



La réaction de Maillard : cent ans de découvertes scientifiques sur la chimie des aliments et la santé



Frédéric J Tessier*, Philippe Jacolot et Céline Niquet-Léridon

*Enseignant Chercheur en Chimie Analytique et Nutrition (HDR), Unité EGEAL, Institut Polytechnique LaSalle Beauvais.

La réaction de Maillard est un sujet de recherche qui connaît actuellement un regain d'intérêt. Cette réaction qui a lieu entre les sucres et les protéines a été décrite pour la première fois, il y a tout juste 100 ans, par un scientifique français plus célèbre à l'étranger que dans son pays : Louis Camille Maillard. C'est à l'occasion de ce centenaire qu'un symposium international a récemment réuni plus de 300 spécialistes du domaine, à Nancy.

L'étude de la réaction de Maillard, et des « composés néoformés » que cette réaction génère, passionne autant les spécialistes du secteur alimentaire que les médecins et biologistes.

En effet, cette réaction est très bien décrite dans le secteur agroalimentaire aussi bien pour le contrôle de la formation des arômes de Maillard que pour celui des composés néoformés plus ou moins bénéfiques pour la santé tels que les mélanoïdines, la N^ε-carboxyméthyl-lysine et l'acrylamide.

Cette réaction, aussi appelée « réaction de glycation » par les biologistes, se produit lors de la cuisson mais aussi à 37°C dans notre organisme. Elle conduit à l'accumulation aléatoire de dommages sur nos tissus. Elle est donc associée au vieillissement physiologique (maladies cardiovasculaires et neurodégénératives...) et aux complications de maladies chroniques telles que le diabète.

Mieux connaître cette réaction chimique devrait permettre d'une part, une meilleure maîtrise de la synthèse des composés néoformés au cours de la transformation domestique et industrielle des aliments, et d'autre part, pour les biologistes, le ralentissement du vieillissement normal et la prévention du vieillissement pathologique.



FONDS FRANÇAIS
**ALIMENTATION
& SANTÉ**

La Lettre Scientifique engage la seule responsabilité de ses auteurs.

Libre de droits, sous réserve des mentions :

Frédéric J Tessier/Conférence du Fonds français pour l'alimentation et la santé «La réaction de Maillard»

Découverte de la réaction de Maillard

Arthur Robert Ling, chimiste anglais connu pour son travail sur le brassage de la bière, fut probablement le premier à décrire, en 1908, la formation d'arômes et de composés colorés à partir de protéines et de sucres. Mais ce n'est qu'en 1912 qu'un chercheur originaire de Pont-à-Mousson, **Louis Camille Maillard**, détailla les réactions chimiques qui se produisent entre les sucres et les acides aminés. Dans un article intitulé « *Action des acides aminés sur les sucres ; formation des mélanoïdines par voie méthodique* », Maillard décrit le mécanisme de la réaction, la formation de pigments noirâtres contenant des hétérocycles avec atomes d'azote et la réactivité relative des sucres et acides aminés qui en sont à l'origine. Scientifique visionnaire, Maillard présenta plusieurs implications possibles de cette réaction chimique dans différents domaines scientifiques. Il considérait, sans pouvoir le vérifier, que la réaction qui allait porter son nom devait être impliquée dans des domaines aussi variés que l'agronomie, la physiologie et la pathologie humaines, ainsi que la géologie.

Suite aux travaux descriptifs de Maillard sur la fixation d'un azote sur un carbone aldéhydique de sucre, plusieurs scientifiques ont poursuivi l'étude des mécanismes réactionnels de la réaction de Maillard. Ce sont d'abord les travaux d'Amadori (1929) suivis de ceux de Kuhn, Dansi et Weygand qui permirent de comprendre que la formation de bases de Schiff (aujourd'hui appelées « imines » par les chimistes) n'était que la première étape de la réaction de Maillard, et qu'elle était suivie d'une seconde étape : un réarrangement conduisant à la formation de 1-amino-1-désoxy-2-cétooses (Kuhn et Dansi, 1936 ; Kuhn et Weygand, 1937). Ces produits relativement stables, aussi appelés produits d'Amadori ou fructosamines, sont formés à partir d'aldoses tels que le glucose. Lorsque le sucre réducteur impliqué dans la réaction est un cétose, il y a alors formation d'un autre type de produits précoces de la réaction de Maillard : les 2-amino-2-désoxy-aldoses ou produits de Heyns (Heyns et Meinecke, 1953) (Figure 1).

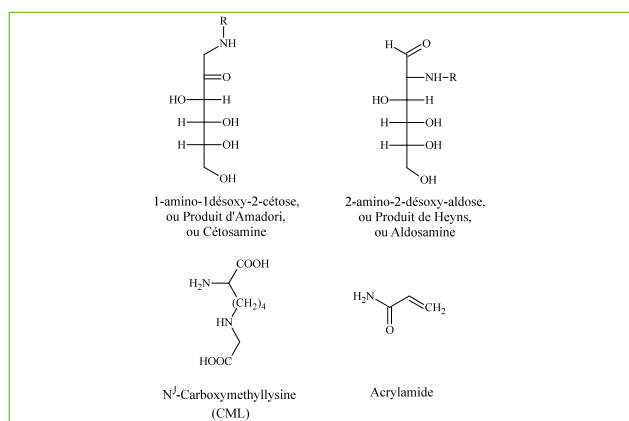


Figure 1 : Deux produits précoces et deux produits terminaux de la réaction de Maillard

(R- : acide aminé libre ou porté par une protéine)

C'est en 1953 que fut publié un article de synthèse fondamental sur la formation des produits d'Amadori et leur dégradation jusqu'aux produits terminaux de la réaction de Maillard (Hodge, 1953). Aussi surprenant que cela puisse paraître, cet article reste encore la référence pour tous les chimistes du domaine. Il présente une série de réactions complexes telles que des réactions d'oxydation, de scission, d'addition, d'énolisation et de polymérisation conduisant aux mélanoïdines. Bien que complétée progressivement avec les découvertes structurales des soixante dernières années, la connaissance des voies de synthèse des produits de Maillard a peu évolué. Il est d'ailleurs estimé que seulement 10% des produits ont été identifiés à ce jour. Maillard avait écrit en 1912 qu'il était « ...surpris qu'elle [la réaction de Maillard] ne soit pas depuis longtemps connue dans ses moindres détails ». Il avait alors sous-estimé toute la complexité de sa découverte.

Deux domaines majeurs d'application de la réaction de Maillard

Parmi les domaines scientifiques concernés par la réaction de Maillard, les applications en chimie des aliments ont toujours occupé une place centrale. C'est en effet en étudiant le brunissement non-enzymatique des aliments au cours de leur transformation et de leur stockage que les premiers travaux de recherche appliquée sur la réaction de Maillard ont été présentés (Patron, 1951). Et c'est essentiellement dans le domaine de la transformation laitière et, plus spécifiquement, dans celui de la préparation et de la conservation des poudres de lait que des avancées majeures dans la compréhension de la réaction de Maillard ont été réalisées (Henry et coll., 1948).

Un autre thème de la réaction de Maillard qui intéresse fortement l'industrie alimentaire depuis plus de 50 ans est celui des arômes (Hofmann et Schieberle, 1995) et des saveurs (Hofmann, 2005) issus de réactions chimiques entre les sucres et les acides aminés. Ces produits de Maillard, volatils ou non, sont généralement classés parmi les composés dits « désirables », en opposition avec ceux dits « indésirables » car potentiellement toxiques ou tout au moins supposés délétères sur la santé. Parmi ces derniers, l'acrylamide, formé par réaction de Maillard dans les aliments et découvert en 2002 par Tareke et coll., a relancé l'intérêt porté aux effets physiologiques ou toxiques des produits néoformés. Un chapitre suivant présente une courte revue de la littérature sur cette molécule et la Nε-carboxyméthyl-lysine (CML), autre produit de Maillard.

Même si Maillard avait clairement montré que la réaction entre les sucres et les amines pouvait être observée « après quelques jours à 37°C » et qu'une implication de cette réaction en physiologie humaine était probable, ce n'est que dans les années 1950-1960 que plusieurs équipes scientifiques ont décrit le premier exemple de protéine modifiée par réaction de Maillard *in vivo* : l'hémoglobine

glyquée extraite d'érythrocytes humains (Kunkel et Wallenius, 1955 ; Allan et coll., 1958). C'est à partir de cette découverte que naquit l'étude de la réaction de Maillard *in vivo* aussi appelée, dans ce cas, réaction de glycation.

Rayonnement et intérêt international pour la réaction de Maillard

Le nombre de publications sur la réaction de Maillard dans le domaine de la chimie des aliments est en constante augmentation depuis les années 1970. A elles seules, les publications sur la formation de l'acrylamide dans les aliments se montent à 274 selon ScienceDirect et 342 selon PubMed (recherche réalisée avec les mots « acrylamide » et « food » dans les titres et résumés des articles publiés depuis 2000).

Cependant, comme le montre Thomas Henle dans une revue de la littérature de 2001, le nombre de références sur la glycation en conditions physiologiques a commencé, à partir des années 1990, à dépasser celui des articles sur la réaction de Maillard dans les aliments. Une deuxième étude confirme que les publications utilisant le terme « glycation » sont en plus forte augmentation que celles utilisant le terme « Maillard », respectivement +240% et +75% entre 1994 et 2004 (Gerrard, 2006). Rabbani et Thornalley (2012) complètent ces données et précisent que le nombre annuel de publications sur la glycation est passé d'environ 200 en 1990 à plus de 1500 en 2009. Au total, près de 19 000 publications sur la glycation ont été répertoriées entre 1979 et 2009.

Le deuxième indicateur de l'intérêt que suscite ce domaine scientifique est le nombre croissant de participants aux symposiums sur la réaction de Maillard. La première réunion d'expert s'est tenue en 1979 en Suède et portait essentiellement sur les aspects nutritionnels de la réaction de Maillard dans les aliments. Ce n'est qu'à partir du quatrième symposium, organisé par Nestlé à Lausanne en 1989, que le thème de la glycation en milieu physiologique fut abordé. Après différents symposiums organisés entre l'Europe, les États Unis et l'Asie, plus de 300 scientifiques se sont donnés rendez-vous à Nancy en septembre 2012 pour le 11^e symposium international sur la réaction de Maillard. Ce fut aussi l'occasion de célébrer le centenaire de la découverte de cette réaction dans la région de naissance de Louis Camille Maillard.

Enfin, deux sociétés savantes (International Maillard Reaction Society : www.imars.org ; Japan Maillard Reaction Society : www.maillard.umin.jp) et une association française fondée par Claude Mathieu (www.lc-maillard.org) contribuent au rayonnement international de la réaction de Maillard.

La glycation dans le corps humain

La réaction de Maillard dans le corps humain est donc étudiée depuis la découverte de l'hémoglobine glyquée dans les années 1950, mais elle n'a trouvé un véritable intérêt auprès des biologistes et médecins qu'à par-

tir de l'observation d'un taux élevé d'HbA1c (une forme d'hémoglobine glyquée) dans les érythrocytes de sujets diabétiques (Rahbar, 1968). Les nombreuses découvertes réalisées depuis lors ont été rapportées en détail dans plusieurs revues de la littérature (Tessier, 2010 ; Rabbani et Thornalley, 2012) mais méritent d'être décrites succinctement dans cet article.

C'est au cours des années 1980 que la nomenclature sur les réactions qui lient les sucres aux protéines fut discutée et définie. Plusieurs instances internationales recommandèrent d'utiliser le terme « glycation » de manière globale pour toute liaison de sucre sur une protéine, et ce, quel que soit le mode de fixation, c'est-à-dire avec ou sans catalyse enzymatique (Sharon, 1986). Cependant, de nombreux scientifiques, dont Sharon lui-même, proposèrent que le terme « glycation » soit consacré exclusivement aux réactions de glycosylation non enzymatiques. Cette définition, aujourd'hui admise par tous, permet de distinguer la glycation (e.g. réaction de Maillard en milieu physiologique) de la glycosylation qui, elle-même, est alors limitée aux réactions enzymatiques. A ce propos, Roth proposa que l'hémoglobine modifiée par réaction de Maillard *in vivo* ne s'appelle plus « hémoglobine glycosylée » ou même « glucosylée », mais simplement « hémoglobine glyquée » (1983).

C'est dans la revue *Science* que Monnier et Cerami (1981) exposèrent pour la première fois la ressemblance étroite qui existe entre la glycation et la réaction de brunissement découverte par Maillard (1912) et décrite par Hodge (1953). C'est dans le même article que ces auteurs présentèrent une nouvelle théorie du vieillissement associée à la glycation des protéines à longue durée de vie.

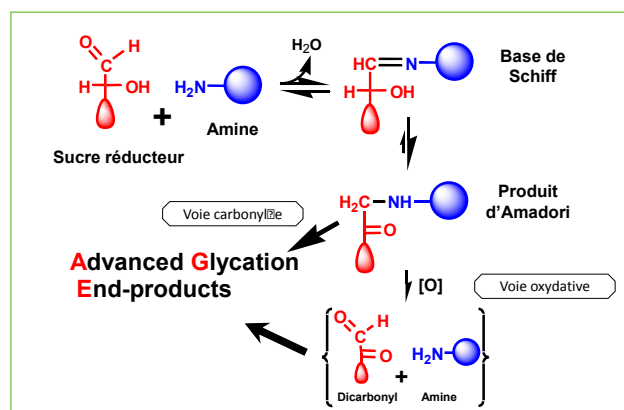


Figure 2 : Voies de synthèse simplifiées des produits avancés de glycation

La réaction de Maillard *in vivo* est constituée d'une séquence complexe de réactions faisant intervenir le principal sucre réducteur de l'organisme, le glucose, avec les fonctions amines libres portées par les acides aminés lysine et arginine des protéines. Comme décrit précédemment dans cet article et présenté très schématiquement sur la figure 2, la réaction entre le glucose et un acide aminé conduit à la formation de produits d'Amadori ou fructosamines. Cette étape est

communément appelée « étape précoce » de la réaction de Maillard, aussi bien par les biologistes que par les chimistes du secteur alimentaire. *In vivo*, ces produits d'Amadori, bien que relativement stables, peuvent être dégradés et transformés en produits dits « terminaux » de la réaction de glycation. Brownlee et coll. (1984) les nommèrent alors les AGEs pour « Advanced Glycosylation End-Products » (produits avancés de glycosylation) avant de les renommer plus tard les « Advanced Glycation End-Products » en conservant le même acronyme. C'est aussi globalement ce que Cerami définissait comme étant des « pigments bruns et fluorescents qui relient les protéines » (1986).

Il s'est ensuite avéré que la réaction conduisant aux AGEs était hautement plus complexe qu'initialement imaginée. En effet, il a été montré que tous les AGEs n'étaient pas systématiquement issus d'un produit d'Amadori mais qu'ils pouvaient provenir de réactions entre acides aminés et α -oxoaldéhydes issus, entre autres, de l'auto-oxydation du glucose, de la dégradation des intermédiaires de la glycolyse, et de la peroxydation des lipides. Ces dernières voies de synthèse des AGEs conduisirent l'équipe de Thorpe et Baynes à compléter la nomenclature avec deux nouveaux termes : la glycoxydation et la lipoxydation (respectivement, réaction de glycation nécessitant une étape d'oxydation et un peroxyde lipidique) (Baynes et Thorpe, 2000 ; Dyer et coll., 1991 ; Requena et coll., 1996).

Près de 25 structures d'AGEs ont été découvertes dans l'organisme humain au cours des 30 dernières années. La CML a été l'un des premiers AGEs révélé (Ahmed et coll., 1986) et demeure encore, aujourd'hui, l'AGE le plus étudié (Thorpe et Baynes, 2002). Ce produit de Maillard dérivé de la lysine a été détecté dans des protéines extracellulaires à longue durée de vie telles que les cristallines de l'œil (Dunn et coll., 1989) et le collagène de la peau (Dunn et coll., 1991). Il a aussi été retrouvé sous forme libre (non porté par les protéines) dans les urines (Wadman et coll., 1975). Bien qu'initialement décrite comme étant formée par réaction de glycation entre la lysine et le glucose, la CML s'est avérée être aussi formée avec d'autres composés carbonylés tels que les produits d'oxydation de l'acide ascorbique ou le glyoxal venant de la dégradation oxydative des lipides. C'est ainsi que la CML a été classée comme étant un AGE mais aussi un ALE pour « *Advanced Lipoxidation End-Product* » (Requena et coll., 1996).

En 1989, Sell et Monnier identifièrent un autre produit de Maillard dans des échantillons de collagène. Cet AGE appelé pentosidine, en raison de l'implication de pentoses pour sa formation, est constitué de deux acides aminés : la lysine et l'arginine. Il conduit à la formation de ce qui est appelé en anglais un « *crosslink* » entre deux acides aminés, une liaison covalente intra- ou inter-protéique post-traductionnelle. L'analyse des propriétés spectrales de la pentosidine a permis une autre découverte majeure dans le domaine de la glycation des protéines. En effet, l'équipe scientifique de Monnier a montré que la pentosidine possédait des pro-

priétés naturelles de fluorescence, et que celle-ci expliquait, en partie, l'augmentation de fluorescence observée dans le collagène au cours du vieillissement ou de l'avancement de certaines pathologies telles que le diabète de type 1 ou le dysfonctionnement rénal (Monnier et coll., 1986 ; Hartog et coll., 2005). Depuis cette découverte, d'autres AGEs fluorescents issus de la réaction de Maillard ont été découverts en conditions physiologiques (Shipanova et coll., 1997 ; Tessier et coll., 1999 ; Tessier et coll., 2003, Sell et coll., 2010), et la mesure de la fluorescence est devenue une méthode globale, bien qu'approximative, pour l'évaluation du taux de glycation dans les tissus biologiques (De Vos et coll., 2013). Cette caractéristique spectrale des produits de Maillard est également mise à profit dans l'analyse des matrices alimentaires (Matiacevich et coll., 2005).

D'un point de vue clinique, il a été montré relativement rapidement que l'accumulation des AGEs dans différents tissus était étroitement corrélée au vieillissement et au développement de certaines pathologies en particulier dans le cas des complications du diabète (Semba et coll., 2010). Un rôle pathogénique des AGEs et une accumulation tissulaire ont été décrits, entre autres, dans la **néphropathie diabétique** ou non (Daroux et coll., 2010), dans la **maladie d'Alzheimer** (Harrington et Colaco, 1994), dans **l'athérosclérose** (Del Turco et Basta 2012) et autres complications cardiovasculaires (Baumann, 2012), et dans le vieillissement oculaire (Tessier et coll., 1999 ; Nagaraj et coll., 2012).

C'est initialement l'accumulation de modifications post-traductionnelles des protéines induites par les AGEs qui était suspectée d'être à l'origine des pathologies ou complications observées en clinique. En effet la formation de pontages intra- et inter-protéiques était parfaitement corrélée aux modifications de propriétés mécaniques et, en conséquence, aux dysfonctionnements observés dans différents tissus tels que les artères, les articulations, les tendons et la peau (Monnier et coll., 2005). Cependant le pourcentage relativement faible de lysine et arginine modifiées sur une protéine en conditions physiologiques ne permet pas d'expliquer à lui seul le rôle complexe des AGEs dans l'étiologie des pathologies dégénératives.

La découverte, en 1992, d'un récepteur aux AGEs à la surface de cellules endothéliales isolées à partir de poumons marqua une nouvelle étape dans l'étude de la glycation et de ses conséquences physiopathologiques (Schmidt et coll., 1992). Ce récepteur, appelé RAGE pour « *Receptor for Advanced Glycation End-products* », est un récepteur transmembranaire de la famille des immunoglobulines qui est retrouvé à la surface de différentes cellules telles que les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales et les monocytes. Les AGEs, et en particulier la CML, en se liant au récepteur RAGE entraînent une cascade de signalisation intracellulaire, conduisant à un stress oxydant, à la synthèse de molécules pro-inflammatoires via l'activation de NF- κ B, et à la surexpression du récepteur RAGE (Ramasamy et coll., 2010).

C'est avec la publication de deux articles en 1997 que les deux grands domaines d'application de la réaction de Maillard finirent par se rejoindre définitivement (Cerami et coll., 1997 ; Koschinsky et coll., 1997). En effet, l'équipe de Cerami présenta un nouveau groupe de produits de Maillard présent dans les aliments, pouvant être absorbés, et ayant une réactivité chimique et activité biologique *in vivo*. Ces molécules nommées alors « *glycotoxins* » en anglais comprenaient initialement tout type d'AGEs déjà identifié *in vivo*, mais aussi et surtout les intermédiaires réactifs de la réaction de Maillard tels que les composés dicarboxylés (glyoxal, méthylglyoxal...). En estimant que les AGEs apportés par l'alimentation contribuaient majoritairement au pool total d'AGEs présent dans l'organisme, Henle (2003) ouvrit une nouvelle piste de recherche concernant les effets délétères de la glycation *in vivo*. La réduction de l'exposition aux AGEs alimentaires, en particulier celle à la CML, semble depuis lors tout aussi importante à mettre en œuvre que l'inhibition de la glycation dite « endogène » dans les conditions d'hyperglycémie et de stress oxydant. Enfin, l'exposition aux composés dicarboxylés et leur réactivité chimique *in vivo*, qui ont finalement été peu étudiées depuis 1997, reste à prouver.

La réaction de Maillard dans les aliments

Comme présenté en introduction, la réaction de Maillard a été largement étudiée pour comprendre les voies de formation des arômes et des saveurs dans les aliments transformés. Son implication dans la qualité nutritionnelle des aliments transformés thermiquement a été aussi largement étudiée. Les deux principales causes de pertes nutritionnelles imputables à la réaction de Maillard sont la destruction d'acides aminés essentiels, tels que la lysine, et la réduction de la digestibilité des protéines (Tessier et Niquet, 2007). Cependant nous avons montré récemment que, même dans des conditions de traitement thermique élevé (extrusion), des caséines modifiées par réaction de Maillard étaient encore très bien digérées et assimilées (Alamir et coll., 2013).

Aujourd'hui, l'aspect le plus étudié mais aussi le plus débattu par les spécialistes des produits de Maillard est sans nul doute celui de l'activité biologique des produits ingérés (Pischetsrieder, 2007). En particulier, l'étude de la toxicité de ces produits connaît depuis une dizaine d'années un véritable regain d'intérêt. Certaines molécules formées par réaction de Maillard telles que les amines hétérocycliques, les furanes et furfurals et l'acrylamide présentent des propriétés toxiques bien caractérisées. D'autres, telles que les composés dicarboxylés sont des intermédiaires de glycation chimiquement réactifs et potentiellement responsables de réactions de glycation *in vivo* après ingestion. Enfin, la CML, bien que probablement peu réactive chimiquement, semble jouer un rôle pro-inflammatoire et pro-oxydant *in vivo*, en se liant aux récepteurs cellulaires RAGE (Ramamany et coll., 2010). Bien que leurs mécanismes d'action

toxique soient très différents, les composés dicarboxylés et la CML sont des produits de Maillard aujourd'hui regroupés sous le nom de glycotoxins.

La N^ε-carboxyméthyl-lysine (CML)

Suite à la découverte de la CML dans des milieux modèles (Ahmed et coll., 1986), il a été très rapidement démontré que ce produit de Maillard était tout autant retrouvé dans les produits laitiers chauffés (Büser et Erbersdobler, 1986) que dans les tissus humains (Dunn et coll., 1989 et 1991). Même si, comme cité précédemment dans cet article, la CML est considérée comme étant aussi bien un AGE qu'un ALE *in vivo*, sa formation dans les aliments est essentiellement proportionnelle à la teneur en sucres réducteurs et en protéines, et indépendante de la teneur en acides gras (Tessier et coll., 2010 ; Niquet-Léridon et Tessier, 2011). De ce fait, les groupes d'aliments dans lesquels est retrouvée la CML, et qui contribuent majoritairement à l'exposition sont les produits céréaliers (pain, céréales pour petit déjeuner, biscuits...), le poisson, la viande et ses produits dérivés riches en protéines (Tessier et Birlouez-Aragon, 2012). Certaines boissons chocolatées constituent également une source importante de CML (Niquet-Léridon et Tessier, 2011). Diverses informations peuvent être trouvées dans la littérature, mais il n'existe, à notre connaissance, que deux bases de données sur les taux de CML dans les aliments de consommation courante. Parmi ces deux bases de données, une seule est issue de mesures fiables réalisées par spectrométrie de masse (Hull et coll., 2012). La deuxième, largement critiquée par une majorité d'experts, n'est fondée que sur une analyse immunochimique peu spécifique de la CML et sujette à des interférences de la part des constituants des matrices alimentaires (Uribarri et coll., 2010). Il y est, par exemple, décrit une teneur élevée en CML dans les produits gras tels que le beurre et l'huile d'olive. Nous avons présenté, lors du dernier symposium sur la réaction de Maillard, que ces données étaient erronées et que le beurre, même chauffé de manière exagérée, ne pouvait contribuer significativement à l'exposition à la CML (Jacolot et coll., 2012).

Ce qui fait de la CML un marqueur important des produits de Maillard (et AGEs) aussi bien dans les aliments qu'*in vivo* est son absorption significative au niveau intestinal, sa concentration systémique parfois élevée, et son élimination urinaire et fécale généralement proportionnelle à la quantité ingérée. De plus, quelques études récentes dont nos propres travaux indiquent qu'une part non négligeable de la CML ingérée n'est pas retrouvée dans les fractions excrétées quel que soit le modèle animal ou le protocole utilisé (Alamir et coll., 2013). La question de son accumulation dans certains organes ou de son métabolisme reste donc à élucider. Les seuls éléments qui semblent indiquer qu'une alimentation riche en CML puisse présenter un risque pour la santé sont issus d'études cliniques ou d'expérimentations animales dans lesquelles des régimes complexes plus ou

moins riches en produits de Maillard, et donc en CML, ont été comparés. L'étude clinique la plus complète à ce jour a été réalisée à l'Institut Polytechnique LaSalle Beauvais dans le cadre du projet européen ICARE (Birlouez-Aragon et coll., 2010). Sur 62 volontaires sains, cette étude indique qu'un régime riche en CML et autres produits de Maillard conduit à une perte de sensibilité à l'insuline, à une augmentation de marqueurs du stress oxydant et, plus globalement, à une augmentation du risque potentiel de maladies cardiovasculaires et de diabète. Cependant, il n'est pas prouvé que la CML, à elle seule, soit responsable des changements physiologiques observés. De nouvelles études sont en cours pour évaluer l'activité biologique de la CML alimentaire, en particulier sur des populations fragiles tels que les nourrissons qui nourris au lait maternisé sont exposés jusqu'à 70 fois plus à la CML que les nourrissons allaités au sein (Sebekova et coll., 2008).

L'acrylamide

La découverte de la formation d'acrylamide dans certains groupes d'aliments au cours de leur transformation thermique a conduit à une impressionnante mobilisation internationale pour comprendre les mécanismes de formation, développer des méthodes de quantification, évaluer le niveau d'exposition alimentaire, et identifier les risques pour la santé des populations.

Bien que différentes voies de synthèse aient été proposées, celle qui semble être la plus probable met en jeu la dégradation d'un acide aminé libre, l'asparagine, par réaction de Maillard. La preuve du rôle central joué par l'asparagine a été apportée par l'utilisation d'une enzyme spécifique de la dégradation de l'asparagine (asparaginase) dans certaines matrices alimentaires pour réduire efficacement la formation d'acrylamide (Anese et coll., 2011 ; Pedreschi et coll., 2011). L'autre groupe de substrats important pour la formation de l'acrylamide dans les aliments est constitué de sucres réducteurs et de composés dicarbonylés, molécules peu abondantes mais hautement réactives. Dans des solutions modèles, Stadler et coll. (2004) ont montré qu'un mélange d'asparagine et de composés carbonylés pouvait, au mieux, générer une molécule d'acrylamide pour cent molécules d'asparagine mises en jeu. Dans nos travaux sur des matrices alimentaires torréfiées, le pourcentage médian obtenu est de 0,5 % (données non publiées).

Plusieurs méthodes de dosage de l'acrylamide dans les aliments ont été développées et publiées depuis la découverte de l'acrylamide dans les aliments. Les deux méthodes analytiques reconnues comme valides pour l'analyse de l'acrylamide dans les aliments sont les méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse (chromatographies liquide ou gazeuse). Une limite de quantification située à 100 µg/kg d'aliment permet d'analyser l'acrylamide dans la majorité des aliments qui méritent une surveillance. A ce propos, l'European Food Safety Authority (EFSA) a établi 10 catégories d'aliments dans lesquels

l'acrylamide est formé en quantité significative, ou pour lesquels la consommation est à surveiller pour les nouveaux-nés (EFSA, 2012). Parmi ces catégories, ce sont les substituts de café qui ont les plus fortes teneurs en acrylamide. Ils sont suivis de près par les produits frits dérivés de la pomme de terre et les produits céréaliers. Si on se réfère à un rapport de l'EFSA qui regroupe les données issues de 25 pays européens, 20% des cafés solubles, 18% des chips et 15% des frites, analysés en 2010, auraient des teneurs en acrylamide supérieures aux valeurs indicatives proposées pour ces produits. Précisons que ces valeurs indicatives de référence, destinées à signaler la nécessité d'une étude, ont été établies pour chaque catégorie d'aliments par la commission européenne en 2011 (10.1.2011 C(2010) 9681 final).

Il est important de préciser que la contribution relative d'un groupe d'aliments à l'exposition alimentaire à l'acrylamide ne dépend pas seulement de sa teneur moyenne en acrylamide, mais également de la fréquence de consommation de ce groupe d'aliments dans une population donnée. En tenant compte de ce dernier paramètre, l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation a pu établir une liste d'aliments ou de groupes d'aliments impliqués dans l'exposition des français de 2006 à 2007 (ANSES, 2011). Il en ressort que les principaux contributeurs à l'exposition chez les adultes sont les pommes de terre sautées ou frites (45%), le café et les substituts de café (29%) et les biscuits salés ou sucrés (9%). Chez les enfants, les mêmes contributeurs majoritaires sont retrouvés à l'exception du café.

De nombreux moyens ont été mis en œuvre par les industriels et les chercheurs d'organismes publics pour limiter la formation d'acrylamide dans les aliments. Un organisme européen, appelé Food Drink Europe, met régulièrement à jour un guide de recommandations qui permet d'orienter les industriels dans leur démarche de réduction de l'acrylamide (Food Drink Europe, 2011). Il semble cependant que des efforts restent à fournir par les industriels du secteur alimentaire pour réduire durablement l'exposition des consommateurs (EFSA, 2012).

Plusieurs études menées chez l'animal ont montré que l'acrylamide était cancérigène pour l'homme. C'est en se fondant sur ces études que l'IARC a classé cette molécule dans le groupe 2A des composés « probablement cancérigène pour l'homme » (IARC, 1994) et que l'agence américaine EPA l'a classée comme étant « *likely to be carcinogenic to humans* » (EPA, 2011). Cependant la plupart des études épidémiologiques qui se sont penchées sur la relation entre l'exposition alimentaire à l'acrylamide et l'incidence de cancers chez l'homme n'a pas relevé d'association significative. Une méta-analyse de 25 études sérieuses (Pelucchi et coll., 2011) confirme l'absence de relation significative entre une augmentation d'exposition à l'acrylamide de 10 µg/jour et l'apparition de cancer. Selon les auteurs de cette récente revue, une surveillance particulière devrait cependant être maintenue pour évaluer les liens entre l'exposition à l'acrylamide et le risque de cancer du rein.

Conclusion

Louis Camille Maillard avait imaginé que la réaction non enzymatique entre les sucres et les protéines pouvait avoir des répercussions aussi bien sur la qualité des aliments transformés que sur la santé de l'homme. Cependant il n'avait certainement pas envisagé une relation aussi étroite entre les deux domaines scientifiques. Aujourd'hui, il est certain que nous sommes exposés à deux sources d'AGEs et autres produits de Maillard : ceux qui sont formés tout au long de la vie dans notre organisme et ceux qui proviennent de notre alimentation. La contribution relative de ces deux sources d'AGEs aux perturbations physiologiques et au vieillissement reste à élucider.

En attendant, le contrôle et la réduction des composés néoformés potentiellement délétères dans les aliments, mais aussi l'inhibition de la glycation *in vivo* sont les deux principales pistes de recherche suivies par les scientifiques du domaine pour limiter l'impact des AGEs sur la santé.

Un des principaux obstacles à la réduction des composés néoformés indésirables dans les aliments réside dans la complexité des réactions chimiques à forte température et, en conséquence, dans la difficulté d'agir spécifiquement sur certains composés sans affecter les centaines d'autres produits de Maillard potentiellement bénéfiques ou, tout au moins, à l'origine des propriétés sensorielles des aliments cuits.

Références

- Ahmed MU, Thorpe SR, Baynes JW. (1986) Identification of N-epsilon-carboxymethyllysine as a degradation product of fructoselysine in glycosylated protein. *J Biol Chem*, 261, 4889-94.
- Alamir I, Niquet-Léridon C, Jacolot P, Rodriguez C, Orosco M, Anton PM, Tessier FJ (2012). Digestibility of extruded proteins and metabolic transit of Nε-carboxymethyllysine in rats. *Amino Acids*, 10.1007/s00726-012-1427-3.
- Allen DW, Schroeder WA, Balog J (1958) Observations on the Chromatographic Heterogeneity of Normal Adult and Fetal Human Hemoglobin: A Study of the Effects of Crystallization and Chromatography on the Heterogeneity and Isoleucine Content. *J Am Chem Soc*, 80, 1628-34.
- Anese M, Quarta B, Frias J (2011) Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits. *Food Chemistry* 126, 435-40.
- ANSES (2011) Etude de l'alimentation totale française 2 (EAT2) Tome 2, Edition scientifique, 362pp
- Baumann M (2012) Role of advanced glycation end products in hypertension and cardiovascular risk: human studies. *J Am Soc Hypertens*, 6, 427-35.
- Baynes JW, Thorpe SR (2000) Glycooxidation and lipoxidation in atherogenesis. *Free Radic Biol Med*, 28, 1708-16.
- Birlouez-Aragon I, Saavedra G, Tessier FJ, Galinier A, Ait-Ameur L, Lacoste F, Niamba CN, Alt N, Somoza V, Lecerf JM (2010) A diet based on high-heat-treated foods promotes risk factors for diabetes mellitus and cardiovascular diseases. *Am J Clin Nutr*, 91, 1220-6
- Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. (1984) Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med*, 101, 527-37.
- Büser W, Erbersdobler HF (1986) Carboxymethyllysine, a new compound of heat damage in milk products. *Milchwissenschaft*, 41, 780-5.
- Cerami A (1986) Aging of proteins and nucleic acids: what is the role of glucose? *TIBS*, 11, 311-4.
- Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A (1997) Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 13915-20.
- Daroux M, Prévost G, Maillard-Lefebvre H, Gaxatte C, D'Agati VD, Schmidt AM, Boulanger E (2010) Advanced glycation end-products: implications for diabetic and non-diabetic nephropathies. *Diabetes Metab*, 36, 1-10.
- De Vos LC, Noordzij MJ, Mulder DJ, Smit AJ, Lutgers HL, Dullaart RP, Kamphuisen PW, Zeebregts CJ, Lefrandt JD (2013) Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation end products deposition is elevated in peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33, 131-8.
- Del Turco S, Basta G (2012) An update on advanced glycation endproducts and atherosclerosis. *Biofactors*, 38, 266-74.
- Dunn JA, Patrick JS, Thorpe SR, Baynes JW (1989) Oxidation of glycosylated proteins: age-dependent accumulation of N epsilon-(carboxymethyl) lysine in lens proteins. *Biochemistry*, 28, 9464-8.
- Dunn JA, McCance DR, Thorpe SR, Lyons TJ, Baynes JW (1991) Age-dependent accumulation of N epsilon-(carboxymethyl)lysine and N epsilon-(carboxymethyl)-hydroxylysine in human skin collagen. *Biochemistry*, 30, 1205-10.
- Dyer DG, Blackledge JA, Katz BM, Hull CJ, Adkisson HD, Thorpe SR, Lyons TJ, Baynes JW (1991) The Maillard reaction *in vivo*. *Z Ernährungswiss*, 30, 29-45.
- EFSA, European Food Safety Authority (2012) Scientific report of EFSA, Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010, EFSA Journal, 10:2938, Parme, Italie 38 pp
- EPA (2011) Integrated Risk Information System (IRIS): Acrylamide (CASRN 79-06-1). Washington, DC: U.S. Environ. Prot. Agency.
- Food Drink Europe (2011) Acrylamide Toolbox 2011. Confederation of the Food and Drink Industries of the EU (FoodDrinkEurope), Bruxelles, Belgique, 47 pp, www.fooddrinkeurope.eu/news/press-release/food-drinkeurope-updates-industry-wide-toolbox-to-help-manufacturers-further/
- Gerrard JA (2006) The Maillard reaction in food: Progress made, challenges ahead—Conference Report from the Eighth International Symposium on the Maillard Reaction Trends in Food Science & Technology 17, 324-30.
- Harrington CR, Colaco CA (1994) Alzheimer's disease. A glycation connection. *Nature*, 370, 247-8.
- Hartog JWL, DeVries APJ, Lutgers HL, Meerwaldt R, Huisman RM, Van Son WJ, de Jong PE, Smit AJ (2005) Accumulation of advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence, in renal disease. *Ann NY Acad Sci*, 1043, 299-307.
- Henry KM, Ron SK, Lea CH, White JCD (1948) Deterioration on storage of dried skim milk. *J. Dairy Res*, 15, 292-363.
- Heyns K, Meinecke KH (1953) The formation and preparation of D-glucosamine from fructose and ammonia. *Chem Ber*, 86, 1453-562.
- Henle T (2001) A food chemist's view of advanced glycation end-products. *Perit Dial Int*, 21, S125-30.
- Henle T (2003) AGEs in foods: do they play a role in uremia? *Kidney Int*, 63, S145-7.
- Hodge JE (1953) Browning reactions in model systems. *J Agric Food Chem*, 1, 928-43.
- Hofmann T (2005) Taste-active Maillard reaction products: the "tasty" world of nonvolatile Maillard reaction products. *Ann N Y Acad Sci*, 1043, 20-9.
- 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, 2187-94.
- Hull GLJ, Woodside JV, Ames JM, Cuskelly GJ (2012) Nε-(carboxymethyl) lysine content of foods commonly consumed in a Western style diet. *Food Chemistry*, 131, 170-4.
- IARC. 1994. Acrylamide. In IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 60, Some Industrial Chemicals, pp. 389-433. Lyon, France: Int. Agency Res. Cancer.
- Jacolot P, Niquet-Léridon C, Tessier FJ (2012) Nε-carboxymethyl-lysine and 5-hydroxymethylfurfural in raw and brown butter. 11ème symposium

- sur la reaction de Maillard, Nancy, France. Poster S3.7 et abstract p 168.
- Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H (1997) Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 6474-9.
- Kuhn R, Dansi A (1936) A molecular rearrangement of N-glucosides. *Ber*, 69B, 1745-54.
- Kuhn R, Weygand F (1937) The Amadori rearrangement. *Ber*, 70B, 769-72.
- Kunkel HG, Wallenius G (1955) New hemoglobin in normal adult blood. *Science*, 122, 288.
- Ling AR (1908) Malting. *J Inst Brewing*, 14, 521.
- Maillard LC (1912) Action des acides aminés sur les sucres ; formation des mélanoidines par voie méthodique. *Compte-rendu de l'Académie des sciences*, 154, 66-8.
- Matiacevich SB, Santagapita PR, Buera MP (2005) Fluorescence from the Maillard Reaction and its potential applications in food science. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45, 483-95.
- Monnier VM, Cerami A (1981) Nonenzymatic browning *in vivo*: possible process for aging of long-lived proteins. *Science*, 211, 491-3.
- Monnier VM, Mustata GT, Biemel KL, Reihl O, Lederer MO, Zhenyu D, Sell DR (2005) Cross-linking of the extracellular matrix by the Maillard reaction in aging and diabetes: an update on "a puzzle nearing resolution." *Ann NY Acad Sci*, 1043, 533-44.
- Monnier VM, Vishwanath V, Frank KE, Elmets CA, Dauchot P, Kohn RR (1986) Relation between complications of type I diabetes mellitus and collagen-linked fluorescence. *N Engl J Med*, 314, 403-8.
- Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW (2012) The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. *Amino Acids*, 42, 1205-20.
- Niquet-Léridon C, Tessier FJ (2011) Quantification of Nε-carboxymethyl-lysine in selected chocolate-flavoured drink mixes using high-performance liquid chromatography-linear ion trap tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 126, 655-63.
- Patron A (1951) La réaction de Maillard et le brunissement non-enzymatique dans les industries alimentaires. *Ind Agric Aliment*, 68, 251-6.
- Pedreschi F, Mariotti S, Granby K, Risum J (2011) Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1473-6.
- Pelucchi C, La Vecchia C, Bosetti C, Boyle P, Boffetta P (2011) Exposure to acrylamide and human cancer: a review and meta-analysis of epidemiologic studies. *Ann Oncol*, 22, 1487-99.
- Pischetsrieder M (2007) Are dietary AGEs/ALEs a risk to human health and, if so, what is the mechanism of action? *Mol Nutr Food Res*, 51, 1069-70.
- Rabbani N, Thornalley PJ (2012) Glycation research in amino acids: a place to call home. *Amino Acids*, 42, 1087-96.
- Rahbar S (1968) An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. *Clin Chim Acta*, 22, 296-8.
- Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. (2010) The Maillard Reaction - A Journey from the Discovery of Advanced Glycation Endproducts to their Chief Cellular Receptor, RAGE: A Mechanism Underlying Diabetic Complications and the Inflammatory Response. In *The Maillard reaction : interface between aging, nutrition, and metabolism*, eds Merlin C Thomas et Josephine Forbes, Cambridge : RSC Publishing
- Requena JR, Fu MX, Ahmed MU, Jenkins AJ, Lyons TJ, Thorpe SR (1996) Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions. *Nephrol Dial Transplant*, 11:48-53.
- Roth M (1983) Glycated hemoglobin", not "glycosylated" or "glucosylated". *Clin Chem*, 29, 1991.
- Sell DR, Monnier VM (1989) Structure elucidation of a senescence cross-link from human extracellular matrix: implication of pentoses in the aging process. *J Biol Chem*, 264, 21597-602.
- Sell DR, Nemet I, Monnier VM (2010) Partial characterization of the molecular nature of collagen-linked fluorescence: role of diabetes and end-stage renal disease. *Arch Biochem Biophys*, 493, 192-206.
- Semba RD, Nicklett EJ, Ferrucci L (2010) Does Accumulation of Advanced Glycation End Products Contribute to the Aging Phenotype? *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 65A, 963-75.
- Schmidt A-M, Vianna M, Gerlach M, Brett J, Ryan J, Kao J, Esposito C, Hegarty H, Hurley W, Clauss M, Wang F, Pan YE, Tsang TE, Stern D (1992) Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface. *J Biol Chem*, 267, 14987-97.
- Sebekova K, Saavedra G, Zumpé C, Somoza V, Klenovicsova K, Birlouez-Aragon I (2008) Plasma concentration and urinary excretion of Nε-(carboxymethyl)lysine in breast milk- and formula-fed infants. *Ann NY Acad Sci*, 1126, 177-80.
- Sharon N (1986) IUPAC-IUB joint commission on biochemical nomenclature (Jcbl)-nomenclature of glycoproteins, glycopeptides and peptidoglycans-Jcbl recommendations 1985. *Glycoconj J* 3:123-134
- Shipanova IN, Glomb MA, Nagaraj RH (1997) Protein modification by methylglyoxal: chemical nature and synthetic mechanism of a major fluorescent adduct. *Arch Biochem Biophys*, 344, 29-36.
- Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Erickson S, Tornqvist M (2002) Analysis of Acrylamide, a Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs. *J Agric Food Chem*, 50, 4998-5006.
- Tessier FJ (2010) The Maillard reaction in the human body. The main discoveries and factors that affect glycation. *Pathologie Biologie*, 58, 214-19.
- Tessier FJ, Birlouez-Aragon I (2012) Health effects of dietary Maillard reaction products – The results of ICARE and other studies. *Amino Acids*, 42, 1119-31.
- Tessier FJ, Niquet C (2007) The metabolic, nutritional and toxicological consequences of ingested dietary Maillard reaction products: A literature review. *J Soc Biol*, 201, 199-207.
- Tessier FJ, Niquet C, Rhazi L, Hedhili K, Navarro P, Seiquer I, Delgado-Andrade C (2010) Nε-Carboxymethyllysine : its origin in selected foods and its urinary and faecal excretion in healthy humans. In *The Maillard reaction: interface between aging, nutrition, and metabolism*, eds Merlin C Thomas et Josephine Forbes, Cambridge : RSC Publishing
- Tessier F, Obrenovich M, Monnier VM (1999) Structure and mechanism of formation of human lens fluorophore LM-1. *J Biol Chem*, 274, 20796-804.
- Tessier FJ, Sayre LM, Monnier VM, Kornfield JA (2003) Triosidine: Novel Maillard Reaction Products and Crosslinks from the Reaction of Triose sugars with Lysine and Arginine Residues. *Biochem J*, 369, 705-19.
- Thorpe SR, Baynes JW (2002) CML: a brief history. *Int Congress Series*, 1245, 91-9.
- Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, Yong A, Striker SE, Vlassara H (2010) Advanced Glycation End Products in Foods and a Practical Guide to Their Reduction in the Diet. *J Am Diet Assoc*, 110, 911-6.
- Wadman SK, De Bree PK, Van Sprang FJ, Kamerling JP, Haverkamp J, Vliegenthart JFG (1975) N-(Carboxymethyl)lysine, a constituent of human urine. *Clin Chim Acta*, 59, 313-20.



Fonds Français pour l'Alimentation et la Santé

42 rue Scheffer - 75116 PARIS - 01 45 00 92 50 - www.alimentation-sante.org