyridine derivatives from 3,4-dideoxyosone (Belitz et al., 2009).....	52
Figure 20. Formation of 3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one from 1-deoxyosone (Belitz et al., 2009).....	53
Figure 21. Furanic compounds formed during caramelization (Belitz et al., 2009).....	53

Figure 22. Formation of 5-HMF from 3,4-dideoxyosone during caramelization (adapted from Belitz et al., 2009).....	54
Figure 23. Favored formation pathways of 5-HMF and furfural from glucose (Hu et al., 2018)	55
Figure 24. Formation of 2-hydroxyacetylfuran from 2,3-enediol (Belitz et al., 2009).....	56
Figure 25. Formation of 5-methylfurfural, 2-acetylpyrrole, 2-acetylfuran and other furanic compounds formed in D-[¹³ C] glucose/L-alanine model system (adapted from Yaylayan et al., 2000).....	56
Figure 26. Possible furfuryl alcohol formation pathways from glucose during pyrolysis (Albouchi et al., 2018 adapted from Yaylayan et al., 2000).....	58
Figure 27. Formation of acetaldehyde, the Strecker aldehyde of alanine (adapted from Belitz et al., 2009).....	59
Figure 28. Amino acids and their corresponding Strecker aldehyde (Ho et al., 2015)	60
Figure 29. Formation of pyrazine <i>via</i> the Strecker degradation products (α -aminoketone) (Nursten, 2005)	62
Figure 30. 2-ethylpyrazine formation without oxidation (Nursten, 2005)	62
Figure 31. Mechanisms of the Strecker degradation: two possible mechanisms of a nucleophilic attack of leucine at the C1 (\rightarrow) or C2 (\rightarrow) of methylglyoxal	63
Figure 32. Formation of 2,5-dimethylpyrazine and 2,6-dimethylpyrazine from α -aminocarbonyl compounds formed during the Strecker degradation	63
Figure 33. Reaction scheme with glucose and leucine as precursors (– for caramelization, --- for reactions with consumption of leucine, --- for reactions with liberation of leucine, – for reactions without direct intervention of leucine but existing only because there was leucine in the system before)	65
Figure 34. Processus de simplification du système réel en système modèle, appliqué à notre système d'étude, la génoise, avec les étapes méthodologiques et les verrous identifiés (Inspiré de Fehaili et al., 2008)	68
Figure 35. Schéma de la chronologie des expérimentations et découpage des sous-parties du chapitre Matériels et Méthodes	75
Figure 36. Représentation de la plaque de cuisson perforée, composée de trois tiroirs (gauche, milieu, droite) avec les génoises modèle dans leurs moules cylindriques	79
Figure 37. Schéma de conception des capteurs de flux (Source : Captec)	79
Figure 38. Emplacement de la zone « gauche fond » de placement des moules sur la plaque de cuisson.....	81
Figure 39. Emplacement des thermocouples dans les génoises pour l'acquisition de température pendant la cuisson.....	85
Figure 40. Séquençage des étapes de préparation des échantillons et variables pour le calcul des teneurs en matière sèche associées.....	87
Figure 41. Exemple de courbe d'étalonnage du glucose	92

Figure 42. Exemple de courbe d'étalonnage du fructose	93
Figure 43. Exemples de courbes d'étalonnage du 5-HMF et du furfural.....	95
Figure 44. Photographie légendée de la fixation du tube d'adsorbant en sortie du four.....	101
Figure 45. Photographs of model cakes sampled during baking at 170°C and 200°C.....	122
Figure 46. Simplified reaction diagram involving selected volatile markers. MR = Maillard reaction, C = Caramelization, SD = Strecker degradation	124
Figure 47. Chromatographic peak areas of HMF, acetic acid, furfural and furfuryl alcohol extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during baking at 200°C under high convection of model cake G (●,n=3) or G+L (■,n=2).....	125
Figure 48. Chromatographic peak areas of HMF, acetic acid, furfural and furfuryl alcohol extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during the baking of model cake (G) at 200°C under high convection (●,n=3), and model cake (G) at 170°C under high convection (▲,n=2)	126
Figure 49. Chromatographic peak areas of 2,5-DMP and 3-MEB extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during the baking of model cake (G+L) at 200°C under high convection (■,n=2) and model cake (G+L) at 170°C under high convection (◆,n=3)	127
Figure 50. Photographies de génoises fraîches modèle G cuites à 170°C dans des conditions de convection proches de celles d'une ventilation à 25 Hz.....	129
Figure 51. Photographies des surfaces des génoises modèles G+L lyophilisées, préalablement cuites à 140, 170 et 200°C pour les deux niveaux de convection (25 et 50 Hz) et prélevées à différents temps de cuisson jusqu'à 90 ou 120 min	130
Figure 52. Cinétiques de brunissement de surface des génoises modèles G+L à 140°C/25 Hz (■,n=1), 140°C/50 Hz (■,n=1), 170°C/25 Hz (▲,n=3), 170°C/50 Hz (▲,n=3), 200°C/25 Hz (●,n=1) et 200°C/50 Hz (●,n=1)	131
Figure 53. Cinétiques de brunissement global pour les génoises modèles G (symboles vides) et G+L (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1)	132
Figure 54. Cinétiques d'acidification des génoises modèles G (symboles vides) et G+L (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1)	135
Figure 55. Simplified scheme of the device used for the vapour spiking mode.....	146
Figure 56. Response of deuterated I.S. for simultaneous spiking (calibration conditions) and for spiking after sampling (on-line extraction conditions), n=5. The same amounts of I.S. are added in the two conditions.	151
Figure 57. Amount of newly formed volatile markers in the baking vapour of model cakes (170°C). The sampling was performed on-line by Air Toxic [®] tubes at three different baking intervals of four minutes each sampled volume of 200mL, time shown being the median of each interval (n=3). Extracts were analyzed by quantitative TD-GC-MS.	156

Figure 58. Simplified reaction scheme established for caramelization and the Maillard reaction in a model cake enriched with glucose and leucine as specific precursors. Leucine (L) and markers in blue are extracted and quantified from the matrix. +L means addition of leucine while –L means release of leucine. 169

Figure 59. Concentrations of glucose, fructose and leucine at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■, n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●, n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. 172

Figure 60. Concentrations of glucosone, 1-deoxyosone, 3-deoxyosone and 3,4-dideoxyosone at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. 175

Figure 61. Concentrations of methylglyoxal and diacetyl at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●, n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. 177

Figure 62. Concentrations of 5-HMF and furfural at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■, n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions..... 178

Figure 63. Simplified reaction pathways from glucose and leucine as precursors in model cakes for selected reaction markers to be measured in the products (in blue) or in the baking vapors (in orange). This scheme was based on the one in (Article 3) and enriched with volatile markers..... 186

Figure 64. Concentrations of acetic acid extracted from baking vapors and analyzed by TD-GC-MS, at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■, n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions..... 187

Figure 65. Concentrations of furfural and 5-HMF in the vapor and in the solid (■ vapor, ● solide) for baking of models *G+L* à 170°C/25 Hz (n=3) 188

Figure 66. Concentrations of 5-methylfurfural, furfuryl alcohol, 5-hydroxymethylfurfural and furfural extracted from baking vapors and analysed by TD-GC-MS, at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C 25 Hz (□,■,n=1), 140°C 50 Hz (□,■,n=1), 170°C 25 Hz (△,▲,n=3), 170°C 50 Hz (△,▲,n=3), 200°C 25 Hz (○,●,n=1) and 200°C 50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. 190

Figure 67. Concentrations of 2-methylpyrazine, pyrazine, 2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine and 3-methylbutanal extracted from baking vapors and analysed by TD-

GC-MS, at different time during baking of the model cakes <i>G+L</i> at 140°C/25 Hz (■,n=1), 140°C/50 Hz (■,n=1), 170°C/25 Hz (▲,n=3), 170°C/50 Hz (▲,n=3), 200°C/25 Hz (●,n=1) and 200°C/50 Hz (●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. The hatched points for 3-MB at 200°C mean that measured concentrations were higher than the calibration range.....	192
Figure 68. Schéma de principe d'un modèle couplé transferts-réactions.....	197
Figure 69. Cinétiques des teneurs en eau en base sèche pour les génoises modèles <i>G</i> (symboles vides) et <i>G+L</i> (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲, n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1).....	199
Figure 70. Positionnement de la limite <i>xt</i> entre la croûte et la mie	200
Figure 71. Masse d'une génoise mesurée expérimentalement (<i>mtot expt</i> , +) et modèle de régression empirique (-) pour les différents temps d'une cuisson à 170°C/25 Hz.....	202
Figure 72. Détermination de <i>xt</i> et représentation schématique sur ¼ de tranche de génoise, pour une cuisson à 170°C/25 Hz	203
Figure 73. Cinétiques de températures dans les génoises modèles <i>G</i> et <i>G+L</i> pour les 6 conditions de cuisson.....	205
Figure 74. Valeurs de α identifiées comme étant celles permettant de minimiser la différence entre les températures mesurées au centre des génoises et celles prédites par le modèle au même point (Équation 37 à Équation 40) pour une cuisson à 170°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).	210
Figure 75. Températures prédites en différents points de la génoise selon le rayon (x^* , Équation 33) et selon l'épaisseur (y^* , Équation 34) pour une cuisson à 170°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).	210
Figure 76. Schéma réactionnel simplifié pour la formule <i>G+L</i> dans la génoise.....	212
Figure 77. Essai d'ajustement manuel des prédictions du modèle sur les données expérimentales obtenues à 200°C/50 Hz pour la formule <i>G</i>	215
Figure 78. Modèle apparent de description de la dégradation du glucose pour toutes les conditions expérimentale appliquées à la formule <i>G</i>	216
Figure 79. Concentrations du glucose prédites en différents points de la génoise selon le rayon (x^* , Équation 33) et selon l'épaisseur (y^* , Équation 34) pour une cuisson à 200°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).....	217
Figure 80. Les coefficients de transfert convectif (<i>hconv</i>) et par rayonnement (<i>hray</i>) et la température de rayonnement (<i>Tray</i>) calculés pour toutes les conditions opératoires. Les zones en jaune sont considérées homogènes et utilisées pour les cuissons.	249
Figure 81. Sélection de génoises avec un taux de brunissement attribué visuellement.....	251
Figure 82. Concentration en leucine des pâtes lyophilisées et rendement en fonction du temps d'extraction	257

Figure 83. Concentrations en leucine *mmol.gpâte crue* – **1** en fonction du volume de formaldéhyde utilisé et leurs rendements (en haut des barres) 259

Liste des tableaux

Tableau 1. Pyrazines with their odor descriptors reported in literature on wheat bread (adapted from Pico et al., 2015)	60
Tableau 2. Quantités d'ingrédients pour les génoises modèles	77
Tableau 3. Caractéristiques du four instrumenté	78
Tableau 4. Conditions opératoires de cuisson au four instrumenté	81
Tableau 5. Zones considérées thermiquement homogènes pour chaque condition opératoire de cuisson.....	82
Tableau 6. Temps d'échantillonnage au cours de la cuisson pour le suivi quantitatif des marqueurs réactionnels	84
Tableau 7. Gradient des phases mobiles pour le dosage des sucres par UHPLC-CAD.....	91
Tableau 8. Gradient des phases mobiles pour le dosage du furfural et du 5-HMF par UHPLC-DAD.....	95
Tableau 9. Gradient des phases mobiles pour le dosage des composés α -dicarbonylés par UHPLC-MS	98
Tableau 10. Formes dérivées des composés α -dicarbonylés associés à leurs temps de rétention et ratios m/z sélectionnés pour la quantification	99
Tableau 11. <i>LOD</i> et <i>LOQ</i> des composés α -dicarbonylés	100
Tableau 12. Composés volatils quantifiés par TD-GC-MS avec leur temps de rétention et les ratios m/z sélectionnés pour la quantification	103
Tableau 13. <i>LOD</i> et <i>LOQ</i> des marqueurs volatils.....	105
Tableau 14. Analytical performance of sorbent tubes for selected volatile compounds.....	117
Tableau 15. Peak areas of volatile compounds measured from vapor using TD-GC-MS during baking at 200°C under high ventilation for a real sponge cake (<i>R</i>) and model cakes without (<i>I</i>) or with added precursors (<i>G</i> and <i>G+L</i>)	120
Tableau 16. pH de la pâte crue et de la solution de broyat lyophilisé de pâte pour les formules <i>G</i> et <i>G+L</i> et acidités équivalentes calculées	134
Tableau 17. Characteristics of the volatile analytes selected for the study	143
Tableau 18. Optimization of spiking modalities for analytes and deuterated internal standards	145
Tableau 19. TD-GC-MS responses of volatile analytes introduced into the sorbent tubes by liquid and vapor spiking	149
Tableau 20. Response of analytes for simultaneous spiking and spiking after sampling (n=3)	152
Tableau 21. Performances of the optimized TD-GC-MS quantitative analysis of 10 target analytes	154

Tableau 22. Derivative forms of α -dicarbonyl compounds associated with their retention times and selected quantifier ions.....	166
Tableau 23. Tableau récapitulatif des réactions présentes dans le schéma réactionnel	242
Tableau 24. Moyennes et écart-types des températures mesurées par chaque thermocouple comparées à la valeur de la sonde de référence (T vraie)	250
Tableau 25. Comparaison entre le taux de brunissement visuellement attribué et celui calculé pour plusieurs valeurs de L^*_{seuil}	251
Tableau 26. Moyenne et écart-type de la concentration en fructose et en glucose extrait 8 fois à partir du même broyat lyophilisé de génoises modèles	252
Tableau 27. Concentrations théorique et expérimentale en glucose de pâtes lyophilisées G et G+L et rendements d'extraction calculés.....	254
Tableau 28. Concentrations de 5-HMF et de furfural analysés tout de suite après l'extraction (référence) et analysés après 3 semaines à -20°C et -80°C (n=9)	255
Tableau 29. Moyenne et écart-type de la concentration en 5-HMF et en furfural extrait 8 fois à partir du même broyat lyophilisé de génoises modèles	256
Tableau 30. Influence de l'électrolyte et de la préparation de la solution du formaldéhyde sur le rendement d'extraction	258
Tableau 31. Répétabilité sur les 6 niveaux de gamme de la leucine	260
Tableau 32. Matrice des coefficients stœchiométriques pour la formule G+L dans la génoise (For = formaldéhyde, C01 = C4H8O3, Ama = produit d'Amadori, Co2 = C4H8O4, BP = polymères bruns et M = mélanoidins)	261

Liste des équations

Équation 1. Flux de chaleur reçu par le capteur « Brillant ».....	80
Équation 2. Flux de chaleur reçu par le capteur « Noir »	80
Équation 3. Expression du coefficient de transfert équivalent par rayonnement h_{ray}	80
Équation 4. Calcul de la perte en eau des génoises due à la cuisson	87
Équation 5. Équation de conservation de la matière sèche dans les génoises	87
Équation 6. Calcul de la teneur en matière sèche des lyophilisats.....	88
Équation 7. Calcul de la teneur en eau	88
Équation 8. Calcul de la teneur en eau en base sèche.....	88
Équation 9. Calcul de l'acidité équivalente	88
Équation 10. Calcul du degré de brunissement global	89
Équation 11. Calcul du taux de brunissement de la surface	89
Équation 12. Calcul de la concentration molaire en base sèche du glucose dans les génoises modèles.....	93
Équation 13. Réaction entre un groupement aminé et le formaldéhyde	96
Équation 14. Calcul de la concentration en leucine de la prise d'essai	96
Équation 15. Équation de la droite d'étalonnage de la leucine.....	97
Équation 16. Calcul de la limite de détection (LOD)	97
Équation 17. Calcul de la limite de quantification (LOQ).....	97
Équation 18. Équation de la droite d'étalonnage interne des α -dicarboxylés dosés par UHPLC-MS	100
Équation 19. Équation de la droite d'étalonnage interne des marqueurs volatils.....	104
Équation 20. Calcul de la concentration d'un marqueur volatil X piégé dans le tube d'adsorbant à un point cinétique donné	105
Équation 21. Calculation of level of browning	115
Équation 22. Calcul de la concentration moyenne en marqueur à partir des concentrations locales.....	198
Équation 23. Expression de la fraction massique à une position i dans la génoise et à un temps t	200
Équation 24. Définition de la frontière entre croûte et mie, $x(t)$	200
Équation 25. Expression de la masse totale de la génoise	201
Équation 26. Expression de la masse totale de la génoise avec la limite variable xt	201
Équation 27. Expression de la limite variable xt	201

Équation 28. Équation du modèle de régression empirique pour la masse d'une génoise expérimentale <i>mtot expt</i>	202
Équation 29. Calcul de <i>mMSi(t)</i> pour le cas où $i \leq x(t)$	203
Équation 30. Calcul de <i>mMSi(t)</i> pour le cas où $i > x(t)$	203
Équation 31. Calcul du volume de la génoise correspondant à la position i	204
Équation 32. Température adimensionnelle	208
Équation 33. Position adimensionnelle selon le rayon	208
Équation 34. Position adimensionnelle selon l'épaisseur	208
Équation 35. Temps adimensionnel (nombre de Fourier)	208
Équation 36. Diffusivité thermique	208
Équation 37. Température adimensionnelle d'un cylindre fini	209
Équation 38. Température adimensionnelle d'une plaque infinie	209
Équation 39. Température adimensionnelle d'un cylindre infini	209
Équation 40. Température prédite calculée à partir de la température adimensionnelle ...	209
Équation 41. Constante de vitesse de réaction en fonction de la loi d'Arrhenius reparamétrée	214
Équation 42. Équation différentielle ordinaire pour le glucose utilisant une constante de vitesse apparente	216
Équation 43. Calcul de la concentration théorique en glucose de la pâte crue	253
Équation 44. Calcul du rendement d'extraction du glucose à partir des broyats lyophilisés	253

Abréviations

	Français	Anglais
1-D		1-deoxyosone
2,5-DMP	2,5-diméthylpyrazine	2,5-dimethylpyrazine
2,6-DMP	2,6-diméthylpyrazine	2,6-dimethylpyrazine
2D	deux dimensions	two dimensions
2-MP	2-méthylpyrazine	2-methylpyrazine
3,4-D	-	3,4-dideoxyosone
3-D	-	3-deoxyosone
3-MB	3-méthylbutanal (Article 1)	3-methylbutanal (Article 1)
3-MEB	3-méthylbutanal	3-methylbutanal
5-HMF	-	5-hydroxymethylfurfural
5-MF	5-méthylfurfural	5-methylfurfural
AA	acide acétique	acetic acid
AGE	-	advanced glycation end-product
ANR	Agence Nationale de la Recherche	-
C	caramélisation	caramelization
CAD	-	charged aerosol detector
CAMOLA	-	carbohydrate module labelling
CPG	chromatographie en phase gazeuse	-
DA	diacétyl	diacetyl
DAD	-	diode array detector
DB	degré de brunissement	
DTD	thermo-désorption directe	direct thermal desorption
DM		dry matter
DMDP	-	3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihdropyran-4-one
EDO	équations différentielles ordinaires	
F	-	furfural
FA	2-furanméthanol	furfuryl alcohol
G	glucose	-
G+L	glucose+leucine	-
GC	-	gas chromatography
GCO	-	glucosone
GO	-	glyoxal
HCOOH	acide formique	formic acid
HPMC	hydroxypropylmethylcellulose	hydroxypropylmethylcellulose
HS	-	headspace

IARC	-	International Agency for Research on Cancer
I.S.	étalon interne	Internal standard
LC-MS		Liquid chromatography-mass spectrometry
LD50		lethal dose for 50% of a population
LOD	limite de détection	detection limit
LOQ	limite de quantification	quantification limit
LRI	-	linear retention index
MC	méthylcellulose	methylcellulose
MR	réaction de Maillard	Maillard reaction
MS	matière sèche	
P	Pyrazine	-
R	référence	-
SD	-	Strecker degradation
SPME		solid phase micro-extraction
TD	thermo-désorption	thermal desorption
TE	teneur en eau	
TIC		total ion chromatogram
TMS	teneur en matière sèche	
UHPLC	-	ultra high performance liquid chromatography

Nomenclature

	Français	Anglais
[X]	concentration de X	concentration of X
α	diffusivité thermique paramètre d'ajustement du modèle	thermal diffusivity -
γ		
λ	conductivité thermique	thermal conductivity
ρ	masse volumique	density
ω	fraction massique	Mass fraction
C (Cs)	concentration d'un composé	concentration of a compound
Cp	capacité thermique	Heat capacity
e	épaisseur	
Ea	energie d'activation	activation energy
h	hauteur	height
k	constante de vitesse	rate constant
m	masse	mass
r	rayon	radius
T	température	temperature
Tref	température de référence	reference temperature
V	volume	volume
x	position	position

Introduction

La prédiction et la maîtrise de la qualité des produits constituent l'un des défis majeurs pour l'industrie de transformation agroalimentaire qui est par ailleurs soumise à un cadre législatif dense et souvent spécifique en matières sanitaire et environnementale. De plus, les industriels du secteur agroalimentaire sont face à des exigences et des attentes importantes en termes de développement de nouveaux produits et d'innovation afin de rester compétitifs. En effet, ils doivent être capables de proposer des produits répondant non seulement aux attentes du grand public en matière de goût, de qualité et de sécurité, mais également aux demandes spécifiques de certains consommateurs notamment dans les cas des personnes allergiques ou intolérantes à certains composants et des personnes suivant des régimes alimentaires spécifiques correspondant à leurs modes de vie ou convictions.

La qualité sur le plan organoleptique, nutritionnel et sanitaire d'un produit alimentaire transformé dépend fortement des matières premières et du procédé de transformation, notamment des traitements thermiques appliqués. L'énergie thermique peut entraîner un changement de structure ou une dégradation des protéines ayant une influence sur la qualité nutritionnelle, ou des réactions chimiques susceptibles de générer une multitude de composés néoformés qui ont chacun des propriétés différentes (aromatisantes, colorantes, potentiellement toxiques,..).

Afin de favoriser la formation des composés à impact positif (arômes, couleur) tout en minimisant l'apparition des composés à impact potentiellement négatif (toxicité), il faut être en mesure de déterminer l'influence de la formulation et de la conduite des procédés sur les cinétiques des réactions.

Or, il ne suffit pas de décrire les réactions par des cinétiques du simple 1^{er} ordre, notamment dans le cas des produits alimentaires solides. L'apparition de gradients de température, de teneur en eau et de concentrations en composés est inévitable. Une telle hétérogénéité spatiale doit être prise en compte car la réactivité chimique, fortement liée aux niveaux de température et de dessiccation atteints, est alors locale. La présence d'un

grand nombre de composés réactifs de natures différentes contenus dans les ingrédients rend par ailleurs très difficile l'identification de chacune des réactions élémentaires impliquées et la quantification des composés néoformés.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés au couplage entre les transferts thermiques et les réactions dans un produit solide céréalier de type génoise. En effet, les procédés de cuisson de produits céréaliers engendrent de nombreuses réactions telles que la réaction de Maillard, la caramélisation et l'oxydation des lipides connues pour générer une grande diversité de composés qui contribuent à la qualité finale. Par contre, afin de pallier les difficultés liées à la formulation complexe d'un produit « vrai », un produit modèle mimétique de la génoise, mais à composition maîtrisée en réactants, a été utilisé.

Ce travail de thèse avait donc pour objectifs de :

- comprendre et décrire la réaction de Maillard et la caramélisation au cours de la cuisson d'une génoise modèle enrichie en glucose ou glucose plus leucine ;
- analyser l'influence de la composition et des conditions opératoires de cuisson sur la réactivité ;
- proposer un modèle pour analyser l'impact des transferts de chaleur et de matière sur les cinétiques des réactions.

Il s'agissait d'élargir les connaissances sur la réactivité dans le cas particulier de la cuisson des produits céréaliers, dans le but, à terme, de fournir des outils pour piloter leur qualité et éventuellement pour l'innovation de nouveaux produits.

Le chapitre 1 est constitué de l'état de l'art et se divise en deux grandes parties : la première est consacrée à la description des phénomènes physiques et chimiques et aux différentes approches pour étudier la réactivité lors de la cuisson des produits céréaliers. La seconde partie est consacrée à la présentation des marqueurs réactionnels et de leurs voies de formation et de dégradation dans le cadre des réactions de Maillard et de caramélisation.

Le chapitre 2 présente la stratégie utilisée pour répondre à la problématique tout en abordant les verrous scientifiques soulevés par des travaux antérieurs. La démarche détaillée de la thèse est expliquée en justifiant les hypothèses de travail : utilisation de la génoise modèle, choix des précurseurs et des conditions opératoires de cuisson.

Le chapitre 3 regroupe l'ensemble des matériels et méthodes utilisés pour l'obtention des résultats présentés dans ce mémoire.

Afin de s'assurer que la génoise modèle est bien inerte, sa validation est décrite au chapitre 4 ainsi que l'activation des réactions par l'ajout *ad hoc* de précurseurs spécifiques démontrant la faisabilité du dispositif pour l'étude de l'avancement réactionnel en utilisant ces génoises modèles.

Le chapitre 5 présente le travail de mise au point de la technique de piégeage dynamique des vapeurs de cuisson et de la méthode de quantification des marqueurs volatils par TD-GC-MS.

L'ensemble des résultats cinétiques concernant les marqueurs réactionnels dosés de manière complémentaire dans la matrice de la génoise modèle et dans les vapeurs de cuisson est présenté dans le chapitre 6. Il s'agit à la fois de précurseurs, de composés intermédiaires ainsi que de produits terminaux des réactions étudiées.

Les données expérimentales de température et de teneur en eau ainsi que des propositions de modèles physiques et de modèle réactionnel sont présentées dans le chapitre 7.

Enfin, le bilan de ce travail de thèse et les perspectives associées sont discutés.

1 - ÉTAT DE L'ART

The sponge cake (*génoise* in French) is a foam-style cake. It is a cereal product composed of three essential ingredients such as wheat flour, egg and sugar. However, in the literature, the composition can vary depending on the authors, with the possibility of additional ingredients such as fat, milk, baking powder or salt. According to the recipes found in the literature (Shepherd et al., 1976; Bennion et al., 1997; Baeva et al., 2000; Lostie et al., 2002; Ronda et al., 2005; Olszewski, 2006; Pozo-Bayón et al., 2006 a; Wilderjans et al., 2013), the major ingredient is always egg (18.5 to 45.73%).

The preparation of the sponge cake as a foam-style cake consists of the three following steps. The first step is beating the eggs (whites and yolks can be separated or not) with sugar at a high speed. Sugar is solubilized and the expansion allows the formation of a foam. This step of batter mixing is essential since it makes it possible to disperse the ingredients and to form bubbles by incorporating air. The second step is mixing the flour at a lower speed in order to break as little as possible the previously formed foam to keep the maximum of air (Conforti, 2006). The last step is baking the dough in an oven, which brings physicochemical changes leading to the transformation of the dough into a porous solid foam (Mizukoshi et al., 1980; Kiosseoglou, 2003; Moiraghi et al., 2012) that is typically brown (Sumnu, 2001) and aromatic (Takei, 1977).

The physical changes induced by such heat treatment include water evaporation, volume expansion, and formation of a honeycomb structure (Sablani et al., 1998). The chemical reactions involved are mainly the Maillard reaction, caramelization and lipid oxidation, which lead to the formation of many compounds that are responsible for aroma, flavor and color development (Zhou et al., 1999; Cerny, 2008; Cho et al., 2010; Purlis, 2010; Liaud, 2014; Pico et al., 2015; Aljahdali et al., 2019; Starowicz et al., 2019). These reactions also result in the formation of some health-related compounds such as furan (International Agency for Research on Cancer) and acrylamide (Stadler et al., 2002).

The aim of the present literature review is to provide an overview of the current knowledge useful for the study of the combined influence of the process and the formulation on the reactivity during baking of a sponge model cake. Firstly, physical and chemical changes that take place are described, accompanied by how they are studied in the literature. Secondly, key reaction markers and their formation and degradation pathways are dealt with in order to recapitulate the knowledge on the complex network of the Maillard reaction and caramelization.

1.1 Physical and chemical changes during baking of cereal products

This part aims to lay out main heat and mass transfer mechanisms that occur during baking of cereal products, more specifically bread and sponge cake. The models developed to describe and predict temperature and moisture content profiles are also presented.

1.1.1 Description of main mechanisms of heat and mass transfer during baking

From a physical point of view, the baking involves heat and mass transfers which closely depend on both the temperature and the time. When baking a cereal product, heat transfers are coupled with mass transfers *via* evaporation of water (Sablani et al., 1998).

The heat treatment of baking involves the transfer of heat from one or more energy sources to the product by conduction, convection and radiation (Conforti, 2006). In the case of forced convection, convective and radiative heat transfers are more predominant (Cernela et al., 2014). Lostie et al., 2002, studied the textural evolution of a sponge cake during its baking by image analysis. Two periods and the corresponding main transfer mechanisms were identified which are “heating up” period and “crust and crumb” period, defined by the formation of a crust on the heated surface.

Wong et al., 2006, divided the baking process into three stages. The first stage corresponds to the fact that the increase in temperature initiates rapid evaporation of water and release of carbon dioxide. The surface is thus pushed up followed by the development of a crust. During the second stage, moisture evaporation, starch gelatinization and protein denaturation are at their maximum resulting in the formation of the network-like structure of bread crumb. The last stage is characterized by the firm up of cell walls.

According to Zhang et al., 2006, solid water, liquid water, water vapor and CO₂ are the 4 phases in transport processes. The generation and transport of vapor and CO₂ induce internal pressure buildup which causes deformation. This deformation affects transport through changes in characteristic dimension, porosity and effective conductivity, putting an accent on the fact that transport, deformation and their coupling should be taken into account when baking bread. The physical processes and their coupling regarding the transport and deformation in bread baking process are described in Figure 1.

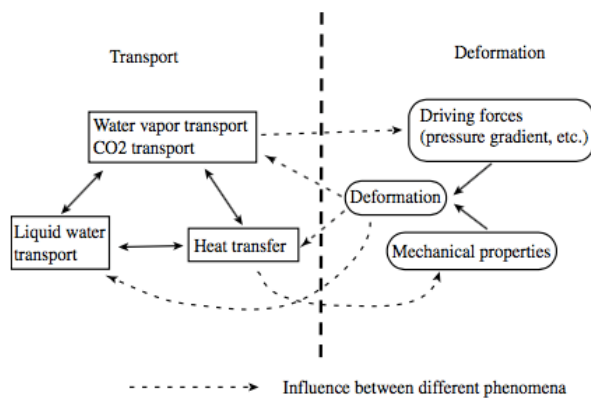


Figure 1. Physical processes and their coupling in bread baking (Zhang et al., 2006)

The heat and mass transfers are very complex during baking and they occur simultaneously, governed by evaporation-condensation mechanism in the crumb (Chhanwal et al., 2012; Lucas et al., 2015; Vanin et al., 2017) (Figure 2).

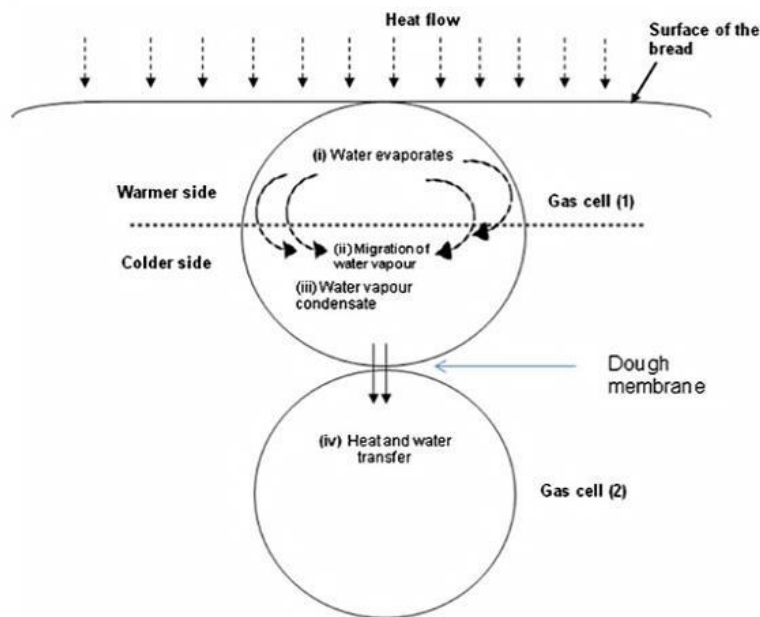


Figure 2. Simultaneous heat and mass transfer mechanism during baking of bread (Chhanwal et al., 2012)

This mechanism can be divided into 4 steps. The first step corresponds to water evaporation on the warmer side of the gas cell, absorbing latent heat of vaporization. Secondly, the water vapor migrates through the gas phase, due to vapor concentration gradient inside the cell. The third step corresponds to the condensation of water vapor on the colder side of the gas cell, releasing its latent heat. The last step refers to the heat and water transport occurring by conduction and diffusion, respectively, through a dough membrane to the warmer region of the next gas cell,

where these processes take place similarly. This mechanism continues as long as the temperature gradient exists and the temperature of the whole crumb is at 100°C (Thorvaldsson et al., 1999; Purlis et al., 2009).

1.1.2 Modeling of heat and mass transfer during baking

Sablani et al., 1998; Mondal et al., 2008; Chhanwal et al., 2012, reviewed published literature on experimental and mathematical studies of the baking process. From various models, some of the highlights are chosen, described with principal results and limits.

From experimental data, Zanoni et al., 1994, developed a phenomenological model of bread baking in an electric forced convection oven, describing changes in temperature, water content and volume.

Since bubbles or pores are formed during baking, vapor and liquid water can coexist within the product. Most of the recently developed models use methods that can consider porous media with coexisting streams of liquid water and water vapor (Lucas et al., 2015).

Zhang et al., 2006, proposed a 2D model coupling heat and mass transfers with significant deformation during bread baking. In this model, the product is considered as a porous material with three phases: solid (dry matter), liquid (water) and gas (water vapor and CO₂). The gas flows are convective (Darcian flow) and diffusive. The flow of liquid water occurs only by capillary diffusion and the flow of liquid water controlled by the pressure is ignored because the water is strongly bound to the starch in the dough. The model takes into account fully coupled transport and deformations. The model has the same transport and deformation characteristics as those observed during a baking experiment in terms of temperature, moisture loss and surface browning. However, due to the lack of knowledge on exact values of thermophysical properties, physical and chemical disruption of cooking, the coupled multiphase transport and deformation model has limitations.

Ousegui et al., 2010, considered both diffusion and Darcian flow for the water vapor and CO₂ of the gas phase for their 2D model. To overcome numerical problems and to take into account the internal resistance to evaporation, an explicit formulation of the evaporation rate has been adopted allowing the direct resolution of the system of equations. The model assumes that during all stages of the cooking process, the product is considered as a three-phase porous medium: solid phase (dry matter), liquid phase (water) and gas phase (with water vapor and CO₂). All phases are assumed to have the same temperature at any spatial location. Water vapor and

CO₂ are supposed to be ideal gases. The water vapor and the CO₂ are driven by convection due to the total gas pressure gradient and diffusion due to the concentration gradient. Since liquid water is strongly bound to the starch, there is no flow of liquid water under pressure during baking and the only mechanism for transfer of liquid water is capillary diffusion. The generation of CO₂ is not taken into account and, therefore, the expansion of the volume during cooking due to the generation of CO₂ is not taken into account. The rate of evaporation-condensation is linearly related to the difference between equilibrium vapor density and local vapor density. The model was considered to have an acceptable match with the experimental data. The validation was conducted for the temperature at the center and surface of the bread and the total moisture content (dry basis) (Figure 3).

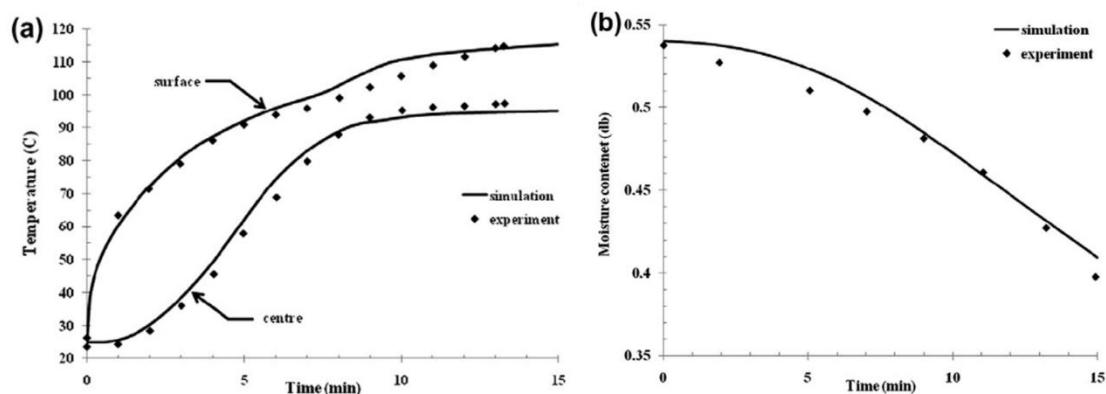


Figure 3. Temperature evolution at the center and surface (a) and total moisture content (dry basis) evolution (b) during baking (♦ experimental, – simulation) (Ousegui et al., 2010)

Nicolas et al., 2014, developed a multiphase model making it possible to simulate the heat and mass transfer in a deformable medium. It consisted of several partial differential equations with the following state variables: water content (dry basis), temperature, gas pressure, gas fraction and deformation. The peculiarity of this model is that it took into account the exchange between the bread (crust) and the center (crumb) by introducing a thermal contact resistance at the interface and by modelling the heat transfer in the center. The advantage of such a model is that it can simulate other phenomena such as the evolution of pressure and of local porosity. The comparison between the simulated and experimental values concerned the evolutions of the temperature, the mass and the deformation during a conventional baking. However, the differences observed were explained by the uncertainties of measurements and phenomena not taken into account in the numerical model.

In a more recent study, Nicolas et al., 2017, used a 2D geometry to model the heat and mass transfer in a deformable porous matrix. Simulated and measured evolutions were generally in agreement with temperature, mass, local moisture content, pressure and deformation, although several gaps were observed. The simulation showed that the increase in mass corresponds to a condensation of water in the external part of the product.

1.1.3 Main chemical reactions occurring in bakery products

The ingredients most commonly used in baked products such as sugar, eggs, flour and fatty matter (Barden et al., 2013; Petisca et al., 2013) are composed of a variety of precursors of the Maillard reaction, caramelization and lipid oxidation (reducing sugar, amino acids, proteins, peptide and polyunsaturated fatty acids). This part describes the Maillard reaction and caramelization and gives an overview of approaches and reaction mediums used to understand the complex reaction pathways.

1.1.3.1 The Maillard reaction

The Maillard reaction refers to a series of complex reactions starting with the condensation of a carbonyl function of reducing sugars and an amino function of amino acids, proteins, peptides. This reaction ends up in generating a multitude of newly formed products typically including furans, furfurals, furanones, pyrroles, pyranones, pyrazines, imidazoles, aldehydes, ketones and organic acids, and finally melanoidins (Nursten, 2005; van Boekel, 2006; Belitz et al., 2009; Cerny, 2010) which are well known from decades, for having an impact on food quality at different levels and extent. This reaction is known to be accelerated by high temperature and slightly basic conditions (Nursten, 2005; Belitz et al., 2009).

The Maillard reaction was discovered by Maillard, 1912, in a heated solution containing glucose and glycine. Later, Hodge, 1953, divided the cascade of reactions into three: the initial, intermediate, and final stages. These stages were then named early, advanced and final, by Mauron, 1981. The reaction pathways taking place in each stage and the groups of compounds that can be formed were outlined and summarized by Nursten, 2005 (Figure 4).

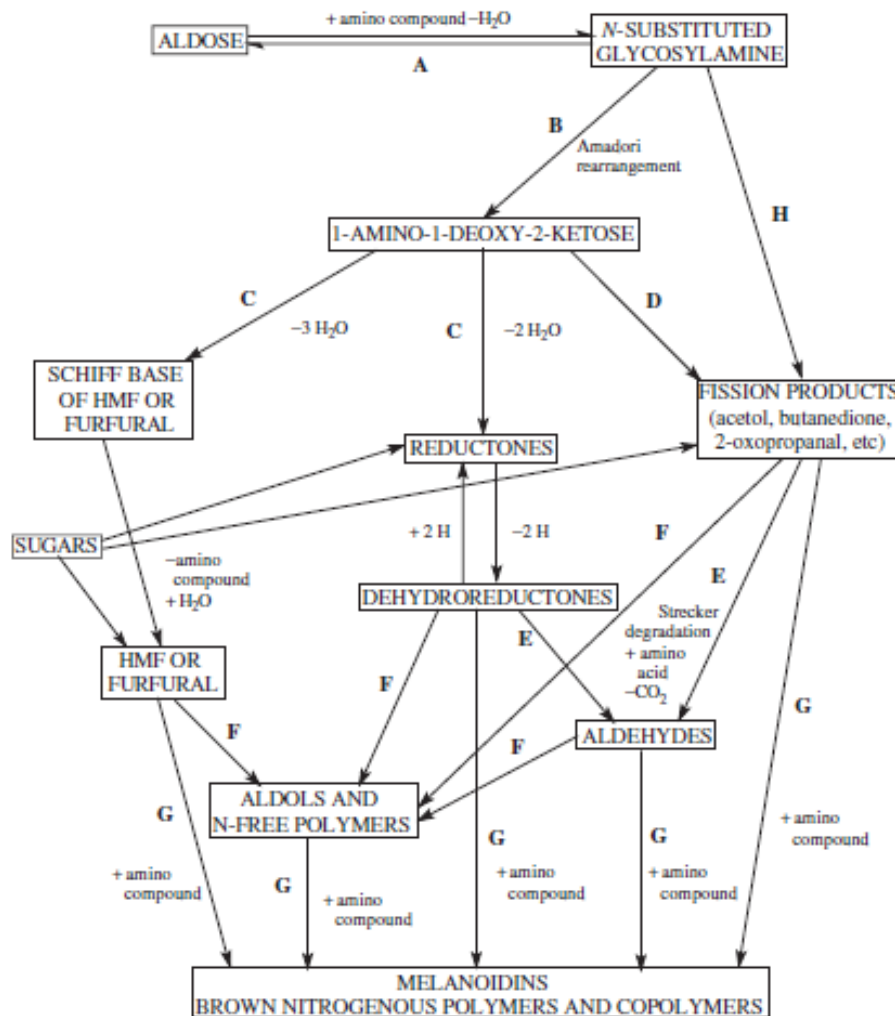


Figure 4. Subdivision of the Maillard reaction (Nursten, 2005, adapted from Hodge, 1953)

The initial stage includes reactions A (condensation between reducing sugar and amino compound) and B (Amadori rearrangement) (Figure 4). Its products are colorless, without absorption in the ultraviolet (around 280 nm). The intermediate stage comprises reactions C (Sugar dehydration), D (Sugar fragmentation) and E (Strecker degradation) (Figure 4). Most of the time, the products formed at this stage are either colorless or yellow, with strong absorption in the ultraviolet. Some fluorescent polymers with proteins or amino acids, named advanced glycation end-products (AGEs) which include fluorescent groups, such as crosslines, imidazolones, and pentosidine, and non-fluorescent components of N ϵ -carboxyethyllysine and N ϵ -carboxymethyllysine are also formed (Li et al., 2019).

Sugars undergo enolization and dehydration, accompanied usually by amino compound release, giving rise finally to highly reactive α -dicarbonyl intermediates. Major α -dicarbonyl intermediates and their formation pathways are further discussed in 1.2.2. Moreover, an oxidative decarboxylation and deamination of amino acids by an α -dicarbonyl intermediate, known as the

Strecker degradation, can take place. The product of this reaction is an aldehyde called the Strecker aldehyde that is specific to the implicated amino acid.

The final stage is probably the least elucidated, but it is generally known to include reactions F (aldol condensation) and G (aldehyde-amine condensation). During this stage, the α -aminocarbonyl compound formed can yield pyrazine and substituted pyrazines (Whitfield et al., 1992). Brown nitrogenous polymers and co-polymers, known as melanoidins are also formed. However, their structures and formation pathways are still not fully clarified and under discussions (Martins et al., 2000; Bruhns et al., 2019).

1.1.3.2 Caramelization

Caramelization refers to a series of reactions involving carbohydrates (mono-, oligo- or polysaccharides, specially reducing sugars), that are sugar isomerization, dehydrations and fragmentation reactions, leading finally to the formation of brown pigments. Caramelization is known to require more drastic conditions compared to the Maillard reaction in terms of temperature and pH (both acidic or alkali) as sugars are stable in neutral conditions. Temperatures above 120°C are generally required in model systems (Kroh, 1994). Furanic compounds including 5-HMF (5-hydroxymethylfurfural), furanones, pyrones and carbocyclic compounds are typical sugar degradation products (Belitz et al., 2009).

In acidic conditions, enolization and subsequent elimination of one or three water molecules predominate (Belitz et al., 2009) whereas the basic conditions favor enolization followed by fragmentation reactions by cutting carbon bonds (Velíšek, 2014).

α -dicarbonyl compounds such as 3-deoxysone (3-D) are the key intermediates of caramelization. These are the same intermediates that can also be formed by the Maillard reaction and give rise to various compounds that are responsible for aroma or flavor. Finally, polymerization of the intermediates lead to the formation of brown polymers through mechanisms that are still not completely elucidated (Hodge, 1953).

During the heating of food products, mono-, di-, oligo- and poly- saccharides such as maltose, lactose, starch, and inulin can either hydrolyze to monosaccharides and then undergo further reactions as described above or form degradation products analogous to the monosaccharides (Smuda et al., 2011). Sucrose is not a reducing sugar, thus cannot form enediols and undergo directly caramelization, but its hydrolysis products, glucose and fructose, are reducing sugars. Finally, polymerization of the intermediates lead to the formation of brown polymers through

mechanisms that are still not completely elucidated a part from the possibility that 5-HMF may play a role as an intermediate (Kroh, 1994).

1.1.4 Different reaction mediums for studying reactivity

A comprehensive study of the existing literature makes it possible to propose a classification of reactivity studies following the complexity of reaction media. Figure 5 resumes different categories of studies gathered following the degree of structure and composition complexity of the reaction media. The structure varies from liquid to solid forms and the composition varies from the very simplified binary system (reducing sugar-amino acid) to the complex ingredients often used in bakery products such as egg, flour and refined sugar.

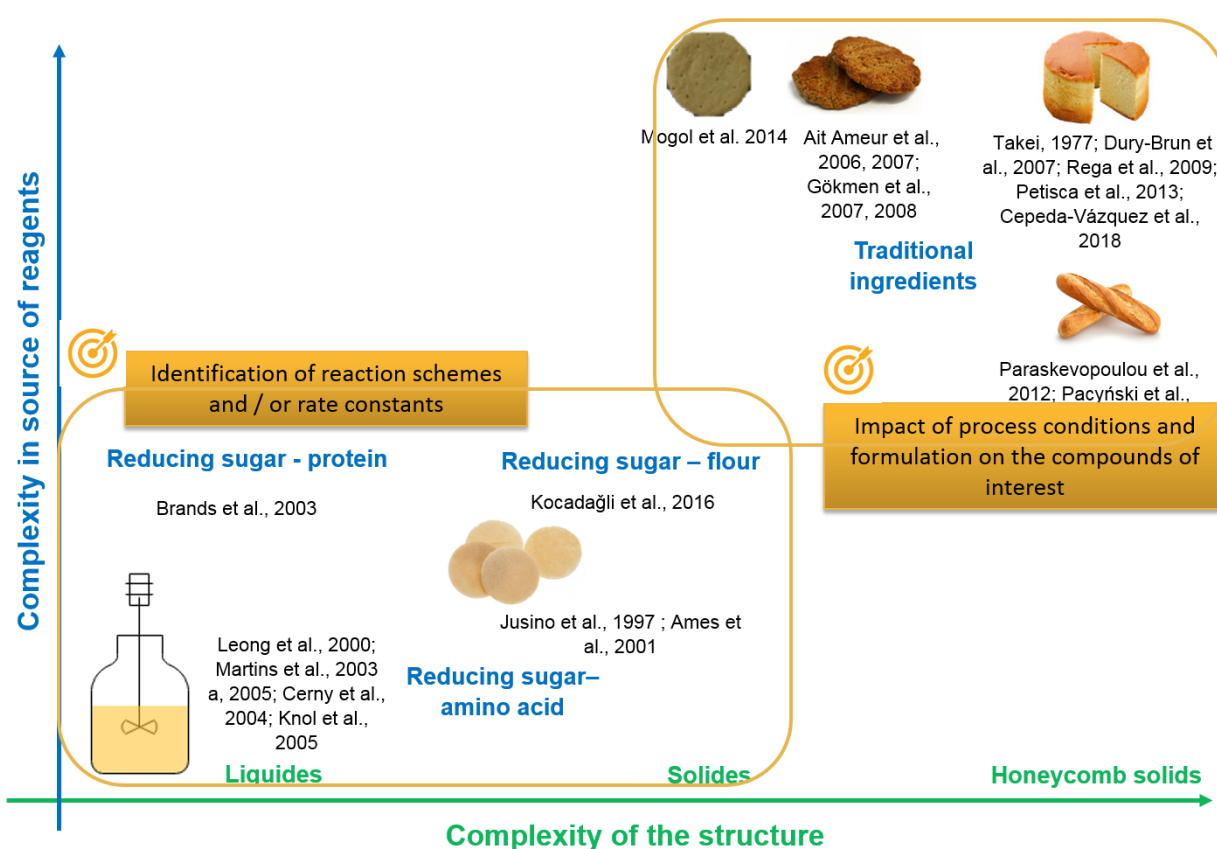


Figure 5. Classification of reaction media from the literature by composition and structure

In order to simplify and exclusively focus on unravelling reaction pathways, many authors have opted for simplified liquid model systems as reaction media, often using buffers to control pH, with selected precursors (sugar-amino acid) (Leong et al., 2000; Brands et al., 2003; Knol et al., 2005; Martins et al., 2005 a). This type of research is strongly linked to the approach that is further developed in 1.1.5.1. Using perfectly stirred liquid model systems is relevant for

discriminating specific reaction pathways since it optimizes the mobility for precursors hence the reactivity but also enables to work without any temperature or concentration gradient. This approach is generally coupled with the controlled use of specific precursors rather than ingredients. However, one should bear in mind that findings in simplified liquid model systems have limits when transposing to solid food since the mobility of precursors is reduced and other parameters such as the structure and process conditions during heat treatment have a major impact on the reactivity.

When real food products are used, the ingredients cannot provide an efficient control of the exact precursors. Many studies have been focused on the influence of baking conditions and composition on the formation of specific aromatic compounds (Takei, 1977; Ait Ameer et al., 2006, 2007; Dury-Brun et al., 2007; Rega et al., 2009; Paraskevopoulou et al., 2012; Pacyński et al., 2015; Cepeda-Vázquez et al., 2018) or health-related compounds (Gökmen et al., 2007, 2008; Petisca et al., 2013; Cepeda-Vázquez et al., 2018; Mildner-Szkudlarz et al., 2019), through complex interactions between many precursors contained in the ingredients. This approach is further detailed in 1.1.5.2

Solid models containing only few precursors are very rare in the literature. Jusino et al., 1997, followed the formation of 2,5-dimethylpyrazine and 2-methylpyrazine in a system composed of starch, glucose and lysine, containing 10% water (dry basis) and then heated for 300 min at temperatures ranging from 80 to 120°C. They observed an increase in pyrazine concentration with temperature suggesting favorable activation of pyrazine applied using a first-order reaction and an activation energy of 13.5 kcal.mol⁻¹.

Ames et al., 2001, used mixtures of glucose, glycine and starch (18% water dry basis) for extrusion cooking and studied the influence of extruder water feed, temperatures and pH on the formation of volatile compounds. They found that the amounts of volatile compounds increased with temperature at all pH values and that pyrazines were the most abundant class for all sets of conditions (54-79% of total volatiles). Pyrroles, ketones, furans, oxazoles, and pyridines could also be identified.

Kocadağlı et al., 2016, built a multiresponse kinetic model of products of the Maillard reaction and caramelization in a heated low-moisture (7% water dry basis) glucose-wheat flour model. Despite the fact that a complex ingredient was used – wheat flour containing a variety of precursors – the estimated model indicated quantitatively predominant parallel and consecutive

pathways for precursors (glucose and fructose), α -dicarbonyl intermediates and 5-HMF and rate limiting steps by estimating the reaction rate constants.

The model cake developed by Bousquière et al., 2017 a, deserves special attention. This model cake has an alveolar structure, very similar to that of a real sponge cake. The fabrication steps of a real sponge cake are respected through mixing, foaming and baking operations. However, it should constitute an inert basis for reaction as the traditional ingredients are completely removed and replaced by hydrocolloids and starch which are supposed to be non-reactive towards the Maillard reaction and caramelization. The reactions could then be provoked by adding specific substrates. In fact, the kinetic modelling of furan and furfural has been successfully studied during baking of this model cake by adding glucose and leucine as precursors (Srivastava et al., 2018).

1.1.5 Approaches in understanding the Maillard and caramelization reactions

Due to the complexity of the reactions and the high number of products that are involved, many authors have investigated and still investigate the Maillard and caramelization reactions with different angles. Some authors have proposed classification methods. As for the description of exact chemical mechanisms of these reactions, lot of research has been conducted and capitalized firstly by Hodge, 1953, and relatively recently reviewed by Martins et al., 2000.

One should bear in mind that many have been and are still interested in unravelling the Maillard and caramelization reactions. This part goes deeper into laying out researches with different approaches that have been adopted in order to bring more insight in comprehension of both reactions.

1.1.5.1 Study of the mechanisms of the Maillard reaction and caramelization: the fate of precursors followed step by step

Many studies have been focused on gaining a deeper insight into reactivity in terms of organic chemistry approach, with the focus on the fate of a compound or a group of compounds that enter in a reaction. This approach, which can be defined as somewhat deterministic, aims to examine and to trace the whereabouts of a molecule in question. The works focus on unravelling possible mechanisms and the goal is to comprehend and establish each step of reaction mechanisms from a molecule to another. This kind of research has the advantage of pointing out specific intermediates involved in reactions cascade.

Most of the works in early days including Namiki et al., 1975; Hayashi et al., 1980, 1981, 1986, tried to isolate and determine the exact structure of each intermediate involved when a simple reducing sugar and an amino acid were in reaction mediums. The focus was clearly on what was actually formed and how, from a set of well-known precursors for the Maillard reaction.

Some have focused on finding out specific reaction pathways especially by using isotopically labelled reactants (Frank et al., 2001; Cerny et al., 2003; Chu et al., 2009; Guerra et al., 2012). Maillard model systems consisting of labeled D-[¹³C]glucose and L-[¹³C]alanine have been used to identify the origin of carbon atoms in glycolaldehyde, pyruvaldehyde, 1-hydroxy-2-propanone (also called acetol), 2,3-butanedione, 3-hydroxy-2-butanone, 2,3-pentanedione, and compounds containing C5 and C6 intact glucose carbon chains (Yaylayan et al., 2000).

The labeled compounds have recently been used in mixtures with their unlabeled equivalents in order to study fragmentation pathways of specific precursors during aroma formation (Kirchhoff et al., 2001). The major advantage of this method is that it determines to which extent a carbon chain of a sugar remains intact during the Maillard reaction or caramelization and hence helps attributing relevance and significance to different possible formation pathways. This approach is called “carbohydrate module labelling” and is often referenced as CAMOLA, its acronym (Frank et al., 2002; Cerny et al., 2003).

Cerny et al., 2003, used isotope labelling of carbon to study the formation of aroma compounds from a mixture of cysteine and ribose and hence proposed a new reaction pathway leading to the formation of 3-mercapto-2-pentanone from ribose *via* 1,4-dideoxyosone as a key intermediate. Frank et al., 2002, investigated the exact chemical structures of bitter tasting quinizolate and homo-quinizolate and the possible reaction pathways leading to their formation in a xylose – alanine mixture by labelling carbons.

1.1.5.2 Study of the Maillard reaction and caramelization products: focus on quality-related compounds

This approach refers to different works specifically conducted on quality related compounds: identification, characterization, and occurrence in various food products, factors having impact on their formations, mitigation strategies. This approach focuses rather on some “final” product, not necessarily on the details of reaction pathways. Categorization into 2 sub-groups is possible:

- Compounds of sensory concern (specific odor-active compounds, eg. aldehydes, pyrazines...)

- Compounds of toxicological concern (acrylamide, 5-HMF, furan)

Flavor compounds in food products, and especially in cereal based goods, are of central interest. Their properties, formation pathways, identification have been studied and reviewed by many authors including Hofmann et al., 1995; Zhou et al., 1999; Cho et al., 2010; Gallego et al., 2012; Pico et al., 2018 a; Starowicz et al., 2019. One should bear in mind that previously discussed approaches are evidently associated with the analytical techniques allowing identification. Traditionally, the main focus was on components affecting aroma and taste development as these play an important role in the quality of foods. However, another aspect of the Maillard reaction that has gained more attention recently, is that of the formation of mutagens and carcinogens in the Maillard reaction (Finot, 2005).

One of the first ever reported studies on the negative health-related effects of Maillard products is that of Krug et al., 1959, which determined the LD50 (the amount of a toxic agent sufficient to kill 50% of a population of animals usually within a certain time) of various products of free amino acids obtained by thermal reaction of free amino acids with glucose. They found that lysine mixtures were the most toxic (Finot, 2005).

Moreover, the discovery of acrylamide in transformed starch goods in the earliest 2000 has greatly alarmed the scientific community and the industrial stakeholders and contributed to gain a renewed interest in the Maillard reaction (Tareke et al., 2002). Acrylamide is currently classified by International Agency for Research on Cancer as a Groupe 2A: probable carcinogen for humans because it is metabolized in the body to form the epoxide glycidamide, a genotoxin. Acrylamide and epoxide glycidamide form adducts with DNA and with amino acids in hemoglobin. Thus, these adducts with hemoglobin have been used to measure the relative internal doses between individuals (Aljahdali et al., 2019). The studies of its occurrence, formation mechanisms and mitigation methods in foodstuff are numerous, including in bakery products (Knol et al., 2005; Gökmen et al., 2007, 2008; Calvarro et al., 2009; Knol et al., 2010; Superior et al., 2010; Nguyen et al., 2016 a; Rannou et al., 2016 a).

5-HMF and furan have been studied for their potential toxic effects. 5-HMF has been used for a quite long time as a marker for quality assessment (Ait Ameer et al., 2006, 2007; Gökmen et al., 2012; Nguyen et al., 2016 a). Many researches on its formation and mitigation have been carried out to minimize its formation because it is supposed to induce genotoxic and mutagenic effects in bacterial and human cells and to promote colon cancer in rats. However, there are contradictory findings on the possible carcinogenicity of 5-HMF (Abraham et al., 2011). Furan is

also of particular interest. It has been classified as possibly carcinogenic to humans (group 2B) by the International Agency for Research on Cancer, hence the research that has been built on furan has gained lot of current interest (Märk et al., 2006; Crews et al., 2007; Huault et al., 2016; Rannou et al., 2016 b; Cepeda-Vázquez et al., 2019).

1.1.5.3 Comprehension and modeling of reaction rates: kinetic modelling approach

Another approach that has been more recently developed is the kinetics monitoring and modelling. This approach has the particularity of taking into account the notion of quantity (van Boekel, 2008). The focus is given to the reactions that can be identified within a complex reaction scheme which does not aim to be exhaustive. The goal is to maximize the information that can be quantified. By studying chosen reaction steps in a quantitative way, it is possible to describe and predict changes, thus, control the reaction cascade (Martins et al., 2005 a)

The estimation of kinetic parameters by applying multiresponse modelling contributes to building mechanistic models (van Boekel, 1996, 2001). In fact, due to the variety of compounds and reaction pathways involved in the Maillard reaction and caramelization, the assignments of simple kinetic models such as zero-, first-, or second-order reactions to a chosen reaction is not adapted to fully describe the whole reaction network, because the estimated rate constants obtained by simple kinetics only reflect the chosen reactions (Martins et al., 2005 a).

The concept of multiresponse modelling takes into account all concentrations of the measured compounds that are involved in reaction cascade from precursors, intermediates to final products at the same time whereas concentration changes of only one compound are used in simple kinetics (van Boekel, 2001). The main advantage of such multiresponse modelling is that models can be tested more rigorously since all the information in the data is linked and used, and the parameters can be estimated much more precisely (Martins et al., 2005 a).

This multiresponse modelling approach has been successfully applied in order to monitor and model the Maillard reaction in different reaction media (Brands et al., 2003; Martins et al., 2003 a; Kocadağlı et al., 2016; Nguyen et al., 2016 a; Göncüoğlu Taş et al., 2017; Srivastava et al., 2018). Many authors have demonstrated the usefulness of kinetic modelling. A kinetic model for the formation of acrylamide in a fructose–asparagine model system at initial pH 5.5 was proposed by Knol et al., 2010. The formation of acetic acid and formic acid from the degradation of fructose and its isomer glucose was included in the proposed model. Furthermore, these models have

shown that, at high temperatures (120–200°C), the Maillard reaction rapidly goes into the advanced stages, forming high amounts of organic acids and high molecular weight melanoidins. Göncüoğlu Taş et al., 2017, conducted a multiresponse kinetic modelling for hazelnut roasting. One of the critical points is that the hazelnut contains an unneglectable amount of monounsaturated fatty acids known to intervene in the formation of some compounds characteristic of the Maillard and caramelization reactions. This study demonstrated clearly the force of multiresponse kinetic modelling as the authors could deduce that the 1,2-enolization was one of the rate determining steps in the Maillard reaction and caramelization during roasting of hazelnuts. This could not be done when 1,2-enolization step was intentionally omitted in the calculations because the concentration of both fructose and glucose were not well estimated and continuously decreased during roasting whereas degradation of fructose and glucose was rapid at the beginning of the roasting and remained stable at prolonged roasting times.

1.2 Key reaction markers and their formation and degradation pathways

In order to elaborate accurate assumptions on a reaction scheme, it is important to investigate various possibilities on the formation pathways of key reaction markers available in the literature. This part aims to select and explain key reaction markers and their most plausible formation mechanisms. It would have been impossible to cover every single compound that could be formed during caramelization and Maillard reaction, indeed we made a selection, to stay coherent with the drawing of a reaction scheme. The selection criteria in order to choose a reaction marker are the following: the relevance in discriminating different reaction pathways, the previous use as a heating indicator in cereal products, the link with well-established sensory and toxicological properties.

1.2.1 Precursors

During the initial stage of the Maillard reaction, glucose in its open-chain form is vulnerable to nucleophilic addition from free amino groups coming from amino acids, proteins and peptides (Figure 6). This can easily form an imine which is a Schiff's base. Due to the presence of the hydroxyl group in the α -position, the imine can be rearranged to 1,2-eneaminol, leading to the formation of an aminoketose called Amadori product (1-amino-1-deoxyketose). As for fructose, the equivalent of the Amadori product is called Heyns product (2-amino-2-deoxyaldose).

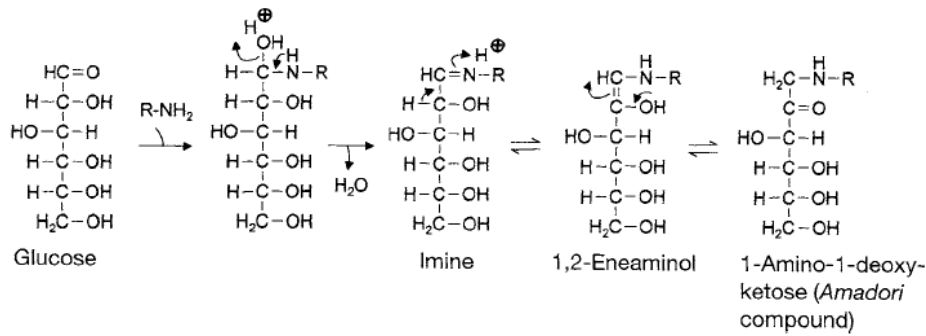


Figure 6. Initial stage of Maillard reaction for glucose (Belitz et al., 2009)

During the first step of caramelization, sugars undergo a reversible enolization known as the Lobry de Bruyn-van Ekenstein rearrangement (Figure 7). In this reaction, an aldose such as glucose can isomerize to 1,2-enediol. In the same way, 1,2-enediol can be isomerized to a ketose, for instance, fructose. Therefore, this rearrangement is important for sugar reactivity as it easily occurs and determines the type of reducing sugar that can be involved in further reactions. Then, dehydration or β -elimination can take place followed by dicarbonyl cleavage, retro aldolization or aldolization (Belitz et al., 2009).

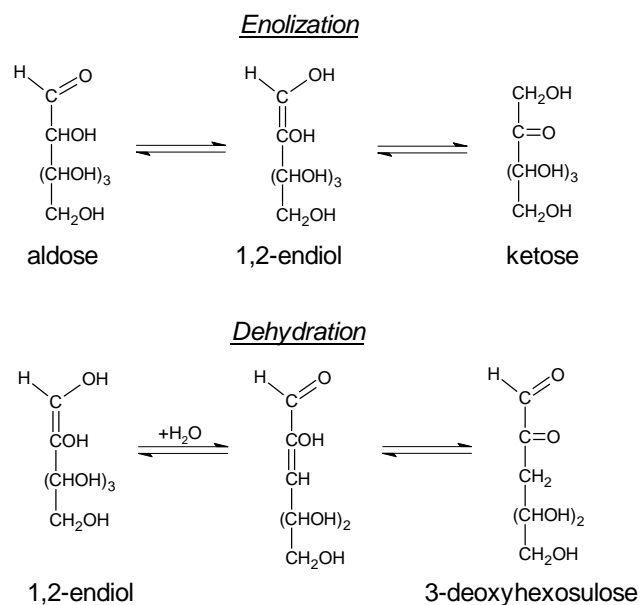


Figure 7. Lobry de Bruyn-van Ekenstein rearrangement and dehydration steps for monosaccharides (Bousquières, 2017 adapted from Kroh, 1994)

1.2.2 Reactive α -dicarbonyl compounds

α -dicarbonyl compounds are very reactive intermediates which undergo further reactions into the formation of key compounds responsible of flavor and color development (Hodge, 1953). They are also of particular importance in terms of food quality and safety (Hellwig et al., 2018). They can be formed either by caramelization or the Maillard reactions.

Formation of reactive long-chain α -dicarbonyl compounds through enediols in the absence of amino compounds

In the absence of amino compounds, α -dicarbonyl compounds are derived mainly from dehydration and fragmentation reactions of reducing monosaccharaides, more specifically from enediols that are in equilibrium with reducing monosaccharides. As a matter of fact, glucose can interconvert into fructose through 1,2-enediol and *vice versa*. This conversion is called 1,2-enolization. Fructose and mannose coexist in the same manner. Fructose can be transformed into 2,3-enediol forming small amounts of psicose (Figure 8). Such isomerization reaction is known as Lobry de Bruyn-van Ekenstein rearrangement. This sugar type transformation (aldose to ketose) occurs in alkaline or acidic medium (Belitz et al., 2009). It can also be catalyzed by metal chlorides in ionic liquid solvents (Zhao et al., 2007). Compared to glucose which is only involved in 1,2-enolization, fructose can be either present as 1,2-enediol and 2,3-enediol, resulting in the production of a wider spectrum of degradation products during heat treatment (Belitz et al., 2009).

In the absence of amino compounds, 1,2-enolization is one of the rate determining steps in the Maillard reaction and caramelization during roasting of hazelnuts (Göncüoğlu Taş et al., 2017). 1,2-enolization was also reported by other researchers to be one of the primary reaction steps in the Maillard reaction (Kocadağlı et al., 2016, Martins et al., 2005 a).

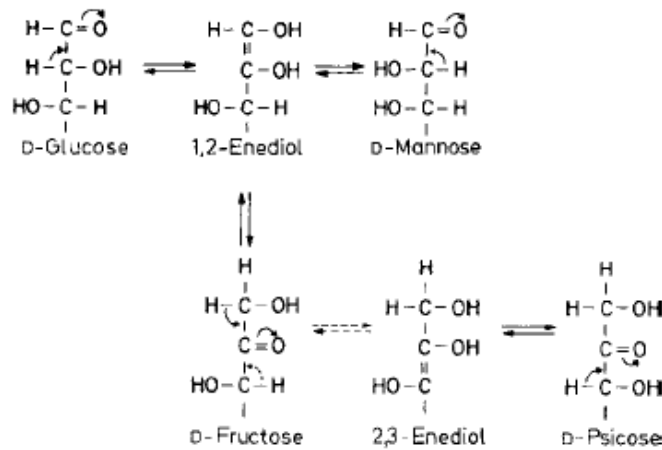


Figure 8. Early state of caramelization of glucose as the first step towards the formation α -dicarbonyl intermediates (Belitz et al., 2009)

3-deoxyosone is one of the key intermediates in the Maillard reactions and caramelization (Weenen et al., 1992). 3-deoxyosone (3-deoxyglucosone, 3-deoxy-D-*erythro*-hexos-2-ulose, or 3-deoxyhexosulose) is formed by water elimination from 1,2-enediol. A further water elimination from 3-deoxyosone leads to the formation of 3,4-dideoxyosone (3,4-dideoxyglucosone, 3,4-dideoxy-D-*glycero*-hex-2-enos-2-ulose). This spontaneous conversion from 3-deoxyosone to 3,4-dideoxyosone can be considered rather slow. Edwards et al., 1992, studied the reactions kinetics of 3-deoxyosone with sulphite, mercaptoethanol and glutathione. They found 3-deoxyosone dehydration to be a rate-determining step. In aqueous environments, the formation of 3,4-dideoxyosone from 3-deoxyosone is reversible.

1-deoxyosone (1-deoxyglucosone, 1-deoxy-D-*erythro*-hexo-2,3-diulose) is formed by water elimination from 2,3-enediol in the same manner as for 3-deoxyosone. 1-deoxyosone is the key reactive intermediate in the formation of a large number of other reactive intermediates and aroma compounds (Voigt et al., 2009) but also a promising antioxidant (Kanzler et al., 2014).

The Figure 9 summarized various steps in sugar degradation to form 1-deoxyosone and 3-deoxyosone.

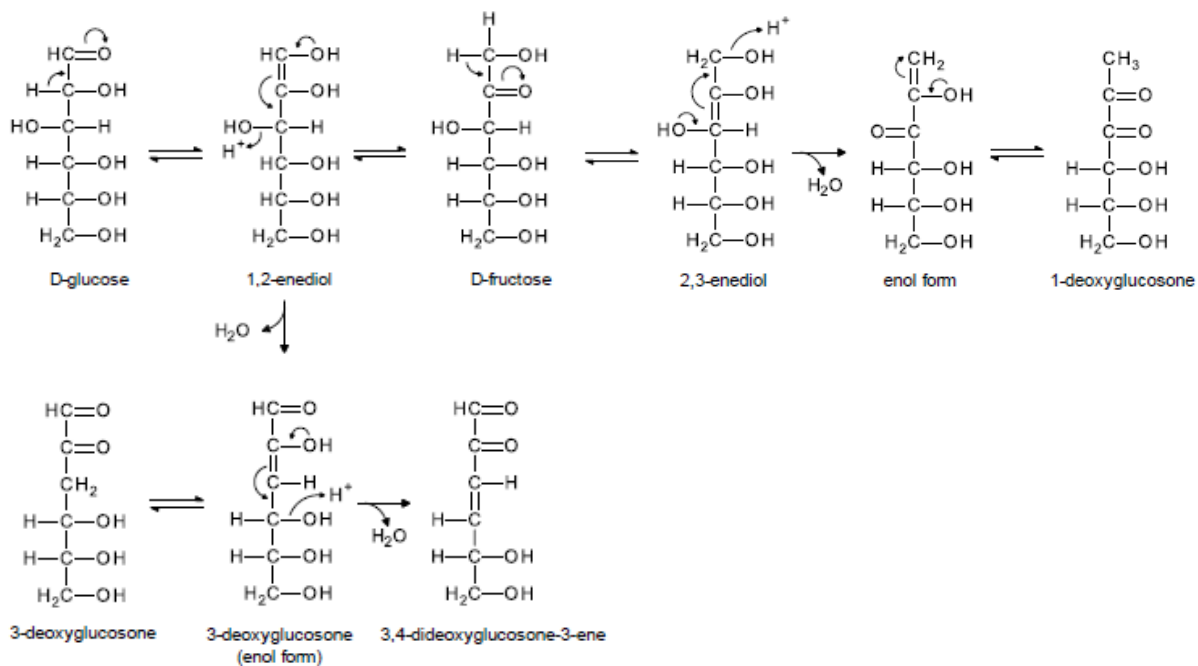


Figure 9. Formation of 1-deoxyosone and 3-deoxyosone from sugar degradation without amino compounds (Kocadağlı, 2016 adapted from Belitz et al., 2009)

Oxidation of 1,2-enediol yields glucosone (D-arabino-hexos-2-ulose) in the presence of oxygen or other oxidising agents such as Cu^{2+} (Belitz et al., 2009; Hellwig et al., 2018) (Figure 10).

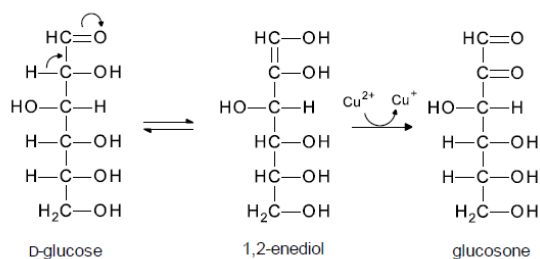


Figure 10. Glucosone formation from glucose in caramelization (Kocadağlı, 2016 adapted from Belitz et al., 2009)

1.2.2.1 Formation of reactive long-chain α -dicarbonyl compounds through enaminols in the presence of amino compounds

3-deoxyosone and 1-deoxyosone are also formed by degradation of Amadori product with the release of amino acids (Martins et al., 2003 a) during the intermediate stage of the Maillard reaction (Figure 11). More specifically, these reactions take place *via* enaminols which are the analogues of enediols in formation of α -dicarbonyl compounds. Typically, analogous to the

corresponding 1,2-enediol, 1,2-eneaminol undergoes water elimination and releases the amino compound to form 3-deoxyosone. In the same manner, 2,3-eneaminol forms 1-deoxyosone. These reaction pathways follow the initial stage of the Maillard reaction which include Amadori rearrangement.

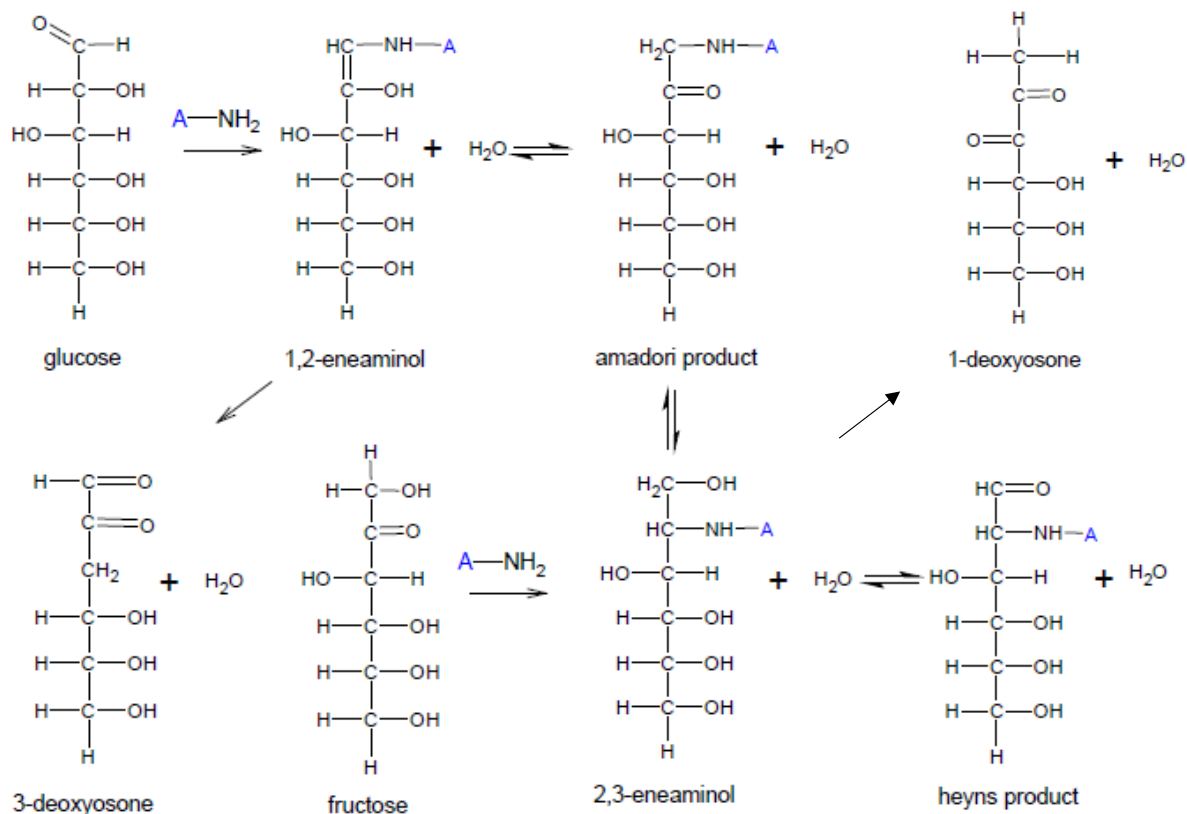


Figure 11. Formation of 3-deoxyosone and 1-deoxyosone through the early stage of the Maillard reaction from glucose (adapted from Belitz et al., 2009)

Glucosone can be formed by the oxidation of the Amadori product by transition metal ions followed by hydrolysis and release of the amino acid. The reaction is detailed in Figure 12.

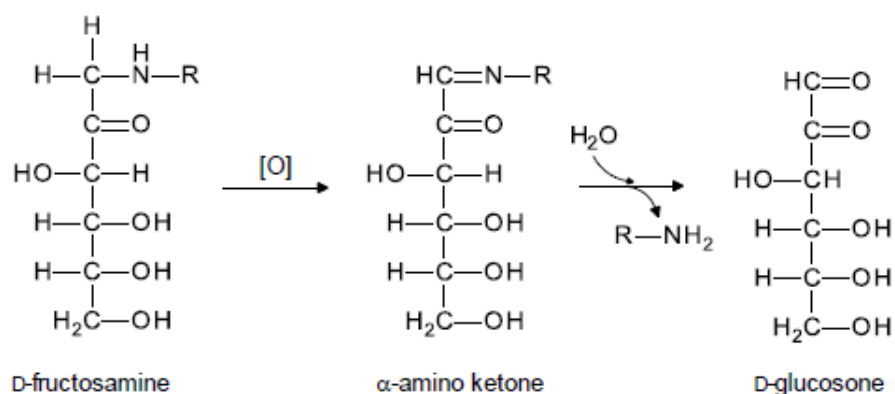


Figure 12. Formation of glucosone by oxidation of the Amadori product (Kocadağlı, 2016 adapted from Velišek, 2014)

1.2.2.2 Formation of reactive short chain α -dicarbonyl compounds

Fragmentation reactions of the aforementioned long chain α -dicarbonyl compounds can form shorter chain α -dicarbonyl compounds such as glyoxal, methylglyoxal and diacetyl. Indeed, 1-deoxyosone gives rise to shorter chain α -dicarbonyl compounds and hydroxycarbonyls including methylglyoxal, monohydroxyacetone, glyceraldehyde (Voigt et al., 2009). Much less reactive than 1-deoxyosone, 3-deoxyosone can also lead to the formation of α -dicarbonyl compounds such as glyoxal (ethanedial), methylglyoxal (2-oxopropanal), diacetyl (butane-2,3-dione) and 2,3-pentanedione (Nursten, 2005).

Glyoxal can be formed by oxidation of glycolaldehyde which is an oxidative fission product of 1-deoxyosone (Nursten, 2005) (Figure 13). The scission of the C2-C3 bond of glucosone was also suggested as a possible pathway of formation of glyoxal (Hofmann et al., 1999) (Figure 14). This hypothesis was verified by Jenny et al., 2009, using isotope labelling technique but with an observation that the yield was very low. Glyoxal originated from either C1-C2 (49%) or C5-C6 (31%) fragments of glucose with the remaining 20% attributed to C2-C5 region. Yaylayan et al., 2000, suggested that dehydrations of glucose followed by retro-aldol cleavage can yield both glyoxal and diacetyl. Their analysis showed that glyoxal came from either C1-C2-C3 or C4-C5-C6 fragments of glucose. It is thus fair to assume that glucose can also yield glyoxal without the formation of glucosone.

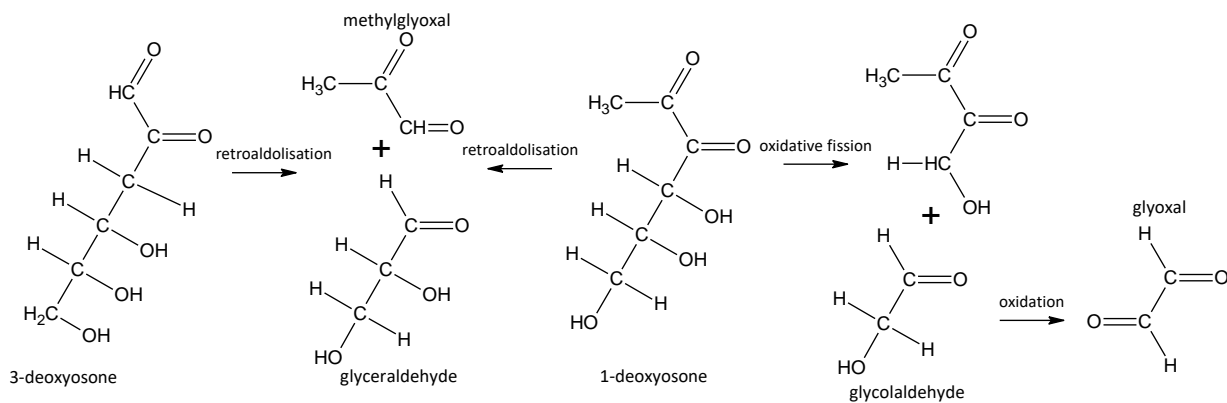


Figure 13. Formation of glyoxal and methylglyoxal from 3-deoxyosone and 1-deoxyosone (adapted from Nursten, 2005)

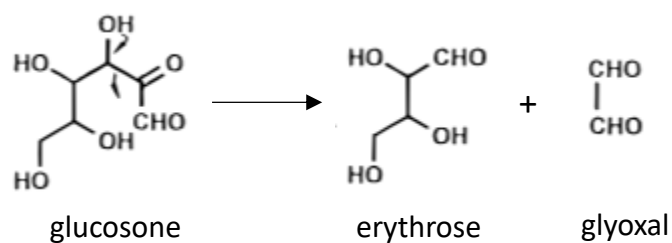


Figure 14. Formation of glyoxal from glucosone (adapted from Hofmann et al., 1999)

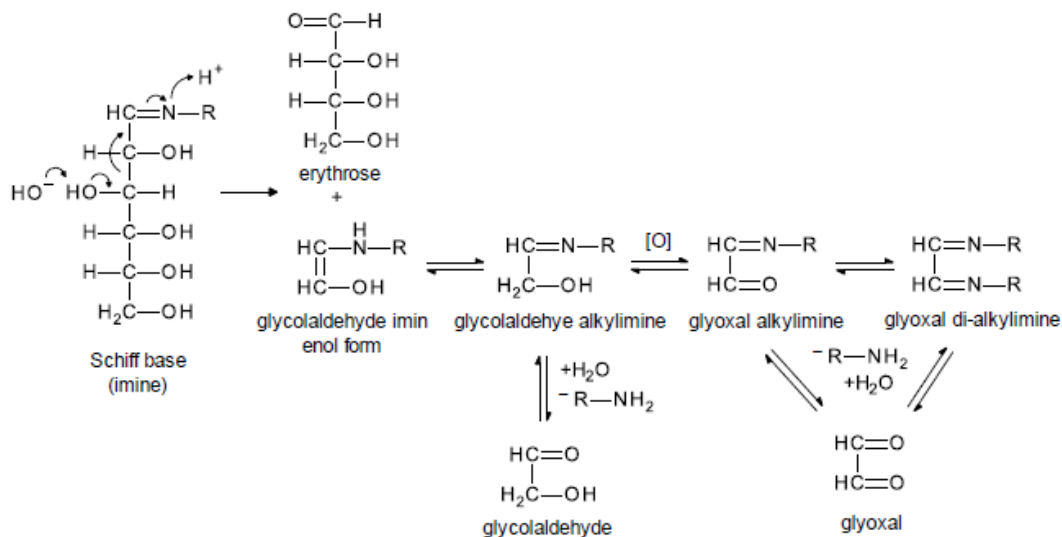


Figure 15. Formation of glyoxal by oxidation from Schiff's base through the Maillard reaction (Kocadağlı, 2016 adapted from Namiki et al., 1975; Hayashi et al., 1980, 1981)

It was suggested that glyoxal could also be formed from a N-glycosylamine through various reactions during the intermediate stage of the Maillard reaction by Kocadağlı, 2016, based on early studies on the Maillard reaction conducted to unravel browning mechanisms (Namiki et al., 1975; Hayashi et al., 1980, 1981) (Figure 15). N-glycosylamine can undergo a retro-aldol reaction to generate D-erythrose and glycolaldehyde N-alkylimine. The latter can be oxidated to yield glyoxal alkylimine. In presence of an amino compound, this can form glyoxal dialkylimine. These two alkylimine intermediates can hydrolyze with the elimination of the amino compound to give rise to glyoxal. While the identification of intermediates from the Schiff's base to glyoxal alkylamine and glyoxal dialkylamine were conducted by hyperfine structure in analysis by ESR spectra, ^1H NMR, gas chromatography and also IR spectrum analysis, the hydrolysis of these latter to glyoxal was evidenced by detection of glyoxal by silica gel TLC. Whether the suggested mechanism really takes place is questionable especially since the constant rate for Amadori product degradation to glyoxal was estimated at $0.7 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ at 160°C , but 0 at 180°C and 200°C (Kocadağlı et al., 2016). Either this reaction was neglected in estimation of parameters or the model was incapable of predicting this constant rate. Therefore, the formation route of glyoxal from N-glycosylamine requires further studies.

In aqueous solutions, glyoxal is hydrated, thus, not very reactive (Rabbani et al., 2012). However, Kocadağlı et al., 2016, estimated a high rate constant for the reaction between glyoxal and amino acids in a low moisture heated glucose/wheat flour system. It was concluded that the non-hydrated form of glyoxal was much more present in low moisture systems, thus allowing glyoxal to be highly reactive.

Methylglyoxal can arise from both 1-deoxyosone (Belitz et al., 2009) and 3-deoxyosone (Weenen, 1998; Yaylayan et al., 2000) by retroaldolization which induces a cleavage of the C3-C4 bond (Figure 13). Jenny et al., 2009, pointed out the absence of oxidative mechanisms since the formation of methylglyoxal did not depend on oxygen in their glucose/lysine system. However, a small amount of methylglyoxal was formed from glucosone indicating that other formation pathways may exist. As a matter of fact, their isotope labelling study indicated that methylglyoxal originated 32% from C1-C3, 47% from C4-C6, and 21% from C2-C5 regions. Moreover, one should bear in mind that the contribution of different pathways may vary depending on reaction conditions such as temperature and the type of amino acid in the medium.

Methylglyoxal can be formed from a hexose without having long chain α -dicarbonyls as intermediates (Figure 16). In nonoxidative alkaline conditions, fructose can give rise to glyceraldehyde and dihydroxyacetone, which later easily undergoes water elimination to yield methylglyoxal by chain cleavage due to retroaldolization.

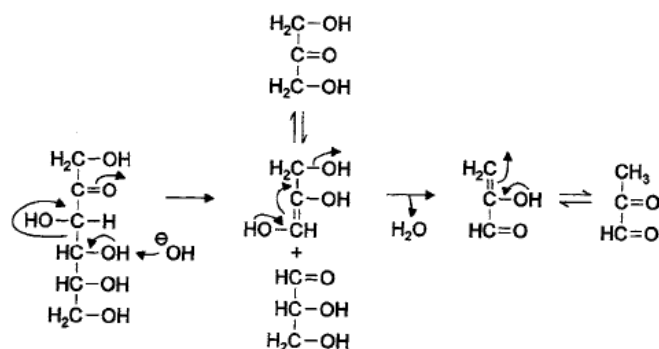


Figure 16. Formation of methylglyoxal from fructose (Belitz et al., 2009)

Diacetyl is a well-known buttery and popcorn-like flavor frequently found in many foods. Diacetyl has been suggested to be formed from 1-deoxyosone by water elimination and retroaldolization (Shibamoto, 2014). As mentioned, 1-deoxyosone can yield diacetyl at the same time as glyoxal by water elimination and retroaldolization (Figure 17). Diacetyl is known to be formed by hydrolysis of diacetylformoin which is a rearranged product of 1-deoxyosone (Nursten, 2005).

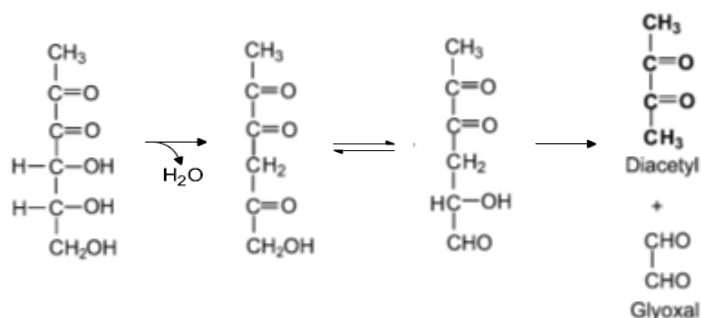


Figure 17. Formation of diacetyl from 1-deoxyosone (adapted from Shibamoto, 2014)

1.2.3 Acids

Acids are known as sugar fragmentation products (Nursten, 2005) and they can be degraded from deoxyosones. Acetic acid and formic acid are good markers for studying reactivity since they are formed from either 1-deoxyosone or 3-deoxyosone (Martins et al., 2003 b, 2005 a).

1.2.4 Pyrroles and pyridine derivatives

In the presence of higher concentrations of amino compounds such as ammonia, primary amines or amino acids, 3-deoxyosone preferentially gives rise to 2-formyl-5-hydroxymethylpyrrole (Figure 18) or the corresponding pyridine derivatives (Figure 19) rather than to 5-HMF, *via* 3,4-dideoxyosone (Belitz et al., 2009).

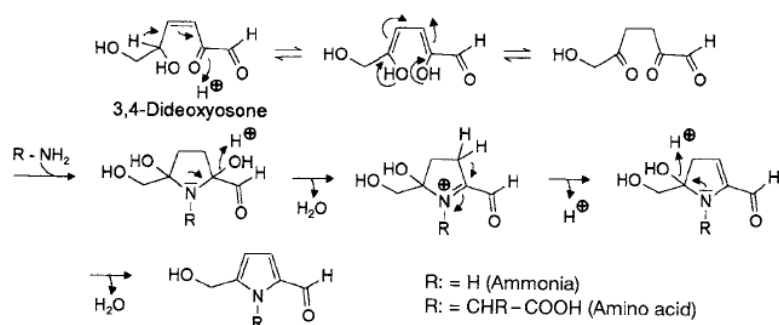


Figure 18. Formation of 2-formyl-5 hydroxymethylpyrrole from 3,4-dideoxyosone (Belitz et al., 2009)

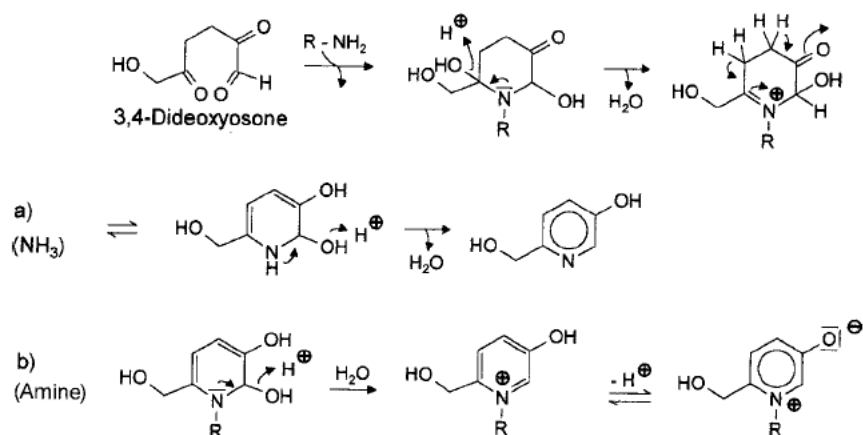


Figure 19. Formation of pyridine derivatives from 3,4-dideoxyosone (Belitz et al., 2009)

1.2.5 3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one (DMDP)

3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one (or also 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) is an indicator of 2,3-enolization pathway since it is formed from 1-deoxyosone (Davidek et al., 2003) (Figure 20). It can be converted into maltol, hydroxymaltol, and isomaltol (Yaylayan et al., 1994).

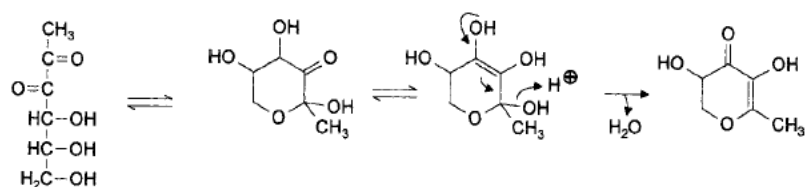


Figure 20. Formation of 3,5-dihydroxy-2-methyl-5,6-dihydropyran-4-one from 1-deoxyosone (Belitz et al., 2009)

1.2.6 Furanic compounds

This part deals with the recent findings on possible mechanisms for key furanic compounds. The heating of monosaccharides under acidic conditions leads to the formation of many furanic compounds through enolizations and dehydrations (Belitz et al., 2009) (Figure 21). For many years, it had been assumed that some furanic compounds such as 2,5-furandiadehyde, 5-methylfurfural and furfural were the thermal decomposition of the initially formed 5-HMF (Kroh, 1994). However, neither this reaction is the only possibility for the formation of 2,5-furandiadehyde, 5-methylfurfural and furfural from sugars nor it explains, alone, the mechanisms of the formation of all furanic compounds.

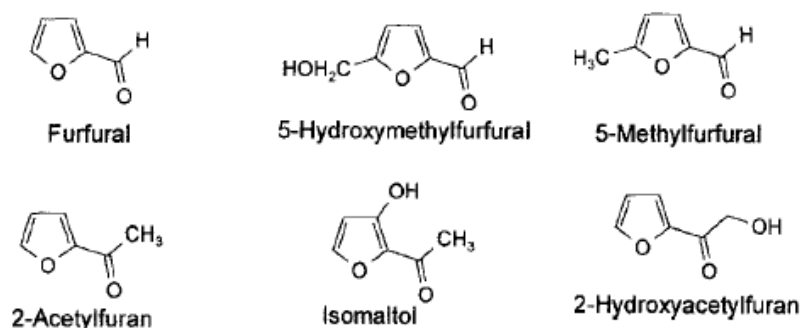


Figure 21. Furanic compounds formed during caramelization (Belitz et al., 2009)

1.2.6.1 5-HMF and furfural

5-HMF is widely used to monitor the intermediate stage of the Maillard reaction (Rufián-Henares et al., 2008) but also caramelization. It is often used as an indicator of thermal treatment of foods (Belitz et al., 2009). The water elimination over the hemiacetal structure of 3,4-dideoxyosone gives rise to 5-HMF (Figure 22). The formation pathway of 5-HMF from water elimination of 3,4-dideoxyosone is a well-established fact for a long time. For instance, it dates back to 1964, when Anet, 1964, synthesized 3-deoxyosone from difructoseglycine and studied its conversation

to 5-HMF. According to Kocadağlı et al., 2016, 5-HMF formation from 3,4-dideoxyosone is faster compared to the formation of 3,4-deoxyosone from 3-deoxyglucosone which is the rate determining step for 5-HMF formation *via* 3-deoxyglucosone pathway in a low moisture heated glucose/wheat flour system.

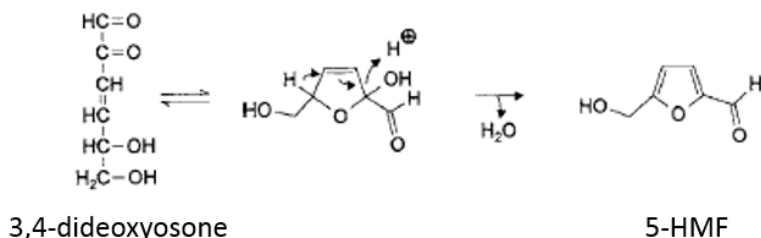


Figure 22. Formation of 5-HMF from 3,4-dideoxyosone during caramelization (adapted from Belitz et al., 2009)

There have been discussions whether 5-HMF could be formed *via* another intermediate than 3-deoxyosone. A very reactive intermediate, fructofuranosyl cation can be formed from glucose (Antal et al., 1990) or from fructose which is less likely to occur in dry heating systems (Perez Locas et al., 2008). This cation could easily dehydrate to form 5-HMF because of its cyclic form or react with amines to form fructofuranosyl amine, which could rearrange to form Heyns product in dry system (Perez Locas et al., 2008). Göncüoğlu Taş et al., 2017, found that the contribution of 5-HMF formation through the dehydration of fructofuranosyl cation was predominant compared to the pathway through 3-deoxyosone by multiresponse kinetic modelling. However, the study was conducted during roasting of hazelnut meaning that the system contained a very large number and type of precursors. Moreover, the proposed model of the Maillard reaction and caramelization did not include the formation of fructofuranosyl cation from fructose since the rate constant was found to be zero and fructofuranosyl cation was not quantified. Thus, further studies are needed to elucidate whether the pathway *via* fructofuranosyl cation is truly favoured.

In the same manner as 5-HMF, furfural can be generated from pentoses and 5-methylfurfural from rhamnose through water elimination and cyclization (Belitz et al., 2009). However, the direct formation of furfural from glucose has also been reported (Yaylayan et al., 2000; Srivastava et al., 2018).

The possibility of the thermal decomposition of 5-HMF to furfural was first reported by Schrodter in 1992. According to Kroh, 1994, it was suggested that furfural was a thermodynamically stable degradation product of 5-HMF. However, Nikolov et al., 2011, conducted thermal decomposition of 5-HMF and found only trace amount of furfural. Moreover, Hu et al., 2018, questioned this theory and proposed several mechanisms regarding the formation of 5-HMF and furfural by studying the pyrolysis of glucose and mannose at 500°C and using density functional theory calculations.

According to the authors, Paths A3 and B1 (red and pink, Figure 23) involving fructose and 3-deoxyosone as intermediates are the main pathways leading to 5-HMF formation from glucose. Starting from a hexose such as glucose, the formation of furfural requires not only the transformation of glucose to fructose but also the removal of a carbon containing group. Paths E4 and E5 (green and brown, Figure 23), with fructose and 3-deoxyosone as intermediates, respectively were concluded to be the most favored formation pathways of furfural. This study also found that fructose and 3-deoxyosone were more likely to form 5-HMF and furfural.

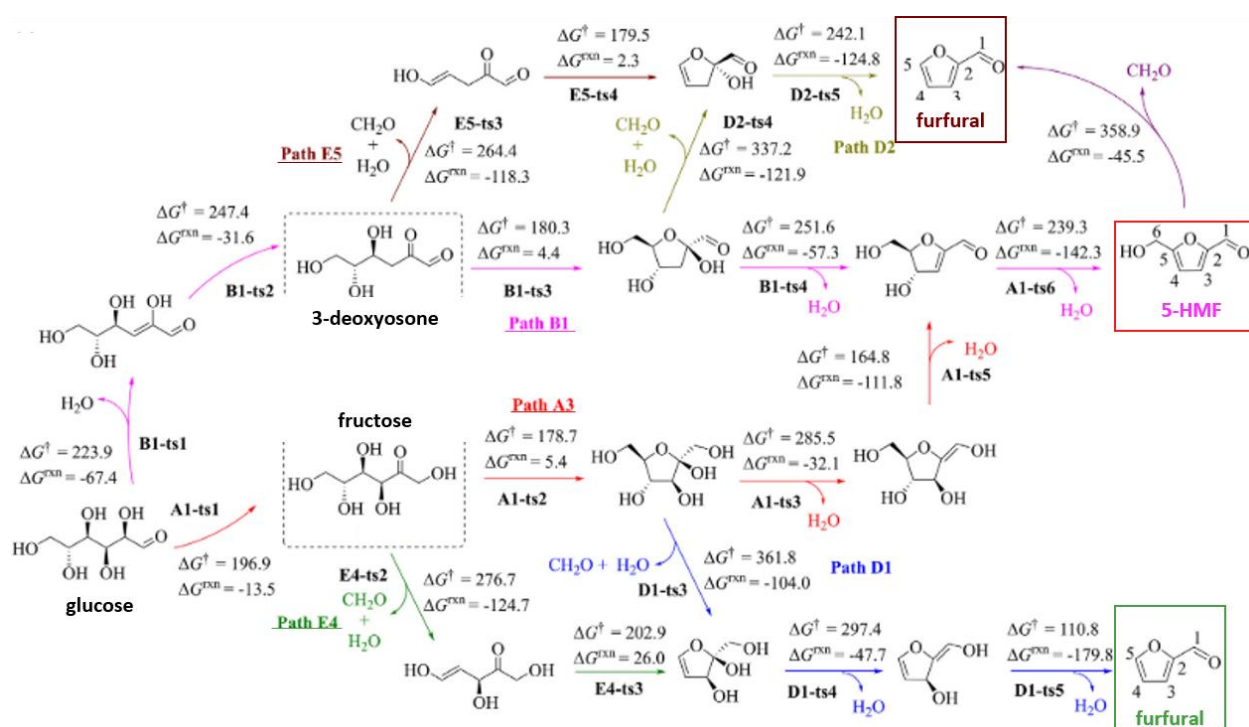


Figure 23. Favored formation pathways of 5-HMF and furfural from glucose (Hu et al., 2018)

1.2.6.2 2-hydroxyacetylfuran and 2-acetylfuran

2-hydroxyacetylfuran is preferentially formed from fructose. Its generation from 2,3-enediol by water elimination at C-4 and C-5 is explained in Figure 24.

2-acetylfuran has a light yellow to orange color and a smokey and roasty odor (Luning et al., 1991; Zehentbauer et al., 1998; Poinot et al., 2007, 2008; Paraskevopoulou et al., 2012). Yaylayan et al., 2000, showed that 2-acetylfuran contained intact C6 glucose atoms and deduced from their isotope labelling study that it was formed *via* 1-deoxyosone (Figure 25).

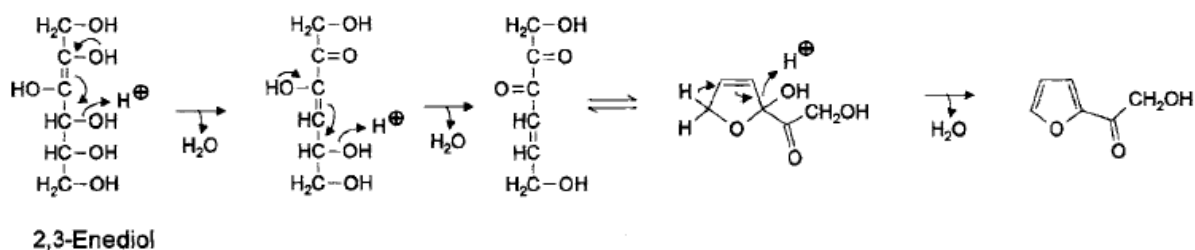


Figure 24. Formation of 2-hydroxyacetylfuran from 2,3-enediol (Belitz et al., 2009)

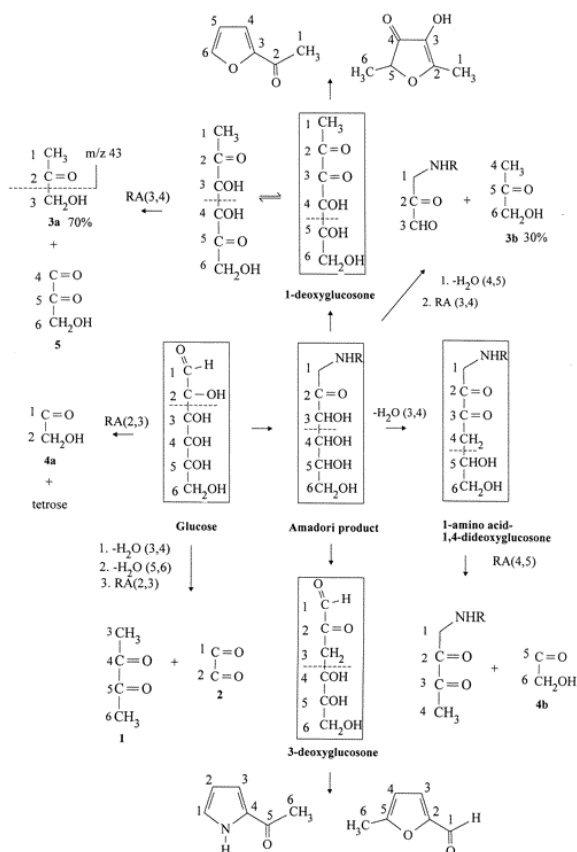


Figure 25. Formation of 5-methylfurfural, 2-acetylpyrrole, 2-acetylfuran and other furanic compounds formed in D-[¹³C] glucose/L-alanine model system (adapted from Yaylayan et al., 2000)

1.2.6.3 5-methylfurfural and 2,5-furandicarboxaldehyde

Nikolov et al., 2011, studied the direct thermal decomposition of 5-HMF for 20 s at a temperature of 250°C, using different concentrations in silica gel by pyrolysis-GC-MS. It was concluded that the pyrolysis of 5-HMF generated three degradation compounds corresponding to 5-methylfurfural, 2,5-furandicarboxaldehyde and a major unknown one. Also, in the absence of amino acids, 5-HMF could firstly dimerize and then degrade to 5-methylfurfural and 2,5-furandicarboxaldehyde. The results confirmed that 5-methylfurfural and 2,5-furandicarboxaldehyde were thermal degradation products of 5-HMF as it was previously suggested. As a matter of fact, Sanders et al., 2003, reviews that Kato, 1967, found that 5-HMF could degrade to furfural and 5-methylfurfural at 400°C, together with a small amount of acetaldehyde, furan, propionaldehyde and other volatile compounds during cellulose pyrolysis, but the yield of 5-methylfurfural was so low that the secondary degradation of 5-HMF was concluded to be minimal.

1.2.6.4 Furfuryl alcohol

Furfuryl alcohol (2-furanmethanol) is a volatile compound with burnt, warm oil, mild odor (Poinot et al., 2008, 2010; Jensen et al., 2011). It is found in various foods including cereal-based food and roasted coffee (Pico et al., 2015; Albouchi et al., 2018). Very few hypotheses exist regarding its formation pathways in food. Wnorowski et al., 2000, proposed a reaction pathway by isotope labelling study during pyrolysis of D-[¹³C]glucose/glycine model systems: Amadori product gives rise to a pentose intermediate through retroaldolization, which can cyclize and form furfuryl alcohol.

According to another analysis of ¹³C-glucose label distribution conducted by Yaylayan et al., 2000, furfuryl alcohol could be formed from the intact C1–C5 or C2–C6 carbon skeleton of glucose. It was suggested that the oxidation at C1 and C6 positions of glucose would take place to generate both gluconic and glucuronic acid, followed by decarboxylation, to give rise to pentitol and aldopentose, respectively. Then, further dehydration and cyclization would lead to the formation of furfuryl alcohol (Figure 26). Moreover, glyceraldehyde was proposed to be an important intermediate by which furfuryl alcohol could be formed from both glucose and alanine. However, the exact mechanism could not be elucidated.

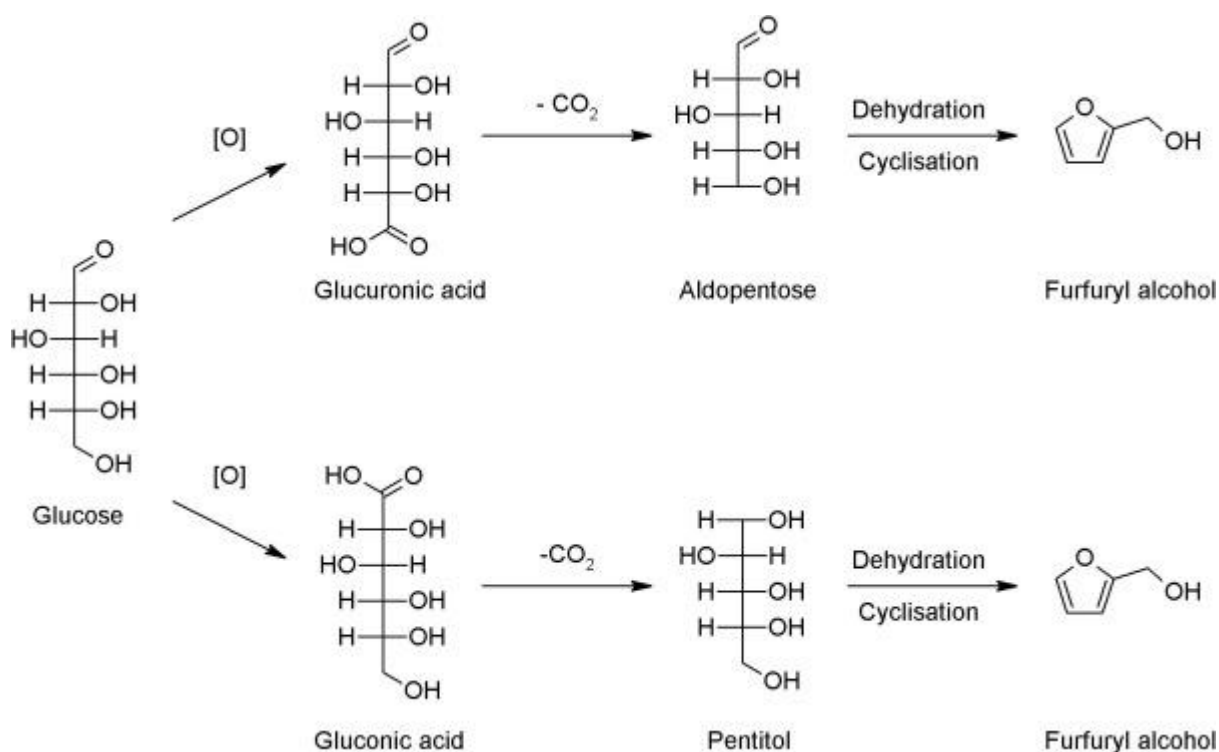


Figure 26. Possible furfuryl alcohol formation pathways from glucose during pyrolysis (Albouchi et al., 2018 adapted from Yaylayan et al., 2000)

In terms of chemical structure, furfuryl alcohol is a reduced form of furfural. The formation of furfuryl alcohol from direct reduction of furfural is worth considering as a new reaction pathway since both these compounds are formed in same conditions with the same precursors or ingredients. In addition, very recently, Delatour et al., 2020, found out that the oxidation of furfuryl alcohol to furfural in heat treated food especially during coffee roasting was possible. In the same study, they examined the role of furfuryl alcohol and 2-furoic acid as precursors of the formation of furan and 2-methylfuran. Furan is also a key component. Its occurrence and formation in foods was recently well explained in Santonicola, 2016. While the results were not conclusive on exact mechanism, that found strong correlations between these molecules, suggesting that further studies are required.

1.2.7 Strecker aldehydes

The Strecker aldehyde is one of the products (besides CO_2 and α -aminocarbonyl) of the reaction between an α -dicarbonyl compound and an amino acid, called the Strecker degradation, which is comprised under the intermediate stage of the Maillard reaction. The most well-established mechanism starts with a nucleophilic addition of the amine group of the amino acid to one of the two carbonyl group of α -dicarbonyl compound forming an unstable hemiaminal. This hemiaminal

undergoes elimination of one molecule of water and irreversible decarboxylation. Another molecule of water is added to yield an unstable amino alcohol. Finally, it decomposes into a α -aminocarbonyl and a Strecker aldehyde (Ho et al., 2015). The Strecker aldehyde has one carbon less than the amino acid from whom it is derived. The Figure 27 shows an example of the Strecker degradation: the formation of acetaldehyde, a Strecker aldehyde formed with alanine as a precursor.

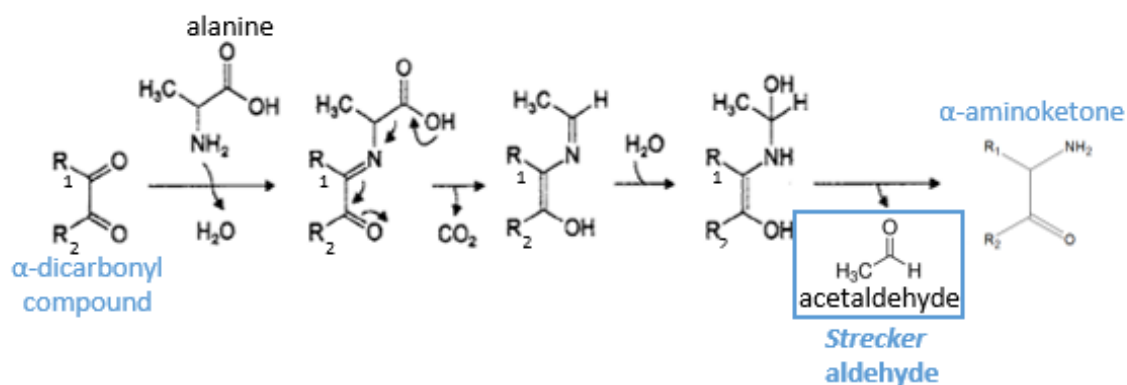


Figure 27. Formation of acetaldehyde, the Strecker aldehyde of alanine (adapted from Belitz et al., 2009)

For the formation of a Strecker aldehyde, the substituted groups on the α -dicarbonyl compound are not structure-determinant. Only the chemical structure of the amino acid determines the nature of the Strecker aldehyde. Thereby, every amino acid has its corresponding Strecker aldehyde (Figure 28). Generally, Strecker aldehydes are volatile and odor-active (Belitz et al., 2009). According to Pointot et al., 2008; Pico et al., 2015; Huault et al., 2016, 3-methylbutanal from leucine has malty, chocolate, roasty and cucumber-like odors and it is one of the key odor compounds in sponge cake (Rega et al., 2009), 2-methylbutanal from isoleucine has almond, coca, fermented, hazelnut and malty note. Formaldehyde has pungent odour. Methional smells like boiled or cooked potato.

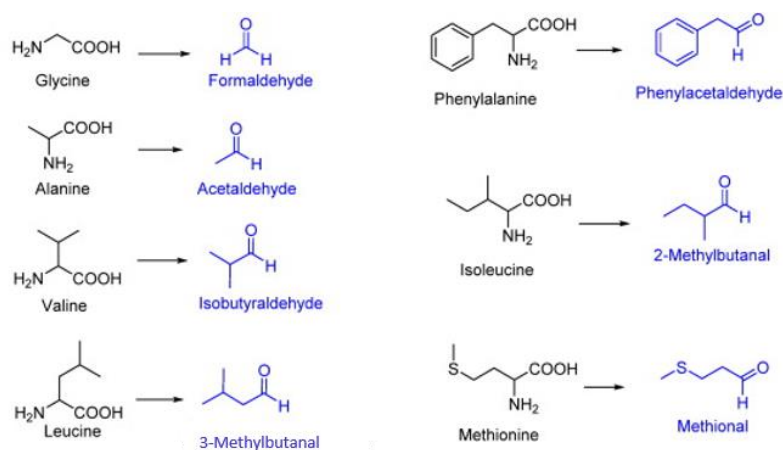


Figure 28. Amino acids and their corresponding Strecker aldehyde (Ho et al., 2015)

In addition, Amadori products can give rise to Strecker aldehydes either by reacting with amino acids *via* the Strecker degradation since they have an electropositive carbon or by being oxidized by metal ions (Hofmann et al., 2000; Rainer Cremer et al., 2000; Yaylayan, 2003; Rizzi, 2008).

1.2.8 Pyrazines

Pyrazine and other substituted pyrazines, generally called altogether as pyrazines for simplification, are well-known heterocyclic volatile compounds (Poinot et al., 2008; Paraskevopoulou et al., 2012; Cepeda-Vázquez et al., 2018). Their occurrence in bakery products is widely observed. The Tableau 1 summarized all substituted pyrazines having particular odor found in bread.

Tableau 1. Pyrazines with their odor descriptors reported in literature on wheat bread (adapted from Pico et al., 2015)

Compound	Compartment	Odour description
3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	Crust	Baked potato-like, earthy
2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine	Crumb, crust	Earthy
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazine	Crumb, crust	Earthy
2,3,5-Trimethylpyrazine	Crust	Potato-like, earthy
Acetylpyrazine	Crust	Biscuit, cracker-like, crust-like, sweet, roasted
2-Methylpyrazine	Crumb, crust	Roasted, burnt, sweet
Pyrazine	Crust	Roasted

2-Ethylpyrazine	Crumb, crust	Popcorn, nutty
2-Ethyl-3-methylpyrazine	Crumb, crust	Nutty, roasted, sweet
2,5-Dimethylpyrazine	Crust	Crust-like, popcorn
3-Ethyl-2-methylpyrazine	Crust	Roasted, burnt
3-Ethyl-2,6-dimethylpyrazine	Crust	Cooked potato
2,6-Dimethylpyrazine	Crust	Roasted
2-Ethyl-6-methylpyrazine	Crust	Nutty
2,3-Diethyl-5-methyl-pyrazine	Crumb, crust	Earthy
2-Ethyl-5-methylpyrazine	Crumb, crust	Baked
2,3-Dimethylpyrazine	Crumb, crust	Popcorn, roasted
5-Methyl-5H-cyclopenta-[b]-pyrazine	Crust	Roasted
2,6-Diethylpyrazine	Crust	Green, spicy
Vinylpyrazine	Crumb, crust	Boiled potato, earthy
2-Propylpyrazine	Crumb, crust	Green, nutty, roasted, hot milk
2-Methyl-3,5-diethylpyrazine	Crumb (traces), crust	Roasted, peanut butter
Diethylmethylpyrazine	Crust	Potato-like
2-Methoxy-3-isopropylpyrazine	Crumb	Earthy
2,3-Diethylpyrazine	Crust	Peanuts, roasted, earthy, coffee
2-Isobutyl-3-methylpyrazine	Crust	Caramellic
2-Isoamyl-6-methylpyrazine	Crust	Meaty
2-Methyl-6-propyl-pyrazine	Bread (crust/crumb not specified)	Burnt, butterscotch

Generally, the formation of pyrazine is correlated to the Strecker degradation, when α -aminocarbonyl compounds are formed. Two equivalents of these condense to form a dihydropyrazine which gives rise to a pyrazine by oxidation (Figure 29).

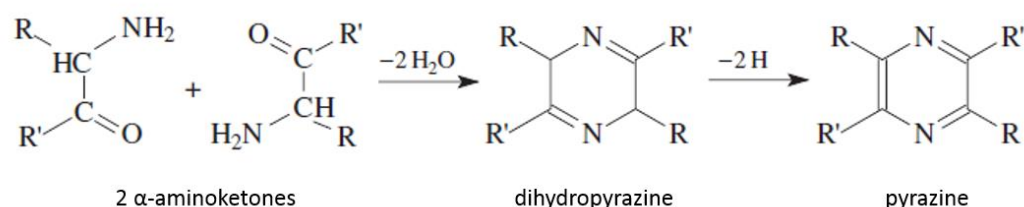


Figure 29. Formation of pyrazine via the Strecker degradation products (α -aminoketone)
(Nursten, 2005)

Shibamoto et al., 1977, suggested a mechanism that does not require oxidation from dihydropyrazine. Authors have found that the dehydration of hydroxy dihydropyrazine is more plausible, especially more reasonable for obtaining the alkyl group. Figure 30 shows an example following this proposed mechanism.

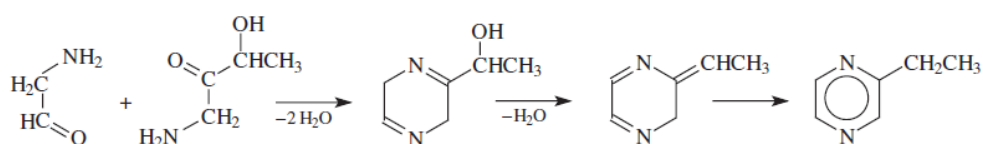


Figure 30. 2-ethylpyrazine formation without oxidation (Nursten, 2005)

It should be noted that, regardless of the last reaction pathways which lay out the formation of pyrazine from dihydropyrazine, the chemical structure of the substituted groups are pre-determined by the intermediates: α -aminocarbonyls. It is thus more important to figure out how these intermediates can be formed. In the case of the Strecker degradation, the functional groups of the α -dicarbonyl compounds remain intact in corresponding α -aminocarbonyl (Figure 27), thus in corresponding pyrazine as well (in case when two molecules of the same α -aminocarbonyl are used) (Figure 29). For example, methylglyoxal reacting with leucine gives rise to two α -aminocarbonyls of different structures, aminoacetaldehyde and aminoacetone (Figure 31). Since the aldehyde at C2 should be more reactive compared to the ketone structure at the C1, the former is presumably preferred over the latter. The reactivity of the C1 is lower due to the higher electron density through the electron-donating effect of second bound atom.

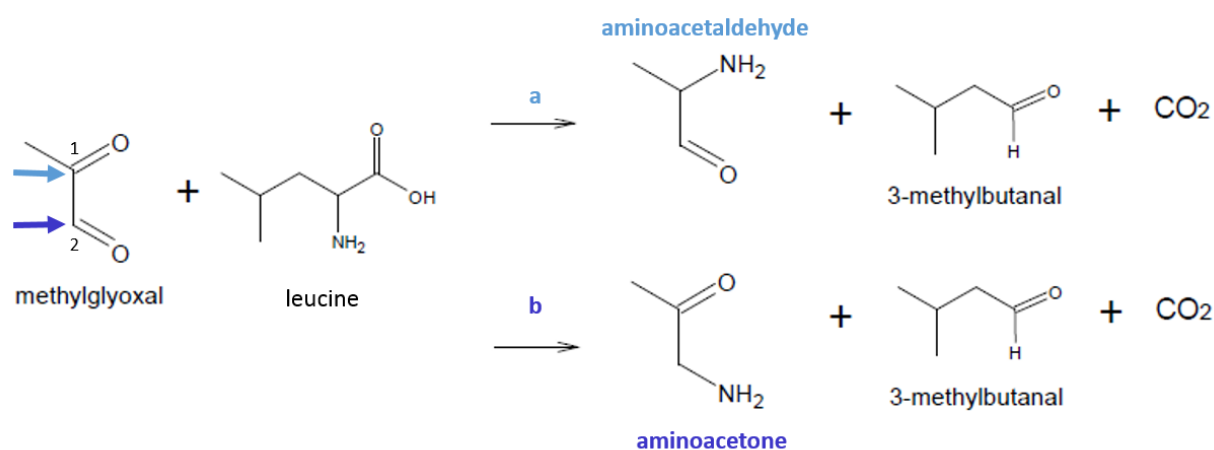


Figure 31. Mechanisms of the Strecker degradation: two possible mechanisms of a nucleophilic attack of leucine at the C1 (→) or C2 (→) of methylglyoxal

2,5-dimethylpyrazine comes from either 2 equivalents of aminoacetone or 2 equivalents of aminoacetaldehyde whereas 2,6-dimethylpyrazine comes from 1 equivalent of aminoacetone and 1 equivalent of aminoacetaldehyde (Figure 32). In this manner, glyoxal forms only pyrazine and no other substituted pyrazines. The same logic applies to any kind of α -dicarbonyl intermediates likely to participate in Strecker degradation (dealt with in previous parts), hence, leaving the possibility to form 2,3-dimethylpyrazine, 2,3,5-trimethylpyrazine, tetramethylpyrazine.

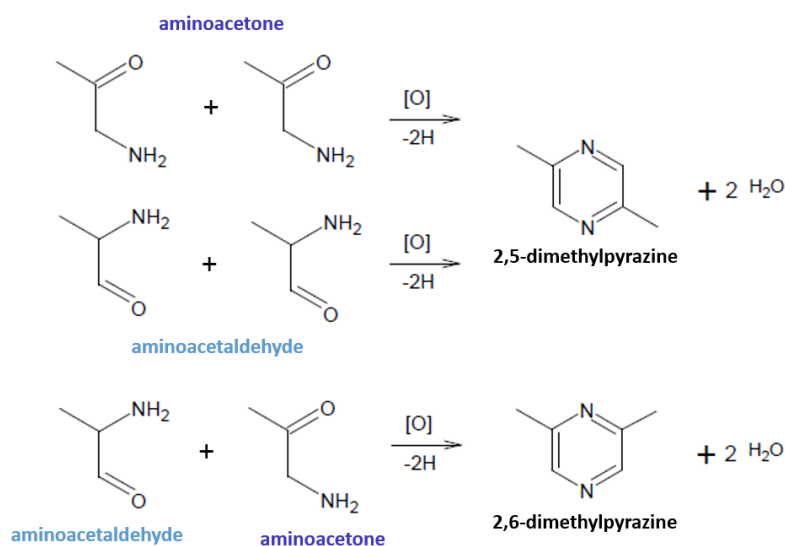


Figure 32. Formation of 2,5-dimethylpyrazine and 2,6-dimethylpyrazine from α -aminocarbonyl compounds formed during the Strecker degradation

However, Guerra et al., 2012, suggested that contrary to this theory, the amino acids could intervene directly in the formation of pyrazines leaving their carbon footprint in the structure of the functional groups of pyrazines. In a model system composed of [¹³C]glycine and diacetyl under pyrolytic conditions at 250°C, not only tetramethylpyrazine without any carbons of glycine was expectedly formed, but also some 2,3-dimethylpyrazine and 2,3,5-trimethylpyrazine were formed with ¹³C atoms from glycine. The authors tempted to explain these findings by proposing two distinct pathways: the first initiated through a double Schiff's base formation between α -dicarbonyl compounds and amino acids, the second initiated by α -aminocarbonyls formation followed by Schiff's base formation, following then a mechanism similar to the Strecker degradation. These findings are of particular interest as they prove that the formation of pyrazines can depend on the type and number of amino acids as well.

However, in a certain extent, these mechanisms cannot explain the formation of various functional groups on pyrazines, as in the case shown in Figure 30, for example. As a matter of fact, the Strecker degradation is not the only pathway forming the Strecker aldehyde and α -amino carbonyl compounds. Amadori rearrangement of a α -hydroxycarbonyl compounds with ammonia can give rise to α -aminocarbonyls as well (Shibamoto et al., 1977; Yaylayan et al., 2000).

1.2.9 Brown pigments

Brown pigments can be formed by both the Maillard reaction and caramelization. When they contain nitrogen atoms, they are called melanoidins. They have been studied as a way to determine the level of thermal processing extent (Purlis, 2010) but also for potential health-related properties including antioxidant and antimicrobial capacities (Morales et al., 2012). Their exact structures and formation pathways are not completely elucidated yet. However, melanoidins are commonly thought to come from heterocyclic ring systems including pyridines, pyrazines, pyrroles, and imidazoles (Nursten, 2005).

In caramelization, it is well known that 5-HMF can undergo browning reaction to form brown polymers. Moreover, the Strecker degradation products can contribute to the formation of brown polymers both in caramelization and the Maillard reaction. Strecker aldehydes can take part in aldol condensation leading to nitrogen-free polymers or they can react with amino compounds to give melanoidins *via* aldimines (Nursten, 2005). α -dicarbonyl compounds are also considered to be precursors of melanoidins by polymerization (Kroh et al., 2008). Tressl et al.,

1998 a, suggested that most melanoidins contained structural footprint of unsubstituted pyrroles and Strecker aldehydes.

1.3 Elaboration of a complete reaction scheme based on literature

Based on the literature previously presented, a complete reaction scheme which specifically starts from glucose and leucine as precursors is hereafter proposed (Figure 33). This reaction scheme contains key reaction markers and reaction pathways.

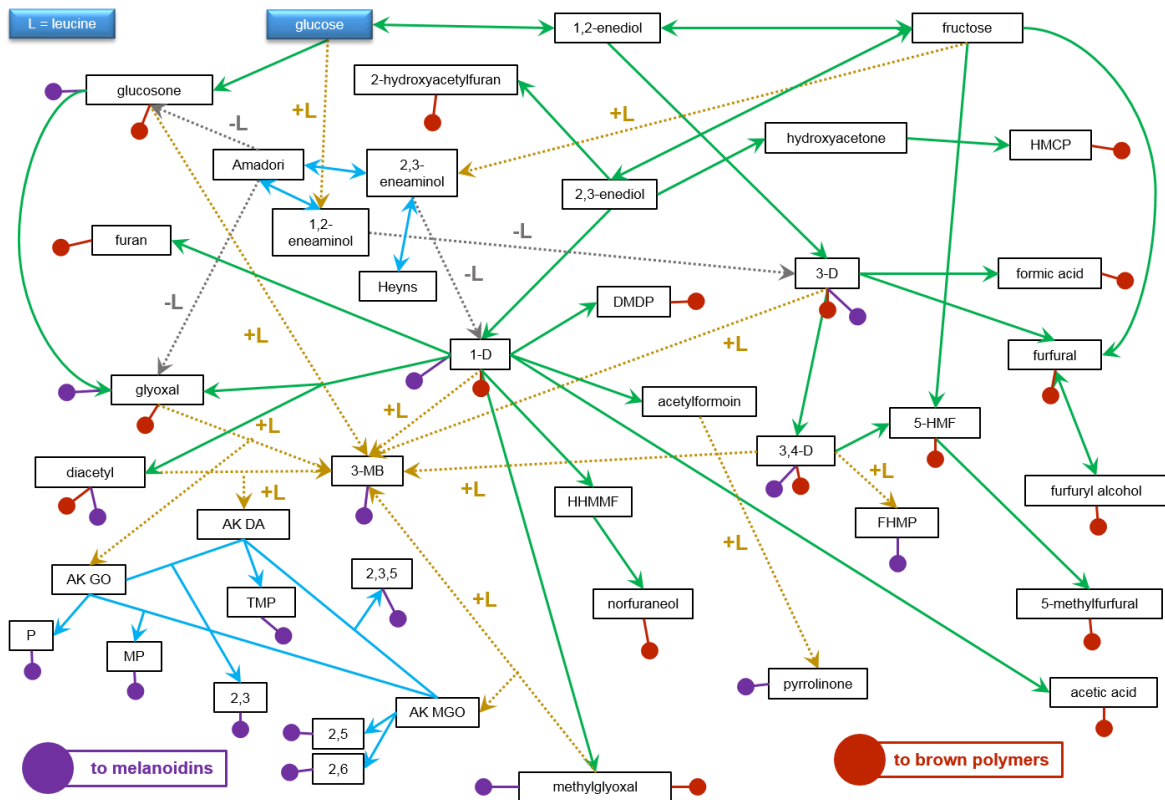


Figure 33. Reaction scheme with glucose and leucine as precursors (— for caramelization, --- for reactions with consumption of leucine, - - - for reactions with liberation of leucine, - for reactions without direct intervention of leucine but existing only because there was leucine in the system before)

2 - STRATÉGIE

2.1 Contexte et présentation de la méthodologie

Comprendre la réactivité pour pouvoir agir sur la qualité finale des produits alimentaires soumis à des traitements thermiques est un vrai défi qui doit permettre de proposer des outils pour la reformulation des couples formulation/procédé ou pour la conception de produits nouveaux. Les ingrédients traditionnellement utilisés pour fabriquer des produits céréaliers tels qu'un cake ou une génoise sont des sucres raffinés, de la farine, des œufs et de la matière grasse. Ces ingrédients contiennent de nombreux composés susceptibles de réagir et de se transformer au cours de la cuisson comme des sucres réducteurs, des acides aminés, des protéines, des peptides et des lipides. La structure moléculaire et les fonctions réactives de chacun de ces composés déterminent la quantité et la nature des produits néoformés, selon des voies réactionnelles plus ou moins spécifiques des réactions de Maillard, de la caramélisation et des réactions d'oxydations des lipides (Rega et al., 2009; Cepeda-Vázquez et al., 2018). Pour prédire l'avancement des différentes réactions au cours de la cuisson, il est donc nécessaire de connaître la composition exacte en composés réactifs contenus initialement dans le produit, de manière à savoir quelles voies réactionnelles sont activées. Ceci n'est pas chose aisée quand il s'agit d'ingrédients complexes tels que l'œuf ou la farine.

Ces réactions sont aussi fortement dépendantes des paramètres physiques comme la température et la teneur en eau. Or les produits céréaliers, contrairement aux produits alimentaires liquides (jus de fruit ou lait), développent au cours de la cuisson une structure solide alvéolée responsable d'une limitation de la mobilité des molécules réactives et de l'apparition de gradients de température et de teneur en eau. Cette hétérogénéité physique doit être prise en compte car la réactivité chimique, fortement liée aux niveaux de température et de dessiccation atteints, devient locale, ce qui se manifeste notamment par la distinction bien visible entre une croûte plutôt brune et sèche et la mie plutôt blanche d'un gâteau.

Cette thèse propose donc d'étudier la réactivité au sein d'un système modèle qui se structure et devient solide au cours d'un traitement thermique, en exploitant les potentialités offertes par un produit modèle à composition en réactifs parfaitement maîtrisée. Une approche de type « génie de la réaction », développée dans le cadre du projet ANR-06-PNRA-023 RéactiAI (Fehaili, 2010; Bertrand, 2011), a été appliquée pour disposer de données expérimentales synchrones des transferts de matière et de chaleur et des réactions, acquises dans des conditions mimant les conditions industrielles de fabrication.

Le produit modèle présente l'avantage de pouvoir limiter à façon les voies réactionnelles impliquées pour être en capacité de proposer un schéma réactionnel relativement complet et modélisable. Des marqueurs réactionnels sont sélectionnés en fonction de leur pouvoir de discrimination des différentes voies réactionnelles, mais également de leur capacité à être quantifiés au cours des cinétiques de cuisson. Ainsi doit pouvoir se construire un schéma réactionnel « observable », c'est-à-dire un schéma apparent suffisamment simplifié pour être identifiable à partir des informations disponibles, mais aussi suffisamment complet pour décrire au mieux la complexité d'un produit réel.

L'outil de cuisson quant à lui doit permettre d'acquérir, dans des conditions parfaitement uniformes et régulées, les données physiques qui serviront à décrire les gradients thermiques et de teneur en eau dans le produit au cours de la cuisson. Il doit également donner la possibilité de réaliser les prélèvements cinétiques d'échantillons en vue de l'analyse chimique des marqueurs sélectionnés.

La méthodologie peut se résumer dans le schéma suivant (Figure 34).

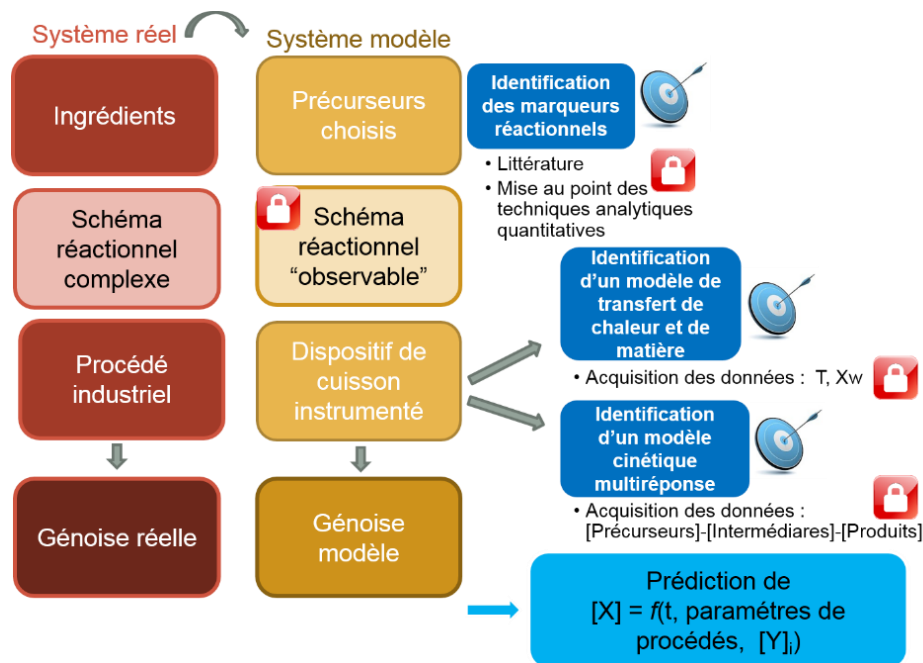


Figure 34. Processus de simplification du système réel en système modèle, appliqué à notre système d'étude, la génoise, avec les étapes méthodologiques et les verrous identifiés (Inspiré de Fehaili et al., 2008)

2.2 Adaptation de la méthodologie

2.2.1 Problématiques soulevées par des travaux antérieurs

Ce travail de thèse est en continuité de plusieurs travaux du laboratoire qui ont contribué à l'élaboration de cette méthodologie.

D'abord, Rega et al., 2009, ont identifié pour la première fois des marqueurs odorants et des marqueurs réactionnels au cours de la cuisson d'une génoise par SPME dynamique couplée à un four ménager. Des travaux ultérieurs, toujours sur génoise réelle, ont permis d'explorer comment différentes classes d'ingrédients modifient la génération des composés néoformés volatils liés à la qualité du fait de leur composition en précurseurs réactifs, et de formuler des hypothèses sur un schéma réactionnel incluant la réaction de Maillard, la caramélisation, l'oxydation des lipides et la dégradation de Strecker (Maire et al., 2013; Cepeda-Vázquez et al., 2018).

Dans le cadre du projet ANR RéactiAI, la thèse de Fehaili, 2010, a permis de développer un four convectif pilote discontinu qui permet d'effectuer des cuissons uniformes et répétables en termes de flux de chaleur. Ce pilote est conçu pour permettre l'extraction des vapeurs pendant la cuisson, mais permet en même temps l'échantillonnage, sans perturbation, de produits cuits (Fehaili et al., 2010). Il permet d'avoir accès à des données cinétiques de marqueurs volatils (dosés dans les vapeurs par échantillonnage et GC-MS) et de marqueurs non volatils dosés sur les échantillons prélevés au cours de la cuisson. Un travail réalisé dans le cadre du projet ANR (Pénicaud et al., 2010) a également donné lieu à un essai de modélisation des cinétiques réactionnelles. Néanmoins, l'identification des voies réactionnelles a été limitée à cause de la disproportion entre le nombre et les quantités de précurseurs susceptibles de réagir et le nombre trop limité de marqueurs réactionnels dosés. Typiquement, les œufs et la farine contiennent différents types d'acides aminés et le dosage global des NH_2 libres ne permettait pas de les discriminer. De plus, le dosage par SPME-GC-MS a seulement permis d'avoir accès à une semi-quantification des composés volatils, avec des quantités de composés exprimées en aires de pics et non en quantités absolues, ce qui a représenté une limitation pour la modélisation des cinétiques qui nécessite de pouvoir exprimer des concentrations dans le produit. Finalement, en l'absence de dosage d'intermédiaires spécifiques à la réaction de Maillard tels que les composés dicarbonylés, le nombre restreint de marqueurs suivis a permis l'obtention d'un schéma

réactionnel observable limité, présentant uniquement des voies parallèles ne permettant pas de différencier la réaction de Maillard de la caramélisation (tous les précurseurs étant en commun).

Avec la thèse de Bousquière, 2017, le laboratoire s'est doté d'un produit modèle mimétique d'une génoise, qui est non réactif vis à vis des réactions de Maillard et de caramélisation car il ne contient aucun ingrédient/précurseur réactif (Bousquière et al., 2017 a). Les œufs, la farine, le sucre et les matières grasses ont été complètement supprimés au profit d'agents de texture supposés inertes vis-à-vis des réactions thermiques. Ainsi, ce produit modèle est préparé en respectant les mêmes étapes de préparation que celles d'une vraie génoise, avec des étapes de mélange, de foisonnement et de cuisson et le produit cuit a une structure alvéolée comparable à celle de la génoise (Bousquière et al., 2017 b). Sa non réactivité a été partiellement testée lors d'une analyse de la composition des génoises en composés furaniques par HS-Trap/GC-MS et de la couleur (Srivastava et al., 2018).

Ce produit modèle a été conçu pour laisser la possibilité de choisir les précurseurs spécifiques à étudier, qui pourront être introduits en quantité maîtrisée dans la pâte avant cuisson. Ainsi, Srivastava et al., 2018, ont quantifié par une méthode de dosage en HS-Trap/GC-MS les teneurs de furfural et furane générés dans ces produits modèles supplémentés en glucose ou glucose + leucine à différents temps de cuisson. Cette étude a permis d'explorer l'utilité du produit modèle pour aller plus loin dans la démarche précédemment présentée pour étudier la génération de composés furaniques dans un produit solide jusqu'à obtenir un premier modèle cinétique très simple à 6 réactions. Cette étude a notamment bien prouvé qu'il était possible de maîtriser la quantité et le type de précurseurs pour pouvoir induire et étudier à la fois la caramélisation seule ou la caramélisation liée aux réactions de Maillard. Cependant, le nombre réduit de marqueurs suivis n'était pas adapté pour l'écriture d'un schéma réactionnel exhaustif et représentatif de toutes les réactions en jeu. De plus, ces travaux n'ont pas pris en compte les évolutions et les hétérogénéités de température et de teneurs en eau dans le produit.

2.2.2 Choix des précurseurs et des conditions opératoires

Après avoir vérifié préalablement la totale absence de précurseurs et de produits des réactions de Maillard et de caramélisation dans la matrice du produit modèle (Article 1), nous avons choisi de rajouter 1 (glucose) ou 2 précurseurs (glucose et leucine) afin de déclencher de manière ciblée les réactions thermiques avec la cuisson. Le D-glucose est un aldose capable de se dégrader thermiquement par caramélisation. Ce monosaccharide réducteur est également susceptible de

rentrer dans les réactions de Maillard en présence de groupements aminés libres dans le milieu. Le glucose est présent en quantité non négligeable dans les ingrédients traditionnellement utilisés pour les produits céréaliers (sirop de glucose). De ce fait, de nombreuses études utilisent ce sucre, ce qui permet de disposer de résultats permettant de faire des hypothèses sur les voies réactionnelles et de confronter les résultats cinétiques obtenus à la littérature. De plus, le glucose peut s'isomériser en fructose, ce qui permet d'inclure les voies réactionnelles correspondantes.

La L-leucine fait partie des 8 acides aminés dits essentiels ou indispensables. Par définition, ils ne peuvent pas être synthétisés lors du métabolisme par l'organisme ou sont synthétisés à une vitesse insuffisante, et ils doivent donc obligatoirement être apportés par l'alimentation. La leucine, grâce à sa fonction amine libre, peut rentrer dans les réactions de Maillard. En particulier, elle est le précurseur spécifique du 3-méthylbutanal, un aldéhyde qui se forme en quantité non négligeable dans la génoise *via* la dégradation de Strecker. C'est un composé odorant clé de la génoise avec des notes chocolatées, trouvé aussi dans d'autres produits céréaliers. De ce fait, beaucoup d'études ont été réalisées sur ce composé, notamment pour connaître l'influence des paramètres de formulation et de procédé sur sa génération dans des produits céréaliers (Cepeda-Vázquez et al., 2018; Saa et al., 2019; Starowicz et al., 2019). C'est donc un composé aminé intéressant pour induire les réactions de Maillard et les étudier.

Les conditions opératoires ont été choisies de manière à étudier l'effet des paramètres physiques de cuisson sur la réactivité. En effet, la génération des composés néoformés par les réactions de Maillard et de caramélisation est fortement dépendante de la température (Renn et al., 1997; Hidalgo et al., 1999). Trois niveaux de température de consigne (140, 170, 200°C) ont été appliqués afin de couvrir une gamme assez large englobant les températures classiques de cuisson et permettant d'induire des gradients de température très différents au sein des produits. De plus, deux niveaux de convection pour chacune des températures de consigne sont appliqués afin d'étudier l'influence du séchage de la surface du produit sur le développement réactionnel. Les réactions de Maillard sont connues être favorisées à basse humidité (Ames et al., 2001) et l'hétérogénéité de la disponibilité en eau au sein du produit peut impacter l'avancement réactionnel local (Sablani et al., 1998).

2.2.3 Démarche détaillée du travail de thèse et structuration du manuscrit

Ce travail de thèse cherche donc à lever les verrous encore existant de manière à se doter d'outils pour identifier un modèle stœchiocinétique multi-réponses couplé avec un modèle de transfert de chaleur et de matière (Figure 34).

La première étape a consisté à élaborer un schéma réactionnel à partir de l'état de l'art et de l'application de connaissances en chimie organique, adapté à un système modèle constitué de seulement 1 ou 2 précurseurs réactifs (glucose ; glucose et leucine) (Chapitre 1). Le schéma observable de Fehaili (2010), ainsi que les travaux antérieurs précédemment cités, ont servi de base, mais nous avons également pris en considération les travaux publiés permettant d'identifier des voies réactionnelles par modélisation stœchiocinétique multi-réponses dans différents produits alimentaires, et notamment ceux de Kocadağlı et al. (2016), également réalisés sur une matrice céréalière modèle composée d'eau et de farine.

Afin de pouvoir doser quantitativement un grand nombre de marqueurs réactionnels, nous avons dû nous doter de moyens analytiques nouveaux, ce qui a nécessité un effort important en développement de méthodes de dosage (Chapitre 5) :

- Mise au point de la méthode de piégeage des vapeurs sur des tubes d'adsorbants durant la cuisson (Article 1) et développement de l'analyse quantitative des composés volatils piégés par TD-GC-MS (Chapitre 5, Article 2)
- Mise au point d'une méthode d'extraction et de quantification par UHPLC-MS des intermédiaires réactionnels, en adaptant la méthode développée par Kocadağlı et al. (2014) ;
- Mise au point d'une méthode d'extraction et de quantification par UHPLC-CAD/DAD des sucres et de deux composés furaniques (5-HMF et furfural) ;
- Mise au point d'une méthode analytique pour extraire et doser les NH_2 libres, en adaptant la méthode développée par Fehaili, 2010.

Plusieurs campagnes de cuisson des produits modèles dans le four pilote nous ont ensuite permis d'acquérir différents types de données :

- Données physiques : températures en différents points du produit et pertes en masse au cours de la cuisson, le tout sous les différentes conditions opératoires afin de

pouvoir identifier un modèle prédictif de la température et de la teneur en eau (Chapitre 7).

- Données chimiques : teneurs en marqueurs réactionnels dans les vapeurs de cuisson et dans les génoises modèles, à différents temps et sous les différentes conditions opératoires (Chapitre 6, Article 3, Article 4).

Finalement, la construction du schéma réactionnel observable, à partir de la version compilant toutes les voies réactionnelles possibles, a été effectuée. Le développement analytique étant l'élément déterminant pour le choix des marqueurs du schéma réactionnel observable final, plusieurs versions ont été élaborées et revues. Ce travail est expliqué dans le chapitre 7 avec les résultats d'un premier essai de modélisation.

3 - MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le chapitre 3- Matériels et méthodes de cette thèse se découpe en 7 parties respectant la chronologie des expérimentations (Figure 35).

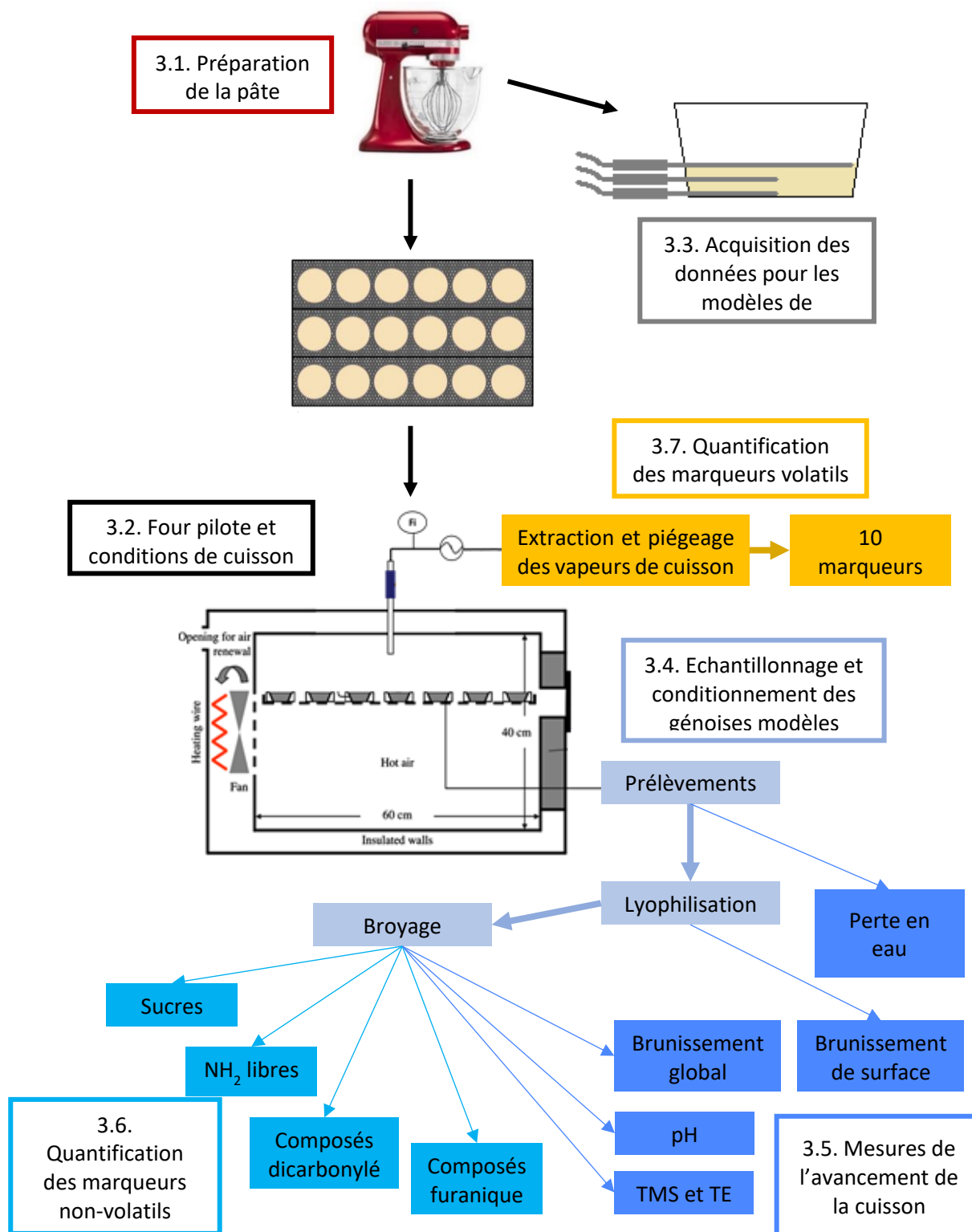


Figure 35. Schéma de la chronologie des expérimentations et découpage des sous-parties du chapitre Matériels et Méthodes

3.1 Préparation de la pâte de génoise modèle

La pâte des génoises modèles est préparée selon la stratégie développée par Bousquières, 2017.

3.1.1 Ingrédients de la pâte de génoise modèle

La pâte de génoise modèle non réactive est préparée à base d'amidon de maïs natif, d'hydrocolloïdes et d'eau, auxquels peuvent être ajoutés à façon des précurseurs de réaction de caramélisation ou de Maillard. L'amidon de maïs natif (Cargill, États-Unis), stocké dans des bouteilles en verre de 5 L conservées à -18°C, est décongelé et conservé à +4°C pendant toute la durée d'utilisation. Deux types d'hydrocolloïdes (Dow Chemical, États-Unis) sont utilisés : l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC), type K250M, et la méthylcellulose (MC), type SGA7C. Ils sont conservés dans leurs récipients initiaux en plastique à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'eau utilisée est de l'eau de qualité MilliQ 18,2 mΩ appelée « eau ultrapure », produite par un système de purification Integral 3 (Merck Millipore, États-Unis).

Le glucose (dextrose monohydrate ST) est fourni par Roquette Frères (France). La leucine (L-leucine qualité alimentaire, ≥99%) est fournie par Sigma Aldrich (États-Unis).

3.1.2 Protocole de préparation de la pâte de génoise modèle

La génoise modèle de base est appelée *I* (pour inerte) et ne contient pas de précurseur. Deux modèles avec précurseurs réactifs sont également utilisés :

- génoise modèle *G*, pour celle contenant uniquement du glucose ajouté ;
- génoise modèle *G+L*, pour celle contenant du glucose et de la leucine.

La quantité de glucose contenue dans ces génoises modèles réactives est fixée par rapport à la quantité de sucre contenue dans une génoise réelle et la quantité de la leucine à partir de la quantité de NH₂ libres mesurée dans une génoise réelle (Fehaili et al., 2010; Bousquières et al., 2017 a). Les quantités d'ingrédients utilisées pour les génoises modèles sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Quantités d'ingrédients pour les génoises modèles

Ingrédients	Génoise modèle <i>I</i> (g)	Génoise modèle <i>G</i> (g)	Génoise modèle <i>G+L</i> (g)
HPMC	0,35	0,47	0,47
MC	0,46	0,62	0,62
Amidon	36,55	36,45	36,45
Eau	62,64	62,46	62,46
Glucose	-	20,00	20,00
Leucine	-	-	5,00
Quantité totale de pâte	100	120	125

La première étape consiste à préparer une solution d'hydrocolloïdes. Pour préparer 300 g de génoise modèle *I*, les deux types d'hydrocolloïdes sont mélangés à sec dans un flacon en verre de 500 mL muni d'un barreau aimanté. L'eau ultrapure, préalablement chauffée à 80°C, est ajoutée dans ce flacon. Le flacon est ensuite fermé et laissé à refroidir à température ambiante sous agitation pendant 2 h. Il est ensuite placé à 4°C toujours sous agitation pendant minimum 12 h.

Pour la génoise modèle *G*, le même protocole est appliqué avec l'ajout du glucose à sec dans le flacon en verre de 500 mL contenant le mélange d'hydrocolloïdes. Le mélange des trois poudres est ensuite homogénéisé avec une spatule avant l'ajout de l'eau ultrapure préalablement chauffée à 80°C. La solution ainsi préparée à l'avance et revenue à température ambiante est foisonnée pendant 10 min à l'aide d'un robot mixeur 5ksm 150 (Kitchen Aid, Etats-Unis) équipé d'un fouet à vitesse maximale (10/10). La vitesse est ensuite abaissée à 2/10 et l'amidon de maïs est additionné par tamisage à l'aide d'un chinois (maillage souple de 1 mm) pendant 1 min 15 s. Le mélange est encore foisonné à vitesse 2/10 pendant 2 min.

Pour la génoise modèle *G+L*, le protocole de préparation est le même que pour la génoise modèle *G* avec ajout de la leucine, préalablement pesée, mélangée à l'amidon.

3.2 Four pilote et conditions opératoires de cuisson

3.2.1 Description du four instrumenté

Les cuissons pour le suivi des cinétiques de réaction ont été réalisées dans un four instrumenté développé à façon par Bongard (France), uniforme en température et en flux de chaleur, et reproductible en termes de conditions opératoires de cuisson (Fehaili et al., 2010). Ce four permet de choisir le niveau de convection souhaité en modifiant l'intensité de circulation de l'air chaud grâce au réglage de la fréquence de rotation d'un ventilateur. Ses caractéristiques sont présentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 3).

Tableau 3. Caractéristiques du four instrumenté

Dimensions de l'enceinte de cuisson	400 mm × 400 mm × 600 mm
Puissance maximale de chauffe	7,5 kW
Limite de régulation du four	300°C ± 1°C
Fréquence maximale de rotation du ventilateur	60 Hz

Il présente en outre des avantages pour l'échantillonnage pendant la cuisson : il permet d'extraire et de piéger en ligne les composés volatils contenus dans les vapeurs de cuisson sans perturber l'environnement du four, *via* une plaque percée sur le toit du four et un dispositif décrit plus loin (3.2.1) et de prélever des génoises modèles à différents temps de cuisson sans perturber l'ambiance du four, *via* une ouverture en guillotine sur la face avant non vitrée.

La plaque de cuisson est posée aux 2/3 de la hauteur du four. Elle est composée de 3 tiroirs amovibles perforés en acier inoxydable permettant de retirer une série de moules sans bouger les autres. Il est possible d'y poser au plus 18 moules cylindriques de 6,6 cm de diamètre sans qu'ils se touchent (Figure 36).

Une autre plaque de cuisson simple sans tiroir a été utilisée lors des campagnes de mesure des flux de chaleurs (3.2.2) et des températures en différents points des génoises (3.3.2).

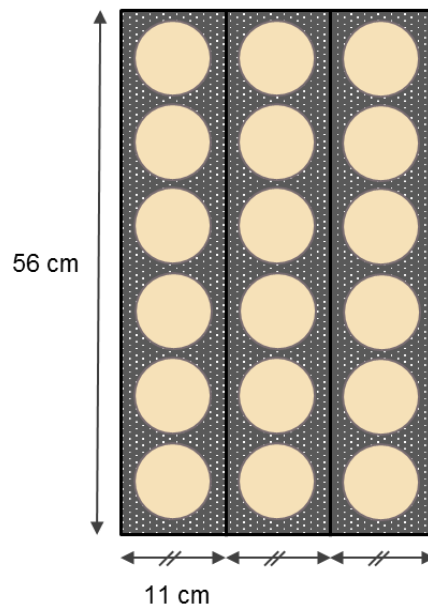


Figure 36. Représentation de la plaque de cuisson perforée, composée de trois tiroirs (gauche, milieu, droite) avec les géroises modèle dans leurs moules cylindriques

3.2.2 Caractérisation des flux thermiques

Pour caractériser les flux thermiques mis en œuvre dans le four, des capteurs de flux surfaciques déposés sur un bloc de cuivre ont été utilisés (Captec, France). Ce bloc de cuivre fait office de puits thermique à température homogène car son inertie thermique (produit de la capacité thermique C_p par la masse volumique ρ) est telle qu'il peut accumuler beaucoup de chaleur, répartie de manière uniforme dans tout son volume grâce à sa grande conductivité thermique (λ). Ces capteurs mesurent le flux thermique par la création d'une différence de potentiel générée par une thermopile réagissant à un écart de température (Figure 37).

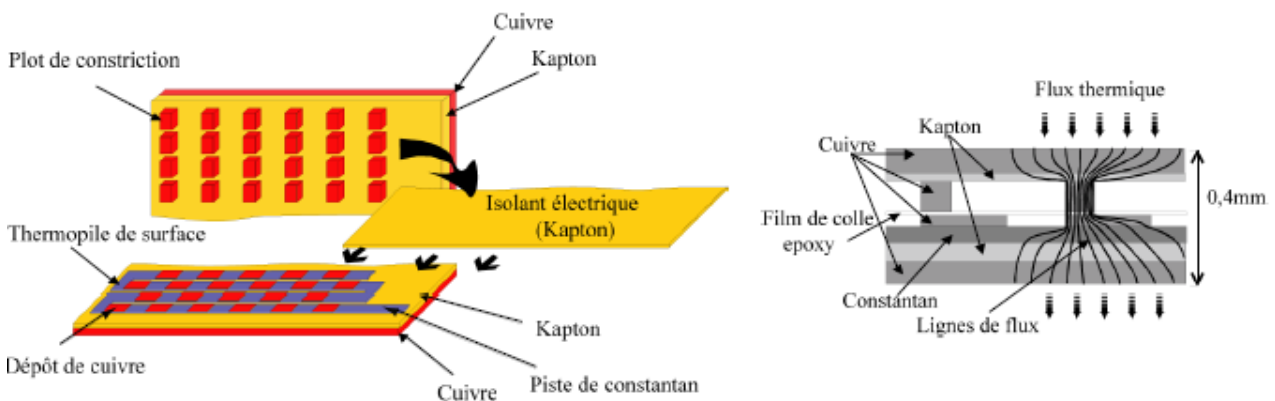


Figure 37. Schéma de conception des capteurs de flux (Source : Captec)

Deux capteurs sont utilisés : un capteur poli et brillant et un capteur recouvert de peinture haute température noire absorbante. L'émissivité des capteurs « brillant » et « noir » ont été évaluées et sont égales respectivement à $\varepsilon_{br} = 0,05$ et $\varepsilon_{no} = 0,95$. Les flux J reçus réellement par les capteurs sont exprimés par les Équation 1 et Équation 2.

$$j_{br} = h_{cv} \times (T_{\infty} - T_b) + \sigma \times \varepsilon_{br} \times (T_{ray}^4 - T_b^4)$$

Équation 1. Flux de chaleur reçu par le capteur « Brillant »

$$j_{no} = h_{cv} \times (T_{\infty} - T_b) + \sigma \times \varepsilon_{no} \times (T_{ray}^4 - T_b^4)$$

Équation 2. Flux de chaleur reçu par le capteur « Noir »

où T_b (en K) est la température du bloc mesurée, T_{∞} (en K) la température de l'air mesurée au-delà de la couche limite thermique et σ la constante de Stefan-Boltzmann (égale à $5,670 \cdot 10^{-8} W \cdot m^{-2} \cdot K^{-4}$). Ces équations permettent de calculer le coefficient de transfert thermique par convection h_{cv} (en $W \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$) et la température de rayonnement équivalente T_{ray} (en K). Le coefficient de transfert équivalent par rayonnement h_{ray} (en $W \cdot m^{-2} \cdot K^{-1}$) est exprimé par l'Équation 3, en prenant une émissivité $\varepsilon = 0,9$, ce qui est raisonnable pour un produit alimentaire, et une température de surface $T_s = T_b$ de par les propriétés d'homogénéité thermique du cuivre.

$$h_{ray} = \varepsilon \times \sigma \times (T_s^3 + T_s^2 \times T_{ray} + T_s \times T_{ray}^2 + T_{ray}^3)$$

Équation 3. Expression du coefficient de transfert équivalent par rayonnement h_{ray}

3.2.3 Conditions opératoires de cuisson et positionnement des moules dans le four instrumenté

Dans le four instrumenté utilisé, il est possible de faire varier deux paramètres de consigne : la température et le niveau de convection. Pour nos expériences, 3 températures et 2 niveaux de convection ont été choisis (Tableau 4).

Tableau 4. Conditions opératoires de cuisson au four instrumenté

Température (°C)	Niveau de convection (Hz)	Durée totale de cuisson (min)
140	25	120
	50	
170	25	90
	50	
200	25	90
	50	

Le nombre et la disposition des moules ont été définis à partir de la cartographie des flux de chaleur et des températures (Figure 80 dans l'Annexe 2), pour chaque condition opératoire étudiée. Les 18 positions possibles pour les moules sont réparties en 6 zones : gauche fond, gauche porte, milieu fond, milieu porte, droite fond, droite porte (Figure 38).

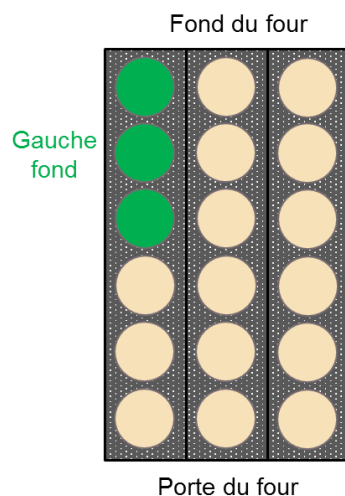


Figure 38. Emplacement de la zone « gauche fond » de placement des moules sur la plaque de cuisson

La caractérisation des flux thermiques dans le four permet de repérer, pour chaque condition de cuisson étudiée, les 15 positions de génoise (soit 5 zones) uniformes et équivalentes en termes de transfert de chaleur par convection et par rayonnement (Tableau 5).

Tableau 5. Zones considérées thermiquement homogènes pour chaque condition opératoire de cuisson

Température (°C)	Niveau de convection (Hz)	Zones choisies
140	25	Gauche porte, milieu fond, milieu porte, droite fond, droite porte
	50	Gauche fond, gauche porte, milieu porte, droite fond, droite porte
170	25	Gauche fond, gauche porte, milieu porte, droite fond, droite porte
	50	Gauche fond, gauche porte, milieu fond, droite fond, droite porte
200	25	Gauche fond, milieu fond, milieu porte, droite fond, droite porte
	50	Gauche fond, gauche porte, milieu porte, droite fond, droite porte

3.2.4 Géométrie des moules et quantité de pâte dans chaque moule pour les génoises

Pour l'acquisition des données de réactivité chimique, une géométrie de génoise plutôt fine a été choisie afin de maximiser la quantité de « croûte » formée, siège de la réaction, par rapport à la « mie » afin de minimiser l'effet de dilution de cette dernière et ainsi de maximiser les concentrations des marqueurs réactionnels pour répondre aux besoins en analyses. Pour ce faire, des moules cylindriques en aluminium (Ramequins Cora, France) de 6,6 cm de diamètre en base et 4 cm de hauteur ont été remplis de $20,00 \pm 0,50$ g de pâte ($m_{p\grave{a}te\ initial e}$), ce qui conduit à l'obtention de génoises de 1,3 cm de hauteur.

La géométrie cylindrique a été choisie car elle présente l'avantage d'avoir un axe de symétrie central, ce qui facilite la modélisation.

3.2.5 Définition des campagnes de cuisson avec échantillonnage en ligne pour le suivi cinétique des marqueurs réactionnels

Il est nécessaire de quantifier les marqueurs réactionnels dans les génoises au cours de la cuisson pour accéder aux cinétiques réactionnelles. Pour cela, deux voies d'échantillonnage ont été utilisées : (i) le piégeage dynamique des vapeurs de cuisson pour doser les marqueurs volatils et (ii) le prélèvement de génoises pour doser les marqueurs *in situ*, qu'il s'agisse de précurseurs, de produits intermédiaires ou de produits terminaux des réactions.

Cependant les deux types d'échantillonnage ne peuvent pas être réalisés simultanément au cours d'une même cuisson, pour les raisons suivantes :

- le fait d'utiliser l'ouverture à l'avant du four fait entrer de l'air extérieur, ce qui peut engendrer une perte de composés volatils ;
- le fait de prélever les génoises à différents temps diminue la quantité totale de produits dans le four, c'est-à-dire la quantité des marqueurs réactionnels volatils susceptibles d'être générés par volume d'air prélevé ;
- il est difficile pour un opérateur de prélever des génoises et de les conditionner tout en réalisant le piégeage et l'analyse des vapeurs.

Par conséquent, deux cuissons séparées sont réalisées pour chaque condition opératoire : une cuisson sans ouverture de la porte du four, avec piégeage en dynamique des vapeurs de cuisson, et une cuisson avec prélèvement des génoises modèles.

L'échantillonnage est réalisé à différents temps de cuisson (Tableau 6). Ceux-ci sont répartis sur des durées de cuisson longues, supérieures aux temps d'obtention de produits jugés cuits, afin d'avoir suffisamment d'information sur les cinétiques réactionnelles. La durée de piégeage des composés volatils est de 4 min, compromis nécessaire pour la réalisation des manipulations et pour piéger des quantités suffisantes de marqueurs réactionnels volatils pouvant varier de traces jusqu'à des valeurs assez importantes, sans pour autant saturer la phase d'adsorbant sur les tubes utilisés pour le piégeage. Cette durée a été établie par Bousquières, 2017 et est optimale pour tous les composés étudiés, sauf pour le 5-HMF.

Tableau 6. Temps d'échantillonnage au cours de la cuisson pour le suivi quantitatif des marqueurs réactionnels

Temps de début et de fin de piégeage des vapeurs pour les génoises modèles <i>G</i> ou <i>G+L</i> (min)	Temps de prélèvement pour les génoises modèles <i>G</i> (min)	Temps de prélèvement pour les génoises modèles <i>G+L</i> (min)
	0 (pâte)	0 (pâte)
2 - 6	6	6
8 - 12	12	12
20 - 24	24	24
33 - 37	37	37
52 - 56	56	56
-	75	75
86 - 90 (cuissons à 170 et 200°C)	90	90 (cuissons à 170 et 200°C) 95 (cuissons 140°C)
91 – 95 (cuissons à 140°C)	105 (cuissons à 140°C)	-
116 – 120 (cuissons à 140°C)	120 (cuissons à 140°C)	120 (cuissons à 140°C)

3.3 Mesures des températures dans le four et les génoises

3.3.1 Étalonnage des thermocouples

Les thermocouples aiguilles de type J ont été étalonnés en utilisant un four étalon CTD 91000-450 N°581003 (Wika, Allemagne) et une sonde certifiée 735-1 (Testo, France). 5 températures situées dans un domaine d'étude permettant de couvrir l'ensemble de conditions opératoires ont été choisies : 30, 50, 100, 150, 200 et 250°C. Le four étalon contenant les thermocouples à étalonner est d'abord équilibré à sa température de consigne pendant au moins 15 min. Puis, les valeurs de températures mesurées par les thermocouples sont enregistrées pendant 5 min toutes les 2 s. Les moyennes et écarts-type sont calculés pour chaque température du domaine d'étude et pour chaque thermocouple et sont ensuite comparés à la valeur de la sonde de référence. Les résultats sont détaillés dans l'annexe 3 (Tableau 24). Le facteur correctif est déterminé pour chaque thermocouple utilisé, à partir de la régression linéaire obtenue entre la température de la sonde

étalon et les températures mesurées. Ainsi, le facteur correctif déterminé pour les thermocouples four, 1, 2 et 3 est respectivement de 0,45°C ; 0,36°C ; 0,41°C et 0,30°C. Ce facteur correctif devra être ajouté à toutes les températures mesurées.

3.3.2 Caractérisation des températures des gâteaux modèles et des vapeurs au cours de la cuisson

L'acquisition de la température de la vapeur de cuisson a été réalisée à l'aide d'un thermocouple aiguille de type J inséré à l'intérieur du four et sans contact avec ses parois.

Dans le moule instrumenté, 3 thermocouples aiguilles de type J ont été placés dans la gâteaux. L'emplacement de ces thermocouples pour les gâteaux est précisé dans la Figure 39.

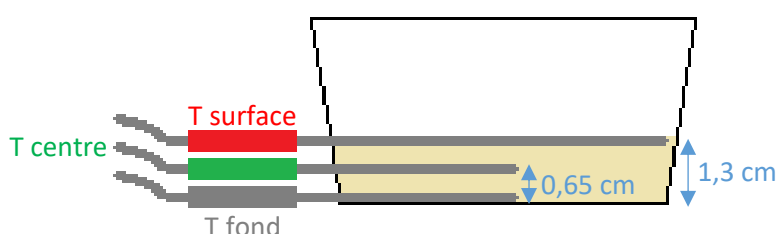


Figure 39. Emplacement des thermocouples dans les gâteaux pour l'acquisition de température pendant la cuisson

L'acquisition des mesures de température est réalisée grâce à une centrale d'acquisition FieldPoint Power Supply (National Instruments, Etats-Unis) composée de plusieurs modules : une alimentation (FP-PS-4), une interface réseau RS232 (FP 1000), un module d'entrée analogique 8 voies. L'interface utilisateur est programmée sous LabVIEW (National Instruments, USA) et les voies d'entrées sont configurées par le logiciel Measurement & Automation. Ce logiciel permet de faire la conversion tension-température des thermocouples. Les données acquises sont sauvegardées dans un fichier .csv sous un nom spécifique composé de celui de l'utilisateur, de la date et de l'heure.

3.4 Échantillonnage et conditionnement des génoises modèles au cours de la cuisson

Deux génoises modèles sont prélevées à chaque temps de cuisson, sauf pour le modèle G à 140°C, (Tableau 6) *via* l'ouverture à l'avant du four. Les génoises sont immédiatement démoulées et mises dans un sachet opaque recouvert d'une couche métallisée (épaisseur de 82 µm, Politec, France) qui est préalablement taré à 10^{-5} g près. Le sachet est soudé à l'aide d'une thermoscelleuse (Multivac, France) puis refroidi dans un bain d'eau et d'éthanol thermostaté à -8°C pendant au minimum 15 min afin de stopper les réactions. À la fin de la cuisson, les sachets contenant les génoises modèles refroidies sont pesés sur une balance de précision à 10^{-5} g ($m_{\text{génoïse prélevée}}$), puis stockés à -20°C pendant une durée qui peut varier entre 24 h et une semaine, et enfin congelés à -80°C pendant 24 h. Les génoises modèles sont ensuite déshydratées dans un lyophilisateur (Martin Christ, Allemagne) ($T_{\text{condenseur}} = -85^{\circ}\text{C}$; $P = 0,003$ mbar) pendant 24 h puis pesées ($m_{\text{génoïse après lyoph}}$) avec une balance de précision à 10^{-5} g.

La même procédure est appliquée à la pâte avant cuisson.

Les lyophilisats (pâte et génoises cuites) sont conservés dans un dessiccateur le temps d'être broyés avec un hachoir DPA141 Moulinex (SEB, France) pendant 1 min. Les génoises modèles *G+L* sont photographiées préalablement au broyage. Les deux génoises modèles prélevées au même temps sont broyées ensemble. Les broyats sont ensuite aliquotés dans des sachets opaques recouverts d'une couche métallisée (épaisseur de 82 µm, Politec, France) qui seront thermoscellés sous vide et conservés à -20°C avant analyse ultérieure.

3.5 Mesures de l'avancement de la cuisson

3.5.1 Mesure de la perte en eau des génoises au cours de la cuisson

La masse d'eau perdue pendant la cuisson est calculée comme étant la différence de masse entre la pâte initiale ($m_{p\grave{a}te\ initial\ e}$) mise dans son moule, pesée avant la cuisson à 10^{-2} g près, et la génoise cuite prélevée ($m_{g\acute{e}nois\ e\ pr\acute{e}lev\ e}$), pesée à 10^{-5} g près. La perte en eau est calculée par g de pâte initiale (Équation 4).

$$Perte\ en\ eau\ (g_{eau} \cdot g_{p\grave{a}te\ initial\ e}^{-1}) = \frac{m_{p\grave{a}te\ initial\ e} - m_{g\acute{e}nois\ e\ pr\acute{e}lev\ e}}{m_{p\grave{a}te\ initial\ e}}$$

Équation 4. Calcul de la perte en eau des génoises due à la cuisson

3.5.2 Détermination des teneurs en matière sèche (TMS) et en eau (TE et TE_{bs})

Trois teneurs en matière sèches doivent être déterminées : la TMS de la pâte avant cuisson ($TMS_{p\grave{a}te}$), la TMS de chaque génoise après cuisson ($TMS_{g\acute{e}nois\ e}$) et la TMS de chaque génoise après lyophilisation (TMS_{lyoph}) (Figure 40).

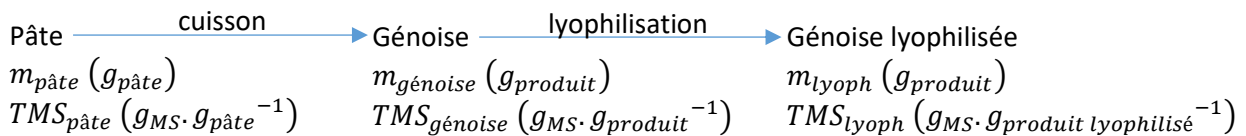


Figure 40. Séquençage des étapes de préparation des échantillons et variables pour le calcul des teneurs en matière sèche associées

En utilisant le principe de conservation de la matière sèche (Équation 5), il apparait que la détermination d'une seule TMS permet de calculer les deux autres, si les masses totales des produits ont bien été mesurées à chaque étapes ($m_{p\grave{a}te}$, $m_{g\acute{e}nois\ e}$ et m_{lyoph}).

$$TMS_{p\grave{a}te} \cdot m_{p\grave{a}te} = TMS_{g\acute{e}nois\ e} \cdot m_{g\acute{e}nois\ e} = TMS_{lyoph} \cdot m_{lyoph}$$

Équation 5. Équation de conservation de la matière sèche dans les génoises

Ainsi, pour des raisons pratiques, le choix a été fait de déterminer TMS_{lyoph} . Pour cela, environ 3 g de broyat issus d'un aliquote lyophilisé sont placés dans une coupelle en inox avec un couvercle, préalablement tarés (m_{tare}) et le tout est pesé ($m_{avant\ \acute{e}tuve}$). L'ensemble est ensuite mis à sécher dans une étuve ventilée (Memmert, Allemagne) à 105°C pendant 24 h puis refroidi

dans un dessiccateur avant d'être pesé ($m_{\text{après étuve}}$). Toutes les pesées ont été effectuées avec une précision de 10^{-5} g. La TMS_{lyoph} peut alors être calculée selon l'Équation 6.

$$TMS_{\text{lyoph}} (g_{MS} \cdot g_{\text{produit lyophilisé}}^{-1}) = \frac{m_{\text{après étuve}} - m_{\text{tare}}}{m_{\text{avant étuve}} - m_{\text{tare}}}$$

Équation 6. Calcul de la teneur en matière sèche des lyophilisats

A partir de la valeur de TMS, les valeurs de teneur en eau (TE) (Équation 7) et de teneur en eau en base sèche (TE_{bs}) (Équation 8) peuvent être déterminées.

$$TE (g_{\text{eau}} \cdot g_{\text{produit}}^{-1}) = 1 - TMS$$

Équation 7. Calcul de la teneur en eau

$$TE_{\text{bs}} (g_{\text{eau}} \cdot g_{MS}^{-1}) = \frac{1 - TMS}{TMS}$$

Équation 8. Calcul de la teneur en eau en base sèche

Le même protocole gravimétrique et les mêmes calculs ont été également utilisés pour des déterminations de TMS et TE sur des échantillons non lyophilisés de pâte et de génoise.

3.5.3 Suivi de la formation des acides par mesure du pH et des polymères bruns par spectrophotométrie

Les acides et les polymères bruns hydrosolubles peuvent être suivis respectivement par mesure du pH et de l'absorbance d'une solution aqueuse ayant permis de les extraire de leur matrice solide. Pour cela, environ 0,8 g de broyat issus d'une aliquote lyophilisée ($m_{\text{prise d'essai}}$), pesés avec précision, sont introduits dans un tube à centrifuger de 25 mL avec 25 g d'eau déionisée (m_{filtrat}). Le tube est ensuite agité au vortex à 3000 rpm pendant 30 s et le contenu est filtré à l'aide d'un papier filtre de porosité 8 μm (Whatman™, Thermo Fisher, Etats-Unis). La mesure de pH du filtrat limpide est réalisée à l'aide d'un pH-mètre équipé d'une électrode 5010T sensION™+ (Hcah, VMR, France). La masse volumique du filtrat est considérée égale à celle de l'eau ($1000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). Le pH d'une solution est défini comme une fonction de sa concentration en ions H_3O^+ . Afin d'éviter les biais dus à des teneurs en matière sèche différentes, les résultats sont exprimés en acidité équivalente suivant l'Équation 9.

$$[\text{H}_3\text{O}^+] (eq. \text{moles} \text{H}_3\text{O}^+ \cdot g_{MS}^{-1}) = \frac{10^{-\text{pH}} \times m_{\text{filtrat}}}{TMS_{\text{lyoph}} \times m_{\text{prise d'essai}} \times \rho}$$

Équation 9. Calcul de l'acidité équivalente

Pour la mesure du brunissement, le filtrat est placé dans une cuve en plastique et son absorbance à 420 nm est mesurée grâce à un spectrophotomètre Secomam S250 (Aqualabo Analyse, France). Afin de ne pas dépasser une absorbance de 1 qui garantit de ne pas saturer la réponse pour ce spectrophotomètre, l'échantillon peut être dilué d'un facteur d , si besoin. Le degré de brunissement (DB) est exprimé en unité d'absorbance par gramme de matière sèche (Équation 10).

$$DB \text{ (ua. } g_{MS}^{-1}) = \frac{\text{Absorbance} \times m_{filtrat} \times d}{TMS_{lyoph} \times m_{prise\ d'essai} \times \rho}$$

Équation 10. Calcul du degré de brunissement global

3.5.4 Détermination du taux de brunissement de surface par analyse d'image

Les génoises modèles sont photographiées à l'aide d'un dispositif composé d'un appareil photo EOS 1300D (Canon, Japon) et d'un système d'éclairage uniforme. L'appareil photo est positionné verticalement, avec un angle entre l'axe de l'objectif de la caméra et l'axe de la source d'éclairage d'environ 45° pour éviter toute réflexion diffuse ; il est réglé en mode manuel pour une acquisition numérique (ouverture focale 4.0, vitesse 1/200, sensibilité ISO100). La génoise est placée sur un papier cartonné bleu pour mettre en évidence sa couleur. Les images sont mises au format 8-bit TIFF grâce au logiciel libre RawTharapee® 4.2.0, puis traitées (seuillage, conversion en nuances de gris) sous ImageJ®. Le traitement des images permet d'obtenir la distribution du nombre de pixels par valeurs de L^* (comprises entre 0 et 100, échelle colorimétrique CIE*Lab*). Après détermination d'un niveau de seuil permettant de discriminer la couleur des génoises entre une génoise crue et une génoise au maximum de la couleur brune (annexe 4 ; $L^*_{seuil} = 75$), le taux de brunissement de surface est calculé grâce à l'Équation 11.

$$TB \text{ (\%)} = \frac{\text{Nombre de pixels pour } L^* < L^*_{seuil}}{\text{Nombre total de pixels}} \times 100$$

Équation 11. Calcul du taux de brunissement de la surface

3.6 Quantification des marqueurs à partir des génoises modèles prélevées

3.6.1 Etalons et solvants

Les D-(+)-Glucose ($\geq 99.5\%$), D-(-)-Fructose ($\geq 99\%$), furfural ($\geq 99\%$), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) ($\geq 99\%$), solution d'ammoniaque à $\sim 25\%$ (LC-MS grade), quinoxaline ($> 99\%$), methylquinoxaline ($> 97\%$), dimethylquinoxaline ($> 99\%$), *o*-phenylenediamine (*o*-PDA) ($> 99\%$), acide diethylenetriaminopentaacétique (DETAPAC) ($> 99\%$) et acétonitrile ($\geq 99.9\%$) de qualité HPLC sont fournis par Sigma-Aldrich (Etats-Unis).

La d-Quinoxaline-5,6,7,8 est fournie par CIL (France).

L'eau, l'acétonitrile, l'eau 1% HCOOH (v/v), l'acétonitrile 1% HCOOH (v/v), le méthanol, l'acide formique ($> 99\%$) sont fournis par Carlo Erba (France) et sont tous de qualité LC/MS. Les dihydrogenophosphate monobasique ($> 99\%$) et hydrogenophosphate dibasique ($> 99\%$), réactifs de Carrez I and II, formaldéhyde 30% et solution de NaOH 0.005 N solution sont également fournis par Carlo Erba (France).

Les 3-methylbutanal (3-MEB) ($> 99\%$), pyrazine (P) ($\geq 99\%$), 2-méthylpyrazine (2-MP) ($\geq 99\%$), 2,5-diméthylpyrazine (2,5-DMP) ($\geq 99\%$), 2,6-diméthylpyrazine (2,6-DMP) ($\geq 99\%$), ($\geq 99\%$), 2-furanméthanol (furfuryl alcohol, FA) ($\geq 98\%$), 5-méthylfurfural (5-MF) ($\geq 99\%$) et d4-pyrazine ($\geq 98\%$) sont achetés chez Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

L'acide acétique (AA) ($\geq 96\%$), le méthanol ($\geq 99.9\%$) et l'éthanol ($\geq 95\%$) sont fournis par Carlo Erba (France).

Le d4-furfural- ($\geq 99.7\%$) est fourni par CIL Cluzeau, CDN Isotopes (Canada).

3.6.2 Analyse quantitative des sucres

3.6.2.1 Extraction et préparation des échantillons

Environ 0,4 g de broyat issus d'un aliquote lyophilisé pesés avec précision ($m_{\text{prise dressai}}$), sont mis dans un tube à centrifuger de 50 mL avec 20 g d'eau (m_{eau}), pesées avec précision. Le tube est ensuite agité au vortex à 3000 rpm pendant 30 s, puis centrifugé à 5000g pendant 15 min à 20°C. 10 g de surnageant, pesés avec précision ($m_{\text{surnageant}}$), sont prélevés et introduits dans un tube à centrifuger de 15 mL, puis 0,5 mL de réactif de Carrez I et 0,5 mL de réactif de Carrez II sont ajoutés. L'ensemble est agité au vortex à 3000 rpm pendant 30 s puis centrifugé à 10000g pendant 2 min à 20°C. Le surnageant est prélevé, dilué si nécessaire, et filtré sur une membrane

en nylon de porosité 0,2 µm pour la mise en vial. Les préparations de la pâte sont diluées au 1/50^e ($d = 50$) et celles des points cinétiques sont soit non-diluées, soit diluées au 1/10^e ($d = 10$) ou au 1/20^e ($d = 20$). A partir des essais qui ont été effectués, le protocole d'extraction a été prouvé répétable (Annexe 5) et l'extraction a été considérée totale (Annexe 6 Tableau 27).

3.6.2.2 Phases mobiles et gradient utilisé

Les phases mobiles utilisées sont les suivantes : Voie A : phase aqueuse ; Voie B : phase acétonitrile. Le liquide de nettoyage est un mélange méthanol/eau LC-MS (10/90, v/v). Le gradient est programmé comme indiqué dans le Tableau 7.

La phase aqueuse (10 mM NH₄OH) et la phase acétonitrile (10 mM NH₄OH) sont préparées selon le protocole suivant : après avoir vérifié le titre exact de la solution d'ammoniaque à environ 25% (v/v), un volume suffisant est ajouté à de l'eau LC/MS ou à de l'acétonitrile LC/MS pour obtenir un titre final de solution à 10 mM. Le pH de la phase aqueuse doit être de l'ordre de 10,6.

Tableau 7. Gradient des phases mobiles pour le dosage des sucres par UHPLC-CAD

Temps (min)	Débit (mL.min⁻¹)	A (%)	B (%)
0	0,26	20	80
4	0,26	20	80
7	0,26	50	50
10	0,26	50	50
10,5	0,26	20	80
19	0,26	20	80

3.6.2.3 Séparation et identification par UHPLC-CAD

La séparation et l'identification du glucose et du fructose se font par UHPLC à l'aide d'un système U3000 Thermo Fisher Dionex (États-Unis) équipé d'une pompe RS, d'un échantillonneur automatique RS, d'un four couplés à un détecteur Corona™ Veo™ (détecteur d'aérosols chargés, CAD). La phase stationnaire était une colonne Acquity BEH Amide (Waters, États-Unis) chauffée à 35°C et dont les dimensions étaient de 100 x 2,1 mm, constituée de particules sphériques

poreuses de 1,7 μm . Une précolonne Vanguard (5 x 2,1 mm) (Waters, États-Unis) avec la même phase stationnaire a été connectée avant la colonne d'analyse.

Les chromatogrammes sont traités à l'aide du logiciel Chromeleon™ (Thermo Fisher Scientific, États-Unis) selon une méthode de traitement automatisée pour avoir la collecte des aires de pics. Les temps de rétention pour le glucose et le fructose sont respectivement de 4,026 min et 3,261 min.

3.6.2.4 Étude de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles

Le domaine de validité de la méthode pour le fructose et le glucose a été évalué pour des concentrations allant de 0,01 g.L^{-1} à 3 g.L^{-1} en 4 à 6 points. La gamme est préparée et injectée au début et à la fin de la séquence de manière à ce que les échantillons soient analysés entre les deux gammes. La courbe d'étalonnage est établie en prenant en compte ces deux injections de la gamme. Elle est de type quadratique sans forcer le passage par l'origine (Figure 41, Figure 42). Les concentrations dans le vial ($C_{\text{sucre dans le vial}}$) sont calculées grâce aux courbes d'étalonnages.

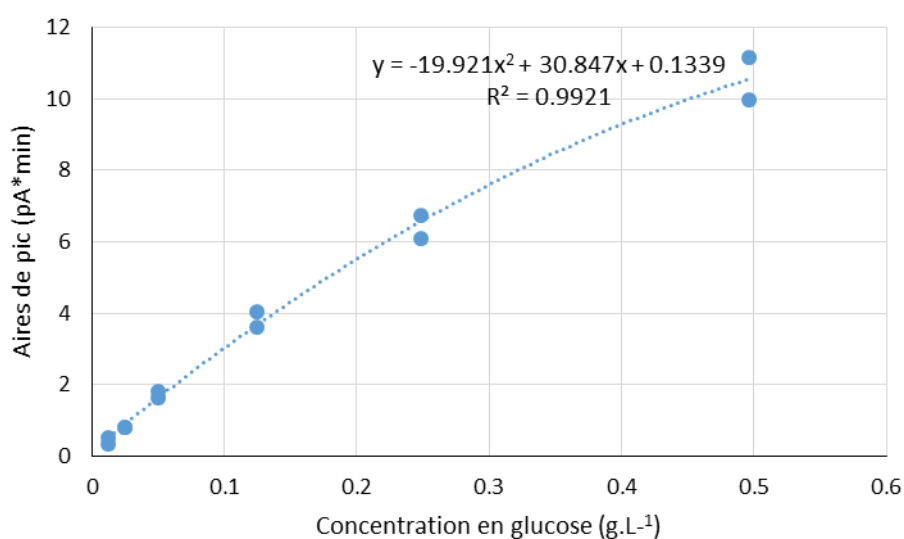


Figure 41. Exemple de courbe d'étalonnage du glucose

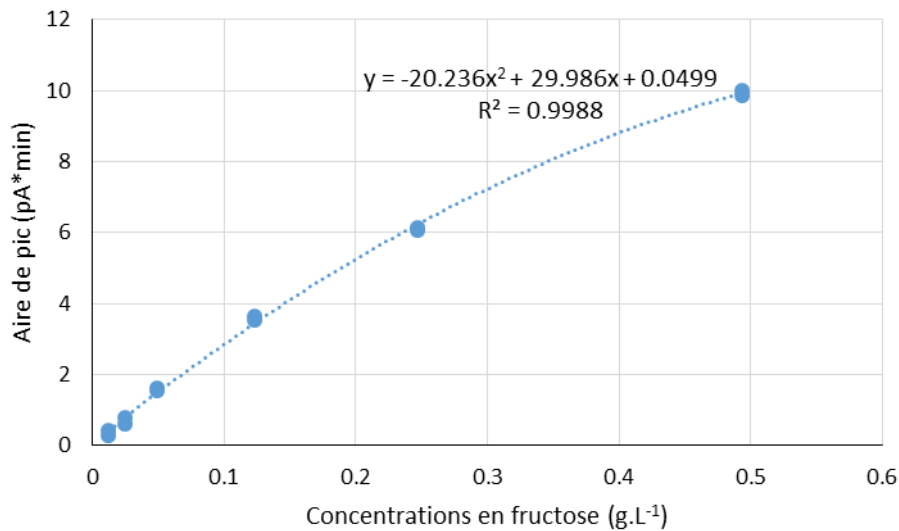


Figure 42. Exemple de courbe d'étalonnage du fructose

La limite de détection (*LOD*) est définie comme la concentration dans le vial qui induit un signal dont la hauteur est égale à 3 fois celle du bruit de fond. La limite de quantification (*LOQ*) correspond à la concentration dans le vial qui induit un signal dont la hauteur est égale à 10 fois celle du bruit de fond. Les valeurs de *LOD* et *LOQ* peuvent être déduites à partir de la valeur du bruit de fond grâce à l'équation de la courbe d'étalonnage de chaque composé. Les *LOD* et *LOQ* sont de 7,803 mg.L⁻¹ et 26,01 mg.L⁻¹ pour le glucose et de 9,339 mg.L⁻¹ et 31,13 mg.L⁻¹ pour le fructose. Le niveau de dilution *d* a été ajusté pour chaque échantillon de manière à ce que la concentration dans le vial ne soit jamais inférieure à la *LOQ* (sauf en absence de pic).

Pour le calcul de la concentration en sucre dans l'échantillon, le volume total des 2 réactifs de Carrez introduits lors de l'extraction est égal à 1 mL, soit 1 g en supposant la densité égale à celle de l'eau ($\rho = 1000 \text{ g.L}^{-1}$). A partir de la valeur de $C_{\text{sucre dans le vial}} (\text{g.L}^{-1})$ dosée, la concentration molaire du sucre en base sèche est calculée par l'Équation 12, avec la masse molaire du glucose (M_{glucose}) égale à 180,156 g.mol⁻¹.

$$C_{\text{glucose}} (\text{mol. g}_{\text{MS}}^{-1}) = \frac{C_{\text{sucre dans le vial}} \times d \times (m_{\text{surnageant}} + 1) \times m_{\text{eau}}}{m_{\text{surnageant}} \times m_{\text{prise dressai}} \times TMS_{\text{lyoph}} \times M_{\text{glucose}}}$$

Équation 12. Calcul de la concentration molaire en base sèche du glucose dans les génoises modèles

Les concentrations en fructose, $C_{fructose} (mol. g_{MS}^{-1})$ sont calculées de la même manière que celles du glucose suivant l'Équation 12 en utilisant la masse molaire du fructose ($M_{fructose}$) qui est égale à celle du glucose.

3.6.3 Analyse quantitative du furfural et du 5-HMF

3.6.3.1 Extraction et préparation des échantillons

Les extraits préparés pour l'analyse des sucres peuvent être stockés pendant 3 semaines maximum à -20°C pour servir à doser le furfural et le 5-HMF (Annexe 7 Tableau 28). Les extraits obtenus à partir de la pâte ne sont pas dilués et ceux correspondant aux points cinétiques sont injectés non dilués ou dilués au $1/10^e$ ($d = 10$) de manière à ce que la concentration mesurée soit maximale mais inférieure à la borne supérieure de la gamme étalon. Le protocole a été prouvé répétable pour extraire le 5-HMF et le furfural (Annexe 8 Tableau 29).

3.6.3.2 Séparation et identification par UHPLC-DAD

La séparation et l'identification du furfural et du 5-HMF se font par UHPLC à l'aide d'un système U3000 Thermo Fisher Dionex (États-Unis) équipé d'une pompe RS, d'un échantillonneur automatique RS et d'un four couplés à un détecteur DAD (photodiode array detector). La phase stationnaire était contenue dans une colonne Acquity UPLC HSS T3 100 x 2,1 mm x 1,8 μm (Waters, États-Unis) avec une pré-colonne Vanguard HSS T3 5 x 2,1 mm x 1,8 μm (Waters, États-Unis) constituée du même matériau.

Les chromatogrammes sont traités à l'aide du logiciel Chromeleon™ (Thermo Fisher Scientific, États-Unis) selon une méthode de traitement automatisée pour avoir la collecte des aires de pics à 277 nm pour le furfural et 284 nm pour le 5-HMF, ainsi que le calcul automatique des concentrations en composés dans le vial ($g. L^{-1}$) grâce aux gammes étalons réalisées en début et fin de la séquence pour le calcul de la régression.

Les temps de rétention pour le furfural et le 5-HMF sont respectivement de 2,830 min et 1,917 min.

Les phases mobiles utilisées sont les suivantes : Voie A : Eau LC-MS 0,1% HCOOH ; Voie B : Acétonitrile 0,1% HCOOH. Le liquide de nettoyage est un mélange méthanol/eau LC-MS (10/90, v/v). Le gradient est programmé comme indiqué dans le Tableau 8.

Tableau 8. Gradient des phases mobiles pour le dosage du furfural et du 5-HMF par UHPLC-DAD

Temps (min)	Débit (mL.min ⁻¹)	A (%)	B (%)
0	0,5	95	5
1,5	0,5	95	5
1,6	0,5	0	100
4	0,5	0	100
4,1	0,5	95	5
11	0,5	95	5

3.6.3.3 Étude de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles

Le domaine de linéarité de la méthode pour le furfural et le HMF a été évalué pour des concentrations allant de 0,05 mg.L⁻¹ à 21,1 mg.L⁻¹ en 7 points. La réponse est de type linéaire, sans pondération et en ignorant l'origine (sans forcer le passage par zéro, ni inclure le zéro dans les calculs) (Figure 43).

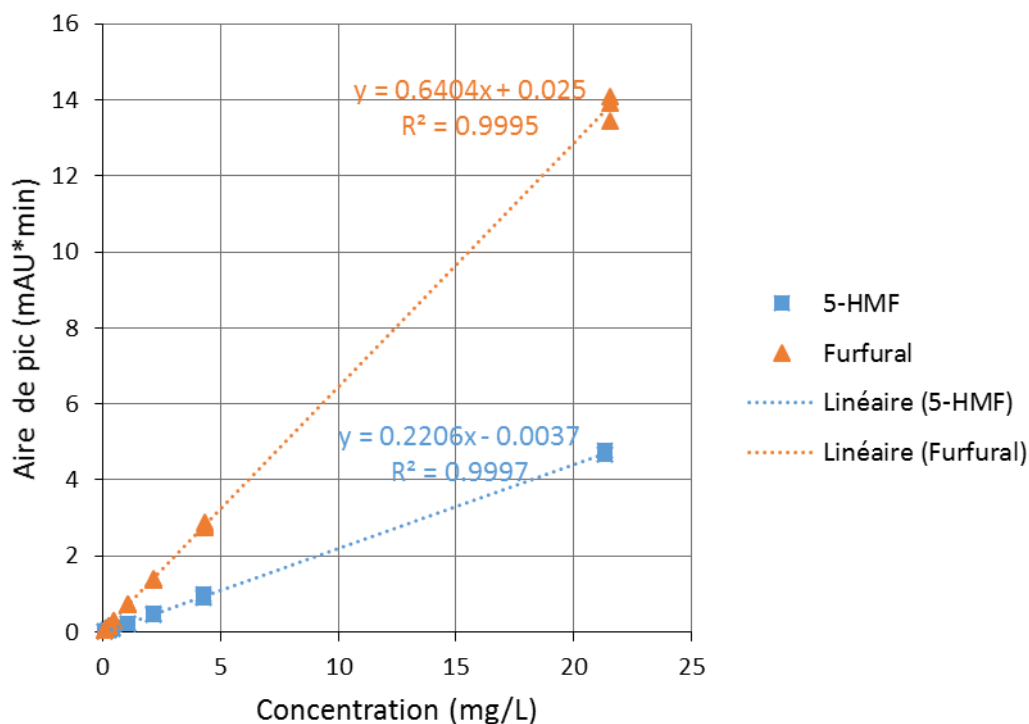


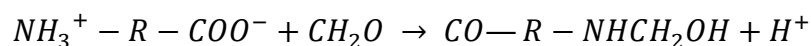
Figure 43. Exemples de courbes d'étalonnage du 5-HMF et du furfural

Les valeurs de *LOD* et *LOQ* sont déduites du bruit de fond comme au point 1.6.2.4. Elles sont de 5,93 µg.L⁻¹ et 19,8 µg.L⁻¹ pour le furfural, et de 0,190 µg.L⁻¹ et 0,634 µg.L⁻¹ pour le 5-HMF. La méthode de préparation des échantillons étant identique à celle utilisée pour le dosage des sucres, la méthode de calcul des concentrations dans la matrice l'est également (Equation 13), en utilisant les masses molaires du 5-HMF (M_{5-HMF}) et du furfural ($M_{furfural}$) égales à 126,11 et 98,08 g.mol⁻¹.

3.6.4 Analyse quantitative des NH₂ libres

La leucine étant le seul acide aminé introduit comme précurseur dans les génoises modèles, sa concentration est mesurée par dosage des groupements aminés libres par titration au formaldéhyde selon la méthode de Sørensen, à l'aide d'un titrateur Titrand 809 (Metrohm, France) équipé d'un autosampler 814 USB et piloté par le logiciel Tiamo™ v1.2.1.

La titration est basée sur la réaction équimolaire entre l'amine et le formaldéhyde (Équation 13).



Équation 13. Réaction entre un groupement aminé et le formaldéhyde

3.6.4.1 Préparation des réactifs, extraction et titration de la leucine

Le formaldéhyde 30% est neutralisé avec une solution de NaOH 0,005 N, dont la concentration réelle (C_{NaOH}) est déterminée par dosage avec une solution standard d'acide oxalique 0,05 N.

Un échantillon de 0,038 g de broyat lyophilisé ($m_{prise\ d'essai}$) est introduit dans un tube d'analyse muni d'un barreau aimanté dans lequel environ 20 mL d'eau milliQ sont ajoutés. Le tube est posé sur un agitateur à vitesse modérée pendant 1,5 min (temps optimisé par la mise au point, voir annexe 9 Figure 82) pour l'extraction de la leucine.

Afin d'éviter d'éventuelles perturbations par des acides faibles, la titration est réalisée en milieu basique à un pH de 8,50 pour neutraliser tous les groupes carboxyles présents. Le pH de l'échantillon est amené à 8,50 par ajout de NaOH 0,005 N. 15 mL (quantité optimisée par la mise au point, voir annexe 10 Figure 83) de formaldéhyde 30% y sont ensuite ajoutés, puis le pH est ré-ajusté à 8,50 par ajout d'un volume V_{NaOH} de NaOH 0,005 N. La concentration en leucine est calculée par l'Équation 14.

$$C_{leucine} (mmol.g_{MS}^{-1}) = \frac{V_{NaOH} \times C_{NaOH}}{m_{prise\ d'essai} \times TMS_{lyoph} \times M_{glucose}}$$

Équation 14. Calcul de la concentration en leucine de la prise d'essai

3.6.4.2 Domaine de linéarité, répétabilité de la gamme d'étalonnage, détermination des limites de détection et de quantification et calcul de la concentration dans les génoises modèles

Le domaine de linéarité a été étudié pour des concentrations comprises entre 0,0039 et 0,0382 mmol.g⁻¹ avec 6 niveaux de dilution, à partir de 3 solutions mères à 0,038 mmol.g⁻¹. Chaque point de la gamme a été analysé de 4 à 9 fois. La réponse est linéaire sur toute la gamme, avec $R^2 = 0,9972$ (Équation 15).

$$V_{NaOH} (ml.g^{-1}) = 179,23 \times C_{leucine} (mmol.g^{-1}) + 0,1724$$

Équation 15. Équation de la droite d'étalonnage de la leucine

Tous les points de la gamme d'étalonnage ont été répétés et ont été considérés comme répétables (Annexe 11 Tableau 31).

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées à partir de la pente et de l'écart-type des ordonnées à l'origine de la droite d'étalonnage (σ_{a_0}) (Équation 16, Équation 17).

$$LOD = \frac{3 \times \sigma_{a_0}}{Pente}$$

Équation 16. Calcul de la limite de détection (LOD)

$$LOQ = \frac{10 \times \sigma_{a_0}}{Pente}$$

Équation 17. Calcul de la limite de quantification (LOQ)

Les valeurs identifiées sont : $LOD = 0,761 \mu mol.g^{-1}$ et $LOQ = 2,536 \mu mol.g^{-1}$.

3.6.5 Analyse quantitative des composés dicarboxylés

3.6.5.1 Extraction et préparation des échantillons

Les composés α -dicarboxylés sont extraits à 20°C (0.4 g de broyat + 20 g d'eau ultrapure). Après homogénéisation au vortex pendant 30 s à 3000 rpm, l'extrait est centrifugé à 5000g pendant 15 min. 5 mL de surnageant est mélangé avec 5 mL d'acétonitrile. La solution est homogénéisée au vortex pendant 30 s à 3000 rpm, puis centrifugée à 7000g pendant 3 min. 900 μ L de surnageant est récupéré dans un SafeLock Eppendorf (Fisher Scientific, Etats-Unis) et les réactifs suivants y sont ajoutés : 150 μ L de tampon phosphate pH 7,0 à 100 mmol.L⁻¹ et 150 μ L d'o-PDA à 0,2% dans le DETAPAC à 10 mmol.L⁻¹. Le mélange est placé dans une étuve à 60°C pendant

30 minutes pour la dérivation puis, il est refroidi à température ambiante pendant 1 min. 100 µL de l'étalon interne d4-quinoline à 10 mg.L⁻¹ sont alors ajoutés. Le mélange final est alors agité puis filtré sur une membrane en nylon de porosité 0,2 µm pour la mise en vial. Les préparations sont diluées au 1/50^e (*d* = 50) uniquement si nécessaire de manière à ce que la concentration mesurée dans le vial soit maximale mais inférieure à la borne supérieure de la gamme étalon.

La répétabilité du protocole d'extraction du 3-déoxyosone a été évaluée en faisant l'extraction 8 fois sur un même échantillon broyé et lyophilisé. La concentration en 3-déoxyosone obtenue est répétable avec un coefficient de variation de 0.01%.

3.6.5.2 Séparation et identification par UHPLC-MS

La séparation et l'identification des composés α-dicarbonylés se font *via* un système Waters® Acquity H-Class (États-Unis) composé d'une pompe (QSM), d'un passeur réfrigéré Trough Needle (SM-FTN) et d'un four couplés à un spectromètre de masse haute résolution (MS) à temps de vol (Xevo G2-S QToF), équipé d'une source d'ionisation électrospray (ESI). Toutes les analyses par la MS sont faites en polarité positive avec un temps de scan de 0,5 s, et une gamme de 50 à 600 pour les ratios *m/z*.

Les composés sont séparés à 30°C sur une colonne Purospher® STAR RP-18e, 150 x 4,6 mm avec un diamètre de particules de 5 µm (Merck, Allemagne). Les phases mobiles utilisées sont les suivantes : Voie A : Eau LC-MS 1% HCOOH ; Voie B : Méthanol 1% HCOOH. Le liquide de nettoyage est un mélange acétonitrile/Eau (50/50, v/v) Le gradient est programmé comme indiqué dans le Tableau 9.

Tableau 9. Gradient des phases mobiles pour le dosage des composés α-dicarbonylés par UHPLC-MS

Temps (min)	Débit (mL.min ⁻¹)	%A	%B
0	1,00	70	30
10	1,00	40	60
12	1,00	70	30
15	1,00	70	30

Les chromatogrammes sont traités et les aires de pics sont récupérées à l'aide du logiciel MassLynx Software (Waters, États-Unis). Les ratios m/z sélectionnés pour la quantification et les temps de rétention utilisés pour chacun des composés sont regroupés dans le Tableau 10.

Tableau 10. Formes dérivées des composés α -dicarbonylés associés à leurs temps de rétention et ratios m/z sélectionnés pour la quantification

Composé	Temps de rétention (min)	Ions utilisés pour la quantification (m/z)
Glucosone (GCO) derivative	3.52	235.1077
1-Deoxyosone (1-D) derivative	4.10	217.0971
3-Deoxyosone (3-D) derivative	4.48	217.0971
3,4-Dideoxyosone (3,4-D) derivative	6.56	251.1009
Quinoxaline (Glyoxal (GO) derivative)	7.65	131.0598
Methylquinoxaline (Methylglyoxal (MGO) derivative)	9.40	145.0760
Dimethylquinoxaline (Diacetyl (DA) derivative)	10.82	159.0922
<i>Etalon interne</i>		
d4-quinoxaline	7.54	135.0855

Les domaines de réponses de la méthode ont été évalués en 8 points pour des concentrations allant de 0,05 à 21,0 mg.L⁻¹ pour la quinoxaline, à 0,01 à 3,0 mg.L⁻¹ pour le méthylquinoxaline et 0,005 à 1,5 mg.L⁻¹ pour la diméthylquinoxaline. Les solutions étalons sont injectées après mélange avec les réactifs utilisés pour le traitement des échantillons mais en remplaçant l'o-PDA par du tampon phosphate pH7 et avec ajout d'étalon interne d4-quinoxaline à 10 mg.L⁻¹. Comme il n'existe pas d'étalon commercial pour les dérivés du GCO, du 1-D, du 3-D, du 3,4-D, ces composés ont été quantifiés en utilisant la quinoxaline comme standard.

3.6.5.3 Quantification des marqueurs

La droite d'étalonnage est obtenue en reliant le ratio de l'aire du pic d'un marqueur X sur l'aire du pic de l'étalon interne à la masse du composé X injectée (Équation 19).

$$\frac{\text{Aire de pic de } X}{\text{Aire de pic de l'étalon interne}} = a_1 \times \text{masse de } X + a_0$$

Équation 18. Équation de la droite d'étalonnage interne des α -dicarbonylés dosés par UHPLC-MS

3.6.5.4 Détermination des limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées à partir de la pente et de l'écart-type des ordonnées à l'origine de la droite d'étalonnage (σ_{a_0}) (Équation 16, Équation 17). Ainsi, LOD et LOQ déterminés pour les composés ayant un standard commercial sont regroupés dans le tableau ci-dessous

Tableau 11. LOD et LOQ des composés α -dicarbonylés

Composé	LOD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LOQ (mg.L^{-1})
Quinoxaline (Glyoxal (GO) derivative)	3,6	12
Methylquinoxaline (Methylglyoxal (MGO) derivative)	1,0	3,4
Dimethylquinoxaline (Diacetyl (DA) derivative)	0,67	2,2

3.7 Échantillonnage et analyse quantitative des marqueurs volatils dans les vapeurs de cuisson

Cette méthode a été développée, mise au point et validée et fait l'objet d'un article (**Article 2**) présenté dans le chapitre 5.

3.7.1 Échantillonnage en ligne des vapeurs de cuisson

Des tubes d'adsorbant Air Toxics Supelco™ (Sigma Aldrich, USA) pour thermo-désorption (TD) sont utilisés pour piéger les composés volatils contenus dans les vapeurs de cuisson. Les tubes sont reliés à une colonne en verre installées au bout du tube d'adsorbant (Figure 44).

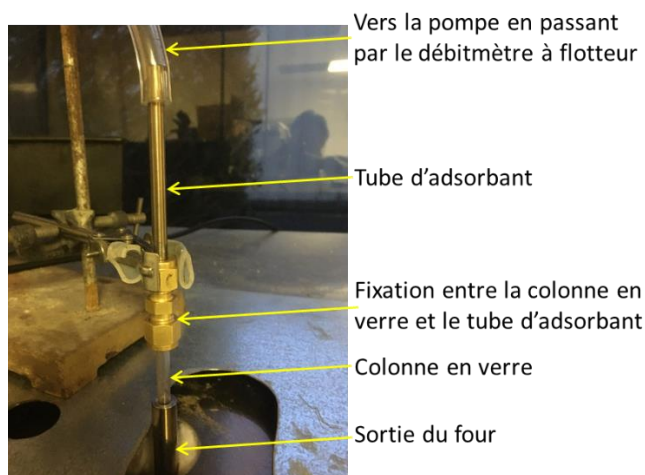


Figure 44. Photographie légendée de la fixation du tube d'adsorbant en sortie du four

En aval du tube d'adsorbant, l'air du four est aspiré par une pompe à vide VCP 130 (VWR, USA) reliée à un débitmètre à flotteur 355 L VD T1 (Serv' Instrumentation, France) avec vanne en sortie. Le débit d'extraction de l'air du four ($debit_{ext\ air}$) est fixé à $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La colonne en verre de 25 cm de longueur et 4,5 mm de diamètres interne en amont du tube d'adsorbant pénètre dans le four *via* un trou dans le toit du four jusqu'au centre du four d'où l'air est aspiré (Figure 44). L'aspiration de l'air du four est continue. En dehors des intervalles de prélèvements, le tube en verre est directement connecté au tuyau souple conduisant à la pompe.

3.7.2 Désactivation des colonnes en verre pour l'échantillonnage des vapeurs de cuisson

Un traitement de désactivation et de silanisation est appliqué aux tubulures en verre (diamètre externe 6,35 mm x diamètre interne 4,5 mm x longueur 20 cm) utilisées pour l'extraction des composés volatils afin d'éviter que les groupements silanols présents sur la surface du verre puissent être relargués et piégés par les tubes d'adsorbant (Boutboul, 2001). Les colonnes sont lavées dans un bain d'éthanol à 95° (Sophyc, France) à température ambiante, puis d'acétone (Carlo Erba, Italie) pendant 5 min. Puis, elles sont placées au-dessus d'une solution bouillante d'acide chlorhydrique à 36%, saturée en chlorure de sodium et sous agitation pendant 1 h. Les colonnes sont rincées à l'éther éthylique (Carlo Erba, Italie) avant d'être mises dans un bain de diméthylchlorosilane (Fluka, Sigma-Aldrich, USA) à 10% (en volume) dans le toluène (Carlo Erba, Italie) pendant 15 min, puis dans un bain de méthanol (Fluka, Sigma-Aldrich, USA) pendant 1 min. Enfin, les colonnes sont séchées à l'étuve à 100°C pendant 12 h.

3.7.3 Désorption des composés piégés sur les tubes d'adsorbant

La désorption des composés piégés dans les tubes d'adsorbant est réalisée grâce à un désorbeur thermique automatique TurboMatrix 650 (Perkin Elmer, USA). Les tubes d'adsorbant sont tout d'abord traversés par un flux d'air sec à un débit de 50 mL.min⁻¹ afin d'éliminer toute trace d'eau pendant 10 min. La désorption est ensuite réalisée par étapes en mode « 2-stage desorption » sur le logiciel TurboMatrix™. Dans un premier temps, la désorption primaire permettant le transfert des composés du tube d'adsorbant vers le piège froid de type « Air monitoring » à -20°C, se fait avec un débit d'hélium de 60 mL.min⁻¹ pendant 20 min à 330°C. Pendant tout le temps de la désorption primaire, une partie de ce débit (8 mL.min⁻¹) est évacuée par une fuite dite « Inlet split », le reste traverse le piège froid pour permettre l'adsorption des composés. La désorption secondaire permet le transfert des composés du piège froid vers la colonne de chromatographie en phase gazeuse (CPG) et est réalisée en augmentant la température du piège de -20°C à +330°C à la vitesse de 99°C.s⁻¹. Une fuite en sortie du piège dite « Outlet split » est réalisée à un débit de 15 mL.min⁻¹. Les composés ainsi désorbés sont injectés vers la colonne de CPG à un débit de 1,4 mL.min⁻¹ *via* une ligne de transfert à 270°C. Le pourcentage d'injection est 7,5%.

Le conditionnement des tubes d'adsorbant est ensuite réalisé à 330°C pendant 40 min afin de les nettoyer et de les reconditionner pour l'analyse suivante. Le piège est nettoyé par chauffage à 330°C pendant 30 min ou 45 min dans les cas où la gamme d'étalonnage est analysée.

3.7.4 Séparation et identification des composés par GC-MS

La séparation des composés est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse Trace 1300 (Thermo Scientific, USA) avec une colonne polaire J&W de type DM-WAXms (Agilent, USA) de 60 m x 0,25 mm avec un diamètre interne de 0,5 µm. Après injection des composés, l'évolution de la température du four est la suivante : une première rampe de température permettant de passer de 100°C à 184°C à une vitesse de chauffage de 3°C.min⁻¹, suivie d'une seconde à une vitesse de chauffage de 15°C.min⁻¹ jusqu'à 240°C. La température est ensuite maintenue pendant 11 min, ainsi la durée totale est de 43 min.

L'identification des composés est faite par la spectrométrie de masse sur un appareil ISQ QD (Thermo Scientific, USA) avec une température de source de 200°C et une ligne de transfert à 270°C. L'ionisation s'effectue en mode impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV. Le balayage utilisé est de type « full-scan » (33-250 uma) pendant toute la durée du

chromatogramme, couplé au mode SIM avec des ions choisis en fonction des temps de rétention des marqueurs analysés. La plage des masses balayées en courant ionique total (TIC) commence à $m/z = 33$ uma et se termine à $m/z = 250$ uma avec un temps de balayage de 0,4 s.

Le traitement des chromatogrammes est réalisé et les aires de pics sont récupérées à l'aide du logiciel Xcalibur™ v2.2 (Thermo Fisher Scientific, Etats-Unis).

3.7.5 Préparation de la gamme d'étalonnage et des étalons internes

Les composés ainsi séparés et identifiés (Tableau 12) sont quantifiés en utilisant des étalons internes.

Tableau 12. Composés volatils quantifiés par TD-GC-MS avec leur temps de rétention et les ratios m/z sélectionnés pour la quantification

Composé	Numéro CAS	Temps de rétention (min)	Ions utilisés pour la quantification (m/z)	Bornes de la gamme étalon
3-methylbutanal (3-MB)	590-86-3	5.11	58, 71	0.3160 g.L ⁻¹ - 98.92 g.L ⁻¹
Pyrazine (P)	290-37-9	8.51	80, 53	3.939 mg.L ⁻¹ - 0.1231 g.L ⁻¹
2-methylpyrazine (2-MP)	109-08-0	9.64	67, 94	1.086 mg.L ⁻¹ - 0.4000 g.L ⁻¹
2,5-dimethylpyrazine (2,5-DMP)	123-32-0	10.94	108, 42	1.041 mg.L ⁻¹ - 0.3257 g.L ⁻¹
2,6-dimethylpyrazine (2,6-DMP)	108-50-9	11.06	108, 42	0.4686 mg.L ⁻¹ - 0.1465 g.L ⁻¹
Acide acétique (AA)	64-19-7	13.97	60	0.0384 g.L ⁻¹ - 12.02 g.L ⁻¹
Furfural (F)	98-01-1	14.98	95, 96	0.0302 g.L ⁻¹ - 9.4394 g.L ⁻¹

5-methylfurfural (5-MF)	620-02-0	18.68	109, 110, 81	7.3947 mg.L ⁻¹ - 2.3120 g.L ⁻¹
furfuryl alcohol (FA)	98-00-0	21.11	81, 97, 98	3.260 mg.L ⁻¹ - 1.019 g.L ⁻¹
5-hydroxymethylfurfural (5-HMF)	67-47-0	41.74	126, 97	6.105 mg.L ⁻¹ - 1.909 g.L ⁻¹
<i>Etalons internes</i>				
d4-pyrazine	1758-62-9	8.52	84, 56	
d4-furfural	1219803- 80-1	15.07	99, 100	

La d4-pyrazine est utilisé pour le 3-MEB, P, 2-MP, 2,5-DMP et 2,6-DMP et le d4-furfural est utilisé pour AA, F, 5-MF, FF et 5-HMF. Les standards sont préparés dans le méthanol en 6 points avec à chaque fois la d4-pyrazine et le d4-furfural à 68.07 mg.L⁻¹ et 74.37 mg.L⁻¹, respectivement. 1 µL de ces solutions est ensuite injecté dans les tubes d'adsorbants avant analyse. Pour les tubes ayant servi à piéger les composés volatils à la sortie du four, 1 µL de solution d'étalons internes (d4-pyrazine à 68.07 mg.L⁻¹ et d4-furfural à 74.37 mg.L⁻¹) est ajouté à chaque tube d'adsorbant avant analyse.

Le fait d'utiliser des étalons internes présente l'avantage de permettre de vérifier la variabilité due au protocole analytique et de ne pas subir la variabilité de réponse du détecteur de masse dans le temps. Le ratio de l'aire d'une molécule X sur celle de l'étalon interne n'est pas censé varier car les deux molécules subissent le même parcours analytique.

3.7.6 Quantification des marqueurs volatils

La droite d'étalonnage est obtenue en reliant le ratio de l'aire du pic d'un marqueur X sur l'aire du pic de l'étalon interne à la masse du composé X injectée (Équation 19).

$$\frac{\text{Aire de pic de } X}{\text{Aire de pic de l'étalon interne}} = a_1 \times \text{masse de } X + a_0$$

Équation 19. Équation de la droite d'étalonnage interne des marqueurs volatils

La concentration du marqueur X piégé dans le tube d'adsorbant à un moment t donné est calculée à partir de la masse du marqueur X (m_X) obtenue par TD-GC-MS à l'aide de l'équation 19, de la durée d'extraction ($durée_{ext}$), du débit d'extraction d'air ($débit_{ext\ air}$), de la moyenne des $TMS_{pâte\ crue}$ et de la masse molaire du marqueur X (M_X) (Équation 20). La moyenne des $TMS_{pâte\ crue}$ pour la pâte crue G est de $0,4294\ g_{MS}\cdot g_{pâte}^{-1}$ ($n=13$) et celle pour la pâte crue $G+L$ est de $0,4355\ g_{MS}\cdot g_{pâte}^{-1}$ ($n=11$).

$$[X] \left(mol \cdot L_{air\ extrait}^{-1} \cdot g_{MS}^{-1} \right) = \frac{m_X}{durée_{ext} \times débit_{ext\ air} \times TMS_{pâte\ crue} \times nombre_{génénoises} \times M_X}$$

Équation 20. Calcul de la concentration d'un marqueur volatil X piégé dans le tube d'adsorbant à un point cinétique donné

3.7.7 Détermination des limites de détection et de quantification

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées à partir de la pente et de l'écart-type des ordonnées à l'origine de la droite d'étalonnage (σ_{a_0}) (Équation 16, Équation 17). Ainsi, LOD et LOQ déterminés pour les marqueurs volatils sont regroupés dans le Tableau 13.

Tableau 13. LOD et LOQ des marqueurs volatils

Compound	LOD (ng)	LOQ (ng)
3-méthylbutanal	5,17	17,2
pyrazine	1,42	4,74
2-méthylpyrazine	0,86	2,86
2,5-diméthylpyrazine	1,58	5,25
2,6-diméthylpyrazine	0,413	1,38
acide acétique	56,5	188
furfural	15,3	51,1
5-méthylfurfural	7,15	23,9
2-furanméthanol	5,33	17,8
5-hydroxyméthylfurfural	92,9	310

4 - VALIDATION ET EXPLOITATION DE LA GENOISE MODELE EN TANT QUE BASE D'ETUDE DE LA REACTIVITE

L'une des premières étapes du travail de thèse s'est attachée à vérifier et valider la non réactivité de la génoise modèle (Bousquière, 2017) vis-à-vis des réactions de Maillard et de la caramélisation et également à exploiter ses potentialités en tant que base d'étude pour la réactivité.

Dans un premier temps, l'absence des précurseurs (monosaccharides réducteurs et NH₂ libres) dans les génoises modèles a été vérifiée. Ensuite, l'absence de production de composés volatils caractéristiques des réactions de Maillard et de caramélisation au cours de la cuisson a été mise en évidence en utilisant la technique de piégeage en ligne de la vapeur de cuisson suivie de l'analyse qualitative des composés volatils par TD-GC-MS. Enfin, l'activation des réactions par l'ajout des précurseurs (glucose, leucine) a été vérifiée, démontrant ainsi la faisabilité du dispositif pour l'étude de l'avancement réactionnel en utilisant ces génoises modèles et l'analyse qualitative des marqueurs volatils, ainsi que la détermination de l'acidité et du brunissement global et de surface.

Cette partie est composée tout d'abord d'un article soumis au journal Food Research International, intitulé : ***Potential of model cakes to study reaction kinetics during baking through the dynamic on-line extraction of volatile markers and TD-GC-MS analysis***, puis de résultats complémentaires sur l'utilisation de marqueurs indirects de l'avancement des réactions que sont le brunissement et l'acidité.

4.1 Potential of model cakes to study reaction kinetics during baking through the dynamic on-line extraction of volatile markers and TD-GC-MS analysis (Article 1)

Soumis à Food Research International

Lee^a, J., Bousquières^a, J., Descharles, N., Roux, S., Michon, C., Rega, B., Bonazzi, C.*

Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, UMR SayFood, 91300, Massy, France

^a Co-first authorship: these authors contributed equally to this work

* Corresponding author. Catherine Bonazzi, Paris-Saclay Food and Bioproduct Engineering research unit, 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France. Tel.: +33 169935026; e-mail address: catherine.bonazzi@agroparistech.fr

Other authors e-mail addresses: jeehyun.lee@agroparistech.fr ;

josselin.bousquieres@gmail.com ; nicolas.descharles@agroparistech.fr ;

stephanie.roux@agroparistech.fr ; camille.michon@inra.fr ; barbara.rega@agroparistech.fr

Keywords:

Solid food model, Maillard reaction, caramelization, Strecker degradation, reaction pathways, process parameters, temperature, thermal desorption, cereal product, leucine, glucose, aroma

Highlights:

- A designed hydrocolloid/starch-based model cake was proven non-reactive while baking
- On purpose addition of precursors activated Maillard and/or caramelization reactions
- 20 specific markers were semi-quantified by TD-GC-MS on vapors during baking
- TD enables reliable on-line dynamic extraction for multiresponse kinetic studies

Abstract:

This study presents a novel strategy for the dynamic analysis of volatile compounds extracted from baking vapors using a fit-for-purpose model cake. This model imitates a real sponge cake in terms of structure and processing but it is not reactive towards Maillard and caramelization

reactions. When implemented with precursors (glucose (*G*) or glucose + leucine (*G+L*)), the reactions are activated and volatile markers can be monitored dynamically during baking. A method for the on-line sampling of vapors during baking using sorbent tubes coupled to thermal desorption (TD-GC-MS) has been developed and proven to be an appropriate and rapid technique to analyze a large number of volatile compounds within a broad range of physical and chemical characteristics. Volatile markers such as acetic acid, furfural, furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural were identified using both models: glucose (*G*) and glucose+leucine (*G+L*) because they arise from both caramelization and the Maillard reaction. On the other hand, 3-methylbutanal and 2,5-dimethylpyrazine were only identified in the (*G+L*) model cake as they arise from the Strecker degradation pathway induced by the presence of leucine. Moreover, the relative abundance of all markers of reactions covers a broad range. On-line sampling coupled to TD-GC-MS enabled the collection of kinetic data on these markers throughout the baking operation and discrimination of the two formulas (*G* vs *G+L*) and two baking temperatures (170°C and 200°C) used. These results offer promise for the further use of this approach to study reaction kinetics in model cakes.

4.1.1 Introduction

In all food products that contain reducing sugars and proteins and are subjected to thermal treatments (drying, pasteurizing, baking, roasting), the Maillard reaction and caramelization are responsible for the development of a brown color and specific roasted or sweet tastes or aromas (odors of chocolate, roasted nuts, roasted almonds or sweet burnt sugar (Cha, Debnath, & Lee, 2019)). In particular, browning or the generation of aroma compounds during the baking of cereal products has been widely studied (Cerny, 2010; Golon, Javier, Da, & Kuhnert, 2013; Starowicz & Zieliński, 2019). In recent years, it has also been shown that these reactions may be responsible for the formation of undesirable toxic compounds, which include furanic compounds (Cepeda-Vázquez, Rega, Descharles, & Camel, 2018), acrylamide (Stadler et al., 2002), heterocyclic amines and advanced glycation end products (Teng, Hu, Tao, & Wang, 2018). Mastering the thermal reactivity of processed foods by fine tuning formulations and processes is therefore of crucial importance to food quality and safety.

The chemistry of the Maillard reaction, first described by Maillard in 1912 and formalized by Hodge in 1953, is a complicated cascade of numerous parallel and consecutive pathways leading

to a large number of possible intermediate and final products. In a complex food, the Maillard reaction almost always interacts with other pathways such as caramelization and lipid oxidation (Hidalgo, Alaiz, & Zamora, 1999). This markedly hampers any comprehensive understanding of reactivity and its control in foods. Many studies have therefore been conducted in liquid and semi-liquid model systems focused on specific pathways thanks to the use of selected precursors (Gökmen, Kocadağlı, Göncüoğlu, & Mogol, 2012; Jusino, Ho, & Tong, 1997; Rainer Cremer & Eichner, 2000). The use of fully agitated liquid systems is an appropriate method to discriminate specific reaction pathways, but the results are little transferable to solid foods. Indeed, in a solid food subjected to thermal treatments, the mobility of precursors is reduced and structural and thermal heterogeneity needs to be taken into account because of their local impact on the reactions.

Kinetic reaction data and modelling are required to better understand the response pathways involved. Kinetic modelling can be of considerable assistance to better understanding the reaction pathways in food products, as it is a robust tool to clarify the rate-determining steps in complex reactions and thus understand their mechanisms (De Vleeschouwer, Van der Plancken, Van Loey, & Hendrickx, 2009; Martins, Jongen, & van Boekel, 2000). However, this approach requires accurate measurements of reaction markers and suitable reaction media to study kinetics in a controlled environment in terms of the quantity and nature of reaction precursors.

Aroma compounds were widely studied for their organoleptic properties in baked products ((Ait Ameer, Mathieu, Lalanne, Trystram, & Birlouez-Aragon, 2007; Ait Ameer, Trystram, & Birlouez-Aragon, 2006; Cepeda-Vázquez et al., 2018; Dury-Brun, Lequin, Chalier, Desobry, & Voilley, 2007; Pacyński, Wojtasiak, & Mildner-Szkudlarz, 2015; Paraskevopoulou, Chrysanthou, & Koutidou, 2012; Rega, Guerard, Delarue, Maire, & Giampaoli, 2009; Takei, 1977)) and can also be considered as reaction markers. The on-line dynamic sampling of volatile compounds from the oven is an interesting and non-destructive method to analyze large quantities of reaction markers simultaneously during baking. This method was recently used during baking studies on real cereal products by several authors (Fehaili, Courel, Rega, & Giampaoli, 2010; Maire, Rega, Cuvelier, Soto, & Giampaoli, 2013; Rega, Guerard, Delarue, Maire, & Giampaoli, 2009) and is mainly based on solid phase micro-extraction (SPME), a method that has been widely applied in the environmental and analytical chemistry fields. Although it is a sensitive and rapid extraction method adapted to online extraction during product processing, it nevertheless remains limited

to qualitative or semi-quantitative applications and has the drawback of being fragile and poorly reproducible (high inter-fiber variability) when several fibers are used at the same time to perform dynamic sampling over a long period of processing.

Thermal desorption (TD) is a sampling technique that can extract and concentrate volatile molecules from vapor samples. TD has been used extensively to analyze air pollutants (Maret, 2013) or aroma compounds (Allwood et al., 2014; Gallego, Roca, Perales, Sánchez, & Esplugas, 2012). Cognat, Shepherd, Verrall & Stewart (2012) compared the SPME and TD techniques regarding the analysis of fresh and rancid oat cereal products. While producing similar results in terms of the volatile compound profile, both methods also demonstrated satisfactory performance regarding the presence of a suitable calibration step. The TD technique thus appears very promising for on-line sampling coupled to GC/MS analyses because of its robustness, its higher concentration capacity than SPME, its stability in terms of conservation and its high analytical throughput. To the best of our knowledge, this technique has never previously been applied to kinetic studies in a baking context.

A solid food model was very recently developed by Bousquière, Bonazzi and Michon (2017). This food model imitates sponge cake in terms of its structure and manufacturing method insofar as it develops an alveolar structure very similar to that of a true sponge cake using the same operations of mixing, foaming and baking. However, this solid food model does not contain any reactive ingredients as it has been formulated by replacing all of them (sugar, flour, eggs) with non-reactive ingredients (hydrocolloids, starch, water).

The aim of this study was to demonstrate the suitability of the model cake for studying the Maillard and caramelization reaction pathways in a comprehensive and discriminant manner by introducing *ad hoc* precursors (Leucine, Glucose) into the inert cake. Glucose was chosen as a simple reducing sugar participating in both caramelization and the Maillard reaction. Leucine was chosen since it is one of the 8 essential amino acids and the precursor of 3-methylbutanal (3-MEB), key aroma compound of cereal products (Zehentbauer & Grosch, 1998). The second goal was to develop TD on-line dynamic vapor extraction of volatile markers and demonstrate the feasibility of this technology for studying the reaction kinetics activated during the baking of precursor-containing model cakes.

4.1.2 Materials and Methods

4.1.2.1 *Ingredients and reagents*

The ingredients used for the real sponge cake were whole eggs (Ovipac, Ovoteam, Locminé, France), sucrose (Tereos, Lille, France) and wheat flour (Grands Moulins de Paris, France).

The ingredients used for the model cake were Ultrapure water (Milli-Q®), produced using an Integral 3 water purification system from Millipore®, native corn starch (Cargill, Minneapolis, USA) with a water content of 12.4% w/w (measured according to NF norm V05 707), and food grade cellulose derivatives (Dow Chemical, Midland, USA): methylcellulose (MC) type SGA7C and hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) type K250M). D-(+)-Glucose, used as a precursor, was supplied by Roquette Frères (Lestrem, France) and L-Leucine (Food Grade, ≥99%) came from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

Furan (≥99%), hexanal (≥98%), 2-pentylfuran (≥98%), 2,5-dimethylpyrazine (2,5-DMP) (≥99%), 2,3,5-trimethylpyrazine (2,3,5-TMP) (≥99.9%), furfural (≥99%), benzaldehyde (≥99%), 5-hydroxymethylfurfural (HMF) (≥99%), 3-MEB (>99%) and ammonia solution at ~25% (LC-MS grade) were all purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Water, acetonitrile and methanol used for glucose and fructose analysis were purchased from Carlo Erba (Val-de-Reuil, France). D-(+)-Glucose (≥99.5%), D-(-)-Fructose (≥99%), acetic acid (≥96%), methanol (≥99.9%), Carrez Reagent I and II, 30% formaldehyde and 0.005 N NaOH solution were also supplied by Carlo Erba (Val-De-Reuil, France).

4.1.2.2 *Batter preparation and baking conditions*

For the real sponge cake (R), 237 g whole eggs and 131.5 g sucrose were mixed together for 10 min with a planetary mixer (Kitchen Aid model 5KSM150, Benton Harbor, USA) equipped with a vertical whisk at speed 10. A quantity of 131.5 g flour was gradually added at speed 2 for 40 s, and the mixture was then blended for 1 min 50 s at speed 2.

Model sponge cakes were prepared according to the method developed by Bousquière et al. (2017) using a hydrocolloid solution of HPMC and MC foamed with starch prior to baking. Glucose and leucine were added to the inert model cake (I) as specific precursors of reaction pathways. The amount of glucose was selected according to sugar content in a reference sponge cake

($0.17 \text{ g.g}_{\text{batter}}^{-1}$ for *G* and $0.16 \text{ g.g}_{\text{batter}}^{-1}$ for *G+L*) whereas the amount of leucine ($0.04 \text{ g.g}_{\text{batter}}^{-1}$) was chosen based on the content in free amino acids and total free amino groups measured in the same reference product and considering that free amino acids are more reactive than proteins (Srivastava et al., 2018).

For each baking experiment, seven rectangular aluminum pans ($8 \times 4.3 \times 3.5 \text{ cm}$) were each filled with 60 g batter and baked in an instrumented pilot oven with precise and uniform control of temperature (170°C or 200°C) and a high level of convection (Bongard, Wolfisheim, France) (Fehaili et al., 2010).

4.1.2.3 Cake sampling during baking and sample preparation for precursor analysis

In order to measure the evolution of precursor concentrations, model cakes were sampled from the oven at different times (6, 12, 24, 33, 56, 75, and 90 min) during a baking experiment at 200°C under high ventilation. They were then sealed immediately (Multivac, Lagny-sur-Marrie, France) in previously tared aluminum bags and plunged into a water/ethanol bath at -8°C for a minimum of 15 min in order to halt any further reactions. The samples were then stored at -20°C for 24 to 48 hours before being frozen at -80°C for 24 hours and freeze-dried at 0.003 mbar under a condenser temperature of -85°C (Martin Christ, Osterode am Harz, Germany). Finally, the freeze-dried samples were ground for 1 min using an electric chopper (Moulinex, Ecully, France), divided into eight aliquots and stored frozen at -20°C until they were used for analysis.

4.1.2.4 Glucose and fructose quantification using UHPLC-CAD

Monosaccharides were extracted at 20°C (0.4 g of freeze-dried sample/ 20 g Ultrapure water). After homogenization with a vortex for 30 s/ 3000 rpm , the extract was centrifuged at $5000g$ for 15 min, and then 10 g of supernatant were mixed with 0.5 mL Carrez I and 0.5 mL Carrez II reagents. The solution was homogenized with a vortex for 30 s/ 3000 rpm , then centrifuged at $10,000g$ for 2 min. The supernatant was filtered through a $0.2 \mu\text{m}$ hydrophilic nylon membrane (Fisher Scientific, Hampton, USA) and placed in a vial.

The glucose and fructose concentrations were quantified by UHPLC using a Thermo Fisher Dionex (Waltham, USA) U3000 system equipped with a trinary solvent manager RS pump, a refrigerated RS autosampler and a column oven RS Column compartment, coupled to a Corona™ Veo™ RS Charged Aerosol detector (CAD). The stationary phase was an Acquity BEH Amide column

(Waters, Milford, USA), heated at 35°C with dimensions of 100 x 2.1 mm; 1.7 µm porous spherical particles. A Vanguard precolumn (5 x 2.1 mm) (Waters, Milford, USA) with the same stationary phase had been connected previously to the analytical column.

The mobile phase was composed of Water (A) and Acetonitrile (B), both alkalized with 10 mM NH₄OH, flowing at 0.26 mL.min⁻¹. The gradient started at 20% A, was maintained for 4 min then reached 50% A in 3 min, this composition being kept for 3 min to rinse the system before returning back to 20% A in 0.5 min and finally equilibrating for 8.5 min, the total run duration being 19 min. The data were processed using Chromeleon® v7.2 software.

Calibration with an external standard method was used. The response range was evaluated for concentrations ranging from 0.01 to 3 g.L⁻¹ at 4-6 points. The response was quadratic with the concentration on the ordinates and the peak area on the abscissa, without forcing the zero. The *LOD* and *LOQ* values for glucose were equal to 7.803 and 26.01 mg.L⁻¹, respectively, while for fructose they were equal to 9.339 and 31.13 mg.L⁻¹, respectively.

4.1.2.5 Quantification of free NH₂ by titration

Concentrations of free amino groups were measured by basic titration using the Sørensen method, where 0.038 g of a freeze-dried aliquot was suspended in 20 mL Ultrapure water and homogenized with a stirrer. Sample titration was fully automated using a Metrohm 809 Titrando titrator equipped with an autosampler (814 USB, Sample Processor, Metrohm, Herisau, Switzerland), and controlled by Tiamo v1.2.1 software. 15 mL of 30% formaldehyde were added to 20 mL of the solution brought to pH 8.5. The resulting acidity was titrated with a 0.005 N NaOH solution up to pH 8.5. The NaOH volume was used to calculate the concentration of free amino groups expressed in moles of NH₂ per gram of dry matter.

The linearity range of this method was evaluated for concentrations ranging from 0.0039 to 0.0382 mmol.g⁻¹ at six points. The *LOD* and *LOQ* values were equal to 0.761 and 2.536 µmol.g⁻¹, respectively.

4.1.2.6 Determination of dry matter content

The dry matter content of freeze-dried aliquots was determined by desiccation for 24 h at 105°C in a ventilated oven. The moisture content of the cakes was calculated from the difference in mass between the initial dough (precision 10⁻² g) and the sampled cake (precision 10⁻⁴ g).

4.1.2.7 Determination of the level of browning using image analysis

Images of the upper surface of the model cakes were taken using a EOS 1300D digital camera (Canon, Japan) in manual mode (f = 4.0, speed 1/200, and ISO100). The cakes were placed on blue paper card in a uniformly illuminated environment, with an angle between the camera lens axis and the lighting source axis of 45° to prevent diffuse reflection. The images were taken on the day after baking and then treated (thresholding and conversion to shades of gray) using ImageJ®. The distribution of the number of pixels by L^* values was obtained (between 0 and 100, CIE Lab color scale). After determining the level of threshold making it possible to discriminate the color of model cakes ($L^*_{threshold} = 75$), the level of browning was calculated according to Equation 21.

$$\text{Level of browning (\%)} = \frac{\text{Number of pixels for } L^* < L^*_{threshold}}{\text{Total number of pixels}} \times 100$$

Equation 21. Calculation of level of browning

4.1.2.8 On-line extraction of baking vapors by sorbent tubes

Volatile compounds were extracted during baking using Air Toxics™ sorbent tubes (Perkin Elmer, Waltham, USA) connected to the internal atmosphere of the oven *via* a deactivated and silanized glass column (4.5 mm of internal diameter, 18 cm of length), linked on the other side to a VCP 130 vacuum pump (VWR, Grafton, USA). A float flowmeter (Serv' Instrumentation, Lyon, France) enabled the extraction flow to be fixed at 50 mL/min during baking. Prior to any experiment, the oven was heated at 300°C for 1 hour under the same extraction flow in order to prevent any contamination, and the glass columns were rinsed with distilled water and dried after each baking experiment.

Baking vapors were sampled for 4 min at different time points during processing (0-4, 6-10, 24-28, 33-37, 58-62, and 88-92 min). This duration was long enough to collect sufficient quantities to meet the analytical limits, and short enough to discriminate the kinetic points during baking. A median time was then attributed to each kinetic point. After removing the sorbent tubes, they were sealed immediately with Teflon® caps, stored at ambient temperature and analyzed within the day.

4.1.2.9 Analysis of volatile compounds using TD-GC-MS

4.1.2.9.1 Thermal desorption of sorbent tubes

The desorption of Air Toxics™ tubes was performed with an automated TurboMatrix 650 thermal desorber (Perkin Elmer, USA). A dry air purge was applied for 10 min at 50 mL/min. Helium was used as the carrier gas. A first desorption was performed at 300°C for 10 min at 30 mL/min when the compounds were focused on a Tenax® cold trap at -20°C and then sent to the GC column by rapidly heating the trap from -20 to 280°C at 40°C/s, with an outlet split of 20 mL/min. In this manner, 16.7% of the gas volume of the volatile compounds desorbed from a sorbent tube was transferred to the GC system at a constant gas flow rate of 4 mL/min *via* a transfer line heated at 270°C. After each injection, the trap was cleaned by setting the hold time to 30 min at 280°C. The sorbent tubes were systematically conditioned after each analysis by heating at 330°C with a gas flow of 70 mL/min for 30 min.

4.1.2.9.2 GC-MS analysis of thermally desorbed volatile compounds

The volatile compounds were analyzed using a Trace 1300 Thermo Scientific gas chromatograph (Waltham, MA, USA) equipped with a DB-Wax GC column (60 m × 0.25 mm × 0.5 μm) coupled with an ISQ QD (Thermo Scientific, USA) mass spectrometer. The GC oven temperature was held at 80°C for 5 min, then raised to 170°C by increments of 4°C/min and then 240°C at 10°C/min, and was finally maintained at 240°C for 20 min. The MS transfer line and ion source temperatures were set at 270°C and 200°C, respectively. The ionization mode was electron impact (EI), at 70 eV. Mass detection was carried out in full scan and a selected ion monitoring mode over a mass range of 25-250 amu at 0.4 s per scan. The compounds were identified by comparison with the Wiley 8 and NIST 08 mass spectra databases, calculation of the normal alkane retention index (*RI exp*) and a comparison with the retention index from the NIST Chemistry WebBook (*RI ref*) and an analysis of pure standards. Chromatographic peak areas and heights for each compound were calculated using Xcalibur 2.1.0 SP1, build 1160 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA).

LOD and *LOQ* were estimated from an analysis of blanks, with a signal-to-noise ratio of 3 and 10, respectively.

4.1.2.9.3 Reproducibility, recovery and repeatability of extraction by sorbent tubes

Reproducibility, recovery and repeatability were assessed using a standard solution of nine compounds with different volatilities, typical of a sponge cake (Cepeda-Vázquez et al., 2018; Fehaili et al., 2010; Rega et al., 2009), diluted at 0.1 g.L⁻¹ in methanol, a solvent that is not

retained by Air Toxics™ tubes. 1 µL of this solution was vaporized at 250°C in the GC injector, then carried through a 1 m long deactivated silica capillary for 3 min (with helium as the carrier gas; 50 mL/min) to the sorbent tubes, which were then thermally desorbed and analyzed by GC-MS as previously described.

4.1.3 Results and Discussion

4.1.3.1 Analytical performance of the thermal desorption method for selected volatile compounds

The analytical performance of sorption on Air Toxics™ tubes, and desorption and analysis by TD-GC-MS, was tested on a broad range of compounds with different volatilities and polarities (Tableau 14). Reproducibility was assessed from the variation coefficients of the chromatographic peak areas for each compound over 12 different sorbent tubes, and from successive thermal desorption procedures performed twice on the same sorbent tube. Recovery was calculated as the ratio of the peak area obtained for the first desorption ($Area_{D1}$) to the sum of the peak areas obtained for both desorptions ($Area_{D1} + Area_{D2}$). Repeatability was determined by calculating the variation coefficient of the chromatographic peak areas of each compound over five repetitions on the same sorbent tube.

The results showed that the TD-GC-MS method selected enabled the extraction of 100% of most of the volatile compounds adsorbed in Air Toxics™ tubes, with excellent reproducibility ($\leq 10\%$) and repeatability ($\leq 20\%$). These values were less satisfactory for HMF, probably because of its weaker volatility which meant that the injection method chosen was less efficient.

Tableau 14. Analytical performance of sorbent tubes for selected volatile compounds

Compound	CAS No	Reaction pathway ^a	Chemical characteristics				Analytical performance		
			Formula	log K_{ow}^b	Pv at 25°C (mm Hg) ^b	K_H (atm.m ³ .mol ⁻¹) ^b	Reproducibility (%)	Recovery (%)	Repeatability (%)
Furan	110-00-9	MR, C, LO	C ₄ H ₄ O	1.34	600	5.4×10^{-3}	8.5	100	18.6
Hexanal	66-25-1	LO	C ₆ H ₁₂ O	1.78	11.3	2.13×10^{-4}	24.4	100	9.1
2-pentylfuran	3777-69-3	MR, LO	C ₉ H ₁₄ O	3.87	1.2	1.84×10^{-2}	10.1	99.7	5.9
2,5-dimethyl pyrazine	123-32-0	SD	C ₆ H ₈ N ₂	0.63	3.18	3.55×10^{-6}	8.6	100	9.8

2,3,5-trimethyl pyrazine	14667-55-1	SD	C ₇ H ₁₀ N	0.95	1.45	3.92 × 10 ⁻⁶	9.7	100	11.3
Acetic acid	64-19-7	MR, C	C ₂ H ₄ O ₂	-0.17	15.7	1.43 × 10 ⁻⁷	<i>nd</i>	94.3	<i>nd</i>
Furfural	98-01-1	MR, C	C ₅ H ₄ O ₂	0.41	2.21	3.8 × 10 ⁻⁶	8.1	100	9.2
Benzaldehyde	100-52-7	SD	C ₇ H ₆ O	1.48	0.127	2.67 × 10 ⁻⁵	8.3	100	12.0
5-hydroxy methyl furfural	67-47-0	MR, C	C ₆ H ₆ O ₃	-0.09	5.28 × 10 ⁻³	5.41 × 10 ⁻¹⁰	39.7	<i>nd</i>	27.3

^a: from Maire et al. Maire et al., 2013, MR = Maillard reaction, SD = Strecker degradation, C = caramelization, LO = lipid oxidation

^b: from the Pubchem or EPI Suite™ v4.0 databases. Log K_{ow} is a measure of hydrophobicity. P_v and K_H indicate the volatility of the compounds.

nd = not determined

4.1.3.2 Non reactivity of the model cake

The absence of possible Maillard or caramelization precursors in model cake *I* (inert, without any precursors) was first tested by measuring the concentrations of glucose, fructose and free amino groups in the batter and in model cakes baked under harsh conditions, *i.e.* at 200°C for different periods up to 90 min. All measured values were below the LOD. Starch could possibly be hydrolysed to D-glucose *via* an enzymatic or acid pathway (Kunamneni & Singh, 2005; Stevnebø, Sahlström, & Svihus, 2006), and Kunlan et al. (2001) also showed that heating would generally accelerate acid hydrolysis. Our measurements indicated that this hydrolysis was highly unlikely to happen in the present starch-based model cakes baked within a temperature range of 140°C to 200°C. Color determinations of inert model cake (*I*) also showed no signs of browning. These results therefore proved that any color changes to the model cake during baking would be solely due to reactions induced by supplementation with the precursors (reducing sugars and amino acids) leading to the formation of brown polymers. Tableau 15 shows the presence of 23 typical reaction markers of the Maillard or caramelization reactions determined by TD-GC-MS in baking vapors from a real sponge cake (*R*). This result was in agreement with the existing literature and in particular with the results obtained using SPME on similar formulations (Maire et al., 2013; Rega et al., 2009). However, when the inert model cake (*I*) was analyzed under the same conditions, Table 2 shows that apart from acetic acid (for which the peak area was between LOD and LOQ), none of these volatile reaction markers could be detected, even under the most stringent baking conditions (up to 60 min of baking at 200°C). This finding was in line with that of

a previous study by Srivastava et al., 2018, performed on a similar model cake, where no traces of furfural were detected (< LOD: 10.2 ng fufural/g sample dry basis).

In view of all these measurements, model cake (*I*) could be considered as a non-reactive product in terms of the Maillard and caramelization reactions and therefore suitable to study reaction pathways when supplemented with one or more precursors.

4.1.3.3 Activation of reactions in model cakes supplemented with G and G+L at high temperatures

To promote and study caramelization specifically, or combined with the Maillard reaction, two models were designed by adding glucose (*G* model) or glucose plus leucine (*G+L* model) to the inert model cake *I*. Glucose was chosen as a reducing sugar and one of the principal monosaccharides traditionally used as a baking ingredient. Leucine is one of the eight essential amino acids and the specific precursor of 3-MEB, which is known to be responsible for fruity and cocoa notes in baked or roasted products (Salem, Rooney, & Johnson, 1967).

With model cake *G*, acetic acid, furfural and HMF were detected in relatively large quantities in the baking vapors collected after 33-37 min of baking at 200°C under high convection, thus proving that the caramelization of glucose had taken place. Under the same baking conditions, other volatile compounds such as 2-pentanone, 2,3-pentanedione1-acetoxy-2-propanone, 2-cyclopentene-1,4-dione, propanoic acid, 2-methylpropanoic acid, furan, 3-methylfuran, furfuryl alcohol, and 5-methylfurfural were also detected and quantified for model cakes *G+L*. Hexanal was detected (<LOQ) suggesting that lipid traces from starch may have been oxidized. Quite large quantities of 3-MEB were also detected, together with lower levels of pyrazine, methylpyrazine and 2,5-DMP, all of them indicating that Strecker degradation had taken place. All these compounds were found in a real sponge cake where 16 volatile compounds were quantified and three others detected after 30 min of baking under harsh thermal conditions (200°C, high ventilation) (Tableau 15). These results therefore indicated that the extraction and analytical methods used in this study were suitable for tracking the levels of a broad range of volatile markers typical of caramelization, Maillard reactions and lipid oxidation pathways that formed during baking.

Tableau 15. Peak areas of volatile compounds measured from vapor using TD-GC-MS during baking at 200°C under high ventilation for a real sponge cake (*R*) and model cakes without (*I*) or with added precursors (*G* and *G+L*)

Class	Compound	CAS No	RI	RI	Identificat ion method ^c	Chromatographic peak area (a.u.*min)						
			ref. ^b	exp ^a		<i>R</i>	<i>I</i>	<i>I</i>	<i>G</i>	<i>G+L</i>		
						30-34 min (n=1)	25-30 min (n=1)	55-60 min (n=1)	33-37 min (n=3) Mean STD		33-37 min (n=2) Mean STD	
Aldehydes	2- methylpropanal	78-84-2	855	851	MS, RI	1E+8	<LOD	<LOD	<LOD			<LOQ
	Butanal	123-72-8	904	916	MS, RI	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD			<LOD
	3- methylbutanal	590-86-3	943	978	MS, RI, STD	6E+7	<LOD	<LOD	<LOD			9E+9 1E+ 9
	Pentanal	110-62-3	100	101	MS, RI	3E+7	<LOD	<LOD	<LOD			<LOD
				3	9							
	Hexanal	66-25-1	112	111	MS, RI	3E+7	<LOD	<LOD	<LOQ			<LOD
			0	9								
Ketons	2-butanone	78-93-3	926	939	MS, RI	3E+7	<LOD	<LOD	<LOD			<LOD
	2,3- butanedione	431-03-8	102	101	MS, RI	8E+7	<LOD	<LOD	<LOQ			<LOD
				0	0							
	2-pentanone	107-87-9	100	101	MS, RI	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD			3E+8 2E+ 8
				5	1							
	2,3- pentanedione	600-14-6	108	109	MS, RI	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD			3E+7 2E+ 7
				2	3							
	1-hydroxy-2- propanone	116-09-6	132	136	MS, RI	1E+7	<LOD	<LOD	<LOD			<LOD
			1	1								
	1-acetoxy-2- propanone	592-20-1	148	150	MS, RI	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD			4E+7 2E+ 7
			4	4								
	2-cyclopentene- 1,4-dione	930-60-9	<i>nf</i>	165	MS	2E+8	<LOD	<LOD	<LOQ			6E+8 3E+ 8
				4								
Acides	Acetic acid	64-19-7	148	148	MS, RI, STD	6E+9	<LOQ	<LOQ	4E+8	6E+ 7	4E+9	1E+ 9
			8	7								
	Propanoic acid	79-09-4	157	157	MS, RI	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD			5E+7 1E+ 7
			4	8								
	2-methyl propanoic acid	79-31-2	158	160	MS, RI	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD			4E+8 2E+ 8
			8	5								
Pyrazine compounds	Pyrazine	290-37-9	125	126	MS, RI, STD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD			3E+7 1E+ 7
			7	0								
	Methylpyrazine	109-08-0	128	131	MS, RI, STD	4E+7	<LOD	<LOD	<LOD			2E+8 1E+ 8
			3	5								

Furanic compounds	2,5-dimethylpyrazine	123-32-0	134 8	137 2	MS, RI, STD	<LOQ	<LOD	<LOD	<LOD	4E+7	2E+ 7
	Furan	110-00-9	<i>nf</i>	822	MS	4E+8	<LOD	<LOD	<LOD	5E+8	6E+ 8
	3-methylfuran	930-27-8	<i>nf</i>	906	MS	5E+7	<LOD	<LOD	<LOD	1E+8	7E+ 7
	Furfuryl alcohol	98-00-0	161 3	<i>nd</i>	MS, STD	1E+9	<LOD	<LOD	<LOQ	3E+8	1E+ 8
	Furfural	98-01-1	149 3	152 0	MS, RI, STD	4E+9	<LOD	<LOD	3E+09	4E+ 08	7E+9 2E+ 9
	5-methylfurfural	620-02-0	160 4	164 2	MS, RI, STD	1E+08	<LOD	<LOD	<LOQ	3E+9	2E+ 9
	5-hydroxy methylfurfural	67-47-0	252 6	<i>nd</i>	MS, STD	6E+8	<LOD	<LOD	4E+08	2E+ 7	7E+8 4E+ 8

^a: Retention index from the NIST (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>) for a DB-Wax column and GC method comparable to the method used here.

^b: Linear retention index (LRI) obtained using the Van den Dool and Kratz equation for non-isothermal GC program, on a DB-Wax column.

^c: Compound identification: MS: mass spectroscopy library match (WileyRegistry8e data base); LRI: good correspondence with Van den Dool and Kratz Linear Retention Index from NIST; STD: compared with the injection of pure standard.

nd = not determined, *nf* = not found

4.1.3.4 Reactivity determined by the degree of browning in model cakes G and G+L

The images in Figure 45 clearly show the degrees of browning of model cakes containing precursors, as a function of both the composition in precursors and the duration and temperature of baking. Coloration occurred gradually in model cakes G and browning was quite slight, even after 90 min of baking at 200°C (maximum level of browning = 30%). Thus the caramelization reaction pathways induced relatively low levels of browning, with high activation energy. However, browning occurred quite rapidly and was more intense in the presence of leucine (levels of browning reaching values higher than 90% in less than 60 min at 170°C and less than 30 min at 200°C). This was a clear indication that the browning caused by the Maillard reaction is accelerated by the presence of an amino group and involves reaction pathways different from those observed without leucine. Moreover, it is worth noting that in both model cakes G and G+L, the cores of the cakes remained relatively white, while browning was mostly located in the dry crust at the surface (Srivastava et al., 2018). These results suggest the importance of the link between temperature and moisture gradients and the progress of

reactions. It would therefore be interesting to be able to predict these gradients accurately in order to correctly describe reactivity in a solid product such as a cake.

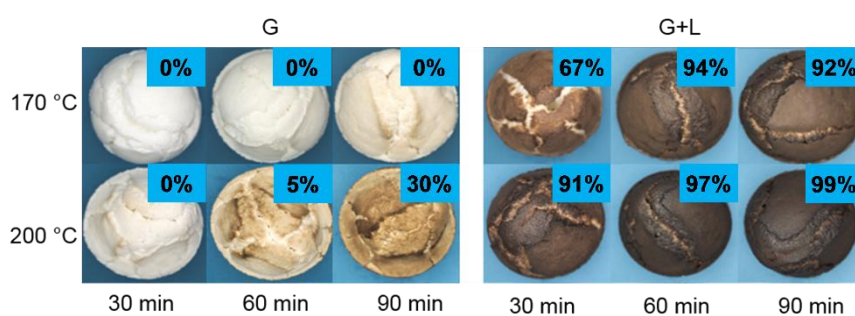


Figure 45. Photographs of model cakes sampled during baking at 170°C and 200°C

4.1.3.5 Kinetic study during baking at high temperature

Six compounds were selected for further kinetic studies: acetic acid, HMF, furfural, furfuryl alcohol, 3-MEB and 2,5-DMP. This choice was motivated by the presence of these compounds in the real sponge cake and similar products (Adams, 2005; Fehaili et al., 2010; Pacyński et al., 2015; Rega et al., 2009). This choice was based on their potential to enable the discrimination of different reaction pathways (Figure 46), their abundance from the start to the end of baking and the availability of standard solutions.

HMF is generated during the intermediate stage of the Maillard reaction and has therefore been used as a marker to monitor its progress (Rufián-Henares, García-Villanova, & Guerra-Hernández, 2008). HMF is also known to have a potentially toxic impact on human health (Pastoriza de la Cueva et al., 2017). Furfural is a compound with a characteristic bread-like and almond odor. Furfural is known to be generated *via* 1,2-enolization, both through the Maillard reaction and caramelization, *via* pentoses (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2009; Kroh, 1994; Martins et al., 2000; Poinot et al., 2008) but its formation from glucose has also been reported (Srivastava et al., 2018; Yaylayan & Keyhani, 2000). Furfuryl alcohol is another a volatile compound that is generally generated during the baking of cereal-based products and has a burnt, warm oil note (Pico, Bernal, & Gómez, 2015). The formation of furfuryl alcohol *via* 3-deoxyosone has been postulated in the literature (Hollnagel & Kroh, 2002). Acetic acid can form *via* 1-deoxyosone and this pathway has been widely studied (Knol, Linssen, & van Boekel, 2010; Martins & van Boekel, 2005). 3-MEB is responsible for a dark chocolate and malty aroma. It is the Strecker aldehyde that arises from leucine, so was specific to the *G+L* model cake. 2,5-DMP is a volatile compound often found in bakery products that has a popcorn and potato-like note (Starowicz & Zieliński,

2019), and aminoketones that form during Strecker degradation can cause its formation (Jusino et al., 1997). On-line extraction and TD-GC-MS analysis made it possible to follow all these reaction markers during the baking experiments.

For model cakes *G*, the area of the chromatographic peak for furfural reported in Tableau 15 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** was approximately 10-fold larger than those of HMF and acetic acid (both being of the same order of magnitude), which were in turn 10-fold larger than the area of furfuryl alcohol. These relative proportions were very different for *G+L* cakes when both caramelization and Maillard reaction pathways were activated, indicating markedly different concentrations in the cakes. The kinetics determined for these four compounds and both formulas during baking at 200°C are shown in Figure 47. For the model cakes that only contained glucose, these compounds formed gradually during baking, and much higher levels of furfural were detected. When leucine was also added, all the kinetics accelerated. Furfuryl alcohol and acetic acid were detected at much higher levels. The curve for furfural revealed a plateau after 25 minutes of baking where the responses measured were in the same order of magnitude as for the *G* formula, while the curve for HMF was bell-shaped, indicative of its formation and rapid consumption. Given the linearity of the HMF response, these results showed that this compound degrades more rapidly in the presence of an amino group, most probably because it reacts to form melanoidins (Hodge, 1953; Martins & van Boekel, 2003). 2,5-DMP and 3-MEB could not be detected during the baking of the model cakes *G* under these relatively harsh conditions, whereas they were observed during the baking of *G+L*, confirming that the presence of a free amino group is necessary for their formation *via* Strecker degradation.

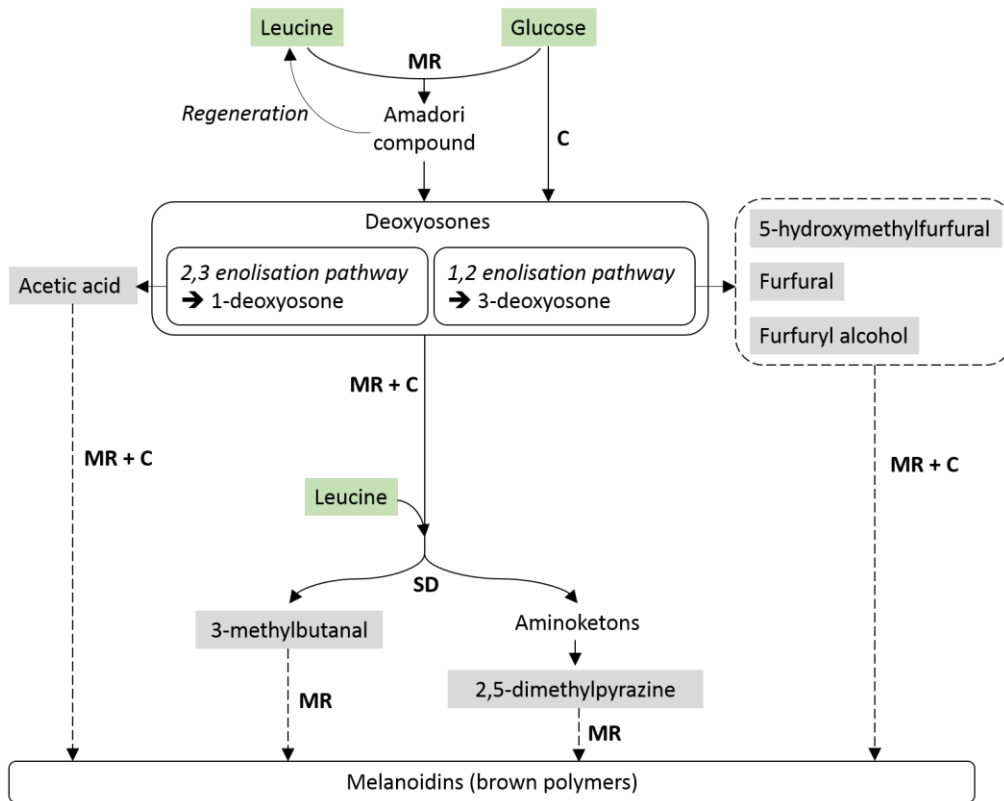


Figure 46. Simplified reaction diagram involving selected volatile markers. MR = Maillard reaction, C = Caramelization, SD = Strecker degradation

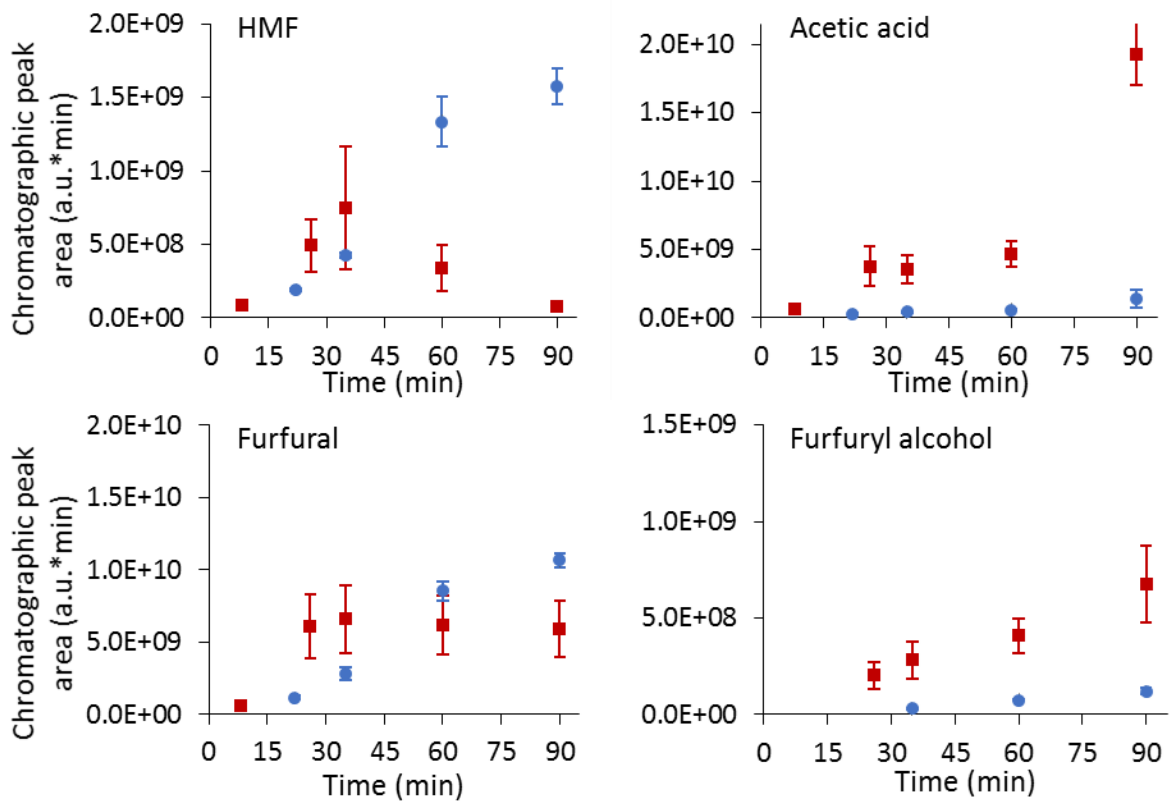


Figure 47. Chromatographic peak areas of HMF, acetic acid, furfural and furfuryl alcohol extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during baking at 200°C under high convection of model cake G (●,n=3) or G+L (■,n=2)

4.1.3.6 Effect of baking temperature on kinetics

If we consider the formation kinetics of the same four volatile compounds through caramelization at 170°C or 200°C in G cakes (Figure 48), the higher the baking temperature, the higher the levels of compounds detected, particularly those formed *via* the 1,2-enolization pathway. It appeared clearly that the formation kinetics of all compounds were notably accelerated by temperature. In terms of the Strecker degradation markers in G+L, the results in Figure 49 show that an increase in temperature had no significant impact on the amount of 3-MEB formed, but appeared to accelerate the formation of 2,5-DMP. The slight decrease in the area of the chromatographic peak for 3-MEB under both temperatures after 30 min of baking indicated its potential consumption by another reaction. Tressl, Wondrak, Garbe, Krüger, & Rewicki, 1998 suggested the possible formation of melanoidins from 3-MEB. Our findings suggest that an increase in temperature might favor the 1,2-enolization pathway over the 2,3-enolization pathway. This is consistent with the fact that the increases in the relative quantities of HMF and

furfural from 170°C and 200°C were greater than that of acetic acid. However, this hypothesis needs to be verified by specifically quantifying not only 1-deoxyosone and 3-deoxyosone, but also dicarbonyl intermediate compounds such as glyoxal and methylglyoxal, as they can form 3-MEB and melanoidins (Guerra & Yaylayan, 2013; Pripis-nicolau, Revel, Bertrand, & Maujean, 2000).

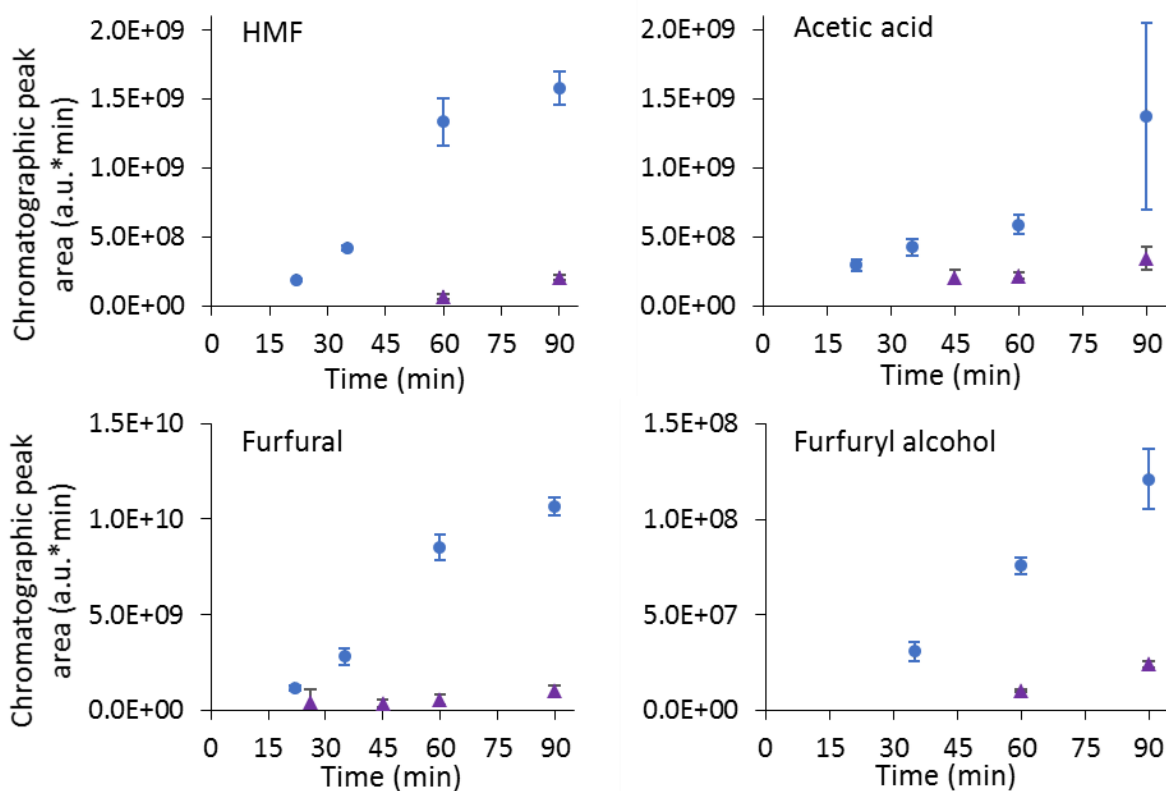


Figure 48. Chromatographic peak areas of HMF, acetic acid, furfural and furfuryl alcohol extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during the baking of model cake (G) at 200°C under high convection (●,n=3), and model cake (G) at 170°C under high convection (▲,n=2)

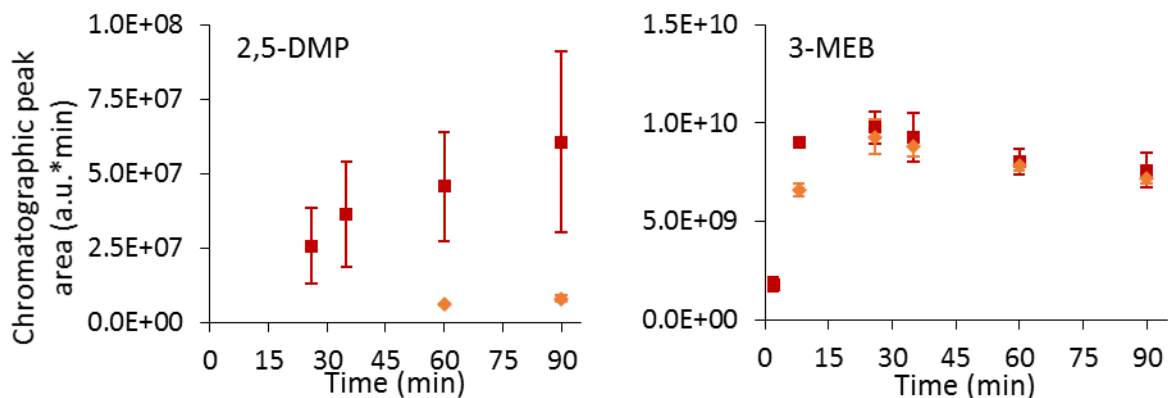


Figure 49. Chromatographic peak areas of 2,5-DMP and 3-MEB extracted from baking vapor and analyzed using TD-GC-MS at different time points during the baking of model cake (*G+L*) at 200°C under high convection (■,n=2) and model cake (*G+L*) at 170°C under high convection (◆,n=3)

4.1.4 Conclusions

It could be concluded that the model cake developed by Bousquière et al., 2017, and composed of starch, hydrocolloids and water, was non-reactive. When implemented with either glucose or glucose and leucine, the *G* and *G+L* cakes generated numerous volatile compounds typical of caramelization and/or Maillard reactions. Both formulations made it possible to highlight different reaction pathways, or at least activate them in different ways. Other precursors could also be chosen using that model cake, like for example, fructose or sucrose. For this latter, a supplementary reaction should be added corresponding to the hydrolysis of sucrose to fructose and glucose

During the present study, 20 markers of bakery products could be identified and semi-quantified using on-line extraction and TD-GC-MS analysis (peak area response). Thermal desorption was indeed an appropriate and rapid qualitative technique for extraction throughout the baking and analysis of a large number of volatile compounds with different properties (e.g. volatility and hydrophobicity). Moreover, this approach was found to be effective indiscriminating between the two reactive systems (cakes *G* and *G+L*) and between two baking temperatures (170°C and 200°C). The sensitivity of all the reaction markers studied was sufficiently high to detect significant differences in the chromatographic responses obtained over very short and numerous sampling intervals that covered the entire baking duration of the model cakes. These results offer considerable promise for the further use of this approach to study reaction kinetics in model cakes through the quantitative determination of volatile markers as well as precursors and

intermediates, in order to provide data for kinetic modelling and subsequent reaction engineering strategies.

4.1.5 Funding

This work was supported by grants from the Ile-de-France Regional Council (DIM ASTREA) and ABIES doctoral school (Paris-Saclay University).

4.1.6 Acknowledgements

The authors wish to thank Even Le Roux and Séverine Keller for technical support with the extraction and analysis of glucose, fructose and free NH_2 , and also Athénaïs Marchand for the determinations of the degrees of browning.

Conflicts of interest: none

4.2 Étude de la réactivité par brunissement

Le brunissement est un phénomène caractéristique des réactions de Maillard et de la caramélisation (Hodge, 1953; Ashoor et al., 1984). En effet, la phase finale des réactions de Maillard est décrite par le fait que les mélanoidines dont la nature et la structure sont nombreuses et mal connues sont des molécules azotées, plus ou moins polymérisées, produites à partir des molécules néoformées de la phase intermédiaire comme les composés furaniques, les acides et les pyrazines (Nursten, 2005). Les polymères bruns produits *via* la réaction de caramélisation sont également responsables du brunissement de génoises lors de la cuisson.

Ainsi, suivre le brunissement des génoises modèles peut être considéré comme un moyen relativement facile pour suivre l'avancement réactionnel, au moins des stades les plus avancés de la réaction et les produits terminaux. C'est un bon indicateur pour connaître l'influence des conditions de cuisson et de formulation testées sur l'activation et les cinétiques des réactions de Maillard et de caramélisation. Le brunissement des génoises a donc été évalué par la détermination de la couleur par analyse d'image (brunissement de surface, 4.2.1) ainsi que par mesure de l'absorbance des produits remis en solution dans l'eau (brunissement global, 4.2.2).

4.2.1 Étude cinétique du brunissement de surface des génoises modèles *G* et *G+L*

Les génoises devaient être photographiées après lyophilisation, dans des conditions contrôlées de luminosité. Malheureusement, cela n'a pas pu être réalisé pour le modèle *G* à cause d'un problème technique. Ainsi, seules 3 photographies illustratives obtenues sur génoises fraîches peuvent être présentées à titre de comparaison (Figure 50).

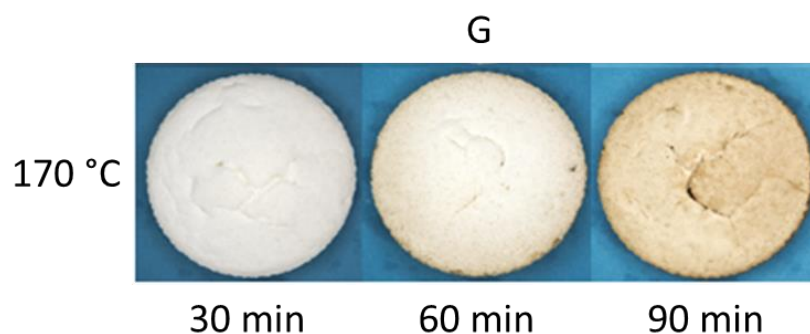


Figure 50. Photographies de génoises fraîches modèle *G* cuites à 170°C dans des conditions de convection proches de celles d'une ventilation à 25 Hz

Par contre, concernant le modèle *G+L*, toutes les photographies ont pu être prises (Figure 51) et permettent l'évaluation du brunissement de surface des génoises (Figure 52).

Cette mesure du brunissement de surface a l'avantage d'être représentative de l'apparition de la couleur brune à la surface des génoises où la température est la plus élevée, donc supposée être le siège majeur des réactions.

Tout d'abord, la coloration des génoises modèles est observée pour toutes les conditions de cuisson. La présence du glucose et de la leucine dans les génoises modèles induit bien le développement de réactions conduisant à un brunissement dans toutes les conditions de cuisson testées. Toutefois, une nette différence peut être observée entre les modèles *G* et *G+L*. La coloration en absence de leucine étant bien moins intense pour une condition de cuisson équivalente (Figure 50).

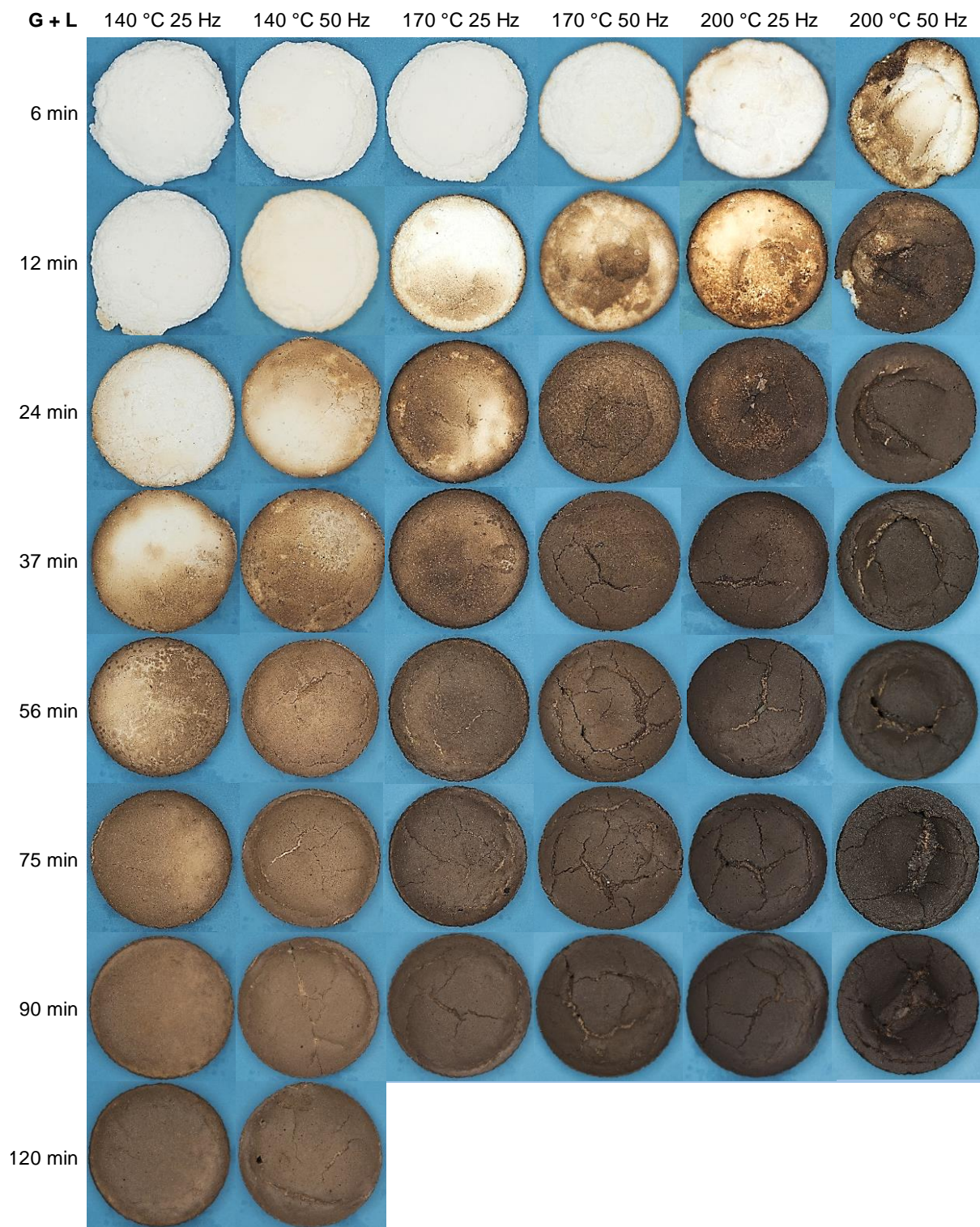


Figure 51. Photographies des surfaces des gâteaux modèles *G+L* lyophilisés, préalablement cuits à 140, 170 et 200°C pour les deux niveaux de convection (25 et 50 Hz) et prélevés à différents temps de cuisson jusqu'à 90 ou 120 min

En présence de leucine, comme attendu, plus la température est élevée, plus la coloration est rapide et intense. La température a donc un effet nettement accélérateur sur l'avancement des réactions. Si l'on convertit la couleur de surface en taux de brunissement (% de pixels dont la luminosité est supérieure à un seuil ($L^*=7$, Équation 11), un plateau proche d'un degré de brunissement de 100% est atteint dès 12 min de cuisson à 200°C/50 Hz et dès 24 min à 200°C/25 Hz (Figure 52). La haute convection semble favoriser le brunissement à hautes températures (170°C et 20°C) alors qu'à 140°C, le niveau de convection ne paraît pas avoir d'influence. Ceci peut être expliqué par le fait que le phénomène de séchage est plus marqué à haute température et que cet effet est visible plutôt au début de cuisson avant que le maximum de coloration ne soit atteint.

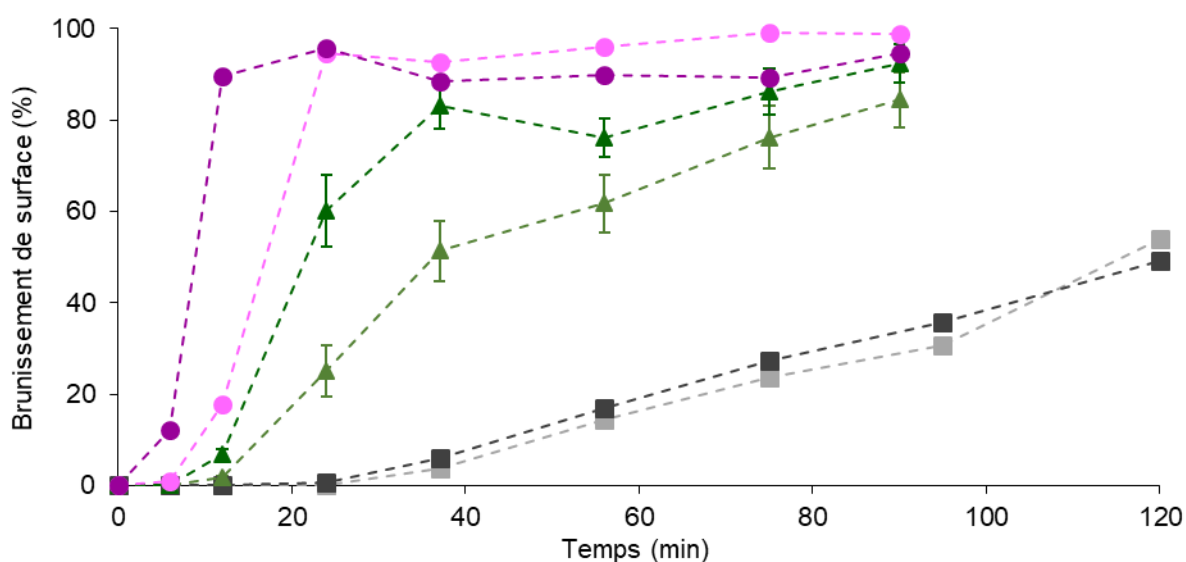


Figure 52. Cinétiques de brunissement de surface des génoises modèles *G+L* à 140°C/25 Hz (■,n=1), 140°C/50 Hz (■,n=1), 170°C/25 Hz (▲,n=3), 170°C/50 Hz (▲,n=3), 200°C/25 Hz (●,n=1) et 200°C/50 Hz (●,n=1)

4.2.2 Étude cinétique du brunissement global des génoises modèles *G* et *G+L*

Le brunissement global des génoises modèles *G* et *G+L* a été évalué grâce à la mesure de l'absorbance des composés bruns issus de la poudre lyophilisée, puis remise en suspension dans de l'eau, pour chaque condition de cuisson (Figure 53). Cette technique est classiquement utilisée pour la mesure du brunissement non enzymatique avec une absorbance mesurée à la longueur d'onde de 420 nm (Nursten, 2005). Ici, la mesure de couleur est réalisée sur l'ensemble de la génoise (mie + croûte) contrairement à la mesure du brunissement de surface qui ne prend en

compte que la coloration de la croûte supérieure des génoises. De ce fait, les pigments bruns de la croûte se trouvent dilués par le cœur (mie) des génoises où la coloration est moins importante, voire totalement absente.

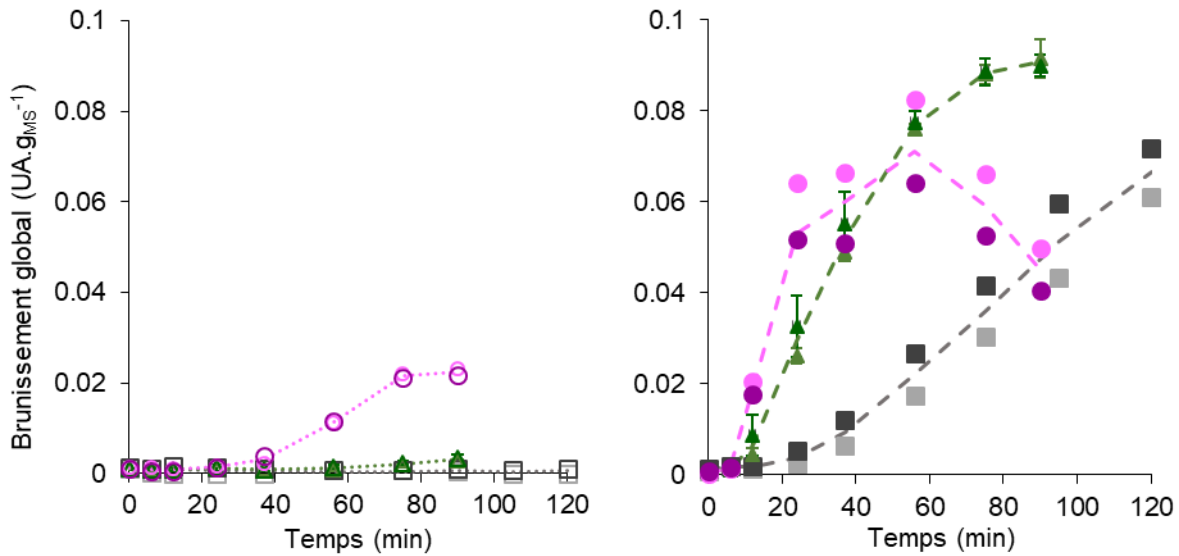


Figure 53. Cinétiques de brunissement global pour les génoises modèles G (symboles vides) et G+L (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1)

Une nouvelle fois, les résultats montrent que le brunissement est nettement plus important en présence de leucine. Il est à la fois plus intense et plus rapide. Cela est dû au fait que la mesure représente à la fois la présence des mélanoïdines issues des réactions de Maillard et les polymères bruns issus de la caramélisation. Ajandouz et al., 2001, ont estimé que la caramélisation comptait pour 10-36% de l'absorbance totale à 420 nm des échantillons issus d'un système modèle liquide fructose-lysine à pH 4-7 à 100°C. Au vu des résultats obtenus ici, il semble que cette proportion ne soit pas atteinte, l'écart étant plutôt de l'ordre de 1 à 5%. Ces résultats confirment le fait que le niveau de convection ne semble cette fois pas avoir d'impact majeur sur le niveau de brunissement global.

Pour les génoises G, l'impact de la température est visible. Avec un écart faible entre les niveaux de brunissement mesurés à 140 et à 170°C et beaucoup plus fort à 200°C, ce qui paraît cohérent avec une dépendance des réactions de formation des polymères bruns de type Arrhenius. Dans les génoises G+L, il y a également des différences notables entre les degrés de brunissement mesurés selon les températures. Par contre, cette fois l'écart est important entre 140 et 170°C mais faible entre 170 et 200°C. De plus, à 200°C, l'absorbance diminue à partir de 56 min, ce qui

a priori surprenant. Une hypothèse explicative pourrait venir de la taille des polymères bruns formés. En effet, les molécules colorantes de grosse taille pourraient être soit difficilement extraites de la poudre, soit retenues lors de la filtration avec un papier filtre de porosité 8 μm . Leong et al., 2000, ont mis en évidence la transformation progressive des polymères de faible poids moléculaire (< 3500 Da) vers ceux de haut poids moléculaire (> 3500 Da) dans une solution contenant du glucose et de la glycine chauffée plusieurs heures à 55°C. Ainsi, dans les conditions de cuisson des génoises utilisées ici (à beaucoup plus haute température), il est probable que la polymérisation soit plus rapide et plus forte, ce qui expliquerait la diminution mesurée du brunissement global, correspondant à un artefact de mesure.

Suivre la coloration des génoises modèles permet déjà de conclure que la température accélère les réactions de Maillard et de la caramélisation et que l'effet du niveau de convection est nettement moins important que celui de la température. La présence de leucine engendre des différences très importantes, ce qui montre l'intérêt d'avoir des génoises modèles de formules distinctes pour activer séparément les voies réactionnelles de la caramélisation. Faire la part quantitativement de la contribution de chacune des réactions (Maillard et caramélisation) reste délicat, mais l'intérêt de traiter séparément les deux formules est indéniable.

En termes méthodologiques, alors que le brunissement global semblait être une alternative au brunissement de surface, en évitant une saturation trop rapide de la réponse et en permettant ainsi une meilleure discrimination cinétique des échantillons, il apparaît que cette mesure est elle-même entachée d'un biais. Les deux méthodes apportent des résultats complémentaires et il paraît judicieux de continuer à les utiliser en combinaison, le brunissement global permettant une meilleure discrimination sur les débuts de cinétique et le brunissement de surface palliant la diminution du brunissement global en affichant une valeur de 100% sur les fins de cinétiques. Une alternative pourrait consister à faire de l'analyse d'image sur la poudre obtenue après lyophilisation pour calculer son degré de brunissement. Les bénéfices des deux méthodes pourraient ainsi se cumuler : analyse du degré de brunissement de la totalité de l'échantillon (croûte + mie), sans passer par une remise en solution.

4.3 Étude de l'avancement des réactions par mesure de l'acidité

Lors des réactions de Maillard et de caramélisation, des acides sont générés. Ils constituent l'un des groupes de composés néoformés marqueurs de ces réactions. Ainsi, dans le cadre de cette thèse, le pH n'est pas un facteur dont l'influence a été étudiée, mais plutôt un moyen de suivi

global de la formation des acides. Cependant, la mesure du pH dans un produit solide sec n'est pas chose aisée et nécessite la remise en solution dans l'eau des acides par extraction depuis la poudre lyophilisée. Le seul échantillon sur lequel il est possible de mesurer directement le pH grâce à une électrode spécifique (électrode de pH à gel avec diaphragme PTFE annulaire poreux, adapté pour des milieux complexes (Hcah, VMR, France)) est la pâte. Elle servira donc de point de comparaison entre un échantillon frais et un échantillon lyophilisé.

Il s'avère que le pH mesuré sur la pâte *G* n'est pas significativement différent de celui mesuré sur la pâte *G+L*, qu'il s'agisse des pâtes elles-mêmes ou des solutions filtrées de broyat lyophilisé. D'autre part, le pH en solution est supérieur de 1 unité à celui de la pâte crue. Cependant, une fois la valeur de l'acidité équivalente calculée (Équation 9) avec les valeurs se rapportant à la pâte fraîche ($TMS_{p\grave{a}te\ G} = 0,43\text{ g}_{MS}\cdot\text{g}_{p\grave{a}te}^{-1}$; $TMS_{p\grave{a}te\ G+L} = 0,44\text{ g}_{MS}\cdot\text{g}_{p\grave{a}te}^{-1}$ et $\rho_{p\grave{a}te} = 450\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, pas de $m_{filtrat}$ ni de $m_{prise\ d'essai}$) ou à la pâte lyophilisée remise en solution (valeurs spécifiques pour chacune des 10 mesures), il apparaît qu'elles ne sont pas si éloignées l'une de l'autre. La mesure du pH suivie du calcul de l'acidité équivalente semble donc être un moyen correct d'évaluer la teneur en acides solubles dans les échantillons.

Tableau 16. pH de la pâte crue et de la solution de broyat lyophilisé de pâte pour les formules *G* et *G+L* et acidités équivalentes calculées

		Formule	
		<i>G</i>	<i>G+L</i>
pH	pâte crue (n = 2)	5,14 ± 0,12 ^a	5,12 ± 0,01 ^a
	pâte lyophilisée (n = 10)	6,09 ± 0,47 ^b	6,06 ± 0,39 ^b
Acidité équivalente (eq. mol H ₃ O ⁺ ·g _{MS} ⁻¹)	pâte crue (n = 2)	(3,87 ± 1,06)·10 ⁻⁸	(3,87 ± 1,26)·10 ⁻⁸
	pâte lyophilisée (n = 10)	(4,06 ± 3,25)·10 ⁻⁸	(4,41 ± 2,76)·10 ⁻⁸

L'acidité équivalente calculée à partir des mesures de pH sur les solutions de broyat lyophilisé des génoises est présentée dans la Figure 54.

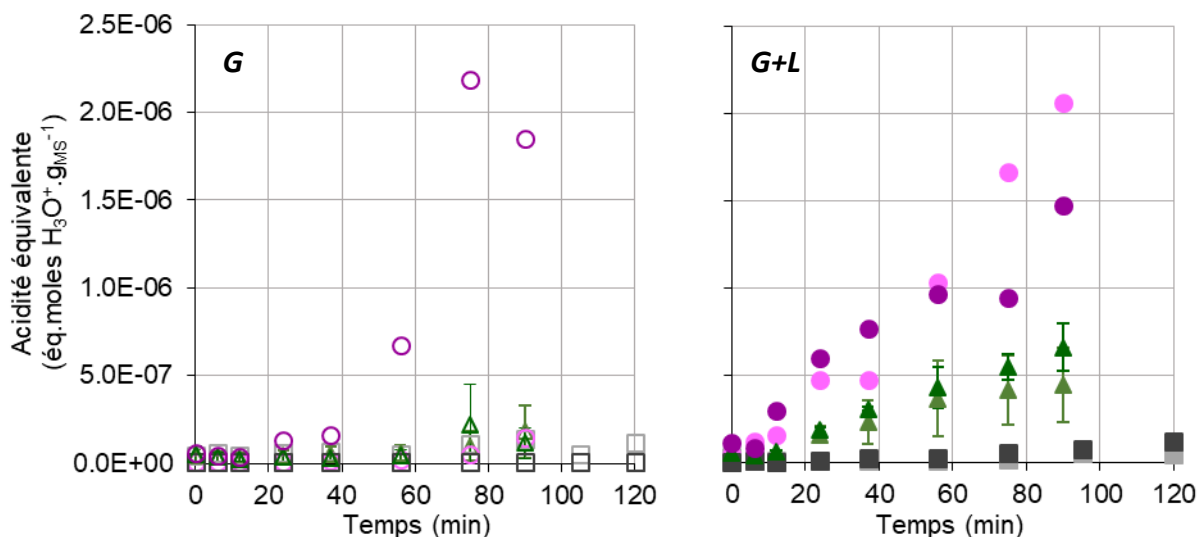


Figure 54. Cinétiques d'acidification des génoises modèles G (symboles vides) et G+L (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1)

Si l'on exclut la cinétique G à 200°C/50 Hz, pour laquelle il est difficile de conclure en l'absence de répétition, il apparaît une nouvelle fois une différence notable entre les formulations G et G+L. Les cinétiques d'acidité équivalente correspondent à des valeurs très faibles dans la formule G, avec un effet température faible légèrement visible, mais non significatif, entre 140 et 170°C et impossible à évaluer pour 200°C en l'absence de 2e cinétique fiable. Dans la formule G+L par contre, l'effet température est clairement visible avec une augmentation relativement régulière de l'acidité au cours de la cuisson à 170°C et 200°C. Il ne paraît pas y avoir d'effet notable du niveau de convection. L'acidité plus importante dans la formule G+L est cohérente avec une accélération de la production des acides liée à l'activation des voies de réaction de Maillard en présence de leucine.

Bien que la mesure du pH soit globale, elle a l'avantage de représenter l'évolution de tous les acides néoformés qui sont solubles. Le fait de la ramener à une quantité de matière sèche *via* le calcul de l'acidité équivalente permet de pouvoir comparer tous les points cinétiques sur une même base et ainsi d'en tirer des conclusions plus fiables. Le protocole d'extraction et de mesure étant assez simple, cela présente un vrai avantage pour une étude rapide de la réactivité.

4.4 Conclusions sur la validité de la génoise modèle en tant que matrice d'étude de la réactivité

Les résultats présentés dans ce chapitre permettent de valider les deux aspects nécessaires à l'utilisation de la génoise modèle comme matrice d'étude de la réactivité : son inertie totale lors de la cuisson et sa capacité à laisser les réactions avoir lieu de manière logique quand elle est supplémentée avec des précurseurs de réactions.

En effet, les dosages de sucres (glucose et fructose) et des NH_2 libres effectués dans la pâte de référence et dans des génoises non supplémentées et cuites à 200°C ont mis en évidence l'absence totale de précurseurs de réactions. Aucun composé volatil caractéristique de la caramélisation ou de la réaction de Maillard n'a non plus pu être dosé par TD-GC-MS sur les vapeurs de cuisson. Enfin, les génoises sont restées parfaitement blanches, ne montrant aucun signe de développement de polymères bruns caractéristiques des étapes finales des réactions.

Par contre, lorsque cette base inerte est supplémentée avec des précurseurs de la caramélisation (glucose, *G*) ou de la caramélisation et la réaction de Maillard (glucose + leucine, *G+L*), les analyses réalisées ont montrées un développement cohérent des réactions.

Les composés volatils mis en évidence lors de la cuisson de chaque modèle sont représentatifs de la/les réaction(s) que le(s) substrat(s) devai(en)t induire. L'acide acétique, le furfural, le furanméthanol et le 5-hydroxyméthylfurfural ont été identifiés dans les deux modèles, ils peuvent effectivement être formés aussi bien par la caramélisation que par la réaction de Maillard. Par contre, le 3-méthylbutanal et la 2,5-diméthylpyrazine n'ont été identifiés que dans la génoise modèle *G+L*, car leur génération nécessite la présence de la leucine pour activer la voie de dégradation de Strecker. Une différence conséquente en termes d'abondance des marqueurs a également été remarquée en faveur du modèle *G+L*, ce qui est cohérent avec la théorie selon laquelle les voies de réaction de Maillard vont s'ajouter aux voies de caramélisation en présence d'un acide aminé. L'effet de la température a également pu être mis en évidence, la cuisson à 200°C présentant des teneurs en composés volatils plus importantes que celle à 170°C .

Les analyses effectuées sur les génoises permettent les mêmes conclusions. Que ce soit en termes de mesure du brunissement (de surface et global) ou de mesure de l'acidité équivalente,

dans chaque cas un effet formulation et un effet température cohérents avec ce que l'on peut attendre lors de l'avancement des réactions ont pu être mis en évidence.

Cette étude a également permis de valider la méthode d'échantillonnage en ligne des vapeurs pendant la cuisson à l'aide de tubes à adsorption couplés à la désorption thermique (TD-GC-MS) qui s'est avérée être une technique appropriée et rapide pour analyser un grand nombre de composés volatils de caractéristiques physiques et chimiques très différentes. L'étape ultérieure consistera à rendre cette méthode quantitative de manière à pouvoir comparer les quantités des composés mesurés et non pas simplement leurs aires de pics chromatographiques.

5 - MISE AU POINT DES METHODES DE QUANTIFICATION DES MARQUEURS REACTIONNELS

Disposer des moyens analytiques pour quantifier les marqueurs réactionnels est important car seules les quantités absolues mesurées des marqueurs peuvent permettre de discriminer les voies réactionnelles et constituer une base de données pour la modélisation cinétique.

La technique de piégeage dynamique au cours de la cuisson *via* les tubes d'adsorbant couplée à la désorption thermique (TD-GC-MS) a déjà été exploitée dans l'Article 1 . Elle a été jugée rapide, efficace et adaptée pour analyser un grand nombre de composés volatils aux caractéristiques physiques et chimiques très différentes.

Le travail présenté dans ce chapitre résume les travaux effectués pour rendre cette méthode quantitative de manière à pouvoir obtenir des quantités absolues mesurées des marqueurs volatils et non pas les aires relatives de pics. Ce chapitre est constitué d'un article en préparation pour le journal Talanta intitulé ***Quantitative determination by TD-GC-MS of volatile markers formed during heat treatment of food.***

5.1 Quantitative determination by TD-GC-MS of volatile markers formed during heat treatment of food (Article 2)

En préparation pour Talanta

Lee, J., Roux, S., Descharles, N., Bonazzi, C., Rega, B.*

Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRA, Ingénierie Procédés Aliments, 91300, Massy, France

* Corresponding author : Barbara Rega, UMR GENIAL, AgroParisTech site de Massy, 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France. Tel.: +33 169935133; e-mail address: barbara.rega@agroparistech.fr

Keywords:

Analytical method, validation, thermal desorption, aroma compounds, Maillard reaction, caramelization, on-line sampling, baking, process

5.1.1 Introduction

Thermal transformation of food can trigger the formation of an important number of volatile compounds playing a role on quality. Cereal and bakery products are no exception. The impact of physical and chemical parameters on the profile of volatile compounds has been extensively studied in the last decades (Hansen et al., 2005; Pozo-Bayón et al., 2006 b; Salim-ur-Rehman et al., 2006; Cho et al., 2010; Birch et al., 2014) especially from the angle of flavor and food safety related compounds (Ozolina et al., 2011; Cepeda-Vázquez et al., 2018). The identified volatile compounds come from the most common thermal reactions occurring in this kind of products such as the Maillard reaction, caramelization and lipid oxidation (Grosch et al., 1997), with formula and processing conditions being among the main factors affecting the formation and kinetics of volatile compounds generation (Zhou et al., 1999; Pozo-Bayón et al., 2007; Ait Ameer et al., 2008; Cho et al., 2010; Birch et al., 2014). However, on a more comprehensive view, volatile compounds of thermal reaction in food can be followed as markers of processing extent, of sensory quality as well as, more recently, as markers of reaction kinetics (Srivastava et al., 2018). Whatever the scope of the research, the analytical strategies to analyze in the most relevant manner volatile compounds from food remain a challenge due to their low concentration, their

different physical chemical properties and the variability of the matrices and processes (Zhou et al., 1999; Elmore, 2015; Xu et al., 2016).

The most largely applied solvent-free extraction methods for volatile compounds comprehend headspace (HS) techniques including SPME in headspace sampling mode (Elmore, 2015). Static Headspace is a rapid and easy sampling method (Paik et al., 1991), however even if it ensures a very good odor representativeness of extracts it often lacks sensitivity (Rega et al., 2003) compared to dynamic HS and HS-SPME which are more sensitive (Crews et al., 2007). HS-SPME has been widely used for screening and qualitative analysis of a great number of volatile compounds from solid and liquid products and it is also extensively used for foodomics application due to its high throughput characteristics (Pico et al., 2018 a; b; Moreira et al., 2019). However, this method is poorly applicable to the dosage of a big number of volatile compounds at once, because their partition coefficient (among the food sample, the headspace and the fiber) is hardly determined, especially in solid food undergoing transformation over the processing time (Zhang et al., 2018).

Hence, HS and HS-SPME methods are poorly applicable to the quantitative measurements required for kinetic studies on thermal reactions in food leading to kinetic modelling (van Boekel, 2001; Fehaili et al., 2010; Parker, 2013). Recently, HS trap extraction coupled to isotopic dilution was developed for the quantification of two reaction markers (furan and furfural) from sponge cakes (Cepeda-Vázquez et al., 2016; Srivastava et al., 2018). Despite the fact that this technique is very sensitive (ppb levels) and robust, it is not applicable for a large number of volatile markers and experimental points for kinetics studies. Therefore, there is a need for high throughput methods capable of sampling and quantitatively analyzing volatile compounds during thermal processing for kinetics modelling purposes.

Thermal desorption (TD) can be a good candidate and the increasing number of scientific papers shows an increasing interest in its applications. TD has been widely and successfully applied to environmental analysis in air (Heavner et al., 1992; Hodgson, 1995; Massold et al., 2005) and in soil (Zhao et al., 2019) but its use is rather limited in food. In this field TD started as a version of dynamic HS technique (Purge and Trap) used to enrich headspace extracts before GC analysis (Pillonel et al., 2002). When disconnected from Purge and Trap, it was sometimes called Direct Thermal Desorption (DTD). TD has several advantages over the previously quoted methods: higher sensitivity compared to SPME, possibility of being directly coupled to GC (Esteban et al., 1996), need for very small quantity of sample and possibility of reanalyzing the same extract several times (Göğüş et al., 2007). Not only it is appropriate for qualitative analysis thanks to its

rapidity and simplicity, but it is also suitable for quantitative analysis because 100% of the compounds contained in the sampled gas can be adsorbed on adsorbent tube. Moreover, the lower number of extraction parameters to optimize (type of adsorbent, flow, purge cycles) and the higher robustness due to steel material, make it more time saving and reproducible when compared to HS-SPME techniques.

In a previous paper (Article 1), we developed an on-line sampling of baking vapors during baking using sorbent TD tubes coupled to GC-MS analysis. We proved that TD-GC-MS is a suitable and rapid technique to analyze a large number of volatile compounds within a wide range of physical-chemical characteristics. This made it possible to collect reproducible data on reaction markers throughout a baking operation.

The aim of this paper was to develop, optimize and validate a quantitative approach using on-line TD with in-tube calibration with isotopic dilution for the determination of volatile markers during processing of food products intended for kinetic studies. The determination of volatile markers from a model cake with known amount of precursors is used as proof of concept.

5.1.2 Materials and Methods

5.1.2.1 Reagents and ingredients

3-methylbutanal (3-MEB) (>99%), pyrazine (P) ($\geq 99\%$), 2-methylpyrazine (2-MP) ($\geq 99\%$), 2,5-dimethylpyrazine (2,5-DMP) ($\geq 99\%$), 2,6-dimethylpyrazine (2,6-DMP) ($\geq 99\%$), furfural (F) ($\geq 99\%$), furfuryl alcohol (FA) ($\geq 98\%$), 5-methylfurfural (5-MF) ($\geq 99\%$) and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) ($\geq 99\%$) and d4-pyrazine ($\geq 98\%$) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Acetic acid (AA) ($\geq 96\%$), methanol ($\geq 99.9\%$) and ethanol ($\geq 95\%$) were purchased from Carlo Erba (Val de Reuil, France). d4-furfural ($\geq 99.7\%$) was obtained from CIL Cluzeau, CDN Isotopes (Pointe-Claire, Canada).

The ingredients used for the model cake were Ultrapure water (Milli-Q[®]), produced using an Integral 3 water purification system from Millipore[®], native corn starch (Cargill, Minneapolis, USA) with a water content of 12.4% w/w (measured according to NF norm V05 707), and food grade cellulose derivatives (Dow Chemical, Midland, USA): methylcellulose (MC) type SGA7C and hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) type K250M). D-(+)-Glucose, used as a precursor, was supplied by Roquette Frères (Lestrem, France) and L-Leucine (Food Grade, $\geq 99\%$) came from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

Tableau 17 recapitulates the volatile analytes selected for the study.

Tableau 17. Characteristics of the volatile analytes selected for the study

Compound	CAS No	Selected ions for GC-MS quantification ^d		
		log K _{ow} ^a	P _v (mm Hg at 25°C) ^b	(m/z)
3-methylbutanal	590-86-3	1.23	50	58, 71
pyrazine	290-37-9	-0.2	10.81	53, 80
2-methylpyrazine	109-08-0	0.21	8.06	67, 94
2,5-dimethylpyrazine	123-32-0	0.63	3.18	42, 108
2,6-dimethylpyrazine	108-50-9	0.54	4.57	42, 108
acetic acid	64-19-7	- 0.17	15.7	60
furfural	98-01-1	0.41	2.21	95, 96
5-methylfurfural	620-02-0	0.67	0.610	81, 109, 110
furfuryl alcohol	98-00-0	0.28	0.609	81, 97, 98
5-hydroxymethylfurfural	67-47-0	- 0.6	5.28 × 10 ⁻³	97, 126
<i>Internal standards</i>				
d4-pyrazine	1758-62-9	-0.2	41.6	56, 84
d4-furfural	1219803-80-	0.4	n.d. ^c	99, 100

1

^a : Octanol/water partition coefficients from Pubchem or EPI Suite™ v4.0 data bases

^b: P_v : Vapor pressure from Pubchem data base

^c: Not Determined

^d: quantifier ions are in bold

5.1.2.2 Preparation of standard solutions

A stock solution of volatile analytes was prepared in methanol. It contained 260 mg.g⁻¹ 3-methylbutanal, 0.680mg.g⁻¹ 2,5-dimethylpyrazine, 26.0 mg. g⁻¹ acetic acid, 20.0 mg.g⁻¹ furfural, 2.10 mg.g⁻¹ furfuryl alcohol, 4.00 mg.g⁻¹ 5-hydroxymethylfurfural, 0.26 mg.g⁻¹ pyrazine, 0.70 mg.g⁻¹ 2-methylpyrazine, 0.30 mg.g⁻¹ 2,6-dimethylpyrazine, 4.80 mg.g⁻¹ 5-methylfurfural.

A stock solution of deuterated internal standards was prepared in methanol with d4-furfural and d4-pyrazine, at a concentration of 2.40 mg.g⁻¹ and 2.20 mg.g⁻¹, respectively.

These solutions were stored at -20°C for maximum 2 months.

Five working solutions were then prepared in methanol using an increasing concentration of the volatile analytes and (when applicable) a fixed concentration of the two deuterated internal standards. Concentration ranges were as following: 0.3160 g.L⁻¹ to 98.92 g.L⁻¹ for 3-methylbutanal; 3.939 mg.L⁻¹ to 0.1231 g.L⁻¹ for pyrazine, 1.086 mg.L⁻¹ to 0.4000 g.L⁻¹ for 2-methylpyrazine, 1.041 mg.L⁻¹ to 0.3257 g.L⁻¹ for 2,5-dimethylpyrazine and 0.4686 mg.L⁻¹ to 0.1465 g.L⁻¹ for 2,6-dimethylpyrazine, 0.0384 g.L⁻¹ to 12.02 g.L⁻¹ for acetic acid, 0.0302 g.L⁻¹ to 9.4394 g.L⁻¹ for furfural, 7.3947 mg.L⁻¹ to 2.3120 g.L⁻¹ for 5-methylfurfural, 3.260 mg.L⁻¹ to 1.019 g.L⁻¹ for furfuryl alcohol and 6.105 mg.L⁻¹ to 1.909 g.L⁻¹ for 5-hydroxymethylfurfural. For some experiments, working solutions also contained d4-pyrazine and d4-furfural at a constant concentration of 68.07 mg.L⁻¹ and 74.37 mg.L⁻¹, respectively. In another set of experiences, deuterated standards were added separately but at the same final concentrations as previously mentioned. All working solutions were prepared daily.

5.1.2.3 Optimization and validation of adsorbent tubes calibration

For each concentration level of analytes, Air Toxics™ sorbent tubes (Perkin Elmer, Waltham, USA) were spiked with a known amount of the corresponding working solution by means of liquid or vapor spiking. A preliminary analysis following Maret, 2013, was carried out to verify that, after spiking, the sorbent tubes were not over-saturated. For this scope, two sorbent tubes were connected in series. The first tube was spiked with 1 µl of the highest concentrated calibration solution and the eventual carry-over was assessed into the second tube. No analytes were detected in the second tube, meaning that 100% analytes was adsorbed into the first tube under the most severe concentration conditions applied in the study. Moreover, calibration curves determined by liquid injection and GC-MS analysis of the working solutions showed a linear response of each analyte under the same chromatographic conditions (no saturation of mass detector, data not shown).

Two different spiking methods were compared (Tableau 18). The liquid spiking consisted in the direct injection of 1 µl the calibration solutions at the top of the sorbent material by means of an electronic precision syringe (eVOL XR 5 µl, SGE Analytical Science, Europe Ltd Milton Keynes, United Kingdom, aspiration rate 3, ejection rate 8, 20°C). The vapor spiking consisted in the introduction of the same amount (1 µl) previously vaporized through a hot GC injector port (300°C) in splitless mode. The vaporized sample was carried into the sorbent tube by a helium flow rate of 50 ml.min⁻¹ and at a constant oven temperature (300°C), via a deactivated silica column (4.5 mm of internal diameter, 25 cm of length) (Figure 55).

Moreover, in order to check for any eventual interference between the analytes and the deuterated IS, two different modalities of introduction of the deuterated internal standards were compared (Figure 55): simultaneous spiking (deuterated IS added to the working solutions of analytes) and non-simultaneous spiking (deuterated IS working solution injected in a sorbent tube already containing the analytes or the on-line vapor extract) which is the most representative condition to the on-line TD sampling method (Article 1).

The optimal condition for TD-GC-MS calibration method was validated in terms of linearity (R^2) and sensitivity for each analyte. d4-pyrazine was used as an internal standard for pyrazine, 2-methylpyrazine, 2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine and 3-methylbutanal, whereas d4-furfural was used as internal standard for the rest of the volatile analytes. Each area ratio (area analyte/area I.S.) from all increasing standard solutions, was plotted against the corresponding amount (ng) in order to obtain the respective calibration curves for each analyte. Linearity (R^2), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were calculated based on a linear regression approach, following the IUPAC recommendations. The formulas applied were as follows: $LOD=3,3\sigma/b$ and $LOQ=10\sigma/b$, where σ was the intercept standard deviation and b the slope of the curve. The calibration solution (1 μ l) is injected through a GC injector port (300°C) into the sorbent tubes.

Tableau 18. Optimization of spiking modalities for analytes and deuterated internal standards

Factor	Modalities
Spiking method for working solutions of analytes	Vapor spiking
	Liquid spiking
Introduction method for deuterated I.S.	Simultaneous (within the working solution)
	Not-simultaneous (After the working solution)

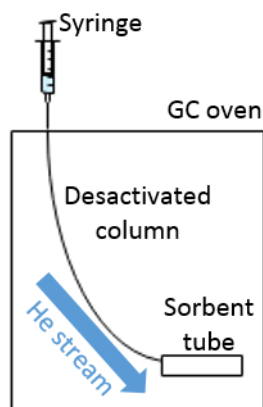


Figure 55. Simplified scheme of the device used for the vapour spiking mode.

5.1.2.4 Thermal desorption

Desorption of Air Toxics™ sorbent tubes was performed by mean of an automated TurboMatrix 650 thermal desorber (Perkin Elmer, USA). A dry air purge was applied for 10 min at 50 mL.min⁻¹. Helium was used as carrier gas. A first desorption was performed at 330°C for 20 min at 60 mL.min⁻¹, and the compounds were focused on a Air monitoring™ cold trap at -20°C with an inlet split of 8 mL.min⁻¹, then sent to the GC column by a fast heating of the trap from -20 to 330°C at 99°C.s⁻¹ with an outlet split of 15 mL.min⁻¹. In this manner, 7.5% of the gas volume of the volatile compounds desorbed from the sorbent tube was transferred to the GC system at a constant gas flow of 1.4 mL.min⁻¹ *via* a transfer line heated at 270°C. A preliminary optimization (n=5) showed that a desorption time of 20 min gave the best results of recovery for all analytes and internal standards with yields higher than 99.5%, except for acetic acid (97.4%) and 5-HMF (91.1%). Therefore, 20 min was chosen as desorption time. After each injection, trap hold time was set to 30 min and 60 min for the cases where the concentrations were high (highest level of calibration, or sampling tubes from baking at 200°C) at 330°C to clean the trap. Sorbent tubes were systematically conditioned after each analysis by heating at 330°C with a gas flow of 50 mL.min⁻¹ during 40 min.

5.1.2.5 Quantification by GC-MS

Volatile compounds extracted from sorbent tubes were analyzed using a Trace 1300 Thermo Scientific Gas Chromatograph (Waltham, MA, USA) equipped with a DB-Wax GC column (60 m × 0.25 mm × 0.5 μm) and coupled with a mass spectrometry detector (ISQ QD, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). The oven temperature was initially at 100°C then raised at 3°C.min⁻¹ to 184°C, then at 15°C.min⁻¹ to 240°C (held for 16 min). Total run time was 43 min. MS transfer line

and ion source temperatures were set to 270°C and 200°C, respectively. The ionization mode was electron impact (EI) at 70 eV. Data acquisition was done in nine segments, including a full scan mode from m/z 33 to 250 at 0.4 s per scan and the corresponding selected ion monitoring (SIM) mode with a dwell time of 0.2 s each (Tableau 17). Chromatographic peak areas for each compound were determined using Xcalibur 2.1.0 SP1, build 1160 (Thermo Fisher Scientific Inc., USA). The identification of native molecules (*i.e.* generated during baking and extracted on sorbent tubes) was confirmed by comparison with pure standards.

5.1.2.6 TD-GC-MS analysis of volatile markers formed during baking

5.1.2.6.1 Preparation and baking of model cakes

Model cakes containing D-glucose and L-leucine were prepared following Bousquière et al., 2017 a. Seven rectangular aluminum pans (8 × 4.3 × 3.5 cm) were each filled with 60 g batter and baked in an instrumented pilot oven with a precise and uniform control of temperature and two levels of convection (25 Hz/50 Hz) (Bongard, Wolfisheim, France) (Fehaili et al., 2010). Baking trials were conducted at 170°C, high level of convection.

5.1.2.6.2 On-line sampling of baking vapours by sorbent tubes

During baking, the extraction of volatile compounds was conducted following (Article 1). Baking vapors were sampled at 50 mL.min⁻¹ for 4 min by Air Toxics™ sorbent tubes (Perkin Elmer, Waltham, USA), for a total sampled volume of 200 mL baking vapors. These tubes were connected to the internal atmosphere of the oven through a deactivated and silanized glass column (4.5 mm of internal diameter, 18 cm of length), and linked on the other side to a VCP 130 vacuum pump (VWR, Grafton, USA). Prior to any experiment, the oven was heated at 300°C for 1 hour with the same extraction flow in order to avoid any contamination, and the glass columns were rinsed with distilled water and dried after each baking experiment.

Three different sorbent tubes were used to extract baking vapors during 3 different baking intervals (2-6, 8-12, and 86-90 min) further indicated with their median time: 4, 10 and 88 min. After extraction, sorbent tubes were immediately sealed with Teflon® caps and stored at ambient temperature. The extractions were conducted in triplicate over three different bakings.

5.1.2.6.3 TD-GC-MS quantitative analysis of baking extracts

After extraction and prior to GC-MS analysis, each sorption tube was spiked with 1 µL of deuterated internal standards solution in order to reach the same amount of d4-pyrazine and d4-furfural as in the calibration solutions in section 5.1.2.2 (*i.e.* 68.07 mg.L⁻¹ and 74.37 mg.L⁻¹, respectively). The sorbent tubes containing both vapor extracts and two deuterated I.S., were

immediately sealed with Teflon[®] caps and analyzed within the day by the quantitative TD-GC-MS detailed in 5.1.2.4 and 5.1.2.5. Amounts were calculated using internal standards calibration curves obtained by spiked tubes (5 levels of concentration per each analyte and the same constant concentration of deuterated I.S. as previously explained in section 5.1.2.2).

5.1.3 Results and discussions

5.1.3.1 Choice of sorbent tube spiking method

In order to develop a quantitative TD-GC-MS method for the quantification of volatile compounds from vapor samples, a procedure for spiking the standards and the analytes into the sorbent tube was developed and optimized. This step is of paramount importance as it determines if it is possible to obtain robust and repeatable responses for the analytes under the chosen thermal desorption parameters. Two spiking modalities were compared: vapor spiking (which mimics the conditions of on-line extraction of vapor samples) and liquid spiking (important for the introduction of I.S.). Tableau 19 shows the responses obtained for two sets of analytes at four different levels of concentration (i.e. injected amounts) using the two methods. When comparing the responses obtained for the first set, the liquid spiking showed to be more repeatable for 2,5-dimethylpyrazine, furfural, furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural, over a large range of concentrations. However, liquid spiking showed the same low performance as the vapor spiking for 3-methylbutanal and acetic acid responses, especially at the lowest concentration levels. This could be explained by the fact that these two compounds are the most volatile ones (Tableau 17) and their concentration levels are close to the *LOD*. On the contrary, for vapor spiking, the level of concentration of the analytes did not seem to affect the repeatability which showed higher and random errors in general, most probably due to the more numerous sources of variability induced by the device (flow, temperature, volume, etc.). Liquid spiking was therefore tested on the second set of volatile analytes, *i.e.* key volatile markers for bakery products such as pyrazine, 2-methylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine and 5-methylfurfural. The results confirmed a good repeatability with coefficient of variations lower than 15% for almost all the concentration levels and compounds. The liquid spiking is also time-saving, easy to implement and did not require solvent evaporation as in previous studies on vapor spiking (Liaud et al., 2014). The liquid spiking mode was thus used in all further analyses.

Tableau 19. TD-GC-MS responses of volatile analytes introduced into the sorbent tubes by liquid and vapor spiking

Volatile Compound	Liquid spiking				Vapor spiking			
	Amount ^c (ng)	Response		Variation	Amount ^c (ng)	Response		Variation
		(Area _{compound} / Area coefficient i.s.)		(%)		(Area _{compound} / Area coefficient i.s.)		(%)
3-methylbutanal^a	38	0.29	± 0.04	14	91	0.15	± 0.02	12
	78	0.54	± 0.12	22	181	0.24	± 0.03	12
	400	2.34	± 0.26	11	923	1.12	± 0.07	6
	1585	9.54	± 0.64	7	1841	2.06	± 0.05	2
2,5-dimethylpyrazin e^a	51	1.30	± 0.06	5	99	0.43	± 0.05	12
	104	2.85	± 0.02	1	197	0.72	± 0.05	6
	529	9.82	± 0.46	5	1003	3.28	± 0.11	3
	1053	16.21	± 1.16	7	2000	5.90	± 0.09	2
Acetic acid^b	41	0.72	± 0.24	33	94	0.33	± 0.09	27
	84	1.25	± 0.19	15	187	0.43	± 0.09	20
	427	4.32	± 0.27	6	953	1.96	± 0.13	6
	1695	17.60	± 0.99	6	1901	4.30	± 0.24	6
Furfural^b	43	1.49	± 0.03	2	95	0.55	± 0.10	19
	88	2.90	± 0.13	4	188	1.12	± 0.04	3
	446	12.69	± 0.65	5	956	5.04	± 0.01	0
	1768	42.07	± 1.07	3	1908	9.40	± 0.75	8
Furfuryl alcohol^b	46	1.08	± 0.01	1	101	0.22	± 0.07	30
	94	2.30	± 0.09	4	202	0.41	± 0.07	16
	479	11.97	± 0.91	8	1029	1.97	± 0.13	7
	1901	43.69	± 1.54	4	2053	3.80	± 0.11	3
5-hydroxymethylfurfural^b	79	0.77	± 0.07	10	90	0.19	± 0.13	68
	400	6.04	± 0.01	0.5	179	0.12	± 0.10	86
	795	11.31	± 0.77	7	914	0.41	± 0.13	31
	1585	33.92	± 1.12	3	1824	0.77	± 0.38	50
Pyrazine^a	46	2.15	± 0.03	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

	94	4.33	±	0.26	6	n.d.
	479	19.26	±	0.74	4	n.d.
	954	31.97	±	0.46	1	n.d.
2-	37	1.43	±	0.04	3	n.d.
methylpyrazine^a	76	2.79	±	0.11	4	n.d.
	386	14.26	±	0.47	3	n.d.
	1530	52.32	±	10.1	19	n.d.
2,6-	39	1.70	±	0.08	4	n.d.
dimethylpyrazin	79	3.20	±	0.20	6	n.d.
e^a	400	15.90	±	0.53	3	n.d.
	795	28.31	±	1.50	5	n.d.
5-	38	1.06	±	0.11	11	n.d.
methylfurfural^b	78	2.32	±	0.06	2	n.d.
	400	11.73	±	0.68	6	n.d.
	1585	44.27	±	1.58	4	

a: quantified using d4-pyrazine as I.S.

b: quantified using d4-furfural as I.S.

c: amount corresponding to the injection of 1 µl of working solution

5.1.3.2 Introduction mode for deuterated I.S.

While the calibration tubes could content simultaneously the analytes and the internal deuterated standards (in the same working solution), the sampling tubes (*i.e.* sorbent tubes used for on-line extraction) needed a further step for the introduction of I.S. by liquid spiking. In order to use calibration without any bias, it was therefore necessary to asses that the responses of the I.S., on one side, and of the analytes, on the other side, were the same in the case of the calibration tubes and the sampling tubes. Firstly, it was tested whether the presence of the analytes into the Air Toxic® tube had an impact on the internal standards. The same amount of I.S. was added in both cases. The Figure 56 shows that the responses of d4-pyrazine and d4-furfural were not significantly different (Tukey and Fisher tests, $p > 0,05\%$) in both cases: when they were spiked simultaneously to the analytes (simultaneous spiking) and when they were injected in the sorption tubes already containing the extracted volatile compounds (spiking after sampling). It was thus concluded that there is no significant impact of the already adsorbed compounds on the introduction of the two internal standards.

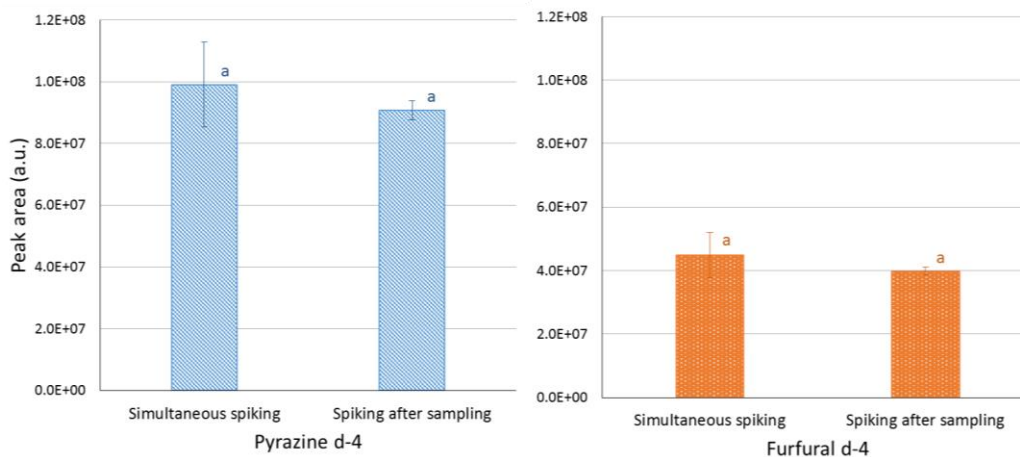


Figure 56. Response of deuterated I.S. for simultaneous spiking (calibration conditions) and for spiking after sampling (on-line extraction conditions), n=5. The same amounts of I.S. are added in the two conditions.

Likewise, it was assessed whether the internal standards spiking could interfere with the quantitative response of the analytes at different levels of concentration. In this case, the extract was simulated by the liquid spiking (1 μ L) of the working solution containing only the 10 analytes and no I.S., in order to know the exact amount of the compounds present in the tube before GC-MS analysis. Three different concentration levels of analytes (low, medium, high) were tested in order to assess any eventual concentration dependency. Tableau 20 shows that there was no noticeable difference between the two spiking methods for the majority of the cases (70%). The high repeatability of measurements made some differences appear, *i.e.* for pyrazines. On the other side, acetic acid response (at high concentration level) was the most different one and should be taken into consideration. However, in the case of significantly different responses, no systematic bias was found (no effect of the mode of injection neither that of the level of concentration).

These results suggest that the introduction of the two internal standards into sorbent tubes already containing the analytes can be successfully applied.

Tableau 20. Response of analytes for simultaneous spiking and spiking after sampling (n=3)

Volatile compound	Amount (ng)	Response*							
		(Area _{compound} / Area I.S.)							
		Simultaneous spiking			Spiking after sampling				
3-methylbutanal	38	0.29	^a	±	0.04	0.21	^a	±	0.03
	78	0.54	^a	±	0.12	0.38	^a	±	0.02
	400	2.34	^a	±	0.26	1.93	^a	±	0.04
2,5-dimethylpyrazine	51	1.30	^a	±	0.06	1.13	^a	±	0.09
	104	2.85	^b	±	0.02	2.17	^a	±	0.08
	529	9.82	^a	±	0.46	11.48	^b	±	0.40
Acetic acid	41	0.72	^a	±	0.24	0.70	^a	±	0.11
	84	1.25	^a	±	0.19	1.47	^b	±	0.20
	427	4.32	^b	±	0.27	2.58	^a	±	0.09
Furfural	43	1.49	^a	±	0.03	1.49	^a	±	0.13
	88	2.90	^a	±	0.13	2.68	^a	±	0.06
	446	12.69	^a	±	0.65	12.58	^a	±	0.15
Furfuryl alcohol	46	1.08	^a	±	0.01	1.03	^a	±	0.05
	94	2.30	^b	±	0.09	2.04	^a	±	0.12
	479	11.97	^a	±	0.91	11.24	^a	±	0.59
5-hydroxymethylfurfural	79	0.77	^a	±	0.07	0.81	^a	±	0.14
	400	6.04	^a	±	0.01	5.59	^a	±	0.98
	795	11.31	^a	±	0.77	13.97	^a	±	1.61
Pyrazine	46	2.15	^b	±	0.03	1.98	^a	±	0.05
	94	4.33	^b	±	0.26	3.88	^a	±	0.07
	479	19.26	^a	±	0.74	18.02	^a	±	0.37
2-methylpyrazine	37	1.43	^a	±	0.04	1.53	^b	±	0.04
	76	2.79	^a	±	0.11	2.87	^a	±	0.08
	386	14.26	^a	±	0.47	14.29	^a	±	0.49
2,6-dimethylpyrazine	39	1.70	^a	±	0.08	1.72	^a	±	0.10
	79	3.20	^a	±	0.20	3.28	^a	±	0.11

	400	15.90 ^a	± 0.53	16.35 ^a	± 0.61
5-methylfurfural	38	1.06 ^a	± 0.11	1.06 ^a	± 0.06
	78	2.32 ^b	± 0.06	2.09 ^a	± 0.13
	400	11.73 ^a	± 0.68	11.50 ^a	± 0.65

*: Same letters in a row means no significant differences ($p < 0, 05$)

5.1.3.3 Performances of the quantitative TD-GC-MS analysis of target analytes

Performance characteristics of the optimized TD-GC-MS method were summarized in Tableau 21. A good linearity was observed through the concentration range which was thus defined as the linearity range. *LOD* and *LOQ* were calculated in ng for the 10 analytes. *LOQ* ranged from 0.413 ng (2,6-dimethylpyrazine) to 310 ng (5-hydroxymethylfurfural). The obtained data are hardly comparable with those found in literature where *LOD* and *LOQ* are often expressed as concentrations. As an example, it was found for furfural *LOD* = 15.3 ng and *LOQ* = 51.1 ng, whereas an optimized HS trap GC-MS method for sponge cakes by Cepeda-Vázquez et al. Cepeda-Vázquez et al., 2016 gave a *LOD* of 10.2 ng.g_{DM}⁻¹ and a *LOQ* of 41.1 ng.g_{DM}⁻¹.

The pyrazines group showed excellent linearity ($R^2=0.9988$ to 0.9991) and relatively low *LOD* and *LOQ*. This can be easily explained by the fact that the internal standard used for quantification is d4-pyrazine, indeed very close in structure and properties to the other pyrazines. On the contrary, 3-methylbutanal showed a less satisfactory linearity ($R^2=0.9102$), most probably due to the different behavior and very high volatility of 3-methylbutanal if compared to d4-pyrazine. Acetic acid and furanic compounds were quantified using d4-furfural as internal standard. These analytes showed satisfactory linearity for a very large concentration range, which is very interesting for on-line quantification applications. Finally, 5-hydroxymethylfurfural showed a moderate linearity ($R^2=0.7172$) and the highest *LOQ* most probably due to the fact that this compound is the less volatile and the more polar of all the target analytes.

Tableau 21. Performances of the optimized TD-GC-MS quantitative analysis of 10 target analytes

Compound	Linear regression ^a	R ²	Linearity range (ng)	LOD (ng)	LOQ (ng)
3-methylbutanal	y=0.0006x+3.8387	0.9102	17.2-32510	5.17	17.2
pyrazine	y=0.0096x+0.0105	0.9978	4.74-954	1.42	4.74
2-methylpyrazine	y=0.0090x-0.0037	0.9991	2.86-1530	0.86	2.86
2,5-dimethylpyrazine	y=0.0053x-0.0060	0.9927	5.25-1053	1.58	5.25
2,6-dimethylpyrazine	y=0.0060x+0.0024	0.9878	1.38-795	0.413	1.38
acetic acid	y=0.0033x-0.0913	0.9620	188-12015	56.5	188
furfural	y=0.0061x-0.0134	0.9973	51.1-9439	15.3	51.1
5-methylfurfural	y=0.0118x-0.0568	0.9504	23.9-2312	7.15	23.9
furfuryl alcohol	y=0.0047x-0.0250	0.9635	17.8-1901	5.33	17.8
5-hydroxymethylfurfural	y=0.0019x-0.0422	0.7172	310-1909	92.9	310

^a x : mass of analyte : y : $\frac{\text{Peak area of the analyte}}{\text{Peak area of the internal standard}}$

5.1.3.4 Application to the on-line analysis of baking vapors

The optimized TD-GC-MS method was applied for the quantification of the volatile compounds generated during the baking of a model cake and extracted on-line by a sorbent tube following (Article 1). In this case, no information about the amount of generated volatile compounds was available. The on-line extraction was performed at three different baking times (4, 10, 88 min). After on-line extraction, the internal standards were added into the tube by liquid spiking. The amount of native compounds was thus calculated using internal standards calibration curves obtained by calibration tubes (as previously explained in section 5.1.2.6). These deuterated I.S. were chosen for their difference in volatility and discriminant quantifier ions (Tableau 17). In this model cake, leucine and glucose are the solely reactive precursors (Srivastava et al., 2018, Article 1).

Among the compounds extracted from the baking vapors, it was therefore possible to identify and quantify the 10 targeted volatile markers (Tableau 17) which came from caramelization and the Maillard reaction triggered by the baking of the model cake (Article 1).

Three groups of volatile markers could be identified according to their amount, confirming that a large number of volatile markers of various volatility and concentration range could be determined by the optimized TD-GC-MS method.

The group of four pyrazines was found to be the less concentrated in the vapor and increased along baking. Within this group, 2-methylpyrazine was the most abundant one (26 ng at 88 min baking). The other pyrazines had similar behaviors (Figure 57-A) with amounts detectable but not quantifiable at the first two levels of cooking then raising significantly up to 6.0 ng for pyrazine, 8.3 ng for 2,5-dimethylpyrazine and 6.3 ng for 2,6-dimethylpyrazine, at the longest baking time. These results are consistent with those from Rega et al., 2009, who found that the relative amount (TIC) of pyrazines was increasing along the baking time of a real sponge cake (vapours sampled by on-line SPME-GC-MS semi quantitative analysis), however they detected 2,5-dimethylpyrazine with the highest signal (chromatographic response). Thanks to the quantitative TD-GC-MS analysis, it was possible to precisely estimate the amount of that compounds in the vapors. However, such a difference in the main pyrazines formed, could also come from a different reactivity induced by the bigger number of possible precursors present in the real ingredients, whereas in the present model cake, the reactive pathways were only those promoted by glucose and free leucine.

In the same way, the four targeted furanic reaction markers (F, 5-MF, FA and 5-HMF) increased significantly during baking, but following a clear exponential trend (Figure 57-B), which was in coherence with the existing literature (Rega et al., 2009; Srivastava et al., 2018). Among them, furfural raised up to almost 800 ng while 5-HMF raised up to 100 ng at 88 min baking. This was, again, very interesting because many studies found 5-HMF as the most abundant furanic compound and not F, in real baked cereal products (Hidalgo et al., 2011; Petisca et al., 2014; Mesias et al., 2019).

Finally, Figure 57-C shows the volatile compounds that were quantified in highest amounts. Acetic acid was quantified in considerable amount (9242 ng) only at 88 min. On the other side, 3-MB was found in a very high quantity from beginning of the baking and continued to rise up to 25 mg after 10 min of baking (Figure 57-C). This very high amount was expected as this compound specifically came from the Strecker degradation involving glucose and leucine, the two precursors present in the model cake. It is worth noting that the formation/release trend in the baking vapour was very different from all the other reaction markers. In this case, 3-methylbutanal has a bell-shaped curve, meaning that at the highest baking time (88 min) its concentration in the sampled vapor was less important. This result confirms the semi-quantitative results shown in a

previous paper (Article 1). This could mean that this compound was formed in lower concentration due to the lack of still available precursors (glucose or leucine) or that its further degradation was faster than its formation at that point.

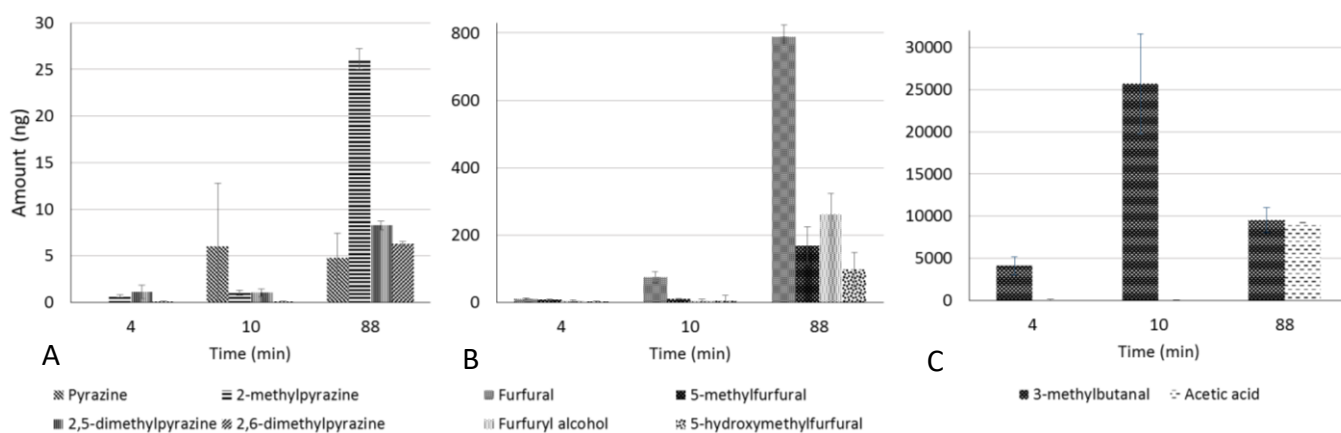


Figure 57. Amount of newly formed volatile markers in the baking vapour of model cakes (170°C). The sampling was performed on-line by Air Toxic[®] tubes at three different baking intervals of four minutes each sampled volume of 200mL, time shown being the median of each interval (n=3). Extracts were analyzed by quantitative TD-GC-MS.

5.1.4 Conclusions

An original and reliable method for the quantification of volatile markers was developed using on-line sampling on Air Toxic[®] sorption tubes coupled to TD-GC-MS analysis. On-line extraction by sorbent tubes was quantitative (100% of recovery from the sampled vapors) and did not provoke carry over neither saturation phenomena. Such high extraction capacity was a clear advantage compared to SPME fibres. This method was optimized and validated in terms of sensitivity, linearity and repeatability over a broad range of concentrations domain for the dosage of ten different volatiles markers chosen for their relevance in the food reactivity field and their different physical chemical properties. This method while being time-saving, sensitive and highly repeatable when compared to other HS techniques, made it possible to obtain reliable calibration curves using deuterated standards. Therefore, compounds could be directly quantified in g per litre of sampled air.

This TD-GC-MS method stood out as accurate and competitive regarding existing methods for quantitative applications. The high extraction capacity, the linearity over a broad range of concentration and the robustness of the technique made it very interesting for food analysis applications and the monitoring of food reactivity. Indeed, this method was applied for on-line analysis of thermal reactions markers generated during the baking of a model cake. The results

obtained demonstrate that the TD-GC-MS quantitative approach offers a promising perspective in terms of the multi-residue analysis of a wide range of volatile markers which is of outmost importance when interpreting reactions kinetics occurring during baking.

Moreover, this technique is transferable to the quantitative monitoring of other volatile markers, other transformation processes, and other types of products.

5.2 Conclusions sur la mise au point de la méthode du piégeage de vapeurs de cuisson et de quantification des marqueurs volatils par TD-GC-MS

Une méthode originale et fiable de quantification des marqueurs volatils a été mise au point en utilisant l'échantillonnage en ligne à l'aide des tubes d'adsorbants couplé à une analyse TD-GC-MS. Cette méthode se distingue par son efficacité et sa compétitivité par rapport aux méthodes existantes pour des applications quantitatives. La grande capacité d'extraction, la linéarité sur une gamme large de concentrations et la robustesse de la technique sont les principaux avantages en ce qui concerne l'analyse de la réactivité des aliments.

Grace à cette méthode, il est possible de quantifier 10 marqueurs réactionnels (pyrazines, acide acétique, composés furaniques) en utilisant deux standard deutérés que sont la d4-pyrazine et le d4-furfural. Les campagnes de cuisson ont été effectuées en appliquant cette méthode qui ont permis de suivre de manière quantitative l'évolution des concentrations des dix marqueurs pour les cuissons des formules *G* et *G+L* à 3 températures et 2 niveaux de convection. Les résultats ainsi obtenus sont présentés dans le chapitre suivant.

6 - ÉTUDE CINÉTIQUE DES MARQUEURS RÉACTIONNELS AU COURS DE LA CUISSON

Grace aux méthodes de quantification des marqueurs volatils dont le développement est décrit dans le chapitre précédent, mais aussi les marqueurs extraits de la matrice solide, les données cinétiques ont pu être obtenues sous différentes conditions opératoires (niveau de température et de convection) et formulations.

Ce chapitre a pour but de les regrouper et les présenter sous forme d'articles. Ces données permettent de vérifier des hypothèses concernant les différentes voies réactionnelles des réactions de Maillard et de caramélisation.

Ce chapitre est constitué de deux articles en préparation pour le journal Food Chemistry, intitulés

- ***Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part I – Formation and degradation kinetics of precursors, α -dicarbonyl intermediates, and furanic compounds during baking ;***
- ***Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part II– Kinetic study of volatile markers extracted from baking vapor.***

6.1 Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part I – Formation and degradation kinetics of precursors, α -dicarbonyl intermediates, and furanic compounds during baking.(Article 3)

En préparation pour Food chemistry

Lee , J., Roux, S., Le Roux, E., Keller, S., Rega, B., Bonazzi, C.*

Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRA, Ingénierie Procédés Aliments, 91300, Massy, France

* Corresponding author : Catherine Bonazzi, UMR GENIAL, AgroParisTech-site de Massy, 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France. Tel.: +33 169935133; e-mail address: catherine.bonazzi@agroparistech.fr

Keywords:

Bakery product, fructose, furfural, 5-hydroxymethylfurfural, solid food model, reaction pathways, process parameters, temperature

6.1.1 Introduction

The Maillard reaction first reported more than a century ago by Maillard, 1912, has still not been fully unraveled. Scientists have exploited and improved the comprehensive reaction scheme proposed by Hodge, 1953, in order to gain more knowledge about the Maillard reaction. In a complex food, the Maillard reaction almost always interacts with other pathways such as caramelization and lipid oxidation (Hidalgo et al., 1999).

Due to the complexity of reaction network formed by both the Maillard reaction and caramelization, many authors have used liquid and semi-liquid model systems to focus on specific pathways thanks to the use of selected precursors (Jusino et al., 1997; Rainer Cremer et al., 2000; Gökmen et al., 2012). The use of such liquid systems is appropriate to discriminate specific reaction pathways, but their findings have limits when transposing to solid food since the mobility of precursors is reduced and other parameters such as the structure and process conditions during heat treatment which have a major impact on the reactivity in solid foods are neglected.

On the other side, the use of solid food products are relevant for studying the impact of ingredients and processes in terms of the generation of quality-related compounds (Ait Ameer et al., 2008; Cepeda-Vázquez et al., 2018) or mitigation strategies with respect to health-related compounds (Gökmen et al., 2007). However, precursors and intermediates from whom the reactions occur are difficult to control.

Multi-response kinetic modelling can be of considerable assistance to better understand the reaction pathways in food products, as it is a robust tool to clarify the rate-determining steps in complex reactions and thus understand their mechanisms (Martins et al., 2000; De Vleeschouwer et al., 2009). It has been successfully applied by Brands et al., 2003; Martins et al., 2003 a; Kocadağlı et al., 2016; Nguyen et al., 2016 a; Göncüoğlu Taş et al., 2017; Srivastava et al., 2018 in order to monitor and model the Maillard reaction in different reaction mediums. This approach requires accurate measurements of reaction markers and suitable reaction media to study kinetics in a controlled environment in terms of the quantity and nature of reaction precursors. A solid food model recently developed by Bousquières et al., 2017 a, and recently used of kinetic study fits the criteria. In previous papers (Srivastava et al., 2018, Article 1), the use of this model cake containing either glucose or glucose with leucine has been shown to be highly relevant to follow the reactivity of a solid product. It allows complete mastering of the precursors, study of the effect of the composition in an accurate manner. Thanks to the instrumented oven developed by Fehaili et al., 2010 which makes it possible to conduct uniform and reproducible baking experiments and to extract solid model cakes without perturbation of baking, it is possible to study the impact of temperature, level of convection in a controlled manner.

In this context, this study aims to present and discuss the kinetic data obtained for precursors, intermediates and furanic compounds. Materials and Methods

6.1.2 Materials and Methods

6.1.2.1 *Ingredients and chemicals*

The ingredients used for model cakes were ultrapure water (18.2 MΩ, produced using an Integral 3 water purification system from Millipore®), native corn starch (Cargill, Minneapolis, USA) (12.4% w/w) (measured according to NF norm V05 707), and food grade cellulose derivatives (Dow Chemical, Midland, USA): methylcellulose (MC) type SGA7C and hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) type K250M. D-(+)-Glucose used as a precursor was supplied by Roquette Frères (Lestrem, France). L-Leucine (≥99%, food Grade) came from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

D-(+)-Glucose ($\geq 99.5\%$), D-(-)-Fructose ($\geq 99\%$), furfural ($\geq 99\%$), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) ($\geq 99\%$), ammonia solution at $\sim 25\%$ (LC-MS grade), quinoxaline ($> 99\%$), methylquinoxaline ($> 97\%$), dimethylquinoxaline ($> 99\%$), *o*-Phenylenediamine (*o*-PDA) ($> 99\%$), diethylenetriaminopentaacetic acid (DETAPAC) ($> 99\%$) and acetonitrile ($\geq 99.9\%$) HPLC grade were all purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). d4-quinoxaline-5,6,7,8 (analytical standard) was purchased from CIL (Saint-Foy-La-Grande, France). Water, acetonitrile, water + 1% HCOOH (v/v), acetonitrile 1% HCOOH (v/v), methanol, formic acid ($> 99\%$), all LC-MS grade, were purchased from Carlo Erba (Val-De-Reuil, France). Monobasic dihydrogenophosphate ($> 99\%$) and dibasic hydrogenophosphate ($> 99\%$), Carrez Reagent I and II, formaldehyde 30%, and 0.005 N NaOH solution were also supplied by Carlo Erba (Val-De-Reuil, France).

6.1.2.2 Preparation, baking and sampling of model cakes

6.1.2.2.1 Batter preparation and baking

The inert model cakes were prepared according to the method developed by Bousquières, Bonazzi, & Michon, 2017, using a hydrocolloid solution of HPMC and MC foamed with starch prior to baking. Glucose and leucine were added to the inert model cake as specific precursors of reaction pathways, as described by Srivastava et al., 2018.

For each baking experiment, 16 cylindrical aluminum molds ($d = 6.6$ cm, $h = 4$ cm) were each filled with 20 g batter, leading to a cylindrical cake of $h = 1.3$ cm, and baked in an instrumented pilot oven with precise and uniform control of temperature and level of convection (defined by the fan rotation frequency) (Bongard, Wolfisheim, France) (Fehaili et al., 2010). Baking experiments for both model cakes *G* and *G+L* were conducted at three temperatures: 140, 170 and 200°C, and two fan frequencies: 25 and 50 Hz.

6.1.2.2.2 Sampling of cakes during baking and preparation of samples for analysis

Model cakes were sampled from the oven at eight different times during baking: 0, 6, 12, 24, 37, 56, 75 and 90 min. For the baking experiments at 140°C of model cake *G*, two additional cakes were sampled at 105 and 120 min. For these conditions and for model cake *G+L*, a cake was sampled at 95 min instead of 90 min, and a sampling was added at 120 min. They were then sealed immediately in previously tared aluminium bags, and plunged into a water/ethanol bath at -8°C for a minimum of 15 min in order to halt any further reaction. The samples were then stored at -20°C for 24 to 48 hours before being frozen at -80°C for 24 hours and freeze-dried at 0.003 mbar under a condenser temperature of -85°C (Martin Christ, Osterode am Harz, Germany). Finally, the freeze-dried samples were ground for 1 min using an electric chopper

(Moulinex, Ecully, France), divided into eight aliquots and stored frozen at -20°C until they were used for analysis.

6.1.2.2.3 Determination of dry matter content

The dry matter content of freeze-dried aliquots was determined by desiccation for 24 h at 105°C in a ventilated oven. The moisture content of the cakes was calculated from the difference in mass between the initial dough (precision 10⁻² g) and the sampled cake (precision 10⁻⁴ g).

6.1.2.3 Analysis of glucose and fructose using UHPLC-CAD

6.1.2.3.1 Extraction and sample preparation for glucose and fructose analysis

Monosaccharides were extracted at 20°C (0.4 g of freeze-dried sample/20 g ultrapure water). After homogenization with a vortex for 30 s/3000 rpm, the extract was centrifuged at 5000g for 15 min. 10 g of supernatant were mixed with 0.5 mL Carrez I and 0.5 mL Carrez II reagents. The solution was homogenized with a vortex for 30 s/3000 rpm, then centrifuged at 1,0000g for 2 min. The supernatant was filtered through a 0.2 µm hydrophilic nylon membrane (Fisher Scientific, Hampton, USA) and placed in a vial.

6.1.2.3.2 Separation, identification and quantification by UHPLC-CAD

The concentrations of glucose and fructose were quantified by UHPLC using a Thermo Fisher Dionex (Waltham, USA) U3000 system equipped with a trinary solvent manager RS pump, a refrigerated RS autosampler and a column oven RS Column compartment, coupled to a Corona™ Veo™ RS Charged Aerosol Detector (CAD). Monosaccharides were separated using an Acquity BEH Amide, 1.7 µm, 100 x 2.1 mm column (Waters, Milford, USA) heated at 35°C, through a Vanguard precolumn (5 x 2.1 mm) (Waters, Milford, USA) packed with the same material. The elution conditions were 0.26 mL.min⁻¹ flow rate with a combination of two mobile phases: water or acetonitrile (both alkalized with 10 mM NH₄OH), with gradient starting at 20% water, maintained for 4 min, then increased to 50% water in 3 min, kept 3 min to rinse the system before returning back to 20% water in 0.5 min, and finally equilibrating for 8.5 min, the total run duration being 19 min. Data were processed using Chromeleon® v7.2 software.

An external standard calibration was used. The response range was evaluated for concentrations ranging from 0.01 to 3 g.L⁻¹ at 4-6 points. The response was quadratic with the concentration on the ordinates and the peak area on the abscissa, without forcing the zero. The *LOD* and *LOQ* values for glucose in the extracts were equal to 7.803 and 26.01 mg.L⁻¹, respectively, while for fructose they were equal to 9.339 and 31.13 mg.L⁻¹, respectively. The concentrations were then converted in mmol.g_{DM}⁻¹, after verification that all the values were higher than *LOQ*.

6.1.2.4 Analysis of free NH₂ by titration

Concentrations of free NH₂ were measured by basic titration using the Sørensen method where 0.038 g of a freeze-dried aliquot was suspended in 20 mL ultrapure water, and homogenized with a stirrer. Sample titration was fully automated using a Metrohm 809 Titrando titrator equipped with an autosampler (814 USB, Sample Processor, Metrohm, Herisau, Switzerland), and controlled by Tiamo v1.2.1 software. 15 mL of 30% formaldehyde were added to 20 mL of the solution brought to pH 8.50. The resulting acidity was titrated with a 0.005 N NaOH solution up to pH 8.5. The NaOH volume was used to calculate the concentration of free NH₂ expressed in moles of NH₂ per gram of dry matter.

The response range of this method was evaluated for concentrations ranging from 0.0039 to 0.0382 mmol.g⁻¹ at 6 points. The calibration standards were prepared in ultrapure water. The calibration curve was linear without forcing the zero. *LOD* and *LOQ* were equal to 0.761 and 2.536 μmol.g⁻¹, respectively.

6.1.2.5 Analysis of α-dicarbonyl intermediates using UHPLC-MS

6.1.2.5.1 Extraction and sample preparation for α-dicarbonyl analysis

α-dicarbonyl compounds were extracted at 20°C (0.4 g of freeze-dried sample/20 g ultrapure water). After homogenization with a vortex for 30 s/3000 rpm, the extract was centrifuged at 5000g for 15 min, and then 5 mL of supernatant were mixed with 5 mL of acetonitrile, homogenized with a vortex for 30 s/3000 rpm, and centrifuged at 7000g for 3 min. 900 μL of supernatant was recovered in a SafeLock Eppendorf (Fisher Scientific, Hampton, USA), added with 150 μL phosphate buffer pH 7.0 (100 mmol.L⁻¹) and 150 μL of o-PDA at 0.2% in DETAPAC (10 mmol.L⁻¹), then mixed and placed in a stove at 60°C for 30 min for derivatization. It was then cooled at ambient air for 1 min, and 100 μL of d4-quinoxaline (10 mg.L⁻¹) was added as internal standard. The mix was then homogenized, filtered through 0.2 μm hydrophilic nylon membrane (Fisher Scientific, Hampton, USA), and placed in a vial.

6.1.2.5.2 Separation, identification and quantification by UHPLC-MS

The separation and quantification of α-dicarbonyl compounds were performed on a Waters® Acquity H-Class apparatus composed of a quaternary solvent manager pump (QSM), a refrigerated sample manager Flow Trough Needle (SM-FTN), a column oven, and a high resolution mass spectrometer with a time of flight analyzer, Xevo G2-S QToF, equipped with an Electrospray Ionization Source (ESI). All the analyses in MS were performed in positive polarity using the resolution mode for a scan time of 0.5 s, with mass range between 50 m/z and 600 m/z

acquired in centroid. The ToF analyzer was internally calibrated with a continuous flow at 5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ of Leucine Enkephalin at 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for 3 scans every 20 s during 0.2 s. The ESI+ parameters used for the analyses were: capillary voltage of 0.5 kV, sampling cone of 40 V, a source offset of 80 V, a cone gas flow of 50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, and a desolvation gas flow of 1000 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. The source and the desolvation gas were heated at 120°C and 500°C, respectively.

The compounds were separated at 30°C on a Purospher® STAR RP-18e 5 μm , 150 x 4.6 mm column (Merck, Darmstadt, Germany). The elution conditions were 0.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ flow rate with water (LC/MS Grade, acidified with 1% formic acid)/methanol (LC/MS Grade, acidified with 1% formic acid), using the following gradient: from 70% to 40% water in 10 min, then back to 70% in 2 min, and finally equilibrating the system for 3 min, the total run duration being 15 min. The injection volume was 1 μL and the mass spectra were treated with MassLynx Software.

The response range of this method was evaluated with an external calibration using labelled molecules, for concentrations ranging from 0.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 21 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for quinoxaline, from 0.01 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for methylquinoxaline, and from 0.005 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 1.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for dimethylquinoxaline. The calibration standards (8 points for each of the three compounds) were prepared in the same diluent as the sample, without o-PDA. The peak area for each compound was extracted at the mass corresponding to the most intense m/z ratio in SIM mode (Tableau 22). The calibration curves expressing the ratio between the analyte peak area and the internal standard peak area as a function of the analyte concentration were linear without forcing the zero.

Tableau 22. Derivative forms of α -dicarbonyl compounds associated with their retention times and selected quantifier ions

Compound	Retention time (min)	Selected ions for GC- MS quantification (m/z)
Glucosone (GCO) derivative	3.52	235.1077
1-Deoxyosone (1-D) derivative	4.10	217.0971
3-Deoxyosone (3-D) derivative	4.48	217.0971
3,4-Dideoxyosone (3,4-D) derivative	6.56	251.1009
Quinoxaline (Glyoxal (GO) derivative)	7.65	131.0598

Methylquinoxaline (Methylglyoxal (MGO) derivative)	9.40	145.0760
Dimethylquinoxaline (Diacetyl (DA) derivative)	10.82	159.0922
<i>Internal standard</i>		
d4-quinoxaline	7.54	135.0855

The repeatability of the extraction protocol was assessed for 3-deoxyosone over eight successive extractions from the same freeze-dried sample, and was found excellent (Variation coefficient = 0.01%).

6.1.2.6 Analysis of furfural and 5-HMF using UHPLC-DAD

The extracts prepared for the analysis of glucose and fructose (6.1.2.3.1) were stored at -20°C for a maximum of 2 weeks prior to analyzing furfural and 5-HMF.

The furfural and 5-HMF concentrations were determined by a Thermo Fisher (Waltham, USA) U3000 System composed of a ternary solvent manager RS pump, a refrigerated RS autosampler, a column oven RS Column compartment, and coupled to photodiode array detector. The stationary phase was an Acquity HSS T3 1.8 µm, 100 x 2.1 mm column, heated at 40°C, equipped with a Vanguard precolumn 5 x 2.1 mm of the same material. The injection volume was 1.4 µL. The elution conditions were 0.5 mL.min⁻¹ flow rate with a combination of two mobile phases: water and acetonitrile (both acidified with 0.1% formic acid), using the following gradient: 95% water for 1.5 min, then increased to 100% acetonitrile in 0.1 min, composition kept for 3.4 min to rinse the system before returning back to 95% water in 0.1 min and finally equilibrating for 6.9 min, the total run duration being 11 min.

The detection was performed at 277 nm and 284 nm for furfural and 5-HMF respectively. Calibration with an external standard method was used. The response range was evaluated for concentrations ranging from 0.05 mg.L⁻¹ to 21.1 mg.L⁻¹ at 7 points for both compounds. The calibration curve was linear without forcing the zero. The *LOD* and *LOQ* values for furfural were equal to 5.93 and 19.8 µg.L⁻¹ respectively, while for 5-HMF they were equal to 0.190 and 0.634 µg.L⁻¹ respectively. The concentrations were then converted in mmol.g DM⁻¹, after verification that all the values were higher than *LOQ*.

6.1.3 Results and discussions

6.1.3.1 *Building of a simplified reaction scheme in the model cakes for glucose or glucose + leucine added as precursors*

A simplified reaction scheme was first established, describing the reactivity of the selected precursors (glucose or glucose + leucine) on the basis of the information selected from the literature (Figure 58). This reaction scheme was meant to be composed of markers which could be possibly quantified by available analytical methods, and to be used for a better understanding of the reaction pathways and for further kinetic modelling.

Glucose can first interconvert into fructose through 1,2-enediol and *vice versa*. This conversion is called 1,2-enolization (Belitz et al., 2009), and the isomerization reaction is also known as Lobry de Bruyn-van Ekenstein rearrangement (Nursten, 2005; Belitz et al., 2009). Fructose can also be in equilibrium with 2,3-enediol. 3-deoxyosone (3-D) is then formed by water elimination from 1,2-enediol, and water elimination from 3-D leads to the formation of 3,4-dideoxyosone (3,4-D) which can further dehydrates to 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) (Perez Locas et al., 2008). 1-deoxyosone (1-D) is formed by water elimination from 2,3-enediol in the same manner as for 3-D. For simplification and due to the lack of quantifying method, 1,2-enediol and 2,3-enediol were not considered, as in many studies (Martins et al., 2003 b, 2005 a; Knol et al., 2010; Nguyen et al., 2016 b). In the presence of leucine, both 1-D and 3-D are formed by degradation of Amadori product with the release of leucine Martins et al., 2003 a during the intermediate stage of the Maillard reaction.

Glucosone (GCO) can be formed by the oxidation of glucose (Jenny et al., 2009). In the presence of leucine, GCO can also be formed by the Maillard reaction. This corresponds to the early stage of the Maillard reaction when glucose undergoes a condensation with leucine to give rise to the Amadori product which is oxidized, followed by hydrolysis and release of leucine (Belitz et al., 2009; Velíšek, 2014). Once this Amadori product is formed, the reaction becomes irreversible under normal conditions (Martins & van Boekel, 2005). However, the mechanism of Amadori rearrangement is not fully understood and only the first steps of formation of fructose and enediols were considered reversible in the simplified reaction scheme presented here.

Glyoxal (GO) can be formed by oxidation of a glycolaldehyde which is produced by oxidative fission of 1-D (Nursten, 2005) or directly from 1-D with the formation of diacetyl (DA) at the same time (Shibamoto, 2014). This second hypothesis was retained for the simplified reaction scheme in Figure 58. Methylglyoxal (MGO) can originate from 1-D or 3-D by retro-aldol cleavage

(Weenen, 1998; Yaylayan et al., 2000). Fructose can also give rise to glyceraldehyde and dihydroxyacetone, which easily undergo water elimination later to yield methylglyoxal by chain cleavage due to retroaldolization (Belitz et al., 2009). However, according to Hollnagel et al., 1998, and Kocadağlı et al., 2016, it can be assumed that MGO mainly derives from 1-D. Fructose is assumed to be the source of furfural and 5-HMF based on the work of Belitz et al., 2009; Kocadağlı et al., 2016; Hu et al., 2018. According to Hu et al., 2018, both furanic compounds are also likely to be formed from 3-D. All the intermediates previously mentioned and both furanic compounds are assumed to form brown polymers without leucine (Van Boekel, 1998; Belitz et al., 2009). In presence of leucine, these intermediates are also assumed to give rise to melanoidins through the Strecker degradation or *via* other reaction pathways (Nursten, 1980; Yaylayan, 2003).

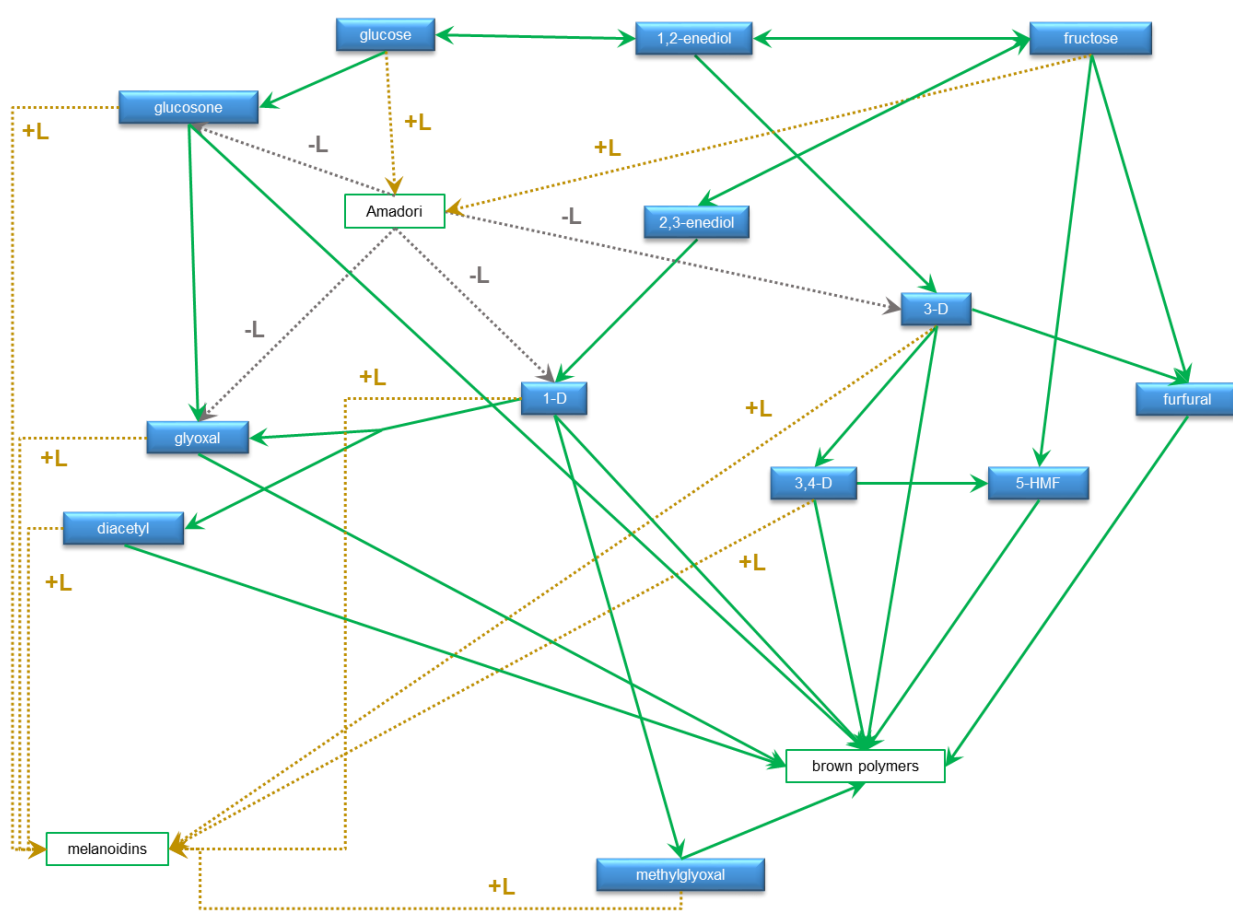


Figure 58. Simplified reaction scheme established for caramelization and the Maillard reaction in a model cake enriched with glucose and leucine as specific precursors. Leucine (L) and markers in blue are extracted and quantified from the matrix. +L means addition of leucine while -L means release of leucine.

This reaction scheme in Figure 58 was confronted with kinetic data obtained using model cakes with two different formula *G* and *G+L*, baked at three levels of temperatures, and under two levels of convection.

6.1.3.2 Impact of temperature, convection and formulation on the consumption of the precursors

The kinetics in Figure 59-A clearly show a slight consumption of glucose in model cake *G* due to caramelization during baking at 140°C or 170°C. The reaction was clearly much more intense at 200°C, with an almost total consumption of the precursor after 90 min. These results are coherent with the fact that caramelization reaction requires temperatures over 120°C for glucose degradation (Hurttä, Pitkänen, & Knuutinen, 2004; Kroh, 1994; Srivastava, Bousquière, Cepeda-Vasquez, Roux, Bonazzi, Rega, 2018). Indeed, for a set-point temperature of 200°C in the oven, the temperatures measured at the surface and at the center of the cakes get higher than 120°C after around 5 and 35 min, respectively. For a set-point temperature of 170°C, the respective times were 8 and 55 min; while they exceed 20 and 80 min at 140°C (Figure 73, section 7.2.1).

It can be noted that for all the kinetics presented in this article, no effect of the convection level could be observed. The two convection conditions can thus be considered as two repetitions for each set-point temperature.

In *G+L* products (Figure 59-B), the consumption of glucose was more important and more rapid at 140°C and 170°C than in model cakes *G* due to the activation of the Maillard reaction even at these relatively low temperatures, with an increase of rate quite equivalent as the temperature rose from 140 to 170°C or from 170 to 200°C. At 200°C, the consumption of glucose was quite equivalent in models *G* and *G+L*, all the glucose being consumed in this latter in less than 80 min. The absence of leucine could be verified in model cake *G* (Figure 59-E). In model cake *G+L* (Figure 59-F), the consumption of leucine confirmed the activation of the Maillard reaction pathway from 140°C. The decrease of leucine concentrations followed an expected trend, being more pronounced when the temperature increased. Given similar trends in glucose consumption in both model cakes, it can be assumed that the consumption of leucine is relatively low in the first step of the Maillard reaction, but it is involved in the following stages until the formation of melanoidins and can also be regenerated at different steps. Similar observations were made by Martins et al., 2003 a, 2005 b; Kocadağlı et al., 2016, but they could not quantify the relative importance of the caramelization reaction as we were able to do in this study by comparing both models *G* and *G+L* in the same baking conditions.

In both *G* and *G+L* formula, the amount of fructose formed could be measured as the function of baking time (Figure 59-C, D). According to the reaction scheme (Figure 58), fructose was only formed from glucose (reversibly) and could then be consumed by 3 (model *G*) or 4 (model *G+L*) subsequent reactions. The measured concentrations were therefore the results of a production and a degradation of the molecule. From a quantitative point of view, the fructose concentrations were less than $0.08 \text{ mmol.g}_{\text{DM}}^{-1}$, for initial concentrations of glucose close to $2 \text{ mmol.g}_{\text{DM}}^{-1}$. At 140°C , only a small quantity of fructose was detected at the end of baking in model cake *G*, whereas it was measured in increasing quantities from 56 min in model cake *G+L*. For both formula, fructose exhibited higher concentrations at 170°C than at 200°C , probably meaning that at high temperature fructose consumption was increased than its formation. In fact, fructose is known to have a higher reactivity than glucose under low moisture conditions and in solution during the Maillard reaction (Robert et al., 2004; Jiang et al., 2008), and thus a high disappearing rate could be expected.

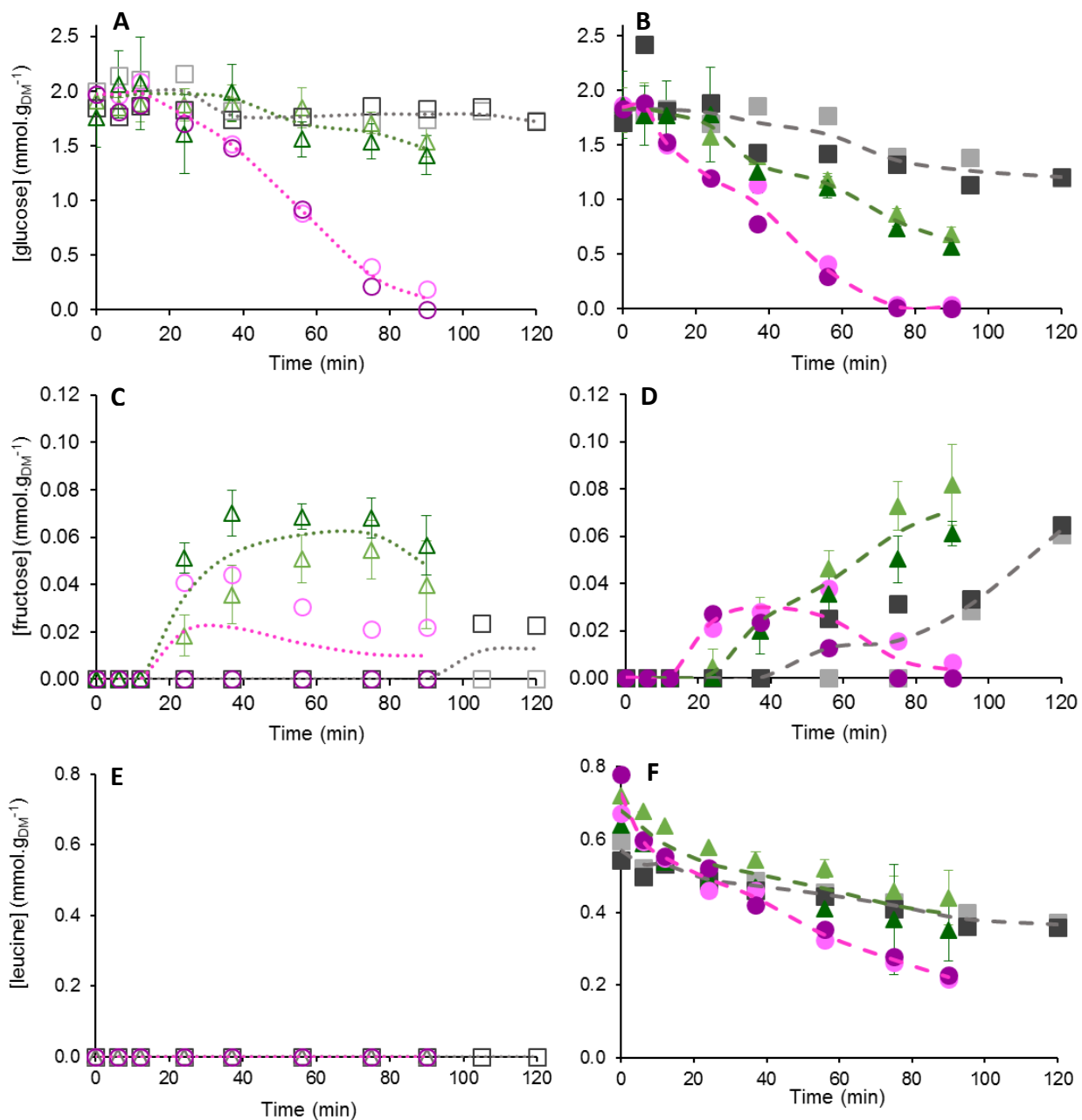


Figure 59. Concentrations of glucose, fructose and leucine at different time during baking of the model cakes G (empty symbols) and G+L (full symbols) at 140°C/25 Hz (\square , \blacksquare , n=1), 140°C/50 Hz (\square , \blacksquare , n=1), 170°C/25 Hz (\triangle , \blacktriangle , n=3), 170°C/50 Hz (\triangle , \blacktriangle , n=3), 200°C/25 Hz (\circ , \bullet , n=1) and 200°C/50 Hz (\circ , \bullet , n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

6.1.3.3 Impact of temperature, convection and formulation on the kinetics of long chain α -dicarbonyl intermediates

Kinetics measured for glucosone (GCO), 1-deoxyzone (1-D), 3-deoxyzone (3-D) and 3,4-dideoxyzone (3,4-D) are presented in Figure 60. GCO and 3-D were formed from glucose

and 1-D from fructose, but also from Amadori compounds in the model cakes containing leucine in the early stage of the Maillard reaction. 3,4-D resulted from the degradation of 3-D. All the kinetics were bell-shaped, typical of the simultaneous formation and degradation of intermediates products, and were significantly accelerated by temperature. All these α -dicarbonyl intermediates were found in relatively small amounts (in the order of $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$, when initial concentrations in glucose and leucine were in the order of $\text{mmol.g}_{\text{DM}}^{-1}$). GCO, 1-D and 3-D were formed in much larger amounts (about 4 to 10-fold) in the model cake *G+L*.

At 140°C, no GCO was measured in the model cake *G* (Figure 60-A). As it can only be formed by oxidation of glucose (Jenny et al., 2009), the rate of this reaction must be very slow at 140°C. At 170°C, concentrations in GCO were gradually increased up to 0.03 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$ after 90 min. At 200°C, GCO was very rapidly formed and consumed. These observations were consistent with the kinetics measured on glucose in the model *G*. A similar trend was observed in the model cake *G+L* (Figure 60-B), but with bell-shaped curves for the three temperature levels and much higher amounts measured (about 4 times higher). In the presence of leucine, the kinetics of formation and consumption of GCO were significantly accelerated and GCO could also be formed from the Amadori compounds by the Maillard reaction. Since the rate constants for GCO formation from only glucose should be the same in both models, the results indicate that the GCO pathway from the Amadori compounds was very active in the model *G+L*.

From an experimental point of view, the trends observed for 1-D were very similar, with a more rapid formation and higher concentrations measured in the model *G* at 170°C (Figure 60-C). As 1-D is formed from fructose only in that case, it is consistent with the results observed for fructose (Figure 60-C), with a maximum level of fructose measured between 40 and 80 min. In the model *G+L*, the presence of leucine accelerated significantly both the formation and the consumption of 1-D, and high levels were measured at 140°C (Figure 60-D). Therefore, the formation of 1-D *via* the Amadori - or more specifically Heyns product must be more important than the formation of 1-D from fructose. Kocadağlı et al., 2016, estimated that the reaction rate of 1-D formation from fructose was zero or very low as a function of temperature and therefore excluded this formation route. However, in our study, data acquired with glucose only as a precursor will be useful in identifying the specific reaction rates of each of the two pathways.

It is worth noting that in the case of GO and 1-D, the experimental curves for both model cakes were the only one to show a discrepancy between measurements at low or high convection level at 200°C. It might be due to a very rapid consumption of these compounds in the crust of the cakes at high convection level, which make them difficult to quantify in the cakes.

3-D was formed in much higher quantity (Figure 60-E, F) than GCO (25-folds) and 1-D (10-folds). It is in agreement with the results of Kocadağlı et al., 2016 who reported concentrations of 3-D roughly 26 and 9-folds higher than the concentrations of GCO and 1-D, respectively, in a low moisture wheat flour/glucose model system. The shape of the curves were very similar for both formula G and $G+L$, and increasing temperature accelerated the formation of 3-D in both cases. However, the concentrations in the cake $G+L$ were roughly 11-folds higher than in the cake G . It is therefore fair to assume that 3-D was formed by both the Maillard and caramelization reactions and that the formation *via* the Amadori product was much more privileged than the direct degradation from glucose.

The concentrations of 3,4-D measured in the model cake G were of the same order of magnitude as those of 3-D. The 3,4-D was formed gradually and more rapidly than consumed at 140°C and 170°C, and the reactions were accelerated by temperature (Figure 60-G). The concentrations measured in the model $G+L$ were of the same order of magnitude, but all the kinetics were bell-shaped with a maximum concentration that decreased and was reached earlier as the set_point temperature increased (Figure 60-H). The repeatability of all the kinetics was excellent. According to Figure 58, 3,4-D was formed from 3-D and could react to form 5-HMF, brown pigments and, in presence of leucine, melanoidins. The shape of the curves closely followed that of 3-D with a delay, the formation of which was not affected by the presence of leucine. The results indicated that the main pathway to form brown polymers from 3-D was through 3,4-D, and that in presence of leucine, the 3-D formed was more rapidly degraded by the Maillard reaction, to form melanoidins, than through the caramelization pathways.

As a whole, these results on the dicarbonyl intermediate compounds formed after the consumption of the precursors showed that in the presence of leucine the formation route *via* the Amadori compounds to 1-D and 3-D was predominant, more rapid and more pronounced. The advantage of these model cakes G and $G+L$ is that they made it possible to compare on the same system the reaction pathways of the caramelization reaction induced by glucose alone and those due to the Maillard reaction itself in the presence of leucine. In such a solid product, for baking temperatures in the range of 140°C to 200°C, it was observed that the caramelization pathway was systemically active and significantly accelerated at 200°C.

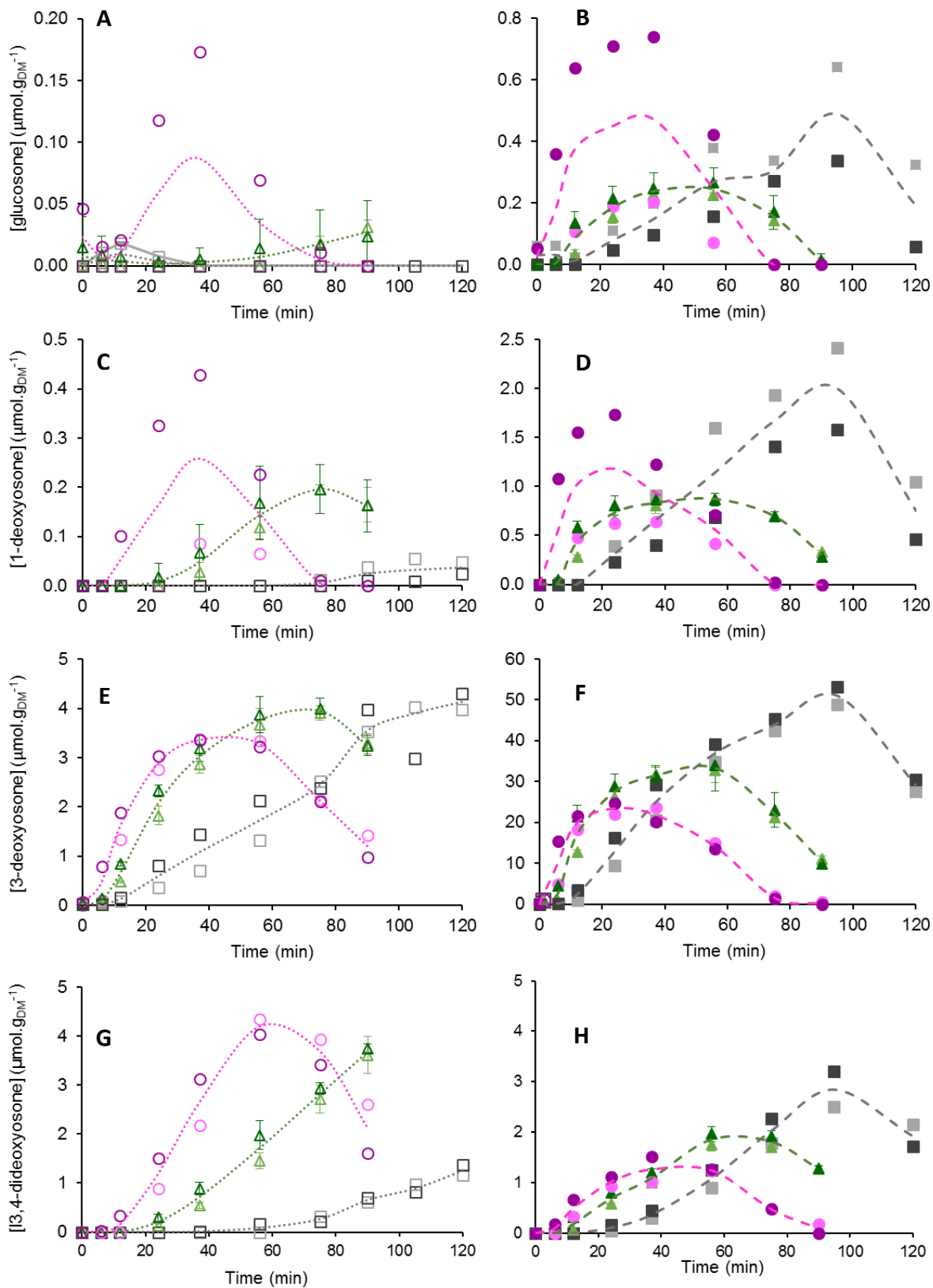


Figure 60. Concentrations of glucosone, 1-deoxyosone, 3-deoxyosone and 3,4-dideoxyosone at different time during baking of the model cakes G (empty symbols) and G+L (full symbols) at 140°C/25 Hz ($\square, \blacksquare, n=1$), 140°C/50 Hz ($\square, \blacksquare, n=1$), 170°C/25 Hz ($\triangle, \blacktriangle, n=3$), 170°C/50 Hz ($\triangle, \blacktriangle, n=3$), 200°C/25 Hz ($\circ, \bullet, n=1$) and 200°C/50 Hz ($\circ, \bullet, n=1$). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

6.1.3.4 Impact of temperature, level of convection and formulations on kinetics of formation of short chain α -dicarbonyl intermediates

Kinetics measured for methylglyoxal (MGO) and diacetyl (DA) are presented in Figure 61. Glyoxal (GO), MGO and DA were formed by fission from GCO and 1-D or from the Amadori compound (in the model cakes containing leucine). No GO was detected in the model cake *G*, and only very small amounts (in the range of 0.05 and 0.2 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$) were measured in the model *G+L* for the most extreme condition (200°C, high convection). GO is known to be extremely responsive, thus, probably degraded very quickly and could only be detected when it was formed in larger quantities in the most severe conditions.

The kinetics of formation and degradation of MGO were very similar in the model *G* (Figure 61-A) and the model *G+L* (Figure 61-B), with amounts slightly higher in the presence of leucine. Temperature also had an accelerating effect. MGO was formed only by fission from 1-D. In the model cake *G*, it was formed in amounts comparable to that of 1-D with a small delay in time, suggesting that the reaction rate of 1-D to MGO was much higher than that of MGO to brown polymers. In the model *G+L*, the concentrations were lower than 1-D ones, indicating that the reaction of degradation to form melanoidins was very active.

In the model cake *G*, only very small amounts of DA could be detected at 200°C under high convection (Figure 4-C). In the model *G+L*, the formation of DA varied with temperature (Figure 4-D). As for MGO, DA could only be formed from 1-D, and the amounts formed in presence of leucine were thus higher because of higher initial concentrations of 1-D. The reaction rates were also highly temperature dependent.

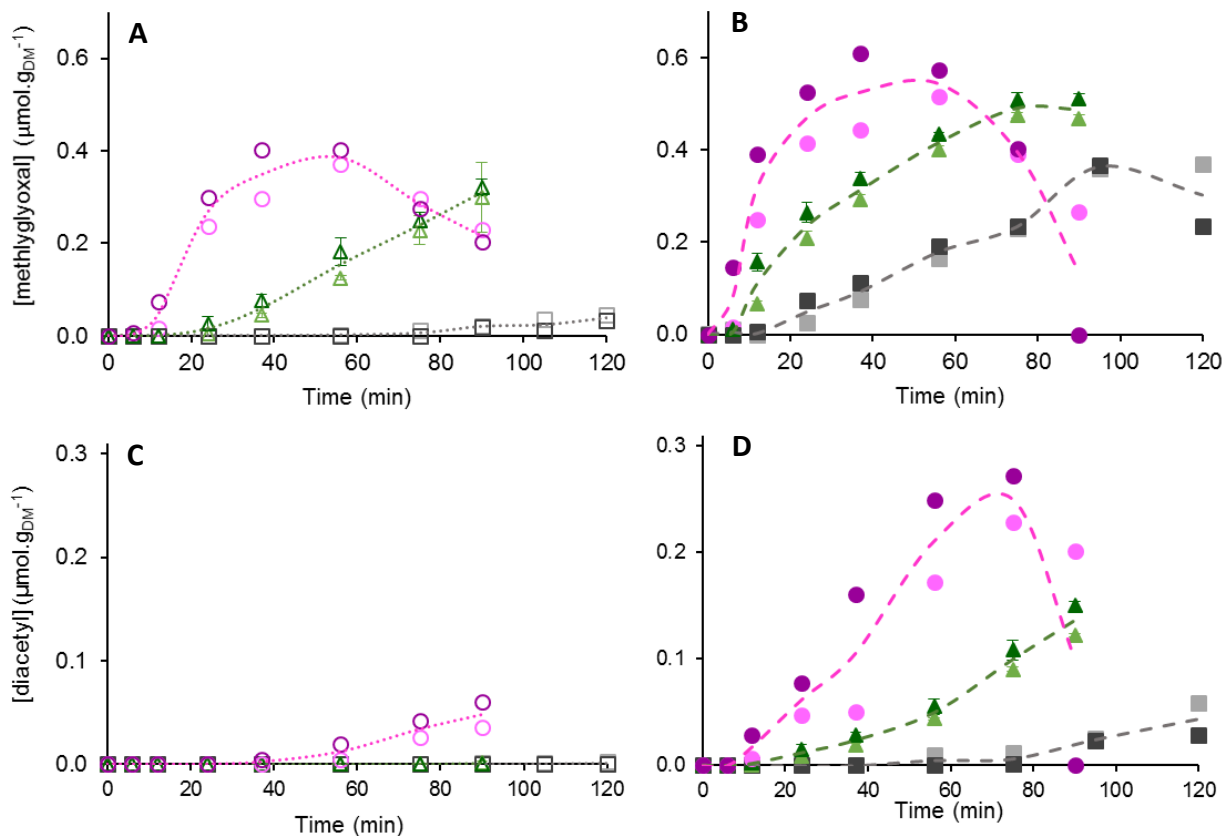


Figure 61. Concentrations of methylglyoxal and diacetyl at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●, n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

6.1.3.5 Impact of temperature, level of convection and formulations on formation of 5-HMF and furfural

Kinetics measured for 5-HMF and furfural are presented in Figure 5. Both are volatile compounds, formed from fructose and 3-D for furfural or 3,4-D for 5-HMF, and can also be degraded to form brown polymers. The reaction pathways are the same in both model *G* and *G+L*, except that the concentrations in fructose, 3-D and 3,4-D may differ in the presence of leucine, as previously discussed.

In both model cakes, the kinetics were similar, but the concentrations were different and 2-folds higher in the model *G+L* (Figure 61). Thus, leucine accelerated the formation of these compounds through the formation of their precursors by activation of the Maillard reaction. As reported by Kocadağlı et al., 2016, who obtained very similar kinetics for HMF, the formation of the furanic compounds showed a short lag phase of about 20 min as in fructose and was highly influenced

by temperature. In both models, 5-HMF was also formed in much higher amounts than furfural (20 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$ and 50 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$, in *G* and *G+L*, respectively, for 5-HMF, and 2 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$ and 8 $\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$, in *G* and *G+L*, respectively, for furfural after 80 min at 200°C), as already observed by Srivastava *et al.*, 2018.

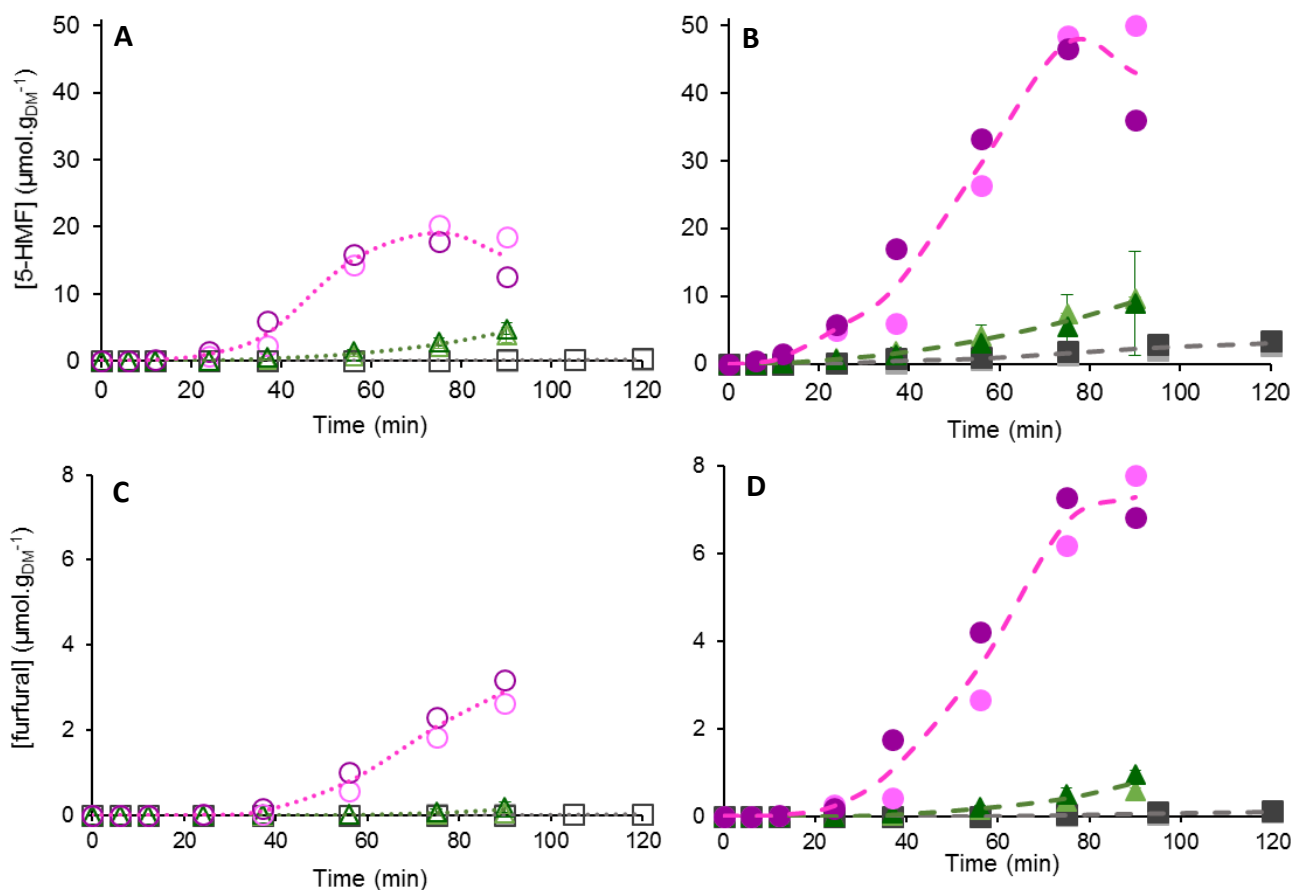


Figure 62. Concentrations of 5-HMF and furfural at different time during baking of the model cakes *G* (empty symbols) and *G+L* (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

6.1.4 Conclusions

A simplified reaction scheme was proposed for the caramelization and Maillard reactions in a product containing glucose or glucose and leucine as specific precursors. This reaction scheme made it possible to predict the formation and the fate of different markers (precursors, intermediates) that could be quantified in the product versus baking conditions (3 temperatures, 2 levels of convection) and processing time (from 0 to 90 or 120 min).

Working with two identical products containing either glucose or glucose plus leucine made it possible to fully understand the part of the caramelization and the activation of specific pathways by the Maillard reaction. The determination of several intermediate compounds made it possible to obtain very interesting experimental data for understanding and explaining the behavior of the precursors. These data constitute a very complete database which will make it possible to build a stoichiokinetic model and to quantify the preponderance of certain reaction pathways, insofar as it is possible to identify all the reaction constants of the model.

6.2 Understanding caramelization and the Maillard reaction in glucose/leucine model cakes. Part II– Kinetic study of volatile markers extracted from baking vapor (Article 4)

En préparation pour Food chemistry

Lee, J., Roux, S., Descharles, D., Rega, B., Bonazzi, C.*

Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRA, Ingénierie Procédés Aliments, 91300, Massy, France

* Corresponding author : Catherine Bonazzi, UMR GENIAL, AgroParisTech-site de Massy, 1 avenue des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France. Tel.: +33 169935133; e-mail address: catherine.bonazzi@agroparistech.fr

Keywords:

Bakery, cereal, fructose, solid food model, reaction pathways, process parameters, temperature, thermal desorption

6.2.1 Introduction

During the baking of food products such as formulated bakery products, a large amount of compounds are formed by the Maillard reaction and caramelization with a direct impact on different aspects of quality (flavor, color, food safety, *inter alia*). Indeed, it has been reported that more than 540 volatile compounds can be formed during baking of cereal-based goods (Cho et al., 2010). Despite many years of research, the reaction mechanisms are not completely elucidated especially the ones leading to volatile end-products. Unravelling these mechanisms can be of useful tool to predict and control the food quality, especially in terms of aromatic profiles.

While the studies on real food products with complex or simplified formulations are interesting in order to assess the influence of baking conditions and composition on the formation of specific aromatic compounds (Takei, 1977; Ait Ameur et al., 2006, 2007; Dury-Brun et al., 2007; Rega et al., 2009; Paraskevopoulou et al., 2012; Pacyński et al., 2015; Cepeda-Vázquez et al., 2018) or health-related compounds (Gökmen et al., 2007, 2008; Petisca et al., 2013; Cepeda-Vázquez et al., 2018; Mildner-Szkudlarz et al., 2019), it is less adapted for kinetic studies of specific reactions.

The large number and the variety of types of precursors and intermediates in real products make it difficult to pinpoint the exact mechanism behind the formation and the degradation of compounds.

In previous papers (Srivastava et al., 2018, Article 1), the use of a cake model only containing glucose and leucine has been shown to be highly relevant to follow the reactivity of a solid product mimicking sponge cake. In order to identify the most active reactions and gain understanding in the paths that are active under the applied conditions (precursors, time, temperature and humidity), the quantitative determination of a large number of reaction markers is necessary to get kinetics data. This number depends on the degree of complexity of the reaction scheme and on the availability of quantification methods. The kinetic modelling approach has been applied both to liquid and real products, however at the best of our knowledge, volatile markers are hardly included in the list of the markers followed due to the difficulty in quantification.

In Article 3, the degradation of leucine and glucose could be quantitatively followed and, at the same time, the formation of intermediates and some final products triggered by the thermal reactions occurring during the baking of a cake model. In a previous paper (Article 1), it was demonstrated that this reactivity led to at least 18 volatile compounds. Thanks to the development and optimization of a TD-GC-MS quantitative method presented in (Article 1), it is now possible to quantify up to 10 caramelization and Maillard reaction volatile markers from baking vapors.

The aim of this study was to present and discuss the kinetic data obtained for volatile markers by quantitative TD-GC-MS, under the light of a complete reaction scheme including the two precursors (glucose and leucine), and numerous intermediates and nonvolatile markers. This method has been proven to be adapted for kinetics study of baking and is very interesting because it makes it possible to sample markers directly from the baking vapors.

6.2.2 Materials and Methods

6.2.2.1 *Ingredients and chemicals*

The ingredients used for model cakes were ultrapure water, produced by an Integral 3 water purification system from Millipore[®], native corn starch (Cargill, Minneapolis, USA) (12.4% w/w water) (measured according to NF norm V05 707), and food grade cellulose derivatives (Dow Chemical, Midland, USA): methylcellulose (MC) type SGA7C and hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) type K250M. D-(+)-Glucose used as a precursor was provided by Roquette Frères

(Lestrem, France). L-Leucine ($\geq 99\%$, food Grade) was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

3-methylbutanal (3-MEB) ($>99\%$), pyrazine (P) ($\geq 99\%$), 2-methylpyrazine (2-MP) ($\geq 99\%$), 2,5-dimethylpyrazine (2,5-DMP) ($\geq 99\%$), 2,6-dimethylpyrazine (2,6-DMP) ($\geq 99\%$), furfural (F) ($\geq 99\%$), furfuryl alcohol (FA) ($\geq 98\%$), 5-methylfurfural (5-MF) ($\geq 99\%$) and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) ($\geq 99\%$) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Acetic acid (AA) ($\geq 96\%$), methanol ($\geq 99.9\%$) and ethanol ($\geq 95\%$) were purchased from Carlo Erba (Val de Reuil, France). Deuterated standards d4-pyrazine ($\geq 98\%$) and d4-furfural ($\geq 99.7\%$) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) and CIL Cluzeau, CDN Isotopes (Pointe-Claire, Canada), respectively.

6.2.2.2 Batter preparation and baking of model cakes

The inert cake models were prepared according to the method developed by Bousquières et al., 2017 a, using a hydrocolloid solution of HPMC and MC foamed with starch prior to baking. Glucose and leucine were added to the inert cake models as specific precursors of reaction pathways, in order to obtain two different products: model *G* (only containing glucose) and model *G+L* (containing both glucose and leucine), as described by Srivastava et al., 2018.

For each baking experiment, 9 cylindrical aluminum molds ($d = 6.6$ cm, $h = 4$ cm) were each filled with 20 g batter and baked in an instrumented pilot oven (Bongard, Wolfisheim, France) with a precise and uniform control of temperature and convection Fehaili et al., 2010. 3 levels of temperatures (140, 170 and 200°C) and 2 levels of convection set by changing the fan velocity (low convection: 25 Hz and high convection: 50 Hz) were used for the baking experiments of both cake models *G* and *G+L*. Vapors were sampled during the following time intervals: 2-6 min, 8-12 min, 20-24 min, 33-37 min 52-56 min and 86-90 min. Specifically at 140°C, the last interval was replaced by 91-95 min and an additional one: 116-120 min was done.

6.2.2.3 Kinetic analysis of volatile compounds by TD-GC-MS

6.2.2.3.1 On-line sampling of baking vapors by sorbent tubes

Vapors were extracted during baking using Air Toxics™ sorbent tubes (Perkin Elmer, Waltham, USA) following Article 1 at different time intervals of 4 min each (2-6, 8-12, 20-24, 33-37, 52-56, 91-95, and 116-120 in baking). This duration was long enough to collect sufficient quantities of volatile markers on the sorbent tubes, and short enough to discriminate the kinetic points during baking. A median time was then attributed to each kinetic point. After removing the sorbent

tubes, they were sealed immediately with Teflon® caps, stored at ambient temperature, and analyzed within the day.

6.2.2.3.2 Quantitative TD-GC-MS analysis of baking extracts

After sampling and prior to GC-MS analysis, 1 μL solution of deuterated internal standards (68.07 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ d4-pyrazine, 74.37 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ d4-furfural) was spiked into the extract-containing sorbent tubes which were immediately sealed with Teflon® caps and analyzed within the day by quantitative TD-GC-MS detailed in (Article 1). The desorption of Air Toxics™ tubes was performed with an automated TurboMatrix 650 thermal desorber (Perkin Elmer, USA).

Desorption of Air Toxics™ sorbent tubes was performed by mean of an automated TurboMatrix 650 thermal desorber (Perkin Elmer, USA). A dry air purge was applied for 10 min at 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Helium was used as carrier gas. A first desorption was performed at 330°C for 20 min at 60 mL/min , and the compounds were focused on a Air monitoring™ cold trap at -20°C with an inlet split of 8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, then sent to the GC column by a fast heating of the trap from -20 to 330°C at 99°C $\cdot\text{s}^{-1}$ with an outlet split of 15 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. In this manner, 7.5% of the gas volume of the volatile compounds desorbed from the sorbent tube was transferred to the GC system at a constant gas flow of 1.4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ *via* a transfer line heated at 270°C. A preliminary optimization (n=5) showed that a desorption time of 20 min gave the best results of recovery for all analytes and internal standards with yields higher than 99.5%, except for acetic acid (97.4%) and 5-HMF (91.1%). Therefore, 20 min was chosen as desorption time. After each injection, trap hold time was set to 30 min and 60 min for the cases where the concentrations were high (highest level of calibration, or sampling tubes from baking at 200°C), at 330°C to clean the trap. Sorbent tubes were systematically conditioned after each analysis by heating at 330°C with a gas flow of 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ during 40 min.

Ten reaction markers, 3-methylbutanal (3-MEB), pyrazine (P), 2-methylpyrazine (2-MP), 2,5-dimethylpyrazine (2,5-DMP), 2,6-dimethylpyrazine (2,6-DMP), furfural (F), furfuryl alcohol (FA), 5-methylfurfural (5-MF), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and acetic acid (AA), were quantified using external calibrations curves, with a correction with two deuterated internal standards, performed *via* calibration sorbent tubes. d4-pyrazine was used as internal standard for 3-MEB, P, 2-MP, 2,5-DMP and 2,6-DMP, with concentrations ranging from 0.3160 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to 98.92 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 3.939 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 0.1231 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 1.086 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 0.4000 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 1.041 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 0.3257 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.4686 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ to 0.1465 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. d4-furfural was used as internal standard for AA, F, 5-MF, FA and 5-HMF, with concentrations ranging from 0.0384 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to 12.02 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 0.0302 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ to

9.4394 g.L⁻¹, 7.3947 mg.L⁻¹ to 2.3120 g.L⁻¹, 3.260 mg.L⁻¹ to 1.019 g.L⁻¹, 6.105 mg.L⁻¹ to 1.909 g.L⁻¹ respectively. The calibration curves were linear without forcing the zero.

6.2.3 Results and discussions

6.2.3.1 Theoretical reaction scheme for model cakes with glucose and leucine

The identification and quantification by TD-GC-MS of the ten volatile markers (3-MB, P, MP, 2,5-DMP, 2,6-DMP, AA, F, 5-MF, FA, 5-HMF) from the model cakes made it possible to enrich the previously presented reaction scheme (Article 3) with well-established pathways that involve these volatile markers as presented in Figure 63. The link between markers and pathways is hereafter explained.

Acetic acid can be directly formed *via* the degradation of 1-deoxyosone and this pathway has been widely studied by Martins et al., 2005 a; Knol et al., 2010. Adding acetic acid to the reaction scheme allows to point out another route of degradation of 1-deoxyosone besides the ones to form glyoxal and methylglyoxal. It is likely that the formation of this organic acid is a strong contributor for the acidity increase in the model cake *G+L*, from 4.10^{-8} equivalent mole $H_3O^+ \cdot g_{DM}^{-1}$ in the dough to 10^{-7} , 5.10^{-7} and 2.10^{-6} equivalent mole $H_3O^+ \cdot g_{DM}^{-1}$ for 90 min baking at 140, 170 and 200°C respectively (calculated from pH measurements of freeze-dried sampled extracted in water).

Furfural and 5-HMF can form from fructose and 3,4-deoxyosone (3,4-D) or 3-dexyosone (3-D), respectively. The routes are independent of leucine, but the amounts of these precursors vary with the presence of the amino-acid, inducing much higher concentrations in the model cakes (Article 3) These markers were followed here in the vapors by TD-GC-MS, in order to compare and cross-validate both methods and to be able to evaluate the partition of the volatile compounds between solid and gas phases.

5-MF was identified as a direct thermal degradation product of 5-HMF by previous studies conducted at 250°C and 400°C (Sanders et al., 2003; Nikolov et al., 2011). However, this compound was easily detected in the present cake models baked at temperatures lower than the ones reported in literature, and it is likely to suppose that this degradation is active even at lower temperatures.

There are few hypotheses regarding the exact mechanisms for the formation of furfuryl alcohol (FA). Among them, Wnorowski et al., 2000, proposed a generic route *via* the Amadori degradation and Yaylayan et al., 2000, proposed that gluconic and glucuronic acids coming from the oxidation at C1 and C6 positions of glucose and glyceraldehyde could be the precursors of

FA. The hypothesis that it could also be formed by reduction of furfural is suggested since the oxidation of FA to furfural was recently established Delatour et al., 2020. We chose to retain this hypothesis, furfural itself being formed from 3-D which is partly formed from the Amadori degradation (Figure 63).

The quantification of 3-methylbutanal (3-MB) made it possible to add on Figure 63 the Strecker degradation pathway, classed under the intermediate stages of the Maillard reaction by Nursten, 2005; Belitz et al., 2009. Indeed 3-MB is the specific product of the Strecker degradation from leucine. The free amino group of leucine can react with α -dicarbonyl compounds coming from glucose forming the 3-MB and one aminoketone that can further cyclize and form pyrazine. 3-MB and pyrazines are well-known key odor compounds found in bakery products (Poinot et al., 2008; Paraskevopoulou et al., 2012; Cepeda-Vázquez et al., 2018). The nature of the alkyl- groups on substituted pyrazines are pre-determined by the α -amino carbonyls intermediates presents in the medium, leaving the possibility to form a multitude of pyrazines. In the present study, the cake models containing glucose and leucine led to the formation of four main pyrazines: pyrazine, 2-methylpyrazine, 2,5-dimethylpyrazine and 2,6-dimethylpyrazine. These four compounds were therefore all selected as markers in order to have a redundancy of information and discriminate degradation routes through glyoxal or methylglyoxal (Figure 63).

Newly formed compounds were produced in the baking vapor in a broad range of concentrations ranging from $<LOQ$ up to $40 \text{ ng L}_{\text{air}}^{-1} \cdot \text{g DM}^{-1}$. The general trend is in agreement with previously semi quantitative results (Article 1) with model *G+L* generating the higher amounts of markers due to the activation of the Maillard reaction pathways.

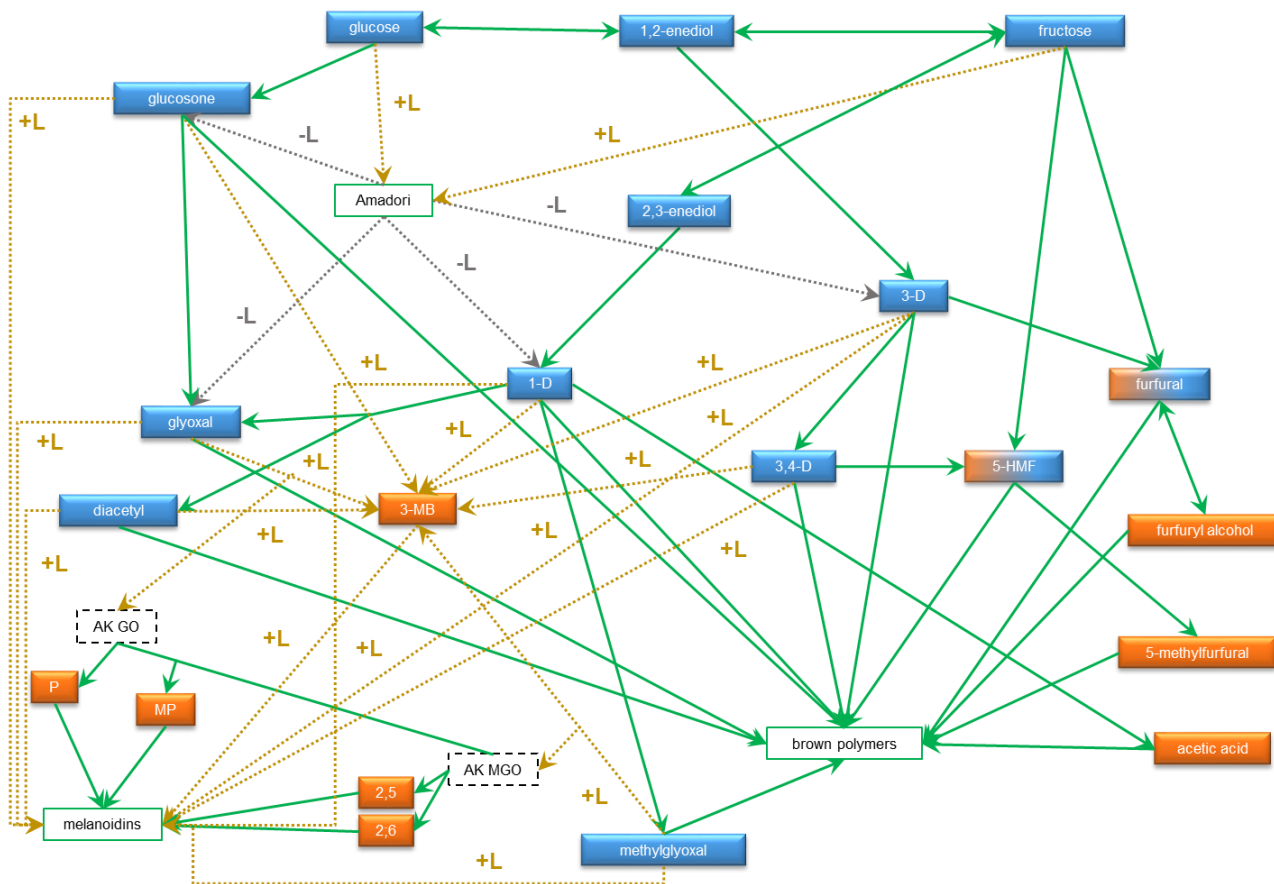


Figure 63. Simplified reaction pathways from glucose and leucine as precursors in model cakes for selected reaction markers to be measured in the products (in blue) or in the baking vapors (in orange). This scheme was based on the one in (Article 3) and enriched with volatile markers.

6.2.3.2 Global impact of temperature and level of convection on kinetic curves

The Maillard and caramelization reactions are highly impacted by temperature Hodge, 1953; Renn et al., 1997. This dependency is well confirmed for solid model cakes in Figure 64, Figure 66 and Figure 67, where temperature has a nonlinear accelerating effect on the formation of volatile markers that show a typical trend of the Arrhenius law, whatever the nature of markers and precursors (G and L). In the present study, the level of air convection in the oven was also varied, because it could play a role in the drying rate of the surface of the products during baking and thus eventually impact the reaction rates at the surface of the products Robert et al., 2004. The results by TD-GC-MS quantification show however that, globally, the impact of the level of convection on reaction markers response was limited. In fact the variability observed was quite randomly dispersed, and neither correlated to volatility of the analytes, nor to baking temperature, nor to formula (G or $G+L$). Moreover, the differences detected could be due to the low concentrations ranges, close to the LOQ , as for instance in model G .

Figure 64, Figure 66, Figure 67 also show that for extreme baking conditions (88 min at 200°C), a decrease in concentrations was measured for all the markers. These concentrations referred to the concentrations in the oven at the time of sampling, but were interpreted as a reflexion of the concentration levels in the product at the same time. At this baking time, almost all the precursors and intermediates have been consumed as previously shown in (Article 3). Therefore, this decrease is due to the strong limitation in precursors that impact the ratio between the formed and consumed markers.

6.2.3.3 Insights on 2,3-enolization pathway in G and G+L models

Acetic acid (AA) was found in relatively high quantities in the baking vapor (up to 3 and 40 mmol.L_{air}⁻¹.g_{DM}⁻¹ in model cakes G and G+L, respectively) (Figure 64). This result supports the fact that AA is a one of the main products of the decomposition of glucose Martins et al., 2003 a. The quantities of AA observed in the presence of leucine were approximately 10-folds higher than without it. In these simple model cakes, AA is formed exclusively from 1-D *via* the formation of the Amadori product during Maillard reaction with leucine – model G+L – or *via* fructose isomerization during caramelization – model G. The strong increase in concentration in the model G+L suggested that leucine accelerated the formation of 1-D when added to glucose. In other words, we can infer that the 1-D was formed more rapidly *via* the formation of the Amadori product during the Maillard reaction than *via* the caramelization (Figure 63). These results are in agreement with those from Kocadağlı et al., 2016, who estimated at almost zero the rate of 1-D formation directly from fructose in a low moisture wheat flour/glucose product.

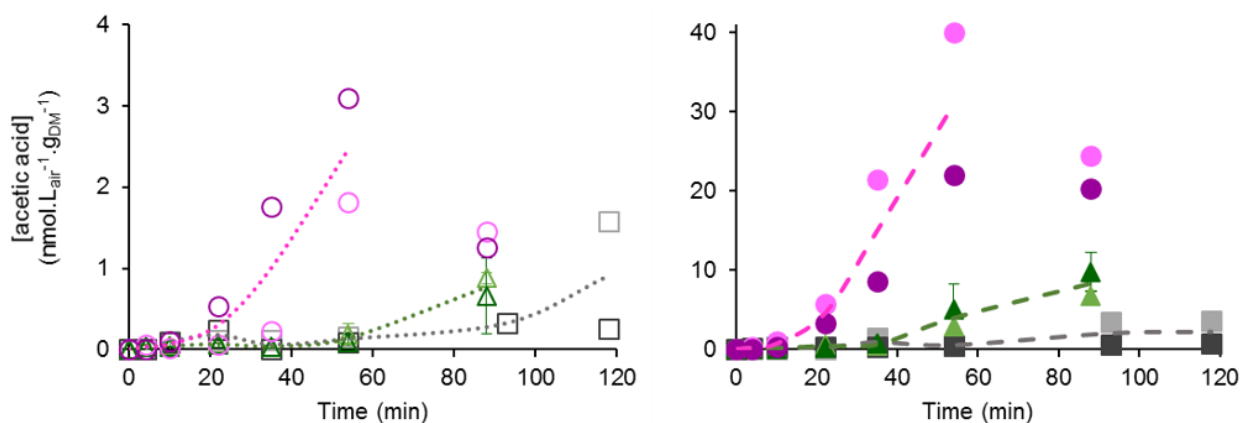


Figure 64. Concentrations of acetic acid extracted from baking vapors and analyzed by TD-GC-MS, at different time during baking of the model cakes G (empty symbols) and G+L (full symbols) at 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■, n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲,n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) and 200°C/50 Hz (○,●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

Figure 66 shows the concentration increase of 5-methylfurfural (5-MF), furfuryl alcohol (FA), 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and furfural (F) throughout the baking in models *G* and *G+L* until the maximum at 88 min for 200°C, where a decreasing concentration in vapors was measured for all of them.

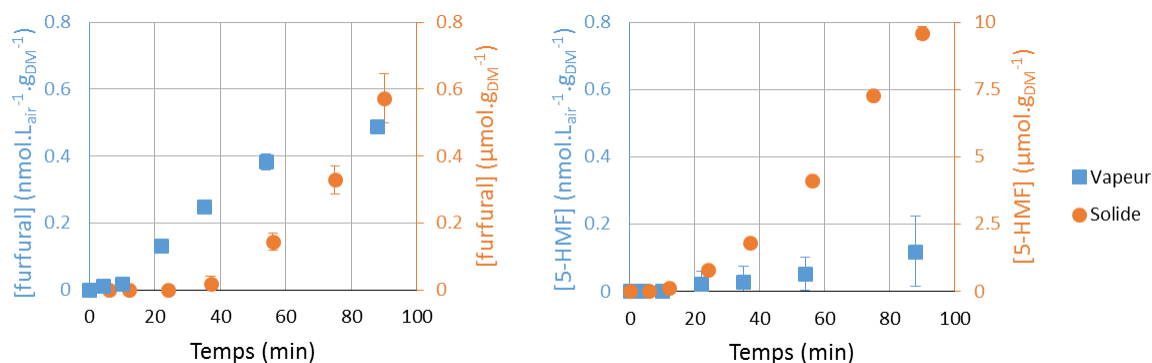


Figure 65. Concentrations of furfural and 5-HMF in the vapor and in the solid (■ vapor, ● solide) for baking of models *G+L* à 170°C/25 Hz (n=3)

It is worth noting that the kinetic results obtained by TD-GC-MS analysis on baking vapors showed similar tendencies for 5-HMF and F with those found in cake matrices previously reported in Article 3. However, some discrepancies were found concerning the relative amounts.

For baking experiments at 170°C, 25Hz, Furfural showed a similar tendency in evolution both in the matrix and in the vapor whereas the amounts of 5-HMF in the solid phase increased more rapidly than in the vapor (Figure 66). In general, the concentration ratio of 5-HMF to F was not the same as that obtained by HPLC-DAD analysis of matrix extracts ($[5\text{-HMF}]/[F] = 6$ in the matrix extract and $1/3$ in the vapor extract for a same kinetic point). Again, existing literature reported higher concentrations in 5-HMF than in F in the most cereal and bakery products. This can be explained by the very low volatility of 5-HMF (Tableau 21) which could affect its release into the baking vapor, and thus its on-line extraction yield as indicated by the relatively high error bars for this marker in Figure 66. This result means that if the kinetic trend is coherent, the 5-HMF concentrations in the vapors largely underestimated the effective concentrations in the solid matrix and a corrective factor including the partition coefficient ($[HMF]_{\text{Product}}/[HMF]_{\text{baking vapor}}$) needs to be further taken into consideration for kinetics modelling applications.

For a same formula, 5-MF was found in quantities 10-folds lower than F, which is coherent with the hypothesis that its formation requires more steps and intermediates than F. Moreover, Figure 66 shows that the lag phase for 5-MF detection was synchronous with that for 5-HMF.

5_MF amounts were 2.5-folds lower than those of 5-HMF, which makes sense with the hypothesis that 5-MF could be a degradation product of 5-HMF (Figure 63).

It is worth noting that the effect of leucine addition has a clear impact on the amount of 5-MF (with the same lag phase for detection as for 5-HMF and F at 200°C). Indeed, at 200°C the concentration of 5-MF found at 54 min was doubled. This is probably due to the fact that FA is more volatile than 5-HMF meaning that FA is more likely to be detected in a higher quantity from baking vapor than 5-HMF.

FA was found at the lowest concentrations among all the furanic compounds when only glucose was added in the model cake (*G*). However, the addition of leucine in the model *G+L* lead to the strongest increasing effect on the concentration of FA (almost a 10 factor between *G* and *G+L* at 54 min, 200°C, 25 Hz). This is consistent with the fact that FA could come from furfural (Figure 63.) which is formed in higher amounts in the presence of leucine as reported in Article 3 and previously discussed here. The only explanation to explain the huge difference between the formulations *G* and *G+L* would be that there must another way to form FA. The most likely alternative route is that the Amadori product gives rise to a pentose intermediate through retroaldolisation, which can cyclize and form FA (Wnorowski et al., 2000).

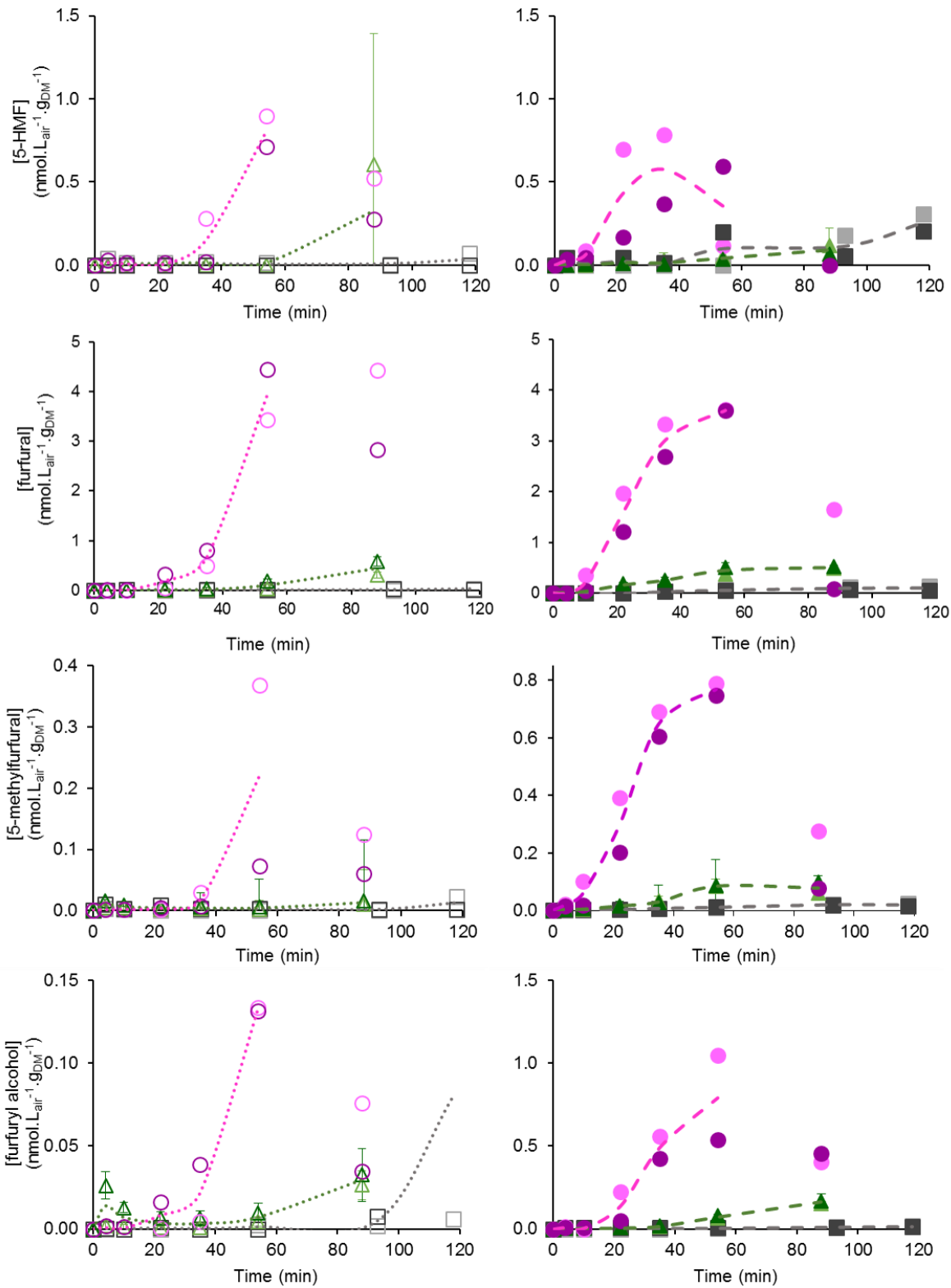


Figure 66. Concentrations of 5-methylfurfural, furfuryl alcohol, 5-hydroxymethylfurfural and furfural extracted from baking vapors and analysed by TD-GC-MS, at different time during baking of the model cakes G (empty symbols) and G+L (full symbols) at 140°C 25 Hz (□, ■, n=1), 140°C 50 Hz (□, ■, n=1), 170°C 25 Hz (△, ▲, n=3), 170°C 50 Hz (△, ▲, n=3), 200°C 25 Hz (○, ●, n=1) and 200°C 50 Hz (○, ●, n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions.

6.2.3.4 Formation of volatile markers specific to the Strecker degradation

The addition of leucine in model *G+L* made it possible to activate the Strecker degradation pathway during baking and all the routes where leucine was needed (Figure 63). This was confirmed by the fact that the products of these pathways (3-MB, P, MP, 2,5-DMP and 2,6-DMP) were exclusively found when baking the model cake *G+L* (Figure 68). This finding confirmed the qualitative results obtained in Figure 63. As previously said, 3-MB is the specific Strecker aldehyde coming from leucine. Figure 68 shows that this specific marker was formed very rapidly in high amounts, even in the mildest baking conditions. This result confirms that the reactivity of this free amino acid under real baking conditions is very high. For the strongest conditions (200°C under high convection) the reactivity was so important that amounts were above the linearity range. 3-MB was thus the most abundant among all the reaction products.

Contrary to 3-MB, all pyrazines (P, MP, 2,5-DMP and 2,6-DMP) were found in relatively small amounts and only at medium and high baking temperatures (170°C, 200°C, Figure 67). This result was quite surprising considering that they were both coming from SD. However, this result could be explained by the reaction scheme proposed in Figure 63. Pyrazines are heterocycles coming from α -aminocarbonyl compounds, formed during the Strecker degradation of leucine with α -dicarbonyl compounds. For one mole of 3-MB, one mole of α -aminocarbonyl compound was formed. This latter intermediate had to undergo further condensation with another α -aminocarbonyl compound to form dihydropyrazine which then gave pyrazine. These latter reaction mechanisms could thus explain why higher reaction temperatures were needed. Moreover, the formation of each pyrazine that is studied requires specific α -aminocarbonyl compounds (from glyoxal and methylglyoxal), several were leading to 3-MB (from 1-D, 3-D, 3,4-D, glyoxal, diacetyl and methylglyoxal). Indeed, all α -dicarbonyl intermediates could give rise to 3-MB as their substituted groups were not structure-determinant. It is not the case for pyrazines: the functional groups of the α -dicarbonyl intermediates were conserved in the corresponding α -aminocarbonyl compound and, thus, in the corresponding pyrazine as well.

Figure 67 shows that P was formed at 170°C with a lag phase of 10 min. In the previous study (Article 3), it was observed that glyoxal (GO) could not be quantified at 170°C. The present results seem to suggest that, as soon as GO was formed, it underwent the Strecker degradation to form P and 3-MB that were promptly detected in the vapor by on-line TD-GC-MS analysis.

Similarly to P, MP was formed at medium and high temperatures (170°C and 200°C), but the amounts measured in the vapors were 5 times higher. This could be explained by the reaction

scheme (Figure 63) and by the previous results on the α -dicarbonyl intermediates. Indeed, MP requires both the α -aminocarbonyl from MGO which is found in higher concentrations than GO and the α -aminocarbonyl from GO. On the other hand, the only precursor for P is the α -aminocarbonyl from GO.

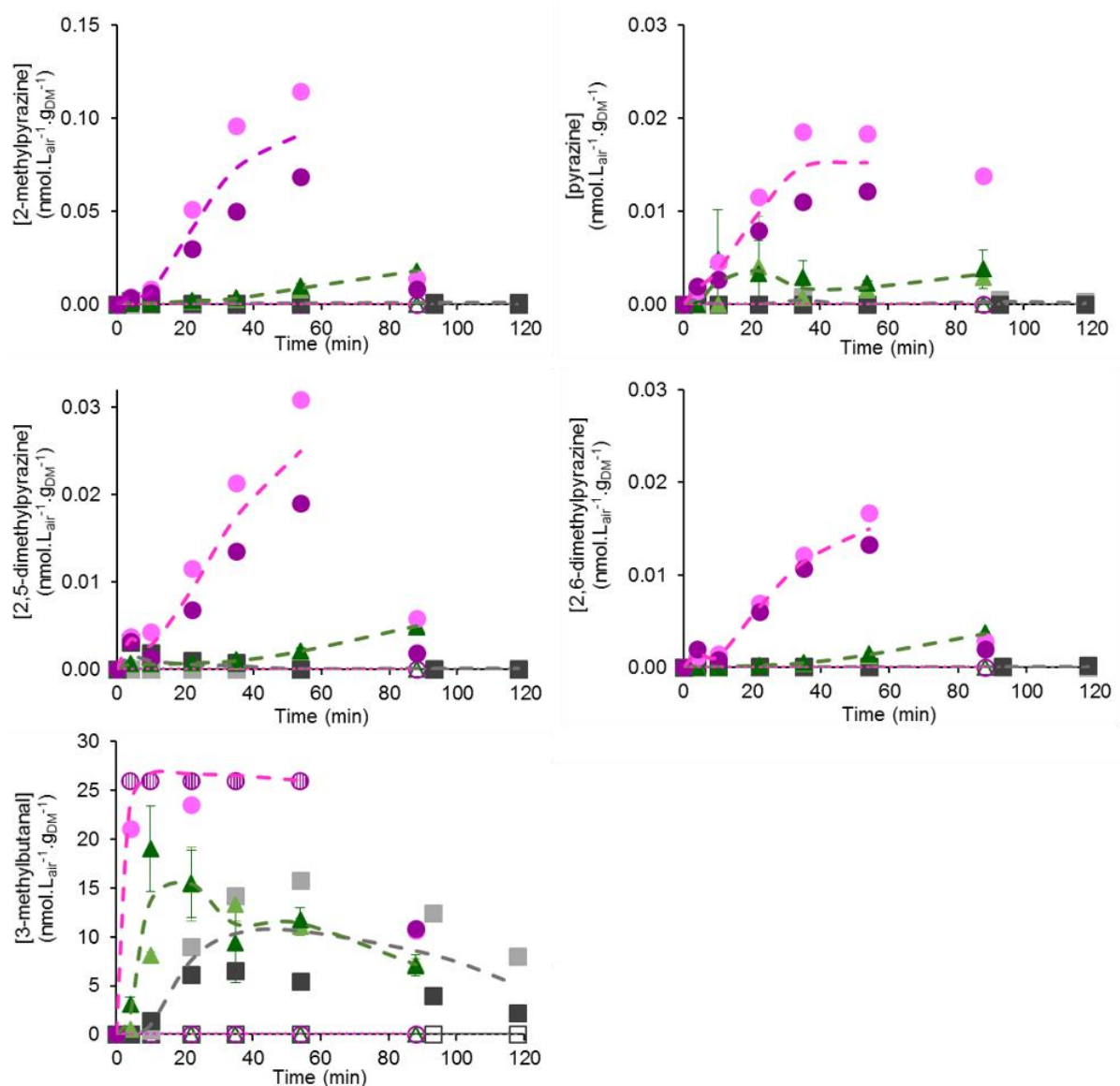


Figure 67. Concentrations of 2-methylpyrazine, pyrazine, 2,5-dimethylpyrazine, 2,6-dimethylpyrazine and 3-methylbutanal extracted from baking vapors and analysed by TD-GC-MS, at different time during baking of the model cakes *G+L* at 140°C/25 Hz (■,n=1), 140°C/50 Hz (■,n=1), 170°C/25 Hz (▲,n=3), 170°C/50 Hz (▲,n=3), 200°C/25 Hz (●,n=1) and 200°C/50 Hz (●,n=1). Lines show the trend for each temperature considering the two levels of convection as repetitions. The hatched points for 3-MB at 200°C mean that measured concentrations were higher than the calibration range.

Finally, 2,5-DMP and 2,6-DMP were formed during baking in similar amounts with those found for P. The slightly higher concentration measured at 200°C for 2,5-DMP could be explained by its condensation mechanism. 2,5-DMP comes from either 2 equivalents of aminoacetone or 2 equivalents of aminoacetaldehyde whereas 2,6-DMP comes from 1 equivalent of aminoacetone and 1 equivalent of aminoacetaldehyde.

6.2.4 Conclusions

This paper presents the formation kinetics of ten volatile reaction markers of the caramelization and Maillard reactions occurring in a model cake. The quantitative (concentrations) and qualitative (shape of curves) information obtained were discussed in regards to a complete reaction scheme based on the main reaction routes that can generate from glucose or glucose and leucine, the unique precursors specifically added in the solid model cake under study. Kinetics had previously been measured on the precursors and intermediates in the model cakes (Article 3) and were used to discuss the generation of these volatile markers and to complete the reaction scheme.

Increasing baking temperatures had, as expected, an accelerating effect on the productions of newly formed compounds. On the contrary, the convection level did not appear to affect the generation of markers in a clear way. These results were coherent with those of Article 3 on precursors and intermediates in the solid matrix. It can be assumed that the drying rate of the surface of the product did not significantly impact the reaction rates, at least when measured at a global level. It could be interesting to quantify the concentration of markers exclusively in the upper crust with respect to its moisture content, to confirm that statement.

The addition of leucine in the reaction medium triggered the activation of the Maillard and the Strecker routes with a specific and very rapid detection of 3-MB and, at a lower extent, of all the pyrazine markers. This effect was less pronounced for furanic markers which were already detected in the model G and increased significantly in the only case of 5MF and FA. A bell-shaped kinetic curve was found for all markers at 200°C. The same trend was observed for F when measured in the matrix extracts, confirming that on-line TD-GC-MS analysis gave an image of what was going on in the food matrix at a specific time of baking. The advantage of this technique was to make it possible to follow simultaneously a large number of markers kinetically, avoiding complex and time consuming extractions prior to measurements. It is therefore reasonable to conclude that all the routes presented in the simplified scheme were activated when leucine was present as a precursor to glucose, even if in different extents. The mere presence of a specific

marker made it possible to confirm a reaction route while the relative concentrations among markers made it possible to draw hypotheses concerning the most active ones.

6.3 Conclusions sur les résultats cinétiques

Les précurseurs, les composés intermédiaires et 2 composés furaniques volatils (furfural et 5-HMF) ont été quantifiés à partir de la matrice solide. En complément, 10 marqueurs volatils incluant les deux composés furaniques ont pu être extraits directement de la vapeur et quantifiés.

Les résultats cinétiques sur les précurseurs ont montré que leur dégradation était favorisée par une haute température et la présence de la leucine mais que l'effet du niveau de convection n'était pas notable. L'évolution des concentrations des intermédiaires α -dicarbonylés (sauf le glyoxal qui n'a pas pu être détecté, sûrement à cause des faibles quantités présentes dans les génoises modèles) présentait comme une forme en cloche signe d'une formation et d'une consommation durant la cuisson. En confrontant les résultats obtenus sur la formule *G* à ceux de la formule *G+L*, l'effet catalytique de la leucine dans la formation des déoxyosones à partir des sucres a pu être montré. La cinétique de formation du furfural et du 5-HMF était elle aussi accélérée par une haute température et la présence de la leucine.

Les résultats cinétiques sur les marqueurs volatils ont permis de confirmer les tendances observées pour les marqueurs dosés dans la matrice.

L'ajout de la leucine a bien activé les voies réactionnelles de Maillard y compris la dégradation de Strecker. Cela a été confirmé par l'apparition très rapide en grande quantité du 3-méthylbutanal et également l'apparition en quantité beaucoup moindre des pyrazines. L'effet de la leucine a été moins marqué sur les composés furaniques, contrairement à ce qui était observé dans la matrice.

Les résultats cinétiques constituent une base de données riche pour l'identification d'un modèle cinétique qui sera traité dans le Chapitre suivant.

7 – PROPOSITION DE MODELISATION CINETIQUE DES REACTIONS CHIMIQUES COUPLEES AUX TRANSFERTS DE MATIERE ET DE CHALEUR

Lors de la cuisson d'un produit solide de type génoise, des phénomènes couplés de transferts de chaleur et de matière ont lieu : la chaleur va pénétrer dans le produit depuis ses surfaces vers le centre tandis que l'eau va suivre le chemin inverse. Ils ont un impact fort sur les réactions chimiques car ils conditionnent les niveaux de température et de teneur en eau localement atteints. De ce fait, la concentration des composés chimiques substrats ou néoformés est inévitablement dépendante de la position dans la génoise et du temps. Ainsi, seul le couplage entre les transferts de chaleur et de matière et la cinétique réactionnelle peut permettre de prendre en compte l'hétérogénéité spatiale et la variabilité temporelle.

Les réactions ont une influence souvent négligée sur les transferts de chaleur puisqu'elles sont relativement athermiques (exothermicité ou endothermicité très négligeable devant les quantités de chaleur échangées *via* les transferts thermiques). De la même manière, les modifications de teneurs en eau engendrées par les réactions sont extrêmement peu significatives devant celles engendrées par le séchage. Par conséquent, le modèle couplé prendra en compte uniquement l'effet des transferts sur les réactions (Figure 68).

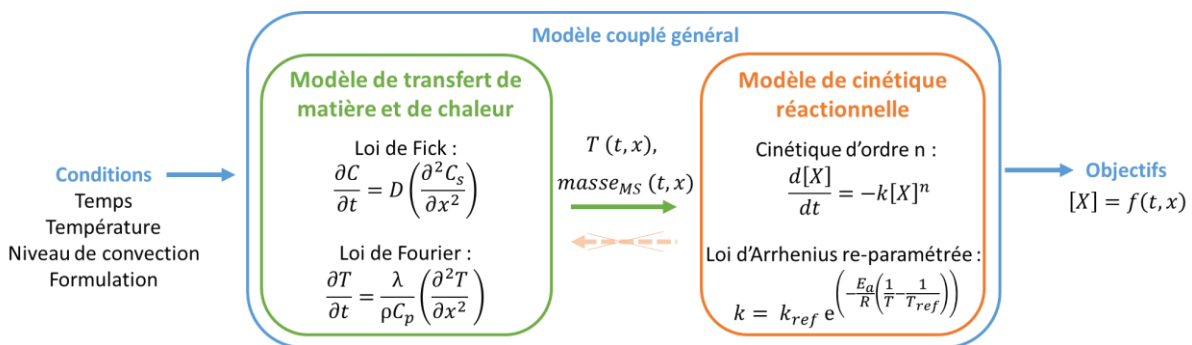


Figure 68. Schéma de principe d'un modèle couplé transferts-réactions

Dans le cadre de cette thèse comme dans la plupart des travaux sur produit solide, les mesures expérimentales de concentrations des marqueurs réactionnels sont globales, obtenues après broyage du produit complet. Or dans la réalité, les marqueurs réactionnels ont des concentrations graduelles entre le centre et les bords de la génoise : des produits de réactions plus concentrés sur les bords du fait de l'intensité des réactions liée à la forte température et, éventuellement, la faible teneur en eau et des précurseurs plus concentrés au centre du fait de réactions moins avancées pour cause de température plus faible. Remonter à la concentration moyenne par le calcul implique donc inévitablement de calculer des concentrations locales qu'il

faudra ensuite pondérer par la fraction massique (ω) du compartiment considéré avant de pouvoir en faire la somme (Équation 22).

$$[X]_{moyenne}(t) = \sum \omega_i(t) \cdot [X]_i(t)$$

Équation 22. Calcul de la concentration moyenne en marqueur à partir des concentrations locales

Ce chapitre a ainsi pour but de présenter les données expérimentales de température et teneurs en eau mesurées dans les génoises au cours des cuissons et des propositions de modèles physiques simplifiés permettant de remonter aux températures et fractions massiques de matière sèche en tous points et en tous temps. Ensuite, le modèle réactionnel supposé identifiable sera établi et utilisé en couplage avec les modèles physiques pour la prédiction des concentrations locales de marqueurs.

7.1 Teneurs en eau dans les génoises et calcul des fractions massiques de matière sèche locales

7.1.1 Profils expérimentaux des teneurs en eau pendant la cuisson

Les cinétiques de teneurs en eau, exprimées en base sèche et mesurées pour toutes les conditions de cuisson et pour chaque formulation, sont présentées sur la Figure 69. Comme attendu, les teneurs en eau diminuent de manière progressive au profit de la matière sèche. La vitesse de séchage est très élevée au début de la cuisson et permet de diminuer de 50% la quantité d'eau initiale en 10 à 15 min à 200°C. L'impact positif de la température sur la vitesse de séchage est visible alors que par contre l'effet positif attendu d'une augmentation du niveau de convection n'apparaît pas sur ces mesures globales.

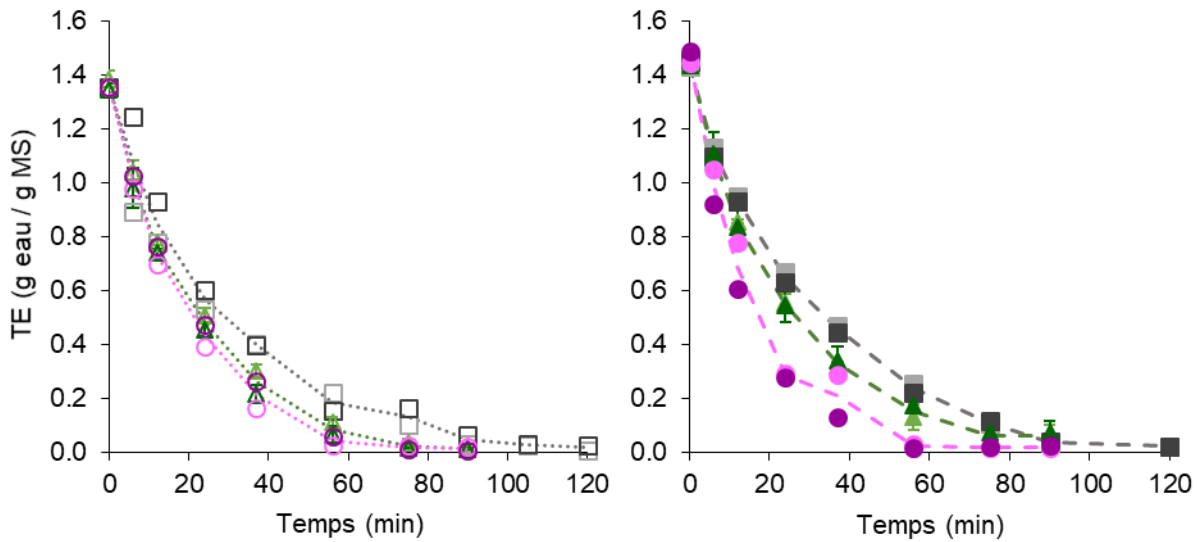


Figure 69. Cinétiques des teneurs en eau en base sèche pour les génoises modèles G (symboles vides) et G+L (symboles pleins), à 140°C/25 Hz (□,■,n=1), 140°C/50 Hz (□,■,n=1), 170°C/25 Hz (△,▲,n=3), 170°C/50 Hz (△,▲, n=3), 200°C/25 Hz (○,●,n=1) et 200°C/50 Hz (○,●,n=1)

Si l'on compare les deux formules, la première chose à noter est la différence de teneur en eau initiale, la formule G+L étant légèrement plus hydratée que la formule G. Ceci n'est pas logique car dans la formule G+L, à quantité d'eau ajoutée identique, la leucine apporte plutôt de la matière sèche. Ces résultats sont probablement dus au calendrier de réalisation des expérimentations qui a conduit à un écart de quelques mois entre la campagne d'acquisitions des données concernant la formule G et celle pour la formule G+L. Durant ce laps de temps, les ingrédients, constitués de poudres plus ou moins hygroscopiques, se sont probablement légèrement réhydratés, conduisant *in fine* à une teneur en eau globale plus élevée dans la formule G+L. Cet écart ne prêterait pas à conséquence puisque les concentrations ont été mesurées dans tous les cas. La présence de leucine ne semble pas affecter visiblement la cinétique de séchage du produit, ce qui avait déjà été préalablement montré par Srivastava et al., 2018 dans le cas de génoises plus épaisses (60 g de pâte au lieu des 20 g utilisés ici).

7.1.2 Prédiction de la fraction massique locale en matière sèche par un modèle de type compartimental

L'objectif du modèle est de prédire la fraction massique à une position i et à un temps donné t (Équation 23). La masse totale de matière sèche ($m_{MS_{tot}}$) étant connue puisque l'on connaît la

TMS de toutes les pâtes et la masse de pâte utilisée pour toutes les génoises (20,0 g), le modèle cherche donc à déterminer la masse de matière sèche à une position i et un temps t ($m_{MS_i}(t)$).

$$\omega_i(t) = \frac{m_{MS_i}(t)}{m_{MS_{tot}}}$$

Équation 23. Expression de la fraction massique à une position i dans la génoise et à un temps t

L'utilisation de lois physiques de transfert pour cette détermination imposerait de connaître (ou d'identifier) de nombreuses propriétés relatives au transfert de l'eau dans la génoise (diffusivité, porosité...). Il faudrait décrire précisément les mécanismes exacts de perte en eau (évaporation, ébullition ?) et disposer de données expérimentales locales pour identifier les paramètres inconnus et valider les prédictions du modèle.

Ne disposant pas de tout cela, nous avons choisi d'écrire un modèle extrêmement simplifié présentant deux compartiments (équivalents à une « croûte » et une « mie ») aux propriétés différentes et dont la frontière (nommée x) varie au cours du temps de cuisson en suivant une diagonale (Équation 24). Pour cela, la génoise modèle est assimilée à un cylindre fini de dimensions constantes et présentant une double symétrie, selon la hauteur et selon le diamètre (Figure 70).

$$x(t) = \frac{h(t)}{h_{max}} = \frac{r(t)}{r_{max}}$$

Équation 24. Définition de la frontière entre croûte et mie, $x(t)$

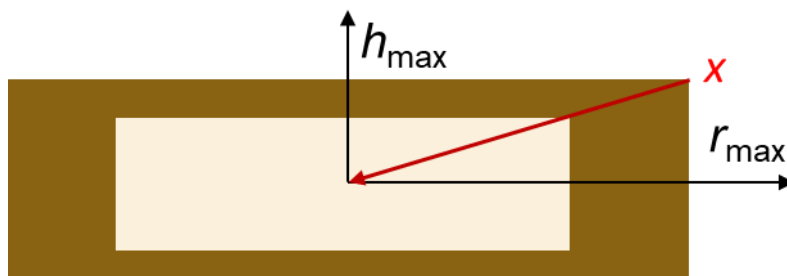


Figure 70. Positionnement de la limite $x(t)$ entre la croûte et la mie

La masse totale de la génoise ($m_{tot}(t)$) peut être décrite comme la somme des masses de croûte et de mie, elles-mêmes calculées comme étant le produit entre la masse volumique (ρ) et le volume (V) de chacun des compartiments (Équation 25).

$$m_{tot}(t) = \rho_{croûte} \cdot V_{croûte}(t) + \rho_{mie} \cdot V_{mie}(t)$$

Équation 25. Expression de la masse totale de la génoise

Le volume de la mie est égal à celui d'un cylindre ayant pour hauteur $2 \cdot x(t) \cdot h_{max}$ et pour diamètre $2 \cdot x(t) \cdot r_{max}$; celui de la croûte étant la différence entre le volume total du cylindre et le volume de la mie. La masse totale de la génoise peut ainsi être exprimée cette fois en fonction de la limite $x(t)$ (Équation 26).

$$m_{tot}(t) = \rho_{mie} \cdot 2 \cdot \pi \cdot h_{max} \cdot r_{max}^2 \cdot x(t)^3 + \rho_{croûte} \cdot 2 \cdot \pi \cdot h_{max} \cdot r_{max}^2 \cdot (1 - x(t)^3)$$

Équation 26. Expression de la masse totale de la génoise avec la limite variable $x(t)$

La masse volumique de la mie (ρ_{mie}) peut être calculée assez facilement en utilisant la masse de la pâte mesurée expérimentalement ($m_{pâte}$) et le volume de la génoise ($V_{génoise}$) puisque les dimensions de génoise sont considérées constantes. Une valeur de 450 g.L^{-1} est ainsi obtenue. La masse volumique de la croûte ($\rho_{croûte}$) est quant à elle calculée en faisant l'hypothèse que la croûte est totalement sèche. Il suffit alors de diviser la masse de matière sèche mesurée expérimentalement dans chaque cas par le volume de génoise. Des valeurs de l'ordre de 193 g.L^{-1} sont obtenues.

Ainsi, dans l'Équation 26, la seule inconnue est la limite variable $x(t)$ (Équation 27). Elle pourra être déterminée en utilisant les masses expérimentales des génoises pesées à chaque temps de cuisson.

$$x(t) = \sqrt[3]{\frac{m_{tot}(t) - \rho_{croûte} \cdot 2 \cdot \pi \cdot h_{max} \cdot r_{max}^2}{2 \cdot \pi \cdot h_{max} \cdot r_{max}^2 \cdot (\rho_{mie} - \rho_{croûte})}}$$

Équation 27. Expression de la limite variable $x(t)$

Pour cela, la première étape a consisté à établir un modèle empirique d'interpolation des masses des génoises (Figure 71). En effet, les données expérimentales sont discontinues (8 à 10 mesures par cuisson) quand la prédiction de $x(t)$ nécessite une continuité. En résultat, un modèle de

régression de type exponentielle décroissante bornée à une valeur minimale (la masse de matière sèche totale $m_{MS_{tot}}$) est obtenu (Équation 28), γ étant le paramètre d'ajustement du modèle, identifié dans chaque cas.

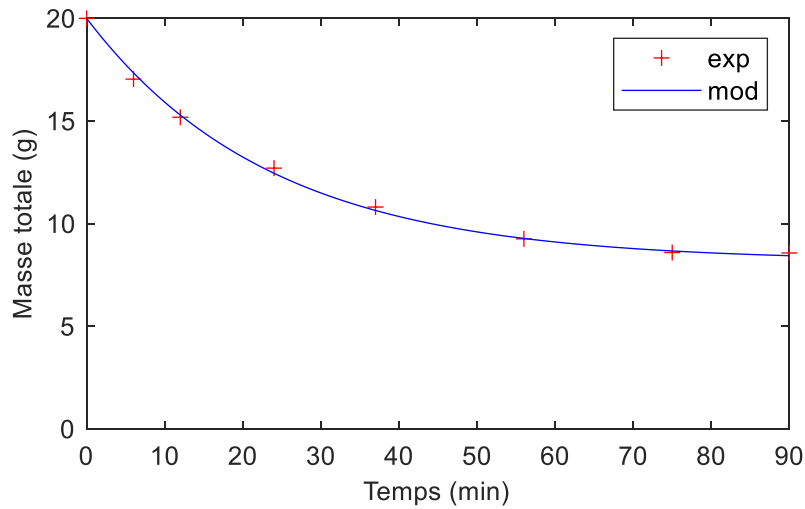


Figure 71. Masse d'une génoise mesurée expérimentalement ($m_{tot\ exp}(t)$, +) et modèle de régression empirique (-) pour les différents temps d'une cuisson à 170°C/25 Hz

$$m_{tot\ exp}(t) = (m_{ini} - m_{MS_{tot}}) \cdot e^{-\gamma \cdot t} + m_{MS_{tot}}$$

Équation 28. Équation du modèle de régression empirique pour la masse d'une génoise expérimentale $m_{tot\ exp}(t)$

Ensuite, les masses de génoises prédites par le modèle empirique ont été utilisées pour le calcul de $x(t)$ (Figure 72). Elles sont comparées aux valeurs de x calculées ponctuellement en utilisant les données expérimentales des masses de génoise.

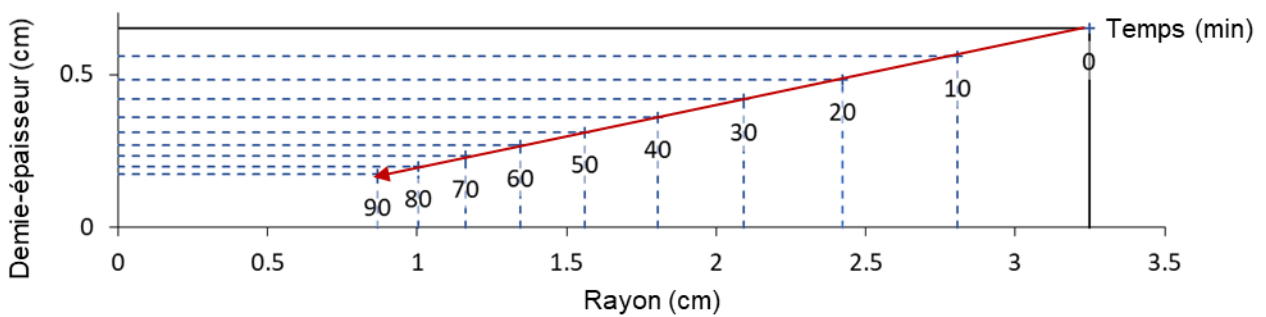
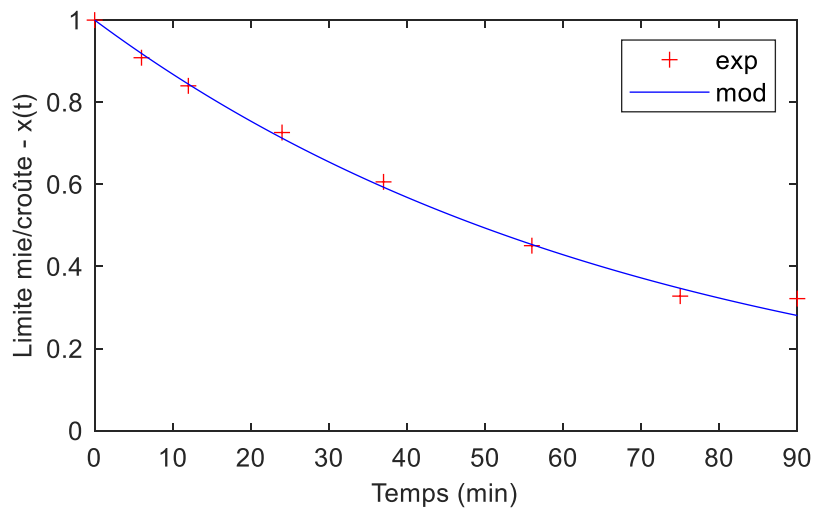


Figure 72. Détermination de $x(t)$ et représentation schématique sur $\frac{1}{4}$ de tranche de génoise, pour une cuisson à $170^{\circ}\text{C}/25\text{ Hz}$

Le calcul de la masse de matière sèche contenue dans le volume défini par la position i ($m_{MS_i}(t)$) varie donc selon si i est situé dans la mie ou dans la croûte. Si la position i se situe à une hauteur et un rayon adimensionnels inférieurs ou égaux à $x(t)$, cette position est considérée comme étant située dans la mie et $m_{MS_i}(t)$ est calculée selon l'Équation 29. Dans le cas contraire, pour $i > x(t)$, la position est considérée dans la croûte (Équation 30).

$$m_{MS_i}(t) = \rho_{mie} \cdot TMS_{mie} \cdot V_i$$

Équation 29. Calcul de $m_{MS_i}(t)$ pour le cas où $i \leq x(t)$

$$m_{DM_i}(t) = \rho_{croûte} \cdot TMS_{croûte} \cdot V_i$$

Équation 30. Calcul de $m_{MS_i}(t)$ pour le cas où $i > x(t)$

Le volume de la génoise correspondant à la position i est quant à lui calculé selon l'Équation 31.

$$V_i = (2 \cdot h_i \cdot \pi \cdot r_i^2 - 2 \cdot h_{i-1} \cdot \pi \cdot r_{i-1}^2)$$

Équation 31. Calcul du volume de la génoise correspondant à la position i

Le modèle présenté permet donc de connaître la masse de la matière sèche locale au temps t . L'utilisation de l'Équation 23 permettra alors de calculer la fraction massique de matière sèche locale qui servira à pondérer la concentration locale des marqueurs pour le modèle chimique.

7.2 Températures dans les génoises

7.2.1 Profils expérimentaux des températures pendant la cuisson

Les températures mesurées tout au long de la cuisson sont représentées sur la Figure 73. Les températures sont mesurées en 3 points de la génoise fine grâce à des thermocouples de type J. Le premier thermocouple est placé au fond du moule à l'interface entre le moule et la génoise (« fond »). Le deuxième thermocouple est placé au centre géométrique de la génoise (« centre »). Le troisième thermocouple est placé en surface de la génoise, à l'interface entre le produit et l'air du four (« surface »). Comme attendu, la température de surface est celle qui évolue le plus vite, tendant en première de manière asymptotique vers la température du four. La température au centre est la plus lente à augmenter. Elle marque un plateau prononcé avant de finir par tendre vers la température du four. La température au fond se situe entre les deux précédentes.

L'analyse des résultats pour chaque position de thermocouple et pour chaque condition de cuisson a permis de conclure qu'aucune différence significative ne pouvait être mise en évidence entre les profils obtenus pour la formule G et pour la formule $G+L$. C'est pourquoi toutes les courbes sont représentées ensemble et seront traitées ensemble également.

De la même façon, l'analyse critique décrite ci-dessus n'a pas non plus mis en évidence de différence notable entre les niveaux de convection. Si, comme supposé initialement, cette différence existe, notamment en surface et au fond qui sont les parties les plus directement exposées au transfert par convection, la variabilité expérimentale subie sur cette série de manipulations techniquement compliquées n'a pas permis de la mettre en évidence ; ce qui revient à dire qu'elle doit dans tous les cas être minime.

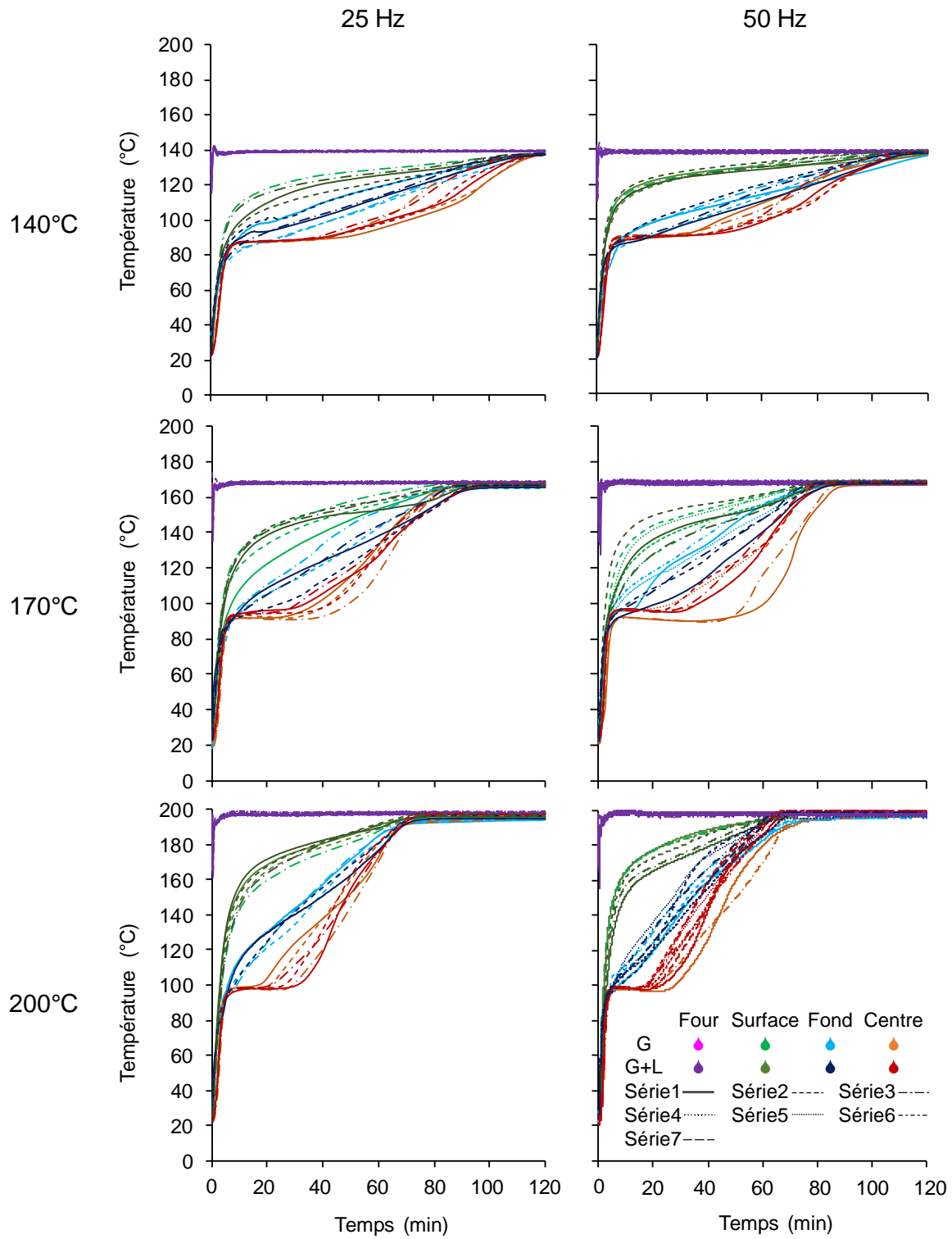


Figure 73. Cinétiques de températures dans les génoises modèles *G* et *G+L* pour les 6 conditions de cuisson

En revanche, les profils de température mesurés dans les génoises sont grandement modifiés par la température de consigne du four. Ainsi, non seulement les niveaux de température atteints sont différents, mais également les temps mis par les génoises pour les atteindre. A 140°C, les génoises ne présentent quasiment pas de phase isotherme (température égale en tous points) alors qu'à 170°C, la génoise devient isotherme autour de 90 min de cuisson et autour de 70 min de cuisson à 200°C. Par rapport aux temps de cuisson maximaux choisis pour l'étude cinétique des marqueurs : 120 min à 140°C et 90 min à 170 et 200°C, il apparaît donc nettement que tous les points cinétiques ont été obtenus à des temps auxquels les génoises présentaient une hétérogénéité spatiale des températures. Le plateau que marque la température centrale présente une valeur différente selon la température de consigne : autour de 85°C à 140°C, 90°C à 170°C et 100°C à 200°C. Il est lié à la forte activité de l'eau du produit en ce point et résulte d'un équilibre entre le transfert d'eau liquide vers la surface (T bulle humide). Les deux autres positions de thermocouple ne présentent pas de plateau, traduisant un séchage beaucoup plus rapide.

Ces profils sont en tous points cohérents avec ce qui était attendu au vu des transferts thermiques et de matière se produisant dans les génoises. La surface, exposée à la convection et au rayonnement et ne présentant pas de frein à l'évaporation de l'eau, sèche et chauffe rapidement. Le fond reçoit quasiment la même quantité de chaleur que la surface car l'épaisseur des moules étant inférieure à 0,1 mm et leur matériau constitué d'aluminium, il est raisonnable de considérer que la résistance au transfert par conduction dans le moule est négligeable. Les moules eux-mêmes sont chauffés par conduction à partir de la grille (en fer, $e=0,5$ mm, percée de petits trous) sur laquelle ils sont posés. Une évaporation de l'eau se produit en cette position, probablement contrariée par la présence du moule qui ne permet pas un séchage aussi rapide qu'en surface, conduisant à des températures inférieures. Le centre quant à lui est principalement chauffé par conduction au travers des génoises, ce qui conduit logiquement à une élévation de température beaucoup plus lente, car la génoise, comme tout produit alimentaire, est plutôt un isolant thermique.

7.2.2 Prédiction des cinétiques de température locales par un modèle de conduction thermique

A nouveau, il est important de souligner que la prédiction des températures locales dans les génoises par un modèle physique déterministe imposerait la connaissance (ou l'identification)

de nombreuses propriétés et paramètres (chaleur spécifique massique, conductivité thermique, diffusivité de la chaleur et de la matière...) qui, pour la plupart, évoluent au cours du temps. Ne disposant pas de toutes ces informations et n'ayant pas pour objectif premier le développement d'un tel type de modèle, nous avons décidé d'utiliser un modèle extrêmement simplifié, identifié à partir des données expérimentales disponibles.

Les températures locales sont calculées en utilisant un simple modèle de conduction thermique dans un solide ($\partial T/\partial t = \alpha \nabla^2 T$) pour lequel la diffusivité thermique, ratio de la conductivité thermique par le produit de la masse volumique et de la capacité thermique massique ($\alpha = \lambda/(\rho \cdot C_p)$), constitue le paramètre d'ajustement qui est identifié à tout temps t par ajustement des valeurs prédites aux valeurs mesurées au centre de la génoise. Le modèle de transfert est utilisé adimensionnalisé dans le cas d'un cylindre fini (intersection entre une plaque infinie et un cylindre infini). La différence mesurée entre les températures en surface et au fond de la génoise est ensuite prise en compte dans un second temps lors du calcul de la concentration moyenne en marqueur. A ce stade le modèle est appliqué une fois en utilisant la température mesurée en surface comme condition limite et une seconde fois en utilisant la température mesurée au fond.

Hypothèses de travail :

- La génoise est un cylindre parfait (axe de symétrie central) et présente des dimensions constantes tout au long de la cuisson.
- La génoise est considérée de composition homogène en tout point.
- La même quantité de chaleur est reçue par chacune des faces de la génoise (haut, bas et contour).
- L'évolution temporelle des valeurs de α identifiées au centre de la génoise est transposable en tous points.
- Le paramètre α porte toute la variabilité liée aux transformations du produit (séchage, création d'une porosité...) qui ne sont pas prises en compte mathématiquement dans le modèle.

Adimensionnalisation du problème :

$$T^* = \frac{T - T_{surf}}{T_0 - T_{surf}}$$

Équation 32. Température adimensionnelle

$$x^* = \frac{x}{r_{max}}$$

Équation 33. Position adimensionnelle selon le rayon

$$y^* = \frac{y}{h_{max}}$$

Équation 34. Position adimensionnelle selon l'épaisseur

$$Fo = \frac{\alpha.t}{r^2} \quad \text{ou} \quad Fo = \frac{\alpha.t}{e^2}$$

Équation 35. Temps adimensionnel (nombre de Fourier)

Avec :

T : la température au temps t et à la position (x^*, y^*)

T_0 : la température initiale du produit (considérée homogène en tous points)

r_{max} : le rayon (m)

h_{max} : la $\frac{1}{2}$ épaisseur (m)

α : la diffusivité thermique du produit ($m^2.s^{-1}$)

$$\alpha = \frac{\lambda}{\rho.C_p}$$

Équation 36. Diffusivité thermique

Avec :

λ : la conductivité thermique ($W.m^{-1}.K^{-1}$)

ρ : la masse volumique ($kg.m^{-3}$)

C_p : la capacité thermique massique du produit ($J.kg^{-1}.K^{-1}$)

Utilisation des équations analytiques adimensionnalisées de conduction :

$$T^*_{cylindre\ fini} = T^*_{cylindre\ \infty} \times T^*_{plaque\ \infty}$$

Équation 37. Température adimensionnelle d'un cylindre fini

$$T^*_{plaque\ \infty} = \frac{4}{\pi} \cdot \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \cdot g_n(y^*) \cdot f_n(Fo)$$

$$g_n(y^*) = \cos\left(\frac{(2n+1)\pi}{2} \cdot y^*\right)$$

$$f_n(Fo) = \exp\left(-\frac{(2n+1)^2\pi^2}{4} \cdot Fo\right)$$

Équation 38. Température adimensionnelle d'une plaque infinie

$$T^*_{cylindre\ \infty} = 2 \cdot \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\exp(-B_n^2 Fo) \cdot J_0(B_n x^*)}{B_n \cdot J_1(B_n)}$$

Équation 39. Température adimensionnelle d'un cylindre infini

Avec :

J_0 : fonction de Bessel de 1^e espèce et d'ordre 0

J_1 : fonction de Bessel de 1^e espèce et d'ordre 1

B_n : racines positives de $J_0(B_n) = 0$

La température peut ainsi être reconstituée en transformant l'Équation 32 :

$$T_{prédite} = T^*_{cylindre\ fini} \cdot (T_0 - T_{surf}) + T_{surf}$$

Équation 40. Température prédite calculée à partir de la température adimensionnelle

Identification du paramètre α grâce aux données expérimentales :

α est identifié en comparant les données expérimentales au rendu du modèle pour prédire les valeurs de T^* (Équation 37 à Équation 39). Une fonction de minimisation (« fminsearch ») est utilisée dans MATLAB® (Mathworks, Nattick, EU) afin de minimiser la différence entre la valeur prédite et la valeur expérimentale calculée selon l'Équation 32 pour chaque temps. La cinétique

d'évolution de la valeur de α est ainsi obtenue (Figure 74). Elle est ensuite utilisée pour calculer les températures en tous points en changeant les valeurs des positions adimensionnelles (Équation 33 et Équation 34) dans les équations du modèle (Équation 38 et Équation 39) (Figure 75).

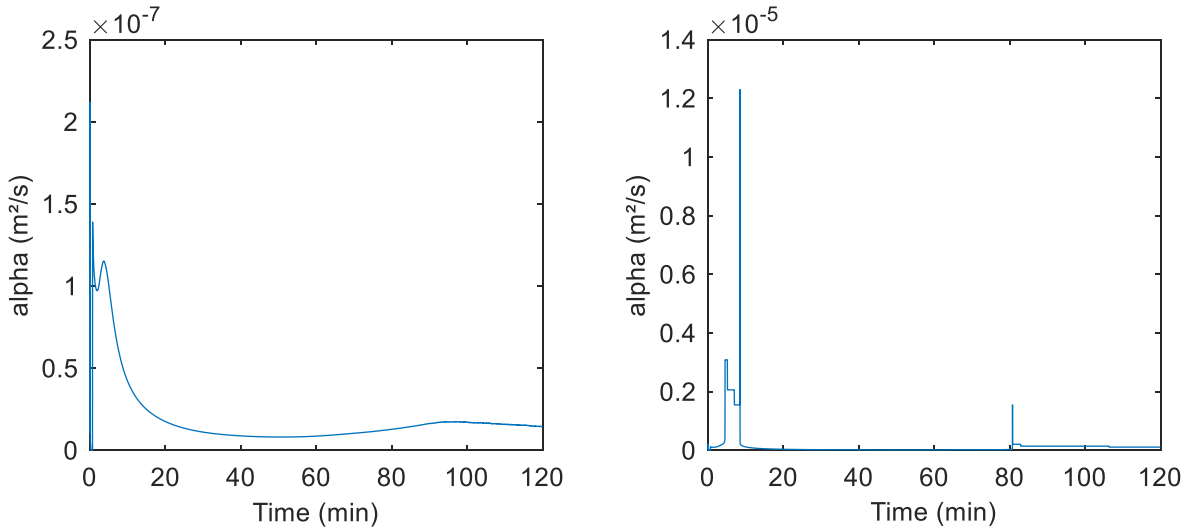


Figure 74. Valeurs de α identifiées comme étant celles permettant de minimiser la différence entre les températures mesurées au centre des géroises et celles prédites par le modèle au même point (Équation 37 à Équation 40) pour une cuisson à 170°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).

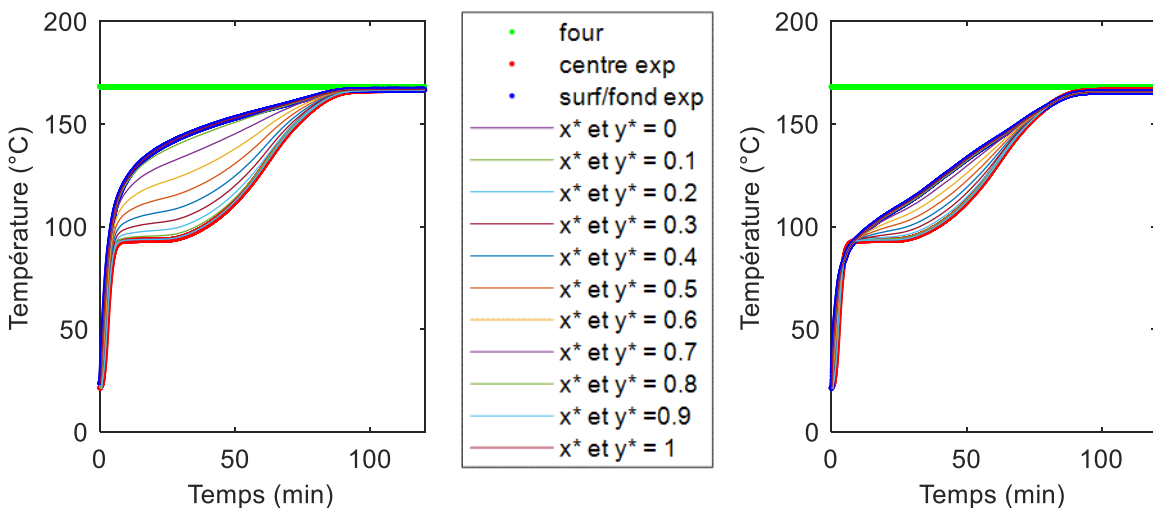


Figure 75. Températures prédites en différents points de la géroise selon le rayon (x^* , Équation 33) et selon l'épaisseur (y^* , Équation 34) pour une cuisson à 170°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).

Le modèle présenté permet donc d'obtenir les cinétiques de températures locales dans la génoise qui seront par la suite utilisées dans le modèle couplé.

7.3 Modèle cinétique de calcul des concentrations des différents marqueurs chimiques

7.3.1 Construction d'un schéma réactionnel observable

Extraire un schéma réactionnel identifiable suffisamment représentatif de la complexité réelle est un défi majeur. Afin d'élaborer un schéma réactionnel « observable », il est d'abord nécessaire de définir les marqueurs réactionnels dont les précurseurs. Contrairement à un produit réel, la génoise modèle permet de les choisir et les maîtriser. Avec les précurseurs choisis que sont le glucose et la leucine, un schéma réactionnel initial a été établi suite à l'étude bibliographique (1.3) puis progressivement simplifié avant d'arriver à un schéma réactionnel considéré comme identifiable.

L'élaboration du schéma simplifié consiste principalement à éliminer les composés qui ne seront pas quantifiables (méthodes de dosage non disponibles ou trop complexes pour permettre un suivi cinétique). Ce processus réduit automatiquement le nombre de voies réactionnelles impliquées. Cela concerne d'un côté des composés souvent traités en groupe par familles chimiques, tels que les composés furaniques, les pyrazines, les pyrroles, les aldéhydes, les acides... constituées d'un large éventail de molécules difficilement identifiables en totalité. Ces composés sont souvent qualifiés de terminaux car ils sont notamment formés lors de l'étape terminale de la réaction de Maillard. Ils ne le sont cependant pas vraiment puisqu'ils peuvent encore par la suite polymériser pour former des pigments bruns non azotés, *via* les voies de caramélisation, ou azotés (mélanoïdines), *via* les voies de la réaction de Maillard. De la même façon, ces composés sont multiples et possèdent pour la plupart des structures inconnues qui les rendent impossible à identifier.

Ainsi, le schéma simplifié est constitué des marqueurs réactionnels quantifiables dans la matrice et qui apportent une information jugée utile dans la discrimination des voies réactionnelles. Il y a les précurseurs : glucose, fructose et leucine, 5 intermédiaires dicarboxylés : glucosone (GCO), glyoxal (GO), 1-deoxyosone (1-D), 3-deoxyosone (3-D), 3,4-dideoxyosone (3,4-D), et des produits « semi-finaux » : furfural et 5-HMF ; reliés par toutes les voies réactionnelles théoriquement possibles. A cela, viennent s'ajouter des composés non quantifiables comme le produit

d'Amadori, indispensable pour une bonne description de la réaction de Maillard, et les pigments bruns (Figure 76). Ce schéma contient 29 réactions élémentaires et 19 composés (Annexe 12 Tableau 32).

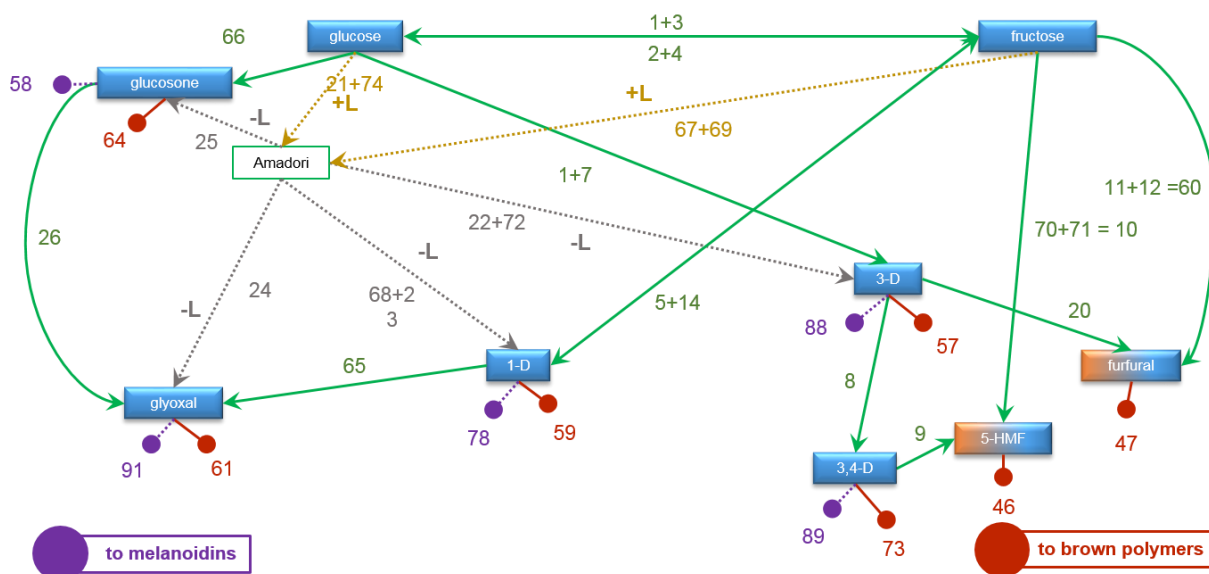


Figure 76. Schéma réactionnel simplifié pour la formule G+L dans la génoise

Les composés quantifiés uniquement dans l'air du four ont été écartés car leurs coefficients de partage entre la phase solide et la phase vapeur n'étant pas connus, les concentrations mesurées dans l'air du four ne permettent pas encore de remonter à des concentrations dans la matrice.

7.3.2 Ecriture du modèle chimique

Ce schéma a servi de base à l'écriture des équations différentielles ordinaires (EDO) permettant la description de l'évolution cinétique des concentrations des marqueurs, en faisant l'hypothèse que chaque réaction est élémentaire et que l'ordre partiel des réactions par rapport à chaque composé est de 1.

Ce système d'EDO pourra ensuite être résolu en utilisant la fonction « ode15s » de MATLAB®, il faudra pour cela fournir des valeurs pour les paramètres cinétiques de chaque réaction.

$$\begin{aligned}
\frac{d[\text{glucose}]}{dt} &= -(k_{1+3} + k_{66} + k_{1+7})[\text{glucose}] + k_{2+4}[\text{fructose}] - k_{21+74}[\text{glucose}][\text{leucine}] \\
\frac{d[\text{fructose}]}{dt} &= k_{1+3}[\text{glucose}] - (k_{2+4} + k_{60} + k_{10} + k_{5+14})[\text{fructose}] \\
&\quad - k_{67+69}[\text{fructose}][\text{leucine}] \\
\frac{d[\text{GCO}]}{dt} &= k_{66}[\text{glucose}] - (k_{26} + k_{64})[\text{GCO}] + k_{25}[\text{Amadori}] - k_{58}[\text{GCO}][\text{leucine}] \\
\frac{d[3-D]}{dt} &= k_{1+7}[\text{glucose}] - (k_8 + k_{57} + k_{20})[3-D] + k_{22+72}[\text{Amadori}] - k_{88}[3-D][\text{leucine}] \\
\frac{d[3,4-D]}{dt} &= k_8[3-D] - (k_9 + k_{73})[3,4-D] - k_{89}[3,4-D][\text{leucine}] \\
\frac{d[1-D]}{dt} &= k_{5+14}[\text{fructose}] - (k_{65} + k_{59})[1-D] + k_{68+23}[\text{Amadori}] - k_{90}[1-D][\text{leucine}] \\
\frac{d[\text{GO}]}{dt} &= k_{65}[1-D] + k_{26}[\text{GCO}] - k_{61}[\text{GO}] + k_{24}[\text{Amadori}] - k_{91}[\text{GO}][\text{leucine}] \\
\frac{d[\text{F}]}{dt} &= k_{20}[3-D] + k_{60}[\text{fructose}] - k_{47}[\text{F}] \\
\frac{d[5-HMF]}{dt} &= k_{10}[\text{fructose}] + k_9[3,4-D] - k_{46}[5-HMF] \\
\frac{d[\text{leucine}]}{dt} &= -k_{21+74}[\text{glucose}][\text{leucine}] - k_{67+69}[\text{fructose}][\text{leucine}] - k_{58}[\text{GCO}][\text{leucine}] \\
&\quad - k_{88}[3-D][\text{leucine}] - k_{89}[3,4-D][\text{leucine}] - k_{90}[1-D][\text{leucine}] \\
&\quad - k_{91}[\text{GO}][\text{leucine}] + (k_{22+72} + k_{68+23} + k_{24} + k_{25})[\text{Amadori}] \\
\frac{d[\text{Amadori}]}{dt} &= k_{21+74}[\text{glucose}][\text{leucine}] + k_{67+69}[\text{fructose}][\text{leucine}] - (k_{22+72} + k_{68+23} \\
&\quad + k_{24} + k_{25})[\text{Amadori}]
\end{aligned}$$

7.3.3 Modèle couplé

Au vu de l'hétérogénéité spatio-temporelle en température, une double contrainte s'impose : (i) calculer des concentrations locales pour ensuite remonter à la concentration moyenne et (ii) utiliser des constantes de vitesse de réaction calculées en tous temps par la loi d'Arrhenius (Équation 41) en fonction de la température ; la température étant elle-même issue en tous points et en tous temps du modèle de conduction de la chaleur établi précédemment.

Pour chaque réaction, ce n'est donc pas une constante de vitesse qui doit être déterminée, mais directement les paramètres de la loi d'Arrhenius :

- k_{ref} la constante de vitesse à la température de référence T_{ref} (choisie ici égale à 120°C pour se situer environ du milieu du domaine expérimental de températures)
- et E_a l'énergie d'activation.

Le nombre de paramètres à identifier est donc multiplié par deux par rapport à un cas classique d'identification de constantes de vitesse en conditions isothermes.

$$k_i(t) = k_{T_{ref}} \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_i(t)} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right)$$

Équation 41. Constante de vitesse de réaction en fonction de la loi d'Arrhenius reparamétrée

$k_{T_{ref}}$ et E_a doivent être identifiés en minimisant la somme des carrés des écarts entre la concentration moyenne reconstituée $[X]_{moyenne}(t)$ et la concentration mesurée expérimentalement pour chaque marqueur. La concentration moyenne finale en marqueur est calculée en considérant que la moitié haute de la génoise présente le profil de température calculé à partir de la température de surface soit une concentration moyenne $[X]_{moy surf}(t)$ (équation 22) et la moitié basse celui calculé à partir de la température de fond soit une concentration moyenne $[X]_{moy fond}(t)$. Chaque moitié présentant la même masse de matière sèche en tous points, la concentration moyenne finalement retenue est égale à la moyenne entre $[X]_{moy surf}(t)$ et $[X]_{moy fond}(t)$.

Au vu du nombre de réactions restant sur le schéma réactionnel simplifié (30), cela fait donc 60 paramètres à identifier conjointement, ce qui est extrêmement difficile. Les fonctions classiques de minimisation, telles que *fminsearch*, *fmincon*... ne sont pas adaptées à un tel nombre de paramètres présentant des valeurs sur une gamme aussi large (constantes de vitesse de l'ordre de 10^{-6} s^{-1} et énergies d'activation de l'ordre de 10^5 J.mol^{-1}). Nous ne sommes donc pas parvenus à les faire converger vers une solution. Néanmoins, deux preuves de concepts peuvent être apportées.

Tout d'abord, un ajustement manuel des constantes de réaction de référence pour des valeurs d'énergie d'activation fixées arbitrairement à 10^5 J.mol^{-1} , appliqué à la condition 200°C/50 Hz pour la formule G, avec une division en 100 compartiments, permet de montrer que le modèle est capable de prédire les grandes tendances d'évolution de chacun des marqueurs (Figure 77). Les k_{ref} obtenus varient ici entre 10^{-10} et 1 s^{-1} .

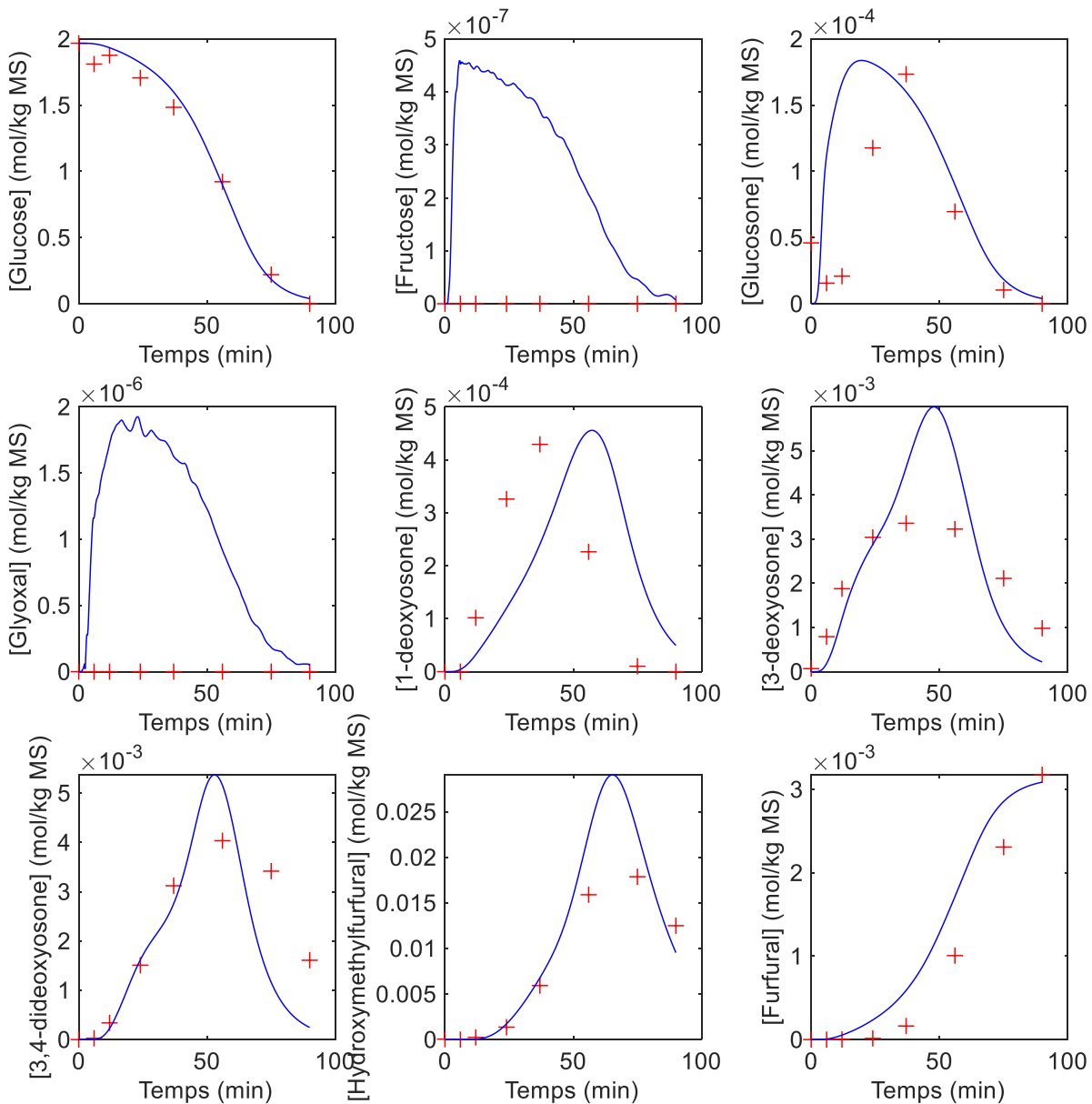


Figure 77. Essai d'ajustement manuel des prédictions du modèle sur les données expérimentales obtenues à 200°C/50 Hz pour la formule G.

Ensuite, le modèle a été utilisé en cherchant à identifier uniquement une constante apparente de dégradation du glucose dans la formule G (en absence de leucine). Pour cela, il a été fait l'hypothèse que la régénération de glucose à partir de fructose (réaction 2+4) était négligeable et que les énergies d'activation des réactions impliquées dans la dégradation du glucose (réactions 1+3, 1+7 et 66) étaient suffisamment proches pour être considérées équivalentes. Ainsi, le modèle chimique se résume en une équation différentielle (Équation 42). Dans ce cas, toutes les conditions de température et de convection ont été utilisées conjointement pour l'identification par la fonction de minimisation *fminsearch* de la constante de vitesse de référence et de l'énergie d'activation de cette réaction apparente.

$$\frac{d[\text{glucose}]}{dt} = -k_{app}[\text{glucose}]$$

Équation 42. Équation différentielle ordinaire pour le glucose utilisant une constante de vitesse apparente

$$T_{ref} = 120^{\circ}\text{C} ; k_{ref} = 7.79 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1} ; E_a = 1.13 \times 10^5 \text{ J/mol}$$

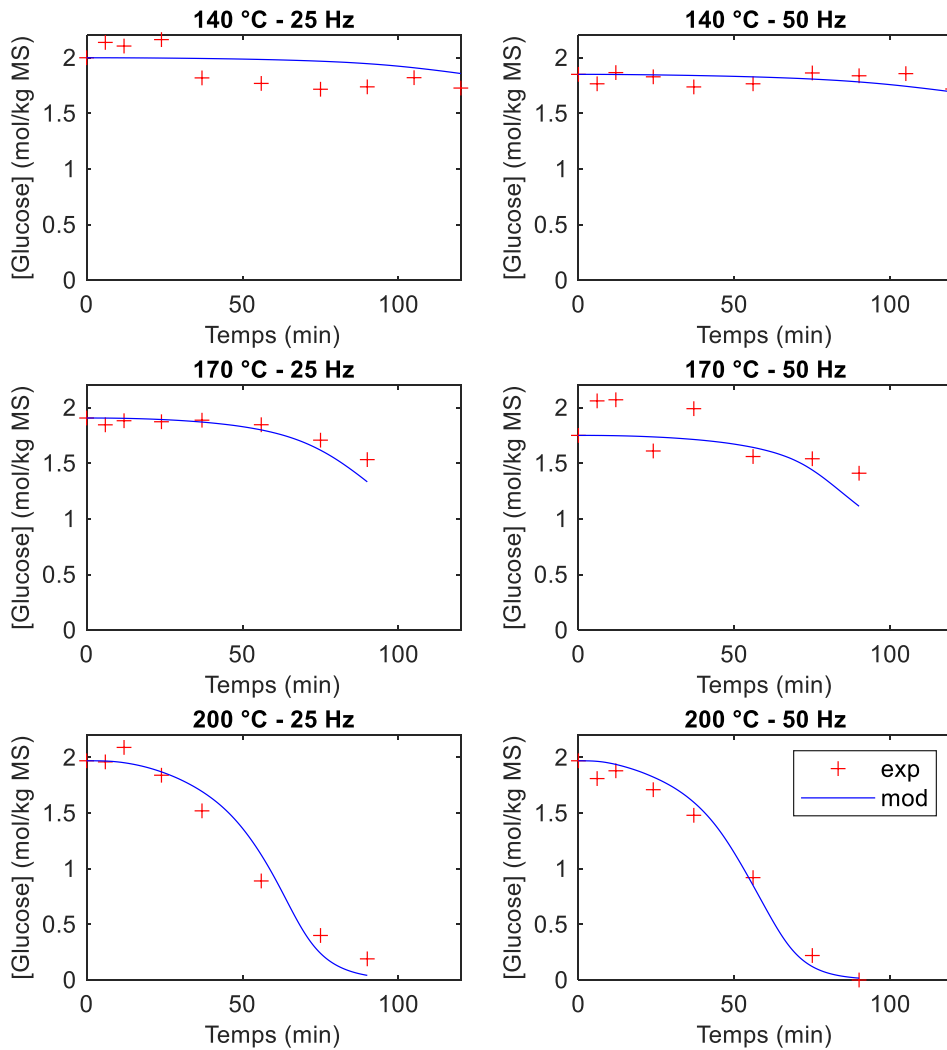


Figure 78. Modèle apparent de description de la dégradation du glucose pour toutes les conditions expérimentale appliquées à la formule G.

Il apparaît que des valeurs de $k_{app,ref}$ et $E_{a,app}$ permettant de décrire la dégradation du glucose dans tous les cas où seul le glucose est présent peuvent être identifiées et conduisent à un ajustement très correct des cinétiques expérimentales (Figure 78).

Les profils de concentration du glucose selon différentes positions dans la génoise ont été prédites en utilisant ce modèle couplé pour une condition donnée (200°C/50 Hz) (Figure 79). La variation de la concentration en fonction du temps est plus visible dans la partie haute de la génoise.

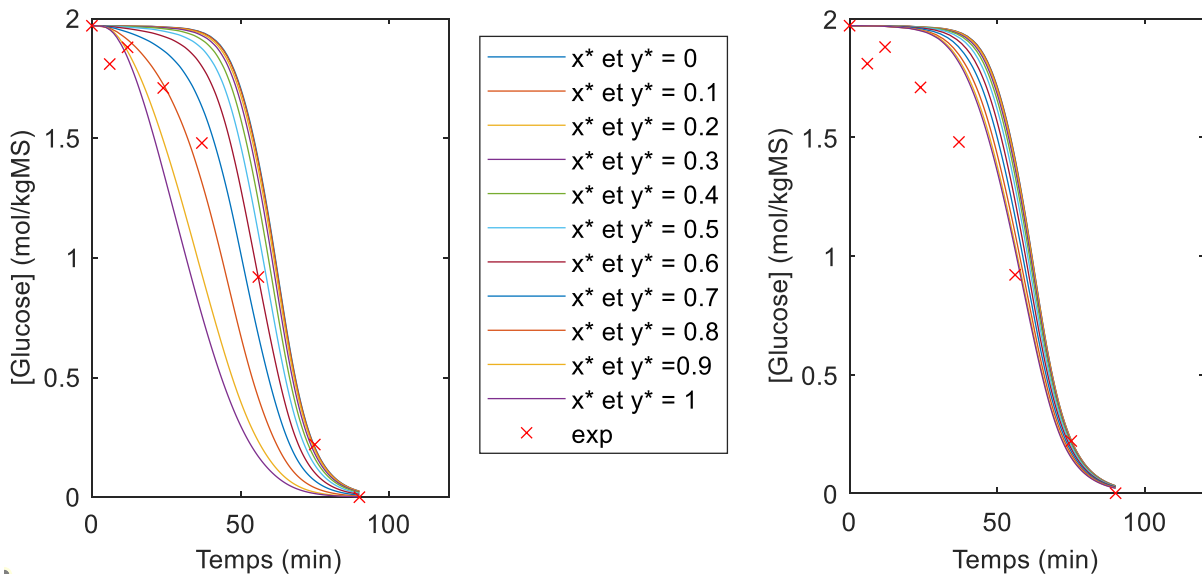


Figure 79. Concentrations du glucose prédites en différents points de la génoise selon le rayon (x^* , Équation 33) et selon l'épaisseur (y^* , Équation 34) pour une cuisson à 200°C/25 Hz, en utilisant la température mesurée en surface (à gauche) et la température mesurée au fond (à droite).

7.4 Conclusion

La description des phénomènes physiques dans un produit solide de type génoise en cours de cuisson est extrêmement complexe. Il apparaît que construire un modèle couplé de transfert de chaleur et de matière aurait nécessité un travail expérimental et de modélisation impossible à ajouter au plan d'expérience de mesures des marqueurs chimiques réalisé dans le cadre de cette thèse. Cependant, la structure en deux parties du modèle couplé tel que développé ici avec une prédiction des variables physiques d'un côté et leur utilisation ensuite dans le modèle chimique, peut permettre de le substituer, le cas échéant, au modèle physique simplifié proposé ici. En attendant, celui-ci permet de répondre au besoin de cartographie locale sans prétendre décrire les phénomènes.

Le nombre considérable de données expérimentales acquises, tant en termes de nombre de marqueurs dosés qu'en termes de conditions expérimentales de cuisson et de formulation explorées, ont permis l'établissement d'un schéma réactionnel considéré observable réellement discriminant des voies de caramélisation et de réaction de Maillard. L'identification des paramètres réactionnels n'a pas pu être réalisée faute de compétences spécifiques en identification simultanée d'un aussi grand nombre de paramètres, sur une plage de valeurs aussi large, mais les travaux devront être poursuivis. Deux preuves de concepts ont toutefois pu être apportées sur la formule G, l'une sur la totalité des marqueurs mais pour une seule condition de cuisson et l'autre sur la dégradation du glucose uniquement mais pour la totalité des conditions de cuisson. Elles sont encourageantes pour la poursuite des travaux d'identification.

Bilan et perspectives

Dans un contexte de mise en place d'outils pour contrôler la formation des composés néoformés, à impact positif ou négatif, lors de la transformation des produits alimentaires, ce travail de thèse avait pour objectif de comprendre et de décrire les réactions de Maillard et de caramélisation au cours de la cuisson d'un produit modèle et de proposer une approche de modélisation pour la prédiction des cinétiques couplées aux transferts de chaleur et de matière.

Afin de pouvoir répondre à ces objectifs, la recherche a été conduite de manière à lever les principaux verrous scientifiques identifiés à partir des travaux antérieurs et de la littérature.

Ainsi, ce travail a consisté à :

- Proposer un schéma réactionnel pour les réactions de Maillard et de caramélisation dans un produit contenant du glucose et de la leucine, basé sur un certain nombre de marqueurs mesurables ;
- Valider le produit modèle mimétique d'une génoise en tant que base d'étude de la réactivité chimique ;
- Valider une méthode pour l'analyse quantitative en dynamique des composés volatils au cours de la cuisson par TD-GC-MS ;
- Mettre au point les méthodes d'extraction et de quantification des précurseurs, des intermédiaires notamment dicarbonylés et des composés furaniques ;
- Construire une base de données cinétiques, pour plusieurs conditions opératoires de cuisson ;
- Proposer un schéma réactionnel identifiable et une méthodologie pour coupler transferts et réactions.

Tout d'abord, la non-réactivité de la génoise modèle a été vérifiée. Les dosages de sucres et des NH₂ libres effectués dans la pâte et dans des génoises non supplémentées et cuites à 200°C ont mis en évidence l'absence totale de précurseurs de réactions. Aucun composé volatil caractéristique de la caramélisation ou de la réaction de Maillard n'a non plus été dosé par TD-GC-MS dans les vapeurs de cuisson. Enfin, les génoises sont restées parfaitement blanches, ne montrant aucun signe de brunissement caractéristique des étapes finales des réactions. Puis, l'activation des réactions a été vérifiée lors de la supplémentation par des précurseurs de la caramélisation (glucose, G) ou de la caramélisation et la réaction de Maillard (glucose + leucine, G+L) par des analyses globales de brunissement ou d'acidité équivalente, la présence de la leucine et l'augmentation de la température de cuisson agissant comme catalyseur des réactions.

À partir de premiers résultats en TD-GC-MS semi-quantitative qui ont montré les potentialités de la méthode d'échantillonnage en ligne des vapeurs pendant la cuisson pour l'analyse cinétique d'un grand nombre de composés volatils, une méthode quantitative a été développée. Dix marqueurs volatils incluant le 3-méthylbutanal, 4 pyrazines, l'acide acétique et 4 composés furaniques ont pu être quantifiés à l'aide des étalons internes deutérés. Ceci constitue l'un des acquis majeurs de cette thèse car la comparaison des quantités de marqueurs ainsi obtenues entre eux ou à des temps ou des conditions de cuisson différentes peut se faire de manière absolue, sans que les réponses chromatographiques dépendent de la nature des marqueurs.

En parallèle, un protocole de prélèvement et de conservation des échantillons a été mis en place afin de permettre de réaliser les expériences de manière optimisée (gain du temps, facilité de manipulation,..) et d'acquérir un grand nombre de données cinétiques. Les méthodes analytiques quantitatives ont été mises au point pour une large gamme de marqueurs couvrant l'avancement des réactions de Maillard et de la caramélisation, des précurseurs aux produits. La leucine a pu être quantifiée par la titration des NH_2 libres. Cette méthode présente l'avantage d'être simple et efficace dans un cas comme le nôtre où la seule source d'azote est la leucine. Les sucres (glucose, fructose) ont été extraits et quantifiés par UHPLC-CAD. Les composés furaniques (furfural et 5-HMF) ont pu être extraits en même temps que les sucres, puis conservés pour analyse ultérieure par UHPLC-DAD. Adaptée et mise au point à partir de celle de Kocadağlı et al., 2014; Kocadağlı et al., 2016, une méthode d'extraction et de quantification par UHPLC-MS a permis de quantifier sept composés intermédiaires α -dicarbonylés. Il a ainsi été possible de suivre de manière quantitative un total de vingt marqueurs réactionnels pendant la cuisson !

Un tel effort sur la quantification a permis d'obtenir une base de données cinétiques importante et originale. Les résultats cinétiques sur les précurseurs ont montré que leur dégradation était favorisée par une haute température et la présence de la leucine. Tous les intermédiaires α -dicarbonylés (sauf le glyoxal qui n'a pas pu être détecté, sûrement à cause des faibles quantités présentes dans les génoises modèles) présentaient une courbe en cloche caractéristiques d'une formation et d'une consommation durant la cuisson. En confrontant les résultats obtenus sur la formule G à ceux de la formule $G+L$, l'effet catalytique de la leucine dans la formation des déoxyosones a pu être mis en évidence. La cinétique de formation du furfural et du 5-HMF était également accélérée par la présence de la leucine.

Les résultats cinétiques sur les marqueurs volatils ont permis de conclure sur l'effet accélérateur, attendu, de la température et sur l'absence d'effet du niveau de convection. Nous en avons conclu que la vitesse de séchage de la surface des génoises modèles n'avait pas d'impact sur les vitesses réactionnelles, du moins, mesurées globalement. L'ajout de la leucine a bien activé les voies réactionnelles de Maillard y compris la dégradation de Strecker. Cela a été confirmé par l'apparition très rapide en grande quantité du 3-méthylbutanal et également l'apparition en quantité beaucoup moindre des pyrazines. L'effet de la leucine a été moins marqué sur les composés furaniques.

Les résultats cinétiques obtenus sont un réel aboutissement par rapport à l'objectif final car ils ont permis de construire une base très riche en données expérimentales. Un schéma réactionnel considéré observable réellement discriminant des voies de caramélisation et de la réaction de Maillard a été extrait. L'identification des paramètres réactionnels n'a pas pu être réalisée faute de compétences spécifiques en identification simultanée d'un aussi grand nombre de paramètres, sur une plage de valeurs aussi large, mais les travaux devront être poursuivis. Deux preuves de concepts ont toutefois pu être apportées sur la formule *G*, l'une sur la totalité des marqueurs, mais pour une seule condition de cuisson, et l'autre sur la dégradation du glucose uniquement, mais pour la totalité des conditions de cuisson. Elles sont encourageantes pour la poursuite des travaux de modélisation.

Naturellement, en perspectives à court terme, ce qui reste à faire est la recherche d'un algorithme de calcul puissant adapté pour la résolution du modèle couplé. Une fois la faisabilité de ce modèle couplé totalement prouvée, il serait nécessaire d'identifier un modèle physique mécanistique des transferts de chaleur et de matière pour le couplage.

En ce qui concerne les perspectives à plutôt long terme, il serait intéressant d'étudier la réactivité de génoises implémentées avec du fructose et de la leucine (modèles *F* et *F+L*) afin de clarifier certaines hypothèses sur la réactivité du fructose. La transposition des données sur les marqueurs volatils à des concentrations dans la matrice doit aussi être réfléchie afin de pouvoir utiliser les données acquises par TD-GC-MS pour modéliser les réactions de formation de ces marqueurs. D'autre part, il serait intéressant d'explorer la fluorescence comme indicateur global des réactions de Maillard et la caramélisation à partir des spectres déjà acquis sur les échantillons de génoises modèles *G* et *G+L*, comme suggéré par certains auteurs (Leclère et al., 2001;

Matiacevich et al., 2005). Enfin, il serait intéressant de réfléchir aux moyens d'extraire plus d'informations des données acquises, notamment par une approche chimiométrique non ciblée des composés volatils à partir des chromatogrammes déjà acquis.

En outre, la génoise modèle peut être adaptée pour d'autres type d'études, des études de réactivité à partir d'autres précurseurs (composé d'Amadori, sucres réducteurs, acides aminés,...). Enfin, la stratégie d'étude proposée dans la thèse pourra être adaptée à d'autre types de matrices solides pour lesquelles la réactivité est enclenchée et/ou fortement influencée par la thermique, notamment qu'il s'agisse de matrices alimentaires ou de biomasse.

Références bibliographiques

- Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., Appel, K. E., (2011, May) Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition and Food Research*.
- Adams, A., (2005) *Formation of valuable Maillard flavours compounds by model reactions and fermentation*. Ghent University, Ghent.
- Ait Aneur, L., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I., (2006) Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. *Food Chemistry*., 98(4), 790–796.
- Ait Aneur, L., Mathieu, O., Lalanne, V., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I., (2007) Comparison of the effects of sucrose and hexose on furfural formation and browning in cookies baked at different temperatures. *Food Chemistry*., 101(4), 1407–1416.
- Ait Aneur, L., Rega, B., Giampaoli, P., Trystram, G., Birlouez-Aragon, I., (2008) The fate of furfurals and other volatile markers during the baking process of a model cookie. *Food Chemistry*., 111(3), 758–763.
- Ajandouz, E. H., Tchiakpe, L. S., Ore, F. D., Benajiba, A., Puigserver, A., (2001) Effects of pH on Caramelization and Maillard Reaction Kinetics in Fructose-Lysine Model Systems. *Journal of Food Science*., 66(7), 926–931.
- Albouchi, A., Murkovic, M., (2018) Formation kinetics of furfuryl alcohol in a coffee model system. *Food Chemistry*., 243, 91–95.
- Aljahdali, N., Carbonero, F., (2019) Impact of Maillard reaction products on nutrition and health: Current knowledge and need to understand their fate in the human digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*., 59(3), 474–487.
- Allwood, J. W., Cheung, W., Xu, Y., Mumm, R., De Vos, R. C. H., Deborde, C., Biais, B., Maucourt, M., Berger, Y., Schaffer, A. A., Rolin, D., Moing, A., Hall, R. D., Goodacre, R., (2014) Metabolomics in melon: a new opportunity for aroma analysis. *Phytochemistry*., 99, 61–72.
- Ames, J. M., Guy, R. C. E., Kipping, G. J., (2001) Effect of pH, Temperature, and Moisture on the Formation of Volatile Compounds in Glycine/Glucose Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 49(9), 4315–4323.
- Anet, E. F. L. J., (1964) 3-Deoxyglycosuloses (3-Deoxyglycosones) and the Degradation of Carbohydrates. *Advances in Carbohydrate Chemistry*., 19, 181–218.
- Antal, M. J., Mok, W. S. L., Richards, G. N., (1990) Mechanism of formation of 5-(hydroxymethyl)-

2-furaldehyde from d-fructose and sucrose. *Carbohydr. Res.*, 199, 91.

Ashoor, S. H., Zent, J. B., (1984) Maillard browning of common amino acids and sugars. *J. Food Sci.*, 49, 1206.

Baeva, M. R., Panchev, I. N., Terzieva, V. V., (2000) Comparative study of texture of normal and energy reduced sponge cakes. *Die Nahrung.*, 44(4), 242–246.

Barden, L., Decker, E. A., (2013, November 26) Lipid oxidation in low-moisture food: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P., (2009) *Food chemistry* 4th editio. Springer-Verlag, Berlin.

Bennion, E., Bamford, G. S. T., (1997) *The Technology of Cake Making* 6th ed. Hill, L., London, UK.

Bertrand, E., (2011) Composés formés au cours de la cuisson d'une matrice fromagère : contribution à la modélisation stoechio-cinétique multi-réponses de la réaction de Maillard.

Birch, A. N., Petersen, M. A., Hansen, Å. S., (2014) REVIEW: Aroma of Wheat Bread Crumb. *Cereal Chemistry Journal.*, 91(2), 105–114.

Bousquières, J., Bonazzi, C., Michon, C., (2017a) Rational design to develop a non-reactive model food imitative of a baked cereal product by replacing the functional properties of ingredients. *Food Hydrocolloids.*, 63, 552–560.

Bousquières, J., (2017) Impact de la composition et des procédés sur la réactivité d'un produit modèle alvéolé de type cake.

Bousquières, J., Michon, C., Bonazzi, C., (2017b) Functional properties of cellulose derivatives to tailor a model sponge cake using rheology and cellular structure analysis. *Food Hydrocolloids.*, 70, 304–312.

Boutboul, A., (2001) Etude des interactions entre les composés d'arôme et l'amidon par la technique de chromatographie inverse en phase gazeuse. <http://www.theses.fr>.

Brands, C. M. J., van Boekel, M. A. J. S., (2003) Kinetic modelling of reactions in heated disaccharide–casein systems. *Food Chemistry.*, 83(1), 13–26.

Bruhns, P., Kanzler, C., Degenhardt, A. G., Koch, T. J., Kroh, L. W., (2019) Basic Structure of Melanoidins Formed in the Maillard Reaction of 3-Deoxyglucosone and γ -Aminobutyric Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 67(18), 5197–5203.

Calvarro, J., Gökmen, V., Morales, F. J., (2009) A generic procedure to monitor Maillard-derived fluorescent compounds in cookies by flow-injection analysis. *European Food Research and Technology.*, 229(6), 843–851.

Cepeda-Vázquez, M., Blumenthal, D., Camel, V., Rega, B., (2016) Multivariate optimization of headspace trap for furan and furfural simultaneous determination in sponge cake. *Talanta*.

Cepeda-Vázquez, M., Rega, B., Descharles, N., Camel, V., (2018) How ingredients influence furan and aroma generation in sponge cake. *Food Chemistry.*, 245, 1025–1033.

Cepeda-Vázquez, M., Camel, V., Blumenthal, D., Rega, B., (2019) Quality-driven design of sponge cake: Insights into reactivity, furan mitigation and consumer liking. *Food Chemistry.*, 285, 94–103.

Cernela, J., Heyd, B., Broyart, B., (2014) Evaluation of heating performances and associated variability of domestic cooking appliances (oven-baking and pan-frying). *Applied Thermal Engineering.*, 62(2), 758–765.

Cerny, C., Davidek, T., (2003) Formation of Aroma Compounds from Ribose and Cysteine during the Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 51(9), 2714–2721.

Cerny, C., (2008) The aroma side of the Maillard reaction. *Annals of the New York Academy of Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111), Vol. 1126pp. 66–71.

Cerny, C., (2010) Thermal Generation of Aroma-Active Volatiles in Food. In: Herrmann, A. (ed.), *The Chemistry and Biology of Volatiles*. John Wiley & Sons Ltd, pp. 231–252.

Cha, J., Debnath, T., Lee, K. G., (2019) Analysis of α -dicarbonyl compounds and volatiles formed in Maillard reaction model systems. *Scientific Reports.*, 9(1), 5325.

Chhanwal, N., Tank, A., Raghavarao, K. S. M. S., Anandharamakrishnan, C., (2012) Computational Fluid Dynamics (CFD) Modeling for Bread Baking Process—A Review. *Food and Bioprocess Technology.*, 5(4), 1157–1172.

Cho, I. H., Peterson, D. G., (2010) Chemistry of bread aroma: A review. *Food Science and Biotechnology.*, 19(3), 575–582.

Chu, F. L., Yaylayan, V. A., (2009) Isotope labeling studies on the origin of 3,4-hexanedione and 1,2-butanedione in an alanine/glucose model system. *Journal of agricultural and food chemistry.*, 57(20), 9740–9746.

Cognat, C., Shepherd, T., Verrall, S. R., Stewart, D., (2012) Comparison of two headspace sampling techniques for the analysis of off-flavour volatiles from oat based products. *Food chemistry.*, 134(3), 1592–1600.

Conforti, F. D., (2006) Cake Manufacture. In: Hui, Y. H. (ed.), *Bakery Products: Science And Technology*. Wiley-Blackwell, Ames, USA, p. 586.

Crews, C., Castle, L., (2007) A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. *Trends in Food Science & Technology.*, 18(7), 365–372.

Davidek, T., Clety, N., Devaud, S., Robert, F., Blank, I., (2003) Simultaneous quantitative analysis of maillard reaction precursors and products by high-performance anion exchange chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry.*, 51(25), 7259–7265.

De Vleeschouwer, K., Van der Plancken, I., Van Loey, A., Hendrickx, M. E., (2009) Modelling acrylamide changes in foods: from single-response empirical to multiresponse mechanistic approaches. *Trends in Food Science & Technology.*, 20(3–4), 155–167.

Delatour, T., Huertas-Pérez, J. F., Dubois, M., Theurillat, X., Desmarchelier, A., Ernest, M., Stadler, R. H., (2020) Thermal degradation of 2-furoic acid and furfuryl alcohol as pathways in the formation of furan and 2-methylfuran in food. *Food Chemistry.*, 303, 125406.

Dury-Brun, C., Lequin, S., Chalier, P., Desobry, S., Voilley, A., (2007) Tracer Aroma Compound Transfer from a Solid and Complex-Flavored Food Matrix Packed in Treated Papers or Plastic Packaging Film.

Edwards, A. S., Wedzicha, B. L., (1992) Kinetics and mechanism of the reaction between 3-deoxyhexosulose and thiols. *Food Additives and Contaminants.*, 9(5), 461–469.

Elmore, J. S., (2015) Aroma extract analysis. *Flavour Development, Analysis and Perception in Food and Beverages.*, 47–61.

Esteban, J. L., Martínez-Castro, I., Morales, R., Fabrellas, B., Sanz, J., (1996) Rapid identification of volatile compounds in aromatic plants by automatic thermal desorption — GC-MS. *Chromatographia.*, 43(1–2), 63–72.

Fehaili, S., Rega, B., Courel, M., Giampaoli, P., Brandam, C., Meyer, X., Bonazzi, C., (2008) Reaction Engineering for Sponge Cake Baking: Development of a Methodology to extract an Apparent Identifiable Reaction Scheme, *In FOODSIM*(Edited by E. Cummins and D. Thiel. Ghent, Belgium: Eurosis-ETI), 147–150.

Fehaili, S., (2010) Développement d'un simulateur de cuisson pour l'étude du couplage entre les transferts d'énergie et de matière et les cinétiques de réactions de Maillard ayant lieu au cours de la cuisson de produits céréaliers de type génoise.

Fehaili, S., Courel, M., Rega, B., Giampaoli, P., (2010) An instrumented oven for the monitoring of thermal reactions during the baking of sponge cake. *Journal of Food Engineering.*, 101(3), 253–263.

Finot, P. A., (2005) Historical perspective of the Maillard reaction in food science. *Annals of the New York Academy of Sciences.* New York Academy of Sciences, Vol. 1043pp. 1–8.

Frank, O., Heuberger, S., Hofmann, T., (2001) Structure Determination of a Novel 3 (6 H) - Pyranone Chromophore and Clarification of Its Formation from Carbohydrates and Primary Amino Acids, 3, 1595–1600.

Frank, O., Hofmann, T., (2002) Reinvestigation of the Chemical Structure of Bitter-Tasting Quinizolate and Homoquinizolate and Studies on Their Maillard-Type Formation Pathways Using

Suitable ¹³C-Labeling Experiments. *J. Agric. Food Chem.*, 50(21), 6027–6036.

Gallego, E., Roca, F. J., Perales, J. F., Sánchez, G., Esplugas, P., (2012) Characterization and determination of the odorous charge in the indoor air of a waste treatment facility through the evaluation of volatile organic compounds (VOCs) using TD-GC/MS. *Waste management (New York, N.Y.)*, 32(12), 2469–2481.

Göğüş, F., Özel, M. Z., Lewis, A. C., (2007) The effect of various drying techniques on apricot volatiles analysed using direct thermal desorption-GC–TOF/MS. *Talanta.*, 73(2), 321–325.

Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Köksel, H., Acar, J., (2007) Effects of dough formula and baking conditions on acrylamide and hydroxymethylfurfural formation in cookies. *Food Chemistry.*, 104(3), 1136–1142.

Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Arribas-Lorenzo, G., Morales, F. J., (2008) Investigating the correlation between acrylamide content and browning ratio of model cookies. *Journal of Food Engineering.*, 87(3), 380–385.

Gökmen, V., Kocadağlı, T., Göncüoğlu, N., Mogol, B. A., (2012) Model studies on the role of 5-hydroxymethyl-2-furfural in acrylamide formation from asparagine. *Food Chemistry.*, 132(1), 168–174.

Golon, A., Javier, F., Da, J. Z., Kuhnert, N., (2013) Investigating the Thermal Decomposition of Starch and Cellulose in Model Systems and Toasted Bread Using Domino Tandem Mass Spectrometry.

Göncüoğlu Taş, N., Gökmen, V., (2017) Maillard reaction and caramelization during hazelnut roasting: A multiresponse kinetic study. *Food Chemistry.*, 221, 1911–1922.

Grosch, W., Schieberle, P., (1997) Flavor of Cereal Products—A Review. *Cereal Chemistry Journal.*, 74(2), 91–97.

Guerra, P. V., Yaylayan, V. A., (2012) Double Schiff Base Adducts of 2,3-Butanedione with Glycine: Formation of Pyrazine Rings with the Participation of Amino Acid Carbon Atoms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 60(45), 11440–11445.

Guerra, P. V., Yaylayan, V. A., (2013) Cyclocondensation of 2,3-butanedione in the presence of amino acids and formation of 4,5-dimethyl-1,2-phenyldiamine. *Food Chemistry.*, 141(4), 4391–4396.

Hansen, A., Schieberle, P., (2005) Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science & Technology.*, 16(1–3), 85–94.

Hayashi, T., Namki, M., (1980) Formation of Two-Carbon Sugar Fragment at an Early Stage of the

Browning Reaction of Sugar with Amine. *Agricultural and Biological Chemistry.*, 44(11), 2575–2580.

Hayashi, T., Namiki, M., (1981) On the Mechanism of Free Radical Formation during Browning Reaction of Sugars with Amino Compounds. *Agricultural and Biological Chemistry.*, 45(4), 933–939.

Hayashi, T., Namiki, M., (1986) Role of sugar fragmentation in an early stage browning of amino-carbonyl reaction of sugar with amino acid. *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1965.

Heavner, D. L., Ogden, M. W., Nelson, P. R., (1992) Multisorbent thermal desorption/gas chromatography/mass selective detection method for the determination of target volatile organic compounds in indoor air. *Environmental Science & Technology.*, 26(9), 1737–1746.

Hellwig, M., Gensberger-Reigl, S., Henle, T., Pischetsrieder, M., (2018) Food-derived 1,2-dicarbonyl compounds and their role in diseases. *Seminars in Cancer Biology.*, 49, 1–8.

Hidalgo, A., Brandolini, A., (2011) Heat damage of water biscuits from einkorn, durum and bread wheat flours. *Food Chemistry.*, 128(2), 471–478.

Hidalgo, F. J., Alaiz, M., Zamora, R., (1999) Effect of pH and temperature on comparative nonenzymatic browning of proteins produced by oxidized lipids and carbohydrates. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 742.

Ho, C. T., Zheng, X., Li, S., (2015) Tea aroma formation. *Food Science and Human Wellness.*, 4(1), 9–27.

Hodge, J. E., (1953) Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 1(15), 928–943.

Hodgson, A. T., (1995) A Review and a Limited Comparison of Methods for Measuring Total Volatile Organic Compounds in Indoor Air. *Indoor Air.*, 5(4), 247–257.

Hofmann, T., Schieberle, P., (1995) Evaluation of the key odorants in a thermally treated solution of ribose and cysteine by aroma extract dilution techniques. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2187.

Hofmann, T., Bors, W., Stettmaier, K., (1999) Studies on radical intermediates in the early stage of the nonenzymatic browning reaction of carbohydrates and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 47(2), 379–390.

Hofmann, T., Schieberle, P., (2000) Formation of Aroma-Active Strecker-Aldehydes by a Direct Oxidative Degradation of Amadori Compounds, 4301–4305.

Hollnagel, A., Kroh, L. W., (1998) Formation of α -dicarbonyl fragments from mono- and disaccharides under caramelization and Maillard reaction conditions. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A.*, 207(1), 50–54.

- Hollnagel, A., Kroh, L. W., (2002) 3-deoxypentosulose: an alpha-dicarbonyl compound predominating in nonenzymatic browning of oligosaccharides in aqueous solution. *Journal of agricultural and food chemistry.*, 50(6), 1659–1664.
- Hu, B., Lu, Q., Jiang, X., Dong, X., Cui, M., Dong, C., Yang, Y., (2018) Pyrolysis mechanism of glucose and mannose: The formation of 5-hydroxymethyl furfural and furfural. *Journal of Energy Chemistry.*, 27(2), 486–501.
- Huault, L., Descharles, N., Rega, B., Bistac, S., Bosc, V., Giampaoli, P., (2016) Furan quantification in bread crust: development of a simple and sensitive method using headspace-trap GC-MS. *Food Additives & Contaminants: Part A.*, 1–8.
- Jenny, G., Glomb, M. A., (2009) Degradation of glucose: reinvestigation of reactive α -dicarbonyl compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 57(18), 8591–8597.
- 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.
- Jiang, B., Liu, Y., Bhandari, B., Zhou, W., (2008) Impact of Caramelization on the Glass Transition Temperature of Several Caramelized Sugars. Part I: Chemical Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 56(13), 5138–5147.
- Jusino, M. G., Ho, C. ., Tong, C. H., (1997) Formation Kinetics of 2,5-Dimethylpyrazine and 2-Methylpyrazine in a Solid Model System Consisting of Amioca Starch, Lysine, and Glucose.
- Kanzler, C., Haase, P. T., Kroh, L. W., (2014) Antioxidant Capacity of 1-Deoxy-d-erythro-hexo-2,3-diulose and d-arabino-Hexo-2-ulose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 62(13), 2837–2844.
- Kato, K., (1967) Pyrolysis of Cellulose. *Agricultural and Biological Chemistry.*, 31(6), 657–663.
- Kiosseoglou, V., (2003) Egg yolk protein gels and emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science.*, 8(4), 365–370.
- Kirchhoff, E., Schieberle, P., (2001) Determination of Key Aroma Compounds in the Crumb of a Three-Stage Sourdough Rye Bread by Stable Isotope Dilution Assays and Sensory Studies, 2, 4304–4311.
- Knol, J. J., Loon, W. A. M. van, Linssen, J. P. H., Ruck, A. L., van Boekel, M. A. J. S., Voragen, A. G. J., (2005) Toward a Kinetic Model for Acrylamide Formation in a Glucose–Asparagine Reaction System.
- Knol, J. J., Linssen, J. P. H., van Boekel, M. A. J. S., (2010) Unravelling the kinetics of the formation of acrylamide in the Maillard reaction of fructose and asparagine by multiresponse modelling.

Food Chemistry., 120(4), 1047–1057.

Kocadağlı, T., Gökmen, V., (2016) Multiresponse kinetic modelling of Maillard reaction and caramelisation in a heated glucose/wheat flour system. *Food Chemistry.*, 211, 892–902.

Kocadağlı, T., (2016) Investigation and kinetic modelling of α -dicarbonyl compound formation in foods, 159.

Kocadağlı, T., Gökmen, V., (2014) Investigation of α -Dicarbonyl Compounds in Baby Foods by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 62(31), 7714–7720.

Kroh, L. W., (1994) Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry.*, 51(4), 373–379.

Kroh, L. W., Fiedler, T., Wagner, J., (2008) α -Dicarbonyl compounds - Key intermediates for the formation of carbohydrate-based melanoidins. *Annals of the New York Academy of Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd (10.1111), Vol. 1126pp. 210–215.

Krug, E., Prellwitz, W., Schäffner, E., Kiekebusch, W., Lang, K., (1959) Thermische Eiweißveränderungen und biologische Wertigkeit. *Die Naturwissenschaften.*, 46(18), 534–534.

Kunamneni, A., Singh, S., (2005) Response surface optimization of enzymatic hydrolysis of maize starch for higher glucose production. *Biochemical Engineering Journal.*, 27(2), 179–190.

Kunlan, L., Lixin, X., Jun, L., Jun, P., Guoying, C., Zuwei, X., (2001) Salt-assisted acid hydrolysis of starch to d-glucose under microwave irradiation. *Carbohydrate Research.*, 331(1), 9–12.

Leclère, J., Birlouez-Aragon, I., (2001) The Fluorescence of Advanced Maillard Products Is a Good Indicator of Lysine Damage during the Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 49(10), 4682–4687.

Leong, L. ., Wedzicha, B. ., (2000) A critical appraisal of the kinetic model for the Maillard browning of glucose with glycine. *Food Chemistry.*, 68(1), 21–28.

Li, D., Xie, Y., Na, X., Li, Y., Dai, C., Li, Y., Tan, M., (2019) Insights into melanoidin conversion into fluorescent nanoparticles in the Maillard reaction. *Food & Function.*, 10(7), 4414–4422.

Liaud, C., (2014) Développement de méthodes d'échantillonnage rapides et d'analyses différées au laboratoire : détermination de l'évolution temporelle des concentrations des COVs et COSVs et compréhension des processus physico-chimiques en air intérieur.

Liaud, C., Nguyen, N. T., Nasreddine, R., Le Calvé, S., (2014) Experimental performances study of a transportable GC-PID and two thermo-desorption based methods coupled to FID and MS detection to assess BTEX exposure at sub-ppb level in air. *Talanta.*, 127, 33–42.

Lostie, M., Peczalski, R., Andrieu, J., Laurent, M., (2002) Study of sponge cake batter baking process. Part I: Experimental data. *Journal of Food Engineering.*, 51(2), 131–137.

- Lucas, T., Doursat, C., Grenier, D., Wagner, M., Trystram, G., Flick, D., (2015) Modeling of bread baking with a new , multi-scale formulation of evaporation – condensation – diffusion and evidence of compression in the outskirts of the crumb. *JOURNAL OF FOOD ENGINEERING.*, 149, 24–37.
- Luning, P. A., Roozen, J. P., Moëst, R. A. F. J., Posthumus, M. A., (1991) Volatile composition of white bread using enzyme active soya flour as improver. *Food Chemistry.*, 41(1), 81–91.
- Maillard, L. C., (1912) Action des acides amines sur les sucres; formation des melanoidines par voie methodique. *Comptes R. Acad. Sci.*, 154, 66–68.
- Maire, M., Rega, B., Cuvelier, M. E., Soto, P., Giampaoli, P., (2013) Lipid oxidation in baked products: Impact of formula and process on the generation of volatile compounds. *Food Chemistry.*, 141(4), 3510–3518.
- Maret, L., (2013) *Application de la technique de thermodésorption pour l'analyse de 93 COV et le screening des COV dans l'air des lieux de travail.* Université Lyon 1.
- Märk, J., Pollien, P., Lindinger, C., Blank, I., Märk, T., (2006) Quantitation of Furan and Methylfuran Formed in Different Precursor Systems by Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 54(7), 2786–2793.
- Martins, S. I. F. S., Jongen, W. M. F., van Boekel, M. A. J. S., (2000) A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology.*, 11(9–10), 364–373.
- Martins, S. I. F. S., van Boekel, M. A. J. S., (2003a) Kinetic modelling of Amadori N-(1-deoxy-d-fructos-1-yl)-glycine degradation pathways. Part II—Kinetic analysis. *Carbohydrate Research.*, 338(16), 1665–1678.
- Martins, S. I. F. S., Marcelis, A. T. M., van Boekel, M. A. J. S., (2003b) Kinetic modelling of Amadori N-(1-deoxy-d-fructos-1-yl)-glycine degradation pathways. Part I—Reaction mechanism. *Carbohydrate Research.*, 338(16), 1651–1663.
- Martins, S. I. F. S., van Boekel, M. A. J. S., (2005a) A kinetic model for the glucose/glycine Maillard reaction pathways. *Food Chemistry.*, 90(1), 257–269.
- Martins, S. I. F. S., van Boekel, M. A. J. S., (2005b) Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: influences of pH and reactant initial concentrations. *Food Chemistry.*, 92(3), 437–448.
- Massold, E., Bähr, C., Salthammer, T., Brown, S. K., (2005) Determination of VOC and TVOC in Air Using Thermal Desorption GC-MS – Practical Implications for Test Chamber Experiments. *Chromatographia.*, 62(1–2), 75–85.
- Matiacevich, S. B., Santagapita, P. R., Buera, M. P., (2005) Fluorescence from the Maillard

Reaction and its Potential Applications in Food Science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 45(6), 483–495.

Mauron, J., (1981) The Maillard reaction in food; a critical review from the nutritional standpoint. *Progress in food & nutrition science.*, 5(1–6), 5–35.

Mesias, M., Delgado-Andrade, C., Morales, F. J., (2019) Risk/benefit evaluation of traditional and novel formulations for snacking: Acrylamide and furfurals as process contaminants. *Journal of Food Composition and Analysis.*, 79, 114–121.

Mildner-Szkudlarz, S., Różańska, M., Piechowska, P., Waśkiewicz, A., Zawirska-Wojtasiak, R., (2019) Effects of polyphenols on volatile profile and acrylamide formation in a model wheat bread system. *Food Chemistry.*, 297, 125008.

Mizukoshi, M., Maeda, H., Amano, H., (1980) Model Studies of Cake Baking. II. Expansion and Heat Set of Cake Batter During Baking. *Cereal Chemistry.*, 57(5), 352–360.

Moiraghi, M., de la Hera, E., Pérez, G. T., Gómez, M., (2012) Effect of wheat flour characteristics on sponge cake quality. *Journal of the science of food and agriculture.*, 93(3), 542–549.

Mondal, A., Datta, A. K., (2008) Bread baking – A review, 86, 465–474.

Morales, F. J., Somoza, V., Fogliano, V., (2012) Physiological relevance of dietary melanoidins. *Amino acids.*, 42(4), 1097–1109.

Moreira, N., Araújo, A. M., Rogerson, F., Vasconcelos, I., Freitas, V. De, Pinho, P. G. de, (2019) Development and optimization of a HS-SPME-GC-MS methodology to quantify volatile carbonyl compounds in Port wines. *Food Chemistry.*, 270, 518–526.

Namiki, M., Hayashi, T., (1975) Development of Novel Free Radicals during the Amino-Carbonyl Reaction of Sugars with Amino Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 23(3), 487–491.

Nguyen, H. T., Van der Fels-Klerx, H. J. (Ine), Peters, R. J. B., Van Boekel, M. A. J. S., (2016a) Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: Part I: Effects of sugar type. *Food Chemistry.*, 192, 575–585.

Nguyen, H. T., van der Fels-Klerx, H. J., van Boekel, M. A. J. S., (2016b) Kinetics of N ϵ -(carboxymethyl)lysine formation in aqueous model systems of sugars and casein. *Food Chemistry.*, 192, 125–133.

Nicolas, V., Salagnac, P., Glouannec, P., Ploteau, J. P., Jury, V., Boillereaux, L., (2014) Modelling heat and mass transfer in deformable porous media: Application to bread baking. *Journal of Food Engineering.*, 130, 23–35.

Nicolas, V., Glouannec, P., Ploteau, J. P., Salagnac, P., Jury, V., (2017) Experiment and multiphysic

simulation of dough baking by convection, infrared radiation and direct conduction. *International Journal of Thermal Sciences.*, 115, 65–78.

Nikolov, P. Y., Yaylayan, V. A., (2011) Thermal Decomposition of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) and Its Further Transformations in the Presence of Glycine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 59(18), 10104–10113.

Nursten, H. E., (1980) Department of Food Science, University of Reading, London Road, Reading RG1 5AQ, Great Britain, 6.

Nursten, H. E., (2005) *The Maillard reaction : chemistry, biochemistry, and implications*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.

Olszewski, E. A., (2006) From baking a cake to solving the diffusion equation. *American Journal of Physics.*, 74(6), 502–509.

Ousegui, A., Moresoli, C., Dostie, M., Marcos, B., (2010) Porous multiphase approach for baking process – Explicit formulation of evaporation rate. *Journal of Food Engineering.*, 100(3), 535–544.

Ozolina, V., Kunkulberga, D., Cieslak, B., Obiedzinski, M., (2011) Furan derivatives dynamic in rye bread processing. *Procedia Food Science.*, 1, 1158–1164.

Pacyński, M., Wojtasiak, R. Z., Mildner-Szkodlarz, S., (2015) Improving the aroma of gluten-free bread. *LWT - Food Science and Technology.*, 63(1), 706–713.

Paik, J. S., Venables, A. C., (1991) Analysis of packaged orange juice volatiles using headspace gas chromatography. *Journal of Chromatography A.*, 540, 456–463.

Paraskevopoulou, A., Chrysanthou, A., Koutidou, M., (2012) Characterisation of volatile compounds of lupin protein isolate-enriched wheat flour bread. *Food Research International.*, 48(2), 568–577.

Parker, J. K., (2013) The kinetics of thermal generation of flavour. *Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 93(2), 197–208.

Pastoriza de la Cueva, S., Álvarez, J., Végvári, Á., Montilla-Gómez, J., Cruz-López, O., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A., (2017) Relationship between HMF intake and SMF formation in vivo: An animal and human study. *Molecular Nutrition & Food Research.*, 61(3), 1600773.

Pénicaud, C., Broyat, B., Bonazzi, C., (2010) Identification d'un modèle cinétique pour le milieu génoisé. *Délivrable D.4.4.1 du projet ANR RéactiAl*.

Perez Locas, C., Yaylayan, V. A., (2008) Isotope Labeling Studies on the Formation of 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from Sucrose by Pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 56(15), 6717–6723.

Petisca, C., Henriques, A. R., Pérez-Palacios, T., Pinho, O., Ferreira, I. M. P. L. V. O., (2013) Study

of hydroxymethylfurfural and furfural formation in cakes during baking in different ovens, using a validated multiple-stage extraction-based analytical method. *Food Chemistry.*, 141(4), 3349–3356.

Petisca, C., Henriques, A. R., Pérez-Palacios, T., Pinho, O., Ferreira, I. M. P. L. V. O., (2014) Assessment of hydroxymethylfurfural and furfural in commercial bakery products. *Journal of Food Composition and Analysis.*, 33, 20–25.

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., Antolín, B., Román, L., Gómez, M., Bernal, J., (2018a) Analysis of volatile compounds in gluten-free bread crusts with an optimised and validated SPME-GC/QTOF methodology. *Food Research International.*, 106, 686–695.

Pico, J., Tapia, J., Bernal, J., Gómez, M., (2018b) Comparison of different extraction methodologies for the analysis of volatile compounds in gluten-free flours and corn starch by GC/QTOF. *Food Chemistry.*, 267, 303–312.

Pillonel, L., Bosset, J. ., Tabacchi, R., (2002) Rapid Preconcentration and Enrichment Techniques for the Analysis of Food Volatile. A Review. *LWT - Food Science and Technology.*, 35(1), 1–14.

Poinot, P., Grua-Priol, J., Arvisenet, G., Rannou, C., Semenou, M., Bail, A. Le, Prost, C., (2007) Optimisation of HS-SPME to study representativeness of partially baked bread odorant extracts. *Food Research International.*, 40(9), 1170–1184.

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.

Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Fillonneau, C., Le-Bail, A., Prost, C., (2010) Influence of inulin on bread: Kinetics and physico-chemical indicators of the formation of volatile compounds during baking. *Food Chemistry.*, 119(4), 1474–1484.

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., Ruíz-Rodríguez, A., Pernin, K., Cayot, N., (2007) Influence of eggs on the aroma composition of a sponge cake and on the aroma release in model studies on flavored sponge cakes. *Journal of agricultural and food chemistry.*, 55(4), 1418–1426.

Pripis-nicolau, L., Revel, G. De, Bertrand, A., Maujean, A., (2000) Formation of Flavor Components by the Reaction of Amino Acid and Carbonyl Compounds in Mild Conditions, *48*(9).

Purlis, E., Salvadori, V. O., (2009) Bread baking as a moving boundary problem. Part 1: Mathematical modelling. *Journal of Food Engineering.*, *91*(3), 428–433.

Purlis, E., (2010) Browning development in bakery products – A review. *Journal of Food Engineering.*, *99*(3), 239–249.

Rabbani, N., Thornalley, P. J., (2012) Dicarbonyls (Glyoxal, Methylglyoxal, and 3-Deoxyglucosone). *Uremic Toxins*. John Wiley and Sons, pp. 177–192.

Rainer Cremer, D., Eichner, K., (2000) The reaction kinetics for the formation of Strecker aldehydes in low moisture model systems and in plant powders. *Food Chemistry.*, *71*(1), 37–43.

Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., Sérot, T., (2016a) Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International.*, *90*, 154–176.

Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., Sérot, T., (2016b) Mitigation strategies of acrylamide , furans , heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *FRIN.*, *90*, 154–176.

Rega, B., Fournier, N., Guichard, E., (2003) Solid Phase Microextraction (SPME) of Orange Juice Flavor: Odor Representativeness by Direct Gas Chromatography Olfactometry (D-GC-O).

Rega, B., Guerard, A., Delarue, J., Maire, M., Giampaoli, P., (2009) On-line dynamic HS-SPME for monitoring endogenous aroma compounds released during the baking of a model cake. *Food Chemistry.*, *112*(1), 9–17.

Renn, P. T., Sathe, S. K., (1997) Effects of pH, Temperature, and Reactant Molar Ratio on l -Leucine and d -Glucose Maillard Browning Reaction in an Aqueous System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, *45*(10), 3782–3787.

Rizzi, G. P., (2008) The Strecker Degradation of Amino Acids: Newer Avenues for Flavor Formation. *Food Reviews International.*, *24*(4), 416–435.

Robert, F., Vuataz, G., Pollien, P., Saucy, F., Alonso, M. I., Bauwens, I., Imre, B., (2004) Acrylamide Formation from Asparagine under Low-Moisture Maillard Reaction Conditions. 1. Physical and Chemical Aspects in Crystalline Model Systems.

Ronda, F., Gómez, M., Blanco, C. A., Caballero, P. A., (2005) Effects of polyols and nondigestible oligosaccharides on the quality of sugar-free sponge cakes. *Food Chemistry.*, *90*(4), 549–555.

Rufián-Henares, J. A., García-Villanova, B., Guerra-Hernández, E., (2008) Occurrence of furosine and hydroxymethylfurfural as markers of thermal damage in dehydrated vegetables. *European*

Food Research and Technology., 228(2), 249–256.

Saa, D. L. T., Nissen, L., Gianotti, A., (2019) Metabolomic approach to study the impact of flour type and fermentation process on volatile profile of bakery products. *Food Research International.*, 119, 510–516.

Sablani, S. S., Marcotte, M., Baik, O. D., Castaigne, F., (1998) Modeling of Simultaneous Heat and Water Transport in the Baking Process. *LWT - Food Science and Technology.*, 31(3), 201–209.

Salem, A., Rooney, L. W., Johnson, J. A., (1967) Studies of the Carbonyl Compounds Produced by Sugar-Amino Acid Reactions. II. In Bread Systems. *Cereal Chemistry.*, 44, 576–583.

Salim-ur-Rehman, Paterson, A., Piggott, J. R., (2006) Flavour in sourdough breads: a review. *Trends in Food Science & Technology.*, 17(10), 557–566.

Sanders, E. B., Goldsmith, A. I., Seeman, J. I., (2003) A model that distinguishes the pyrolysis of d-glucose, d-fructose, and sucrose from that of cellulose. Application to the understanding of cigarette smoke formation. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis.*, 66(1–2), 29–50.

Santonicola, S., (2016) Occurrence and production of furan in commercial foods. *Italian Journal of Food Science.*, 28(2), 155–177.

Shepherd, I. S., Yoell, R. W., (1976) Cake emulsions. In: Friberg, S. (ed.), *Food Emulsions*. Dekker, M., New York, p. 479.

Shibamoto, T., Bernhard, R. A., (1977) Investigation of Pyrazine Formation Pathways in Glucose-Ammonia Model Systems. *Agricultural and Biological Chemistry.*, 41(1), 143–153.

Shibamoto, T., (2014) Diacetyl: Occurrence, analysis, and toxicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 62(18), 4048–4053.

Smuda, M., Glomb, M. A., (2011) Novel insights into the Maillard catalyzed degradation of maltose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 59(24), 13254–13264.

Srivastava, R., Bousquière, J., Cepeda-Vázquez, M., Roux, S., Bonazzi, C., Rega, B., (2018) Kinetic study of furan and furfural generation during baking of cake models. *Food Chemistry.*, 267, 329–336.

Stadler, R. H., Blank, I., Varga, N., Robert, F., Hau, J., Guy, P. A., Robert, M. C., Riediker, S., (2002) Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature.*, 419(6906), 449–450.

Starowicz, M., Zieliński, H., (2019) How Maillard Reaction Influences Sensorial Properties (Color, Flavor and Texture) of Food Products? *Food Reviews International.*, 1–19.

Stevnebø, A., Sahlström, S., Svihus, B., (2006) Starch structure and degree of starch hydrolysis of small and large starch granules from barley varieties with varying amylose content. *Animal Feed Science and Technology.*, 130(1–2), 23–38.

Sumnu, G., (2001) A review on microwave baking of foods. *International Journal of Food Science & Technology.*, 36(2), 117–127.

Superior, C., Cienti, D. I., Fri, I., Novais, J. A., (2010) Analysis , Distribution , and Dietary Exposure of Glyoxal and Methylglyoxal in Cookies and Their Relationship with Other Heat-Induced Contaminants, 2966–2972.

Takei, Y., (1977) Flavor Components of Sponge Cake and Production of 2,5-Dimethyl- 4-hydroxy-3(2H)-furanone in Several Model Systems. *Agricultural and Biological Chemistry.*, 41(12), 2361–2368.

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Törnqvist, M., (2002) Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 50(17), 4998–5006.

Teng, J., Hu, X., Tao, N., Wang, M., (2018) Impact and inhibitory mechanism of phenolic compounds on the formation of toxic Maillard reaction products in food. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering.*, 5(3), 321.

Thorvaldsson, K., Janestad, H., (1999) A model for simultaneous heat, water and vapour diffusion. *Journal of Food Engineering.*, 40(3), 167–172.

Tressl, R., Wondrak, G. T., Garbe, L. A., Krüger, R. P., Rewicki, D., (1998a) Pentoses and Hexoses as Sources of New Melanoidin-like Maillard Polymers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 46(5), 1765–1776.

Tressl, R., Wondrak, G. T., Krüger, R. P., Rewicki, D., (1998b) New Melanoidin-like Maillard Polymers from 2-Deoxypentoses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 46(1), 104–110.

van Boekel, M. A. J. S., (1996) Statistical aspects of kinetic modeling for food science problems. *J. Food. Sci.*, 61, 477.

van Boekel, M. A. J. S., (2001) Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review. *Nahrung/Food.*, 45(3), 150–159.

van Boekel, M. A. J. S., (2006) Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances.*, 24(2), 230–233.

van Boekel, M. A. J. S., (2008) Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.*, 7(1), 144–158.

Van Boekel, M. A. J. S., (1998) Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry.*, 62(4), 403–414.

Vanin, F. M., Grenier, D., Doursat, C., Flick, D., Trystram, G., Lucas, T., (2017) Water loss and crust formation during bread baking, Part II: Technological insights from a sensitivity analysis of a

numerical model of baking. *Drying Technology.*, 35(12), 1518–1529.

Velíšek, J., (2014) *The chemistry of food*. John Wiley & Sons, Ltd.

Voigt, M., Glomb, M. A., (2009) Reactivity of 1-deoxy-D-erythro-hexo-2,3-diulose; A key intermediate in the maillard chemistry of hexoses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 57(11), 4765–4770.

Weenen, H., Tjan, S. B., (1992) Analysis, Structure, and Reactivity of 3-Deoxyglucosone, pp. 217–231.

Weenen, H., (1998) Reactive intermediates and carbohydrate fragmentation in Maillard chemistry. *Food Chemistry.*, 62(4), 393–401.

Whitfield, F. B., Mottram, D. S., (1992) Volatiles from interactions of maillard reactions and lipids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, 31(1–2), 1–58.

Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K., Delcour, J. A., (2013) Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in Food Science & Technology.*, 30(1), 6–15.

Wnorowski, A., Yaylayan, V. A., (2000) Influence of Pyrolytic and Aqueous-Phase Reactions on the Mechanism of Formation of Maillard Products, (1994), 3549–3554.

Wong, S. Y., Zhou, W., Hua, J., (2006) Robustness analysis of a CFD model to the uncertainties in its physical properties for a bread baking process. *Journal of Food Engineering.*, 77(4), 784–791.

Xu, C. H., Chen, G. S., Xiong, Z. H., Fan, Y. X., Wang, X. C., Liu, Y., (2016) Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.*, 80, 12–29.

Yaylayan, V. A., Mandeville, S., (1994) Stereochemical Control of Maltol Formation in Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 42(3), 771–775.

Yaylayan, V. A., Keyhani, A., (2000) Origin of carbohydrate degradation products in L-alanine/D-[13C]glucose model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 48(6), 2415–2419.

Yaylayan, V. A., (2003) Recent Advances in the Chemistry of Strecker Degradation and Amadori Rearrange- ment: Implications to Aroma and Color Formation. *Food Sci. Technol. Res.*, 9(1), 1–6.

Zanoni, B., Pierucci, S., Peri, C., (1994) Study of the bread baking process — II. Mathematical modelling. *Journal of Food Engineering.*, 23(3), 321–336.

Zehentbauer, G., Grosch, W., (1998) Crust Aroma of Baguettes I. Key Odorants of Baguettes Prepared in Two Different Ways. *Journal of Cereal Science.*, 28(1), 81–92.

Zhang, J., Datta, A. K., (2006) Mathematical modeling of bread baking process. *Journal of Food Engineering.*, 75(1), 78–89.

Zhang, Y., Yang, N., Fray, R. G., Fisk, I., Liu, C., Li, H., Han, Y., (2018) Characterization of volatile aroma compounds after in-vial cooking of foxtail millet porridge with gas chromatography-mass

spectrometry. *Journal of Cereal Science.*, 82, 8–15.

Zhao, C., Dong, Y., Feng, Y., Li, Y., Dong, Y., (2019) Thermal desorption for remediation of contaminated soil: A review. *Chemosphere.*, 221, 841–855.

Zhao, H., Holladay, J. E., Brown, H., Zhang, Z. C., (2007) Metal Chlorides in Ionic Liquid Solvents Convert Sugars to 5-Hydroxymethylfurfural. *Science.*, 316(5831), 1597–1600.

Zhou, M., Robards, K., Glennie-Holmes, M., Helliwell, S., (1999) Analysis of Volatile Compounds and Their Contribution to Flavor in Cereals.

1.

ANNEXES

Annexe 1. Présentation des réactions dans le schéma réactionnel issue de l'état de l'art

Tableau 23. Tableau récapitulatif des réactions présentes dans le schéma réactionnel

Number	Name	Reaction	Reaction with formula
1	Formation of 1,2-enediol from glucose	glucose -> 1,2-enediol	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
2	Formation of glucose from 1,2-enediol	1,2-enediol -> glucose	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
3	Formation of fructose from 1,2-enediol	1,2-enediol -> fructose	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
4	Formation of 1,2-enediol from fructose	fructose -> 1,2-enediol	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
5	Enolisation of fructose to 2,3-enediol in the presence of an acid	fructose -> 2,3-enediol	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
6	Reorganisation of 2,3-enediol to fructose	2,3-enediol -> fructose	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{12}O_6$
7	Formation of 3-deoxyosone from 1,2-enediol	1,2-enediol -> 3-deoxyosone + H ₂ O	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{10}O_5 + H_2O$
8	Formation of 3,4-dideoxyosone from 3-deoxyosone	3-deoxyosone -> 3,4-dideoxyosone + H ₂ O	$C_6H_{10}O_5 = C_6H_{18}O_4 + H_2O$
9	Formation of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) from 3,4-dideoxyosone	3,4-dideoxyosone -> HMF + H ₂ O	$C_6H_8O_4 = C_6H_6O_3 + H_2O$
10	Formation of HMF from fructose	fructose -> HMF + 3H ₂ O	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_6O_3 + 3H_2O$
11	Formation of intermediate (IF) from fructose	fructose -> IF + formaldehyde + 2H ₂ O	$C_6H_{12}O_6 = C_5H_8O_4 + CH_2O + 2H_2O$
12	Formation of furfural from IF	IF -> furfural + 2H ₂ O	$C_5H_8O_4 = C_5H_4O_2 + 2H_2O$
13	Formation of 2-hydroxyacetyl furan (HAF) from 2,3-enediol in the presence of an acid	2,3-enediol -> HAF + 3H ₂ O	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_6O_3 + 3H_2O$

14	Formation of 1-deoxyosone from 2,3-enediol in the presence of an acid	2,3-enediol -> 1-deoxyosone + H2O	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{10}O_5 + H_2O$
15	Formation of 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one (DMDP) from 1-deoxyosone in the presence of an acid	1-deoxyosone -> DMDP + H2O	$C_6H_{10}O_5 = C_6H_8O_4 + H_2O$
16	Formation of formic acid from 3-deoxyosone	3-deoxyosone + H2O -> formic acid + 2-deoxyarabinose	$C_6H_{10}O_5 + H_2O = CO_2H_2 + C_5O_4H_{10}$
17	Formation of acetic acid from 1-deoxyosone by alpha-dicarbonyl cleavage in the presence of a base	1-deoxyosone -> acetic acid + C4H6O3	$C_6H_{10}O_5 = C_2H_4O_2 + C_4H_6O_3$
18	Formation of glyceraldehyde and methylglyoxal from 1-deoxyosone by alpha-dicarbonyl cleavage	1-deoxyosone -> glyceraldehyde + methylglyoxal	$C_6H_{10}O_5 = C_3H_6O_3 + C_3H_4O_2$
19	Formation of diacetyl from 1-deoxyosone	1-deoxyosone -> diacetyl + CH4O3	$C_6H_{10}O_5 = C_4H_6O_2 + CH_4O_3$
20	Formation of furfural from 3-deoxyosone	3-deoxyosone -> furfural + formaldehyde + 2H2O	$C_6H_{10}O_5 = C_5H_4O_2 + CH_2O + 2H_2O$
21	Formation of 1,2-eneaminol from glucose and leucine	glucose + leucine -> 1,2-eneaminol + H2O	$C_6H_{12}O_6 + R' - NH_2 = R' - C_6H_{12}NO_5 + H_2O$
22	Formation of 3-deoxyosone from 1,2-eneaminol	1,2-eneaminol -> 3-deoxyosone + leucine	$R' - C_6H_{12}NO_5 = C_6H_{10}O_5 + R' - NH_2$
23	Formation of 1-deoxyosone from 2,3-eneaminol	2,3-eneaminol -> 1-deoxyosone + leucine	$R' - C_6H_{12}NO_5 = C_6H_{10}O_5 + R' - NH_2$
24	Formation of glyoxal from amadori product	Amadori -> glyoxal + C4H8O3 + H2O	$R' - C_6H_{12}NO_5 = C_2H_2O_2 + C_4H_8O_3 + R' - NH_2$
25	Formation of glucosone from amadori product via oxidation	Amadori + H2O -> glucosone + leucine + H2	$R' - C_6H_{12}NO_5 + H_2O = C_6H_{10}O_6 + R' - NH_2 + H_2$

26	Formation of glyoxal from glucosone	glucosone -> glyoxal + C4H8O4	$C_6H_{10}O_6 = C_2H_2O_2 + C_4H_8O_4$
27	Formation of 2-formyl-5-hydroxymethylpyrrole (FHMP) from 3,4-dideoxyosone and leucine	3,4-dideoxyosone + leucine -> FHMP + 2H2O	$C_6H_8O_4 + R' - NH_2 = R' - C_6H_6NO_2 + 2H_2O$
28	Formation of furan from 1-deoxyosone	1-deoxyosone -> furan + C2O+ 3H2O	$C_6H_{10}O_5 = C_4H_4O + C_2O + 3H_2O$
29	Formation of 3-hydroxy-5-hydroxymethyl-2-methyl-(5H)-furan-4-one (HHMMF) from 1-deoxyosone	1-deoxyosone -> HHMMF + H2O	$C_6H_{10}O_5 = C_6H_8O_4 + H_2O$
30	Formation of formaldehyde and nonfuraneol from HHMMF	HHMMF -> formaldehyde + norfuraneol	$C_6H_8O_4 = CH_2O + C_5H_6O_3$
31	Formation of acetylformoin from 1-deoxyosone	1-deoxyosone -> acetylformoin + H2O	$C_6H_{10}O_5 = C_6H_8O_4 + H_2O$
32	Formation of pyrrolinone from acetylformoin and leucine	acetylformoin + leucine -> pyrrolinone + H2O	$C_6H_8O_4 + R' - NH_2 = R' - C_6H_8NO_3 + H_2O$
33	Formation of furfuryl alcohol from furfural by reduction	furfural + H2 -> furfuryl alcohol	$C_5H_4O_2 + H_2 = C_5H_6O_2$
34	Formation of furfural from furfuryl alcohol by oxidation	furfuryl alcohol -> furfural + H2	$C_5H_6O_2 = C_5H_4O_2 + H_2$
35	Formation of 5-methylfurfural from HMF by degradation	HMF -> 5-methylfurfural + O	$C_6H_6O_3 = C_6H_6O_2 + O$
36	Formation of Strecker aldehyde and 1D-aminoketone from 1-deoxyosone and leucine	1-deoxyosone + leucine -> 3-methylbutanal + 1D-aminoketone + CO2	$C_6H_{10}O_5 + R - NH_2 - C_2H_2O_2 = C_5H_{10}O + 1D\text{-aminoketone} + CO_2$
37	Formation of Strecker aldehyde and 3D-aminoketone from 3-deoxyosone and leucine	3-deoxyosone+ leucine -> 3-methylbutanal + 3D-aminoketone + CO2	$C_6H_{10}O_5 + R - NH_2 - C_2H_2O_2 = C_5H_{10}O + 3D\text{-aminoketone} + CO_2$
38	Formation of Strecker aldehyde and GO-aminoketone from glyoxal and leucine	glyoxal + leucine -> 3-methylbutanal + GO-aminoketone + CO2	$C_2H_2O_2 + R - NH_2 - C_2H_2O_2 = C_5H_{10}O + C_2NOH_5 + CO_2$

39	Formation of Strecker aldehyde and MGO-aminoketone from methylglyoxal and leucine	methylglyoxal + leucine -> 3-methylbutanal + MGO-aminoketone + CO ₂	C ₃ H ₄ O ₂ + R - NH ₂ - C ₂ H ₂ O ₂ = C ₅ H ₁₀ O + C ₃ NOH ₇ + CO ₂
40	Formation of Strecker aldehyde and DA-aminoketone from diacetyl and leucine	diacetyl + leucine -> 3-methylbutanal + DA-aminoketone + CO ₂	C ₄ H ₆ O ₂ + R - NH ₂ - C ₂ H ₂ O ₂ = C ₅ H ₁₀ O + C ₄ NOH ₉ + CO ₂
41	Formation of Strecker aldehyde and GCO-aminoketone from glucosone and leucine	glucosone+ leucine -> 3-methylbutanal + GCO-aminoketone + CO ₂	C ₆ H ₁₀ O ₆ + R - NH ₂ - C ₂ H ₂ O ₂ = C ₅ H ₁₀ O + GCO-aminoketone + CO ₂
42	Formation of pyrazine from GO-aminoketone	2 GO-aminoketone-> 2H ₂ O + pyrazine +2H	2 C ₂ NOH ₅ = 2H ₂ O + C ₄ H ₄ N ₂ +2H
43	Formation of 2-methylpyrazine from GO-aminoketone and MGO-aminoketone	GO-aminoketone + MGO-aminoketone -> 2H ₂ O + 2-methylpyrazine +2H	C ₂ NOH ₅ + C ₃ NOH ₇ = 2H ₂ O + C ₅ H ₆ N ₂ +2H
44	Formation of 2,5-dimethylpyrazine from MGO-aminoketone	2 MGO-aminoketone-> 2H ₂ O + 2,5-dimethylpyrazin +2H	2 C ₃ NOH ₇ = 2H ₂ O + C ₆ H ₈ N ₂ +2H
45	Formation of 2,6-dimethylpyrazine from MGO-aminoketone	2 MGO-aminoketone-> 2H ₂ O + 2,6-dimethylpyrazin +2H	2 C ₃ NOH ₇ = 2H ₂ O + C ₆ H ₈ N ₂ +2H
46	Formation of brown polymers from HMF	HMF -> brown polymers	C ₆ H ₆ O ₃ -> BP
47	Formation of brown polymers from furfural	furfural -> brown polymers	C ₅ H ₄ O ₂ -> BP
48	Formation of brown polymers from 5-methylfurfural	5-methylfurfural -> brown polymers	C ₆ H ₆ O ₂ -> BP
49	Formation of brown polymers from furfuryl alcohol	furfuryl alcohol -> brown polymers	C ₅ H ₆ O ₂ -> BP
50	Formation of brown polymers from acetic acid	acetic acid -> brown polymers	C ₂ H ₄ O ₂ -> BP
51	Formation of hydroxyacetone and glyceric acid from 2,3-enediol	2,3-enediol -> hydroxyacetone + glyceric acid	C ₆ H ₁₂ O ₆ = C ₃ H ₆ O ₂ + C ₃ H ₆ O ₄

52	Formation of 2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one (HMCP) from hydroxyacetone	2hydroxyacetone -> HMCP +2H2O	2C3H6O2 = C6H8O2 +2H2O
53	Formation of melanoidins from pyrazine	pyrazine -> melanoidins	C4H4N2 -> M
54	Formation of melanoidins from 2-methylpyrazine	2-methylpyrazine -> melanoidins	C5H6N2 -> M
55	Formation of melanoidins from 2,5-dimethylpyrazine	2,5-dimethylpyrazine -> melanoidins	C6H8N2 -> M
56	Formation of melanoidins from 2,6-dimethylpyrazine	2,6-dimethylpyrazine -> melanoidins	C6H8N2 -> M
57	Formation of melanoidins from diacetyl	diacetyl + leucine -> melanoidins	C4H6O2 + R' - NH2 -> M
58	Formation of melanoidins from glucosone	glucosone + leucine -> melanoidins	C6H10O6 + R' - NH2 -> M
59	Formation of brown polymers from 1-deoxyosone	1-deoxyosone -> brown polymers	C6H10O5 -> BP
60	Formation of furfural from fructose	fructose -> furfural + formaldehyde + 3H2O	C6H12O6 = C5H4O2 + CH2O + 3H2O
61	Formation of brown polymers from glyoxal	glyoxal -> brown polymers	C2H2O2 -> BP
62	Formation of brown polymers from methylglyoxal	methylglyoxal -> brown polymers	C3H4O2 -> BP
63	Formation of brown polymers from diacetyl	diacetyl -> brown polymers	C4H6O2 -> BP
64	Formation of brown polymers from glucosone	glucosone -> brown polymers	C6H10O6 -> BP
65	Formation of glyoxal and diacetyl from glucose	glucose -> glyoxal + diacetyl + 2H2O	C6H10O5 = C2H2O2 + C4H6O2 +2H2O
66	Formation of glucosone from oxidation of glucose	glucose -> glucosone +H2	C6H12O6 = C6H10O6 +H2
67	Formation of 2,3-eneaminol from fructose and leucine	fructose + leucine -> 2,3-eneaminol + H2O	C6H12O6 + R' - NH2 = R' - C6H12NO5 + H2O

68	Formation of 2,3-eneaminol from Amadori product	Amadori -> 2,3-eneaminol	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
69	Formation of Amadori product from 2,3-eneaminol	2,3-eneaminol -> Amadori	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
70	Formation of intermediate (IHMF) from fructose	fructose -> IHMF + H ₂ O	$C_6H_{12}O_6 = C_6H_{10}O_5 + H_2O$
71	Formation of HMF from IHMF	IHMF -> HMF + 2H ₂ O	$C_6H_{10}O_5 = C_6H_6O_3 + 2H_2O$
72	Formation of 1,2-eneaminol from Amadori product	Amadori -> 1,2-eneaminol	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
73	Formation of brown polymers from 3,4-dideoxyosone	3,4-dideoxyosone -> brown polymers	$C_6H_{10}O_6 \rightarrow BP$
74	Formation of Amadori product from 1,2-eneaminol	1,2-eneaminol -> Amadori	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
75	Formation of Heyns product from 2,3-eneaminol	2,3-eneaminol -> Heyns	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
76	Formation of 2,3-eneaminol from Heyns product	Heyns -> 2,3-eneaminol	$R' - C_6H_{12}NO_5 = R' - C_6H_{12}NO_5$
77	Formation of Strecker aldehyde and 34D-aminoketone from 3,4-dideoxyosone and leucine	3,4-dideoxyosone + leucine -> 3-methylbutanal + 34D-aminoketone + CO ₂	$C_6H_8O_4 + R - NH_2 - C_2H_2O_2 = C_5H_{10}O + 34D-aminoketone + CO_2$
78	Formation of 2,3-dimethylpyrazine from GO-aminoketone and DA-aminoketone	GO-aminoketone + DA-aminoketone -> 2H ₂ O + 2,3-dimethylpyrazine + 2H	$C_2NOH_5 + C_4NOH_9 = 2H_2O + C_6H_8N_2 + 2H$
79	Formation of tetramethylpyrazine from DA-aminoketone	2 DA-aminoketone -> 2H ₂ O + tetramethylpyrazin + 2H	$2C_4NOH_9 = 2H_2O + C_8H_{12}N_2 + 2H$
80	Formation of 2,3,5-trimethylpyrazine from DA-aminoketone and MGO-aminoketone	DA-aminoketone + MGO-aminoketone -> 2H ₂ O + 2,3,5-trimethylpyrazine + 2H	$C_4NOH_9 + C_3NOH_7 = 2H_2O + C_7H_{10}N_2 + 2H$
81	Formation of brown polymers from 2-hydroxyacetylfuran	2-hydroxyacetylfuran -> brown polymers	$C_6H_6O_3 \rightarrow BP$

82	Formation of brown polymers from HMCP	HMCP -> brown polymers	C ₆ H ₈ O ₂ -> BP
83	Formation of brown polymers from formic acid	formic acid -> brown polymers	CO ₂ H ₂ -> BP
84	Formation of brown polymers from DMDP	DMDP -> brown polymers	C ₆ H ₈ O ₄ -> BP
85	Formation of brown polymers from norfuraneol	norfuraneol -> brown polymers	C ₅ H ₆ O ₃ -> BP
86	Formation of brown polymers from furan	furan -> brown polymers	C ₄ H ₄ O -> BP
87	Formation of brown polymers from 3-deoxyosone	3-deoxyosone-> brown polymers	C ₆ H ₁₀ O ₅ -> BP
88	Formation of melanoidins from 3-deoxyosone	3-deoxyosone + leucine -> melanoidins	C ₆ H ₁₀ O ₅ + R' - NH ₂ -> M
89	Formation of melanoidins from 3,4-dideoxyosone	3,4-dideoxyosone + leucine -> melanoidins	C ₆ H ₁₈ O ₄ + R' - NH ₂ -> M
90	Formation of melanoidins from 1-deoxyosone	1-deoxyosone + leucine -> melanoidins	C ₆ H ₁₀ O ₅ + R' - NH ₂ -> M
91	Formation of melanoidins from glyoxal	glyoxal + leucine -> melanoidins	C ₂ H ₂ O ₂ + R' - NH ₂ -> M
92	Formation of melanoidins from methylglyoxal	methylglyoxal + leucine -> melanoidins	C ₃ H ₄ O ₂ + R' - NH ₂ -> M
93	Formation of melanoidins from 3-methylbutanal	3-methylbutanal + leucine -> melanoidins	C ₅ H ₁₀ O + R' - NH ₂ -> M
94	Formation of melanoidins from FHMP	FHMP -> melanoidins	R' - C ₆ H ₆ NO ₂ -> M
95	Formation of melanoidins from pyrrolinone	pyrrolinone -> melanoidins	R' - C ₆ H ₈ NO ₃ -> M
96	Formation of melanoidins from tetramethylpyrazine	tetramethylpyrazine -> melanoidins	C ₈ H ₁₂ N ₂ -> M
97	Formation of melanoidins from 2,3,5-trimethylpyrazine	2,3,5-trimethylpyrazine -> melanoidins	C ₇ H ₁₀ N ₂ -> M
98	Formation of melanoidins from 2,3-dimethylpyrazine	2,3-dimethylpyrazine -> melanoidins	C ₆ H ₈ N ₂ -> M

Annexe 2. Coefficients de transfert par convection et rayonnement et température équivalente de rayonnement mesurés dans les différentes zones du four pour chaque condition de cuisson

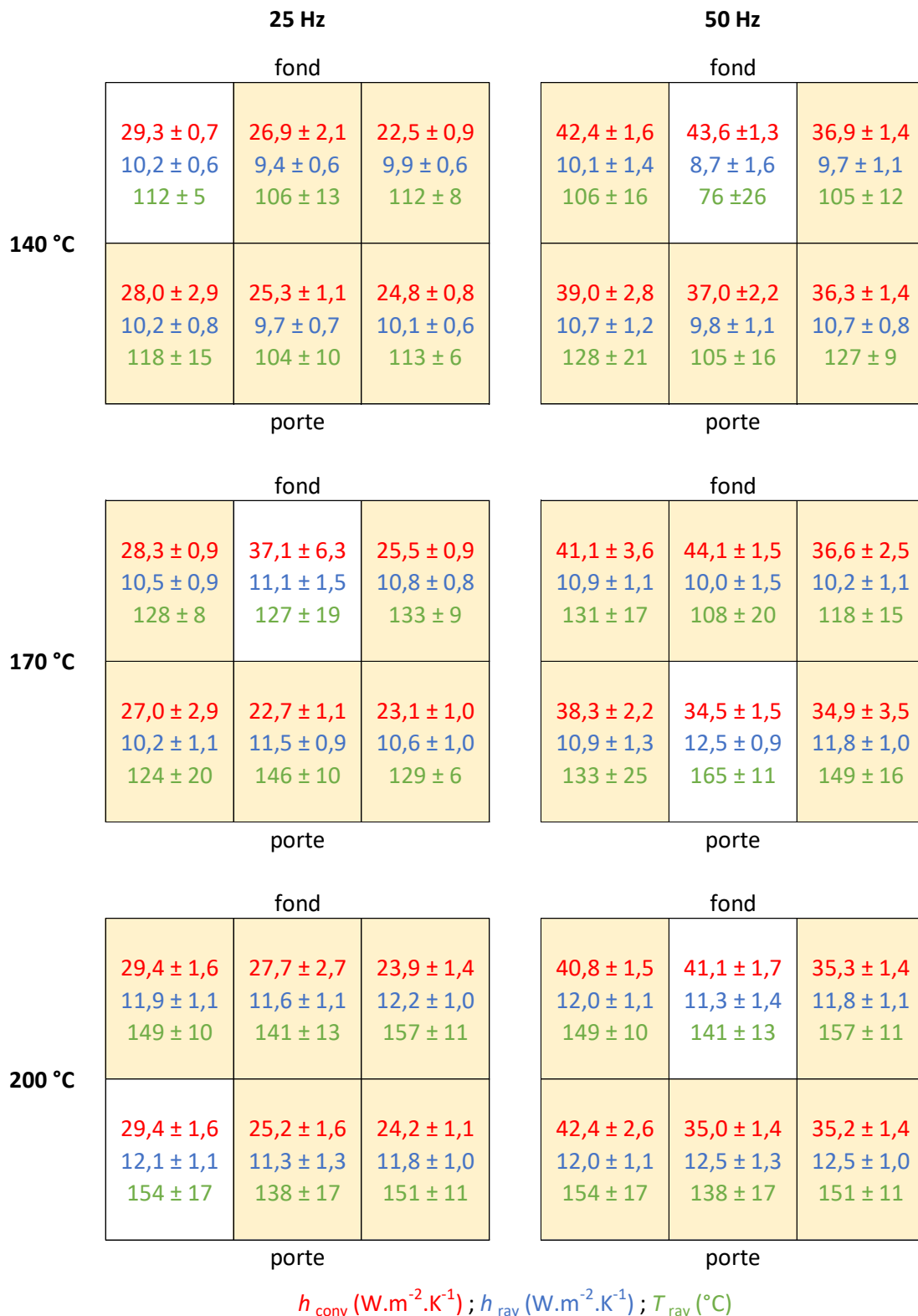


Figure 80. Les coefficients de transfert convectif (h_{conv}) et par rayonnement (h_{ray}) et la température de rayonnement (T_{ray}) calculés pour toutes les conditions opératoires. Les zones en jaune sont considérées homogènes et utilisées pour les cuissons.

Annexe 3. Etalonnage des thermocouples

La température mesurée par les thermocouples servant à mesurer les températures dans le four et les génoises doit être comparée à une valeur de référence. Ainsi, leurs valeurs pourront être corrigées si besoin. Pour cela, 5 températures ont été choisies pour couvrir la totalité du domaine expérimental. La régression entre les températures mesurées par les thermocouples et la température de la sonde de référence qui est considérée « vraie » est linéaire (Tableau 24). Le calcul des pentes donne un résultat égal à 1 pour tous les thermocouples ce qui indique un décalage constant entre la température mesurée et la température vraie sur toute la plage étudiée. L'ordonnée à l'origine révèle la valeur de cet écart. Par conséquent, les températures mesurées par les thermocouples four, 1, 2 et 3 devront être additionnées respectivement de 0,45°C ; 0,36°C ; 0,41°C et 0,30°C afin d'obtenir la vraie valeur de température.

Tableau 24. Moyennes et écart-types des températures mesurées par chaque thermocouple comparées à la valeur de la sonde de référence (T vraie)

T vraie (°C)	T four (°C)	T 1 (°C)	T 2 (°C)	T 3 (°C)
30.9	30.5±0.02	30.4±0.02	30.4±0.02	30.4±0.02
50.2	49.9±0.03	49.7±0.02	49.8±0.01	49.6±0.01
99.8	99.5±0.03	99.1±0.01	99.3±0.01	98.9±0.01
149.3	149.1±0.01	148.4±0.01	148.7±0.02	148.1±0.02
198.9	198.8±0.02	197.9±0.02	198.3±0.01	197.4±0.02
248.6	248.5±0.01	247.3±0.01	247.8±0.01	246.8±0.00
Pente	1.00	1.00	1.00	0.99
Ordonnée à l'origine	-0.45	-0.36	-0.41	-0.30

Annexe 4. Détermination de la valeur L^*_{seuil} pour le calcul des taux de brunissement

Afin de traiter les photos obtenues lors de la détermination de la couleur par analyse d'image, il faut définir un niveau de seuil sur le paramètre L^* permettant la discrimination des génoises. Il s'agit d'une valeur arbitraire en dessous de laquelle tous les pixels seront considérés comme « noirs » et au-dessus de laquelle tous seront « blancs ». Le principe étant *in fine* d'obtenir par le calcul un taux de brunissement conforme à celui que l'on peut visuellement observer. Dans un premier temps il faut sélectionner quelques photos pour lesquelles le taux de brunissement est jugé visuellement entre 0% (génoises blanches) et 100% (génoises les plus foncées/ brunes) (Figure 81).

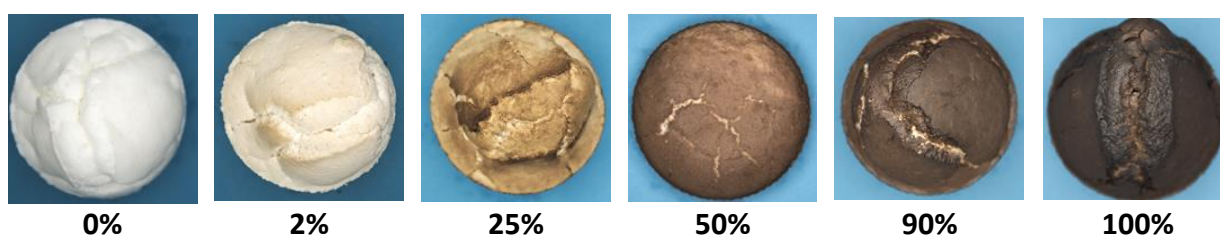


Figure 81. Sélection de génoises avec un taux de brunissement attribué visuellement

A l'aide du fichier Excel® obtenu à l'issue du traitement d'image, qui donne le nombre de pixels correspondant à chaque valeur de L^* , plusieurs taux de brunissement ($TB\%$) sont calculés pour des valeurs de L^*_{seuil} comprises entre 50 et 90 (Tableau 25).

$$TB\% = \frac{\text{Nb de pixels pour } L^* < L^*_{seuil}}{\text{Nb total de pixels}} \times 100$$

Tableau 25. Comparaison entre le taux de brunissement visuellement attribué et celui calculé pour plusieurs valeurs de L^*_{seuil}

Taux de brunissement attribué visuellement (%)	Taux de brunissement calculés pour différents L^*_{seuil} (%)						
	50	60	70	75	80	85	90
0	0	0	0	0	0	2	22
2	0	0	0	0	0	5	24
25	0	3	11	22	41	71	94
50	1	12	41	61	87	98	99
90	1	25	82	93	97	99	99
100	7	72	95	98	100	100	100

La valeur de L^*_{seuil} retenue sera celle permettant d'obtenir les valeurs calculées les plus proches des valeurs visuellement attribuées. Ainsi la valeur choisie est 75 et sera utilisée pour calculer le taux de brunissement des génoises pour toutes les photos prises.

Annexe 5. Détermination de la répétabilité d'extraction du glucose du broyat lyophilisé

La répétabilité du protocole d'extraction a été évaluée en faisant l'extraction 8 fois sur un même broyat lyophilisé. La concentration en fructose et en glucose obtenue est répétable avec un coefficient de variation de 7.5% et 7.2% respectivement (Tableau 26). Il est possible d'en déduire que le protocole d'extraction des sucres est répétable.

Tableau 26. Moyenne et écart-type de la concentration en fructose et en glucose extrait 8 fois à partir du même broyat lyophilisé de génoises modèles

Sucre	Moyenne (n = 8)	Ecart-type	Coefficient de variation (%)
Fructose	0.20	0.02	7.5
Glucose	9.85	0.71	7.2

Annexe 6. Détermination du rendement d'extraction du glucose du broyat lyophilisé

La concentration théorique du glucose dans la pâte crue est calculée en prenant en compte la quantité de glucose initialement introduite ($m_{glucose}$), la masse molaire du glucose ($M_{glucose}$) et la TMS_{lyoph} (Équation 43).

$$C_{glucose\ pâte\ théorique} (mol. g_{MS}^{-1}) = \frac{m_{glucose} \times 1000}{m_{pâte} \times TMS_{lyoph} \times M_{glucose}}$$

Équation 43. Calcul de la concentration théorique en glucose de la pâte crue

Le rendement d'extraction du glucose des broyats lyophilisés est calculé par l'Équation 44.

$$Rendement (\%) = \frac{C_{glucose} \times 100}{C_{glucose\ pâte\ théorique}}$$

Équation 44. Calcul du rendement d'extraction du glucose à partir des broyats lyophilisés

Les résultats sont regroupés dans le Tableau 27. Le rendement d'extraction varie de 68 à 103% sans dégager de lien particulier avec la condition de cuisson ni la formulation.

La variabilité du rendement d'extraction est très probablement due à la variabilité présentée par le détecteur CAD. En effet, il s'agit d'un détecteur universel pratique à détecter de nombreuses molécules qui ne sont pas chromophores (traditionnellement détectées par DAD) ou difficilement séparables en termes de structure chimique typiquement le glucose et le fructose car ils ont la même masse molaire (sinon MS serait utilisée).

De plus, chaque rendement d'extraction a été évalué sur des pâtes différentes (car une préparation de pâte par cuisson). Pour avoir une claire vision de la provenance de l'écart si important entre les rendements d'extraction, il faudrait évaluer le rendement d'extraction sur une seule préparation de la pâte en utilisant un étalon interne pour se passer de problème de variabilité du détecteur.

Dans le cadre de la thèse, les extractions du glucose et du fructose ont été considérées totales.

Tableau 27. Concentrations théorique et expérimentale en glucose de pâtes lyophilisées G et G+L et rendements d'extraction calculés

	Formulation					
	<i>G</i>			<i>G+L</i>		
	concentrations (mmol.g _{MS} ⁻¹)		Rdt (%)	concentrations (mmol.g _{MS} ⁻¹)		Rdt(%)
	Théo.	Exp.		Théo.	Exp.	
140°C 25 Hz	2.09	2.00	96	2.16	1.80	83
140°C 50 Hz	2.09	1.85	89	2.17	1.71	79
170°C 25 Hz	2.19	2.02	92	2.15	1.77	82
170°C 25 Hz	2.15	1.93	90	2.18	1.64	75
170°C 25 Hz	2.18	1.77	81	2.19	2.04	93
170°C 50 Hz	2.11	1.84	87	2.16	2.22	103
170°C 50 Hz	2.16	1.97	91	2.16	1.67	78
170°C 50 Hz	2.14	1.45	68	2.16	1.67	78
200°C 25 Hz	2.18	1.97	90	2.17	1.87	86
200°C 50 Hz	2.18	1.97	90	2.21	1.83	83

Annexe 7. Impact de la température de conservation des extraits préparés pour le dosage du glucose et du fructose et utilisés ensuite pour le dosage du 5-HMF et du furfural

Le fait de conserver les extraits pendant 3 semaines à -20°C ne dégrade pas leur qualité en termes de quantités de 5-HMF et de furfural (Tableau 28). Seulement le furfural s'est dégradé au bout de 3 semaines à -80°C. Pendant la campagne d'analyse, les analyses des composés furaniques ont été effectués après l'extraction, l'analyse de sucres et la conservation à -20°C.

Tableau 28. Concentrations de 5-HMF et de furfural analysés tout de suite après l'extraction (référence) et analysés après 3 semaines à -20°C et -80°C (n=9)

	Concentrations après 3 semaines (mg.L ⁻¹)			Différence significative	
	Référence (n = 9)	-20°C (n = 9)	-80°C (n = 9)	entre ref. / -20°C	entre ref. / -80°C
5-HMF	11.6 ± 0.9	10.9 ± 0.7	11.3 ± 0.8	Non	Non
Furfural	0.70 ± 0.1	0.71 ± 0.1	0.31 ± 0.0	Non	Oui

Annexe 8. Détermination de la répétabilité d'extraction du 5-HMF et du furfural

La répétabilité du protocole d'extraction a été évaluée en faisant l'extraction 8 fois sur un même broyat lyophilisé. La concentration en 5-HMF et en furfural obtenue est répétable avec un coefficient de variation de 0.3% respectivement (Tableau 29). Il est possible d'en déduire que le protocole d'extraction des composés furaniques est répétable.

Tableau 29. Moyenne et écart-type de la concentration en 5-HMF et en furfural extrait 8 fois à partir du même broyat lyophilisé de génoises modèles

	Concentration ($\mu\text{mol.g}_{\text{DM}}^{-1}$)		Coefficient de variation (%)
	Moyenne (n=8)	Ecart-type	
5-HMF	38.79	0.12	0.3
Furfural	3.42	0.01	0.3

Annexe 9. Optimisation du temps d'extraction de la leucine

Afin d'optimiser le temps d'extraction de la leucine depuis le broyat lyophilisé lors de l'extraction sous agitation, 3 temps différents ont été testés (1 min 30 s (n=3) ; 30 min (n=3) et 1440 min (n=3)) en utilisant une électrode contenant un électrolyte spécifique aux protéines et acides aminés (KCl 3 M avec glycérol) sensé éviter les problèmes d'encrassement de l'électrode.

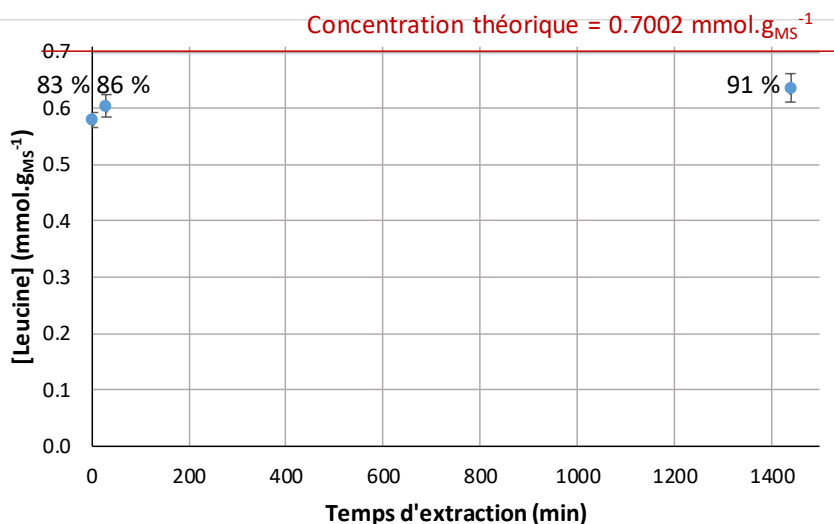


Figure 82. Concentration en leucine des pâtes lyophilisées et rendement en fonction du temps d'extraction

Le temps d'extraction de 1 min 30 s présente la variabilité la moins importante parmi les 3 temps d'extraction testés. Plus le temps d'extraction augmente, plus l'écart-type augmente (Figure 82). Le fait que la totalité de leucine ne soit pas extraite à partir de la pâte lyophilisée même au bout 24 h est inattendu sachant que l'extraction est totale à partir de la pâte crue. L'étape de lyophilisation peut être un obstacle pour l'extraction. La réhydratation pourrait être très lente.

Afin de comprendre pourquoi les rendements sont moins bons que sur la pâte crue lyophilisée, les essais ont été effectués en supposant 2 sources d'erreurs potentielles : une dégradation du formaldéhyde (formation importante d'acide (présence de dépôts) u problème avec l'électrolyte spécifique. Une autre solution de formaldéhyde a été préparée (bouteille 2) et les essais ont été effectués avec 1 min 30 s de temps d'extraction.

Tableau 30. Influence de l'électrolyte et de la préparation de la solution du formaldéhyde sur le rendement d'extraction

Electrolyte	KCl 3M ds glycérol		KCl 3M classique
formaldéhyde	bouteille 1	bouteille 2	
concentration moyenne (mmol.g_M⁻¹) (n=3)	0.6597	0.6465	0.7149
ecart-type (mmol.g_M⁻¹)	0.0375	0.0368	0.0227
CV (%)	5.7	5.7	3.2
rendement (%)	94	92	102

D'après les résultats obtenus (Tableau 30), il est judicieux de conclure que, contrairement à ce qu'on pourrait croire, l'électrolyte classique présente un meilleur rendement que l'électrolyte spécifique et que le vieillissement du formaldéhyde n'a pas d'impact significatif sur le dosage. Pour la suite, l'électrolyte classique est utilisé pour la titration avec un temps d'extraction maintenu à 1min30s.

Annexe 10. Optimisation du volume de formaldéhyde en excès

Lors de la réaction de Sorensen, le formaldéhyde doit être en excès par rapport aux groupements aminés. Le volume du formaldéhyde nécessaire a été optimisé en testant 4 volumes différents (5 mL (n= 3) ; 10 mL (n=4) ; 13 mL (n=8) et 15 mL (n=3)). Les mesures sont réalisées avec de la pâte crue (0.1 g soit une quantité de leucine de 0.0305 mmol). La concentration théorique en leucine dans la pâte crue est de 0.3049 mmol/g pâte crue⁻¹.

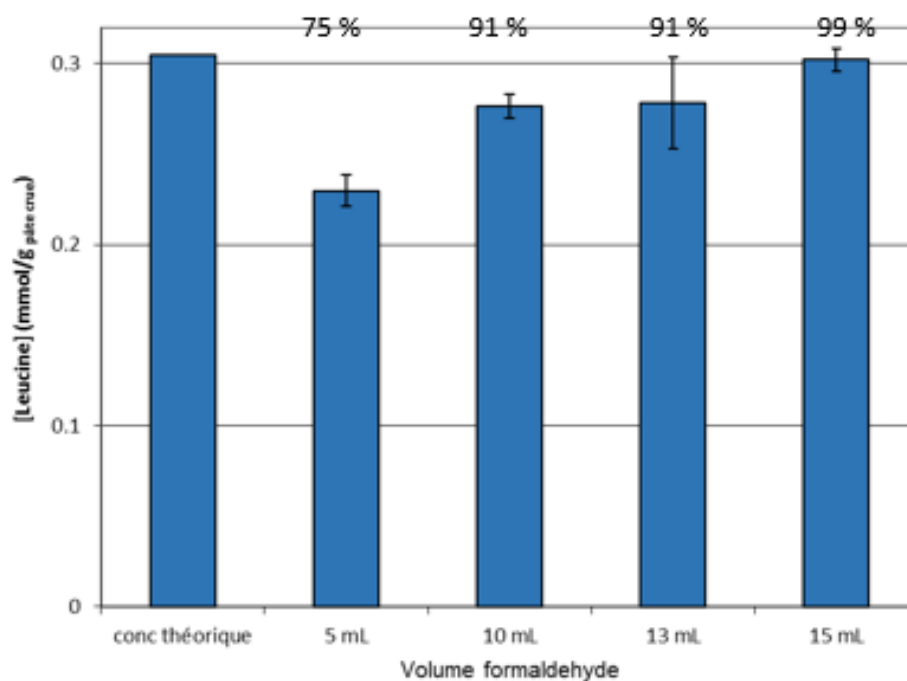


Figure 83. Concentrations en leucine $mmol.g_{p\grave{a}te\ crue}^{-1}$ en fonction du volume de formaldéhyde utilisé et leurs rendements (en haut des barres)

Le rendement est de 99% pour 15 mL avec la variabilité la moins importante de mesures de concentration de la leucine dosées. Donc, le volume de 15 mL a été choisi (Figure 83).

Annexe 11. Étude de la répétabilité de la gamme d'étalonnage de la leucine

Tous les points de la gamme ont répétés. Étant donné les coefficients de variation très faibles, la gamme d'étalonnage a été considérée comme répétable (Tableau 29).

Tableau 31. Répétabilité sur les 6 niveaux de gamme de la leucine

$C_{leucine}$ ($mmol.g^{-1}$)	V_{NaOH}		
	Moyenne ($mL.g^{-1}$)	Écart-type ($mL.g^{-1}$)	CV (%)
0,0039 **	0,8904	0,10	11,5
0,0080 *	1,54	0,12	7,7
0,0154 *	2,9532	0,04	1,5
0,0232 *	4,3486	0,10	2,2
0,0307 *	5,7451	0,08	1,4
0,0382 ***	6,99	0,18	2,5

* $n=4$; ** $n=6$; *** $n=9$

10	0	-1	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	-1	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	-1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	-1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65	0	0	-1	0	0	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
57	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
59	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	1
73	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
88	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	1
89	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	1
90	0	-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	1

Titre : Analyse et modélisation de la réactivité au cours de la cuisson d'un produit modèle mimétique d'un produit céréalier type génoise

Mots clés : réaction de Maillard, caramélisation, étude cinétique, glucose, leucine, développement analytique

Dans un contexte de mise en place d'outils pour contrôler la formation de composés néoformés, à impact positif ou négatif, lors de la transformation des produits alimentaires, ce travail de thèse avait pour objectif de comprendre et de décrire les réactions de Maillard et de caramélisation au cours de la cuisson d'un produit modèle et de proposer une approche de modélisation pour la prédiction des cinétiques couplées aux transferts de chaleur et de matière. Un produit modèle structurellement mimétique d'une génoise, mais non réactif, était utilisé. Ainsi, il a été possible d'induire des réactions de manière spécifique en ajoutant le glucose seul pour la formule *G* ou avec la leucine pour la formule *G+L*. Le développement de dosages quantitatifs pour vingt marqueurs réactionnels (précurseurs, intermédiaires et produits) a été réalisé permettant d'acquérir les données cinétiques. L'effet accélérateur de la température et l'absence d'effet du niveau de convection sur la formation et la dégradation de la plupart des marqueurs réactionnels

ont pu être quantifiés par les données cinétiques. L'ajout du précurseur leucine a activé les voies réactionnelles de Maillard et de dégradation de Strecker et l'effet catalytique de la leucine a pu être souligné et mesuré par rapport aux voies de caramélisation présentes exclusivement dans le modèle *G*. Grâce aux données expérimentales acquises, un modèle de prédiction de température et de teneur en eau dans la génoise modèle a été proposé et puis couplé au modèle cinétique. L'identification simultanée d'un grand nombre de paramètres, sur une plage de valeurs très large est à poursuivre. Deux preuves de concepts sont néanmoins présentées sur le modèle de caramélisation (modèle *G*), l'une sur la totalité des marqueurs pour une condition de cuisson, et l'autre sur la dégradation du précurseur glucose, pour la totalité des conditions de cuisson. Elles sont encourageantes pour la poursuite des travaux de modélisation.

Title : Analysis and modelling of the reactivity during baking of a model product mimetic of a sponge-cake type cereal product

Keywords : Maillard reaction, caramelization, kinetic study, glucose, leucine, analytical development

In the context of developing tools to control the formation, during food processing, of newly-formed compounds having positive or negative impact on food quality and safety, this work aimed to understand and to describe the Maillard reaction and caramelization during the baking of a model product and to propose a modelling approach for predicting kinetics coupled with heat and mass transfers. An inert model product structurally imitative of a sponge cake was used. Thus, it was possible to specifically induce reactions by adding glucose alone for the *G* formula and with leucine for the *G+L* formula. The development of quantitative methods for twenty reaction markers (precursors, intermediates and products) was carried out to be able to acquire the kinetic data. The accelerating effect of the temperature and the absence of effect of the level of convection on the

formation and the degradation of most of the markers were highlighted and quantified by kinetic results. The addition of leucine activated the Maillard reaction pathways including the Strecker degradation and the catalytic effect of leucine could be observed relatively to the caramelization routes exclusively present in the reaction model (*G*). Thanks to the experimental data acquired, a model of prediction of temperature and moisture content was developed, and then coupled to the kinetic model. The simultaneous identification of a large number of parameters over a wide range of values need to be pursued. However, two proofs of concept could be conducted on the caramelization model (*G* formula), one on all the markers for a single baking condition, and the other on glucose degradation for all baking conditions. They are encouraging for further modeling work.

