



HAL
open science

Comment déterminer par une approche innovante et rapide des indicateurs prédictifs de la valeur nutritionnelle de la viande bovine ?

Benoît-Pierre Mourot

► **To cite this version:**

Benoît-Pierre Mourot. Comment déterminer par une approche innovante et rapide des indicateurs prédictifs de la valeur nutritionnelle de la viande bovine?. Alimentation et Nutrition. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2015. Français. NNT : 2015CLF22556 . tel-02501537

HAL Id: tel-02501537

<https://theses.hal.science/tel-02501537>

Submitted on 7 Mar 2020

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.

*ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA
VIE, SANTÉ, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT*

N° d'ordre : 663

Thèse

Présentée à l'Université Blaise Pascal
pour l'obtention du grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité Nutrition et Sciences des aliments

soutenue le 6 mars 2015

Benoît-Pierre MOUROT

Comment déterminer par une approche innovante et
rapide des indicateurs prédictifs de la valeur
nutritionnelle de la viande bovine ?

Président :	Dr. Yves Chilliard	Directeur de recherche, INRA
Rapporteurs :	Pr. Philippe Schmidely Dr. Élisabeth Baéza	Professeur d'Université, AgroParis Tech Ingénieur de Recherche, INRA
Examineurs :	Pr. André Lebert M. Christophe Denoyelle M. Pierre Weill Dr. Dominique Gruffat Dr. Denys Durand	Professeur d'Université, Polytech' Clermont-F ^d Directeur de Recherche du service « Qualité des Viandes », Institut de l'Élevage Président de la société Valorex SAS Chargée de Recherche, INRA Ingénieur de Recherche, INRA
Membre invité :	Pr. Éric Dufour	Délégué Régional à la Recherche et à la Technologie, MENESR

À mes parents

À Elodie

À ma future fille, A.....

Remerciements

Les remerciements signifient la fin de mon travail de thèse et viennent ponctuer ces belles années passées pour mener à bien ce travail.

Étant « rugbystiquement » toulousain de cœur je me suis retrouvé il y a 3 ans en pays conquis par l'AS Montferand (ASM). Le rugby a été un sujet régulier de conversation et de raillerie avec mes collègues auvergnats surtout lors des rencontres du Stade Toulousain contre l'ASM. Au vue des similitudes que l'on peut faire entre l'environnement d'une thèse et les valeurs du rugby, je vais tenter de réaliser ces remerciements sur ce thème pour au final, je l'espère, « *transformer l'essai* ».

Mes remerciements s'adressent tout d'abord aux « *dirigeantes* » des clubs UMRH et Amuvi, en particulier à Mme Isabelle Veissier, Directrice de l'Unité Mixte de Recherche sur les Herbivores, ainsi que Isabelle Cassar-Malek, directrice adjointe, pour m'avoir permis de réaliser mon travail de thèse au sein de cette unité de recherche. Je voudrais également remercier Brigitte Picard, responsable de l'équipe « Animal Muscle Viande » ainsi qu'Isabelle Ortigues-Marty, responsable adjointe, pour m'avoir accueilli pendant ces trois années de thèse au sein de leur équipe de recherche.

Je tiens à remercier le « *corps arbitral* » représenté lors de ce « *match* » par les membres de mon jury de thèse, pour avoir accepté de juger ce travail. Merci à M Yves Chilliard d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse, Mme Élisabeth Baéza d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail ainsi que M Philippe Schmidely qui en plus d'être rapporteur m'a apporté de précieux conseils lors de différentes réunions. Je remercie Mrs Éric Dufour, Christophe Denoyelle et Pierre Weill d'avoir accepté d'assurer les fonctions d'examineurs de ce travail.

J'aimerais également remercier mes « *préparateurs* » qui ont conforté l'orientation de mon parcours, mais aussi mon suivi « *technique, moral et physique* » en l'occurrence, les membres de mon comité de thèse. Merci à Mme Catherine Hurtaud, M Pierre-Sylvain Mirade, M. Jérôme Normand, Mme Isabelle Ortigues-Marty, M. Edmond Rock et Mme Sophie Prache.

Je tiens à remercier mes « *recruteurs* » qui ont finalisé mon « *transfert* » à Clermont-Ferrand, représentés par les membre de l'entreprise Valorex. Je remercie plus particulièrement Mrs Guillaume Chesneau, Guillaume Mairesse et Pierre Weill qui ont toujours su être disponibles malgré la distance pour m'apporter les soutiens dont j'avais besoin et leur implication dans le suivi de mon travail.

D'autre soutien actif à ce « *match* » ont également joué un rôle essentiel. Je remercie tous les participants du projet FUI « SpecMeat ». En cela, je ne citerai que les responsables des différents partenaires du projet, mais mes remerciements vont également à tous leurs collègues. Merci à M. Guillaume Mairesse (Valorex SAS), M. Jérôme Normand (Institut de l'élevage), Mme Nathalie Kerhoas (association Bleu-Blanc-Cœur), M. Jean-Marc Goujon (Université de Rennes 1 - FOTON-ENSSAT) et M. Lancelot Leroy (Terrena). Je remercie également l'ADIV à travers M. Alain Peyron et Mme Valérie Scislowski, pour toutes les analyses qu'ils ont réalisées pour ce projet.

J'adresse mes plus sincères sentiments à mes directeurs de thèse : Dominique Gruffat et Denys Durand. Je vous remercie pour la qualité de votre encadrement, votre disponibilité, les nombreux échanges constructifs que nous avons eus autour de sujets aussi nombreux que variés.

Je n'oublie pas le partage de leur connaissance, leur rigueur scientifique, leur soutien, leur compréhension. J'adresse un merci plus particulier à Dominique Gruffat pour sa disponibilité et sa gentillesse en cette période qui a été difficile pour elle. Ces deux ensembles ont tout à fait le profil de « *demi de mêlée* » et « *d'ouvreur* » dans une équipe de rugby. Leur complémentarité dans la vision « efficiente » de la situation et la distribution des idées ont fait avancer à grande percée ce travail de thèse. Ils sont la charnière de toutes les faces de cette thèse et je vous exprime toute ma reconnaissance.

La « *première ligne* » de mon équipe de rugby est constituée de Mrs Donato Andueza, André Lebert et Dominique Bauchart. En effet, ils ont apporté le « *poids intellectuel* » indispensable à ce travail d'équipe. Un grand merci à André Lebert pour les cours individuels et le temps qu'il m'a consacré pour me former aux méthodes statistiques. Je remercie fortement Donato Andueza également pour le temps qu'il a pris pour me former à l'analyse infrarouge, pour sa disponibilité et ses longues discussions dans son laboratoire. J'adresse également toute ma reconnaissance et ma sympathie à Dominique Bauchart. Je vous remercie pour le partage de vos connaissances aussi bien scientifiques, qu'hors science.

La « *seconde ligne* » qui a permis de donner de la « *hauteur* » à mon sujet, est construite autour des collaborations que j'ai établies. Je remercie donc, Mmes Geneviève Corraze, Françoise Médale et Sophie Prache d'avoir bien voulu partager leurs données pour donner un peu plus de hauteur à mon sujet.

Les sélectionnés pour les postes de « *troisième ligne* » sont Agnès Thomas, Vincent Largeau, Jean Vernet, Anne-Sophie Bage, Fabienne Picard, Téodora Popova, Julie Bacouel et Clothilde Lascoux. Je remercie chaleureusement tous ces « *joueurs* » et « *joueuses* » qui ont tous participés directement à la « *poussée* » de mon sujet par le biais de formations, de renseignements et beaucoup d'autre soutien souvent moins visibles mais essentiels.

Ce « *pack* » de « *première* », « *seconde* » et « *troisième ligne* » a permis de fournir les principaux résultats de cette thèse dans chacun de leur domaine et je vous remercie encore tous pour cela.

Mes remerciements vont également vers mes collègues de l'équipe Amuvi qui n'ont pas été précédemment cités. Je remercie Christiane Barboiron, Bruno Meunier, Muriel Bonnet, Anne Listrat, Gonzalo Cantalapiedra-Hijar, Didier Micol, Nicole Dunoyer, Geneviève Gentes, Céline Chantelauze, Arnaud Delavaud, David Chadeyron, Jean Luc-Montel, Jean-François Hocquette et Nicole Chonion. Je vous remercie tous pour votre accueil, votre disponibilité lorsque j'en ai eu besoin et par-dessus tout, votre convivialité. Cela fait effectivement beaucoup de monde pour peu de place dans une équipe de rugby, mais ils occuperaient le poste de « *centre* » pour la position centrale qu'ils ont joué dans mon environnement de travail tout au long de ma thèse.

La place de « *trois-quarts ailes* » revient à tous les thésards avec qui j'ai pu travailler. Ce poste nécessite de la résistance pour ne pas faire sortir du terrain par les charges adverses et une force « *physique et morale* » pour « *zigzaguer entre la défense* ». Je remercie donc tout particulièrement Lahlou avec qui nous avons partagé des galères et de très bons moments communs dans notre bureau. Je remercie aussi tout spécialement mes autres collègues thésards de bureau, Nicolas, Marwa, Marion et Julien qui m'ont supporté dans la rédaction. Je remercie

également parmi ceux qui sont déjà doctorants, Annabelle, Maya, Malek, Sgaier, Julie, Jessie, Claire, Inès et pour ceux qui le seront bientôt, Marion, Nicolas, Marwa, Julien, Giuseppe et Lenha pour la jovialité que nous avons partagée lors de nos journées de présentation commune et tous les moments conviviaux.

Pour compléter cette équipe, je remercie également tous les autres non-titulaires avec qui nous avons passé de bons moments. Pour le poste « *d'arrière* » j'ai nommé, Nicolas, Nicolas, Amélie, Amélie, Sarah, Sara, Jérémy, Jérémy (s'en est fini des doublons), Blandine, Mohamed, Hania, Refka, Yunlong, José, Thomas, Julie, Angélique. La titulaire à ce poste d'arrière reviendrait certainement à Valérie dite « *Vadrouille* » que je remercie tout spécialement pour les joyeux moments que nous avons passés ensemble. J'ai également une pensée particulière pour Audrey.

Dans le « *staff médical* », je remercie sincèrement Marie-Jo Monségu qui a toujours su réagir rapidement et jovialement pour « *soigner* » des situations administratives de dernière minute. Je te remercie également pour ces moments chaleureux et ta disponibilité. Je remercie également Nicolas Barrière, Nathalie Gocel, Annie Royet et Maryse Tesseydre pour leur aide pour le côté administratif de ma thèse et leur disponibilité.

J'entame maintenant mes remerciements pour mes collègues de « *troisième mi-temps* ». Par « *troisième mi-temps* », je parle des moments conviviaux qui m'ont permis de m'intégrer très rapidement dans ce beau pays qu'est l'Auvergne. Je remercie donc les équipes ADAS de football, de badminton et de basketball qui m'ont permis de sortir de mon bureau, de m'aérer l'esprit et d'élargir mes rencontres. Parmi ceux-ci je remercie tout particulièrement, Vincent et Nicolas pour m'avoir fait « voyager » dans leurs patries respectives, ainsi qu'Émilie et Valérie. Je remercie également, Vincent, Giuseppe et Adréa, mes compagnons d'aventure dans l'est australien pour tous les bon moments que nous avons passés et les « *dangereous* » rigolades que nous avons eues.

Il est possible que j'ai omis une personne ou deux qui ne se retrouvent pas dans les différents éléments que j'ai précédemment cités. Dans tous les cas, je les remercie et je les convie à rejoindre cette belle équipe.

Enfin, que serait une équipe sportive sans ses « *supporters* » ? Mes remerciements ici vont à mes parents, Jacques et Brigitte, ainsi qu'à ma sœur et sa famille, Claire, Bruno et Ninon et également ma belle-famille, Jean-Claude, Nicole, Lucile et Eulalie. Je vous remercie pour tout. Le mot « supporter » est ici très judicieux car je me tourne maintenant vers toi Elodie qui m'a à la fois subi et encouragé indéfectiblement tout au long de ce challenge. Au-delà des encouragements, je te remercie de m'ouvrir prochainement les portes des nouveaux challenges de jeune papa et de jeune marié. Mes derniers remerciements vont à ma fille qui est encore au chaud dans le ventre de sa mère. Je te remercie d'avoir communiqué avec moi avec tes pieds et tes mains au détriment de ta mère. Cela m'a beaucoup apaisé. Je ne peux malheureusement pas encore te nommer car, tes grands-parents trop curieux n'attendent que ça.

Titre : « Comment déterminer par une approche innovante et rapide des indicateurs prédictifs de la valeur nutritionnelle de la viande bovine ? »

Résumé : Dans un contexte où la consommation de viande bovine est en constante diminution, en partie à cause de sa composition lipidique, il apparaît important pour l'ensemble de la filière de pouvoir communiquer sur l'intérêt nutritionnel de cette viande et plus particulièrement sur sa composition en acides gras (AG). Pour que cette communication soit « efficiente » à tous les niveaux de la filière, il faut disposer de moyens analytiques fiables mais aussi faciles de mise en œuvre et de surcroît peu coûteux. La méthode analytique que nous avons choisi de tester est la spectrométrie proche infrarouge (SPIR) qui présente l'avantage d'être peu coûteuse, peu invasive et qui pourrait ainsi être utilisée à grande échelle et en routine en abattoir. Nous avons montré que la SPIR est performante pour déterminer les teneurs en AG saturés (AGS) et monoinsaturés (AGMI) ($R^2 > 0,9$). Dans les meilleures conditions pour la prédiction des AGPI (échantillons comportant des teneurs élevées en AGPI et/ou une grande variabilité), les performances de prédiction restent encore insuffisantes ($R^2 < 0,75$). Pour pallier cette faiblesse de la SPIR, des équations de prédiction indirectes des AGPI ont été mises en place à partir des teneurs en AGS et AGMI, teneurs correctement déterminées par SPIR, et les informations disponibles en abattoir. Ces équations élaborées par régression linéaire multiple ont permis de prédire correctement les AGPI totaux et les AGPI n-6 ($R^2 > 0,8$). Elles restent perfectibles pour la détermination des AGPI n-3 totaux ($R^2 = 0,64$) mais surtout pour le 18:3 n-3, le 20:5 n-3 et le 22:6 n-3 ($R^2 < 0,55$). L'objectif final de ce travail étant d'utiliser les équations en complément des mesures réalisées par SPIR à des fins industrielles afin de déterminer rapidement la composition en AG de la viande bovine, des études complémentaires seront nécessaires pour tester l'ensemble de notre démarche associant SPIR et équations de prédiction.

Mots clés : bovin, acide gras, viande, spectroscopie dans le proche infrarouge, régression linéaire multiple.

Title: "How to determine by an innovative and fast approach predictive indicators of the beef nutritional quality?" »

Summary: In a context where the consumption of beef is declining in part because of its lipid composition, an opportunity to revive the beef industry is to communicate with consumers on nutritional quality of beef, especially its fatty acids (FA) composition. To ensure this communication is "efficient" at all levels of the industry, we must have reliable analytical resources but also easy to implement and also inexpensive. The analytical method proposed for determining the beef FA composition is the near-infrared spectroscopy (NIRS) which is inexpensive, minimally invasive and could thus be widely used in routine in slaughterhouse. We showed that NIRS was effective to determine the concentrations of saturated (SFA) and monounsaturated (MUFA) FA ($R^2 > 0.9$). Under the best conditions for the prediction of PUFA (samples containing high levels of PUFA and / or with a high variability), PUFA predictions were still not enough ($R^2 < 0.75$). So, to overcome this weakness of NIRS, indirect prediction equations of PUFA were performed from the SFA and MUFA contents correctly determined by NIRS and information available in slaughterhouses. These equations, developed by multiple linear regression, were used to correctly predict total and n-6 PUFA ($R^2 > 0.8$). These equations are still to be improved for the determination of the total n-3 PUFA ($R^2 = 0.64$) and of the 18:3 n-3, the 20:5 n-3 and the 22:6 n-3 ($R^2 < 0.55$). Given that the ultimate aim of this research is to use the equations as a complementary tool in tandem with NIRS measurements to serve industry as a way to rapidly determine the FA content of beef, further studies will be needed to trial and test our novel coupled NIRS–prediction equations approach.

Keywords: cattle, fatty acid, meat, spectroscopy in the near infrared, multiple linear regression.

Table des matières

Liste des travaux	1
Liste des abréviations.....	3
Liste des figures	5
Liste des schémas.....	5
Liste des tableaux.....	6
Préambule	7
Chapitre 1 : Étude bibliographique. Évolution des attentes au niveau de la filière bovine : de la qualité sensorielle à la qualité nutritionnelle	9
Introduction.....	10
I. La tendreté de la viande bovine	12
A. Rappel sur les caractéristiques musculaires	12
B. Caractéristiques de la tendreté.....	12
B.1. Les fibres musculaires.....	13
B.2. Le tissu conjonctif.....	14
C. Méthodes de mesure de la tendreté	15
C.1. Test sensoriel	15
C.2. Force de cisaillement ou test de Warner-Bratzler.....	15
D. Méthode prédictive de la tendreté de la viande.....	16
D.1. Pucés de marqueurs biologiques liés à la tendreté.....	16
D.2. Le système Meat Standards Australia (« MSA »)	17
II. La qualité nutritionnelle	18
A. Les protéines	18
A.1. Évolution des attentes	18
A.2. Méthodes de mesure	19
B. Fer, micronutriments minéraux et vitaminiques	20
C. Les lipides et leur composition en acides gras	21
C.1. Le cholestérol.....	23
C.2. Les acides gras saturés	23
C.3. Les acides gras monoinsaturés.....	25

C.4. Les acides linoléiques conjugués (CLA)	25
C.5. Autres acides gras <i>trans</i>	27
C.6. Les AGPI : nouvel enjeu sociétal.....	28
III. Les méthodes d'analyse	35
A. La chromatographie en phase gazeuse	35
B. La RMN.....	36
C. La spectroscopie de fluorescence	37
D. La spectroscopie dans le proche infra rouge	39
E. L'imagerie hyperspectrale.....	40
F. Avantages et inconvénients des méthodes d'analyse des AG.....	41
Chapitre 2 : Objectif du travail de thèse	43
Chapitre 3 : Développement du travail de thèse	46
Étalonnage de la SPIR en vue de la détermination des teneurs en AG de la viande bovine	47
Prédiction des AGPI par des équations.....	50
Chapitre 4 : Étude expérimentale	60
Déroulement de la thèse.....	61
Publication n°1	63
Publication n°2.....	86
Publication n°3.....	96
Publication n°4.....	102
Chapitre 5 : Discussion Générale	115
Conclusions et Perspectives	124
Références bibliographiques.....	128

Liste des travaux

Publications scientifiques

Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Andueza, D. (2015). Breeds and muscle types modulate performance of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat. *Meat Science*, 99, 104–112.

Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Prache, S., Mairesse, G., & Andueza, D. (2014). New approach to improve the calibration of main fatty acids by near-infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat. *Animal Production Science*, 54, 1848–1852.

Andueza D., **Mourot B.P.**, Aït-Kaddour A., Prache S., & Mourot J. Utilisation de méthodes non invasives pour l'estimation de la qualité de la viande : la spectroscopie dans le proche infrarouge et la spectroscopie de fluorescence. INRA Production Animale. (*soumis à INRA Productions animales*)

Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Lebert, A. (2015). Prediction of polyunsaturated fatty acid proportions from saturated and monounsaturated fatty acids in beef. (*en préparation*).

Communications Scientifiques :

Communications orales

Normand, J., Cartes, A., Ferrand, M., Manceau, D., Mairesse, G., Thomas, A., **Mourot, B.P.**, Guillon, C., Durand, D., Gruffat, D., Le Page, R., Goujon, J.M., Kerhoas, N., Chesneau, G., (2014). Prédiction de la composition en acides gras des carcasses bovines par spectroscopie proche infrarouge : choix du site de mesure. In *15^{ème} Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes* (p. 51-52). Clermond-Ferrand (France).

Andueza, D., Picard, F., Martin, B., Graulet, B., Ferlay, A., **Mourot, B.P.**, Prache, S. (2014). Applications de la spectroscopie visible, en complément du proche infrarouge, dans le domaine de la production animale. 15èmes rencontres HélioSPIR. « Aux frontières du proche infrarouge » Résumé des communications pp9.

Mourot, B.P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Prache, S., Mairesse, G., & Andueza, D. (2014). New approach to improve the calibration of main fatty acids by near-infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat. In *First Joint International Symposium on the Nutrition of Herbivore / International Symposium on Ruminant Physiology*, Canberra, Australie.

Mourot, B.P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Andueza, D. (2013). O43 Prédiction de la composition en acides gras des lipides de la viande bovine par spectroscopie proche infrarouge (SPIR). In *Proceedings of the 11es Journées Francophones de Nutrition* (Vol. 27, p. S45). Bordeaux: Société Française de Nutrition.

Mourot, B.P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Lebert, A. (2013). Prediction of polyunsaturated fatty acid content in bovine muscle [abstract]. In *Proceedings of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science* (Vol. 19, p. 193). Nantes: Wageningen Academic Publishers.

Affiches

Mairesse, G., Certenaise, E., Chesneau, G., Normand, J., Ferrand, M., **Mourot, B.P.**, Thomas, A., Durand, D., Guillon, C., Manceau, D., Leguillon, Y., Kerhoas, N., (2014). Effet du mode de broyage sur la prédiction par spectroscopie proche infrarouge des acides gras de la bavette de flanchet chez le bovin. In *Proceedings of the 12es Journées Francophones de Nutrition* (Vol. 28, p. S70-71). Bruxelles (Belgique): Société Française de Nutrition.

Normand, J., Cartes, A., Ferrand, M., Manceau, D., Mairesse, G., Thomas, A., **Mourot, B.P.**, Guillon, C., Durand, D., Le Page, R., Kerhoas, N., Chesneau, G., (2014). Prédiction de la composition en acides gras des carcasses bovines par spectroscopie proche infrarouge : choix du site de mesure In *Proceedings of the 12es Journées Francophones de Nutrition* (Vol. 28, p. S71). Bruxelles (Belgique): Société Française de Nutrition.

Mairesse, G., Certenaise, E., Chesneau, G., Normand, J., Ferrand, M., **Mourot, B.P.**, Thomas, A., Durand, D., Guillon, C., Manceau, D., Leguillon, Y., Kerhoas, N., (2014). Prédiction du profil en acides gras de la bavette de flanchet par spectroscopie proche infrarouge. In *15^{ème} Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes* (p. 67-68). Clermont-Ferrand (France).

Mourot, B.P., Durand, D., Corraze, G., Médale, F., Mairesse, G., Andueza, D & Gruffat, D. (2014). Performance appraisal of NIRS to predict polyunsaturated fatty acid content in beef and fish. In *Proceedings of the 30th Biennial Conference of the Australian Society of Animal Production* (Vol. 30, p. 122). Canberra (Australie) : Australian Society of Animal Production.

Mourot, B.P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Lebert, A. (2013). Comment mesurer par une approche innovante et rapide (SPIR) la valeur nutritionnelle de la viande bovine et évaluera l'état de santé des animaux au cours de la période de finition ? In *16ème Journées de l'Ecole Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement*. Clermont-Ferrand, France.

Autre

Mourot, J., **Mourot, B. P.**, & Kerhoas, N. (2009). Comment consommer davantage d'acides gras n-3 sans modifier nos pratiques alimentaires? *NAFAS*, 7(4), 3-11.

Liste des abréviations

AA : acides aminés

ADN : acide désoxyribonucléique

AGS : acides gras saturés

AGPI : acides gras polyinsaturés

AGMI : acides gras monoinsaturés

AL : acide linoléique

ALA : acide alpha linoléique

ANC : apports nutritionnels conseillés

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (anciennement Afssa : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail)

ARA : acide arachidonique

CLA : acides linoléiques conjugués

CPG : chromatographie en phase gazeuse

DFD : dark firm dry

DHA : acide docosahexaénoïque

DIAAS : digestible indispensable amino acid score

DPA : acide docosapentaénoïque

EPA : acide eicosapentaénoïque

FUI : Fond Unique Interministériel

HDL : high density lipoproteins

HMGCoA réductase : hydroxyméthylglutaryl-CoA réductase

HNF : facteurs nucléaires hépatiques

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance

IHS : imagerie hyperspectrale

IHS-PIR : imagerie hyperspectrale dans le Proche Infrarouge

IR : infrarouge

IRM : imagerie par résonance magnétique

JB : jeune bovin

LC : longue chaîne

LDL : low density lipoproteins

LXR : récepteurs hépatiques X

MEC : matrice extracellulaire

MSA : Meat Standards Australia
MSC : multiplicative scatter correction
MyHC : myosin heavy chain
MyLC : myosin light chain
NADH : nicotinamide adénine dinucléotide
NF κ B : facteur nucléaire-kappa B
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PIR : proche infrarouge
PLS : partial least square
PNA : Programme National pour l'Alimentation
PNNS : Programme National Nutrition Santé
PPAR : récepteurs aux proliférateurs de peroxyosomes
PSE : pale soft exsudative
R² : coefficient de détermination
R²ajus : coefficient de détermination ajusté
R²CV : coefficient de détermination de la validation croisée
RLM : régression linéaire multiple
RMN : résonance magnétique nucléaire
RPD : rapport de performance de la déviation
RPPA : replicate identical protein arrays
RSE : erreur type résiduelle
RXR : récepteurs aux rétinoïdes
SECV : erreur type de la validation croisée
SF : spectroscopie de fluorescence
SNV : standard normal variate
SO : slow oxydative
SPIR : spectroscopie dans le proche infrarouge
SREBP : protéine de liaison à l'élément de régulation des stérols
TA : tissus adipeux
VIS/PIR : visible-proche infrarouge
VLDL : very low density lipoproteins

Liste des figures

Figure 1 : Quantité de viande consommée en France en 2013.

Figure 2 : Types d'animaux fournisseurs de viande bovine en France.

Figure 3 : Dispositif d'analyse sensorielle faisant appel à des jurys entraînés ou à des tests consommateurs.

Figure 4 : Cellule de Warner-Bratzler, équipée d'une lame percée.

Figure 5 : Structure de l'acide linoléique et du principal isomère de CLA d'origine biologique (9cis,11trans)

Figure 6 : Digestion des lipides dans le rumen.

Figure 7 : Ensemble des spectres obtenus en spectrométrie PIR avec application des prétraitements mathématiques.

Liste des schémas

Schéma 1 : Schéma représentatif de la structure du muscle et de la fibre musculaire.

Schéma 2 : Fibres de collagène incluses dans une matrice de protéoglycanes.

Schéma 3 : Représentation schématique des liens entre la réactivité au stress, le stress à l'abattage et les qualités des viandes.

Schéma 4 : Principales voies métaboliques de biosynthèse des acides gras polyinsaturés chez les mammifères.

Schéma 5 : Schéma représentatif d'un chromatographe en phase gazeuse et d'une chromatographie d'acides gras.

Schéma 6 : Appareil (A) et schéma de principe (B) d'un spectromètre de RMN.

Schéma 7 : Schéma descriptif de l'absorption et de l'émission de l'énergie lumineuse par une molécule fluorescente.

Schéma 8 : Portion du spectre électromagnétique.

Schéma 9 : Schéma descriptif du principe de la spectroscopie vibrationnelle d'une molécule diatomique selon le modèle simple de l'oscillateur harmonique.

Schéma 10 : Appareil, schéma de principe et spectre d'absorption d'un spectromètre dans le proche infrarouge.

Schéma 11 : Principe de fonctionnement de l'imagerie hyperspectrale.

Schéma 12 : Modèle conceptuel des données de l'entrepôt Nutriflux.

Schéma 13 : Logigramme simplifié de la démarche pour la construction d'un modèle de prédiction avec la régression linéaire multiple.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques structurales, contractiles et métaboliques des fibres musculaires.

Tableau 2 : Composition en nutriments de trois viandes bovines et apports nutritionnels conseillés (ANC) moyens.

Tableau 3 : Indice DIAAS (Digestibilité Indispensable Amino Acid Score) de différentes sources de protéines alimentaires.

Tableau 4 : Teneurs et apports nutritionnels conseillés (ANC) moyens des acides gras majeurs de trois types de viandes bovines.

Tableau 5 : Effets des acides gras polyinsaturés sur les systèmes physiologiques.

Tableau 6 : Actualisation des apports nutritionnels conseillés en acides gras pour l'adulte consommant 2000 kCal.

Tableau 7 : Composition en acides gras (% des AG totaux) de produits animaux de différentes espèces.

Tableau 8 : Facteurs de multiplication les plus favorables obtenus en nourrissant les animaux avec de l'ALA (graines de lin ou de colza).

Tableau 9 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'analyse des AG.

Tableau 10 : Résumé de la composition des bases de données « ω 3Meat », « INRA » et « Validation ».

Préambule

Le travail de recherche effectué dans le cadre de mon Doctorat d'Université a été réalisé à l'INRA, Centre de Clermont-Ferrand Theix, dans l'Unité Mixte de Recherches sur les Herbivores (UMRH, département PHASE) dirigée par Isabelle Veissier. Ce travail de thèse a été mené au sein de l'équipe «Animal Muscle Viande» (Amuvi, Responsables : Brigitte Picard et Isabelle Ortigues-Marty). Ce travail, réalisé de février 2012 à janvier 2015, a été financé par une bourse Cifre prise en charge par la société Valorex SAS (35210 Combourtille). De plus, ce travail fait partie intégrante du programme FUI (Fond Unique Interministériel) « SpecMeat » qui a débuté en 2012.

L'UMRH a pour mission de contribuer au développement des systèmes durables d'élevage des herbivores qui devront concilier l'efficacité des productions, la qualité des produits, la viabilité socio-économique avec la protection et la valorisation de l'environnement, et le bien-être animal. Dans ce cadre, les travaux de l'équipe Amuvi ont pour objectifs d'optimiser l'efficacité alimentaire de l'animal et les qualités sensorielles et nutritionnelles du produit muscle-viande par les facteurs d'élevage afin de proposer des solutions à la filière (producteurs, abatteurs, transformateurs) et de mettre à disposition des informations pour les consommateurs et le monde médical. Au sein de cette équipe, j'ai été associé au groupe « Métabolisme des lipides et des lipoprotéines » sous la responsabilité de Dominique Gruffat et Denys Durand. Ce groupe étudie plus particulièrement les mécanismes de régulation du métabolisme des lipides et des acides gras (AG) ainsi que leur sensibilité à la peroxydation dans le but d'améliorer la qualité nutritionnelle des lipides de la viande de ruminant tout en préservant la santé des animaux. Cette thématique s'est développée dans le contexte d'une diminution de la consommation de la viande bovine qui est attribuée à son coût trop élevé, à une grande hétérogénéité de ses qualités organoleptiques (Gandemer, 1999; Geay et al., 2002), à la crise de l'ESB mais aussi à une image « santé » négative auprès des consommateurs. La Société Valorex, en tant que fournisseur de noyaux extrudés riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3 à destination des fabricants d'aliments pour bétail, participe directement à l'amélioration de la qualité nutritionnelle des viandes et est donc impliquée dans le développement des filières de production agissant notamment sur la qualité lipidique des viandes.

Une des possibilités de relance de la filière bovine serait de communiquer auprès des consommateurs sur la qualité nutritionnelle (acides gras, indice de peroxydation) du morceau de viande qu'ils achètent. Les méthodes de caractérisation de la valeur nutritionnelle des viandes reposent aujourd'hui sur des analyses de laboratoire longues, destructrices et coûteuses (chromatographie phase gazeuse). Dans ce contexte, la mise au point de méthodes d'analyse rapides de ces indicateurs devient un élément déterminant. Ces analyses rapides et fiables permettraient 1) d'orienter l'éleveur dans ses choix de conduite à mettre en place dans son élevage pour améliorer les profils lipidiques des viandes 2) de mettre en œuvre des cahiers des charges avec obligation de résultats 3) de structurer les échanges commerciaux 4) de revaloriser l'image de la viande et l'activité de la filière bovine.

Pour concevoir ces indicateurs de différenciation de la qualité nutritionnelle de la viande bovine, la méthode analytique qui semble la mieux adaptée est la spectrométrie proche infrarouge (SPIR) qui présente l'avantage d'être peu coûteuse et peu invasive et qui pourrait ainsi être utilisée à grande échelle et en routine. Toutefois, la SPIR ne permet pas de déterminer correctement les teneurs en AG d'intérêt que sont les AGPI dans une viande bovine (Prieto et al., 2014; Sierra et al., 2008). Pour pallier cette faiblesse, des méthodes statistiques prédictives ont été créées pour déterminer indirectement les teneurs en AGPI à partir des AG correctement estimés par SPIR.

Ainsi, mon travail de thèse a été initié dans le but de prédire les teneurs en acides gras d'intérêt nutritionnel sur de la viande bovine broyée à partir de deux approches complémentaires : la SPIR couplée à des méthodes statistiques prédictives.

Une partie de mon sujet de thèse est intégré dans le projet FUI nommé « SpecMeat » qui associe en plus de Valorex (porteur du projet) et l'INRA : la société Terrena, l'Institut de l'Élevage, l'Université de Rennes 1 -Photon Ensatis Lannion et l'association Bleu-Blanc-Cœur. Ce projet a pour objectif de déterminer par SPIR la composition en AG de la viande bovine sur morceau entier ou grossièrement haché, sur carcasse mais aussi sur animal vivant. En parallèle de ce volet nutritionnel, le projet comporte un volet lié à l'évaluation de la santé des animaux en utilisant des paramètres musculaires mesurés par SPIR et des modèles de prédiction. Dans le cadre de ce projet, mon implication a été axée sur le développement des méthodes statistiques prédictives des AGPI.

L'intégration de mon sujet de thèse dans un programme plus large intégrant la majorité des acteurs de la filière bovine, m'a donné l'opportunité de mieux appréhender les préoccupations de chacun des acteurs et de les mettre en regard d'une recherche de type académique.

Chapitre 1 : Étude bibliographique.
**Évolution des attentes au niveau de la filière bovine : de
la qualité sensorielle à la qualité nutritionnelle**

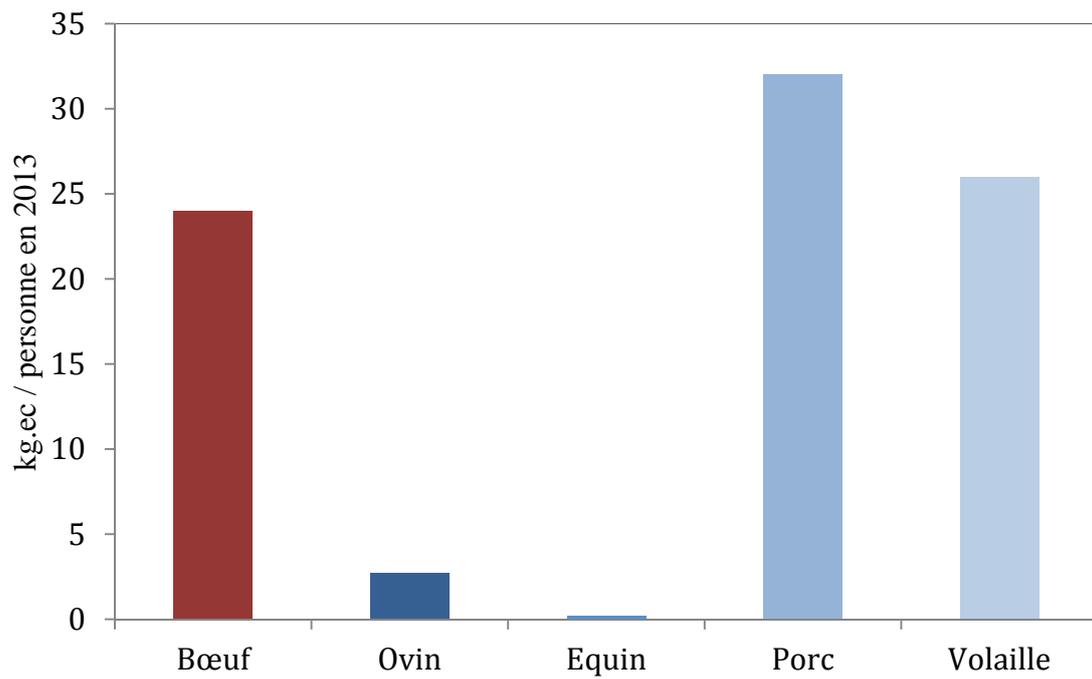


Figure 1 : Quantité de viande consommée en France en 2013.

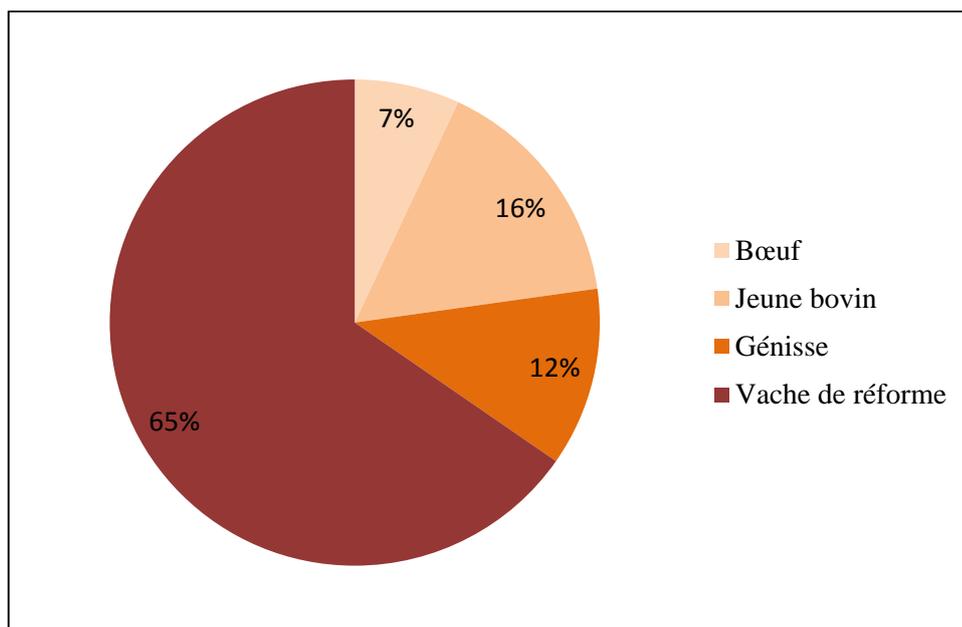


Figure 2 : Types d'animaux fournisseurs de viande bovine en France.

Introduction

La viande est une des composantes alimentaires traditionnelle de la nourriture de l'Homme. La consommation de viande est étroitement liée à l'évolution de l'Homme (Birlouez, 2013). D'une manière générale, au cours du temps, la consommation de viande est restée longtemps l'apanage des classes dominantes. Avec l'amélioration des techniques d'élevage et des conditions de la société humaine, sa consommation a toujours été en lente mais constante augmentation. Pendant les "Trente glorieuses", la consommation de viande explose, jusqu'à devenir biquotidienne. Elle va passer de 77,6 kg équivalent carcasse (ec) par habitant en 1970 à 94,5 kg.ec par Français en 1998 (FranceAgriMer, 2010). Depuis, la consommation totale française s'est stabilisée au niveau de 1998. Cependant, compte tenu de la croissance démographique, la consommation individuelle a perdu 9,5 kg.ec sur 15 ans pour atteindre 85 kg.ec par personne en 2013 (Institut de l'élevage).

La viande bovine occupe une place de choix derrière la viande de porc et de volaille dans notre alimentation, avec environ 24 kg.ec/habitant en 2013 (Figure 1). En l'espace de 40 ans, sa consommation a tout de même baissé d'environ 7 kg.ec/habitant, mais c'est en France qu'elle est la plus consommée par rapport au reste de l'Europe. Selon l'Institut de l'Élevage, 66% de la viande bovine consommée provient de vache de réforme, 16% provient de Jeune Bovin (JB) et le reste est réparti entre de la viande de génisse (12%) et de bœuf (7%) (Figure 2). Tout comme la consommation de viande bovine a évolué au cours du temps, les attentes des consommateurs concernant cette viande ont également changé. La première des demandes qui a toujours été et qui persiste en filigrane encore actuellement est d'avoir un aliment sain qui ne rende pas malade. Lambert (1987) a ensuite décrit deux principaux modèles de consommation alimentaire qui semblent se confronter. Il décrit le premier modèle comme "gastronomique". Celui-ci est caractérisé par un niveau élevé de dépenses et par une recherche des caractéristiques organoleptiques des produits. Pour ne parler que des caractéristiques intrinsèques de la viande bovine, le caractère organoleptique le plus recherché par les consommateurs est la tendreté (Grunert et al., 2004). Ce modèle est encore largement dominant aujourd'hui. Lambert (1987) a cependant constaté l'émergence d'un second modèle qui s'articule autour de deux principaux objectifs : la réduction des budgets monétaires et temporels consacrés à l'alimentation, et l'équilibre nutritionnel. Concernant ce dernier point, aussi bien les consommateurs (Enquête Crédoc, 2007) que le gouvernement avec la conception du Programme National Nutrition Santé (PNNS) en 2001 ou encore les industriels avec par exemple la création de filières spécifiques (Bleu-Blanc-Cœur, Bœuf de nos Régions), ont compris qu'une alimentation équilibrée contribue à améliorer la santé, le bien-être et à réduire les risques de développement de certaines pathologies chez l'Homme. Au fur et à mesure que les connaissances scientifiques ont été diffusées et assimilées par le plus grand nombre, les exigences des acteurs de la filière sur la qualité de la viande bovine ont également évolué. Ces demandes sont passées d'une connaissance de la digestibilité des protéines et de la composition en vitamines et minéraux de la viande, aux impacts des acides gras saturés (AGS) et des acides gras linoléiques conjugués (CLA) sur la santé, pour se concentrer actuellement sur les nutriments d'intérêt comme les acides gras polyinsaturés (AGPI) et plus particulièrement ceux de la famille n-3.

Compte tenu de l'évolution sensible des préoccupations du consommateur, l'ensemble des acteurs de la filière bovine développe de nouvelles stratégies pour répondre à ces changements. Au cours de notre étude bibliographique nous aborderons successivement ce que sous-entendent qualités sensorielle et nutritionnelle, en développant plus spécifiquement la partie concernant les lipides, cœur de notre préoccupation dans ce travail de thèse, en ayant soin dans chaque partie d'inventorier les moyens que la filière a en sa possession pour en moduler les caractéristiques mais aussi pour en « informer » de façon fiable et rassurante le consommateur.

Avant d'introduire la problématique et les objectifs de ce travail de thèse, nous allons présenter les questions que se pose la filière et l'évolution des attentes des consommateurs concernant la viande bovine et celle d'autres espèces au cours de ces dernières décennies. Nous aborderons les différentes formes de la qualité de la viande en commençant par l'aspect sensoriel, et plus spécifiquement le problème de la tendreté, jusqu'à la composante nutritionnelle principalement celle liée aux protéines et aux lipides avec une approche particulière pour les AGPI.

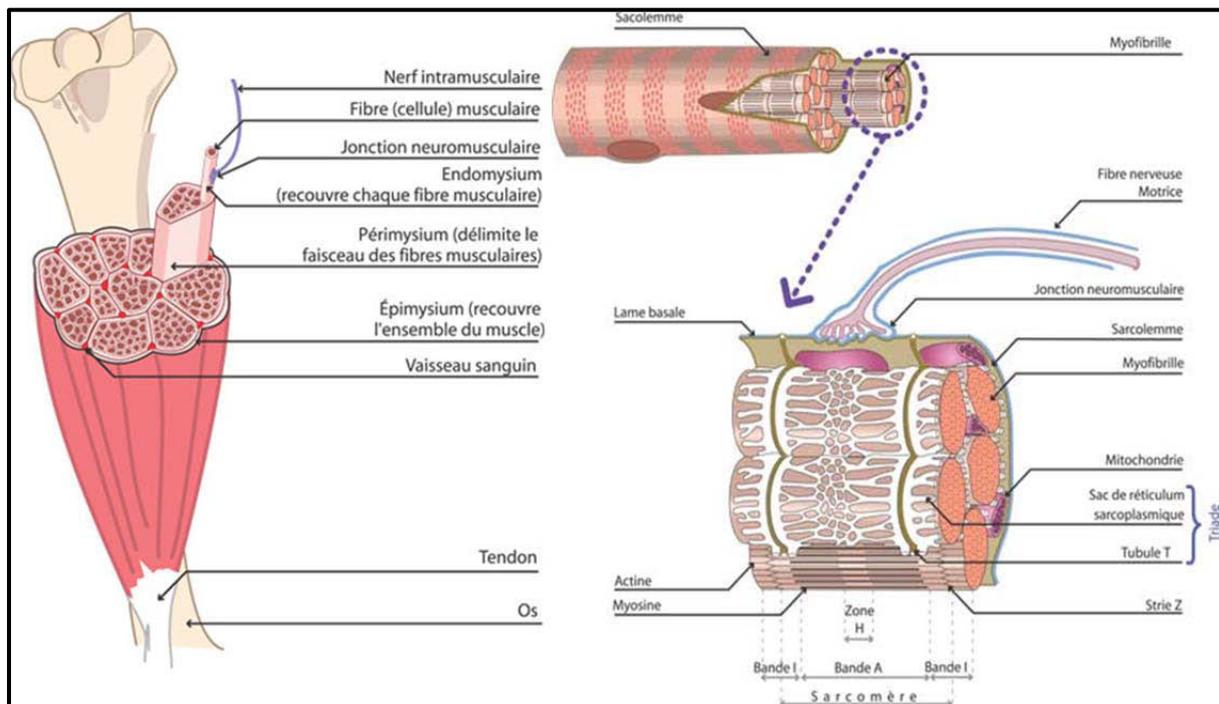


Schéma 1 : Schéma représentatif de la structure du muscle et de la fibre musculaire (d'après Jurie & Listrat, 2010)

I. La tendreté de la viande bovine

A. Rappel sur les caractéristiques musculaires

Le tissu musculaire squelettique est le tissu précurseur de la viande. Il représente environ 40 à 50% du poids vif chez le bovin avec toutefois des différences entre races en fonction de leur potentiel de croissance musculaire (Cuvelier et al., 2006). Il est constitué de faisceaux musculaires formés eux-mêmes d'un ensemble de fibres musculaires enveloppées à plusieurs niveaux de tissu conjonctif pour maintenir l'ensemble (Schéma 1). On y trouve également des vaisseaux sanguins pour l'approvisionnement en nutriments et oxygène ainsi que des fibres nerveuses pour assurer la réponse musculaire à un stimulus. Sa composition chimique est caractérisée par une forte teneur en eau (75%) et en protéines (19%) dont 60% sont des protéines myofibrillaires et 10% des protéines du tissu conjonctif, et par une faible teneur en lipides (2,5%) (Jurie & Listrat, 2010). À l'intérieur et autour du muscle se trouve le tissu adipeux (TA) qui constitue une partie du tissu conjonctif contenant des cellules graisseuses, appelées « adipocytes ». Ces cellules sont spécialisées dans la synthèse et le stockage des lipides et dans leur mobilisation en molécules énergétiques transportées aux autres tissus par le sang (Wertheimer & Shapiro, 1948). Cela permet d'assurer un équilibre entre les besoins et les apports chez de nombreux animaux. Ces TA représentent en moyenne 15% de la masse corporelle à l'âge adulte avec des variations allant de 5 à 35% selon les races, l'âge et l'alimentation (Bonnet et al., 2010). Les lipides qui composent les tissus adipeux sont essentiellement des triglycérides (en moyenne 85 % des lipides totaux) et, pour une moindre part, des phospholipides (12 % des lipides totaux) et du cholestérol (3 % des lipides totaux) (Bauchart et al., 2008). Ce tissu a également un intérêt particulier chez les animaux producteurs de viande, car il détermine en partie la valeur commerciale de la carcasse et la qualité de la viande. Après l'abattage de l'animal, le muscle va subir différentes transformations biochimiques contribuant au développement des qualités sensorielles de la viande.

B. Caractéristiques de la tendreté

La tendreté est considérée comme une propriété organoleptique qui traduit la facilité avec laquelle la structure de la viande peut être désorganisée au cours de la mastication (Ouali et al., 2006). À l'opposé, la dureté de la viande exprime la résistance qu'elle offre au tranchage ou à la mastication. La tendreté de la viande, principalement pour la viande bovine, est sans aucun doute le critère le plus important lorsqu'il est question de qualité organoleptique pour le consommateur (Grunert et al., 2004). Or, cette qualité, d'origine multifactorielle, présente une forte variabilité non maîtrisée qui induit une insatisfaction des consommateurs la jugeant décevante et irrégulière, ce qui explique en partie (avec le prix d'achat) la diminution de consommation de cette viande. La tendreté est sous la dépendance principalement de deux composantes, les fibres musculaires et le tissu conjonctif (Micol et al., 2010).

Tableau 1 : Caractéristiques structurales, contractiles et métaboliques des fibres musculaires (d'après Picard et al., 2003).

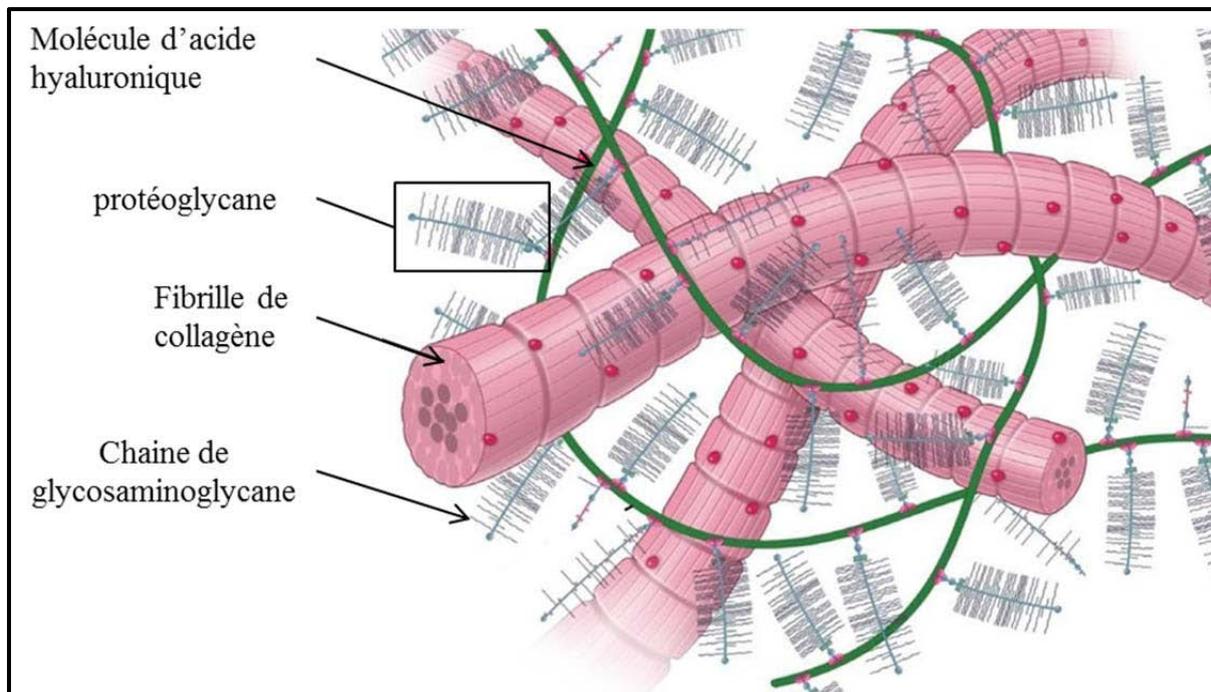
Types de fibres	I	IIA	IIX	IIB
Contraction	lente	rapide	rapide	rapide
Isoforme de myosine chaîne lourde	I	IIA	IIX	IIB
Activité ATPasique	faible	forte	forte	forte
Nombre de mitochondries	+++	++	+	+
Métabolisme	oxydatif	oxydo-glycolytique	oxydo-glycolytique à glycolytique	glycolytique

B.1. Les fibres musculaires

Les fibres musculaires qui occupent de 75 à 90% du volume musculaire sont des cellules plurinucléées de longueur variable (Schéma 1). Chaque fibre musculaire est constituée de myofibrilles de 1 à 2 μm de diamètre, chaque myofibrille étant elle-même constituée d'unités répétées appelées sarcomères (Choi & Kim, 2009). La structure ordonnée de chaque sarcomère est basée sur l'alignement de filaments épais et fins. La myosine et l'actine sont respectivement les protéines majoritaires de ces filaments. La myosine, qui représente à elle seule 50% des protéines myofibrillaires, est composée de 2 chaînes lourdes (MyHC, pour myosin heavy chain) et de 4 chaînes légères (MyLC, pour myosin light chain). Elle joue un rôle majeur dans la contraction musculaire, en particulier les MyHC qui existent sous différentes isoformes et permettent de définir les principaux types de fibres musculaires (Jurie & Listrat, 2010).

Il existe 4 principales isoformes de fibres musculaires qui sont classifiées à la fois sur leurs caractéristiques structurales, contractiles et métaboliques (Tableau 1). Les fibres de type I, ou à contraction lente acido-sensible (SO, slow oxydative), sont très représentées dans les muscles rouges. De petits diamètres et très vascularisées, ces fibres contiennent de nombreuses mitochondries et peu de glycogène. Elles sont utilisées dans le muscle pour des exercices peu puissants et prolongés. C'est le cas par exemple du cœur et du diaphragme. Les fibres de type IIA sont des fibres intermédiaires à contraction rapide et à métabolisme oxydo-glycolytique. C'est le cas par exemple du *Semitenidosus* ou rond de gîte. Les fibres de type IIX ont un diamètre plus grand, sont pauvres en mitochondries et peu vascularisées. Elles ont une contraction rapide et à métabolisme oxydo-glycolytique voire glycolytique. C'est le cas par exemple du *Longissimus thoracis* ou entrecôte. Ces fibres sont très fatigables mais elles sont très puissantes. Enfin, les fibres de type IIB sont de contraction rapide et de métabolisme glycolytique. C'est le cas par exemple du peaucier. Il existe de nombreux facteurs qui contribuent à la variation du type de fibre, comme le sexe, l'âge, la race, les hormones, et l'activité physique (Choi & Kim, 2009)

La tendreté de la viande est fortement affectée par la structure du tissu musculaire. L'ensemble des facteurs liés aux animaux ou au type de muscle influence les caractéristiques biologiques des muscles (teneurs en collagène, en lipides, en enzymes et en inhibiteurs enzymatiques, taille et type des fibres musculaires) et participe par conséquent à la grande variabilité de la tendreté (Micol et al., 2009; Picard & Cassar-Malek, 2009). De nombreux travaux ont mis en évidence des relations entre les propriétés des fibres musculaires et la tendreté. Toutefois, ces relations sont très variables en fonction du type de muscle, du type d'animal ou encore des conditions d'élevage. Par exemple, le muscle *Longissimus thoracis* (oxydatif) de vache apparaît plus tendre lorsqu'il est riche en lipides et notamment en triglycérides, lorsqu'il présente les propriétés les plus lentes et oxydantes et les teneurs en collagène total et insoluble les plus faibles (Picard et al., 2007). De manière opposée, le muscle *Semitenidosus* (glycolitique) le plus tendre est celui qui a l'activité glycolitique la plus élevée, cette propriété étant la seule significativement corrélée à la tendreté de la viande. Ceci démontre que la tendreté de la viande peut être expliquée par des caractéristiques



Copyright 2011 wolters kluwer health | lippincott williams & wilkins

Schéma 2 :Fibres de collagène incluses dans une matrice de protéoglycanes.

différentes et permet de comprendre les nombreuses contradictions rencontrées dans la bibliographie. *Post-mortem*, l'état de contraction de la fibre musculaire influence aussi grandement la tendreté. En effet, plus le muscle est contracté lors de l'établissement de la rigidité cadavérique plus la viande sera dure. Par exemple, l'état de contraction de la viande dépend de la vitesse de refroidissement de la carcasse. Une carcasse qui refroidit trop rapidement peut être sujette au phénomène de raccourcissement musculaire dû au froid appelé « contracture au froid » ou « cold shortening », qui augmente la dureté de la viande. La maturation de la viande a également un impact majeur sur la tendreté. Durant les jours suivant la *rigor mortis*, la structure même de la fibre musculaire est dégradée par des enzymes (calpaïnes, cathepsines, protéasome, métallopeptidases et sérines peptidases) entraînant un attendrissement de la viande (Ouali et al., 2006). De nombreuses études ont déjà été conduites afin d'expliquer cette variabilité, toutefois les caractéristiques biologiques étudiées jusqu'à présent expliquent au maximum 30% de la variabilité de la tendreté de la viande bovine (Renand et al., 2001). Il apparaît donc clairement que la tendreté de la viande est très difficile à maîtriser en raison de son origine multifactorielle.

B.2. Le tissu conjonctif

Le tissu conjonctif est un tissu de soutien constitué de cellules (fibroblastes, adipocytes...) et d'une matrice extracellulaire (MEC). Celle-ci est constituée de fibres de collagène incluses dans une matrice de protéoglycanes (Schéma 2). Ces deux classes de molécules forment un réseau continu autour des fibres, des faisceaux et du muscle lui-même (Jurie & Listrat, 2010).

Le collagène est une protéine qui présente des propriétés de rigidité mécanique et de résistance au cisaillement et à la compression. Il fixe la dureté de base de la viande. Les molécules de collagène sont reliées entre elles par différentes liaisons de réticulation (« cross-link ») pour former les collagènes fibrillaires. La solidité de ces liens s'accroît avec l'âge des animaux, contribuant ainsi à augmenter la résistance mécanique du collagène et au final la dureté de la viande (Lepetit, 2007). Il existe pas moins de 25 types de collagènes différents répartis en plusieurs catégories (fibrillaires, non fibrillaires, feuillet, filament perlé...) localisés dans les différents niveaux d'organisation du tissu conjonctif (Jurie & Listrat, 2010). La quantité et la nature du collagène sont variables en fonction de l'âge, de la race, du mode d'élevage, ou encore du type de muscle (Torrescano et al., 2003). Par contre, le collagène n'est pas ou très peu affecté par le processus de maturation. En revanche, une cuisson prolongée va provoquer la dégradation de certains types de collagènes et ainsi rendre la viande plus tendre (Ngapo et al., 2002).

Les protéoglycanes sont également des protéines qui jouent un rôle important dans la stabilisation du réseau de collagène intramusculaire. Elles sont sensibles aux changements physiologiques (augmentation avec la croissance, avec l'âge) et sont rapidement dégradées par les protéases au cours du stockage de la viande après l'abattage de l'animal (Dubost et al., 2013).

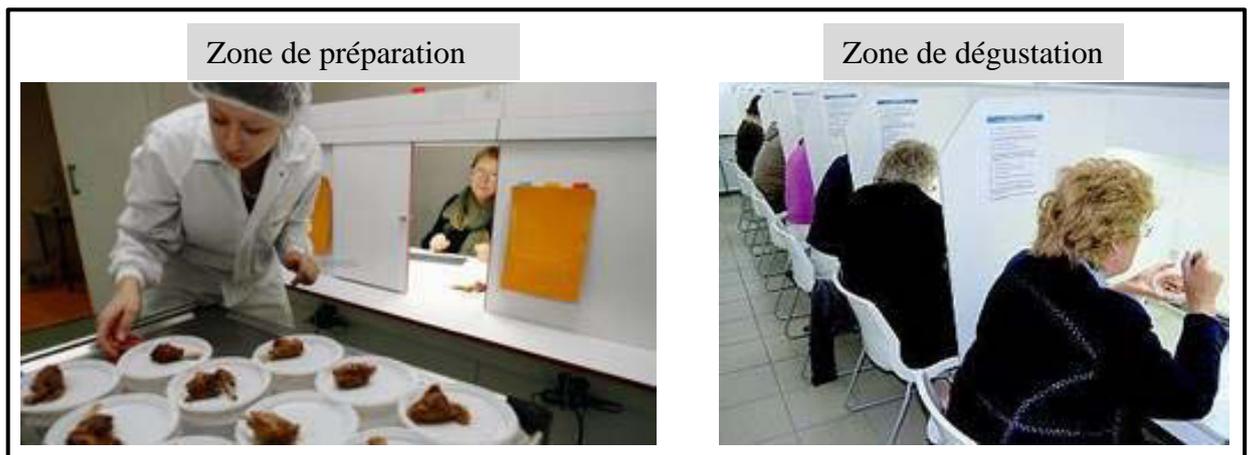
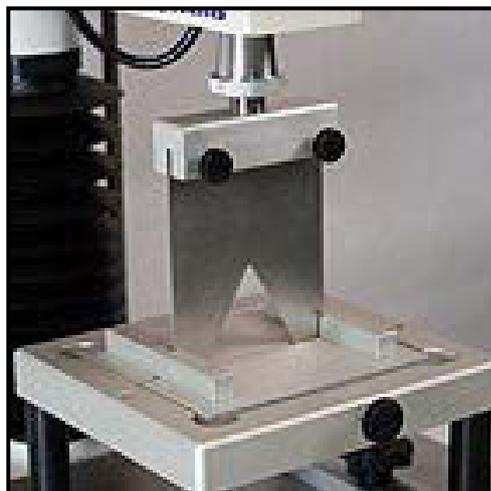


Figure 3 : Dispositif d'analyse sensorielle faisant appel à des jurys entraînés ou à des tests consommateurs.



La lame passe au travers du morceau de viande dans son intégralité afin de le couper en 2 et la tendreté est déterminée par le pic de force enregistré au cours du test.

Figure 4 : Cellule de Warner-Bratzler, équipée d'une lame percée.

C. Méthodes de mesure de la tendreté

La tendreté peut être appréciée soit par des méthodes d'analyse sensorielle faisant appel à des jurys entraînés ou à des tests consommateurs, soit par des méthodes mécaniques qui reposent sur les propriétés physiques ou rhéologiques de la viande (cisaillement, compression).

C.1. Test sensoriel

La norme française AFNOR NF ISO 5492 :2009 définit l'analyse sensorielle comme « l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens ». Il s'agit donc d'utiliser un jury de personnes, entraîné ou non, comme instrument de mesure en mettant à profit leurs capacités olfactives, gustatives, visuelles, auditives et tactiles pour caractériser et évaluer des produits, et plus particulièrement, en ce qui nous concerne, la tendreté de la viande bovine. En effet, la tendreté de la viande est une variable multicritère, et donc son évaluation peut varier en fonction des paramètres mécaniques ou rhéologiques mesurés. L'analyse sensorielle reste la seule méthode qui permette de définir la tendreté de la viande bovine telle qu'elle est perçue par le consommateur. Brièvement, un animateur de session demande à un jury (6 à 10 personnes) entraîné ou débutant, de déguster plusieurs morceaux de viande dans un local isolé de tout contact environnemental et humain pour ne pas être influencé dans son jugement. Suite à chaque dégustation, le jury note ce qu'il a goûté à partir de critères fixés au préalable (Figure 3). Toutes les données sont ensuite collectées et analysées statistiquement pour établir des relations selon les objectifs visés.

Ce type d'analyse implique beaucoup de contraintes aussi bien temporelles que financières et elle est très normalisée pour toutes les étapes : local d'évaluation (AFNOR, 2010), outils et opérateurs (AFNOR, 2007), jurys (AFNOR, 2008) et préparation des échantillons (Depledt, 2009). Toutefois, cette normalisation peut différer entre pays, car elle va s'adapter aux usages des consommateurs et ainsi induire des différences dans les résultats lorsque des échantillons sont comparés dans plusieurs pays.

Ainsi, l'analyse sensorielle ne peut pas être une méthode de mesure envisageable en routine pour déterminer la tendreté de la viande en temps réel.

C.2. Force de cisaillement ou test de Warner-Bratzler

La force de cisaillement mesure la contrainte nécessaire pour faire passer une arête tranchante à travers un morceau de viande perpendiculairement aux fibres musculaires (Figure 4). Le pic obtenu lors de la mesure correspond à la valeur de la force maximale nécessaire au cisaillement de l'échantillon. Cette méthode a été mise au point par Warner (1929) puis améliorée par Bratzler (1932) pour obtenir une version finale dans les années 50 (Warner, 1952). On parle donc de mesure des forces de cisaillement selon Warner-Bratzler (Cartier & Moëvi, 2007). Déterminée sur une viande crue maturée, la mesure correspond à la résistance du tissu conjonctif. Cette méthode permet d'obtenir de bonne corrélation ($r > 0,66$) entre la force de cisaillement et le collagène total présent dans la viande ou encore le collagène insoluble (Torrescano et al., 2003). Cependant, le test de Warner-Bratzler est surtout employé sur de la viande maturée cuite pour déterminer une note de dureté mécanique avec pour objectif de se rapprocher de la perception des consommateurs.

Même si la mesure de force de cisaillement permet d'avoir une évaluation totalement impartiale de la valeur de la tendreté, c'est, à ce jour, l'analyse sensorielle qui reste pour beaucoup « la méthode de référence » pour évaluer la tendreté. C'est à cette méthode que les résultats du test de Warner-Bratzler doivent se référer afin de vérifier leurs fiabilités. Ainsi, de nombreuses corrélations (Hildrum et al., 2009; Sullivan & Calkins, 2011) ont été mises en évidence entre les résultats obtenus par les mesures mécaniques et sensorielles à partir de la viande cuite. Les corrélations, jugées fortes, entre tendreté et force de cisaillement sont évidemment négatives, allant de - 0,26 à - 0,95 selon les expérimentations (Guillemin et al., 2009).

Parmi les méthodes mécaniques, la mesure de la force de cisaillement est la plus utilisée. Les autres méthodes telles que le test de compression, le test du pouce, le test de pénétration, le test de mastication sont redondants et ne présentent pas de meilleurs résultats que la force de cisaillement. Toutes ces méthodes sont détaillées dans un document de synthèse de l'Institut de l'élevage (Cartier & Moëvi, 2007).

D. Méthode prédictive de la tendreté de la viande

Toutes les méthodes de mesure présentées ci-dessus ne permettent toutefois d'évaluer la tendreté de la viande qu'*a posteriori* sur l'échantillon et d'extrapoler les conclusions à l'ensemble du morceau de viande. Il n'existe pas encore d'outils prédictifs de la tendreté de la viande bovine en France, mais plusieurs équipes de recherche s'intéressent à cette problématique.

D.1. Puces de marqueurs biologiques liés à la tendreté

Les processus physiologiques et notamment les propriétés du muscle déterminantes pour la qualité de la viande dépendent de nombreux gènes. Au cours de ces dernières années, les techniques «omiques» ont rendu possible l'étude simultanée de milliers de gènes ou protéines permettant ainsi d'identifier des régions génomiques influençant directement la tendreté de la viande (Picard et al., 2012). Ces recherches génomiques ont permis dans un premier temps de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'élaboration de la tendreté puis ont permis d'établir une liste de marqueurs biologiques liés à la tendreté dans le cadre de grands programmes (programmes MUGENE, QUALVIGENE, ProSafeBeef). Ainsi, à partir de ces informations, 2 outils ont été créés afin de prédire précocement la tendreté de la viande. Le premier outil est une puce à ADN sur laquelle plus de 3000 gènes liés à la tendreté de la viande ont été regroupés (puce GENOTEND, Agilent ; Hocquette *et al.* 2012). Cette puce permet de déterminer quels sont les gènes exprimés en fonction de la tendreté de la viande. Toutefois, étant donné la lourdeur de la préparation des échantillons, cette puce ne peut être utilisée pour l'instant que dans les laboratoires de recherche. Le second outil développé est une puce à anticorps pour mesurer l'abondance de protéines liées à la tendreté de la viande selon la technique RPPA (Replicate Identical Protein Arrays) (Guillemin et al., 2011) . Cette puce est actuellement en cours de développement et pourra tester jusqu'à 60 anticorps simultanément pour 25 échantillons en un temps relativement rapide (24 à 48h) et un coût par échantillon acceptable pour la filière (20 à 40 € par échantillon).

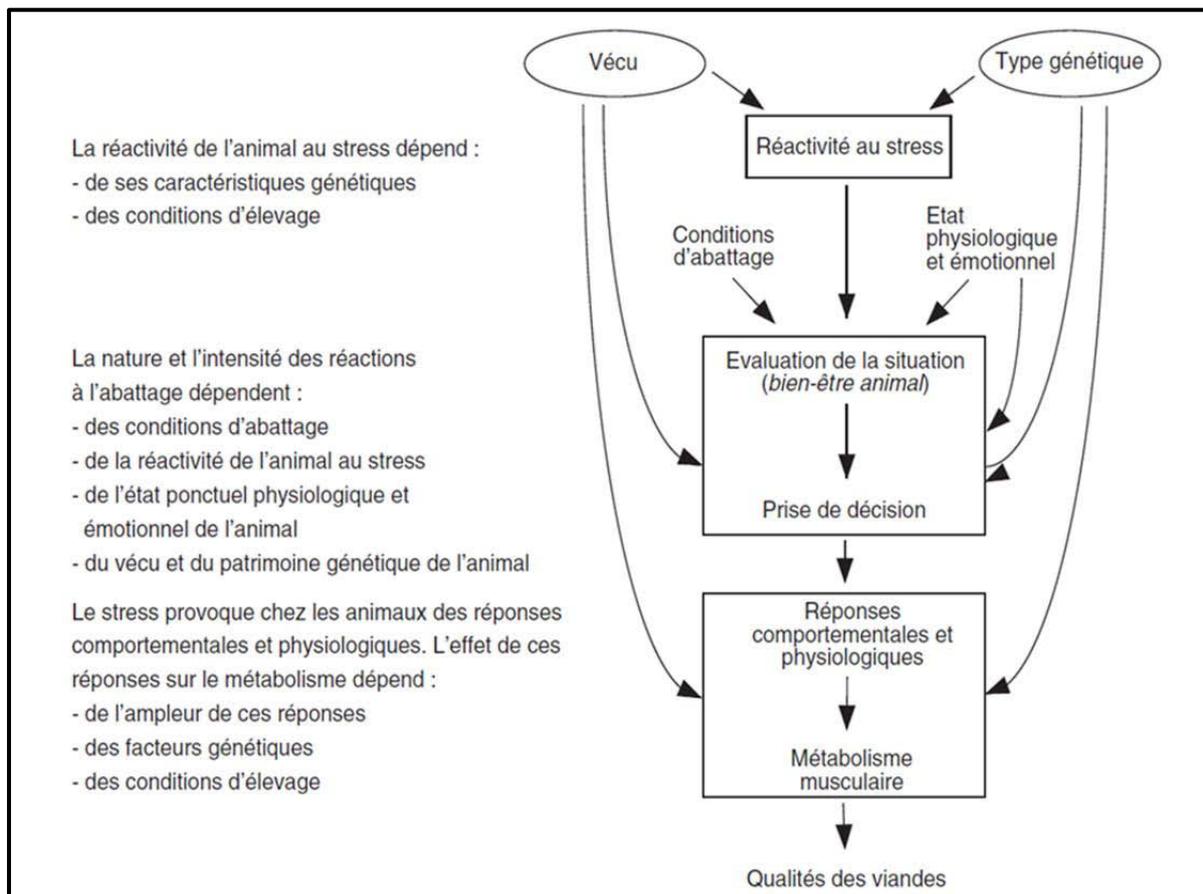


Schéma 3 : Représentation schématique des liens entre la réactivité au stress, le stress à l'abattage et les qualités des viandes (d'après Terlouw *et al*, 2001).

D.2. Le système Meat Standards Australia (« MSA »)

Le système Meat Standards Australia (MSA) est un outil prédictif de la qualité sensorielle de la viande bovine et ovine développé depuis 1996 pour les consommateurs australiens. Cette prédiction se fait par des corrélations entre muscle et mode de cuisson associé aux informations disponibles sur les animaux (mode d'élevage, abattage) et aux conditions de transformation des viandes. Ce système est basé sur des milliers d'évaluations sensorielles de consommateurs (entre 1996 et fin 2011, 647 080 échantillons de viande ont été testés auprès de 78 040 consommateurs australiens et 14 400 consommateurs d'autres pays). Cette approche est très novatrice dans le sens où elle se base sur l'appréciation des viandes par le consommateur pour remonter vers les pratiques des différents acteurs de la filière. Une autre particularité du système MSA est l'évaluation de la qualité de chaque muscle et de la carcasse de façon globale (Moëvi et al., 2008). Malgré la pertinence de cet outil de prédiction, ce système n'est pas adapté à l'évaluation de qualité de la viande bovine française ou européenne. En effet, ce système a été développé pour le cas spécifique de l'Australie et donc pour des caractéristiques d'élevage basées sur du pâturage très extensif et des races particulières. Donc, même s'il existe une cohérence du ressenti de la qualité de la viande entre les consommateurs français et australiens (Legrand et al., 2011), le système d'élevage bovin australien diffère totalement du système français. Certaines adaptations sont actuellement en cours de traitement pour la mise en place prochainement en France et en Europe d'un système de prédiction équivalent (Legrand et al., 2013).

Encadré 1 : Tendreté de la viande des autres espèces

Pour les autres viandes telles que la viande de porc ou de volaille ou la chair de poisson, les attentes des consommateurs ne sont pas les mêmes concernant la tendreté.

Le porc est par nature plus tendre que le bœuf. En effet, la viande de porc est beaucoup moins sensible au phénomène de « cold shortening » et le vieillissement post-mortem se produit à un rythme beaucoup plus rapide que pour la viande bovine ce qui se traduit par une viande plus tendre. En outre, le porc est abattu plus jeune que les bovins, avec un tissu conjonctif moins développé qui joue donc un rôle très mineur dans la qualité de la viande (Lefaucheur, 1989).

Concernant la filière poisson, le problème de tendreté est inverse puisque c'est la fermeté de la chair qui est recherchée. Le manque de fermeté survient surtout à cause de paramètres d'élevage ou technologiques. Pour les espèces de poissons adaptées aux environnements froids, la dégradation post-mortem des protéines de structure contribue à un ramollissement rapide du muscle de poisson lors de la conservation réfrigérée (Chéret et al., 2004). Cela peut donc entraîner un mécontentement des consommateurs. Des études sont actuellement en cours pour comprendre les mécanismes complexes de mise en place de la tendreté, et s'intéressent notamment à la sélection génétique de poissons (Lefevre et al., 2014).

Par contre, les porcs, volailles et poissons sont plus sensibles aux conditions pré-abattage (Schéma 3) (transport, attente,...) que les bovins. Le stress provoqué par ces

conditions de transport et d'abattage joue un rôle important sur l'évolution *post-mortem* du pH et peut induire de gros défauts de qualité des viandes liés à la capacité de rétention d'eau, à la couleur de la viande ou à la tendreté (Terlouw et al., 2012). En effet, dans un certain nombre de cas, le pH ultime de la viande est bas et la cinétique de chute est très rapide. Ces viandes sont appelées viandes PSE (Pale Soft Exsudative) car elles ont une couleur pâle, des pertes d'exsudats importantes, un mauvais rendement à la cuisson et des défauts de conservation. A l'inverse, il existe des viandes fermes, sèches, de couleur sombre et qui présentent aussi des défauts de conservation. Ce sont des viandes dites DFD (Dark Firm Dry). Ces viandes présentent un pH élevé (Adzitey & Nurul, 2011). Suite aux nombreuses études réalisées sur le sujet (Mitchell & Kettlewell, 2009; Monin, 2003), plusieurs recommandations ont été élaborées par les instituts techniques afin de réduire au maximum le stress des animaux avant l'abattage. Celles-ci font l'objet de lois (règlement (CE) n°1/2005 relatif à la protection des animaux durant le transport ; Directive 93/119/CE sur la protection des animaux au moment de leur abattage ou de leur mise à mort). Ces recommandations prennent en compte, entre autre, les conditions de chargement et de transport des animaux, la mise à jeun, le temps d'attente à l'abattoir, la température, l'agencement des bâtiments,...

II. La qualité nutritionnelle

La définition de la composition nutritionnelle se retrouve généralement dans les mentions figurant sur l'étiquetage des produits alimentaires : valeur énergétique, répartition des macronutriments (lipides, glucides, protéines), présence et teneur en micronutriments, vitamines, oligoéléments et sels minéraux. La qualité nutritionnelle de la viande bovine peut donc être modulée en fonction de la teneur et de la nature de ses protéines, lipides et micronutriments.

A. Les protéines

A.1. Évolution des attentes

Depuis les années 70, une des priorités, de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a été la détermination des besoins de référence en protéines de l'homme comme données opérationnelles pour l'évaluation de la qualité de l'apport alimentaire.

Les protéines sont des macromolécules constituées d'un enchaînement d'acides aminés (AA) dont la séquence est dictée par le code génétique pour chacune d'elles. Ce sont des composantes essentielles de notre alimentation qui, lorsqu'elles sont catabolisées, fournissent de l'azote, de l'énergie et des AA à l'organisme. L'Anses (2007) recommande de consommer environ $0,83 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de protéines de bonne qualité pour couvrir les besoins d'un homme adulte. Ce besoin augmente avec l'âge en raison du déséquilibre entre la synthèse des protéines et leur dégradation. Avec en moyenne 20 g.100g^{-1} de tissu frais de protéines, la viande bovine couvre près d'un tiers des besoins protéiques de l'organisme (Bauchart et al.,

Tableau 2 : Composition en nutriments de trois viandes bovines et apports nutritionnels conseillés (ANC) moyens. (d'après Bauchart et al., 2008 et ANC 2009).

	Tende de tranche	Bavette	Entrecôte	<i>ANC moyens</i>
Energie (kCal/100 g)	113	133	162	<i>2000 kCal</i>
Macronutriments - Protéines (g/100 g) - Lipides (g/100 g)	23,0 2,3	20,4 5,7	20,8 8,7	<i>66 (♂) - 50 (♀) g 80 - 100 g</i>
Micronutriments - Minéraux - Fe (mg/100 g) - Zn (mg/100 g) - Se (µg/100 g) - Vitamines - B3 (mg/100 g) - B6 (mg/100 g) - B12 (µg/100 g)	2,8 3,5 10,1 5,2 0,5 1,2	3,3 6,8 11,1 4,2 0,3 3,1	2,5 5,2 10,1 4,4 0,3 1,6	<i>9 (♂) - 16 (♀) mg 12 (♂) - 10 (♀) mg 60 (♂) - 50 (♀) µg 14 (♂) - 11 (♀) mg 1,8 (♂) - 1,5 (♀) mg 2,4 (♂) - 2,4 (♀) µg</i>

Tableau 3 : Indice DIAAS (Digestibilité Indispensable Amino Acid Score) de différentes sources de protéines alimentaires (d'après Rémond et al, 2014).

	Bœuf	Lait	Blé	Pois	Soja
Digestibilité iléale réelle, %	92	95	90	89	92
Acide aminé digestible par rapport à la protéine de référence					
Histidine	1,98	1,52	1,27	1,31	1,18
Isoleucine	1,50	2,26	1,54	1,49	1,60
Leucine	1,31	1,72	1,20	1,27	1,16
Lysine	1,87	1,68	0,65	1,43	1,02
Méthionine (+ cystine) (AAS)	2,31	1,39	1,71	0,82	1,23
Phénylalanine (+ tyrosine)	1,73	2,41	1,98	1,98	1,90
Thréonine	1,93	1,74	1,33	1,39	1,44
Tryptophane	2,04	2,23	1,93	1,49	1,82
Valine	1,58	2,48	1,77	1,66	1,58
DIAAS, %	131 (Leu)	139 (AAS)	65 (Lys)	82 (AAS)	102 (Lys)

2008) (Tableau 2). Parmi les 21 AA utilisés pour la synthèse des protéines, 9 sont appelés indispensables car ils ne sont pas synthétisés en quantité suffisante par l'organisme et doivent donc être apportés par l'alimentation. Il existe également des recommandations de consommation pour ces 9 AA essentiels (Anses, 2007). En fonction du/des AA(s) indispensable(s), un morceau de viande bovine peut couvrir de 48% à 75% de ces recommandations (Bauchart et al., 2008).

Ainsi, l'importance de la viande bovine comme source de protéines est sans équivoque. Elle présente une teneur en protéines relativement élevée qui varie peu d'un morceau à un autre. Ces protéines sont hautement digestibles et sont riches en acides aminés essentiels répondant ainsi parfaitement aux besoins de l'Homme (Culioli et al., 2003).

À partir des années 90, le concept de protéines « lentes » ou « rapides » et de digestibilité des protéines s'est développé grâce à une étude de Boirie et al. (1997). Chez l'Homme, la viande bovine est, à priori, une source de protéines « rapides », avec une aminoacidémie postprandiale maximale (2 fois la concentration basale) observée 2 h après un repas (Rémond et al., 2007). De plus, la digestibilité des protéines par l'organisme dépend conjointement de la cuisson de l'aliment et de sa mastication (Peyron et al., 2014). En effet, un aliment plus déstructuré par la mastication et cuit à température élevée activera de façon plus efficace la synthèse protéique postprandiale. Ces études sont très intéressantes pour une grande partie des personnes âgées atteintes d'une « résistance anabolique » du métabolisme protéique entraînant une fonte progressive de la masse musculaire (Dangin et al., 2003).

Un nouvel indice de la qualité nutritionnelle des protéines alimentaires a été récemment développé. Il s'agit de l'indice DIAAS (Digestible Indispensable Amino Acid Score) (FAO Expert consultation, 2013). Cet indice tient compte de la digestibilité de chacun des acides aminés indispensables et montre bien l'intérêt des protéines de la viande de bœuf (Tableau 3).

À l'heure actuelle, selon l'étude INCA 2, nous consommons trop de protéines ($1,4 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). Cependant, il n'y a pas encore de lien avéré entre la surconsommation de viande et la santé car de nombreuses études restent contradictoires. La viande rouge seule en consommation modérée (700 à 750 g maximum par semaine) ne peut être à l'origine de ces pathologies (McAfee et al., 2010). Toutefois, lorsque la viande est surconsommée, ou transformée avec des procédés créant ou apportant des composants cancérigènes, la prédisposition du consommateur à ce type de pathologies devient plus importante (Lecerf, 2011). Une des principales pathologies mise en relation avec la surconsommation de viande est le cancer colorectal. Nous reviendrons sur ce sujet dans les paragraphes suivants.

A.2. Méthodes de mesure

D'un point de vue nutritionnel, une protéine est une source d'azote d'une part et d'AA indispensables d'autre part, si bien que la détermination des teneurs en azote et en acides aminés est indispensable à la description d'une protéine.

La méthode de référence pour le dosage de l'azote dans les aliments est celle proposée par Kjeldahl (ISO 5983, 1997) basée sur une minéralisation pour détruire les composés

organiques de manière à obtenir tout l'azote sous forme minérale suivi d'un dosage acide-base. Il est également possible de mesurer l'azote non protéique des échantillons en faisant précéder le dosage de l'azote total par une étape de précipitation des protéines. Il est donc possible de calculer la teneur en azote protéique comme étant la différence entre la teneur en azote total et la teneur en azote non protéique.

L'analyse des AA permet quant à elle une quantification globale des AA de la fraction protéique et donc la détermination de leur concentration, des quantités d'AA indispensables, et de la qualité nutritionnelle en protéine de l'échantillon. La première étape de cette analyse est la déprotéinisation des échantillons (extraction de la fraction non protéique). Il existe ensuite différentes techniques pour analyser ces composés : la chromatographie sur papier, des analyses microbiologiques, l'électrophorèse, la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie d'échange d'ions (méthode de Spackman, méthode de Moore et Stein), la spectrométrie de masse,... Toutefois, aucune méthode ne permet d'obtenir un profil complet des acides aminés en une seule fois.

La mise en œuvre de ces analyses de laboratoire dépend donc de l'objectif visé. Si l'objectif est de connaître, pour des raisons technologiques ou réglementaires, la teneur globale en protéines d'une matière première, il est suffisant de quantifier l'azote total pour une estimation simple. Si l'objectif est d'évaluer la qualité nutritionnelle de l'apport azoté, il est nécessaire de mesurer les quantités d'AA indispensables.

Ces dernières années, des travaux rapportent l'utilisation de la méthode de spectrophotométrie infrarouge pour l'estimation de la teneur en azote de la viande (Prieto et al., 2014; Ripoll et al., 2008). Cette méthode consiste à mesurer à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge la quantité de rayonnement absorbé par les groupements amides des liaisons peptidiques. Cette méthode est rapide et de plus en plus utilisée. Elle sera plus précisément détaillée dans la suite de l'étude bibliographique (voir partie III G 4).

B. Fer, micronutriments minéraux et vitaminiques

La viande bovine présente des teneurs élevées en fer (environ 3 mg.100g⁻¹) (Tableau 2) et possède deux atouts : 1) le fer héminique qui représente environ 70% du fer total de la viande est 5 à 6 fois mieux absorbé que le fer non héminique présent dans les végétaux, et 2) la viande améliore de 2 à 3 fois l'absorption du fer non héminique des autres aliments qui l'accompagnent au cours du repas (Bauchart et al., 2008).

La viande bovine constitue l'une des meilleures sources alimentaires de zinc avec à la fois des teneurs importantes (3 à 7 mg.100g⁻¹) et une très bonne biodisponibilité du zinc par rapport à d'autres sources alimentaires (Bauchart et al., 2008; Geay et al., 2002). Elle fait également partie des aliments qui contiennent le plus de sélénium (environ 10 µg.100g⁻¹). La viande représente aussi une source majeure de vitamines B3 (4 à 5 mg.100g⁻¹), B6 (0,3 à 0,5 mg.100g⁻¹) et tout particulièrement de B12, vitamine exclusivement présente dans les produits d'origine animale. Ainsi, 100 g de viande bovine couvrent 20 à 30% des ANC en fer, zinc et sélénium, et 50 à 100 % de l'ANC en vitamine B12 (Tableau 2).

Toutefois, actuellement, un débat autour de la filière de la viande bovine porte sur les relations entre fer héminique, lipides insaturés et stress oxydant. En effet, la viande rouge et les produits transformés à base de viande présentent clairement un risque pour le développement du cancer colorectal selon les méta-analyses d'études épidémiologiques (WCRF, 2007). Le risque relatif n'est pas trop élevé (risque relatif de 1.25 à 1.30) mais les recommandations du WCRF sont plutôt énergiques : limiter la viande rouge (moins de 300 g/semaine) et éviter les produits transformés à base de viandes. L'hypothèse principale proposée pour expliquer le risque de cancer associé à la viande est que le fer héminique de la viande augmenterait la lipoperoxydation et la nitrosation et donc la cytotoxicité au niveau du tube digestif (Pierre et al., 2007, 2008).

Encadré 2 : Protéines, fer et micronutriments dans la viande des autres espèces

Concernant les protéines, l'ensemble des viandes de type bœuf, porc, veau et mouton constitue le premier groupe alimentaire d'apport de protéines pour la population française (Anses, 2007). Pour un homme adulte, les viandes de poulet, de porc et de bœuf apportent respectivement 6, 5 et 6.5 % des protéines. Ce groupe devance le second groupe contributeur de 6 à 7 points (soit une contribution moindre de 40 %) qui est constitué par le lait chez les enfants, par les volailles et gibiers chez les femmes et par les pains et biscottes chez les hommes. Tout comme les protéines de la viande bovine, les protéines d'origine animale d'une manière générale, sont très digestibles par l'Homme en quantité similaire (Rémond et al., 2007). Pour les acides aminés indispensables, les teneurs sont également analogues entre les viandes de porc, de poulet, de lapin et de bœuf. Ainsi, à ce niveau, il n'y a pas de différence entre les viandes des différentes espèces.

Pour les micronutriments, la viande bovine reste la viande la plus riche en fer et en vitamine B12. Les viandes de porc ou de poulet en sont 2 à 3 fois moins pourvues (Geay et al., 2002). D'après les données du CIQUAL (2013), la viande de porc apporte une quantité de zinc similaire à la viande bovine. Par contre, les viandes de cheval, d'agneau et de volaille sont beaucoup plus pauvres en zinc (1 à 3 mg.100g⁻¹). Le sélénium est présent en quantité relativement plus élevée dans la viande de lapin (77 µg.100g⁻¹ de viande cuite) que dans la viande bovine. Dans une moindre mesure, les viandes de porc et de volaille sont également plus riches en sélénium que la viande bovine.

C. Les lipides et leur composition en acides gras

La teneur en lipides des viandes bovines (Tableau 2) est le paramètre le plus variable de sa composition allant de moins de 1 à 14 g.100g⁻¹ tissu frais (Basarab et al., 2007; Cuvelier et al., 2005), cette teneur étant principalement fonction du morceau considéré, expliquant environ 55% de cette variabilité (Bauchart et al., 2008; Geay et al., 2002). Toutefois, l'avantage de la viande bovine est que le consommateur peut facilement séparer le gras visible de la viande lorsqu'elle est dans son assiette et, de ce fait, diviser d'un facteur 2 ou 3 la teneur en lipides du morceau.

Tableau 4 : Teneurs et apports nutritionnels conseillés (ANC) moyens des acides gras majeurs de trois types de viandes bovines (d'après Bauchart et al 2008, Afssa 2010).

	Tende de tranche	Bavette	Entrecôte	ANC moyens
————— mg / 100 g de tissu frais —————				
Somme des AGS	799	2200	3880	<i>25 g</i>
dont 16:0	475	1251	2194	<i>nd</i>
dont 18:0	229	636	1169	<i>nd</i>
Somme des AGMI	785	2163	3165	<i>60 g</i>
dont 18:1 n-9 <i>cis</i>	643	1724	2624	<i>nd</i>
Somme des AGPI	178	269	240	<i>15 g</i>
dont 18:2 n-6 tous <i>cis</i>	68	133	130	<i>8,8 g</i>
dont 20:4 n-6 tous <i>cis</i>	30	29	25	<i>nd</i>
dont 18:3 n-3 tous <i>cis</i>	14	28	31	<i>2,2 g</i>
AG trans (sauf CLA)	41	118	213	<i>nd</i>
Rapports nutritionnels				
AGPI/AGS	0,3	0,2	0,1	
18:2 n-6/18:3 n-3	5,1	5,0	4,2	<i>≤ 5</i>

AGS : acides gras saturés ; AGMI : acides gras monoinsaturés ; AGPI : acides gras polyinsaturés ; CLA : acide linoléique conjugué

Les AG des lipides des viandes bovines se caractérisent par des teneurs pratiquement équivalentes AGS (42 à 52% des AG totaux) et AG monoinsaturés (AGMI, 43 à 48% des AG totaux) (Bauchart et al., 2010) (Tableau 4). Les AGS dominants sont l'acide palmitique (16:0, 21 à 29% des AG totaux) et secondairement l'acide stéarique (18:0, 12,1 à 22,1% des AG totaux), l'AGMI dominant étant l'acide oléique (18:1 n-9*cis*). La proportion d'AGPI est plus faible et relativement plus variable (3 à 12 % des AG totaux), les deux AGPI majoritairement représentés étant l'acide linoléique (18:2 n-6 ou AL, de 1,5 à 4,5% des AG totaux) et l'acide α -linoléique (18:3 n-3 ou ALA, 0,3 à 0,9% des AG totaux). Ces AGPI sont tous deux des AG essentiels (non synthétisés par l'organisme humain). Les viandes bovines possèdent également, et à la différence des produits laitiers, des AGPI longue chaîne (LC) de type n-6 (dominés par le 20:4 n-6 ; 0,4 à 2,3% des AG totaux) et surtout de type n-3 (0,3 à 3,3% des AG totaux), notamment le 20:5 n-3 (EPA), le 22:5 n-3 (DPA) et le 22:6 n-3 (DHA) très bénéfiques pour la croissance corporelle et le maintien des fonctions cognitives de l'homme mais limitants dans son alimentation. Un apport journalier de 100 g de viande fournit en moyenne 60 à 200 mg d'AGPI LC totaux ce qui correspond à 12 à 40% de l'ANC. Enfin, les teneurs en acides gras monoinsaturés *trans* (AGMI *trans*) des viandes bovines restent limitées (en moyenne 0,1 à 0,2 g.100g⁻¹ de tissu frais, Bauchart et al., 2010) n'entraînant pas de conséquence significative sur la santé aux niveaux auxquels ils peuvent être consommés (ANC, 2009), notamment les AGMI *trans* de type acide vaccénique (18:1 n-9*tr*) aux propriétés bénéfiques hypocholestérolémiantes abondants dans les viandes de bovins ayant consommé des fourrages verts (Bauchart et al., 2010).

Ainsi, bien que la majorité des viandes bovines apportent moins de 6% de lipides, ceux-ci sont majoritairement composés d'AGS et AGMI avec une faible proportion d'AGPI. C'est pourquoi, de nombreuses recherches portent actuellement, chez les bovins en finition, sur l'impact de rations riches en AGPI n-6 ou n-3 (herbe, graines oléagineuses...) sur le métabolisme lipidique tissulaire afin d'améliorer la qualité nutritionnelle de la viande en modifiant la composition des acides gras déposés dans les muscles.

Encadré 3 : Lipides dans la viande des autres espèces

Tout comme pour la viande bovine, les teneurs en lipides totaux des viandes de monogastriques et des autres ruminants sont très variables en fonction du morceau choisi, de la race de l'animal, de la qualité, de la quantité de l'alimentation apportée,... (Hocquette et al., 2010; Mourot & Hermier, 2001). De manière générale, les viandes de lapin et de volaille sont les plus maigres avec globalement 1 à 3% de lipides intramusculaires (Baéza, 1995; Kouba et al., 2008; Mourot & Hermier, 2001). Toutefois, nous pouvons trouver des fortes teneurs en lipides (dépassant les 10%) dans certains muscles de ces animaux (par exemple la cuisse avec la peau chez le poulet) (Dalle Zotte, 2002). Contrairement à ce qui est globalement perçu, la viande de porc est également maigre avec des teneurs en lipides allant de 1 à 8 % (Dalle Zotte, 2002; Mourot & Hermier, 2001). Toutefois, certains muscles peuvent également largement dépasser ces niveaux de lipides intramusculaires (> 20 % dans le muscle tel que l'échine, la poitrine,...). Comme chez les mammifères et les volailles, chez les espèces de poissons de grandes différences sont observées dans les teneurs en lipides intramusculaires

en fonction de la capacité du muscle à stocker de l'énergie sous forme de graisse. Ce trait de caractère est utilisé pour classer les espèces de poissons : les espèces telles que le cabillaud contenant moins de 3% de lipides dans le muscle sont dites «maigres», les espèces comme le saumon de l'Atlantique qui contiennent plus de 10% de lipides sont dites « grasses » et les espèces avec un taux de lipides musculaires entre 4% et 10%, comme la truite arc en ciel, sont considérés comme « intermédiaires » (Médale et al., 2003).

C.1. Le cholestérol

Le cholestérol est un lipide qui peut être apporté par la viande bovine. Il est le précurseur des hormones stéroïdiennes (œstrogènes, testostérone, ...) et également un élément important des membranes cellulaires, notamment au niveau du cerveau. Dans l'organisme, il provient soit de l'alimentation, exclusivement à partir des produits animaux, soit d'une synthèse endogène. La synthèse comme l'absorption du cholestérol fait l'objet d'une régulation fine permettant d'assurer un niveau stable de cholestérol dans l'organisme. Comme les autres lipides, il est transporté dans le sang sous forme de lipoprotéines : LDL (Low Density Lipoproteins) ou HDL (High Density Lipoproteins). Une concentration plasmatique élevée en cholestérol LDL est un facteur de risque de maladies cardiovasculaires alors qu'à l'inverse, l'élévation du cholestérol des HDL pourra jouer un effet protecteur.

Pour les détracteurs de la viande bovine et des produits carnés d'une manière générale, l'argument qui a souvent été mis en avant au début de leur campagne était que la viande était trop grasse, riche en cholestérol et, de ce fait, mauvaise pour la santé. En fait, bien que la viande bovine contienne des quantités significatives de cholestérol (50 à 100 mg.100g⁻¹) (Geay et al., 2002), ces teneurs sont bien plus faibles que celles des abats (400 mg.100g⁻¹) ou des œufs (1600 mg.100g⁻¹) et proches de celles de la chair de poisson (60-100 mg.100g⁻¹) ou les viandes de porc et de volaille (100 mg.100g⁻¹). De plus, il est important de souligner que chez l'Homme, plus de la moitié du cholestérol est synthétisé dans le foie et l'intestin (700 à 1250 mg.jour⁻¹) et non pas fourni par l'alimentation. De ce fait, la cholestérolémie est peu influencée par le cholestérol exogène (Connor & Connor, 1995) sauf si celui-ci atteint 100-300 mg.j⁻¹, valeurs seuils modifiant linéairement la cholestérolémie (cette dose est apportée par un seul jaune d'œuf). Ainsi, les chances de voir la population se soumettre à de telles contraintes de restriction alimentaire pour un bénéfice individuel modeste, voire hypothétique (baisse au mieux de 10 à 15 % du cholestérol total plasmatique), paraissent dérisoires (Legrand et al., 2009).

C.2. Les acides gras saturés

Les AGS, comme évoqué précédemment, représentent globalement 42 à 52% des AG totaux présents dans la viande bovine (Bauchart et al., 2010). Toutefois cette proportion peut être moindre en fonction des races d'animaux et de leur alimentation comme par exemple chez les taurillons Blanc Bleu Belge réputés pour être très maigres et dont la proportion en AGS ne dépasse pas 35% des AG totaux (Raes et al. 2003). Les AGS sont souvent décriés par les détracteurs de la viande. Ils se fondent sur de nombreuses études démontrant qu'une

consommation élevée d'AGS est positivement corrélée à une augmentation de la cholestérolémie et à des taux élevés de mortalité coronarienne (Keys, 1970; Kromhout et al., 2000). Toutefois, les AGS pris de façon individuelle ont des origines, des métabolismes et des fonctions différentes et ne doivent pas être considérés tous de la même façon (Hughes et al., 1996; Legrand & Rioux, 2010).

Tout d'abord, les AGS, dont la longueur de chaîne varie de 4 à plus de 20 carbones, ont deux origines : 1) une origine endogène car ils sont synthétisés par tous les organismes vivants, dont l'homme, notamment au niveau du foie, du cerveau et du tissu adipeux et 2) une origine exogène de par leur apport par l'alimentation. Les deux AGS les plus synthétisés par l'organisme à partir du glucose et de l'acétate sont l'acide palmitique (16:0) et l'acide stéarique (18:0). Les AGS à plus longue chaîne sont produits en moindre quantité par élongation dans les tissus, leur origine privilégiée étant l'alimentation. Le métabolisme et les fonctions des AGS sont différents en fonction de la longueur de leur chaîne carbonée :

- Les AGS à chaîne courte : le plus court des AGS étant l'acide butyrique (présent dans les produits laitiers), a un rôle avéré protecteur contre le développement du cancer colorectal.
- Les AGS à chaîne moyenne : ils n'ont aucun effet hypercholestérolémiant et ne sont pas non plus associés au risque cardiovasculaire. Ils sont utilisés en nutrition clinique car ils sont très vite absorbés et sont des sources d'énergie rapide.
- AGS à longue chaîne (laurique, myristique, palmitique) : ce sont les plus abondants dans l'alimentation. Consommés en excès, ces AGS sont athérogènes. L'acide myristique est considéré comme le plus hypercholestérolémiant des AGS (Kris-Etherton and Dietschy 1997) bien qu'il soit plus rapidement métabolisé (oxydé) que l'acide palmitique (Rioux et al., 2000). Ces AGS sont des constituants des triglycérides, des phospholipides, et des sphingolipides, constituants importants des membranes. Dans les membranes, ce sont les AGS des sphingolipides qui assurent, aux côtés du cholestérol, l'établissement de zones rigides nécessaires aux activités des enzymes, transporteurs et récepteurs qui s'y trouvent. Les sphingolipides sont en outre directement impliqués dans la croissance et la différenciation cellulaire, dans le déclenchement de l'apoptose et dans la réponse au stress.
- L'acide stéarique : il n'a aucun effet hypercholestérolémiant et n'est pas non plus associé au risque cardiovasculaire. Il pourrait toutefois avoir un rôle pro-lipogénique (Legrand & Rioux, 2010). Le taux de conversion élevé du 18:0 alimentaire en 18:1 n-9 par la $\Delta 9$ -désaturase a été suggéré pour expliquer cet effet neutre sur le métabolisme du cholestérol. D'autre part, cette désaturation a été décrite comme une étape essentielle à la médiation de l'induction de la lipogénèse favorisant ainsi le risque d'obésité (Sampath et al., 2007).

Notons enfin que certains AGS à très longue chaîne occupent une place importante dans la structure des membranes nerveuses, notamment dans la myéline.

En raison de leurs origines multiples, il est difficile de quantifier la part potentielle des AGS d'origine alimentaire par rapport aux AGS endogènes, en particulier pour l'acide palmitique.

Les apports nutritionnels conseillés pour les AGS totaux et pour la somme des 12:0 + 14:0 + 16:0 sont, respectivement, de moins de 12 % (soit moins de 25 g/j) et de moins de 8 % de l'apport énergétique total chez l'adulte. Cependant, la consommation moyenne estimée d'AGS par la population française se situe entre 14 et 17 % de l'apport énergétique total selon la classe d'âge et le sexe considérés. Il n'y a pas de recommandation spécifique pour les AGS individuels (Tableau 4). Les aliments les plus gros contributeurs à l'apport d'AGS sont le beurre, le fromage et la charcuterie. La viande est la quatrième source principale d'apport en AGS. Pour la viande bovine, les teneurs en AGS totaux dépassent rarement les 4 g.100g⁻¹ de viande (muscle intercostal, Basarab et al., 2007) quels que soient les morceaux consommés soit seulement 16% des apports nutritionnels conseillés.

C.3. Les acides gras monoinsaturés

Comme les AGS, les AGMI proviennent d'une part de la synthèse endogène et d'autre part de l'alimentation (notamment l'huile d'olive). Quantitativement, l'acide oléique (18:1 n-9) représente l'élément majeur des AGMI. Il est activement synthétisé par les cellules et très abondant dans tous les aliments d'origine végétale et animale. Il représente donc la quasi-totalité des AGMI en nutrition humaine. Il est utilisé comme source d'énergie et est également un constituant de tous les types de lipides, en particulier des triglycérides de réserve (tissu adipeux) qu'il maintient, grâce à son insaturation, à l'état fluide à la température du corps. L'acide oléique assure différentes fonctions :

- Il est le substrat préférentiel de l'enzyme estérifiant le cholestérol, l'HMGCoA réductase, les esters de cholestérol ainsi formés représentant la forme de transport du cholestérol au sein des lipoprotéines.
- Au niveau hépatique, l'acide oléique endogène favorise la sécrétion des triglycérides sous forme de Very Low Density Lipoproteins (VLDL).
- Il est un constituant des phospholipides membranaires et participe à la modulation de l'activité des enzymes, des transporteurs et des récepteurs.

Les apports nutritionnels conseillés pour les AGMI sont de 60 g.j⁻¹. Il n'y a pas de recommandation spécifique pour les AGMI individuels (Tableau 4). Les aliments les plus gros contributeurs d'AGMI sont les huiles végétales. Les teneurs en AGMI totaux de la viande bovine dépassent rarement 3,2 g.100g⁻¹ de viande (Tableau 4) soit seulement 5,3% des apports nutritionnels conseillés.

C.4. Les acides linoléiques conjugués (CLA)

Le premier AG à soulever l'interrogation des chercheurs a été l'acide linoléique conjugué (ALC ou CLA en anglais). Celui-ci a été isolé pour la première fois par Ha *et al.*

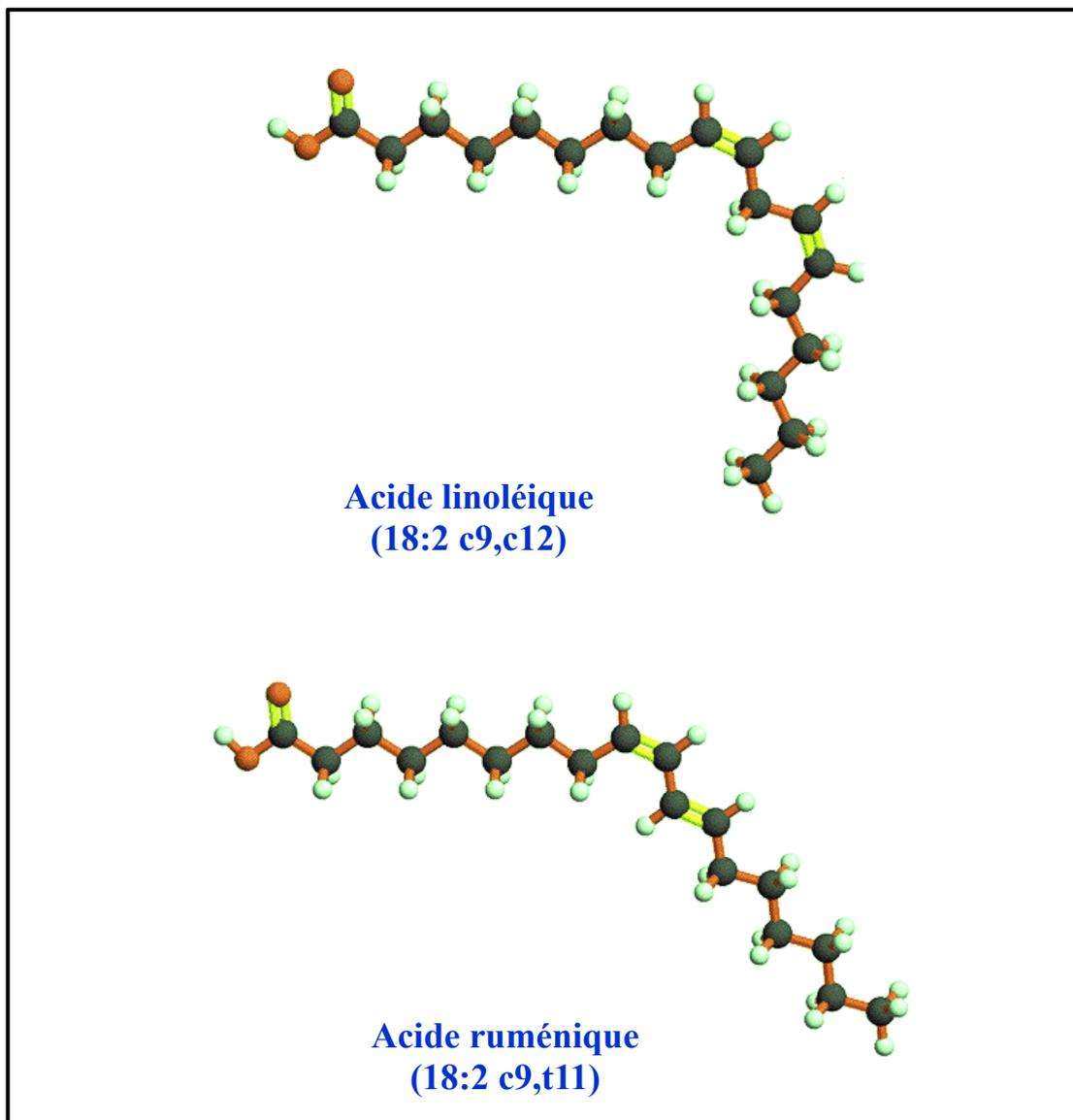


Figure 5 : Structure de l'acide linoléique et du principal isomère de CLA d'origine biologique (9cis,11trans).

(1987) dans une étude où les auteurs s'intéressaient aux composés carcinogènes présents dans la viande de bœuf grillée. Le CLA a plutôt révélé des propriétés anticancéreuses, ce qui a donné lieu à de nombreuses recherches *in vitro* et *in vivo*.

Le CLA est un terme générique utilisé pour décrire les isomères de position et géométriques de l'acide linoléique (18:2 n-6) dans lesquels les doubles liaisons sont conjuguées (*i.e.* séparées par une seule simple liaison au lieu de deux dans les AGPI natifs) (Figure 5). Même s'il existe 56 isomères théoriquement possibles de CLA, jusqu'à présent seuls 24 isomères ont été identifiés dans les matières grasses laitières. L'isomère le plus représenté dans les produits de ruminants est l'acide ruménique noté 18:2 $\Delta^9\text{cis}-\Delta^{11}\text{trans}$ (ou 18:2 c9, t11) puisqu'il représente 80 à 87% des isomères de CLA totaux (Figure 5). Les CLA présents dans les produits de ruminants peuvent résulter 1) soit de la trans isomérisation et de la biohydrogénation incomplète des AGPI (principalement le 18:2 n-6) provenant de l'alimentation dans le rumen des animaux, 2) soit d'une synthèse tissulaire à partir de l'acide vaccénique, intermédiaire de la biohydrogénation ruminale des AGPI alimentaires (Bauman et al., 1999). La glande mammaire a clairement été identifiée comme site privilégié de synthèse endogène de CLA (Palmquist et al., 2004) mais, chez les animaux en croissance, les CLA peuvent également provenir d'une synthèse au niveau des tissus adipeux (Gruffat et al., 2008).

Cette famille d'acides gras a fait l'objet de nombreuses études en raison de ses propriétés potentielles de prévention ou de traitement de certains cancers (sein, prostate, peau...), de réduction de la graisse corporelle, de la prévention des maladies cardiovasculaires, de modulation des réponses immunitaires et inflammatoires et d'amélioration de la masse osseuse (Dilzer & Park, 2012). Cependant, l'ensemble des études conduites pour prouver les propriétés bénéfiques des CLA souffre de deux travers : 1) la plupart des études *in vitro* et sur des animaux ont été conduites avec des mélanges de CLA synthétiques (mélange équipondéral d'isomères 10*trans*, 12*cis* et 9*cis*, 11*trans*) pouvant posséder des propriétés biologiques différentes des CLA présents dans les produits de ruminants, 2) la plupart des études *in vitro* et sur des animaux ont été conduites avec des doses de CLA supra-physiologiques difficilement applicables à l'homme d'où des effets faibles voire inexistantes sur modèle humain. Il est donc essentiel de poursuivre les études sur les propriétés biologiques des CLA de ruminants (Gebauer et al., 2011; McCrorie et al., 2011).

En parallèle de nombreuses études visent à augmenter la teneur en CLA dans les produits de ruminants. En effet, de très nombreux facteurs influencent les teneurs en CLA dans les produits et peuvent être regroupés en trois grandes catégories : les facteurs liés à l'alimentation de l'animal (pâturage, supplémentation lipidique), les facteurs liés à l'animal (race, âge, sexe, type de muscle) et, dans une moindre mesure, les facteurs liés aux traitements technologiques de la viande (maturation, cuisson) et du lait (fabrication de fromages ou de yaourts) (De La Torre et al., 2006).

Cette notion de CLA est toutefois peu connue des consommateurs et va plus préoccuper les professionnels de la santé et les transformateurs des produits carnés.

Encadré 5 : CLA dans la viande des autres espèces

Les CLA naturels ont pour origine principale la biohydrogénation ruminale et la synthèse endogène (Chilliard et al., 2001). Les filières porcines et aviaires ne sont donc que très peu concernées par la présence de CLA dans leurs produits à moins qu'ils ne soient amenés par l'alimentation (Corino et al., 2006). Toutefois, face au surcoût alimentaire induit par l'enrichissement des aliments en CLA et face aux interrogations quant aux bénéfices santé réellement apportés par les CLA, l'intérêt de l'utilisation des CLA industriels en alimentation animale n'apparaît pas primordial actuellement (Mourot & Lebret, 2009).

C.5. Autres acides gras *trans*

Les acides gras *trans* sont soit issus de l'hydrogénation partielle des huiles végétales, soit issus de la biohydrogénation ruminale (Chardigny, 2007). Les teneurs en AG *trans* dans les produits de ruminants sont variables en fonction de leur alimentation (1 à 10%). Le représentant majoritaire est l'acide vaccénique (C18:1 11*trans*). Les teneurs en AG *trans* dans les matières grasses végétales hydrogénées sont plus importantes. En plus de l'acide vaccénique, elles sont également très riches en deux isomères, le C18:1 9 *trans* (acide élaïdique) et le C18:1 10 *trans*. Ainsi, derrière la définition commune des «acides gras *trans*» issus de deux sources différentes, se pose la question de leurs effets respectifs.

Depuis 1990, les effets des acides gras *trans* d'origine industrielle sur les marqueurs associés au risque cardio-vasculaire sont bien documentés. Différentes études reprises dans une méta-analyse sont concordantes (Mensink et al., 2003). La consommation d'AG *trans* d'origine industrielle et notamment d'acide élaïdique à plus de 2% de l'apport énergétique total est responsable de l'augmentation du cholestérol-LDL et de la diminution du cholestérol-HDL. De ce fait, dès la fin des années 1990 et conformément aux recommandations des autorités de santé publique, l'industrie a mis en œuvre de nouveaux procédés visant à ramener à moins de 1% la teneur en AG *trans* de ses produits (taux maximum recommandé par l'Afssa).

Toutefois, la distinction entre origine animale et technologique des AG *trans* n'est pas toujours faite ni faisable dans les études épidémiologiques. Or, cette distinction est primordiale. En effet, contrairement à ce qui est observé avec les AG *trans* «d'origine technologique», les données cliniques et épidémiologiques ne semblent pas attribuer aux AG *trans* des ruminants d'effet délétère, même pour des consommations supérieures aux doses habituellement consommées, tant sur le plan du profil lipidique que du risque cardiovasculaire (Chardigny, 2007). En effet, si on isole les études qui permettent de considérer spécifiquement les AG *trans* d'origine animale, ceux-ci ne sont pas associés positivement au risque cardio-vasculaire, alors que l'association est clairement montrée pour les AG *trans* d'origine industrielle (Chardigny, 2007). Une étude épidémiologique danoise menée sur 18 ans auprès d'environ 3 600 personnes corrobore cette observation (Krettek et al., 2008).

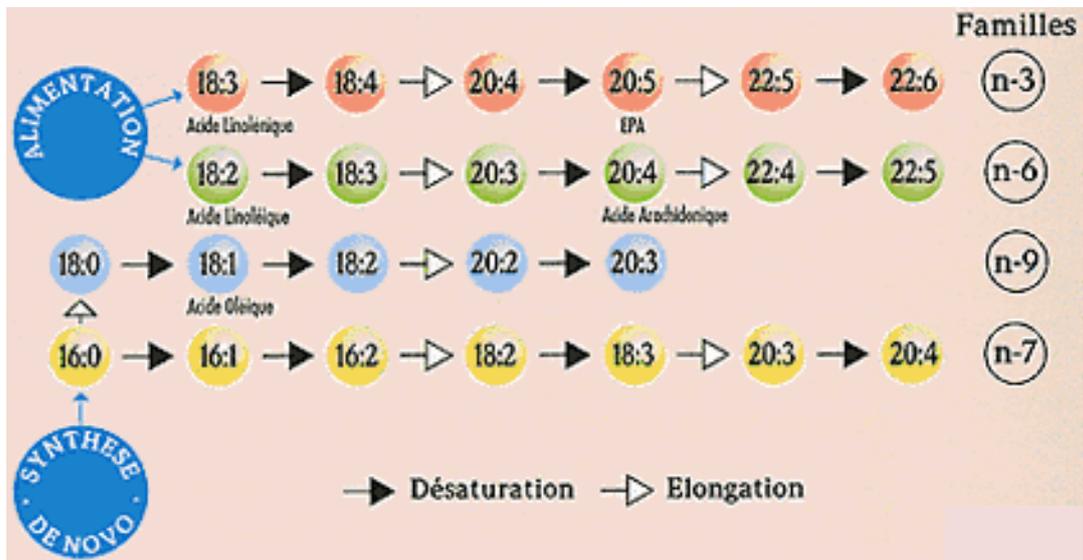


Schéma 4 : Principales voies métaboliques de biosynthèse des acides gras polyinsaturés chez les mammifères.

Encadré 6 : AG trans dans la viande des autres espèces

Tout comme pour les CLA naturels, les AG *trans* ont pour origine principale la biohydrogénation ruminale ou l'hydrogénation partielle des huiles végétales. Les filières porcines, aviaires ou aquacoles ne sont donc que très peu concernées par la présence de ces AG dans leurs produits à moins qu'ils ne soient amenés par l'alimentation (Anses, 2009).

C.6. Les AGPI : nouvel enjeu sociétal

C.6.a. Le rôle des AGPI

Les premières connaissances sur l'existence des acides gras essentiels et sur les rôles multiples qu'ils remplissent chez l'Homme et l'animal proviennent de l'observation de carences provoquées par des régimes inappropriés. C'est ainsi que Burr and Burr (1929) ont découvert l'essentialité de l'acide linoléique en soumettant des jeunes rats à un régime dépourvu de lipides qui présentaient alors une croissance fortement réduite. Chez l'Homme, l'essentialité de cet acide gras a été démontrée dans les années 1950-1960, sur des nourrissons recevant du lait de vache demi-écrémé comportant seulement 0,1 % de l'énergie sous forme d'acide linoléique, ce régime entraînant une diminution du gain de poids journalier et une modification de la structure de l'épiderme. Ces symptômes étaient toutefois corrigés par un apport en acide linoléique.

Par ailleurs, dans les années 1970, des recherches ont montré qu'une carence prolongée du régime en acide α -linoléique, portant sur plusieurs générations, occasionne des troubles de la vision et du fonctionnement cérébral chez le rat (Alling et al., 1972).

Les deux précurseurs métaboliques des deux principales familles d'AGPI (Acide linoléique - AL : 18:2 n-6 et Acide α -linoléique - ALA : 18:3 n-3) ne peuvent pas être synthétisés par l'homme et les animaux vertébrés et doivent être impérativement apportés par l'alimentation, notamment les végétaux ou les animaux ayant consommé des végétaux. Ces acides gras sont donc qualifiés d'acides gras indispensables. En revanche, les cellules humaines ou animales peuvent synthétiser d'autres AGPI à partir de l'AL et de l'ALA par une succession de réactions de désaturation et d'élongation vers l'extrémité carboxyle, conservant ainsi la structure n-6 ou n-3 du précurseur d'origine (Schéma 4). L'ensemble des dérivés obtenus constitue le sous-groupe des AGPI longue chaîne (AGPI LC) présentant une longueur de chaîne strictement supérieure à 18 atomes de carbone (de 20 à 24 atomes de carbone) lesquels, ajoutés aux deux acides gras indispensables précurseurs, constituent les deux familles d'acides gras essentiels (AGPI n-6 et AGPI n-3). Les principaux AGPI LC formés sont l'acide arachidonique (20:4 n-6, ARA) pour la famille des AGPI n-6 et l'EPA (20:5 n-3), le DPA n-3 (22:5 n-3) et le DHA (22:6 n-3) pour la famille des AGPI n-3.

De façon générale, la biosynthèse des AGPI LC n-3 apparaît d'une efficacité très variable selon les espèces animales notamment entre l'homme et le rongeur qui sont actuellement les deux espèces les plus étudiées. Ainsi, de nombreux travaux de suivi métabolique réalisés chez l'homme adulte au moyen d'isotopes stables montrent que le taux de conversion de l'ALA en DHA était très faible (entre 0,05 et 4%, et moins de 1% dans la

Tableau 5 : Effets des acides gras polyinsaturés sur les systèmes physiologiques.
(D'après Jump, 2004).

Systèmes	Effets
Système nerveux central	Fonctions cognitives Plasticité synaptique Neurogenèse Apoptose neuronale
Rétine	Activité des photorécepteurs
Système cardiovasculaire	Arythmie Athérosclérose
Foie	Lipogenèse de novo Synthèse et sécrétion de VLDL Oxydation des acides gras Métabolisme du cholestérol
Système immunitaire	Activation des cellules T Inflammation
Muscle squelettique	Sensibilité à l'insuline
Plusieurs types cellulaires	Production d'eicosanoïdes Production de cytokines Croissance cellulaire et différenciation

majorité des études), suggérant que ce précurseur est une source limitée pour satisfaire les besoins en DHA des tissus humains (Burdge & Calder, 2005). Par contre, les études réalisées sur rongeurs suggèrent une synthèse de DHA au niveau hépatique plus efficace, largement suffisante pour satisfaire les besoins du cerveau (Rapoport et al., 2010).

Les AGPI possèdent de nombreux rôles physiologiques mettant en jeu des mécanismes principalement impliqués dans la modulation des propriétés physico-chimiques et dynamiques des membranes cellulaires, dans la synthèse de médiateurs oxygénés bioactifs et dans la régulation de la transcription génique (Calder, 2012; Guesnet et al., 2005) (Tableau 5).

- *Structure et fonctions membranaires.* L'AL, l'ARA et le DHA sont des constituants fondamentaux des phospholipides des membranes cellulaires (Lavialle & Layé, 2010). La teneur membranaire en ces AGPI varie en fonction de l'apport alimentaire et joue sur les propriétés physico-chimiques des membranes. Les AGPI agissent directement sur la fonctionnalité des protéines insérées dans la membrane que ce soient des enzymes, des récepteurs, des transporteurs ou des canaux. Indirectement, ils induisent la ségrégation de radeaux lipidiques (domaines membranaires enrichis en AGS et en cholestérol) auxquels sont associés des complexes protéiques actifs.
- *Précurseurs de médiateurs lipidiques.* Les AGPI peuvent être séparés de la membrane par l'action d'une enzyme, la phospholipase A2 (PLA2). Une fois libérés des membranes, les AGPI n-3 et n-6 entrent dans des voies de métabolisation grâce à l'action d'enzymes spécifiques, les cyclooxygénases et les lipoxygénases, et donnent naissance à des dérivés lipidiques appelés eicosanoïdes, qui sont considérés comme des hormones. Les principaux eicosanoïdes sont les prostanoïdes et les leucotriènes qui jouent un rôle important dans de nombreuses fonctions physiologiques : régulation de la pression artérielle, vasoconstriction/vasodilatation, coagulation, inflammation mais aussi neuroprotection (Guesnet et al., 2005). Suivant leur origine, les eicosanoïdes ont des rôles dans la réaction inflammatoire qui sont opposés. Ainsi, les prostanoïdes de la série 2 et les leucotriènes de la série 4 sont issus de l'ARA et ont des activités pro-inflammatoires de forte intensité, alors que les prostanoïdes de la série 3 et les leucotriènes de la série 5 sont issus de l'EPA et ont des activités pro-inflammatoires de faible intensité. Ainsi, la faible consommation d'AGPI n-3 moins inflammatoire favorise les voies de l'ARA pro-inflammatoires. Il faut toutefois nuancer ces observations car certaines prostaglandines issues de l'ARA ont des activités anti-inflammatoires, en particulier dans le cerveau. Récemment, l'importance du rapport entre AGPI n-3/n-6 dans le cerveau a été mise en évidence dans le contrôle de la neuroinflammation et dans la régulation de l'immunité innée cérébrale, ouvrant de nouvelles pistes d'investigation (Layé, 2010).
- *Modulateurs de l'expression génique.* Les AGPI et leurs dérivés oxygénés ont une importante fonction régulatrice de l'expression des gènes par l'intermédiaire de facteurs de transcription parmi lesquels les plus importants sont les récepteurs aux proliférateurs de peroxysomes (PPAR) type α , β/δ et γ , les récepteurs aux rétinoïdes (RXR), les récepteurs hépatiques X (LXR) type α et β , les facteurs nucléaires hépatiques (HNF) type 4α , la protéine de liaison à l'élément de régulation des

stérols (SREBP) type 1 et 2 et le facteur nucléaire-kappa B (NFκB) (Calder, 2012; Guesnet et al., 2005). Le dysfonctionnement de ces facteurs est déterminant dans les processus de résistance à l'insuline et des pathologies qui lui sont associées (syndrome métabolique).

De par ces propriétés, les AGPI sont essentiels pour optimiser le développement visuel et neurologique de l'Homme et sont largement impliqués dans la prévention de diverses pathologies, telles que les maladies cardiovasculaires (Leaf et al., 2003), l'inflammation (Layé, 2010), certains cancers (Bougnoux, 1999), le diabète et l'obésité (Storlien et al., 1998), l'ostéoporose (Salari et al., 2008), la dégénérescence maculaire liée à l'âge (Serini et al., 2009), la dépression (Logan, 2003) et certaines affections neurodégénératives (Corrigan et al., 1998).

Si dans les pays occidentaux, la quantité globale des AGPI consommés par l'Homme est proche des valeurs recommandées, la répartition entre les deux familles n-6 et n-3 apparaît déséquilibrée dans la mesure où le rapport AL/ALA est de l'ordre de 15, soit le triple de la valeur recommandée (< 5). Cette position provient d'une consommation privilégiée d'huiles végétales et de margarines issus de tournesol riches en AL au détriment d'autres huiles végétales plus riches en ALA consommables par l'homme (huiles de noix, de colza). Cette alimentation est préjudiciable à la synthèse des AGPI LC n-3 (EPA, DPA, DHA) et à leur incorporation dans les membranes cellulaires, contribuant ainsi à favoriser certaines pathologies comme les maladies cardiovasculaires, les maladies auto-immunes et inflammatoires, le diabète et certaines neuropathologies.

Ainsi, il a été bien démontré chez l'animal de laboratoire (Davis-Bruno & Tassinari, 2011) et chez le nouveau-né humain (Hoffman et al., 2009) qu'un défaut d'apport en AGPI n-3 provoque une diminution de la teneur membranaire en DHA, acide gras majoritaire des phospholipides du système nerveux (cerveau, rétine), s'accompagnant d'une réduction des capacités d'apprentissage et d'un retard de maturation des fonctions visuelles.

Les eicosanoïdes dérivés de l'ARA sont synthétisés en plus grande quantité que ceux issus de la famille des n-3 et vont favoriser les processus de thrombose, d'allergie et d'inflammation (Simopoulos, 2002). L'ingestion d'un régime équilibré ou riche en n-3 a des effets bénéfiques en réduisant, par inhibition compétitive, l'incorporation de l'ARA dans les membranes et sa conversion en eicosanoïdes. De plus, certains eicosanoïdes de l'EPA exercent des propriétés antagonistes à ceux issus de l'ARA, réduisant ainsi l'agrégation plaquettaire et atténuant les réactions inflammatoires (Simopoulos, 2002). Ainsi, l'apport alimentaire en AGPI n-3 peut réduire l'incidence des maladies cardiovasculaires.

Enfin, il est maintenant reconnu que le déséquilibre alimentaire en AGPI qui s'est progressivement installé depuis ces 40 dernières années est concomitant avec l'augmentation de la prévalence de l'obésité suggérant que ce déséquilibre a favorisé l'émergence de cette pathologie (Ailhaud et al., 2006). En effet, l'équilibre entre AGPI n-6 et n-3 est connu pour être susceptible de moduler le développement du tissu adipeux pendant la période périnatale. Des études conduites *in vivo* ou sur préadipocytes isolés ont démontré que les AGPI n-6,

Tableau 6 : Actualisation des apports nutritionnels conseillés en acides gras pour l'adulte consommant 2000 kCal (d'après Afssa 2010).

		AG indispensables			AG non indispensables				Total	
		LA	ALA	DHA	EPA	Acide oléique	AGS totaux	Dont AGS athérogènes		Autres AG
Besoin physiologique minimal		2	0,8	250 mg	-	-	-	-	-	30
Prévention du risque	Syndrome métabolique – diabète - obésité	2	0,8	500 mg	-	-	-	-	-	30-40
	Pathologies cardiovasculaires	5	1	500-750 mg	≤ 20	≤ 12	≤ 8	-	-	35-40
	Cancers : sein et colon	2	0,8	500 mg	-	≤ 12	-	-	-	35-40
	Pathologies neuro-psychiatriques	2	0,8	≥ 200-300 mg	-	-	-	-	-	35-40
	DMLA	≤ 4	0,8	500 mg	-	-	-	-	-	< 40
ANC 2010		4	1	250 mg	250 mg	15-20	≤ 12	≤ 8	-	35-40

Les valeurs sont exprimées en pourcentage de l'apport énergétique total, excepté pour l'EPA et le DHA.

LA : acide linoléique, ALA : acide alpha linoléique, DHA : acide docosahexaénoïque, EPA : acide docosapentaénoïque, AGS : acides gras saturés, AGS athérogènes = acide laurique (12:0) + acide myristique (14:0) + acide palmitique (16:0), Autres AG : AGMI, AGPI, AG trans et conjugués, DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à L'Âge.

notamment l'ARA, sont de puissants activateurs de la différenciation adipocytaire, contrairement aux AGPI n-3 (Ailhaud et al., 2006). L'EPA et le DHA auraient donc des potentialités adipogéniques bien moindres que les AGPI n-6. Ces données suggèrent que la nature des AGPI ingérés pourrait favoriser le développement précoce du tissu adipeux, et donc le risque d'obésité dès les premières années de la vie.

En conclusion, les AGPI n-6 et n-3 exercent de multiples fonctions physiologiques (constituants des membranes cellulaires, précurseurs des eicosanoïdes, régulateurs des facteurs de transcription...) leur conférant un rôle essentiel dans le développement du système nerveux et la prévention de diverses pathologies. Toutefois, dans un grand nombre de pays industrialisés, une alimentation déséquilibrée en AGPI en faveur des AGPI n-6 est préjudiciable à la synthèse des AGPI LC n-3, contribuant à favoriser l'émergence de certaines pathologies.

Les apports nutritionnels conseillés (ANC) sont des valeurs établies sur la base de données scientifiques qui évaluent le rôle fonctionnel des acides gras dans différentes fonctions périphériques et centrales. Il s'agit de définir des besoins physiologiques nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme et d'assurer des recommandations qui prennent en compte le rôle préventif des AGPI pour diverses pathologies. Ainsi en 2001, des ANC pour les acides gras ont été définis par l'Afssa (Martin, 2001). En 2010, l'Afssa, devenue l'Anses, a réactualisé ces valeurs en prenant en compte les résultats d'études récentes.

Lors de la réactualisation des ANC en 2010, la classification traditionnelle en AGS, AGMI et AGPI a été abandonnée au profit d'une classification séparant les AG indispensables et les AG non indispensables. Compte tenu des données scientifiques disponibles, l'évaluation des besoins physiologiques chez l'homme et la femme adultes se limite à trois AG indispensables : l'AL, l'ALA et un de ses dérivés, le DHA. Le caractère indispensable du DHA a été décidé en raison de sa faible synthèse chez l'homme à partir de l'ALA et a conduit à la définition d'un besoin (Tableau 6). En ce qui concerne l'EPA, il n'y a pas actuellement d'arguments suffisants pour le considérer comme rigoureusement indispensable et définir un besoin physiologique minimal (Anses, 2010).

Ainsi, l'apport conseillé en AL n'a pas été modifié par rapport aux ANC de 2001 et représente toujours 4 % des apports énergétiques totaux (ce qui équivaut à 8,8 g/j/personne pour un apport énergétique de 2000 kcal/j). Par contre, l'apport conseillé en ALA a été augmenté pour être fixé à 1 % des apports énergétiques totaux (soit 2,2 g/j/personne pour un apport énergétique de 2000 kcal/j) contre 0,8 % en 2001, afin d'assurer un rapport AL/ALA strictement inférieur à 5. L'ANC pour le DHA a été fixé à 250 mg/j/personne, valeur deux fois plus élevée que celle proposée en 2001. L'ANC pour l'EPA a été défini, sur la base des données bibliographiques regroupant souvent des apports simultanés d'EPA et DHA, les ANC pour ces deux acides gras ont été fixés à 500 mg/j correspondant à un ANC pour l'EPA de 250 mg/j/personne. Ces recommandations ont été élargies et adaptées pour des populations plus particulières telles que le nourrisson, le jeune enfant et l'adolescent ainsi que la femme enceinte ou allaitante.

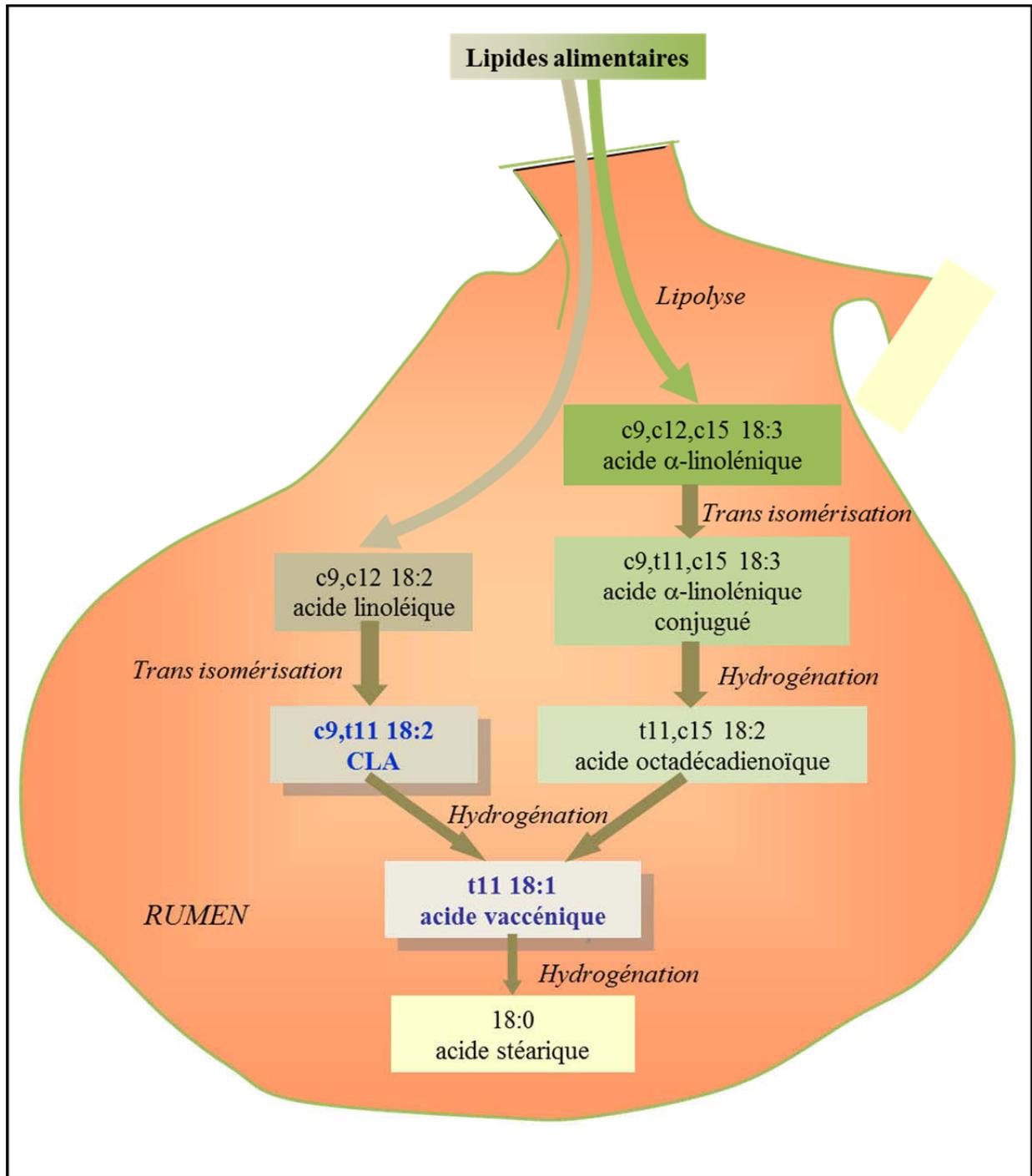


Figure 6 : Digestion des lipides dans le rumen. (D'après Griinari et Bauman, 1999).

C.6.b. AGPI et filière viande

C.6.b.i. Stratégie alimentaire

La viande de ruminant, notamment celle de bovin, fait souvent l'objet de critiques d'ordre nutritionnel de par ses teneurs en lipides et en AGS considérées comme trop élevées. Toutefois, les produits issus d'animaux terrestres assurent l'essentiel des apports en AGPI n-3 pour l'Homme (entre 50 à 75%), bien que ces apports ne correspondent qu'au tiers des apports recommandés. D'autre part, bien que leur teneurs dans la viande soient largement inférieures aux ANC, leur proportion relative répond bien à l'équilibre recherché par les ANC avec un rapport 18:2 n-6/18:3 n-3 inférieur à 5 (notamment dans des conditions d'alimentation naturelle à base de fourrages verts) compatible avec les recommandations de l'ANC (2009) pour l'homme. Ce chapitre a donc pour objectif de présenter les possibilités de modulation des teneurs en AGPI dans les muscles de bovins par différents facteurs d'élevage, l'alimentation étant sans conteste le facteur principal de modulation.

Chez les ruminants, il n'existe pas une très bonne corrélation entre les AG présents dans l'alimentation et les AG incorporés par les tissus en raison des biohydrogénations ruminales des acides gras alimentaires. En effet, de façon générale, la teneur en lipides de la ration de base des bovins adultes est relativement faible (2 à 5 % de la matière sèche). La composition en AG est dominée par l'ALA dans les fourrages et par l'AL dans les aliments concentrés (Bauchart & Arousseau, 1981). Au niveau du rumen, les lipides alimentaires provenant des fourrages, des aliments concentrés ou des graines oléagineuses sont en grande partie hydrolysés sous l'action d'enzymes produites par les bactéries ruminales (Figure 6). L'ensemble des AG ainsi libérés subit alors l'action de *trans* isomérases (changement de conformation d'une partie des liaisons *cis* en liaisons *trans*) le plus souvent suivie d'une hydrogénation (réduction des doubles liaisons conduisant à la production d'AG plus saturés) (Demeyer & Doreau, 1999). De part ces réactions de biohydrogénations, la viande de ruminant est deux fois moins riche en AGPI que la viande des monogastriques (Bourre, 2005). L'hydrogénation concerne 87% de l'ALA et 83% de l'AL (Jenkins et al., 2008), le taux de biohydrogénation de l'EPA et du DHA pouvant être supérieur à 80% (Lee et al., 2008).

Toutefois, la nature et la quantité des acides gras ingérés peuvent modifier la composition des lipides déposés dans les tissus adipeux et dans les lipides intramusculaires des ruminants (Demeyer & Doreau, 1999).

Dans les systèmes de production de viande bovine, la conduite des animaux au pâturage plusieurs fois millénaire, connaît un sursaut d'intérêt afin d'améliorer la qualité nutritionnelle de la viande et le bien-être de ces animaux mais aussi de réduire les coûts d'alimentation et de main d'œuvre. L'herbe fraîche contient en moyenne de 1 à 3% d'AG exprimé en matière sèche. Parmi ces AG, l'ALA peut représenter de 50 à 75% des AG de l'aliment (Bauchart et al., 1984), mais ce taux varie en fonction de l'espèce végétale, du stade de maturité, de la fertilisation, de la conservation, etc. Ainsi, de nombreuses études (résumées dans la revue de Daley et al., 2010) ont montré un effet significatif de la consommation d'herbe au pâturage sur

Tableau 7 : Composition en acides gras (% des AG totaux) de produits animaux de différentes espèces (d'après Cuvelier et al., 2004).

	Bovin	Ovin	Porc	Volaille	Lapin	Morue
16:0	22,8	25,8	24,0	22,1	27,2	11,6
18:0	17,1	30,5	13,0	6,5	7,1	2,7
18:1 n-9	45,5	30,0	43,5	43,0	24,6	25,2
18:2 n-6	7,2	1,4	11,2	18,5	23,1	2,5
18:3 n-3	0,2	0,2	1,3	0,9	3,3	0,7
20:5 n-3	ND	ND	0,04	ND	0,35	9,3
22:5 n-3	ND	ND	0,02	ND	0,53	1,0
22:6 n-3	ND	ND	ND	ND	0,45	8,6

les teneurs en AGPI n-3 dans les muscles de bovins par une augmentation de la concentration en ALA, mais également en EPA, DPA n-3 et DHA par rapport à un régime classique à base d'aliments concentrés. Par exemple, la consommation d'herbe au pâturage comparativement à un régime à base de concentré permet d'augmenter les teneurs en AGPI n-3 (x 4,2-5,4 pour l'ALA et x 3,8-4,5, x 2,8-2,7 et x 3,4-5,1 pour l'EPA, le DPA n-3 et le DHA, respectivement) dans le muscle *Longissimus* de bouvillons Angus et Hereford Friesian, respectivement (Elmore et al., 2004).

Toutefois, tous les éleveurs de bovins ne sont pas forcément en mesure de nourrir exclusivement leurs animaux à l'herbe toute l'année. Parmi la multitude de conduites alimentaires qu'il existe, la supplémentation lipidique peut être un autre aliment favorisant la modulation du dépôt d'AG dans les tissus. De plus, ces matières premières de haute densité énergétique permettent d'engraisser les bovins plus rapidement avec une conformation de carcasse satisfaisante. Différentes graines oléagineuses (lin, soja, colza, tournesol) sont actuellement utilisées. Toutefois, seules les études portant sur une supplémentation lipidique avec de la graine de lin seront discutées dans ce chapitre en raison de sa très grande richesse en ALA (environ 57% des AG totaux), l'effet de la supplémentation avec d'autres types de graines sur les teneurs en AGPI n-3 dans le muscle de bovins étant beaucoup moins marqué. Les différentes études relatant l'impact de l'ajout de graines de lin à la ration des animaux sur la composition en AGPI n-3 du muscle de bovins rapportent que ce type de graine augmente significativement les teneurs en ALA, dans une moindre mesure celles de l'EPA et du DPA, sans modification des teneurs en DHA (résumé dans la revue de Wood et al., 2004). Tout comme pour l'ingestion d'herbe, la durée de la supplémentation lipidique va plus ou moins moduler la composition en AG des tissus (Raes et al., 2003).

Il est donc possible d'augmenter de manière significative les teneurs en AGPI précurseurs dans la viande bovine. Toutefois, cette augmentation est beaucoup moins significative voire inexistante pour les AGPI LC, notamment le DHA (Palmquist, 2009). Les principales sources d'AGPI LC n-3 disponibles dans la nature étant les micro-algues marines et les huiles de poisson, ceux-ci ont donc été ajoutés, à titre expérimental, aux rations des ruminants (bovins et ovins). Dans tous les cas, leur utilisation permet de multiplier la proportion en EPA et DHA aussi bien dans les lipides totaux (Mandell et al., 1997) que dans les phospholipides des muscles de ruminant (Angulo et al., 2012) d'un facteur allant de 2 à 7, sans effet sur les proportions d'ALA et DPA n-3. Toutefois, l'enrichissement en AGPI LC dans le muscle a aussi pour conséquence une augmentation de la sensibilité de la viande à la lipoperoxydation diminuant de ce fait ses qualités sensorielles et nutritionnelles (Rymer & Givens, 2005) sauf dans le cas d'une alimentation à base d'herbe où les antioxydants naturels protègent la viande de ces processus délétères (Durand et al., 2005, 2010).

Encadré 7 : AGPI dans la viande des autres espèces

Dans le cadre d'une alimentation standard, la viande de lapin est celle qui contient la proportion la plus importante de 18:2 n-6 et de 18:3 n-3 (Tableau 7), les poissons étant caractérisés quant à eux par des proportions élevées en AGPI LC n-3. Chez les monogastriques, la nature des lipides apportés par l'alimentation influence fortement la

Tableau 8 : Facteurs de multiplication les plus favorables obtenus en nourrissant les animaux avec de l'ALA (graines de lin ou de colza) (D'après Bourre, 2005).

	ALA dans le produit alimentaire consommé par l'homme	EPA + DHA dans le produit alimentaire consommé par l'homme
Faux-filet de porc	X 6	X 0,9
Faux filet de bœuf	X 2	X 1
Cuisse de poulet	X 9,5	X 3
Œuf	X 20 à 40	X 5

composition des AG déposés dans les tissus et ce d'une manière plus marquée que chez les ruminants. Cet effet est surtout marqué dans les tissus adipeux et à un degré moindre dans les muscles (Mourot & Hermier, 2001). Ainsi, l'introduction dans l'alimentation des animaux de matières grasses riches en AGPI n-3 est une pratique qui se développe actuellement en particulier avec l'utilisation des graines de lin extrudées. La quantité d'AGPI n-3 déposée dans les tissus est alors augmentée (Tableau 8) ainsi que la teneur en acides gras n-3 à longue chaîne (EPA et DHA). Chez la volaille, les viandes contiennent davantage d'AGPI LC n-3 que celles de porc. La volaille aurait donc, vraisemblablement, une capacité à élonguer et à désaturer le 18:3 n-3 supérieure à celle du porc. En effet, chez le porc, un apport croissant de graines de lin extrudées augmente la teneur en ALA et en EPA alors que la concentration en DHA est peu modifiée (Guillevic et al., 2009), la capacité à élonguer et à désaturer pourrait donc être un facteur limitant chez le porc. Les nouveaux axes de recherches consistent à apporter directement le DHA par l'alimentation aux animaux par l'utilisation de micro-algues (Mourot et al., 2014).

C.6.b.ii. Filières et qualités nutritionnelles des produits

Face à l'intérêt des AGPI pour la santé humaine, des filières ont été créées avec pour mission d'organiser et de promouvoir des filières de production agricoles qui intègrent des préoccupations nutritionnelles pour le consommateur. C'est ainsi qu'en 2000, l'Association Bleu-Blanc-Cœur (BBC) a été créée pour promouvoir le retour des Oméga 3 dans la chaîne alimentaire par l'utilisation de sources végétales riches en AGPI n-3, telles que les graines de lin, dans l'alimentation des animaux. Cet effet « chaîne alimentaire » induit une amélioration des teneurs en AGPI n-3 dans les produits animaux et une diminution des teneurs en AGS et AGPI n-6. L'association Bleu-Blanc-Cœur organise cette démarche nutritionnelle depuis les producteurs jusqu'aux consommateurs. Ce mouvement associatif regroupe environ 350 adhérents actuellement et produit environ 13000 bovins dont les viandes sont enrichies en AGPI n-3. Cette démarche a été reconnue par les pouvoirs publics (validation par les experts nutrition du PNNS et durabilité du PNA en 2013 et par le label environnemental de l'ONU en 2012).

Il existe une autre filière, la filière Bœuf de Nos Régions (BNR), un peu équivalente à BBC dans le sens où les bovins sont supplémentés avec des aliments riches en AGPI n-3 (graine de lin ou luzerne) dans leur ration alimentaire. Toutefois, cette filière se concentre sur une évaluation visuelle des carcasses afin d'obtenir des carcasses de bovin dont le gras est jaune et la viande d'un rouge exigé par le cahier des charges contrairement à BBC qui réalise des contrôles réguliers des teneurs en AGPI des produits issus de sa filière.

En filière viande bovine France, il n'existe pas réellement de concurrents à ces filières. Ce quasi « monopôle » est probablement dû à la difficulté dans laquelle se situe la filière bovine (la chute de la production, le manque de rentabilité et difficulté de collecte des animaux,...).

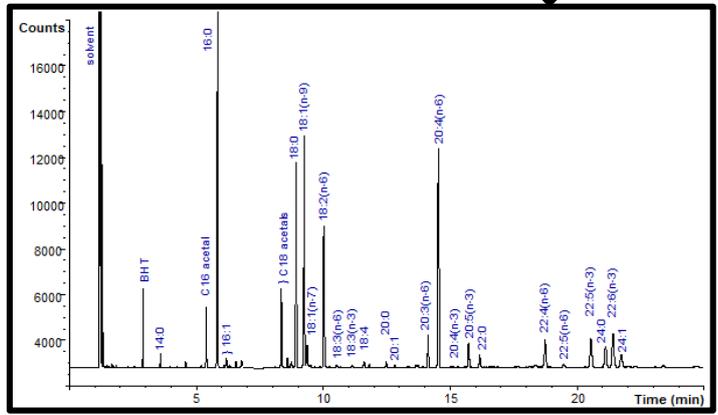
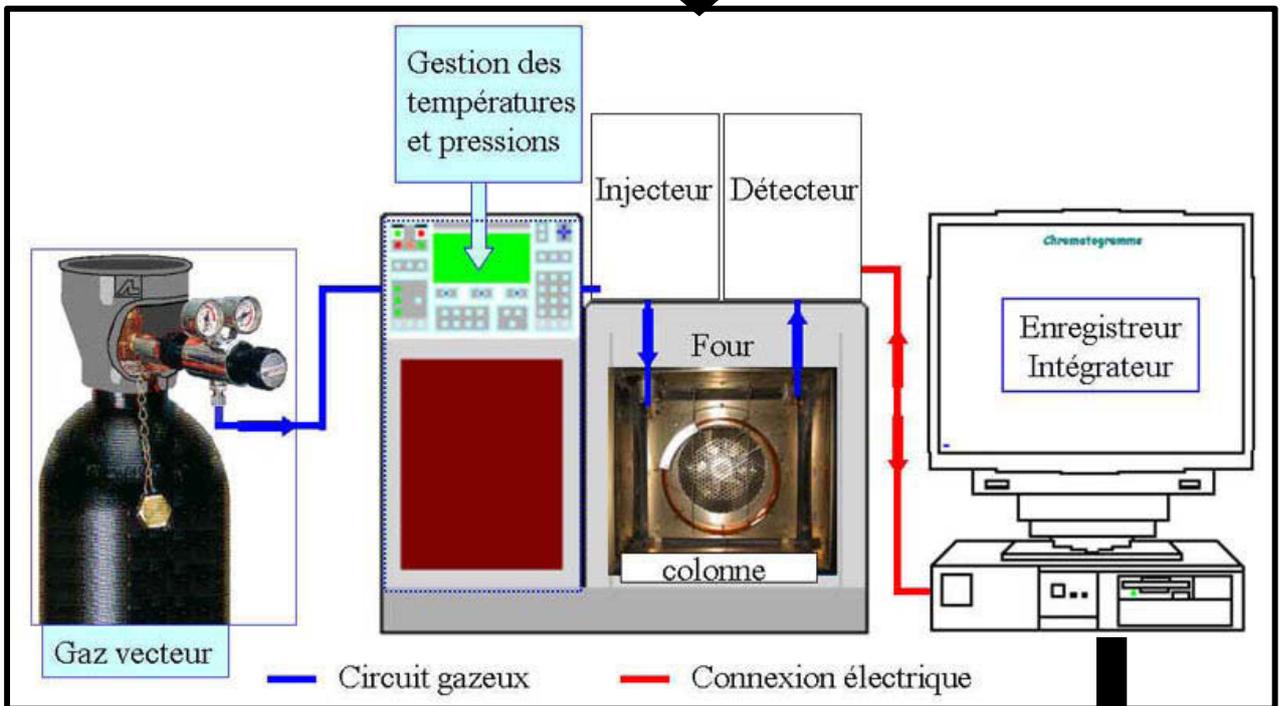
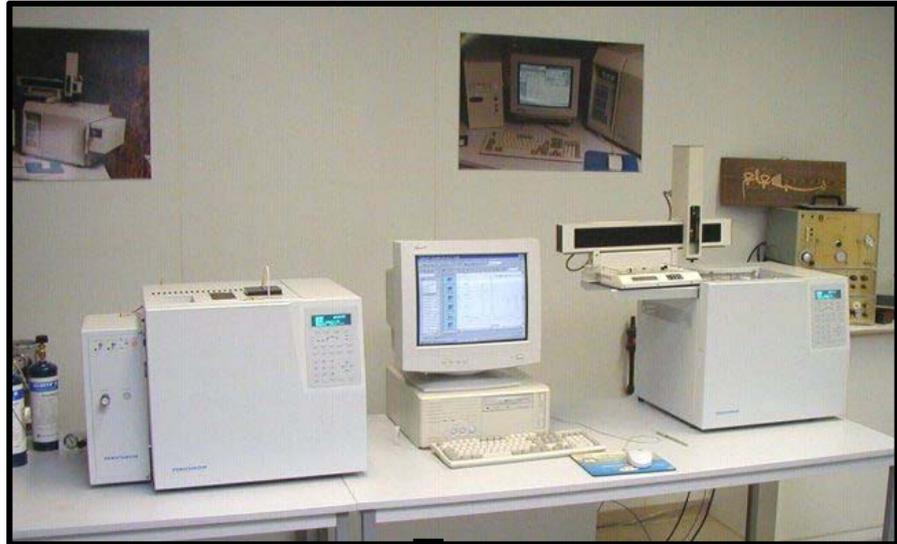


Schéma 5 : Schéma représentatif d'un chromatographe en phase gazeuse et d'une chromatographie d'acides gras.

III. Les méthodes d'analyse

A. La chromatographie en phase gazeuse

La caractérisation des lipides d'un tissu ou d'un aliment impose leur extraction. De cette étape initiale dépend la qualité de toutes les analyses pratiquées ultérieurement pour caractériser et quantifier les lipides (Zhukov & Vereschagin, 1981). C'est pourquoi il faut disposer d'une méthode qui permette leur extraction totale sans les altérer. Une des méthodes privilégiées est la méthode de Folch et al. (1957) qui repose sur une extraction à froid utilisant un mélange binaire de solvants (chloroforme-méthanol ; 1/2 ; v/v). Dans ce mélange de solvants, les alcools provoquent une dissociation des interactions des lipides avec les autres constituants membranaires. L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0,58 % (m/v) permet la séparation des phases. La phase supérieure constituée de méthanol et d'eau contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel tandis que les lipides sont dissouts dans la phase organique inférieure.

Une fois les lipides extraits, la méthode la plus couramment utilisée pour caractériser leur composition en AG est la chromatographie phase gazeuse (CPG). On attribue la découverte de la CPG à A.J.P. Martin et R.L.M. Syng qui ont publié, dès 1941, la théorie de la chromatographie de partage (Martin & Synge, 1941). La CPG est une technique qui permet de séparer des mélanges complexes de molécules, par une suite continue d'équilibres s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire appropriée. Cette méthode s'adresse à tous les composés susceptibles d'être volatilisés par élévation de leur température. Ainsi, dans le cas des AG, l'injection en CPG de l'extrait lipidique est précédée d'une méthylation directe des AG, présents sous forme libres ou estérifiés au glycol dans le mélange, afin de les rendre volatils. Un gaz vecteur, appelé phase mobile, parcourt un tube appelé colonne, refermant une phase stationnaire. Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase stationnaire et est entraîné par la phase mobile. Les solutés, en fonction de leur nature, sont plus ou moins retenus et sortent de la colonne séparés au sein de la phase mobile. Un détecteur placé en sortie de colonne permet de détecter la présence d'un soluté au sein du gaz vecteur. Actuellement, le détecteur le plus couramment utilisé en analyse organique est le détecteur à ionisation de flamme. L'effluent pénètre dans une flamme obtenue par combustion d'un mélange d'hydrogène et d'air. Les composés organiques sont alors ionisés et forment des ions collectés par deux électrodes, entre lesquelles on applique une différence de potentiel. Il en résulte un courant électrique recueilli par un électromètre qui le transforme en courant que l'on peut enregistrer. Le passage de chaque composé sera traduit par un signal électrique, directement proportionnel à la concentration de ce dernier. Le rassemblement de l'ensemble des signaux permet d'obtenir le courant ionique total (= chromatogramme) (Schéma 5).

Ainsi, il est maintenant possible d'obtenir une analyse quantitative complète des AG d'un échantillon en un temps très court, ces derniers étant identifiés individuellement par leur temps de rétention sur une colonne donnée, dans des conditions données de façon quasi certaine (Christie, 1998). Afin de réaliser l'analyse qualitative et quantitative des extraits lipidiques isolés, la CPG apparaît donc comme la méthode la plus appropriée.

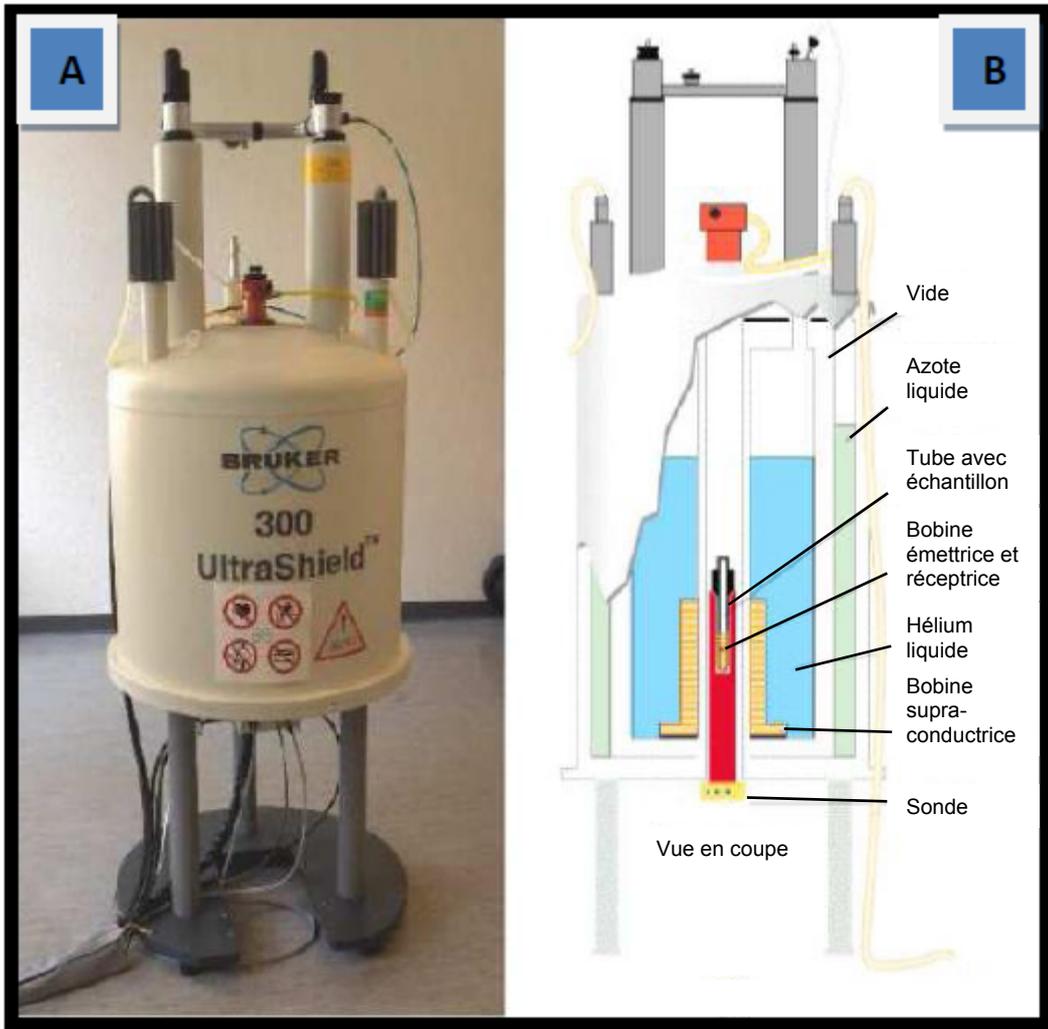


Schéma 6 : Appareil (A) et schéma de principe (B) d'un spectromètre de RMN.

De façon pratique, les acides gras sont séparés par CPG en fonction de 1) la longueur de leur chaîne carbonée, les AG les plus courts étant élués en premiers, 2) leur degré d'insaturation, les AGS étant élués les premiers, suivis par les AG de plus en plus insaturés pour une même longueur de chaîne.

Dans le cas particulier des CLA, la présence d'un grand nombre d'isomères géométriques et de position dans les CLA naturels ou de synthèse et leur sensibilité importante à l'isomérisation nécessitent des méthodes de séparation et d'analyse performantes. Pour éviter tout problème, les isomères de CLA contenus dans différentes matrices doivent être transformés en esters méthyliques en utilisant des méthodes de méthylation douce.

Les concentrations en CLA dans différentes matrices sont couramment déterminées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à un détecteur par ionisation de flamme en utilisant des colonnes polaires de 100 m de long permettant une bonne séparation des isomères. Toutefois, certains isomères tels que le *7trans,9cis* et le *9cis,11trans* coéluent et les échantillons doivent être analysés par l'emploi d'autres techniques (Rickert et al., 1999) notamment la chromatographie liquide haute performance (HPLC) utilisant des colonnes imprégnées au nitrate d'argent qui améliorent notablement la séparation des isomères de CLA et ce, d'autant plus que 2 à 6 colonnes peuvent être couplées en série. Les isomères de CLA sont ainsi séparés à l'intérieur des trois groupes (*trans, trans* ; *cis, trans* et *cis, cis*) en fonction à la fois de la configuration et de la position de leurs double liaisons (Fritsche et al., 2000).

La détermination structurale exacte de chaque isomère de CLA est possible en utilisant différentes méthodes spectroscopiques. Le plus souvent la CPG est couplée à la spectrométrie de masse qui permet la localisation de la double liaison dans la molécule d'AG. Afin d'obtenir des informations sur la configuration de la double liaison, il est nécessaire d'utiliser la spectrométrie infrarouge qui permet de séparer les isomères *trans, trans* des isomères de configuration *cis, trans* ou *trans, cis* (Mossoba et al., 1999).

B. La RMN

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est basée sur l'émission et l'absorption de l'énergie dans la gamme des radiofréquences du spectre électromagnétique. Cela repose sur la détection de signaux issus des propriétés magnétiques des noyaux de spin non nul. En présence d'un champ magnétique, le noyau va effectuer un mouvement de rotation générant lui-même un champ magnétique. Un noyau possède donc un mouvement angulaire intrinsèque qui est appelé le spin. En présence d'un champ magnétique stable et intense (60000 fois le champ magnétique terrestre) généré par un aimant supraconducteur, les spins des noyaux s'alignent avec ce champ (Schéma 6). Des champs magnétiques oscillants plus faibles, dits radio fréquences, sont utilisés pour induire une légère modification de l'alignement des spins spécifique de la molécule étudiée et de l'intensité du champ magnétique. Cette perturbation induit un phénomène de résonance qui est utilisé dans les mesures de RMN. Le retour à la position d'équilibre magnétique (relaxation) va entraîner une

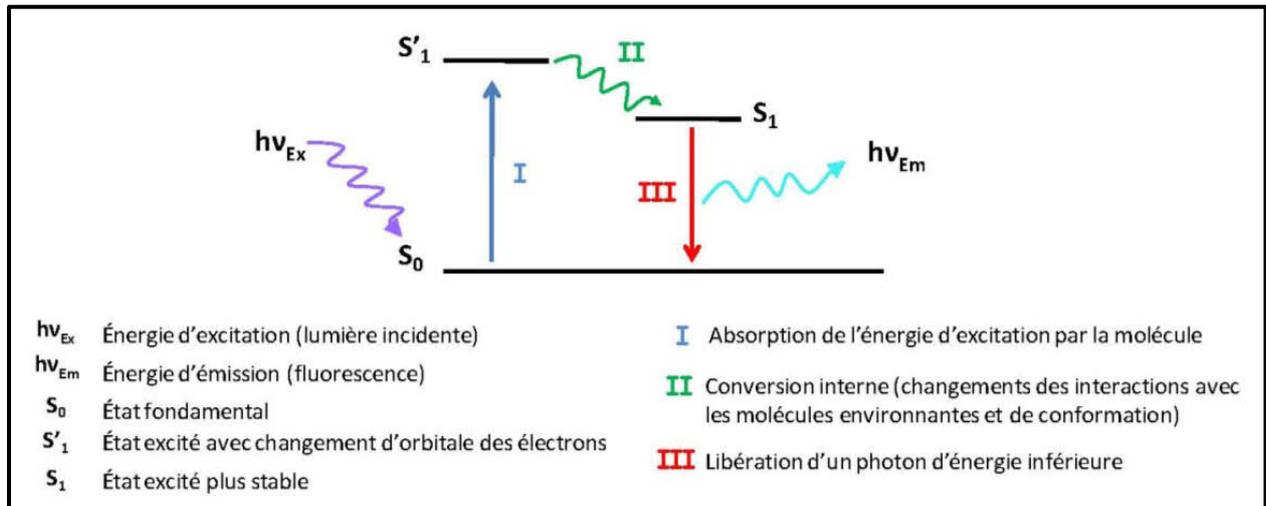


Schéma 7 : Schéma descriptif de l'absorption et de l'émission de l'énergie lumineuse par une molécule fluorescente.

perturbation du flux électromagnétique qui peut être mesurée. Tous les noyaux contenant un nombre impair de protons ou de neutrons peuvent être observés avec la RMN. En appliquant des champs magnétiques non-uniformes, il est possible d'obtenir une localisation spatiale permettant l'imagerie 2D ou 3D appelée encore l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Les noyaux les plus souvent mesurés sont ^1H et ^{13}C car ils sont présents en grande quantité dans les tissus biologiques, bien que les noyaux des isotopes de nombreux autres éléments puissent être observés (^{23}Na , ^{31}P , etc.).

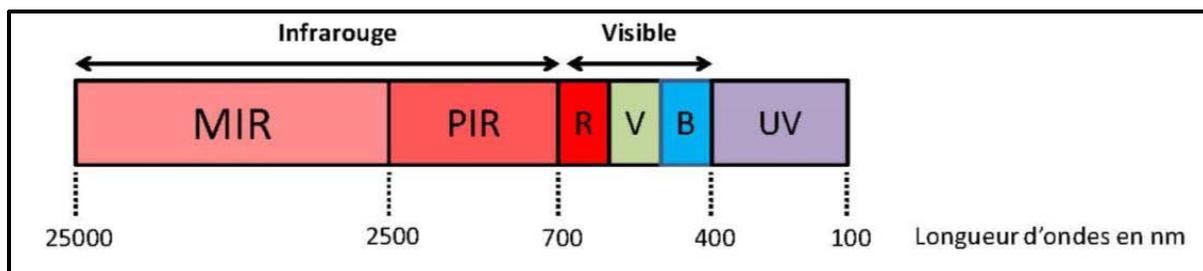
Les deux méthodes de RMN et d'IRM restent des techniques coûteuses à acquérir, mais elles sont de plus en plus utilisées pour des applications dans la recherche sur les aliments.

En ce qui concerne la composition en AG des produits, l'IRM ne permet que de visualiser la répartition du gras dans la viande ou l'absorption de gras par le produit carné lorsqu'il est frit (Clerjon et al., 2012). Par contre, La RMN ^1H offre une méthode alternative rapide, facilement utilisable et sans solvant permettant d'obtenir des informations sur la composition en AG d'un produit. Cette méthode a été jusqu'à présent plutôt utilisée pour déterminer, avec succès, la composition en AG des huiles végétales (Knothe & Kenar, 2004). Par contre, son utilisation pour les AG des produits carnés est très limitée. Quelques études ont toutefois démontré l'intérêt de la RMN en quantifiant correctement les teneurs en CLA présents dans des échantillons de viande de bœuf (Maria et al., 2010), ou en quantifiant la composition en acide gras de produit charcutier à base de porc (Siciliano et al., 2013). Toutefois, ces déterminations ne sont pas réalisées sur les tissus mais sur les lipides extraits de ces tissus.

C. La spectroscopie de fluorescence

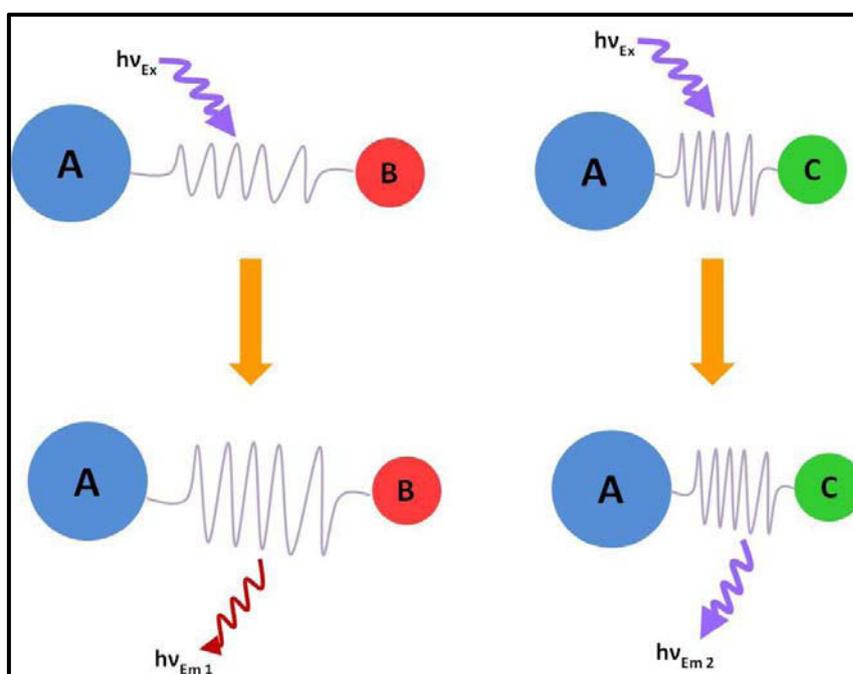
La spectroscopie de fluorescence (SF) implique l'utilisation d'un faisceau de lumière, généralement une lumière UV, qui excite les électrons dans les molécules de certains composés et les amène à émettre de la lumière à faible énergie. L'espèce (une molécule ou un atome) est d'abord excitée par absorption d'un photon de lumière de son état fondamental à l'un des différents états de vibration dans l'état électronique excité. L'état excité persiste pendant un temps qui est caractéristique de la molécule ou de l'atome. Suite à des collisions avec d'autres molécules, la molécule excitée va perdre de l'énergie vibratoire jusqu'à ce qu'elle atteigne l'état vibratoire le plus bas de l'état excité. Ce phénomène est appelé *conversion interne* et se produit en un temps très court (de l'ordre de 10^{-12} s). La molécule revient ensuite à l'un des différents niveaux de vibration de son état fondamental, émettant un photon dans le processus (Schéma 7). Ce phénomène est appelé la fluorescence (Dufour & Frenchia, 2001). Les molécules conduisant au phénomène de fluorescence sont appelées fluorochromes ou fluorophores et représentent l'élément clé de la SF. Il existe des fluorophores intrinsèques présents naturellement dans les composés, et des fluorophores extrinsèques qui sont ajoutés au composé pour obtenir la réaction souhaitée.

La fluorescence des fluorophores est très sensible aux modifications de l'environnement. Ainsi, il est nécessaire de travailler à température fixe, une augmentation de la température entraînant une diminution de l'intensité du spectre, et donc une moins bonne



MIR : Moyen infrarouge ; PIR : Proche infrarouge ; R : Rouge ; V : Vert ; B : Bleu ; UV : Ultra-violet

Schéma 8 : Portion du spectre électromagnétique.



A, B et C : Atomes ; $h\nu_{EX}$: Longueur d'onde d'excitation (infrarouge) ; $h\nu_{EM}$: Énergie d'émission ; \rightarrow : Vibration de la liaison chimique

Dans ce modèle, chaque liaison chimique a une fréquence de vibration qui lui est propre. Dans la situation a), la fréquence de la longueur d'onde est identique à celle de la liaison chimique. Dans cette situation, l'énergie lumineuse est absorbée, il y a une modification de la fréquence de vibration de cette liaison chimique. Cette liaison se retrouve donc sur le spectre qui enregistre l'intensité de la lumière absorbée en fonction de la fréquence. En revanche, dans la situation b), la fréquence de la lumière incidente est différente de celle de la liaison chimique, il n'y a pas d'absorption. Par conséquent, cette liaison à cette fréquence ne se retrouvera pas sur le spectre

Schéma 9 : Schéma descriptif du principe de la spectroscopie vibrationnelle d'une molécule diatomique selon le modèle simple de l'oscillateur harmonique.

estimation des composés étudiés. De plus, il est nécessaire que les échantillons aient reçu le même traitement car les traitements technologiques font varier les spectres (Dufour & Frencia, 2001) les rendant difficiles à analyser et interpréter. L'interprétation des spectres et la construction des modèles prédictifs passe par une étape de calibration qui consiste à corrélérer les spectres à des données obtenues par les méthodes de mesure de référence (CPG pour les AG, Kjeldahl pour les protéines,...) (Dufour et al., 1998). Cette technique permet donc d'obtenir des mesures indirectes nécessitant au préalable un étalonnage robuste des modèles de prédiction ciblés sur le paramètre souhaité. Il existe deux modes d'acquisition des spectres de fluorescence pour évaluer la qualité de la viande, le mode frontal et le mode synchrone. La spectroscopie de fluorescence frontale permet l'étude d'échantillons d'aliments solides. Dans ce cas, les spectres d'excitation et d'émission sont acquis à une longueur d'onde fixe déterminée en fonction des fluorophores présents dans la matrice alimentaire analysée, comme par exemple le tryptophane, la vitamine A, la riboflavine, les produits d'oxydation des lipides et le NADH dans les produits carnés. La spectroscopie de fluorescence synchrone repose sur le même principe à la seule différence que les longueurs d'onde d'excitation et d'émission varient simultanément, tout en conservant entre elles un décalage constant, ($\Delta\lambda$) (Karoui & Blecker, 2011). Cette méthode présente l'avantage de pouvoir caractériser plusieurs fluorophores à partir d'un seul spectre. Par conséquent, elle pourrait être plus appropriée pour l'analyse d'échantillons complexes à plusieurs composants tels que les matrices alimentaires par rapport à la spectroscopie de fluorescence frontale.

La SF est une technique d'analyse rapide et d'une grande sensibilité et spécificité dont l'utilisation a été proposée pour la détermination de la qualité des produits alimentaires (Karoui & Blecker, 2011) et même pour le contrôle de la qualité des produits à base de viande (Aït-Kaddour et al., 2011). En effet, en dépit de son hétérogénéité et de son anisotropie, la viande est un produit alimentaire adéquat pour une investigation en SF (Swatland, 1987). Ainsi, cet auteur a mesuré par SF le collagène et l'élastine présents dans les tissus conjonctifs et a montré que l'émission de fluorescence du tissu adipeux était corrélée à la composition de la viande et à ses propriétés sensorielles (Swatland & Findlay, 1997; Swatland et al., 1995). Plusieurs travaux utilisant la SF associée à la chimiométrie ont été menés pour authentifier et classer les produits à base de viande en fonction de leurs conditions d'élevage (Gatellier et al., 2007), des processus de fabrication, de stockage et de cuisson (Gatellier et al., 2009) ou de la détérioration microbienne (Aït-Kaddour et al., 2011). En ce qui concerne la qualité sensorielle, la SF a été utilisée pour caractériser la texture de la viande et des produits carnés (Dufour & Frencia, 2001). Plusieurs études visant à détecter des dommages oxydatifs dans la viande ont également mis en évidence une forte corrélation entre les spectres de fluorescence et les attributs sensoriels (Olsen et al., 2005). Les évaluations quantitatives de certains composants des produits carnés ont été développées en utilisant des techniques de régression à plusieurs variables. Ainsi, plusieurs études ont montré la capacité de la SF à prédire le contenu en collagène (Sahar et al., 2008) et en amines aromatiques hétérocycliques (Sahar et al., 2010) de la viande. Cependant, très peu de données sont actuellement disponibles concernant les capacités de la SF à évaluer la teneur totale en lipides dans la viande. Wold et al. (1999) ont utilisé la SF pour déterminer la teneur en graisse dans la viande bovine et leurs modèles de prédiction sont très encourageants ($R^2 = 0,84$). Par contre, une autre étude visant à

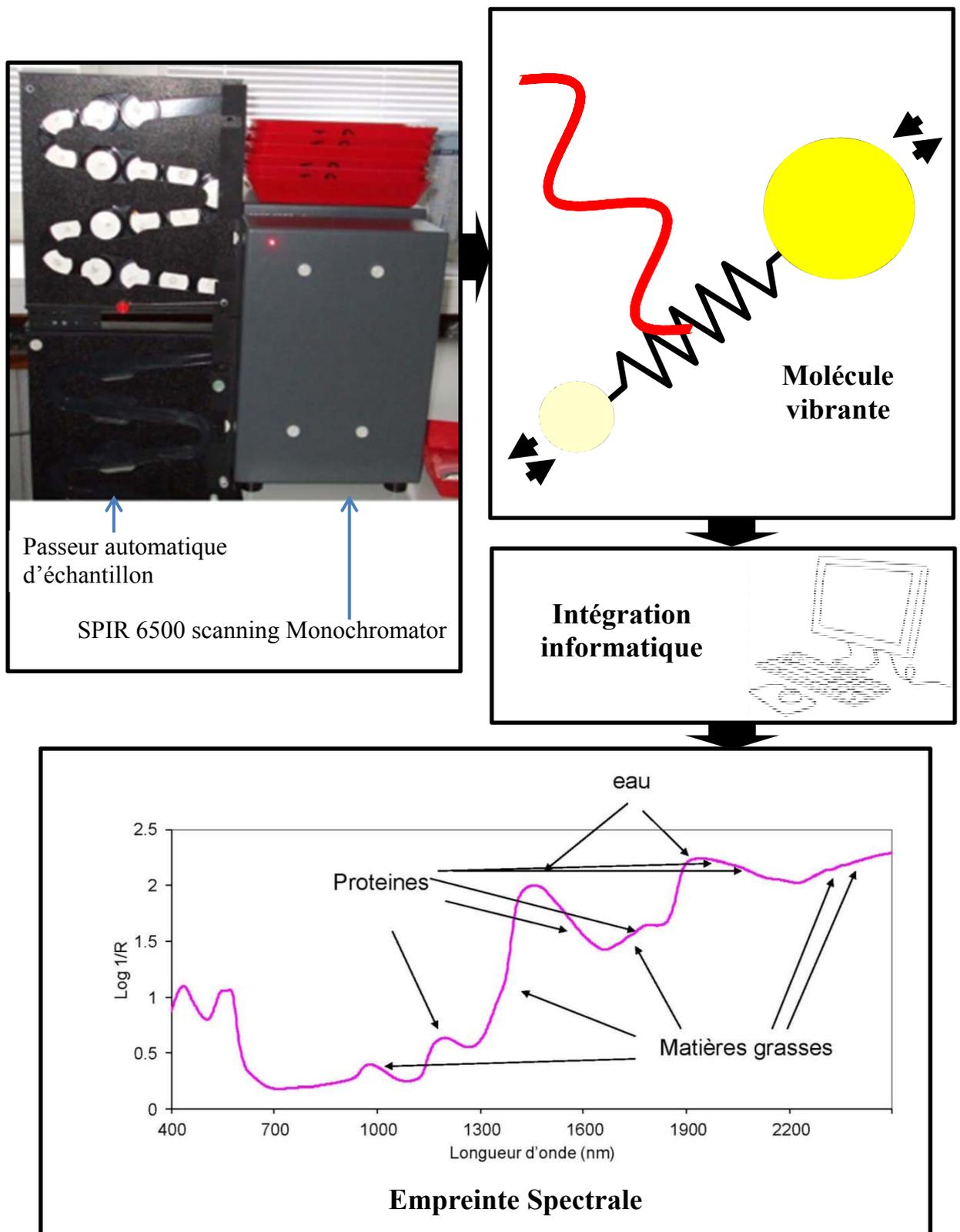


Schéma 10 : Appareil, schéma de principe et spectre d'absorption d'un spectromètre dans le proche infrarouge.

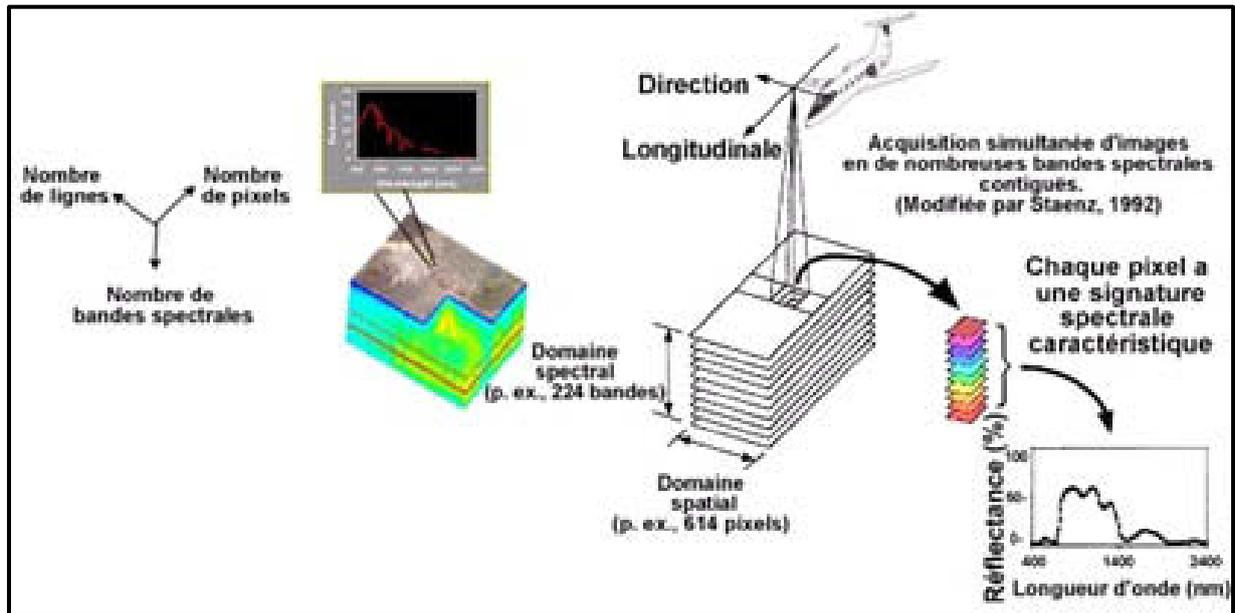
mettre en évidence le potentiel de la SF pour évaluer la teneur en graisse intramusculaire dans la viande de porc (Brondum et al., 2000) a conduit à des modèles de prédiction peu satisfaisants ($R^2 = 0,57$).

En ce qui concerne maintenant l'utilisation de la SF pour la mesure de la composition en AG de la viande bovine, une seule étude a été publiée, réalisée par Ouanezar *et al.* (2012), dans laquelle les SF frontale et synchrone sont comparées. Les deux modes d'acquisition ne permettent pas une bonne prédiction des teneurs en AGPI n-3 et n-6 mais donnent des résultats satisfaisant pour la prédiction des AGS.

D. La spectroscopie dans le proche infra rouge

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) a été découverte par F.W. Herschel en 1800. La spectroscopie peut être définie comme l'étude de l'interaction de la lumière avec la matière. La région du proche infrarouge couvre la plage des longueurs d'onde de la lumière comprise entre 800 et 2500 nm. Ce segment est une partie du domaine de la spectroscopie vibrationnelle et est situé entre celui du visible (400-780) nm et celui de l'infrarouge (2500-25000 nm) (Schéma 8). On peut modéliser simplement une molécule comme étant un ensemble d'atomes reliés entre eux par des liaisons « ressorts ». En effet, ces liaisons sont le résultat d'un équilibre des forces. On observe, d'une part, une répulsion entre les noyaux chargés positivement et entre les nuages d'électrons chargés négativement. Il y a, d'autre part, une attraction entre le noyau d'un atome et les électrons de l'autre, et vice-versa (Banwell, 1966). Chaque liaison vibre à une fréquence donnée dans la plage du segment IR, qui dépend du groupe chimique impliqué dans la liaison. L'énergie d'un rayon lumineux incident ne peut être absorbée que lorsque la fréquence de la lumière est identique à la fréquence propre de la liaison intermoléculaire. Un spectre est obtenu en enregistrant l'intensité de la lumière réémise par la liaison (= réflectance) en fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente. Cette absorption est propre aux liaisons chimiques et physicochimiques du produit considéré (Schéma 9). Les spectres sont construits en continu (plusieurs centaines de points de mesure) grâce aux données d'absorption de la lumière incidente (Bertrand, 2002) en évaluant la quantité de lumière qui n'a pas été absorbée par l'échantillon. L'énergie d'absorption d'un échantillon suit la loi de Beer-Lambert ($A = \log 1/R$).

Cette loi permet d'établir une relation entre l'absorbance (A), la réflectance (R) et la concentration d'un composé précis. La plupart des bandes d'absorption dans la région du proche infrarouge (PIR), sont des harmoniques des fréquences de vibration des molécules ou des combinaisons des vibrations fondamentales (bandes de combinaison). Cela signifie qu'une liaison intermoléculaire peut vibrer à différentes longueurs d'onde et qu'une longueur d'onde spécifique peut faire vibrer plusieurs types de liaisons différents. Les spectres sont caractérisés par la présence des harmoniques et des bandes de combinaison de l'eau aux longueurs d'onde de 970, 1190, 1450 et 1940 nm, des protéines (1520, 1600, 2050 et 2180 nm) et des matières grasses (1200, 1730, 1760, 2140, 2300 et 2348 nm) (Bertrand, 2002; Osborne, 2006) (Schéma 10). Dans le très proche IR (800-1100 nm), la lumière traverse l'échantillon sur des longueurs pouvant atteindre plusieurs centimètres. La mesure d'absorption obtenue est alors susceptible de tenir compte de l'hétérogénéité du substrat. Mais



http://www.sfpt.fr/hyperspectral/?page_id=168

Schéma 11 : Principe de fonctionnement de l'imagerie hyperspectrale.

pour les produits hétérogènes, le seuil de détection maximal d'un composé est de l'ordre de 0,5 à 1,0 % du poids (Bertrand & Dufour, 2006). Tout comme pour la spectroscopie de fluorescence, les spectres PIR contiennent des informations pertinentes sur les caractéristiques physiques et biochimiques des échantillons mesurés. Cependant, ces informations sont "cachées" dans les spectres, et nécessitent l'utilisation de méthodes chimiométriques pour quantifier ou authentifier un composé (Bertrand & Dufour, 2006).

La première application analytique de la SPIR a été développée en 1962 par Karl Norris sur des produits agricoles afin de mesurer l'humidité des graines de céréales. Cette méthode prend de l'importance en devenant un outil pour des analyses qualitatives et quantitatives pour différents types de matrices (graines, plantes, fruits, produits laitiers, viande,...) et différents types de composés (eau, protéine, lipides, glucides,...) (Bertrand & Dufour, 2006). De plus, cette méthode par sa rapidité, peut être appliquée en routine dans les industries, notamment dans le cadre des contrôles de fabrication. Sur la viande bovine, la SPIR est utilisée pour prédire différents paramètres: 1) la composition chimique des échantillons et leur composition nutritionnelle (Prieto et al., 2011), 2) des paramètres technologiques (De Marchi et al., 2013), 3) des paramètres sensoriels (Ripoll et al., 2008) et 4) l'authentification des produits (Morsy & Sun, 2013). En ce qui concerne l'utilisation de la SPIR pour la mesure de la composition en AG de la viande bovine, celle-ci permet de prédire correctement les familles d'AGS et d'AGMI ainsi que leurs AG individuels (Prieto et al., 2014). Toutefois, malgré l'intérêt nutritionnel des AGPI, ceux-ci ne sont pas estimés avec la même efficacité en fonction des espèces étudiées. Ainsi, dans la longe de porc (González-Martín et al., 2005), le blanc de poulet (Zhou et al., 2012) ou la viande de mouton (Guy et al., 2011), l'utilisation de la SPIR permet de prédire correctement les AGPI totaux et les principaux AGPI individuels. Par contre, lorsque les AGPI sont présents en faible quantité et/ou avec une faible variabilité comme dans la viande bovine, ces AG sont très mal prédits (Sierra et al., 2008; Weeranantanaphan et al., 2011).

E. L'imagerie hyperspectrale

Au cours des dernières années, de nouvelles méthodes basées sur la technologie de la SPIR ont été développées, en combinaison avec d'autres méthodologies. Ainsi, la technologie SPIR a été combinée avec des techniques d'imagerie pour créer les méthodologies d'imagerie hyperspectrale (IHS). ElMasry and Sun (2010) ont défini l'IHS comme une « combinaison des points forts et faibles des techniques VIS/PIR et des techniques de vision ». Dans IHS, l'image est acquise à partir d'une multitude de longueurs d'ondes continues. Les images hyperspectrales sont donc des ensembles de données en trois dimensions contenant des mesures d'intensité de lumière où les deux dimensions (X et Y) représentent les positions spatiales et la troisième dimension (λ) représente l'absorbance à différentes longueurs d'onde. Les images peuvent être interprétées, en général, comme des piles de centaines d'images à deux dimensions à différentes longueurs d'onde, ou des dizaines de milliers de spectres alignés en rangées et colonnes (Schéma 11). Ainsi, une image hyperspectrale offre la possibilité d'extraire des informations plus précises et plus détaillées que celles obtenues avec la technologie PIR classique. Même si la résolution de longueur d'onde pour obtenir le spectre

Tableau 9 : Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'analyse des AG.

Critères	CPG	RMN	SF	SPIR	IHS-PIR
Coût d'investissement	-	++	-	-	+
Coût d'analyse	++	++	--	--	--
Temps d'analyse	++	--	--	--	--
Précision analyse AG	++	++	+	+	+
Précision analyse AGPI	++	+	--	--	--
Adaptabilité à l'industrie	--	--	-	+	-
Préparation échantillon	++	-	-	--	--
Facilité d'utilisation	--	-	+ ^a	++ ^a	++ ^a
Spécialisation pour les AG	++	+	-	+	+

-- = faible - = modéré + = partiellement important ++ = Important

^a : après opération de calibration qui nécessite un travail d'expertise

CPG : chromatographie en phase gazeuse ; RMN : Résonnance magnétique nucléaire ; SF : spectroscopie de fluorescence ; SPIR, spectroscopie dans la proche infrarouge ; IHS : imagerie hypersrectrale.

PIR est diminuée, cette altération est compensée avec le spectre IHS-PIR par l'augmentation de la qualité spectrale obtenue à partir des milliers de spectres. La SPIR fournit un spectre par mesure, alors que les images hyperspectrales fournissent des milliers de spectres d'un échantillon. Dans une image, chaque pixel correspond à un spectre. L'image prise par IHS-PIR donne également une signature spectrale de l'échantillon qui est unique et peut être utilisée pour caractériser et identifier les échantillons étudiés (Shaw & Manolakis, 2002).

Ces images hyperspectrales ont initialement été utilisées pour des applications de télédétection, de géologie (Clark & Swayze, 1995), dans l'industrie du papier (Tatzer et al., 2005), pour l'art (Rapantzikos & Balas, 2005) et le domaine médical (Harvey et al., 2002; Kellicut et al., 2004). Plus récemment, l'IHS a été utilisée pour la recherche alimentaire. Ainsi, l'imagerie hyperspectrale utilisée en tandem avec des analyses multivariées a été testée pour identifier et authentifier des viandes rouges provenant de différentes espèces (porc, agneau et de bœuf). Les résultats montrent clairement que la combinaison « imagerie hyperspectrale - analyse multivariée - traitement de l'image » a un grand potentiel en tant que méthode objective et rapide pour identifier et authentifier ces viandes (Kamruzzaman et al., 2012a).

Même si plusieurs études se sont penchées avec succès sur la détermination de la composition physico-chimique (lipides totaux, protéines, eau) de la viande de porc, d'agneau ou de bovin (Barbin et al., 2013; ElMasry et al., 2013; Kamruzzaman et al., 2012b), la question spécifique de la détermination de la composition en AG a été très peu étudiée jusqu'à présent. Seules deux études de Kobayashi et al (2010, 2012) montrent que l'IHS-PIR permet la détermination des teneurs en AGS et en AGMI tels que l'acide oléique dans la viande bovine crue. Il est à noter également, le succès de l'IHS en combinaison avec la SPIR pour déterminer les teneurs en ALA, EPA et DHA dans des œufs enrichis en AGPI n-3 (Abdel-Nour & Ngadi, 2011).

F. Avantages et inconvénients des méthodes d'analyse des AG

Les chapitres précédents ont permis de montrer qu'il existait de plus en plus de technologies, non initialement dédiées à la recherche sur les produits alimentaires voire sur des composés organiques, qui ont été adaptées à cette thématique avec plus ou moins de succès selon les objectifs recherchés.

Il nous a semblé intéressant de rapporter le plus simplement possible les performances de ces différentes approches, dans le cadre de la détermination de la composition en AG de la viande bovine. Nous avons ainsi répertorié les points forts et les points faibles de chacune de ces techniques sur la base de la mesure de la composition en AG de la viande bovine (Tableau 9).

La communauté scientifique, de par le nombre de travaux publiés à partir d'analyses réalisées en CPG, plébiscite la CPG comme « la méthode de référence ». Elle concilie, performance d'identification, facilité relative de mise en application et investissement relativement modéré comparativement à la RMN par exemple. La RMN est bien évidemment une méthode extrêmement performante pour identifier avec certitude les AG minoritaires ou

de conformations très particulières, mais reste une méthode plus dédiée à l'identification qu'à la routine de par sa complexité et son coût. De plus ces deux techniques nécessitent au préalable une extraction des AG présents dans l'échantillon, étape chronophage et dénaturante pour l'échantillon. Ainsi, ces 2 méthodologies, CPG et RMN, ne sont pas adaptées pour effectuer des analyses dans des conditions industrielles (environnement humide et cadence, ...).

Par rapport à la CPG et la RMN, les autres méthodologies ont l'avantage de permettre la réalisation de mesure multiparamétrique sur les échantillons. À partir d'une analyse, plusieurs composés peuvent être déterminés. Toutefois, ces mesures sont indirectes et nécessitent des modèles d'étalonnage. Ces méthodes doivent être combinées à des techniques chimiométriques, discipline nécessitant l'utilisation de méthodes mathématiques et statistiques pour extraire et interpréter l'information chimique à partir des données. Ces techniques chimiométriques nécessitent donc du temps, des programmes d'interprétation coûteux et un personnel spécialisé. Une fois que l'étape d'étalonnage est effectuée, le temps d'analyse de ces 3 méthodes va de quelques secondes à quelques minutes (<5 min), en fonction de la précision de mesure souhaitée.

La SF est connue pour être 100 à 1000 fois plus sensible que la SPIR, tout comme la IHS-PIR où des milliers de spectres sont obtenus pour constituer une image complète de la distribution et la concentration des composés chimiques. Toutefois, la SF comme la IHS-PIR présentent des inconvénients par rapport à la SPIR. Pour la SF, la mise en place de cette méthode nécessite une étape supplémentaire par rapport à la SPIR qui consiste à identifier la longueur d'onde d'excitation et/ou d'émission optimale pour l'échantillon et le composant à prédire. Cette étape peut être assez longue à mettre en œuvre en fonction des connaissances déjà acquises sur le fluorophore qui est étudié. Également, plus handicapant, les algorithmes de traitement d'analyse d'image multivariée sont encore très perfectibles et sont en cours de développement.

Ainsi, la SPIR apparaît la technique la plus pertinente pour déterminer la composition et la teneur en AG de la viande bovine en abattoir.

Chapitre 2 :
Objectif du travail de thèse

Objectif du travail de thèse

Les attentes des consommateurs et des professionnels de la filière s'orientent, en plus des qualités sensorielles incontournables (dont la tendreté), vers une amélioration des qualités nutritionnelles de la viande bovine, notamment en ce qui concerne sa composition en AG. En effet, depuis ces dernières années, un accent tout particulier a été mis sur l'intérêt des AGPI, en tant qu'AG essentiels pour la santé humaine. De ce fait, l'interprofession a identifié un « nouveau » secteur de marché, qui peut s'apparenter actuellement à un marché de niche, basé sur la valorisation de la qualité nutritionnelle des produits alimentaires et leur valeur santé pour les consommateurs.

Toutefois, pour être en mesure de communiquer sur la composition en AG et les teneurs en AGPI de la viande, il est indispensable de connaître cette information le plus tôt possible dans la filière, bien en amont de l'achat par le consommateur. Il apparaît qu'une information précise dès l'abattage de l'animal permettrait d'orienter les carcasses vers des circuits différents selon leurs « valeurs » nutritionnelles. Par ailleurs, des informations obtenues encore plus précocement, c'est à dire dès l'élevage, permettraient d'accompagner l'éleveur dans la conduite de la phase de finition de ses animaux en fonction de la demande des abatteurs et négociants en viande.

Dans ce contexte, le projet FUI « SpecMeat », initié en 2013, a pour objectif de créer un « service » utilisable en abattoir et en élevage englobant à la fois un outil de mesure rapide (SPIR) et des modèles mathématiques, permettant d'évaluer la qualité nutritionnelle des produits mais aussi la santé des animaux, un autre volet d'importance pour la filière, sur la base de critères objectifs et quantifiables. L'ensemble des outils et des modèles développés dans le cadre de ce nouveau service permettra une caractérisation en ligne sur les chaînes d'abattage et le développement d'outils de pilotage des troupeaux en élevage mettant ainsi l'éleveur au centre de la filière en lui fournissant des outils de caractérisation objective de la qualité des viandes produites et de l'état de santé de son troupeau. De plus, ce service sera utilisé dans les filières pour communiquer auprès des consommateurs sur certains aspects relatifs au bien-être animal.

Six partenaires sont impliqués dans ce projet et représentent l'ensemble des professionnels de la filière bovine :

- La société Valorex SAS, porteur du projet, a pour rôle les analyses d'AG, les mesures spectrales en laboratoire industriel ainsi qu'en élevage et est en charge des développements des modèles de calibrations SPIR sur animal vivant.
- L'Institut de l'Élevage a pour rôle la réalisation d'une enquête auprès des abattoirs pour définir le cahier des charges de l'équipement de mesure. Il est en charge des mesures IR sur les carcasses bovines et des développements des modèles de calibrations SPIR sur carcasse. Il assure également la diffusion auprès des opérateurs des filières (éleveurs et abatteurs) des résultats du programme.
- La société Terrena a en charge la mise en place du processus de médiation et les recrutements des bovins, des élevages et des abattoirs concernés par les échantillonnages et assure la logistique et l'organisation des interventions nécessaires au projet au sein des élevages et des abattoirs.

- L'Association Bleu-Blanc-Cœur a pour rôle de faire remonter aux partenaires du projet les attentes des éleveurs bovins et des abatteurs vis-à-vis des indicateurs et des outils mis en place.
- L'Université de Rennes 1 - Foton-Enssat a pour rôle la spécification et la validation d'un prototype d'analyseur SPIR, en étudiant l'analyseur existant et en s'appuyant sur le cahier des charges défini par les partenaires.
- L'INRA a pour rôle la mise en place d'équations de prédiction des AG mineurs à partir des AG majeurs au niveau des différents tissus bovins et la mise en place de liens entre marqueurs de peroxydation des viandes et état sanitaire des animaux (marqueurs plasmatiques de santé).

Ainsi, mon projet de thèse au sein de l'INRA, qui fait partie intégrante du projet FUI, est à l'intersection entre « recherche scientifique » et « recherche industrielle ». Ce projet a pour objectifs :

- D'évaluer et améliorer le potentiel de la SPIR pour prédire la composition en AG de la viande bovine.
- D'élaborer des équations de prédiction des teneurs en acides gras importants pour la santé humaine et mal prédits par SPIR, comme les AGPI, en utilisant uniquement les données obtenues de façon fiable par SPIR et celles disponibles en abattoir (âge, sexe, race...).
- De développer une première approche intégrative pour tester les performances des approches précédentes en combinant SPIR et équations de validation pour prédire les teneurs en AGPI de la viande bovine.

Chapitre 3 :
Développement du travail de thèse
Matériel et méthodes

Étalonnage de la SPIR en vue de la détermination des teneurs en AG de la viande bovine

Le premier objectif de mon travail de thèse a été d'étalonner la SPIR en vue de la détermination ultérieure de la composition en AG de la viande bovine. Pour conduire cet étalonnage, j'ai dû aborder successivement différents points allant du choix des échantillons au choix du modèle d'étalonnage.

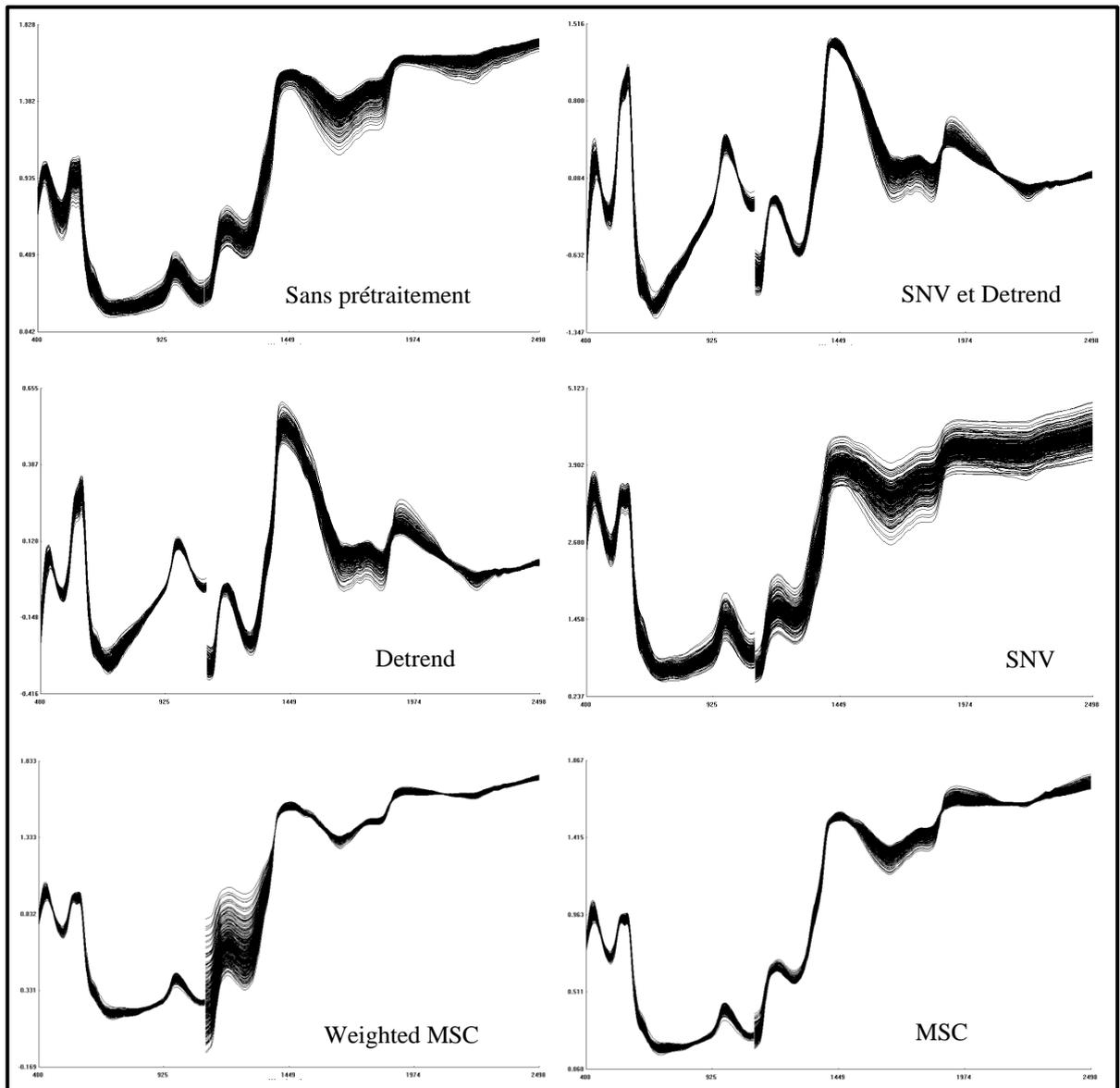
Échantillons

Les échantillons qui ont été initialement utilisés pour réaliser nos premiers étalonnages de teneurs en AG de la viande par SPIR provenaient de deux programmes de recherche conduits dans l'équipe AMUVI, ProSafeBeef (projet européen N FOOD-CT-2006-36241) et Défiviande (programme INRA « Nouveaux Défis A Relever Pour Une Production Durable De Viande Bovine »). Ce choix permettait 1) de bénéficier d'échantillons provenant d'animaux et de muscles variés (4 races, 3 muscles) soumis à des rations diverses (fourrage *vs.* céréales supplémentées en graine de lin extrudé, *ad libitum vs.* rationné) 2) de bénéficier des analyses CPG déjà acquises dans de très bonnes conditions (colonne capillaire CP-Sil 88, longueur 100 m, diamètre 0.25 mm) 3) d'avoir accès à suffisamment d'échantillons en terme de quantité et de qualité, ceux-ci ayant été conservés à – 80 °C depuis leur prélèvement.

La SPIR est sensible à l'hétérogénéité des viandes (Guy et al., 2011), ce qui diminue les performances de prédiction des composés. Compte tenu que la viande bovine est assez hétérogène, plusieurs types de broyages pouvaient être envisagés pour limiter cette hétérogénéité. Nous avons choisi le broyage le plus performant en termes de finesse de hachage et le plus conservateur en termes d'oxydation (pouvant altérer la composition nutritionnelle des échantillons) c'est-à-dire le broyage fin dans l'azote liquide. Toutefois, ce type de technique de broyage ne correspond pas à ce qui pourrait être réalisé en abattoir. Donc, parallèlement à ce développement méthodologique, les autres partenaires du projet « SpecMeat » ont réalisés les mêmes mesures sur les mêmes muscles à partir d'échantillons soit natifs ou soit broyés plus ou moins finement (hachoir, couteau).

Acquisition des spectres

La première étape a consisté en l'acquisition de différents spectres à partir des échantillons de viande homogènes. Les spectres ont été acquis sur un spectromètre PIR 6500 monochromateur de balayage (NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) couplé au logiciel ISI, version 3.01, d'Infrasoft International (Infrasoft International, South Atherton St. State College, PA 16801, USA) et muni d'un module de chargement automatique des coupelles contenant les échantillons de viande à analyser (Schéma 10). Trois à 4 g d'échantillons ont été scannés dans une coupelle circulaire (diamètre : 50 mm, profondeur : 10 mm, NIRSystems, Infrasoft International) en duplicata en mode réflectance par intervalle de 2 nm entre 400 et 2500 nm. La moyenne des deux spectres pour un échantillon a été réalisée, et c'est à partir de ce spectre moyen qu'a été effectuée la calibration.



Échelle des abscisses : longueur d'onde (en nm) entre 450 nm et 2500nm. Échelle des ordonnées : absorbance (exprimé en $\log(1/R)$ où R est la réflectance). SNV : Standard Normal Variate ; MSC : Multiplicative Scatter Correction

Figure 7 : Ensemble des spectres obtenus en spectrométrie PIR avec application des prétraitements mathématiques.

Étalonnage des spectres

Les calibrations des modèles issus de la SPIR ont été réalisées avec le logiciel WinISI III. L'ordre des échantillons a d'abord été désorganisé aléatoirement avant d'élaborer les équations d'étalonnage. Les équations de prévision ont été obtenues par régression en utilisant la technique des moindres carrés partiels modifiés (MPLS, modified partial least squares). La MPLS est souvent plus stable et plus précise que l'algorithme de PLS standard car les résidus issus de la SPIR, à chaque longueur d'onde, sont normalisés (divisés par l'écart-type des résidus à une longueur d'onde). Dans un second temps, les équations ont été validées par la méthode de validation croisée. Cette méthode consiste à diviser l'échantillonnage original en k sous-groupes. Puis, un des k sous-groupes est sélectionné comme jeu de données pour une validation externe et les $(k-1)$ groupes restants constituent l'ensemble d'étalonnage. Le mélange aléatoire des échantillons avant calibration permet d'éviter qu'un des sous-groupes soit composé d'échantillons ayant une caractéristique commune non représentative des autres sous-groupes. L'erreur quadratique moyenne est calculée sur cette validation. Puis l'opération est répétée en sélectionnant un autre échantillon de validation parmi les $(k-1)$ groupes qui n'ont pas encore été utilisés pour la validation du modèle. L'opération se répète ainsi k fois afin que chaque sous-groupe soit utilisé exactement une fois comme ensemble de validation. La moyenne des k erreurs quadratiques obtenues précédemment est calculée pour estimer l'erreur de prédiction.

Les spectres en IR peuvent être entachés de défauts (bruits de fond, échelles variables entre les différents spectres, variations de la ligne de base, ...). L'application de différents prétraitements mathématiques permet de résoudre tout ou partie de ces biais. Ainsi, différents prétraitements mathématiques ont été appliqués sur les spectres PIR avant la réalisation de la modélisation (sans traitement, Standard Normal Variate (SNV), Detrend, SNV+ Detrend, Multiplicative Scatter Correction (MSC), et Weighted MSC) (Figure 7).

Chaque traitement mathématique a une action différente :

1) SNV est un prétraitement mathématique qui permet de réaliser une normalisation de chaque spectre. On obtient alors des spectres dont les valeurs d'absorption pour chaque longueur d'onde sont centrées réduits d'écart-type unitaire. Cela réduit très fortement les variations d'intensité générale des spectres et permet d'améliorer les résultats des analyses quantitatives,

2) Detrend est un prétraitement mathématique, appliqué sur chaque spectre, pour réaliser une correction de la tendance. Il suit une loi polynômiale permettant d'éliminer sur le spectre l'augmentation de l'absorption de la lumière liée au phénomène de dispersion qui est curviligne en fin d'acquisition,

3) SNV + Detrend est un prétraitement qui combine les deux méthodes de normalisation et de correction de la tendance,

4) MSC est un prétraitement mathématique de transformation du spectre qui permet de réaliser une normalisation de tous les spectres, en réalisant une transformation basée sur un centrage de chaque spectre en se basant sur un spectre « idéal » qui est en général le spectre

moyen. Il est utilisé pour supprimer la dispersion de l'ensemble des spectres, en éliminant les interférences optiques (effets additifs et/ou multiplicatifs) de chaque spectre,

5) Weighted MSC consiste à faire la normalisation des absorbances, en fonction de l'écart-type de chaque spectre par rapport au spectre moyen.

Pour le spectre brut ainsi que pour chaque prétraitement, des dérivées d'ordre 1 et 2 ont été appliquées sur les valeurs des spectres : 0,0,1,1 ; 1,4,4,1 ; 2,10,10,1. Le premier chiffre de cette succession de quatre chiffres représente le degré de la dérivée. Le second est l'intervalle dans lequel est calculée la dérivée. Les troisième et le quatrième chiffres correspondent au nombre de points pris en compte respectivement pour le premier et le second lissage. Les dérivées permettent l'obtention des pics (plus ou moins larges) à la place de bandes d'absorption observées dans les spectres bruts.

De plus, pour compléter la phase d'étalonnage, les combinaisons [prétraitement + dérivée] ont été testées dans deux plages de longueurs d'onde différentes : l'infrarouge (700 – 2500 nm) et l'infrarouge et le visible (400 – 2500 nm). Le fait d'utiliser l'ensemble des longueurs d'onde (visible + infrarouge) permet de travailler avec la globalité des informations spectrales. Cependant, en fonction de ce qui est recherché, cette information spécifique peut être « noyée », et il peut être bénéfique de ne travailler qu'avec les longueurs d'onde de l'infrarouge (700 à 2500 nm)

Sélection du meilleur modèle

Compte tenu des différents traitements de l'information spectrale pratiqués pour la calibration, un échantillon conduit à 42 équations d'étalonnage différentes (7 prétraitements, 3 dérivés, 2 plages de longueurs d'onde). La sélection du meilleur modèle pour chaque échantillon se fait sur la base du meilleur coefficient de détermination de la validation croisée (R^2CV), de la plus faible valeur de l'écart-type résiduel de la validation croisée (SECV) et de la meilleure valeur du rapport performance/déviations (RPD).

Le coefficient de détermination de la validation croisée (R^2CV) fonctionne de la même manière qu'un coefficient de détermination (R^2). Ce paramètre permet de déterminer à quel point l'équation de régression est adaptée pour décrire la distribution des points et donc juger de la qualité de la régression. L'équation de R^2CV est la suivante :

$$R^2CV = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - Y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$$

où n : nombre d'échantillons ; X_i : valeur de référence ; \bar{X} : moyenne des valeurs de référence pour un même composé et Y_i : valeur prédite par le modèle. Pour chaque équation, la prédiction est considérée selon les critères de l'étude de Karoui et al. (2006) comme mauvaise, moyenne, bonne et excellente si le R^2CV a respectivement une valeur inférieure à

0,66, entre 0,66 - 0,80, entre 0,81 - 0,90 et supérieure à 0,91. Toutefois, en fonction des sujets d'étude et des objectifs à atteindre ces valeurs peuvent être nuancées.

L'écart-type résiduel de la validation croisée (SECV) est un bon estimateur des capacités de prédiction des modèles, car c'est un des paramètres de mesure de l'erreur de prédiction. Il suit l'équation suivante :

$$SECV = \frac{\sum_{j=1}^z \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{N}$$

où y_i : la valeur de référence pour un composé d'un échantillon i dans le groupe de validation croisée j ; \hat{y}_i : les valeurs prédites pour ce même composé ; z : le nombre de groupe de validation croisée, et N : le nombre d'échantillons dans chaque groupe de validation croisée.

L'équation de la valeur du rapport performance/déviatiion (RPD) est la suivante :

$$RPD = \frac{EC}{SECV}$$

où $EC = \sqrt{(X_i - \bar{X})/N}$ est l'écart type de l'ensemble des échantillons utilisés pour la validation croisée pour un composé et SECV : l'écart-type résiduel de la validation croisée. Selon l'appréciation de Williams & Sobering (1993), la valeur du RPD doit être aussi élevée que possible. Une valeur supérieure à 10 est excellente et équivalente voire meilleure que les méthodes de référence chimique ou physico-chimique utilisées dans les processus de contrôle pour obtenir la valeur du composé mesuré. Les valeurs de RPD comprises entre 5 et 10 correspondent à une situation où l'équation peut être utilisée pour des contrôles qualité. Une valeur de RPD supérieure à 2,5 est satisfaisante pour utiliser l'équation de prédiction pour des contrôles de routine.

Prédiction des AGPI par des équations

Suite à cette première partie de mes travaux de thèse, j'ai pu montrer que la SPIR avait quelques limites pour prédire de façon satisfaisante les AGPI, ces AG étant une cible essentielle de prédiction pour les acteurs de la filière bovine. C'est pourquoi, l'approche SPIR a été complétée par une méthode de prédiction indirecte de ces AG via des équations de prédiction. L'objectif final étant toujours de mesurer la composition en AG dans des abattoirs pour classer qualitativement les carcasses de bovins, les éléments à intégrer dans les équations de prédiction ne devront être que les éléments disponibles en abattoir aux niveaux des opérateurs de la chaîne d'abattage.

Dans cette seconde partie, nous allons présenter les données que nous avons utilisées pour établir ces équations, ainsi que la démarche que nous avons adoptée.

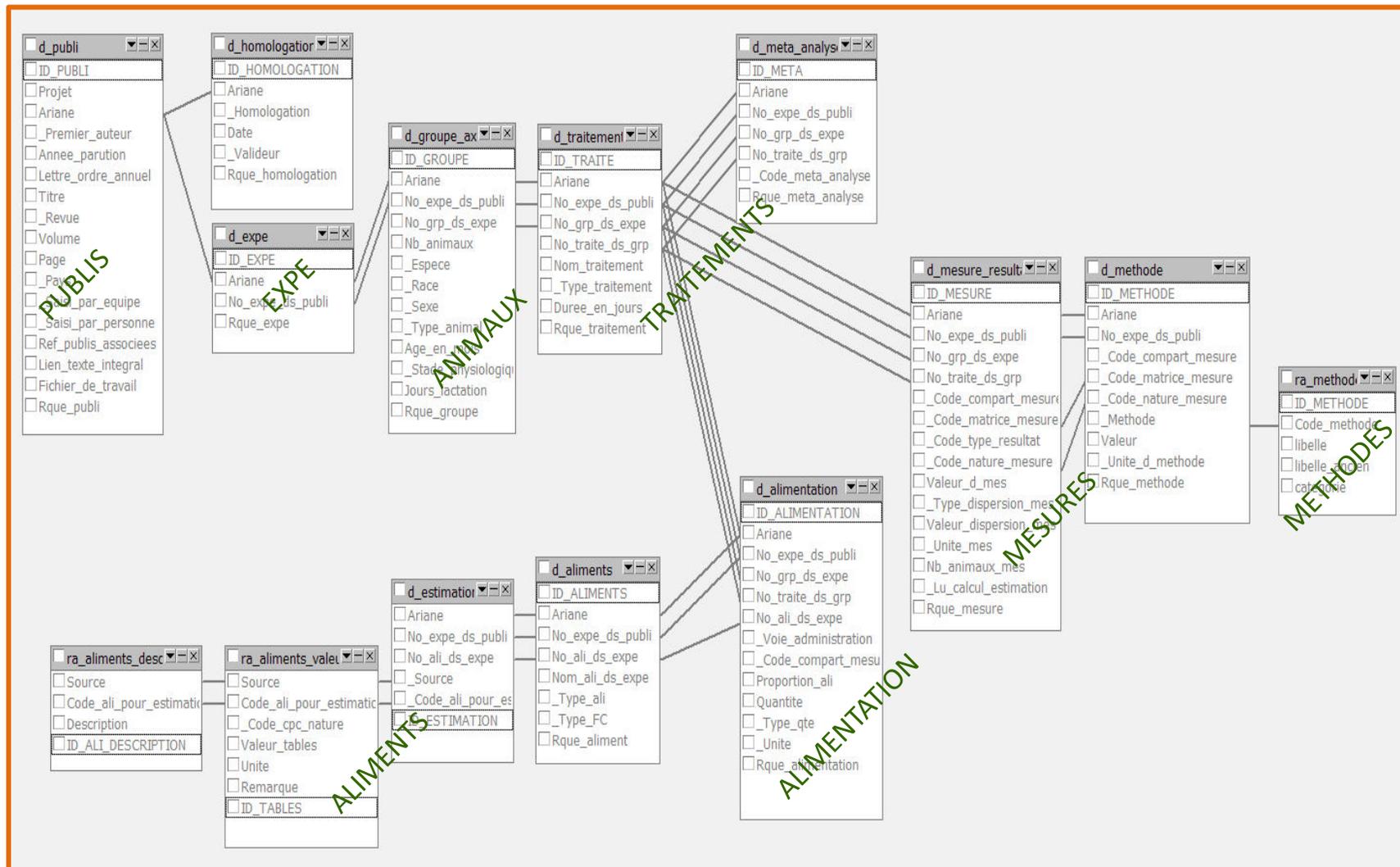


Schéma 12 : Modèle conceptuel des données de l'entrepôt Nutriflux (d'après Vernet et Ortigues-Marty, 2006).

Construction et préparation des bases de données

Base de données « ω3Meat »

La base de données « ω3Meat » a été construite d'après le modèle (entrepôt de données Nutriflux) élaboré par Vernet & Ortigues-Marty (2006). Elle a été référencée par l'Agence pour la Protection des Programmes (IDDN.FR.001.370029.000.R.2011.000.10300). Elle est composée de 24 tables principales (Schéma 12). Ces tables contiennent l'ensemble des données extraites des publications. Elles renseignent sur la publication (auteurs, années, titre,...), les animaux (espèce, statut physiologique, sexe, nombre...), les régimes (composition centésimale des régimes en aliments, quantités ingérés, composition chimique des aliments et des rations...), le protocole expérimental (méthodes de mesure, dispositif statistique...), les résultats obtenus (teneur en lipides des muscles, composition en AG...). Associées à ces tables, de nombreuses requêtes ont été mises en place pour relier les tables entre elles et obtenir la synthèse de plusieurs types de résultats dans un même tableau.

L'objectif initial qui a conduit à l'élaboration de cette base de données était de visualiser l'impact des conditions d'élevage sur l'évolution de la composition en AG de la viande bovine dans le cadre de la thématique de recherche d'un chercheur de l'équipe (D. Gruffat). J'ai complété cette première base qui se compose maintenant de 184 publications postérieures à l'année 2000. Ces études compilent 678 traitements expérimentaux et regroupent quelques 32537 données différenciées par les régimes alimentaires, les caractères morphologiques des différents bovins avant ou après abattage, ainsi que la composition nutritionnelle en AG des différents muscles étudiés (Tableau 10). Les résultats représentent des moyennes de groupe d'animaux.

Outre les données obtenues directement à partir des publications, il a été nécessaire d'effectuer certains calculs ou extrapolations notamment en ce qui concerne l'unité d'expression des AG. En effet, certains auteurs présentent leurs résultats de teneur en AG dans le tissu exprimée en $\text{mg} \cdot 100^{-1} \text{g}$ de tissu alors que d'autres présentent la composition en AG des tissus en proportion des AG (%) par rapport aux AG totaux. Ainsi, lorsque les AG totaux sont explicitement identifiés, la conversion d'une unité d'expression à l'autre a été réalisée. Par contre, dans nombres de publications, cette donnée n'est pas explicitée. Dans cette situation, si la teneur en lipide totaux est fournie, nous avons extrapolé la quantité d'AG totaux avec la formule suivante : $(AG \text{ totaux} = 0,6 + (\% \text{ Lipide totaux} - 1) \times 0,88)$ où les AG et les lipides totaux sont exprimés en $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ de tissu. Cette extrapolation part du principe que la somme des teneurs en AG présents dans les phospholipides et les triglycérides représente la quasi-totalité des AG des tissus musculaires. Ainsi, un phospholipide étant constitué de deux chaînes d'AG, le rapport du poids moléculaire des deux AG sur le poids moléculaire du phospholipide donne un coefficient de 0,6. De même, un triglycéride étant constitué de trois AG, le rapport du poids moléculaire des AG sur le poids moléculaire du triglycéride donne un coefficient de 0,88. Cette estimation de la teneur en AG totaux permet donc de récupérer un certain nombre d'observations dans la base de données. Il faut toutefois

Tableau 10 : Résumé de la composition des bases de données « ω3Meat », « INRA » et « Validation ».

Bases de données	« ω3Meat »	« INRA »	« Validation »
Types de données	bibliographiques	individuelles	individuelles
Nombre de données	214	826	244
Races	Alentejana cross breed Angus pure & cross breed Asturiana de la Montana Asturiana de los Valles Blond d'Aquitaine Caracu Charolais Charolais x Holstein Criollo Argentino Czech Fleckviechh Friesian Hereford Holstein Holstein x Friesian Limousin Montbeliard Mertolenga Normand Podolian pure & cross breed Scottish highland Simmental Tudanca	Angus Blond d'Aquitaine Charolais Limousin Normand	Blond d'Aquitaine & cross breed Charolais Limousin Limousin x Prim'Holstein Normand Prim'Holstein
Types d'animaux	Bœuf Génisse Jeune bovin Vache de réforme	Bœuf Génisse Jeune bovin Vache de réforme	Bœuf Génisse Jeune bovin Vache de réforme
Muscles	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Psoas major Semimembranosus Infraspinatus Par costalis Diaphragma Triceps brachii Splenius Tensor facia latae Gastrocnemius Intercostal	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Psoas major Semimembranosus Infraspinatus Par costalis Diaphragma Triceps brachii Splenius Tensor facia latae Masseter Latissimus dorsi fosse poplitée	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Infraspinatus

garder présent à l'esprit que certaines de ces données peuvent apporter une erreur de mesure dès leur insertion dans la base de donnée.

Il peut également y avoir des incertitudes engendrées par le calcul des familles d'AG. En effet, suivant les publications, les AGS sont présentés comme la somme des principaux AGS (14:0 + 16:0 + 18:0) ou comme la somme de tous les AGS détectables (du C:10 au C:24) (Hoehne et al., 2012; Mello et al., 2012). Cette situation se retrouve également pour les AGMI ou les AGPI totaux.

Enfin, l'objectif de cette thèse est de mettre en place des équations de prédiction des principaux AGPI utilisables par les abattoirs européens et donc, concernant les ruminants les plus représentatifs des abattages pratiqués en Europe (animaux ayant reçu des rations conventionnelles ou appartenant à des labels caractéristiques des filières qualité). Ainsi, plusieurs études bibliographiques ont été exclues de la base de données comme celles portant sur les veaux (apparentés aux monogastriques) ou sur les taureaux (représentant une proportion faible des abattages) ou sur les animaux de genre *Bos Indicus* ou croisement s'y rapportant. Enfin, les bovins ayant reçu une alimentation supplémentée en huile de poisson (uniquement utilisée à des fins expérimentales) ont été retirés de la base de données. Seules les données des analyses réalisées à partir des muscles ont été utilisées, les gras et les abats n'ayant pas été pris en compte. De plus, les données analytiques n'ayant pas été obtenues avec la méthode de référence, c'est à dire la CPG ont été également exclues. Une restriction supplémentaire a été ajoutée concernant les chromatographes qui doivent être équipés de colonnes très polaires de 100 m afin de garantir une séparation optimale des AGPI (Kramer et al., 2002). Enfin, les publications présentant des données manquantes ont été retirées de la base de données.

Ainsi, l'avantage majeur de la base de données « ω 3Meat » est son large champ d'application car les observations qu'elle contient proviennent de publications issues du monde entier avec des animaux et des systèmes d'élevage très diversifiés.

Les inconvénients de cette base de données concernent principalement les incertitudes liées à l'estimation de certaines mesures et la grande diversité des méthodes d'extraction et de mesure des AG qui peuvent induire certaines erreurs supplémentaires. De plus, le fait d'utiliser des groupes d'animaux avec des résultats moyennés, peut induire une baisse de la variabilité explicative des données en ne prenant pas en compte les différences inter-animales.

Base de données « INRA »

Nous avons constitué une seconde base de données beaucoup plus « fiable » en termes de méthode de dosage. Pour cela, nous avons choisi de nous appuyer sur toutes les analyses de composition en AG de muscles de bovin obtenues dans notre laboratoire de recherche. Il s'agit, dans cette base de données « INRA », d'exploiter les données individuelles des muscles analysés depuis ces 15 dernières années par l'équipe de recherche Amuvi (Tableau 10). Cette base de données « INRA » regroupe actuellement plus de 800 observations.

Les avantages de cette base de données sont qu'elle a été construite à partir de données plus « fiables » que celle de la bibliographie. De plus, le fait d'utiliser des compositions individuelles d'échantillons permet une meilleure prise en compte de la variabilité inter-animale.

L'inconvénient de cette base de données est, par contre, son faible champ d'investigation par rapport à la base de données « ω 3Meat ». En effet, malgré le grand nombre de données, celles-ci sont issues d'un peu moins de dix expérimentations conduites par le laboratoire ces 15 dernières années. Cela limite fortement la variabilité d'origine des animaux.

L'élaboration des équations de prédiction avec deux bases de données différentes va forcément conduire à comparer les performances des modèles obtenus à partir de chaque base de données pour un même acide gras. Toutefois, l'objectif n'est pas de proposer les meilleures équations d'une seule base de données, mais d'établir des équations à partir des deux bases afin de privilégier 1) un large domaine d'application (à partir de la base de données « ω 3Meat ») potentiellement utilisables par des « clients » dans et hors d'Europe et, 2) un domaine d'application plus restreint aux races françaises mais avec une fiabilité des données maximale.

Base de données « Validation »

Très succinctement, cette base de données est constituée de 240 observations d'animaux issus du projet FUI « SpecMeat ». L'objectif du projet FUI étant de mettre au point des outils de calibration pour la mesure de la composition en AG de la viande bovine en abattoir en France, l'origine de ces échantillons est très représentative de la diversité des élevages français (Tableau 10). Les échantillons ont été analysés avec la même méthode de référence que celle utilisée pour la base de données « INRA ». Cette base de données « Validation » regroupe donc les avantages des deux précédentes bases de données utilisées pour la calibration. Elle permettra de vérifier la fiabilité des modèles de prédiction obtenus.

La méthode

Pour l'élaboration de nos modèles prédictifs, en fonction de nos objectifs et de nos données, plusieurs méthodologies s'offraient à nous. Parmi celles qui correspondaient le mieux à nos attentes, nous avons dû choisir entre la régression linéaire multiple ou la régression PLS.

1- Régression linéaire multiple

Le nom de régression vient des travaux de Francis GALTON sur la relation entre la taille des enfants et la taille des parents en 1886. Cette méthode est donc depuis largement utilisée pour établir des relations. En statistiques, la régression est un ensemble de méthodes

pour analyser la relation d'une variable quantitative par rapport à une ou plusieurs autres variables quantitatives.

Pour la régression linéaire, si on considère une variable Y et un certain nombre de variables X (X_1, X_2, \dots, X_n), la technique de la régression consiste à trouver le modèle mathématique $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$ définissant au mieux la relation entre la variable simple dépendante (Y) expliquée et les variables indépendantes (X_1, X_2, \dots, X_n) explicatives.

La régression linéaire multiple (RLM) est une généralisation, à p variables explicatives, de la régression linéaire simple. Son principe est basé sur l'estimation des moindres carrés : la somme des distances au carré de chaque point à la droite de régression doit être minimale.

Le modèle issu de la régression peut être linéaire ($Y = aX_1 + bX_2 + cX_3 + \dots + \varepsilon$), ou encore polynomial ($Y = aX_1^2 + bX_1 + cX_2^2 + dX_2 + \dots + \varepsilon$) où ε représente l'erreur résiduelle. L'intérêt de la régression est de trouver le modèle le plus pertinent de façon à pouvoir effectuer ultérieurement des prédictions de la valeur Y en fonction des valeurs de X .

Un certain nombre d'hypothèses sont à vérifier pour réaliser une régression linéaire. Parmi celles-ci, nous avons l'exogénéité. On dit que les variables explicatives sont exogènes si elles ne sont pas corrélées au terme d'erreur. Ceci implique que cette hypothèse a une conséquence sur la distribution des résidus et donc que les erreurs doivent être centrées. Il faut également vérifier l'homoscédasticité. Cela signifie que les termes d'erreurs sont supposés de variance constante et donc que tous les résidus soient distribués d'une façon aléatoire. Le non-respect de ces paramètres peut induire un biais au niveau des estimateurs des coefficients de régression. Toutefois, il s'avère que pour les très grands jeux de données comme les nôtres, la RLM peut supporter des tendances à la non-linéarité des données.

Un autre paramètre à vérifier est la non-colinéarité des variables explicatives. Cette hypothèse suppose qu'aucune des variables explicatives du modèle ne peut s'écrire comme une combinaison linéaire des autres variables. La multicolinéarité est détectée pour identifier des structures dans les données et en tirer des décisions opérationnelles et pour éviter des problèmes numériques lors de certains calculs qui rendront l'interprétation des coefficients de la régression impossible.

Pour que la régression linéaire soit possible, il faut également que le nombre d'observations soit supérieur au nombre de variables. Il faut également, lors de la sélection des variables explicatives incluses dans le modèle, appliquer un principe de parcimonie : le nombre de variables explicatives dans une équation est limité à 10% du nombre d'échantillons utilisés pour l'étalonnage afin d'éviter un sur-ajustement (Hernández-Martínez et al., 2013).

2-Régression PLS

La régression PLS est née de l'algorithme NIPALS (Non linear estimation by Iterative Partial Least Squares) développé par Wold (1966) pour l'analyse en composantes principales. Cet algorithme permet de réaliser une analyse en composantes principales sur des données incomplètes, sans avoir à supprimer ni à estimer les données manquantes.

Le but de la régression PLS est de prédire y à partir de X et de décrire leurs similarités. Elle repose sur la construction de variables latentes, qui sont des combinaisons des variables initiales, associées à des poids appelés « loadings ». Ainsi, les variables latentes ξ_h , $h=1, \dots, H$, sont construites seulement à partir des variables explicatives de manière à maximiser, à chaque étape h , la covariance entre y et la variable latente ξ_h (Frank & Friedman, 1993). La régression PLS recherche des variables latentes qui ont de fortes variances et de fortes corrélations avec la variable réponse.

L'algorithme PLS débute par la construction d'une première variable latente ξ_1 .

Ensuite, si le pouvoir explicatif de la régression de y sur ξ_1 est trop faible (faible variance et faibles corrélations avec la variable réponse), on recommence sur le vecteur des résidus de la régression de y sur ξ_1 . Cette deuxième variable latente sera alors combinaison linéaire des résidus X_{1j} des régressions des variables X_j sur la composante ξ_1 . L'itération se poursuit jusqu'à atteindre le nombre de dimensions (nombre de variables latentes) H optimal.

La principale originalité de la régression PLS est qu'elle conserve l'asymétrie des liens entre les variables explicatives et la variable réponse. Si le nombre de variables latentes extraites correspond au rang de la matrice \mathbf{X} alors la régression PLS est équivalente à la régression multiple. Le nombre optimal de variables latentes introduites dans le modèle de régression final peut être déterminé par la technique de validation croisée.

L'intérêt principal des méthodes PLS réside dans leur capacité à prendre en compte des données de grande dimension et même de très grande dimension lorsque le nombre de variables p est largement plus grand que le nombre d'individus n : $p \gg n$. Elles représentent les meilleures réponses au problème de la multicolinéarité. Toutefois, il a été remarqué que la régression PLS ne s'adaptait pas forcément aux variables qualitatives. Plusieurs solutions sont envisageables pour remédier à ce problème tel que le codage des données qualitatives en valeurs numériques ou encore la division de la base de données en autant de parties qu'il y a de modalités.

3- Choix de la méthode

Une pré-étude a été réalisée (résultats non présentés) afin de sélectionner la méthode statistique pour la réalisation des équations de prédiction entre la régression PLS et la régression linéaire multiple. Le problème pour la RLM est la multicolinéarité des variables explicatives que la régression PLS permet de prendre en compte. Cependant, les résultats de la PLS étaient systématiquement inférieurs à la RLM. De plus, la régression PLS ne s'adapte pas forcément aux variables qualitatives qui sont pourtant des covariables explicatives fortes dans les modèles de régression linéaire. Il a également été perçu dans cette pré-étude, que les variables utilisées dans les modèles de prédiction étaient colinéaires. Cependant, l'objectif de l'étude est, d'un point de vue statistique, de faire uniquement de la prédiction. Si nous ne cherchons pas à interpréter les coefficients des équations pour expliquer un phénomène comme dans la modélisation explicative, la multicolinéarité n'est plus une condition de rejet pour la RLM. C'est pourquoi nous avons choisi d'utiliser la régression linéaire multiple par rapport à la PLS pour la suite de notre étude.

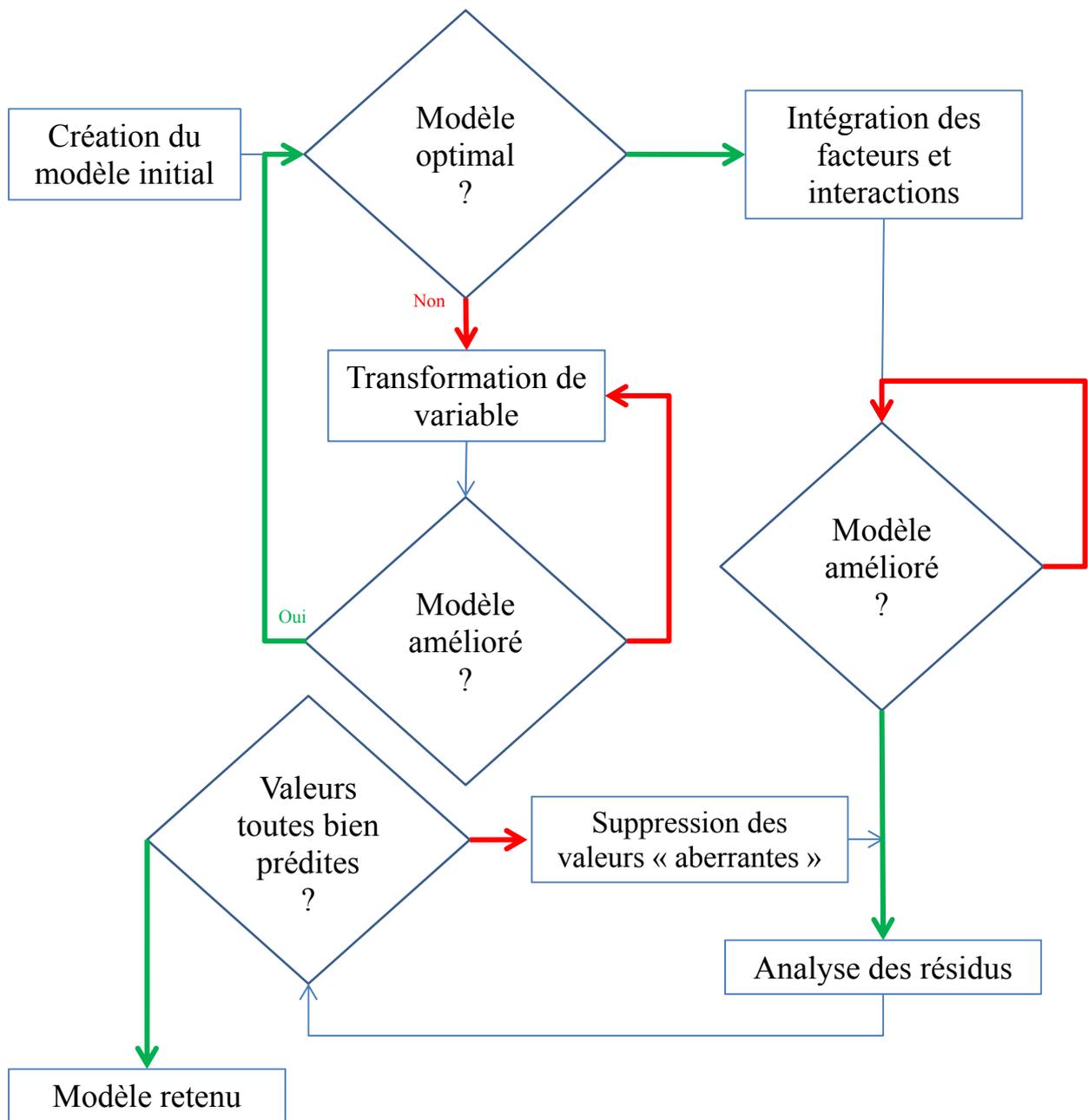


Schéma 13 : Logigramme simplifié de la démarche pour la construction d'un modèle de prédiction avec la régression linéaire multiple.

Description de la méthode

La méthode statistique que nous avons retenue est donc la régression linéaire multiple. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R 2.15.0 (R Development Core Team, 2012).

Les variables explicatives quantitatives utilisées pour construire les modèles de prédiction, sont : AGS totaux, 16:0, 18:0, AGMI totaux, 18:1 cis9 et lipides totaux. Ces six variables ont été sélectionnées car elles sont correctement prédites par SPIR (Prieto et al., 2014; Sierra et al., 2008). De plus, elles représentent plus de 85% des AG totaux de la viande bovine pour les familles d'AG (AGS, AGMI) et plus de 70% pour les AG individuels (16:0, 18:0, 18:1 cis9). A ces six variables quantitatives, trois variables qualitatives ont été utilisées : « Race », « Sexe » et « Type d'animal » avec l'obligation de n'en utiliser qu'une dans les modèles de prédiction. Ce choix a été fait afin de limiter la sectorisation des données dans un nombre trop important de sous catégories. Ces variables ont été sélectionnées car elles sont disponibles à la fois en abattoir et dans les bases de données et peuvent expliquer une part importante de la variabilité des échantillons. Les modalités de chacune de ces variables sont détaillées dans la publication n°4.

Avant de commencer à élaborer les modèles de prédiction, une première étape a consisté à éliminer les observations ayant une ou plusieurs données manquantes. Dans un deuxième temps, les observations atypiques, mises en évidence par une analyse des moments de la distribution de chaque variable et par une représentation graphique des distributions par des histogrammes et des boîtes à moustaches, ont été identifiées et retirées s'il y avait une raison objective de les supprimer (pratique expérimentale non représentative de conduites d'élevage, race trop rustique ou « exotique » non représentative des abattages en France, ...). Même si ces données apparaissent comme aberrantes statistiquement, il s'agit de données biologiques réelles. L'identification de ces données permet de rechercher dans les bases s'il n'y a pas eu une erreur de saisie, si l'échantillon n'a pas fait l'objet d'un traitement particulier ou si la donnée ne provient pas d'une expérimentation aux conditions expérimentales hors de la représentativité des pratiques par rapport aux autres données.

Ensuite, les données ont été analysées par régression linéaire multiple. Pour construire nos modèles de prédiction, nous avons suivi un processus itératif qui part du modèle le plus simple pour se complexifier au fur et à mesure comme décrit ci-dessous (Schéma 13).

1- Modèle initial

La première étape a été de créer le modèle le plus simple possible de la variable expliquée en fonction de toutes les variables explicatives quantitatives.

$$Y = f(16:0, 18:0, 18:1, AGS, AGMI, Lipide)$$

2- Variables qualitatives

Dans un deuxième temps, les variables qualitatives ont été intégrées les unes après les autres dans le modèle en tant que covariables dans le but d'améliorer le modèle. Une

covariable est une variable qui joue un rôle explicatif, sa variation n'est pas étudiée en tant que telle mais comme un éventuel facteur à l'origine de la variation des variables principales. Effectivement, des coefficients directeurs spécifiques, en fonction des modalités de la variable qualitative, seront appliqués aux variables explicatives. Il est toutefois essentiel d'avoir suffisamment de données par catégories, car les informations du modèle sont divisées en fonction des catégories.

$$Y = f(16: 0, 18: 0, 18: 1, AGS, AGMI, Lipide, Sexe)$$

$$Y = f(16: 0, 18: 0, 18: 1, AGS, AGMI, Lipide, Type animal)$$

$$Y = f(16: 0, 18: 0, 18: 1, AGS, AGMI, Lipide, Type lipogénèse)$$

$$Y = f(16: 0, 18: 0, 18: 1, AGS, AGMI, Lipide, Type production)$$

La sélection du meilleur modèle s'appuie sur le plus fort coefficient de détermination ajusté (R^2_{ajus}), la plus faible erreur résiduelle standard (RSE) et le nombre minimum de variables explicatives. La variable qualitative donnant les meilleures performances de prédiction est retenue pour la suite de l'élaboration du modèle.

3- Optimisation du modèle : transformation de variable et simplification

Pour améliorer le modèle, il est ensuite nécessaire d'observer le comportement des variables explicatives vis-à-vis de la variable à prédire et, si nécessaire, de transformer les variables explicatives. Cela permet de linéariser la relation entre la variable exogène et la variable réponse et donc d'exploiter au mieux les informations véhiculées par les données. Dans le cadre de la régression linéaire, la détection graphique en utilisant le graphe des résidus partiels, est l'approche à privilégier. Elle permet de détecter l'éventuelle non-linéarité de la relation et, de plus, elle donne une idée sur la transformation à opérer pour obtenir un modèle satisfaisant.

Un graphe des résidus partiels est une technique graphique qui a pour objectif de montrer la relation, indépendamment des autres variables, entre une variable donnée et la variable de réponse. Cette opération de transformation de variable est à réitérer pour chacune des variables avec les différentes transformations. Pour notre étude, nous nous sommes limités à trois types de transformations de variables, les plus couramment utilisées pour ce type d'étude, pour convertir la relation curviligne en relation linéaire : la transformation puissance 2, la transformation puissance 0,5 et la transformation logarithmique base 10.

Il est d'autre part nécessaire de simplifier le modèle en supprimant les variables qui n'apportent pas ou très peu d'information dans l'explication de la variable réponse. Pour cela, nous avons utilisé une régression pas à pas sur le principe de sélection du meilleur R^2 . Il s'agit d'une régression itérative qui inclut d'abord dans le modèle la variable qui propose le meilleur coefficient de détermination, puis celle qui améliore le plus le coefficient de détermination et ainsi de suite. Alternativement, toutes les variables sont entrées dans le modèle puis sont

progressivement exclues, en fonction de celles qui contribuent le moins au modèle. La variable entraînant la plus importante diminution de la variabilité résiduelle du modèle sera sélectionnée à chaque étape.

4- Les interactions

Une fois un modèle simplifié obtenu, il est possible d'y intégrer les interactions entre la variable qualitative et les variables explicatives quantitatives.

L'insertion des interactions dans le modèle crée de nouvelles variables qui peuvent apporter ou non des informations significatives pour l'explication de la variable réponse. Il est donc nécessaire d'appliquer une nouvelle fois une régression pas à pas. La sélection du meilleur modèle se fait toujours sur le meilleur R^2_{ajus} et le plus faible RSE ainsi que sur le plus faible nombre de variables explicatives présentes dans le modèle simplifié. Le choix d'obtenir un modèle minimaliste (avec le plus faible nombre de variables explicatives) a été fait dans le but de réduire au maximum l'incertitude globale. En effet, chaque variable est associée à un coefficient créé avec une incertitude de 5%. Ainsi, plus le nombre de variables est limité, plus l'erreur de prédiction devrait être faible.

5- Analyse des résidus

Une fois tous les éléments précédemment présentés pris en compte, il est possible de créer le modèle final de prédiction d'un AG mineur.

La dernière étape consiste en la réalisation d'une analyse des résidus afin de vérifier les hypothèses du modèle et de détecter les valeurs atypiques ou aberrantes du modèle. Pour ce type d'analyse, plusieurs critères sont pris en compte : les résidus studentisés, la distance de Cooks, la distance de Welsh-Kuh ou Dffits, et les points leviers.

L'utilisation simultanée de toutes ces méthodes d'analyse permet de détecter les points atypiques et de déterminer s'il existe une raison objective de les ôter du modèle. Si un ou plusieurs points sont supprimés de la base de données après cette analyse, il est nécessaire de recommencer la création du modèle depuis le début jusqu'à ce que l'on ne puisse plus justifier la suppression de données. À ce moment-là, le modèle obtenu peut être considéré comme le modèle final de prédiction retenu.

6- Validation

La validation du modèle se fait en appliquant les termes de l'équation obtenue à un jeu de données externes (base de données « Validation »). Le comportement de ce nouveau jeu de données avec l'équation est suivi en comparant les valeurs prédites aux valeurs mesurées à partir de la base de données « Validation ». Une équation est validée à partir du moment où son coefficient de détermination est supérieur à 0,65 (Coppa et al., 2013; Pérez-Marín et al., 2010).

En résumé, voici une synthèse des règles de décision utilisées pour sélectionner le meilleur modèle. Les critères de sélection sont :

- un modèle de calibration avec le R^2 ajusté le plus élevé
- un modèle de calibration avec la plus faible variance (RSE)
- un modèle de calibration avec le moins de variables explicatives
- un modèle de validation avec le R^2 le plus élevé

Chapitre 4 :
Étude expérimentale

Déroulement de la thèse

Dans un premier temps, nous avons répertorié les performances de la SPIR dans le cadre des analyses de viande en rédigeant une revue bibliographique la plus exhaustive possible. Cette revue bibliographique nous a permis de montrer que la SPIR avait un grand potentiel pour la prédiction des composants du muscle et la détermination des différents paramètres de la qualité de la viande (composition chimique et nutritionnelle, paramètres technologiques et sensoriels, authentification). Cette synthèse fait l'objet de la **publication n°1**.

Nous avons ensuite évalué le potentiel de la SPIR pour prédire la composition en AG de la viande bovine. Même si nous avons obtenu de meilleurs résultats de prédiction pour la quasi-totalité des AG de la viande bovine par rapport à ceux rapportés dans la littérature, les conclusions de la **publication n°2** restent toutefois les mêmes que celles rapportées par les autres auteurs : les AGPI ne sont pas correctement prédits par infra-rouge, point essentiel de notre objectif de thèse.

Afin de comprendre cette mauvaise prédiction des AG mineurs, nous avons émis l'hypothèse que la faible variabilité et/ou à la faible teneur de ces AG dans la viande bovine altéraient fortement leur prédiction. Nous avons donc décidé d'intégrer à un échantillonnage de viande de bovin, des échantillons de viande d'agneau, présentant une teneur en AG légèrement supérieure que celle de la viande bovine et possédant une variabilité pour ces AG plus importante que la viande bovine. Ce travail a fait l'objet de la **publication n°3** et montre que, malgré l'augmentation de la variabilité et de la teneur en AG, les performances de la SPIR sont encore nettement insuffisantes. Nous avons ensuite testé si la mauvaise prédiction des AGPI dans la viande bovine était due à leur faible teneur. Pour cela, nous avons mis en place une collaboration avec l'unité « Nutrition, Métabolisme, Aquaculture » de l'INRA de Saint-Pée-sur-Nivelle afin d'obtenir des échantillons de chair de poisson. La particularité de ces échantillons est leur très haute teneur en AGPI n-3 par rapport à la viande bovine (2 à 50 fois plus élevée). Nous avons donc comparé les performances de la SPIR pour prédire les AGPI de la chair de poisson par rapport à la viande bovine. Tous les AG fortement représentés dans la chair de poisson tels que les AGPI ($> 300 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) ont été correctement déterminés par SPIR. D'autre part, pour les autres AG, même plus faiblement représentés, leur forte variabilité dans la chair de poisson a également permis une détermination correcte par SPIR. Ces résultats ont fait l'objet d'une communication sous forme d'affiche au congrès ISRP/ISNH en 2014.

Les méthodes actuelles pour prédire les teneurs en AGPI de la viande bovine par SPIR n'étant pas satisfaisantes pour atteindre notre objectif, nous avons décidé d'utiliser des approches indirectes pour prédire ces AG d'intérêt nutritionnel. Pour cela, nous avons élaboré des équations de prédiction des teneurs en AGPI de la viande bovine en utilisant les teneurs en AGS et AGMI correctement prédites par SPIR et des données liées aux animaux disponibles en abattoir et connues pour influencer sur la composition en AG des viandes, à savoir l'âge, le sexe et la race des animaux. La **publication n°4** détaille les moyens que nous avons mis en œuvre pour établir ces nouveaux modèles de prédiction des AGPI à partir de données

obtenues par la méthode de référence, la CPG. Des équations de prédiction très satisfaisantes ont été obtenues ($R^2 > 0,9$) et validées ($R^2 > 0,8$) pour les AGPI totaux et les AGPI n-6. Pour les AGPI n-3, les équations de prédiction du 18:3 n-3, du 20:5 n-3 et des AGPI n-3 conduisent à un R^2 supérieur à 0,74, mais seuls les AGPI n-3 totaux ont pu être validés ($R^2 = 0,64$).

L'étape ultime de ce travail est bien évidemment de tester ces modèles de prédiction des AGPI à partir de données obtenues par la SPIR pour tester l'ensemble de notre stratégie qui devrait être mise en place au niveau industriel. Toutefois, ce travail, en cours de finalisation, ne sera abordé que très succinctement dans ce manuscrit.

Publication n°1

Utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge et de la spectroscopie de fluorescence pour l'estimation de la qualité et pour la traçabilité de la viande

D. Andueza, B.P Mourot., A. Aït-Kaddour, S. Prache, J. Mourot

Soumis pour publication dans INRA Productions Animales

Résumé : Ces dernières années, la spectroscopie dans le proche infrarouge et la spectroscopie de fluorescence ont fait preuve d'une efficacité remarquable pour l'obtention d'estimations rapides et précises des paramètres de qualité des produits agricoles. Cette synthèse fait le point de l'état des connaissances sur l'application de ces technologies pour l'estimation de la qualité de la viande et des produits carnés. Un bref rappel des fondements théoriques des techniques est d'abord exposé. Les possibilités actuelles de leur application analytique aux différents paramètres de la qualité de la viande sont ensuite décrites. Les deux techniques montrent un grand potentiel pour la prédiction des composants du muscle et la détermination des différents paramètres de la qualité de la viande. Cependant, malgré l'important effort de recherche réalisé jusqu'à présent sur le sujet, la plupart des résultats montrent que leur utilisation pratique reste encore limitée. Les causes de ces manques de performances sont décrites. Les résultats de l'utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge dans une optique de traçabilité sont plus prometteurs. Cette technologie peut être utilisée pour détecter différents types de viandes entrant dans la composition des produits carnés, différencier de la viande fraîche de celle décongelée, ou authentifier l'alimentation des animaux sur les produits.

Utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge et de la spectroscopie de fluorescence pour l'estimation de la qualité et pour la traçabilité de la viande

ANDUEZA D.^{1,2}, MOUROT B.P.^{1,2,3}, AÏT-KADDOUR A.⁴, PRACHE S.^{1,2}, MOUROT J.^{5,6}

¹*INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France*

²*Clermont Université, VetAgro Sup, UMR Herbivores, BP 10448, F-63000, Clermont-Ferrand, France*

³*Valorex, La Messayais, F-35210 Combourtille, France*

⁴*Clermont Université, VetAgro Sup, UR2011.03.100 CALITYSS, BP 10448, F-63000, Clermont-Ferrand, France*

⁵*INRA, UMR 1348 PEGASE F-35590 St-Gilles*

⁶*Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, F-35000 Rennes*

La spectroscopie proche infrarouge et la spectroscopie de fluorescence sont des techniques d'analyse rapides et très prometteuses pour la filière viande. Elles permettent d'estimer différentes caractéristiques de la qualité des viandes comme la composition chimique globale et nutritionnelle, certaines caractéristiques technologiques et sensorielles. Elles peuvent aussi être utilisées pour la traçabilité de la viande afin de détecter des fraudes éventuelles.

Résumé

Ces dernières années, la spectroscopie dans le proche infrarouge et la spectroscopie de fluorescence ont fait preuve d'une efficacité remarquable pour l'obtention d'estimations rapides et précises des paramètres de qualité des produits agricoles. Cette synthèse fait le point de l'état des connaissances sur l'application de ces technologies pour l'estimation de la qualité de la viande et des produits carnés. Un bref rappel des fondements théoriques des techniques est d'abord exposé. Les possibilités actuelles de leur application analytique aux différents paramètres de la qualité de la viande sont ensuite décrites. Les deux techniques montrent un grand potentiel pour la prédiction des composants du muscle et la détermination des différents paramètres de la qualité de la viande. Cependant, malgré l'important effort de recherche réalisé jusqu'à présent sur le sujet, la plupart des résultats montrent que leur utilisation pratique reste encore limitée. Les causes de ces manques de performances sont décrites. Les résultats de l'utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge dans une optique de traçabilité sont plus prometteurs. Cette technologie peut être utilisée pour détecter différents types de viande entrant dans la composition des produits carnés, différencier de la viande fraîche de celle décongelée, ou authentifier l'alimentation des animaux sur les produits.

The use of non invasive methods for the estimation of the meat quality: Near infrared spectroscopy and fluorescence spectroscopy

Abstract

Over the last years, the near infrared reflectance spectroscopy and fluorescence spectroscopy have proved to be very efficient and advanced techniques for monitoring the quality attributes of agricultural products. The present review gives an overview on the state of knowledge of the use of these technologies for the estimation of the quality of meat and meat products. Firstly, the principles of both techniques are presented, and the actual possibilities of their analytical applications for estimating the attributes of meat quality are described. Both techniques show a great potential to predict the muscle composition and meat quality. However, in spite of the great research effort performed, their application in practice is still limited. The causes of these performances are discussed. Otherwise, near infrared reflectance use for traceability are more advanced. Results seems very promising when this technique is used for detecting different meat types in the composition of meat products, for discriminating fresh from frozen-thawed meat or for the authentication of animal feeding.

Introduction

La consommation de viande en France est importante : environ 87 kg équivalent carcasse/habitant/an à laquelle la filière répond en proposant un large choix de produits. Face à cette multitude d'offres, les consommateurs sont de plus en plus intéressés par la qualité des produits et demandent la mise en place de systèmes de qualité garantissant les produits achetés (voir article 1 de ce numéro). Pendant les 50 dernières années, un effort considérable a été réalisé sur la sécurité des produits alimentaires et plus particulièrement de la viande, dans les domaines des processus de production et des relations entre la qualité et la production de la viande. Plus récemment, des méthodes d'analyse ont été mises en place pour mesurer différentes caractéristiques de la qualité de la viande. Ces méthodes, en général invasives et/ou destructives limitent leur utilisation au niveau de la chaîne de production. A ce jour, un des enjeux de l'industrie agro-alimentaire est d'obtenir une information fiable sur la qualité de la viande tout au long du processus de production de manière à assurer la qualité finale du produit. Ce défi requiert des outils de détection rapides, précis et non destructifs, capables d'être installés au niveau de la chaîne de production, et adaptés à un environnement difficile. Ces outils doivent permettre une évaluation continue de chaque étape des procédés. Les techniques qui répondent à ces conditions et qui pourraient être utilisées pour l'analyse rapide de la qualité de la viande ont été présentées dans la revue de Damez et Clerjon (2013). Les méthodes les plus prometteuses sont basées principalement sur l'utilisation des ondes du spectre électromagnétique telles que la spectroscopie dans le proche infrarouge (SPIR) et la spectroscopie de fluorescence (SF). Pour cette synthèse, nous limiterons à ces deux techniques et à leurs applications pour l'évaluation de la qualité de la viande.

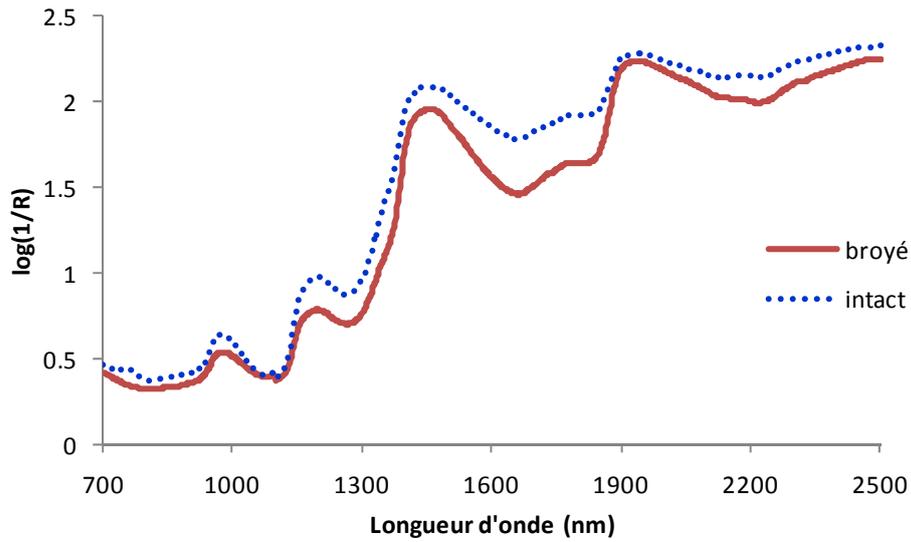


Figure1. Spectre d'un échantillon de viande ovine intact et broyé

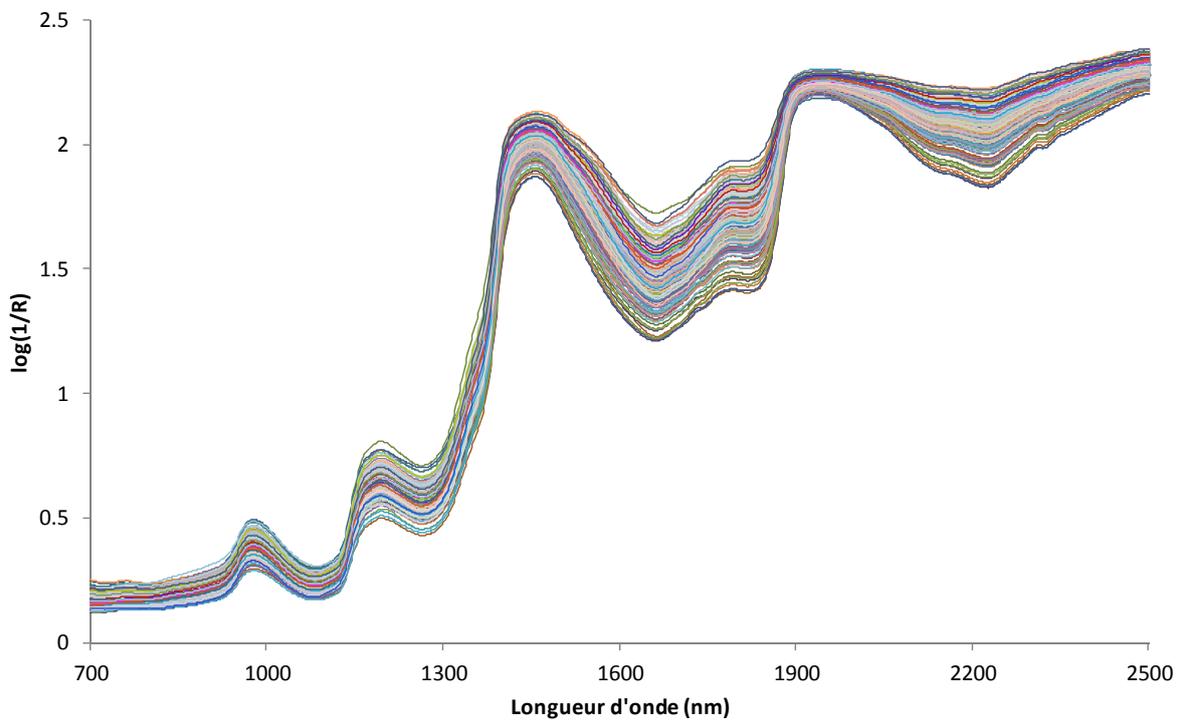


Figure2. Spectres proche infrarouge d'une population de 255 muscles de l'espèce bovine (Mouro *et al* 2015).

1. La spectroscopie dans le proche infrarouge : principe et instrumentation

1.1. Principe général

La spectroscopie peut être définie comme l'étude de l'interaction de la lumière avec la matière. Le rayonnement dans le proche infrarouge (PIR) couvre la plage des longueurs d'onde de la lumière comprise entre 780 et 2500 nm. La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) a été découverte par F.W. Herschel en 1800. Les principes de la SPIR sont très bien décrits dans la synthèse de Bertrand (2002).

Encadré 1. Principe détaillé de la SPIR

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'existence de liens directs entre les caractéristiques physiques et chimiques d'un produit avec son absorbance à des longueurs spécifiques du segment proche infrarouge. Dans le spectre électromagnétique, ce segment (780-2500 nm) est situé entre celui du visible (400-780) nm et celui de l'infrarouge (2500-25000 nm). Brièvement, l'absorption de lumière par un produit est due au changement d'état vibrationnel des liaisons chimiques des molécules organiques quand ce produit est irradié par la radiation PIR et la fréquence de vibration des liaisons et celle de la radiation coïncident. La contribution relative de la radiation absorbée dépend de la composition chimique et des propriétés physiques de l'échantillon lorsque le rayonnement pénètre dans le produit, ses caractéristiques spectrales peuvent changer par diffusion, laquelle dépend de la longueur d'onde et de l'absorption. Ce changement dépend des propriétés de diffusion de la lumière qui sont en relation avec la microstructure du produit (Figure 1). Des techniques de statistiques multivariées telles que l'analyse en composantes principales sont ensuite appliquées afin de séparer et extraire l'information souhaitée de l'ensemble de l'information présente dans le spectre PIR.

La réflexion de la lumière est le produit de trois phénomènes différents : la réflexion spéculaire, qui provoque la brillance, la réflexion externe qui diffuse la lumière à cause de la rugosité des surfaces et la dispersion, qui est le résultat des réfractions multiples internes dans le matériel étudié. Les deux premiers éléments donnent des informations sur la surface des échantillons, tandis que le dernier apporte des informations internes à l'échantillon. Dans la viande, les myofibrilles peuvent être des éléments très dispersants de la lumière (Prieto *et al* 2009), mais la dispersion dépend aussi de la taille (Meurens 2000), et de la microstructure des particules (Barnes *et al* 1989) de la viande. Ainsi, les valeurs d'absorption sont plus élevées sur des échantillons intacts que finement broyés (Figure 1). Le processus de dispersion influence le niveau d'intensité du spectre.

La plupart des bandes d'absorption dans la région du PIR, sont des harmoniques des fréquences de vibration des molécules ou des combinaisons des vibrations fondamentales (bandes de combinaison) de la région du moyen infrarouge du spectre électromagnétique qui fait partie du domaine de la spectroscopie vibrationnelle. Le spectre PIR est caractérisé par la présence de larges bandes à la place de pics étroits. La figure 2 représente le spectre de 255 échantillons de viande bovine. Les spectres sont caractérisés par la présence des harmoniques et des bandes de combinaison de l'eau aux longueurs d'onde de 970, 1190, 1450 et 1940 nm, des protéines (1520, 1600 2050 et 2180 nm) et des matières grasses (1200, 1730, 1760, 2140, 2300 et 2348 nm) (Osborne et Fearn 1988, Bertrand 2002).

La SPIR a été d'abord appliquée à des produits agricoles par Norris et Hart (1965) pour mesurer l'humidité des graines de céréales. Depuis, elle a été utilisée pour obtenir des analyses rapides dans un grand nombre de produits y compris les produits carnés. Les premières applications sur ces produits étaient la mesure de la composition chimique (Ben-Gera et Norris 1968), puis elle a été utilisée pour d'autres déterminations comme la teneur en

minéraux, en collagène, ainsi que pour estimer les propriétés sensorielles (Ripoll *et al* 2008). Des développements récents incluent l'utilisation de la spectroscopie multi et hyper spectrale qui fournissent une information à la fois spectrale et spatiale de la composition du produit (Martinsen et Schaare, 1998).

L'importance croissante de la SPIR pour la réalisation des mesures de la qualité de la viande est évidente au vu du nombre de travaux publiés ainsi que du nombre d'industriels équipés d'appareils SPIR ces dernières années.

1.2 Equipement

La saisie de spectres dans le PIR se fait à l'aide d'un spectromètre. Le principe de fonctionnement, l'appareillage et les différents types d'appareils ont été décrits précisément par Bertrand (2002). La plage du spectre électromagnétique couvert, la taille de la fenêtre de l'appareil en contact avec l'échantillon ainsi que la robustesse de l'appareil et son adaptation aux environnements peu contrôlés et agressifs pouvant être rencontrés en industrie sont des critères qui peuvent jouer sur les résultats des étalonnages. Tous ces paramètres sont à prendre en compte lors du choix d'un appareil. Par ailleurs, une des différences entre les instruments est la plage du spectre électromagnétique couvert. Certains instruments sont capables d'obtenir une information entre 400 et 2500 nm tandis que d'autres balayent seulement la plage entre 900 et 1700 nm ou entre 700 et 1050 nm, voire entre 350 et 999 nm. Cette information peut s'avérer importante pour obtenir des modèles précis d'étalonnage et donc pour effectuer le choix d'un appareil.

2. La spectroscopie de fluorescence (voir encadré 2)

2.1 Principe : le phénomène de fluorescence

Certaines molécules excitées suite à l'absorption de photons à une longueur d'onde donnée vont revenir à leur état fondamental en émettant des photons de longueur d'onde supérieur à la longueur d'onde d'excitation : c'est le principe de la fluorescence.

2.2 Les molécules fluorescentes

Les molécules fluorescentes constituent la base de la SF et représentent l'élément clé de cette méthode.

Les fluorophores sont couramment divisés en deux catégories selon leur origine : extrinsèque ou intrinsèque (Lakowicz 1999). Les fluorophores intrinsèques sont des molécules naturellement présentes dans les produits (Lakowicz 1999, Dufour *et al* 2001) et les fluorophores extrinsèques sont des molécules ajoutées à un échantillon contenant une molécule d'intérêt non fluorescente (Herbert 1999, Lakowicz 1999).

Cette revue bibliographique se limite aux applications impliquant uniquement les fluorophores naturellement présents dans la viande.

Encadré 2. Principe détaillé de la SF

Lorsqu'un photon rencontre une molécule, les électrons de cette molécule absorbent cette énergie et passent d'un niveau fondamental S_0 à un niveau d'énergie supérieure S_x ($x = 1, 2, \dots$), la molécule est dite excitée. L'état excité persiste pendant un temps caractéristique de la molécule. Suite à des collisions avec d'autres molécules, une désactivation a lieu et l'électron revient vers le plus bas niveau vibrationnel de l'état excité. Ce phénomène est appelé *conversion interne* et se produit en un temps très court (de l'ordre de 10^{-12} s). Si la molécule possède suffisamment d'énergie l'électron retourne au niveau S_0 en émettant un photon. Cette émission de photons est appelée fluorescence. Le signal enregistré à différentes longueurs d'onde constitue le spectre d'émission de fluorescence. Le spectre d'excitation de fluorescence, quant à lui, rend compte des énergies et du nombre de photons absorbés par les seuls électrons qui réémettront l'énergie lumineuse sous forme de photons de fluorescence à une longueur d'onde donnée. Ce spectre est donc proche, mais pas identique, au spectre d'absorption de la molécule fluorescente.

Les molécules susceptibles de subir des transitions électroniques conduisant au phénomène de fluorescence sont appelées fluorochromes, fluorophores ou simplement colorants. Les fluorophores sont généralement des substances composées de plusieurs noyaux aromatiques conjugués ou encore de molécules linéaires et cycliques qui possèdent une ou plusieurs liaisons conjuguées. Il en existe plusieurs milliers actuellement connus. Ces molécules sont subdivisées en deux classes, les fluorophores intrinsèques et les fluorophores extrinsèques.

Les fluorophores intrinsèques sont des molécules naturellement présentes dans les produits, et qui possèdent la propriété de fluorescence. Ces molécules sont le plus souvent des acides aminés aromatiques (ex. tryptophane), les purines, les pyrimidines, les flavines, la chlorophylle, certains cofacteurs enzymatiques (ex. NADH), la riboflavine ainsi qu'un grand nombre de vitamines comme les vitamines A et E.

Les fluorophores extrinsèques sont des molécules ajoutées à un échantillon contenant une molécule d'intérêt non fluorescente. Ces fluorophores peuvent être de nature hydrophile (solubles en milieu aqueux), hydrophobe (lipides: acides gras, phospholipides, stérols...) voire même amphiphiles.

2.3 Les modes d'acquisition des spectres de fluorescence

Il existe deux modes d'acquisition des spectres de fluorescence pour évaluer la qualité de la viande, le mode frontal et le mode synchrone.

2.3.1 La fluorescence frontale

Dans le cas où l'absorbance d'un échantillon est supérieure à 0,1 (unités arbitraires), un effet d'écran se produit induisant une diminution de l'intensité de fluorescence par le phénomène d'extinction (quenching) de fluorescence et une distorsion du spectre d'excitation apparaît (Genot *et al* 1992a). Pour contourner ce problème, la méthode de SF frontale peut être employée (Genot *et al* 1992b). Dans ce cas, l'analyse de l'échantillon est généralement réalisée sous un angle de 54° par rapport à l'échantillon.

Cette technique rapide et non-destructive présente donc un intérêt évident pour la caractérisation des produits alimentaires en dépit des effets de surface inhérents à

l'échantillon. Toutefois hormis quelques études (Genot *et al* 1992b ; Zandomeneghi 1999), ce n'est qu'à partir des années 2000 que de nombreuses recherches ont été menées sur le potentiel de cette méthode pour caractériser les produits alimentaires (lait, fromage, viande, poisson, œuf, miel...) (Dufour et Frencia 2001; Dufour *et al* 2003).

2.3.2 La spectroscopie de fluorescence synchrone

Le plus souvent, les données de fluorescence sont présentées sous forme de spectres d'excitation ou d'émission. L'utilisation de ces spectres est très intéressante lorsque le manipulateur connaît l'échantillon à analyser ainsi que les fluorophores qui le constituent. Cependant, le plus souvent l'opérateur manque de connaissance sur son échantillon et il peut avoir recours à une autre méthode d'acquisition qui est la spectroscopie d'excitation en mode synchrone. La mise en œuvre de cette méthode nécessite une variation simultanée des longueurs d'onde d'excitation et d'émission, tout en gardant entre elles un décalage constant $\Delta\lambda$ ($= \lambda_{\text{émission}} - \lambda_{\text{excitation}}$) (Patra et Mishra 2002). Cette méthode présente l'avantage de pouvoir caractériser plusieurs fluorophores à partir d'un seul spectre. La principale difficulté rencontrée dans l'application de cette technique est que le $\Delta\lambda$ optimal doit être connu a priori. De plus, l'utilisation de plusieurs $\Delta\lambda$ différents est parfois nécessaire pour obtenir une identification complète des différents fluorophores de l'échantillon. Cette technique, très répandue dans le domaine de la pétrochimie, n'a été que récemment exploitée en agroalimentaire pour discriminer différents produits en fonction de leurs origines (Abbas *et al* 2012), pour étudier les changements de structure des composants de produits laitiers et carnés au cours de traitements technologiques (chauffage, cuisson et acidification) (Boubellouta 2008, Sahar *et al* 2009) ou pour prédire la composition de ces produits (Abbas *et al* 2012, Ouanezar *et al* 2012).

3. Applications à la qualité de la viande.

3.1. Prédiction de la composition chimique globale de la viande

La viande est composée d'eau, de protéines, de graisses, de matières minérales, etc. (Voir article 1 de ce numéro). Chacun de ces éléments présente, pour l'homme, des intérêts énergétiques et nutritionnels différents. Elles peuvent renseigner aussi sur la qualité gustative, la salubrité ou la valeur diététique (Weeranantanaphan *et al* 2011).

La capacité de la SPIR à prédire la composition chimique de la viande a été étudiée par un certain nombre de scientifiques dans les différentes espèces animales : bovine (Ripoll *et al* 2008), ovine (Cozzolino et Murray 2002), porcine (Zamora-Rojas *et al* 2013) aviaire (Berzagli *et al* 2005) ou cunicole (Masoero *et al* 2004).

Les protéines constituent le principal composé nutritionnel de la viande. Les résultats de la prédiction par SPIR de la teneur globale en protéines de la viande sont variables avec des coefficients de détermination (R^2) compris entre 0,30 et 0,90, mais la plupart des études montrent des R^2 de 0,60 à 0,80 à l'exception des études sur les poulets pour lesquels les R^2

sont en général supérieurs à 0,90 (Cozzolino et Murray 2002, Berzaghi *et al* 2005, De Marchi *et al* 2007).

Les modèles de prédiction par SPIR de la teneur en eau ou de la teneur en matière sèche de la viande présentent des résultats très variables (R^2 de 0,07 (Cozzolino et Murray 2002) jusqu'à 0,96 (De Marchi *et al* 2007)) selon les études, bien que la moitié des publications consultées montrent des valeurs de R^2 égales ou supérieures à 0,90.

La teneur en matières grasses peut avoir un rôle important sur la qualité gustative de la viande. Les résultats obtenus montrent des R^2 variant entre 0,19 et 1, toutefois la plupart des études montrent des valeurs de R^2 supérieures à 0,90.

La variabilité des résultats obtenus pour l'ensemble des déterminations de la composition chimique peut être expliquée principalement par les caractéristiques de la viande, par la préparation et la présentation des échantillons. Celle-ci est un matériel hétérogène constitué de fibres disposées en différents faisceaux (voir article 2 de ce numéro) ce qui fait augmenter la proportion des effets de diffusion de la lumière dans le spectre. Ainsi, la présence de différents tissus au sein du muscle fait qu'il est très difficile d'obtenir des échantillons représentatifs. La préparation et la présentation des échantillons au spectromètre joue un rôle très important sur les résultats obtenus (Cozzolino et Murray 2002; De Marchi *et al* 2007; Tøgersen *et al* 2003). Quand les échantillons sont présentés sous forme intacte à l'appareil, les relations entre les valeurs prédites par la SPIR et les résultats obtenus par les mesures de références sont plus faibles que lorsque les échantillons sont broyés et/ou lyophilisés. Cozzolino et Murray (2002) rapportent des valeurs de R^2 de 0,07, 0,49 et 0,89 pour des modèles de prédiction calculés à partir d'échantillons intacts pour la teneur en eau, protéines et lipides, respectivement, tandis que les modèles construits sur des échantillons broyés présentent des valeurs de R^2 de 0,98, 0,81 et 0,96 pour ces mêmes déterminations. Concernant la lyophilisation, De Marchi *et al* (2007) rapportent des valeurs de R^2 de 0,85 et 0,99 pour les modèles de prédiction de la teneur en protéines à partir d'échantillons hachés ou lyophilisés, respectivement, et des valeurs de R^2 de 0,99 pour les modèles de prédiction de la teneur en lipides à partir des mêmes échantillons. Concernant la teneur en eau, ces auteurs affichent des valeurs de R^2 supérieures à 0,90 quand les modèles ont été construits sur des échantillons lyophilisés ou hachés frais.

Par ailleurs, le succès d'une prédiction par SPIR repose en partie sur la variabilité du composé visé dans la viande : plus l'échelle de variation est grande, plus les possibilités d'obtenir une bonne prédiction sont importantes. Ripoll *et al* (2008) notent également que la différence entre le composé analysé par la méthode chimique et celui déterminé par la SPIR, peut contribuer à réduire la précision de la prédiction SPIR. Par exemple, la détermination des protéines par la méthode chimique consiste à mesurer l'azote présent dans l'échantillon alors que la SPIR va détecter la totalité des liaisons présentes dans les molécules des protéines.

L'utilisation de la SF pour évaluer la composition chimique de la viande s'est focalisée sur la détermination des teneurs en matière grasse, en protéines et en eau. Le tissu adipeux contient des molécules fluorescentes qui sont spécifiques des matières grasses (Skjervold *et al* 2003) et les fibres musculaires également (Swatland 1987; Egelandsdal *et al* 2005) contiennent des molécules fluorescentes spécifiques de ce tissu. Ainsi, Wold *et al* (1999), sur

des échantillons de muscle *Longissimus* (LM) hachés montrent une valeur de R^2 de 0,71 entre la prédiction de la teneur en matière grasse par des signaux de fluorescence ($\lambda_{ex} = 332$ nm ; $\lambda_{em} = 360-600$ nm) et la teneur en matière grasse mesurée par la méthode Fosslet. Brondum *et al* (2000) rapportent des R^2 plus faibles de 0,57 et 0,16 entre les prédictions par SF ($\lambda_{ex} = 280, 320, 365$ et 395 nm ; $\lambda_{em} = 300-600$ nm, $340-600$ nm, $385-600$ nm et $415-600$ nm respectivement) et les mesures des teneurs en matière grasse et en eau, respectivement, pour une population composée de deux muscles intacts, le *Semitendinosus* (ST) et le LM de porc. Selon ces auteurs, ces faibles R^2 sont principalement associés à la faible surface de l'échantillon analysée, non représentative de l'hétérogénéité du produit. Une étude conduite par Sahar *et al* (2008) a montré des résultats encourageants pour la prédiction de la matière sèche de 3 muscles bovins individuels non broyés (*Rectus Abdominis* (RA), ST, *Infraspinatus* (IS)) avec des valeurs de R^2 comprises entre 0,79 et 0,94) à partir des spectres d'émission à $\lambda_{ex} = 322$ nm. Cependant, lorsque le modèle est construit en considérant l'ensemble des trois muscles, la qualité de la prédiction chute (valeur de R^2 de 0,26). D'après ces auteurs, cette diminution serait associée aux différences de structure existant entre les muscles RA, ST et IS.

3.2 Composition nutritionnelle

3.2.1 Prédiction des AG

Actuellement, le consommateur est de plus en plus sensible à la qualité nutritionnelle des produits. Ainsi, la possibilité de caractériser la composition en acides gras (AG) bénéfiques (comme les AG insaturés) ou indésirables (comme les AG saturés (AGS)) des muscles présente un intérêt significatif pour le consommateur.

Récemment, les applications de la SPIR aux produits animaux se sont focalisées sur l'évaluation du profil des AG, particulièrement pour des produits impliqués dans des démarches de qualité officielles (Weeranantanaphan *et al* 2011).

Plusieurs études rapportent des caractérisations en AG des viandes bovines (Cecchinato *et al* 2012; De Marchi *et al* 2007; Prieto *et al* 2011; Sierra *et al* 2008), ovines (Guy *et al* 2011), porcines (Garcia-Olmo *et al* 2000), aviaires (Berzaghi *et al* 2005). Les auteurs s'accordent à dire que les principaux AG individuels de la famille des AGS et mono insaturés (AGMI), ainsi que les sommes d'AGS et AGMI totaux sont correctement prédits. En revanche, les AGPI intramusculaires totaux et individuels présentent des valeurs de R^2 inférieures à 0,60 dans la viande bovine, tandis qu'ils sont prédits avec plus de précision chez le poulet et l'agneau (Berzaghi *et al* 2005, Guy *et al* 2011). Garcia-Olmo *et al* (2000) montrent que chez le porc, le C18:2 n-6 est très bien estimé par SPIR. Sierra *et al* (2008) expliquent que cette difficulté de prédiction des teneurs en AGPI dans la viande bovine serait liée d'une part à la configuration chimique des AG qui présentent tous un groupement CH_2 absorbant aux mêmes longueurs d'onde dans le PIR, et que d'autre part les teneurs en AGPI sont assez homogènes dans les échantillons entraînant une faible précision des modèles d'étalonnage. Cette dernière explication semble plus pertinente, car la variabilité de teneur en AGPI chez les animaux monogastriques est plus élevée que chez le bovin. En effet, chez les

ruminants une partie des AGPI est hydrogénée dans le rumen, entraînant une moindre variabilité des teneurs en AGPI dans le tissu musculaire. La diversité des conditions d'alimentation induisant une plus grande variabilité de la composition en AG chez l'agneau que chez le bovin, explique les meilleurs résultats de prédiction obtenus chez l'ovin que chez le bovin. De même, Mourot *et al* (2014b) ont obtenu une augmentation des performances des modèles d'étalonnage des AGPI de la viande en utilisant une base de données composée des échantillons de bovin et d'agneau par rapport aux résultats obtenus à partir de la base de données de bovins seulement.

Ces dernières années, des travaux ont été conduits pour prédire la composition en AG directement sur les carcasses, les mesures étant réalisées sur la surface du muscle intact. La détection des AG sur les carcasses est nettement moins bonne que sur muscle broyé (valeurs de R^2 inférieures à 0,70 pour l'ensemble des AG sauf pour l'acide linoléique (Prieto *et al* 2011) en raison essentiellement de l'hétérogénéité physique du muscle intact.

Même si la plupart des auteurs s'accordent à affirmer que les teneurs en AG (AGS et AGMI) sont correctement prédites par la SPIR, la précision des modèles SPIR est très variable d'une étude à l'autre. Le manque d'homogénéité dans la préparation des échantillons et l'utilisation de méthodes de référence différentes pour une même détermination, ainsi que le type d'appareil utilisé sont en partie responsables de cette variabilité (Zamora-Rojas *et al* 2013). Ces auteurs ont comparé deux appareils pour prédire la teneur en certains AG (C18:0, C18:1, C18:2 n-6, et C16:0) sur des porcs ibériques. Un appareil fixe déterminait les spectres entre 780 et 2208 nm tandis que l'autre était un appareil portable qui mesurait l'absorbance entre 1600 et 2208 nm. Sur du tissu adipeux intact ces auteurs ont obtenu des valeurs de R^2 de 0,92, 0,84, 0,94 et 0,85 pour prédire les teneurs en acides stéarique, oléique, linoléique et palmitique avec l'appareil fixe, et des valeurs de R^2 de 0,83, 0,81, 0,81 et 0,78 pour prédire ces mêmes AG à partir des mesures sur carcasses avec l'appareil portable. Ces résultats sont très encourageants pour le développement d'appareils adaptés aux conditions industrielles.

Mourot *et al* (communication personnelle) dans une étude terrain réalisée dans le cadre du projet SPECTRAG, ont comparé l'utilisation de sept appareils sur des tissus adipeux non broyés pour prédire la teneur en AG. Les résultats obtenus sont moins précis que ceux présentés dans d'autres espèces pour les AGS et AGMI. Ceci est expliqué par le type d'alimentation des animaux, moins variée que celle utilisée dans d'autres études (notamment sur le porc ibérique), mais ces auteurs rapportent des valeurs de R^2 de 0,80 et 1 pour les teneurs en AGPI_{n-6} et en AGPI totaux. L'enrichissement de l'alimentation des animaux en AGPI se traduit alors par une augmentation de la variabilité de ces AG dans les tissus (Mairesse *et al* 2012) et donc par une amélioration des résultats de prédiction.

Le muscle utilisé pour la réalisation des étalonnages pourrait avoir une influence sur les résultats obtenus. Mourot *et al* (2014a) ont comparé la prédiction SPIR des teneurs en AG à partir des modèles différents réalisés sur 3 muscles des mêmes animaux : LM, RA et ST. Ces auteurs montrent que les modèles développés à partir de LM sont plus précis que ceux obtenus à partir de RA et ST. Ces résultats seraient en étroite relation avec la plage de variation des données des AG des populations des différents muscles.

A notre connaissance, il existe une seule étude réalisée par Ouanezar *et al* (2012) dans laquelle les SF frontale et synchrone ont été utilisées pour prédire la teneur en AG de la viande bovine. Les résultats ont montré l'intérêt de ces deux méthodes avec des valeurs de R^2 comprises entre 0,13 et 0,89 respectivement pour le C20:3 n-3 et la somme des AGS linéaires. D'après ces premiers résultats, il semble que la qualité de la prédiction dépende fortement de la plage de variation de la teneur en AG et que la SF synchrone est plus intéressante que la SF frontale pour prédire les teneurs en AG. Cependant, les deux modes d'acquisition ne permettent pas une bonne prédiction des teneurs en AGPI tels que les n-3 et n-6. L'absence d'étude autour de cette problématique est surprenante car la SF est sensible à un certain nombre de fluorophores liposolubles possédant des doubles liaisons, qui pourraient donner une idée précise de la composition en AGPI de la viande.

3.2.2. Prédiction d'autres composés d'intérêt nutritionnel

Quelques études ont été réalisées pour essayer de prédire la teneur en cholestérol par la SPIR. Les résultats obtenus sont contradictoires. Bajwa *et al* (2009) en utilisant le domaine visible (VIS)-PIR sur de la viande bovine intacte ont obtenu des R^2 de 0,80 pour la prédiction de ce composé tandis que Berzaghi *et al* (2005) rapportent des valeurs de R^2 de 0,34 sur de la viande hachée de poulet.

Bien que les minéraux n'absorbent pas dans la région PIR, González-Martín *et al* (2002) et Viljoen *et al* (2007) ont essayé d'utiliser la SPIR pour prédire la teneur en certains minéraux sur de la viande d'agneau et de porc. Ils ont développé des modèles caractérisés par des R^2 compris entre 0,74 et 0,79 chez l'agneau pour la prédiction des teneurs en Fe, Na, K, P, Mg, et Zn (Viljoen *et al* 2007) et des R^2 compris entre 0,64 et 0,84 pour la prédiction des teneurs en minéraux de Fe, Zn, Ca, Na et K chez le porc (González-Martín *et al* 2002). L'association des minéraux à des molécules organiques qui absorbent dans la région PIR (Andrés *et al* 2008) peut expliquer ces relations.

Les teneurs en collagène ou en hydroxyproline, qui peuvent être associées à la dureté de la viande (Prieto *et al* 2006 ; voir article 2 de ce numéro spécial), sont d'autres caractéristiques que certains auteurs ont essayé de modéliser par la SPIR. Prieto *et al* (2006) rapportent des valeurs de R^2 de 0,47 sur la viande bovine, tandis que González-Martín *et al* (2009) rapportent des valeurs de 0,64 sur des saucisses de porc. Selon Downey et Hildrum (2004) les faibles relations entre la teneur en collagène mesurée et prédite par SPIR pourraient être expliquées par la présence majoritaire des protéines fibrillaires dans le muscle, dont leur absorbance PIR ne différerait pas de celle du collagène. Par ailleurs, González-Martín *et al* (2009) suggèrent une relation étroite entre les valeurs de R^2 du modèle SPIR et la variabilité de la population utilisée pour son développement. Dans une étude préliminaire réalisée à l'INRA de Theix, Listrat *et al* (2014) ont obtenu des R^2 de 0,88 pour la prédiction par SPIR de la teneur en collagène total d'une population de muscles de bovins. Ceci montre que la détermination de la teneur de cette molécule dans la viande par cette méthode reste possible.

Swatland (1987a) a démontré que les collagènes de types I et III présentent des spectres d'émission différents et que le spectre d'émission de l'élastine est similaire à celui du

collagène de type I. Avec un λ_{ex} proche du maximum d'excitation situé à 370 nm, le collagène de type I présente des pics d'émission élevés à 440 nm et faibles vers 510 nm. La fluorescence du collagène de type III présente un profil inverse. D'après cet auteur, cette différence de fluorescence semble associée à la taille des fibres de collagène, plus petites pour celles formées par le type III que celles par le type I. Ainsi, l'une des premières études visant à prédire les teneurs en élastine et en collagène de type I dans de la viande de bœuf hachée a été conduite par Swatland (1987b). Cet auteur rapporte un R^2 de 0,85 en utilisant le ratio des bandes d'émission à 510/440 nm après excitation à 365 nm, pour prédire la teneur en cartilage de cinq préparations de viande hachée dont la teneur en cartilage variait de 0 à 100%. Ces travaux ont été poursuivis par Wold *et al* (1999) sur des muscles LM hachés de bovin : ils rapportent des R^2 de 0,96 entre la teneur en hydroxyproline et les spectres de fluorescence ($\lambda_{ex} = 380$ nm). Plus récemment, Egeland *et al* (2005) ont obtenu des modèles de prédiction caractérisés par des R^2 supérieurs à 0,92 dans des produits complexes (saucisses) après excitation à 380 nm. L'étude conduite par Sahar *et al* (2008) a montré des résultats encourageants pour la prédiction de la teneur en collagène de 3 muscles individuels de bovins (valeurs de R^2 comprises entre 0,57 et 0,71) à partir des spectres d'émission du tryptophane ($\lambda_{ex} = 290$ nm). Cependant, comme pour la teneur en eau, lorsque le modèle est construit en considérant les trois muscles simultanément la qualité de la prédiction chute (R^2 de 0,32). D'après ces auteurs, la diminution de la qualité de la prédiction résulterait de la différence de structure entre les muscles étudiés.

L'oxydation des lipides et des protéines est l'un des facteurs limitant la qualité et l'acceptabilité de la viande et des produits carnés par les consommateurs. Lors de l'oxydation des lipides, les composés aldéhydiques peuvent réagir avec les groupes aminés libres des protéines (tels que la lysine) pour donner des bases de Schiff fluorescentes (ex. lipofuscine) (Kagan 1988). La fluorescence de surface pourrait ainsi être utilisée pour évaluer l'état d'oxydation de produits animaux. Cette hypothèse a tout d'abord été confortée par Hasegawa *et al* (1992) lors d'une étude sur du poisson séché. Concernant les produits carnés, dans une première étude portant sur différents types de viandes hachées (porc et dinde), Veberg *et al* (2006a) ont démontré que le signal de fluorescence est sensible à l'oxydation après l'addition de différentes concentrations en composés aldéhydiques. Ensuite, cette même équipe a constaté une augmentation significative de la fluorescence de surface de ces viandes conditionnées sous une atmosphère riche en O_2 (Veberg *et al* 2006b). Cependant, Gatellier *et al* (2007) ont montré une faible corrélation ($R^2 = 0,53$) entre le maximum de fluorescence enregistré à 475 nm après excitation à 380 nm et le niveau d'oxydation des lipides. Ce résultat pourrait toutefois être amélioré en calculant des régressions en considérant l'ensemble du spectre d'émission.

3.3 Prédiction des caractéristiques technologiques et sensorielles de la viande

3.3.1 Caractéristiques technologiques

Concernant la prédiction de la valeur de pH du muscle, plusieurs études réalisées sur de la viande de bœuf, agneau, porc ou volaille, ne montrent pas de corrélation élevée avec la SPIR (De Marchi, 2013; De Marchi *et al* 2013; Prieto *et al.* 2008) (valeurs de R^2 comprises

entre 0,07 et 0,62). La mesure du pH est entre autres liée à la structure du muscle et au réseau tissulaire des myofibrilles (voir article 1). Le conditionnement des échantillons pourrait donc jouer sur les résultats obtenus (Prieto *et al* 2009). A l'inverse de résultats obtenus pour la prédiction de la composition chimique et la composition nutritionnelle de la viande, le broyage des échantillons avant la saisie par l'instrument réduirait la précision de la prédiction à cause de la dénaturation de la structure du muscle et donc du changement de la dispersion de la lumière par rapport au muscle intact. Un autre facteur réduisant cette précision serait la faible variabilité des valeurs de pH (Berzaghi *et al* 2005). Au contraire, Savenije *et al* (2006) suggèrent la SPIR comme une bonne alternative pour la mesure du pH car la méthode de référence (pHmètre) serait lente et peu précise en conditions de routine. Ces éléments sont confirmés par Cozzolino et Murray (2002) et par Andrés *et al* (2008) qui obtiennent des prédictions avec des R^2 de 0,81 et 0,97 respectivement.

Une caractéristique technologique intéressante de la viande est la couleur. Celle-ci est, un des principaux critères d'appréciation de la viande par le consommateur. Elle est classiquement déterminée par les indices L^* , a^* et b^* (CIE 1978, voir article 1 de ce numéro). Elle pourrait être aussi déterminée par la SPIR. Les études évaluant la capacité de la SPIR pour mesurer ces indices donnent des résultats contradictoires. Bien que les méthodes de mesures inter études soient les mêmes, leurs conditions d'application sont variables (moment de la réalisation de la mesure, conditionnement de l'échantillon etc.) ce qui pourrait expliquer en partie la variabilité des résultats. Liu *et al* (2003), Leroy *et al* (2004), Prieto *et al* (2008, 2009) ainsi que De Marchi *et al* (2013) ont rapporté des prédictions avec des valeurs de R^2 supérieures à 0,78. A cela, il faut ajouter que tous ces auteurs ont réalisé la saisie spectrale sur l'échantillon utilisé pour les mesures de référence. La préparation de l'échantillon a également un impact sur la qualité des résultats obtenus. Les résultats plus performants sont généralement obtenus sur des muscles intacts plutôt que transformés. Cependant, Prieto *et al* (2008) ont obtenu des valeurs de R^2 de 0,87 et 0,90 respectivement pour les indices L^* et b^* sur de la viande hachée. Le hachage dénature grossièrement la structure du muscle, ce qui ne doit pas avoir de conséquence pour la mesure de ces indices. Cecchinato *et al* (2011), dans les mêmes conditions que Prieto *et al* (2008) mais sur des muscles broyés (dénaturation plus importante) trouvent des niveaux de prédiction moins élevés (valeurs de R^2 de 0,64 et 0,44 pour ces indices).

La prédiction des paramètres L^* et b^* pourrait se réaliser à partir du segment infrarouge (800-2500 nm) du spectre. Leroy *et al* (2004) et Prieto *et al* (2008) travaillant sur ce segment rapportent des valeurs de R^2 de 0,75 et 0,90 pour ces mesures. Selon Murray et Williams (1987), ces déterminations sont en relation avec la quantité de liaisons C-H présentes dans le gras intramusculaire. Par ailleurs, pour une prédiction réussie de l'indice a^* l'utilisation de la partie visible du spectre (400-700 nm) dans la capture des spectres est importante. Dans ces conditions Liu *et al* (2003) et Prieto *et al* (2009) rapportent des valeurs de R^2 supérieurs à 0,86. Ceci pourrait être expliqué par la corrélation entre l'indice a^* , la quantité d'eau de la viande, la concentration de myoglobine et de ses dérivés. Le domaine d'absorption de la myoglobine se trouve dans le segment du visible (405-1100 nm) (Prieto *et al* 2009).

La capacité de rétention d'eau de la viande est une composante importante de la qualité, car elle influence les rendements de transformation des produits cuits ainsi que les qualités

organoleptiques de la viande (voir article 1 de ce numéro spécial). La plupart des auteurs sont d'accord sur la capacité limitée de la SPIR pour prédire cette détermination (valeurs de R^2 comprises entre 0,001 et 0,58) (Prieto *et al* 2008). Selon Prieto *et al* (2009), l'hétérogénéité des échantillons de viande peuvent influencer la méthode physique de mesure ainsi que les spectres SPIR et amener à des faibles valeurs de R^2 des modèles de prédiction SPIR.

A notre connaissance, à ce jour une seule étude a été conduite pour évaluer la capacité de rétention d'eau de la viande par SF (Brondum *et al* 2000). Les modèles ont été construits en considérant une population de 32 muscles de porc (ST et LM) non-broyés. Sur chaque muscle, des spectres d'émission de fluorescence (λ ex : 280, 320, 365 et 395 nm) et des mesures de rétention d'eau par la méthode du papier-filtre ou de mesure de l'exsudation ont donné respectivement des R^2 de 0,46 et 0,21. Ces auteurs concluent que les faibles corrélations résulteraient de l'hétérogénéité des muscles analysés. Cependant, il semble que la qualité de la prédiction soit aussi associée à la précision de la méthode de référence utilisée.

3.3.2 Caractéristiques sensorielles

Les critères sensoriels les plus importants pour les consommateurs sont l'aspect, la texture : tendreté et jutosité et la flaveur de la viande (voir article 1 de ce numéro spécial). Toutes ces caractéristiques résultent de la teneur en différents composants chimiques, de caractéristiques structurales ou de paramètres technologiques (teneur en lipides, collagène, typologie des fibres, pH, etc). Plusieurs auteurs ont donc émis l'hypothèse qu'il serait possible de prédire avec précision la qualité sensorielle de la viande par la SPIR (Prieto *et al* 2009; Rodbotten *et al* 2000; Venel *et al* 2001). Malheureusement, cette hypothèse n'a pas été validée (valeurs de R^2 comprises entre 0,10 et 0,58). Plusieurs problèmes ont été identifiés pouvant nuire à la prédiction de la qualité sensorielle de la viande. Selon Liu *et al* (2003), lors d'une analyse sensorielle, l'utilisation d'une échelle de notation d'intensité des caractéristiques sensorielles trop étroite pourrait réduire la précision et l'exactitude de la prédiction. Le fait que les échantillons scannés en PIR ne soient pas forcément les mêmes morceaux de viande qui ont été testés par le jury de dégustation peut être également un autre facteur explicatif. La grande hétérogénéité de la viande sur un même muscle peut entraîner des biais importants. Contrairement aux études citées ci-dessus, Ripoll *et al* (2008) rapportent des valeurs de R^2 de 0,98 pour des modèles d'étalonnage réalisés pour la prédiction de la tendreté de la viande bovine. Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces auteurs ont utilisé différentes races et différents niveaux de maturation, induisant une grande variabilité dans les déterminations couramment utilisées pour évaluer les caractéristiques sensorielles de la viande. Cependant, l'ensemble des résultats obtenus indique que la SPIR ne constitue pas encore une méthode adaptée à la prédiction de la qualité sensorielle de la viande.

La prédiction de la tendreté de la viande via le développement de modèles entre l'information spectrale PIR et la force de cisaillement donne des résultats variables (valeurs de R^2 comprises entre 0,01 et 0,74) (Andrés *et al* 2008; Cecchinato *et al* 2011; De Marchi *et al* 2013). Selon Leroy *et al* (2004), ceci peut s'expliquer par l'homogénéité entre échantillons des données de référence, tandis que Prieto *et al* (2008) remarquent une grande variabilité des résultats entre duplicats par la méthode Warner-Braztler (WBSF) pour un même échantillon.

Ces arguments pourraient contribuer à expliquer les faibles relations obtenues entre SPIR et WBSF. Selon Liu *et al* (2003) et De Marchi *et al* (2007), l'hétérogénéité d'un muscle contribuerait à expliquer la variabilité de la détermination WBSF ainsi que les résultats des modèles SPIR car la zone de la viande analysée par infrarouge ne correspond pas à celle utilisée pour la mesure de WBSF. Cependant, selon De Marchi *et al* (2013) le fait d'homogénéiser le muscle en le broyant n'améliore pas les valeurs de R^2 obtenues, et cela aurait même tendance à dégrader les résultats des modèles. Ces auteurs expliquent ce constat par l'altération de la structure du muscle provoquée par l'homogénéisation, qui détruit ou altère l'arrangement des fibres et donc modifie l'information spectrale PIR.

La possibilité d'utiliser la SF comme outil de prédiction des caractéristiques sensorielles, notamment de la tendreté, est basée sur les résultats de cette technique pour la prédiction du collagène, de l'élastine et du tissu adipeux des produits carnés (Swatland 1987a, Sahar *et al* 2008). Les résultats obtenus pour les modèles reliant la SF et les caractéristiques sensorielles des viandes sont variables. Ainsi, Egelanddal *et al* (1996) ont montré qu'il existait une corrélation significative entre la force à la rupture du perimysium obtenu après dissection de muscles masséter bovin et les spectres d'émission enregistrés après excitation à 280 ou 335 nm (valeurs de R^2 comprises entre 0,38 et 0,86). Egelanddal *et al* (2002) rapportent des valeurs de R^2 entre 0,20 et 0,71 entre l'énergie maximale nécessaire pour le cisaillement déterminée par WBSF et les spectres d'émission de fluorescence obtenus après excitation à 322 ou 380 nm, sur différents lots de LM de bœuf. Cependant, les résultats rapportés par Swatland *et al* (1995) sur ce même muscle montrent des valeurs de R^2 comprises entre 0,22 et 0,42 entre les notes de tendreté attribuées par un panel de dégustateurs et les spectres de fluorescence obtenus après excitation à 365 nm. Par ailleurs, sur des muscles ST, ces auteurs affichent des valeurs de R^2 comprises entre 0,37 et 0,74.

Les faibles corrélations entre les mesures de tendreté de la viande et les spectres de fluorescence semblent associées à la faible teneur en collagène des muscles étudiés, à la faible variabilité de ces mesures, au nombre limité d'échantillons et aux longueurs d'onde d'excitation utilisés dans ces études, qui ne seraient pas très adaptées pour la construction des modèles. Ainsi, d'autres études ont suggéré qu'une excitation à 290 nm (spectres de fluorescence du tryptophane) peut contenir des informations relatives aux caractéristiques rhéologiques et sensorielles de la viande (Dufour et Frencia 2001, Frencia *et al* 2003, Clerjon *et al* 2011) ou des saucisses (Allais *et al* 2004) bien que Lebecque *et al* (2003) rapportent des valeurs de R^2 de 0,32 entre la SF frontale déterminée à cette même longueur d'onde et les mesures de tendreté. L'utilisation d'un mode d'acquisition synchrone dont le principe permet d'accéder simultanément à l'ensemble des fluorophores présent dans la viande, permettrait probablement d'améliorer les niveaux de prédiction.

4. Traçabilité

Ces dernières années, la demande croissante des consommateurs envers la qualité et les conditions de production des denrées alimentaires a incité les fournisseurs à améliorer l'information disponible. Une autre possibilité d'utilisation de la SPIR et de la SF est la classification des échantillons selon différents critères en relation avec la qualité, la traçabilité

(ou l'authenticité) des viandes : origine, adultération (mélange de viandes de différentes espèces, ajout de substances frauduleuses) etc.

En ce qui concerne la SPIR, dans une optique de détection des fraudes, Cozzolino et Murray (2004) ont utilisé le segment VIS-PIR pour différencier la viande de bœuf, d'agneau, de porc et de poulet avec 80% de résultats corrects. D'autres études s'intéressent à la détection de substances étrangères dans la viande à l'aide de la SPIR. Ding et Xun (2000) ont ainsi essayé de différencier les hamburgers 100% bœuf de ceux contenant frauduleusement de la viande de porc, d'agneau, du lait ou de la farine incluses à des taux variant entre 5 et 25%. L'exactitude des résultats augmente proportionnellement avec la quantité de produit frauduleux incorporé. Par ailleurs Morsy et Sun (2013) ont obtenu 100 % d'échantillons bien classés en cherchant à différencier de la viande de bœuf hachée et de la viande de bœuf hachée contaminée par de la viande de porc ou des déchets de carcasse.

La SPIR a également été utilisée avec succès pour discriminer la viande fraîche de celle décongelée. Ainsi Downey et Beauchêne (1997) rapportent des taux de 64% de classification correcte d'échantillons de bœuf intacts, et Thyholt et Issakson (1997) obtiennent 100% d'échantillons bien classés en travaillant à partir des jus d'exsudation. La dénaturation des protéines sous l'effet de la décongélation pourrait expliquer ces résultats.

Dian *et al* (2007, 2008) se sont intéressés à l'utilisation de la zone spectrale du visible comprise entre 410-510 nm, la totalité du segment visible (400-700 nm) et du VIS-PIR (400-2500 nm) pour le classement de carcasses d'agneaux selon le type d'alimentation. Sur des échantillons de gras périrénal, en utilisant le segment VIS-PIR, ils ont pu différencier des carcasses d'agneaux nourris à l'herbe de ceux élevés en bergerie et recevant une ration à base de paille et de concentré, avec un taux de réussite supérieur à 98 %. Dans ces résultats, la partie visible du spectre est très importante (94%) (Dian *et al* 2008). Les résultats de cette classification sont en relation avec la composition chimique des échantillons issus de chaque régime. Ainsi, ces auteurs suggèrent que cette classification est possible grâce à la différence entre les quantités absorbées en pigments caroténoïdes, en pigments hémiques et en acides gras.

Dans le domaine de la fluorescence, différentes études ont été entreprises pour discriminer différents muscles bovins entre eux. Dufour et Frenchia (2001) ont mesuré les spectres d'émission du tryptophane de muscles *Longissimus thoracis* (LT) et IS à 2 et 16 jours post-mortem. Sur la base des profils spectraux, il a été possible de discriminer les muscles grâce à la position du maximum d'émission observée à 336 nm qui présente un décalage en fonction du muscle et du temps de maturation (Hildrum *et al* 2006). Dufour et Frenchia (cité par Hildrum *et al* 2006) en travaillant sur les spectres de 5 muscles (*Tensor fasciae Latea*, LT, ST, IS et *Triceps Branchi*) après 2 et 14 jours de maturation, rapportent un taux de bonne classification de 82% entre muscles en fonction de leur maturation. D'après ces auteurs, les spectres constituent une empreinte digitale du produit résultant des propriétés de fluorescence de l'ensemble des protéines de la viande (myofibrilles, protéines, sarcoplasmiques, collagène,...) et de leurs évolutions au cours de la maturation. Enfin, ces résultats montrent de façon indéniable que la SF peut être utilisée pour la classification des muscles.

5. Comparaison des méthodes

La SPIR et la SF sont des techniques de mesures physiques rapides à mettre en œuvre, non destructives des échantillons et une fois étalonnées elles sont multiparamétriques. Ces deux techniques peuvent être utilisées en-ligne et hors-ligne sur les sites de production pour la conduite des procédés et/ou la réalisation de contrôles qualité sur les produits. Toutefois, ces techniques réalisent des mesures indirectes nécessitant au préalable un étalonnage robuste des modèles de prédiction ciblé sur le paramètre souhaité. Pour cela des connaissances en chimométrie et en analyse spectrale sont nécessaires. L'utilisation de la SPIR serait limitée à la présence de molécules organiques et d'autres composants non organiques, important dans l'évaluation de la qualité des produits, tels que les minéraux doivent être prédits indirectement. La SF est une méthode beaucoup plus spécifique que la SPIR car, elle n'est sensible qu'aux composants fluorescents. Cependant plusieurs auteurs ont montré la possibilité de construire des modèles de prédiction pour des composés n'ayant pas cette propriété (minéraux, pH).

Bien que les deux techniques soient rapides à mettre en œuvre, la mise au point de la SF nécessite une étape supplémentaire pour identifier la longueur d'onde d'excitation et/ou d'émission optimale pour l'échantillon et le composant à prédire.

La présence de certains composés en quantité importante dans des produits comme l'eau, peut jouer sur les performances des modèles d'étalonnage SPIR. En effet, l'eau absorbe de façon importante dans la région PIR, ses bandes d'absorption peuvent cacher des bandes d'autres composants et affecter les résultats des modèles de prédiction. La SF n'est pas influencée par ce phénomène.

Par ailleurs, la SF est connue pour être 100 à 1000 fois plus sensible que la SPIR. Elle serait donc plus adaptée pour la prédiction des composés présents en faible concentration. Ainsi la SF a été utilisée avec succès pour la prédiction de vitamines dans différents produits alimentaires (huile d'olive, lait, ...).

En ce qui concerne la prédiction des paramètres de qualité de la viande, le nombre d'articles publiés sur l'utilisation de la SPIR est beaucoup plus élevée que ceux consacrés à la SF. La comparaison des résultats entre les deux techniques est difficile à réaliser, car les deux techniques n'ont pas été appliquées sur les mêmes bases de données. Comme cela a déjà été évoqué, le jeu de données utilisé pour le développement des modèles d'étalonnage peut jouer sur les résultats obtenus. Néanmoins, selon les résultats de la littérature, en général, la SPIR se montrerait plus performante que la SF pour la prédiction de la composition chimique globale et la composition nutritionnelle de la viande, notamment la prédiction des AG. Par ailleurs, la SF montre en général des valeurs de R^2 plus élevées pour la détermination du collagène. En ce qui concerne la prédiction des paramètres technologiques et sensoriels, les deux techniques montrent une précision similaire. Finalement, bien que les deux techniques aient été utilisées pour la traçabilité de la viande, les critères pour lesquels ces techniques ont été utilisées, sont différents.

Conclusion

Les méthodes non destructives pour la détermination de la qualité de la viande sont accueillies avec intérêt par les industries. La SPIR et la SF sont des techniques rapides, souples et précises qui présentent un potentiel énorme pour la prédiction des paramètres de qualité des produits. Elles ont été utilisées avec succès sur un grand nombre de produits agricoles. Bien qu'au cours de ces dernières années l'effort de recherche et les avancées obtenues dans le domaine de la prédiction de la qualité de la viande aient été importants, les résultats sont encore assez variables et ne sont pas totalement satisfaisants pour la prédiction en pratique de la plupart des paramètres de qualité. La complexité et l'hétérogénéité du muscle semble être le principal facteur responsable de cette limite.

L'application de ces techniques, notamment de la SPIR semble à ce jour un peu plus avancée pour des finalités qualitatives comme la traçabilité. Cependant un effort de recherche est encore nécessaire afin de pouvoir réaliser ces analyses qualitatives dans des conditions pratiques.

Ces dernières années, de nouvelles technologies basées sur l'imagerie PIR en mode hyper-spectral et l'imagerie de fluorescence en mode multi-spectral se sont développées dans tous les domaines de l'analyse des aliments. Ces technologies combinent une caméra et un détecteur spectral permettant d'intégrer l'hétérogénéité de l'échantillon lors de l'analyse. Il semble d'après les premières études que ces méthodes présentent un potentiel pour prédire la composition chimique de la viande et sa tendreté.

Références

- Abbas K., Karoui R., Aït-Kaddour A., 2012. Application of synchronous fluorescence spectroscopy for the determination of some chemical parameters in PDO French blue cheeses. *Europ. Food Res. Technol.*, 234, 457-465.
- Allais I., Viaud C., Pierre A., Dufour E., 2004. A rapid method based on front-face fluorescence spectroscopy for the monitoring of the texture of meat emulsions and frankfurters. *Meat Sci.*, 67, 219-229.
- Andrés S., Silva A., Soares-Pereira A.L., Martins C., Bruno-Soares A.M., Murray I., 2008. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M. longissimus thoracis et lumborum* quality attributes. *Meat Sci.* 78, 217-224.
- Bajwa S.G., Kandaswamy J., Apple J.K., 2009. Spectroscopic evaluation of the nutrient value of ground beef patties. *J. Food Eng.*, 92, 454-460.
- Barnes R.J., Dhanoa M.S., Lister S.J., 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.*, 43, 772-777.
- Ben-Gera I., Norris K.H., 1968. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. *J. Food Sci.*, 33, 64-67.
- Bertrand D., 2002. La spectroscopie proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale. *INRA Prod. Anim.*, 15, 209-219.

- Berzaghi P., Dalla Zotte A., Jansson L. M., Andrighetto I., 2005. Near-infrared reflectance spectroscopy as a method to predict chemical composition of breast meat and discriminate between different n-3 feeding sources. *Poult. Sci.*, 84, 128-136.
- Boubellouta T., Galtier V., Dufour E., 2011. Structural changes of milk components during acid-induced coagulation kinetics as studied by synchronous fluorescence and mid-infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.*, 65, 284-292.
- Brondum J., Munck L., Henckel P., Karlsson A., Tornberg E., Soren B.E., 2000. Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Sci.*, 55, 177-185
- Cecchinato A., De Marchi M., Penasa M., Albera A., Bittante G., 2011. Near-infrared reflectance spectroscopy predictions as indicator traits in breeding programs for enhanced beef quality. *J. Anim. Sci.*, 89, 2687-2695.
- CIE, 1978. International Commission on illumination, recommendations on uniform colour spaces, colour difference equations, psychometric color terms. CIE Publication, Paris, France.
- Clerjon S., Peyrin F., Lepetit J. 2011. Frontal UV–visible fluorescence polarization measurement for bovine meat ageing assessment. *Meat Sci.*, 88, 28-35
- Cozzolino D., Murray I., 2002. Effect of sample presentation and animal muscle species on the analysis of meat by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 44, 37-44.
- Cozzolino D., Murray I., 2004. Identification of animal meat muscles by visible and near infrared reflectance spectroscopy. *LTW-Food Sci. Technol.*, 37, 447-452.
- Damez J.L., Clerjon S., 2013. Quantifying and predicting meat and meat products quality attributes using electromagnetic waves: An overview. *Meat Sci.*, 95, 879-896.
- De Marchi M., Berzaghi P., Boukha A., Mirisola M., Gallo, L., 2007. Use of near infrared spectroscopy for assessment of beef quality traits. *Ital. J. Anim. Sci.*, 6, 421-423.
- De Marchi M., 2013. On-line prediction of beef quality traits using near infrared spectroscopy. *Meat Sci.*, 94, 455-460.
- De Marchi M., Penasa M., Cecchinato A., Bittante G., 2013. The relevance of different near infrared technologies and sample treatments for predicting meat quality traits in commercial beef cuts. *Meat Sci.*, 93, 329-335.
- Dian P.H.M., Andueza D., Barbosa C.M.P., Amoureux S., Jestin M., Carvalho P.C.F., Prado I.N., Prache S., 2007. Methodological developments in the use of visible reflectance spectroscopy for discriminating pasture-fed from concentrate-fed lamb carcasses. *Anim.*, 1, 1198-1208
- Dian P.H.M., Andueza D., Jestin M., Prado I.N., Prache S., 2008. Comparison of visible and near infrared reflectance spectroscopy to discriminate between pasture-fed and concentrate-fed lamb carcasses. *Meat Sci.*, 80, 1157-1164.
- Ding H. B., Xu R.J., 2000. Near-Infrared Spectroscopic Technique for Detection of Beef Hamburger Adulteration *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2193-2198.
- Downey G., Beauchêne D., 1997. Discrimination between fresh and frozen-then-thawed beef m. *longissimus dorsi* by combined visible-near infrared reflectance spectroscopy: a feasibility study. *Meat Sci.* 45, 353-363.

- Downey G., Hildrum K.I., 2004. Analysis of meat. In : Near infrared spectroscopy In agriculture agronomy. Roberts C.A., Workman Jr. J., Reeves III, J.B. (Eds). American Society of Agronomy Inc., Crop Science Society of America Inc., Soil Science Society of America Inc. Madison, USA, 599-632.
- Dufour E., Frencia J.P., 2001. Les spectres de fluorescence frontale : une empreinte digitale de la viande. Viandes Prod. Carnés, 22, 9-14.
- Dufour E., Devaux M.F., Fortier P., Herbert S., 2001. Delineation of the structure of soft cheeses at the molecular level by fluorescence spectroscopy--relationship with texture. Int. Dairy J. 11, 465-473.
- Dufour E., Frencia J.P., Kane E., 2003. Development of rapid method based on front face fluorescence spectroscopy for the monitoring of fish freshness. Food Res. Inter., 36, 415-423.
- Egelandsdal B., Kvaal K., Isaksson T., 1996. Autofluorescence spectra as related to tensile properties for perimysium from bovine masseter. J.Food Sci., 61, 342-347.
- Egelandsdal B., Wold J. P., Spønnich A., Neegård S., Hildrum K. I., 2002. On attempts to measure the tenderness of *Longissimus Dorsi* muscles using fluorescence emission spectra. Meat Sci., 60, 187-202.
- Egelandsdal B., Dingstad G., Tøgersen G., Lundby F., Langsrud Ø., 2005. Autofluorescence quantifies collagen in sausage batters with a large variation in myoglobin content. Meat Sci., 69, 35-46.
- Frenchia J. P., Thomas E., Dufour E., 2003. Measure of meat tenderness using front face fluorescence spectroscopy. Sci. Aliment., 23, 142-145.
- Gatellier P., Gomez S., Gigaud V., Berri C., Bihan-Duval E. L., Santé-Lhoutellier V., 2007. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. Meat Sci, 76, 543-547.
- García-Olmo J., De Pedro E., Garrido-Varo A., Jimenez A., Salas J., Santolalla M., 2000. Fatty acids analysis of Iberian pig fat by near infrared spectroscopy (NIRS). CIHEAM - Options Méditerranéennes. Ser A, 41, 191-195.
- Genot C., Tonetti F., Montenay-Garestier T., Drapron R., 1992a. Front-face fluorescence applied to structural studies of proteins and lipid-protein interactions of visco-elastic food products. I: Designing of front-face adaptor and validity of front-face fluorescence measurements. Sci. Aliment., 12, 192-212.
- Genot C., Tonetti F., Montenay-Garestier T., Drapron R., 1992b. Front-face fluorescence applied to structural studies of proteins and lipid-protein interactions of visco-elastic food products. 2-application to wheat gluten, Sci. Aliment., 12, 687-704.
- González Martín I., González-Pérez C., Hernández-Méndez J., Alvarez-García N., 2002. Mineral analysis (Fe, Zn, Ca, Na, K) of fresh Iberian pork loin by near infrared reflectance spectrometry. Determination of Fe, Na and K with a remote fibre-optic reflectance probe. Analytica Chimica Acta, 468, 293-301.
- González Martín I., Bermejo C.F., Hierro J.M.H., González C.I.S., 2009. Determination of hydroxyproline in cured pork sausages and dry cured beef products by NIRS technology employing a fibre-optic probe. Food Control, 20, 752-755.

- Guy F., Prache S., Thomas A., Bauchart D., Andueza D., 2011. Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chem.*, 127, 1280-1286.
- Hasegawa K., Endo Y., Fujimoto K., 1992. Oxidative deterioration in dried fish model systems assessed by solid sample fluorescence spectrophotometry. *J. Food Sci.*, 57, 1123-1126.
- Herbert S., 1999. Caractérisation de la structure moléculaire et microscopique de fromages à pâte molle. Analyse multivariée des données structurales en relation avec la texture. Thèse, Ecole doctorale Chimie Biologie et l'Université de Nantes, France, 118p.
- Hildrum K.I., Wold J.P., Segtnan V.H., Renou J.P., Dufour E., 2006. New spectroscopic techniques for online monitoring of meat quality. In : *Advanced techniques for meat processing*. Nollet L.M.L., Toldra F. (Eds). Taylor and Francis, London, UK, 88-129.
- Kagan V.E., 1988. *Lipid Peroxidation in Biomembranes*, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 29
- Lakowicz J.R., 1999. *Principles of fluorescence spectroscopy*, Plenum Publishers, New York, USA, 954p.
- Lebecque A., Laguet A., Chanonat M., Lardon S., Dufour E., 2003. Joint analysis of sensory and instrumental data applied to the investigation of the texture of Charolais meat. *Sci. Aliment.*, 23, 172-175.
- Leroy B., Lambotte S., Dotreppe O., Lecocq H., Istasse L., Clinquart A., 2004. Prediction of technological and organoleptic properties of beef *Longissimus thoracis* from near-infrared reflectance and transmission spectra. *Meat Sci.*, 66, 45-54.
- Listrat A., Durand D., Micol D., Andueza D., 2014. Utilisation de la spectroscopie dans le proche infra-rouge pour prédire la composition du tissu conjonctif de la viande bovine. Résultats préliminaires. *Viandes et Produits Carnés* (accepté pour publication).
- Liu Y., Lyon B.G., Windham W.R., Realini C.E., Pringle T.D.D., Duckett S., 2003. Prediction of color, texture, and sensory characteristics of beef steaks by visible and near infrared reflectance spectroscopy. A feasibility study. *Meat Sci.* 65, 1107-1115.
- Mairesse G., Douzenel P., Mourot J., Vautier A., Le Page R., Goujon J.M., Poffo L., Sire O., Chesneau G., 2012. La spectroscopie proche infrarouge: outil d'analyse rapide sur carcasse de la teneur en acides gras polyinsaturés n-3 des gras de bardière du porc charcutier. IFIP, INRA (Eds). 44e Journées de la Recherche Porcine, Paris, France, 211-212.
- Martinsen P., Schaare P., 1998. Measuring soluble solids distribution in kiwifruit using near-infrared imaging spectroscopy. *Postharvest Biol. Techn.*, 14, 271-281.
- Masoero G., Bergoglio G., Brugiapaglia A., Destefanis G., Chicco R., 2004. FT-NIR spectroscopy of fresh and treated muscle tissue in young female rabbits. 8th World Rabbit Congress, Puebla, Mexico, 1409-1415.
- Meurens M., 2000. Acquisition et traitement du signal spectrophotométrique. In : *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Bertrand D., Dufour E. (Eds). Tec & Doc Editions, Paris, France, 199-211.
- Morsy N., Sun D.W., 2013. Robust linear and non-linear models of NIR spectroscopy for detection and quantification of adulterants in fresh and frozen-thawed minced beef. *Meat Sci.*, 93, 292-302.

- Mourot B.P., Gruffat D., Durand D., Chesneau G., Mairesse G., Andueza D., 2014a. Breeds and muscle types modulate performance of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat. *Meat Sci.*,99, 104-112.
- Mourot B.P., Gruffat D., Durand D., Chesneau G., Prache, S., Mairesse G., Andueza D., 2014b New approach to improve the calibration of main fatty acids by near-infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat. *Anim. Prod. Sci.*54, 1848-1852.
- Murray I., Williams P.C., 1987. Chemical principles of near-infrared technology. In *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Williams P.C., Norris K. (Eds). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA, 17-34.
- Norris K.H., Hart J.R., 1965. Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds. In: "Humidity and Moisture", 4, "Principles and Methods of Measuring Moisture in Liquids and Solids", Reinhold Publish. Corp., New York.
- Osborne B.G., Fearn T., 1988. *Near infrared spectroscopy in food analysis*. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK, 200 p.
- Ouanezar M., Gruffat D., Aït-Kaddour A., Mardon J., Jacquot S., Ferlay A., Bauchart D., 2012. Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour la prédiction des teneurs en acides gras dans la viande bovine: comparaison entre les méthodes frontale et synchrone. 14èmes Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Caen, France, 37-38.
- Patra D., Mishra A.K., 2002. Recent developments in multi-component synchronous fluorescence scan analysis. *Trends Anal. Chem.* 21, 787-798.
- Prieto N., Andrés S., Giráldez F.J., Mantecón A.R., Lavín P., 2006. Potential use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of chemical composition of oxen meat samples. *Meat Sci.*, 74, 487-496.
- Prieto N., Andrés S., Giráldez F.J., Mantecón A.R., Lavín P., 2008. Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Sci.*, 79, 692-699.
- Prieto N., Roehe R., Lavín P., Batten G., Andrés S., 2009. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Sci.*, 83, 175-183.
- Prieto N., Ross D.W., Navajas E.A., Richardson R.I., Hyslop J.J., Simm G., Roehe R., 2011. Online prediction of fatty acid profiles in crossbred Limousin and Aberdeen Angus beef cattle using near infrared reflectance spectroscopy. *Anim.*, 5, 155-165.
- Ripoll G., Albertí P., Panea B., Olleta J.L., Sañudo C., 2008. Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental and sensory quality of beef. *Meat Sci.*, 80, 697-702.
- Sahar A., Boubellouta T., Lepetit J., Dufour E., 2008. Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour discriminer différents muscles et pour prédire certains paramètres physicochimie de la viande. 12èmes Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Tours, France, 191-192.
- Sahar A., Boubellouta T., Portanguen S., Kondjoyan A., Dufour E., 2009. Synchronous front-face fluorescence spectroscopy coupled with parallel factors (PARAFAC) analysis to study the effects of cooking time on meat. *J. Food Sci.*, 74, 534-539
- Savenije B., Geesink G.H., Van der Palen J.P.G., Hemke G., 2006. Prediction of pork quality using visible/near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Sci.*, 73, 2693-2699.

- Sierra V., Aldai N., Castro P., Osoro K., Coto-Montes A., Oliván M., 2008. Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Sci.*, 78, 248-255.
- Skjervold P.O., Taylor R.G., Wold J.P., Berge P., Abouelkaram S., Culioli J., Dufour E., 2003. Development of intrinsic fluorescent multispectral imagery specific for fat, connective tissue, and myofibers in meat. *J. Food Sci.*, 68, 1161-1168.
- Swatland H.J., 1987a. Autofluorescence of adipose tissue measured with fibre optique. *Meat Sci.*, 19, 277-284.
- Swatland H.J., 1987b. Measurement of the gristle content in beef by macroscopic ultraviolet fluorimetry. *J. Anim. Sci.*, 65, 158-164.
- Swatland H. J., Gullett E., Hore T., Buttenham S., 1995. UV fiber-optic probe measurements of connective tissue in beef correlated with taste panel scores for chewiness. *Food Res. Intern.*, 28, 23-30.
- Thyholt K., Isaksson T., 1997. Differentiation of frozen and unfrozen beef using near-infrared spectroscopy. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 525-532.
- Veberg A., Sørheim O., Moan J., Iani V., Juzenas P., Nilsen A.N, Wold J.P., 2006a. Measurement of lipid oxidation and porphyrins in high oxygen modified atmosphere and vacuum-packed minced turkey and pork meat by fluorescence spectra and images. *Meat Sci.*, 73, 511-520.
- Veberg A., Vogta G., Wolda J.P., 2006b. Fluorescence in aldehyde model systems related to lipid oxidation. *LWT-Food Sci. Technol.*, 39, 562-570.
- Venel C., Mullen M., Downey G., Troy D.J., 2001. Prediction of tenderness and other quality attributes of beef by near infrared reflectance spectroscopy between 750 and 1100 nm. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 9, 185-198.
- Viljoen M., Hoffman L.C., Brand T.S., 2007. Prediction of the chemical composition of mutton with near infrared reflectance spectroscopy. *Small Rum. Res.*, 69, 88-94.
- Weeranantanaphan J., Downey G., Allen P., Sun D., 2011. A review of near infrared spectroscopy in muscle food analysis: 2005-2010. *J. of Near Infrared Spectros.*, 19, 61-104.
- Wold J.P., Lundby F., Egelanddal B., 1999. Quantification of connective tissue (hydroxyproline) in ground beef by autofluorescence spectroscopy. *J. Food Sci.*, 64, 377-383.
- Zamora-Rojas E., Garrido-Varo A., De Pedro-Sanz E., Guerrero-Ginel J.E., Perez-Marin D., 2013. Prediction of fatty acids content in pig adipose tissue by near infrared spectroscopy: at line versus in situ analysis. *Meat Sci.*, 95, 503-511.
- Zandomenighi M., 1999. Fluorescence of cereal flours. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 878-882.

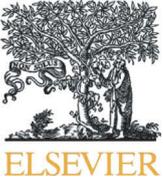
Publication n°2

Breeds and muscle types modulate performance of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat

B.P. Mourot, D. Gruffat, D. Durand, G. Chesneau, G. Mairesse, D. Andueza

Meat Science (2015) 99, 104-112

Résumé : Le but de cette étude était d'évaluer le potentiel de la spectroscopie proche infrarouge (SPIR) pour prédire la composition en acide gras (AG) de la viande bovine. Notre dispositif expérimental comprenait quatre races de jeunes bovins possédant des capacités de lipogenèse variées (Angus, Blonde d'Aquitaine, Charolais et Limousin) et trois muscles avec différents métabolismes, le *Longissimus Thoracis* (LT), le *Rectus abdominis* (RA) et le *Semitendinosus* (ST). Les résultats montrent que: 1) l'augmentation de la variabilité de la teneur en AG, grâce à l'utilisation de plusieurs races, améliore les performances du modèle d'étalonnage ($R^2CV > 0,86$) par rapport à la littérature, pour les AG majeurs individuels et les sommes d'AG sauf les AG polyinsaturés et, 2) les AG du muscle LT sont mieux prédits par SPIR que ceux du muscle RA alors qu'aucun AG du muscle ST n'a été correctement prédit ($R^2CV < 0,71$). Cette différence de résultats entre les muscles pourrait être due à des teneurs en AG différentes entre muscles, une variabilité des AG différente entre muscles ou des caractéristiques physico-chimiques spécifiques à chaque muscle.



Breeds and muscle types modulate performance of near-infrared reflectance spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat

B.P. Mourot^{a,b}, D. Gruffat^{a,*}, D. Durand^a, G. Chesneau^b, G. Mairesse^b, D. Andueza^a

^a National Institute for Agronomic Research (INRA), UMR 1213 Herbivores, Research Centre of Clermont-Ferrand/Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

^b Valorex, La Messayais, 35210 Combourtillé, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 18 February 2014

Received in revised form 18 July 2014

Accepted 29 August 2014

Available online 6 September 2014

Keywords:

NIR spectroscopy

Bovine

Muscle

Fatty acid

ABSTRACT

This study aims to assess near-infrared reflectance spectroscopy feasibility for predicting beef fatty acid (FA) composition. Experimental scheme included four breeds (Angus, Blond d'Aquitaine, Charolais, Limousin) and three muscles, *Longissimus thoracis* (LT), *Rectus abdominis* (RA), *Semitendinosus* (ST). The results showed that 1) increasing FA content variability with several breeds increased calibration model reliability ($R^2CV > 0.86$) for the major individual and groups of FA unless polyunsaturated FAs, 2) *Longissimus thoracis* FAs were better predicted than RA FAs while no ST FAs were correctly predicted ($R^2CV < 0.71$). This difference could be explained by FA content, FA variability or specific muscle physico-chemical characteristics.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The nutritional quality of beef, through its fatty acid (FA) composition, is of major importance for the beef industry. There has been a concurrent demand from human nutritionists and dieticians, and also from consumers to know the values of the nutritional composition of beef. The meat industry needs to control product quality quickly and early on the cattle slaughter process in order for consumers to be aware of the quality of food available. Gas liquid chromatography (GLC), the reference method currently used to determine this composition, is time-consuming, costly and generates chemical waste. Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) has been shown to provide fast, non-destructive, and cost-effective measurements. The increasing use of NIRS in food analysis has spread to all food industries: meat, dairy products, grains and seeds and fruit and vegetables (Bertrand & Dufour, 2006).

NIRS technology is used in beef to predict several parameters with varying degrees of precision: 1) proximate chemical composition of samples, and nutritional composition (Prieto et al., 2011), 2) technological parameters (De Marchi, Penasa, Cecchinato, & Bittante, 2013), 3) sensory attributes (Ripoll, Albertí, Panea, Olleta, & Sañudo, 2008) and 4) the authentication of the product (Morsy & Sun, 2013).

Concerning the FA predictions, NIRS was efficient in estimating meat FA composition especially individual saturated (SFA) and monounsaturated (MUFA) FAs (Prieto et al., 2014). Despite the considerable nutritional interest of polyunsaturated FAs (PUFA), they are not estimated with the same efficiency according to the species studied. For instance, in pork loin (González-Martín, González-Pérez, Alvarez-García, & González-Cabrera, 2005), broiler breast (Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012) or lamb meat (Guy, Prache, Thomas, Bauchart, & Andueza, 2011), NIRS was used to efficiently predict the most important individual and total PUFAs. In contrast, when PUFAs are present in low amounts and/or with low variability like in beef, these FAs are poorly predicted (Sierra et al., 2008; Weeranantanaphan, Downey, Allen, & Sun, 2011). These poorer results were obtained with one or two breeds and a uniform diet per study but both factors, breeds and diets (Bureš, Bartoň, Zahrádková, Teslík, & Krejčová, 2006; Scollan et al., 2001) had an influence on the FA muscle composition.

Our hypothesis is that the use of various breeds fed with different diets could provide a wider range of fat content and fatty acid composition which would allow for a better statistical basis for prediction of beef muscle FA composition by NIRS.

In general, only *Longissimus thoracis* (LT) muscle is used in NIRS prediction of muscle FA composition. However, this muscle is not the easiest to access on the carcass. From an industrial point of view, it should be more advantageous to obtain FA calibration models from other muscles. Moreover, muscle is another parameter of variability in FA composition (Purchas & Zou, 2008) and FA calibration models could differ from those obtained using LT.

* Corresponding author at: National Institute for Agronomic Research (INRA), UMR 1213 Herbivores, Site of Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France. Tel.: +33 473624256; fax: +33 473624639.

E-mail address: dominique.gruffat@clermont.inra.fr (D. Gruffat).

Therefore, the objectives of this study were to evaluate the potential of NIRS to predict the FA composition of LT muscle using calibration models produced from meat samples of several bovine breeds (Angus, Blond d'Aquitaine, Charolais, Limousin) and diets (barley straw and concentrate with or without lipid supplementations and with or without antioxidant supplementations), and to compare NIRS calibrations for FAs from several muscles (LT, *Semitenidosus* (ST) and *Rectus abdominis* (RA)) of Charolais bulls.

2. Material and methods

2.1. Animals and meat samples

The muscle samples came from two different experiments in order to gather 143 bulls between 15 and 18 months old (67 Charolais, 26 Angus, 25 Blond d'Aquitaine, 25 Limousin). All the details on the experimental design and diets for the experiment on Charolais bulls were previously described by Eugène et al. (2011). All the details on the experimental design and diets for the other experiment on Angus, Blond d'Aquitaine and Limousin bulls were previously described by Gruffat et al. (2013).

At the end of the rearing period, the bulls were slaughtered in the experimental abattoir of INRA (Saint-Genès-Champanelle, France). Samples (~100 g) of the LT muscle of the 4 breeds were collected at 24 h *post mortem* from the 10th thoracic rib of the ribbed carcass. Muscle samples were cut into small cubes (1 cm³), immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C. Just before analysis, the frozen samples of the LT muscle were ground into fine and homogeneous powders in liquid nitrogen with a mixer mill (Retch MM 301, Hann Germany).

In addition to the LT muscle of the 67 Charolais previously described, *Rectus abdominis* (RA) and *Semitenidosus* (ST) muscles of the same animals were sampled as previously described.

2.2. Measurements

2.2.1. Fatty acid analysis

Total lipids were extracted from 6 g of meat powder according to the method of Folch, Lees, and Sloane Stanley (1957) by mixing the LT muscle powder with a 2/1 chloroform/methanol mixture (vol/vol) and quantified by gravimetry. Fatty acid extraction and transmethylation into fatty acid methyl esters (FAME) were subsequently performed according to the methods of Bauchart, Gladine, Gruffat, Leloutre, and Durand (2005). Fatty acid methyl ester analysis was performed with GLC using a Peri 2100-chromatography system (Perichrom Society, Saulx-les-Chartreux, France) fitted with a CP-Sil 88 glass capillary column (Varian, Palo Alto, CA; length = 100 m; diam. = 0.25 mm). The carrier gas was H₂ and the oven and flame ionization detector temperatures described by Scislawski, Durand, Gruffat, and Bauchart (2004) were used. Total FAs were quantified using C19:0 as an internal standard. The identification of each individual FAME and the calculation of the response coefficients for each individual FAME were performed using the quantitative mix C4–C24 FAME (Supelco, Bellafonte, PA).

2.2.2. Reflectance spectrum of muscles in the visible and NIR wavelength

The reflectance spectrum of muscles in the visible and near-infrared wavelength (400–2500 nm) was measured on ground samples. They were firstly thawed at room temperature for 1 h. Then portions weighing about 3 g were scanned in duplicate in the reflectance mode in a NIRS 6500 scanning monochromator (NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) using ISI software, version 3.01, from Infrasoft International (Infrasoft International, South Atherton St. State College, PA 16801, USA) equipped with an autocup module. Muscle samples were scanned in a circular cup (diameter 50 mm, depth 10 mm) (Part number IH-0307, NIRSystems, Infrasoft International, South Atherton St. State College, PA 16801, USA), compressed and sealed with a disposable

paper-backed wrap. Reflectance data were recorded at 2 nm intervals and stored as log (1/reflectance).

2.3. Data analysis

Calibrations were performed using WinISI II version 1.60 (Infra-soft International, South Atherton St. State College, PA 16801, USA) on FA expressed in mg/100 g of fresh meat (except total lipids and total FAs which were expressed in g/100 g of fresh tissue). NIR calibration equations were obtained by modified partial least squares regression using the range 400–2500 nm or 700–2500 nm. All the details for the construction of NIR calibration equations regarding scatter correction, mathematical pretreatment, identification of outlier samples and cross validation procedure were described by Guy et al. (2011). The best combination of wavelength range, scattering correction and mathematical pre-treatment was selected for each constituent on the basis of the lowest standard error of cross-validation (SECV). The statistics used to evaluate the calibration models included SECV, coefficient of determination for cross-validation (R²CV) and the residual predictive deviation (RPD), defined as the ratio of standard deviation of reference data to the SECV (Williams, 2001).

To evaluate the differences in FA composition of the different muscles, the data were submitted to an analysis of variance, and the means (when different) were compared using the Tukey test, using *aov()* and *TukeyHSD()* function of the R stats package (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

3.1. Feasibility of NIRS to predict the FA composition of LT samples from several bovine breeds

3.1.1. Fatty acid composition measured using the GLC reference method

The ranges, means and coefficients of variation (CV) of LT intramuscular lipid FA concentration observed in the database are presented in Table 1. Mean SFA and MUFA contents were similar (628.4 mg/100 g and 575.2 mg/100 g respectively), whereas mean PUFA contents were 3 times lower (198.3 mg/100 g). Oleic acid (18:1 Δ^9 *cis*) and palmitic acid (16:0) were on average the most abundant FAs (396.4 mg/100 g of fresh muscle, ranging from 41.7 to 1427 mg/100 g and 322.9 mg/100 g of fresh muscle, ranging from 50.6 to 1056.3 mg/100 g respectively). Stearic acid (18:0) averaged 232.8 mg/100 g, ranging from 41.3 to 631.1 mg/100 g. Another important individual FA was linoleic acid (18:2 *n-6*) with a mean of 107.5 mg/100 g of fresh tissue muscle. All PUFAs (except *trans* PUFA *n-6* and CLA) had a lower CV (under 40%) than individual and total SFAs and MUFAs.

3.1.2. NIRS predictions

The average absorbance of the VIS/NIR spectra for ground LT muscle from the four bovine breeds is presented in Fig. 1(A). The Limousin and Blond d'Aquitaine samples had identical absorbance, the higher absorbance values being generally observed from 1450 nm to 2500 nm. The Charolais and Angus samples followed the same absorbance evolution with lower absorbance.

The calibration statistics for the intramuscular FA profile obtained in ground muscle samples are given in Table 2. The prediction equations for total lipids showed R²CV of 0.95 and the highest RPD values of all constituents (4.6). R²CV and RPD values obtained for total FAs, linear and total SFAs were the same (0.93 and 3.8, respectively). Lower values were found for branched SFAs, with R²CV = 0.84. Statistics of R²CV and RPD values obtained for total *cis* and total MUFAs ranged from 0.92 to 0.93 and from 3.6 to 3.7, respectively.

Statistics obtained for some major individual SFAs, such as 14:0, 16:0 and 18:0 had an R²CV value of 0.93, 0.94 and 0.89 and an RPD value of 3.8, 3.9 and 3.0, respectively. Results obtained for 12:0, 17:0 and 20:0 were lower, with R²CV and RPD values ranging from 0.82 to 0.84 and

Table 1
Descriptive statistics for total lipids and fatty acids in bovine *Longissimus thoracis* muscle samples of the database used (n = 143)^a.

Constituent	Mean	Min.	Max.	SD	CV (%)
Total lipids (g/100 g FM)	2.12	0.78	6.06	1.13	53.3
Total FA (g/100 g FM)	1.42	0.36	4.13	0.90	63.4
Individual FA (mg/100 g FM)					
12:0	1.35	0.24	3.71	0.83	61.5
14:0	31.73	2.38	121.9	26.95	84.9
15:0	5.93	1.06	17.97	3.75	63.2
16:0	322.9	50.64	1056.3	231.9	71.8
17:0	17.88	3.47	54.54	11.30	63.2
18:0	232.8	41.26	631.1	136.4	58.6
20:0	1.53	0.34	4.53	0.87	56.9
22:0	1.41	0.20	4.58	0.89	63.1
iso15	1.97	0.32	5.33	1.26	64.0
anteiso15	3.66	0.46	10.50	2.33	63.7
iso16	2.70	0.59	7.17	1.67	61.9
iso17	9.73	3.40	25.17	4.70	48.3
iso18	1.96	0.50	6.01	1.18	60.2
14:1 Δ9cis	3.88	0.22	17.81	3.57	92.0
15:1 Δ9cis	2.61	1.59	3.98	0.49	18.8
16:1 Δ9cis	23.99	2.34	99.41	20.96	87.4
17:1 Δ8cis	3.45	0.91	8.01	1.80	52.2
17:1 Δ9cis	12.02	4.32	32.57	5.31	44.2
18:1 Δ9cis	396.4	41.72	1427.0	305.8	77.1
18:1 Δ11cis	24.85	7.51	69.75	14.92	60.0
18:1 Δ12cis	6.43	1.65	15.69	3.09	48.1
18:1 Δ13cis	2.55	0.27	10.05	2.10	82.4
18:1 Δ14cis + Δ16trans	4.71	0.65	16.13	2.83	60.1
19:1 Δ10cis	1.28	0.31	3.82	0.85	66.4
20:1 Δ9cis	1.69	0.31	5.58	1.25	74.0
16:1 Δ9trans	8.49	1.05	25.61	5.47	64.4
18:2 n-6 trans-trans	4.65	0.63	15.78	3.26	70.1
18:2 n-6 cis-trans	5.50	0.90	18.11	3.54	64.4
18:2 n-6 trans-cis	7.71	0.56	36.38	7.19	93.3
18:2 n-6	107.5	63.29	171.8	20.92	19.5
20:2 n-6	1.10	51.00	1.96	0.33	30.0
20:3 n-6	5.49	3.05	9.51	1.39	25.3
20:4 n-6	20.18	11.91	31.17	3.84	19.0
22:4 n-6	2.29	1.16	4.34	0.80	34.9
18:3 n-3	20.37	6.31	46.38	8.21	40.3
20:5 n-3	3.92	1.50	6.61	1.26	32.1
22:5 n-3	8.97	4.84	13.86	2.06	23.0
22:6 n-3	0.89	0.32	1.80	0.31	34.8
9cis, 11trans-CLA	5.29	0.51	18.16	4.29	81.1
Fatty acid families (mg/100 g FM)					
Total linear SFA	616.3	100.2	1971.3	416.9	67.6
Total branched-chain SFA	21.03	6.37	58.48	11.77	56.0
Total SFA	628.4	106.5	2014.1	415.4	66.1
Total cis MUFA	480.1	77.27	1552.6	348.6	72.6
Total 18:1 trans	61.66	10.08	218.8	43.95	71.3
Total trans MUFA	70.93	13.05	250.4	49.12	69.3
Total MUFA	575.2	96.20	1909.8	427.1	74.3
Total n-6 trans PUFA	16.70	1.14	72.42	12.69	76.0
Total n-6 cis PUFA	137.3	80.38	218.1	24.81	18.1
Total n-6 LC PUFA	29.62	17.09	47.70	6.56	22.1
Total n-6 PUFA	156.5	89.04	275.0	33.54	21.4
Total n-3 LC PUFA	14.15	6.59	24.64	3.89	27.5
Total n-3 PUFA	34.28	13.69	65.45	10.35	30.2
Total CLA	6.20	0.51	20.43	5.10	82.3
Total LC PUFA	43.52	28.41	64.16	8.29	19.0
Total PUFA	198.3	112.6	358.2	44.26	22.3
n-6/n-3	4.79	2.46	8.97	1.47	30.7

Total linear SFA: 12:0 up to 24:0; Branched-chain SFA: iso [14 up to 18] + anteiso [15 + 17]; Total SFA: linear + branched chain SFA; Total cis MUFA: 14:1 Δ9cis + 15:1 Δ9cis + 16:1 Δ9cis + 17:1 Δ8 and Δ9cis + 18:1 Δ6cis up to Δ15cis + 20:1 Δ9cis + 22:1 Δ9cis; Total trans MUFA: 16:1 Δ9trans + 18:1 Δ6trans up to Δ16trans; total MUFA: cis + trans MUFA; Total n-6 PUFA: 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:2 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6; Total n-3 PUFA: 18:3 n-3 + 20:3 n-3 + 20:4 n-3 + 20:5 n-3 + 22:3 n-3 + 22:4 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3; Total CLA: 9cis, 11trans-CLA + 11cis, 13trans-CLA + total cis, cis CLA + total trans, trans CLA; Total PUFA: n-6 PUFA + n-3 PUFA + CLA.

^a Abbreviations: FA, fatty acids; FM, fresh muscle; Min, minimum; Max, maximum; SD, standard deviation; CV: coefficient of variation; SFA, saturated FA; MUFA, monounsaturated FA; PUFA, polyunsaturated FA; CLA, conjugated linoleic acid; LC, long chain.

from 2.3 to 2.5, respectively. R²CV and RPD values for individual cis MUFAs ranged from 0.85 to 0.93 and 2.5 to 3.8, respectively. The best statistics of cis MUFA class were obtained for 16:1 Δ9 cis, with R²CV and RPD values of 0.93 and 3.7 respectively. In contrast, for individual and total trans MUFAs, prediction results were lower (R²CV from 0.78 to 0.88).

The prediction ability was also lower for all the individual or total PUFAs, with R²CV and RPD values ranging from 0.05 to 0.70 and from 1.0 to 1.8, respectively. However, for 9cis, 11trans-CLA and total CLAs, the prediction abilities were higher, with values for R²CV of 0.82 and 0.79, respectively and values for RPD of 2.3 and 2.1, respectively.

The linear relationship between the measured and predicted values for total lipids, major FAs and some sums of FAs are shown in Fig. 2.

3.2. NIRS calibrations of Charolais bull muscles with different metabolisms

3.2.1. Fatty acid composition measured using the GLC reference method

The ranges, means and CV of intramuscular FA concentrations of the three muscle types of Charolais are presented in Table 3. LT and RA muscles had similar quantities of total FAs (1.55 and 1.39 g/100 g in tissue respectively) whereas ST muscle contained significantly lower average quantities (1.30 g/100 g, P < 0.001) and lower SD values. In most cases, there were no significant differences in content between LT and RA muscle, but LT muscle had higher variability than RA muscle. For all the major individual and total SFAs and MUFAs (14:0; 16:0; 18:0; 16:1Δ9; 18:1Δ9), the LT and RA muscles possessed twice as much FAs in quantity than the ST muscle (P < 0.001).

3.2.2. NIRS predictions

Average absorbance of VIS/NIR spectra for ground LT, ST and RA muscles from Charolais bulls is presented in Fig. 1(B). Higher absorbance values were generally observed for ST muscle from 1450 nm to 2500 nm. In the same area absorbance values for RA were higher than for LT.

The calibration statistics obtained for the LT, RA and ST muscle samples are given in Table 4. The prediction equations for all the FAs of ST muscle in beef samples showed an R²CV lower than 0.70 and RPD values lower than 1.9. LT and RA muscles had higher statistics for FA prediction with an R²CV > 0.84 and RPD > 2.5.

Eight constituents were predicted with these criteria for LT and RA muscles: total lipids, total SFAs, total cis MUFAs, 16:0, 16:1 Δ9; 18:1 Δ9, 14:1 Δ9 (only for RA muscle), and 18:1 Δ11 (only for LT muscle). Of these 8 constituents, only the prediction reliability for the 14:1 Δ9 and 16:1 Δ9 was greater for the RA muscle than for the LT muscle. On average, R²CV increased from 0.82 to 0.86 and RPD from 2.38 to 2.64.

For the RA muscle, three more constituents (14:0, 18:1 Δ11, 18:1 Δ13) had RPD values near the threshold of 2.5. These three FAs had RPD values ranging from 2.19 to 2.43. In the same way, the LT muscle had 10 constituents with RPD statistic results ranging from 2.11 to 2.48.

4. Discussion

4.1. Potential of NIRS to predict the FA composition of LT muscle from several bovine breeds

Four breeds with varying lipogenesis capacities were used in this study to increase variability of FAs in LT muscle.

Some studies have confirmed the ability of NIR spectroscopy to predict the content of total lipids in beef (De Marchi, Berzaghi, Boukha, Mirisola, & Gallo, 2007; Tøgersen, Arnesen, Nilsen, & Hildrum, 2003). All these studies reported a R²CV greater than 0.9 as in the present study. A large variability in the values of each sample set and the homogenisation of the meat explained for the reliability of NIR (Prieto, Andrés, Giráldez, Mantecón, & Lavín, 2006). In contrast, NIRS

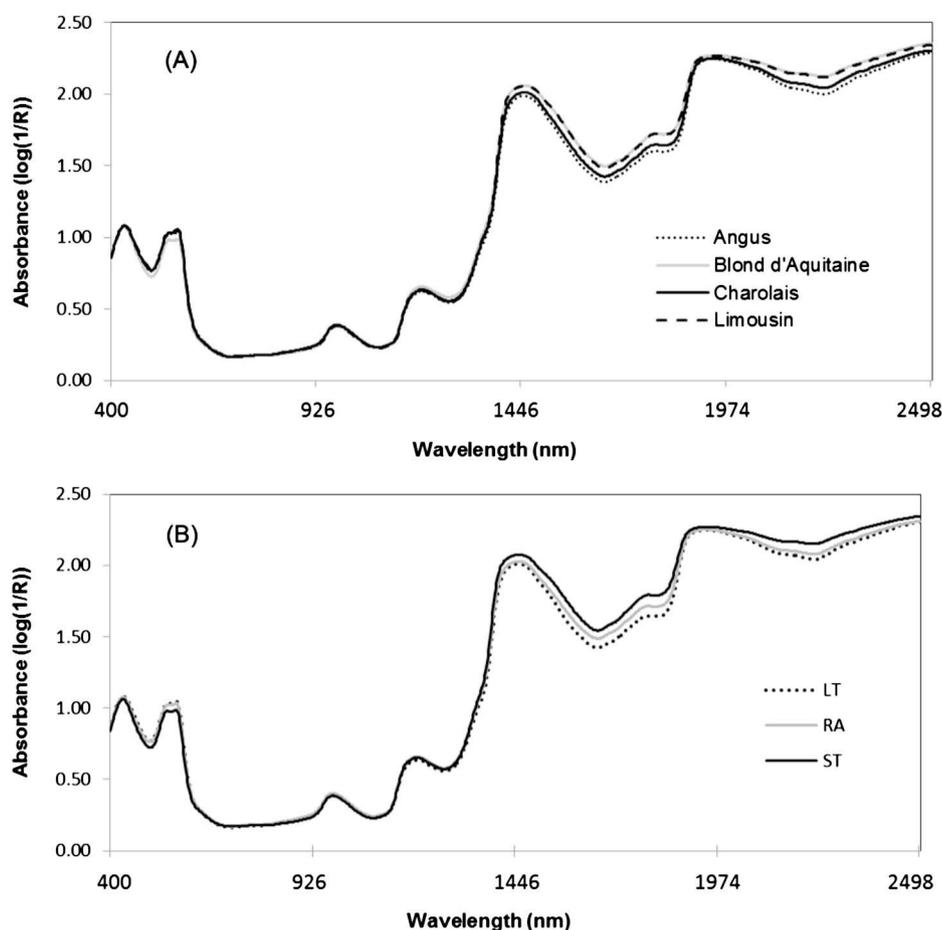


Fig. 1. Averaged absorbance of visible and near-infrared spectra of *Longissimus thoracis* (LT) muscle for (A) different breeds (Angus, Blond d'Aquitaine, Charolais, Limousin) and for (B) different muscles (LT, *Rectus Abdominis* (RA), *Semitendinosus* (ST)) of the Charolais breed.

calibrations of total FAs were not reported in other studies. Like the total lipids, total FAs were also accurately predicted ($R^2CV = 0.93$).

Regarding the calibration of individual FAs, only a few papers have investigated the application of NIRS for the prediction of FA composition in ground LT muscle (Cecchinato et al., 2012; Sierra et al., 2008). The conclusions of these authors were that the major FAs (representing over 1% of the total FAs identified such as 14:0, 16:0, 18:0, 18:1 $\Delta 9$,...) were more accurately predicted than minor FAs. Also, total and many individual SFAs and MUFAs were better predicted than total and individual PUFAs. The results of this study are in agreement with these authors with a better prediction of major individual and total SFAs and MUFAs (R^2CV in our study is improved by an average of 0.12). In the same way, minor SFAs and MUFAs (12:0, 15:0, *iso*15, 14:1 $\Delta 9$,...) were better predicted in the current study than by Sierra et al. (2008) and Cecchinato et al. (2012). Moreover, in this study NIRS calibration was able to predict new individual SFAs such as 20:0 compared to Cecchinato et al. (2012) or branched SFAs: *iso* 17 and *iso* 18 compared to Sierra et al. (2008). These differences could be explained by the variability in sampling. Indeed, Cecchinato et al. (2012) used in their study, animals from 1 genotype (Piemontese) and Sierra et al. (2008) used 2 breeds of animals with different rates of maturity. In our study, 4 breeds of animals were used with varying lipogenesis ability. As a result, the CV for almost all the FAs in the current study was higher than that shown by Cecchinato et al. (2012) and Sierra et al. (2008). This higher CV in our database could explain for the better statistical parameters for most of the FA models obtained in this study.

These differences in prediction could also be explained by the sample preparation. Indeed, Tøgersen et al. (2003) reported that the finer the grinding, the higher the prediction accuracy would be. In this study, meat was transformed into fine powder under liquid nitrogen

whereas, in the other studies, samples were blended with an electrical chopper. However, when databases of samples identically prepared were compared (for one breed (Table 4) and 4 breeds (Table 2) respectively), except for 20:0, variability was higher for the database including 4 breeds than for that including 1 breed. Also, the statistical parameters of NIRS models were better when the variability of FAs in the database was higher (except for 18:1 $\Delta 17cis$). Increasing variability by the use of several breeds in sampling had a positive effect on beef FA prediction.

In contrast, the results obtained for PUFAs remained insufficient for correct prediction and were in accordance with those of previous studies on ground meat (Cecchinato et al., 2012), intact meat (Prieto et al., 2011) or subcutaneous fat (Prieto et al., 2012). Currently, we assume that unsatisfactory predictions of PUFAs are due either to an insufficiency of variability in the data (probably because of their structural function in membrane phospholipids) or, as Azizian and Kramer (2005) mentioned, a minimum threshold FA content appears to be required to detect these FAs which was not reached in this study.

The best model result for each FA was obtained using different mathematical pre-treatments. The use of these mathematical corrections during calibration development is of regular practice in the development of NIR prediction models as some of these transformations can significantly reduce the observed residuals (Fernández-Cabanás, Garrido-Varo, Olmo, De Pedro, & Dardenne, 2007). This reduction is generally based on a decrease in the observed spread of absorbance values in a spectral database and the more efficient ability to detect real outliers. The best mathematical pre-treatment differs thus with the structure and composition of the database, and according to these authors it is impossible to know beforehand which pre-treatment would lead to the most accurate model with a certain calibration set.

Table 2
Statistical parameters of equations for NIR calibration of intramuscular fatty acids in ground bovine *Longissimus thoracis* muscle samples^a.

Constituents	Math	N	T	SECV	R ² CV	RPD
Total lipids	(NIR) MSC 0,0,1,1	130	6	0.25	0.95	4.60
Total FA	(Vis + NIR) SNV 0,0,1,1	132	9	0.24	0.93	3.76
Individual FA						
12:0	(NIR) MSC 1,4,4,1	101	3	0.34	0.84	2.47
14:0	(NIR) None 1,4,4,1	131	2	7.16	0.93	3.76
15:0	(NIR) MSC 0,0,1,1	129	5	1.53	0.84	2.46
16:0	(Vis + NIR) SNV and detrend 1,4,4,1	132	4	59.01	0.94	3.93
17:0	(NIR) MSC 1,4,4,1	129	3	5.70	0.75	1.98
18:0	(Vis + NIR) SNV 1,4,4,1	131	4	46.09	0.89	2.96
20:0	(Vis + NIR) SNV 0,0,1,1	127	6	0.37	0.82	2.34
22:0	(Vis + NIR) MSC 0,0,1,1	105	6	0.65	0.47	1.36
iso15	(Vis + NIR) MSC 1,4,4,1	128	3	0.56	0.81	2.27
anteiso15	(Vis + NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	133	9	0.96	0.83	2.44
iso16	(Vis + NIR) MSC 2,10,10,1	133	4	0.70	0.83	2.40
iso17	(NIR) Detrend 0,0,1,1	134	5	2.30	0.77	2.04
iso18	(NIR) None 0,0,1,1	126	6	0.52	0.81	2.27
14:1 Δ9cis	(NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	123	5	1.41	0.85	2.54
15:1 Δ9cis	(NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	130	5	0.43	0.21	1.13
16:1 Δ9cis	(Vis + NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	126	6	5.58	0.93	3.75
17:1 Δ8cis	(Vis + NIR) Detrend 1,4,4,1	106	2	1.75	0.06	1.03
17:1 Δ9cis	(Vis + NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	132	7	2.82	0.72	1.88
18:1 Δ9cis	(Vis + NIR) MSC 0,0,1,1	132	6	86.61	0.92	3.53
18:1 Δ11cis	(Vis + NIR) None 1,4,4,1	132	7	4.78	0.90	3.12
18:1 Δ12cis	(NIR) MSC 2,10,10,1	133	2	1.93	0.62	1.60
18:1 Δ13cis	(NIR) SNV 0,0,1,1	131	5	0.90	0.82	2.33
18:1 Δ14cis + Δ16trans	(Vis + NIR) SNV and detrend 2,10,10,1	127	3	1.31	0.79	2.16
19:1 Δ10cis	(Vis + NIR) SNV and detrend 0,0,1,1	120	6	0.30	0.88	2.87
20:1 Δ9cis	(NIR) MSC 0,0,1,1	130	5	0.47	0.86	2.68
16:1 Δ9trans	(Vis + NIR) MSC 0,0,1,1	131	5	2.58	0.78	2.12
18:2 n-6 trans-trans	(Vis + NIR) SNV and detrend 2,10,10,1	114	3	1.97	0.64	1.65
18:2 n-6 cis-trans	(NIR) MSC 1,4,4,1	127	2	2.25	0.60	1.57
18:2 n-6 trans-cis	(Vis + NIR) Detrend 1,4,4,1	129	3	6.25	0.25	1.15
18:2 n-6	(NIR) Detrend 1,4,4,1	133	5	15.68	0.44	1.33
20:2 n-6	(NIR) MSC 2,10,10,1	125	3	0.22	0.53	1.46
20:3 n-6	(Vis + NIR) None 0,0,1,1	136	2	1.34	0.07	1.03
20:4 n-6	(NIR) MSC 0,0,1,1	132	1	3.84	0.01	1.00
22:4 n-6	(NIR) MSC 1,4,4,1	125	1	0.76	0.09	1.04
18:3 n-3	(Vis + NIR) MSC2,10,10,1	134	5	5.90	0.49	1.39
20:5 n-3	(NIR) None 0,0,1,1	136	1	1.23	0.06	1.02
22:5 n-3	(Vis + NIR) None 0,0,1,1	137	1	1.91	0.17	1.08
22:6 n-3	(NIR) None 0,0,1,1	59	2	0.24	0.38	1.27
9cis,11trans-CLA	(Vis + NIR) SNV 0,0,1,1	130	5	1.85	0.82	2.32
Fatty acid families						
Total linear SFA	(Vis + NIR) MSC 1,4,4,1	131	4	108.5	0.93	3.84
Total branched-chain SFA	(NIR) None 0,0,1,1	129	6	4.77	0.84	2.47
Total SFA	(Vis + NIR) Detrend 1,4,4,1	130	4	108.8	0.93	3.82
Total cis MUFA	(Vis + NIR) MSC 0,0,1,1	131	7	97.20	0.92	3.59
Total 18:1 trans	(Vis + NIR) SNV and detrend 2,10,10,1	130	3	24.31	0.70	1.81
Total trans MUFA	(NIR) MSC 1,4,4,1	130	2	25.93	0.73	1.89
Total MUFA	(NIR) MSC 0,0,1,1	130	5	116.0	0.93	3.68
Total n-6 trans PUFA	(NIR) Detrend 0,0,1,1	129	4	10.10	0.37	1.26
Total n-6 cis PUFA	(Vis + NIR) MSC 1,4,4,1	134	5	19.89	0.37	1.25
Total n-6 LC PUFA	(NIR) MSC 2,10,10,1	138	4	6.48	0.04	1.01
Total n-6 PUFA	(Vis + NIR) Detrend 0,0,1,1	134	4	22.09	0.58	1.52
Total n-3 LC PUFA	(NIR) None 0,0,1,1	137	2	3.74	0.12	1.04
Total n-3 PUFA	(Vis + NIR) None 2,10,10,1	133	5	8.32	0.37	1.25
Total CLA	(Vis + NIR) SNV 1,4,4,1	130	3	2.38	0.79	2.14
Total LC PUFA	(NIR) None 0,0,1,1	136	1	8.12	0.06	1.02
Total PUFA	(Vis + NIR) Detrend 0,0,1,1	135	4	28.71	0.59	1.54
n-6/n-3	(Vis + NIR) SNV and detrend 1,4,4,1	136	5	1.43	0.08	1.03

Total linear SFA: 12:0 up to 24:0; Branched-chain SFA: iso [14 up to 18] + anteiso [15 + 17]; Total SFA: linear + branched chain SFA; Total cis MUFA: 14:1 Δ9cis + 15:1 Δ9cis + 16:1 Δ9cis + 17:1 Δ8 and Δ9cis + 18:1 Δ6cis up to Δ15cis + 20:1 Δ9cis + 22:1 Δ9cis; Total trans MUFA: 16:1 Δ9trans + 18:1 Δ6 up to Δ16trans; total MUFA: cis + trans MUFA; Total n-6 PUFA: 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:2 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6; Total n-3 PUFA: 18:3 n-3 + 20:3 n-3 + 20:4 n-3 + 20:5 n-3 + 22:3 n-3 + 22:4 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3; Total CLA: 9cis,11trans-CLA + 11cis,13trans-CLA + total cis,cis CLA + total trans,trans CLA; Total PUFA: n-6 PUFA + n-3 PUFA + CLA.

^a Abbreviations: FA, fatty acids; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; CLA, conjugated linolenic acid; N, number of samples in the calibration; T, number of terms used to perform the calibration model; SECV, standard error of cross-validation; R²CV, coefficient of determination of cross-validation; RPD, ratio of standard deviation of reference data to the SECV; NIR, near infrared (702–2500 nm); Vis, visible (402–700 nm); Math, mathematical treatment; None, without treatment of scatter correction; SNV, standard normal variate; MSC, multiplicative scatter correction.

4.2. NIRS calibrations of various muscles of Charolais bull

Taking into account the number of samples used in this experimentation and the experimental conditions, the models obtained for each

muscle are not ready to be used in practical conditions as yet. From a point of view of comparison of the calibration equations for each muscle, the models obtained were adequate. The comparison of the three muscle types showed that FAs from LT muscle were better predicted

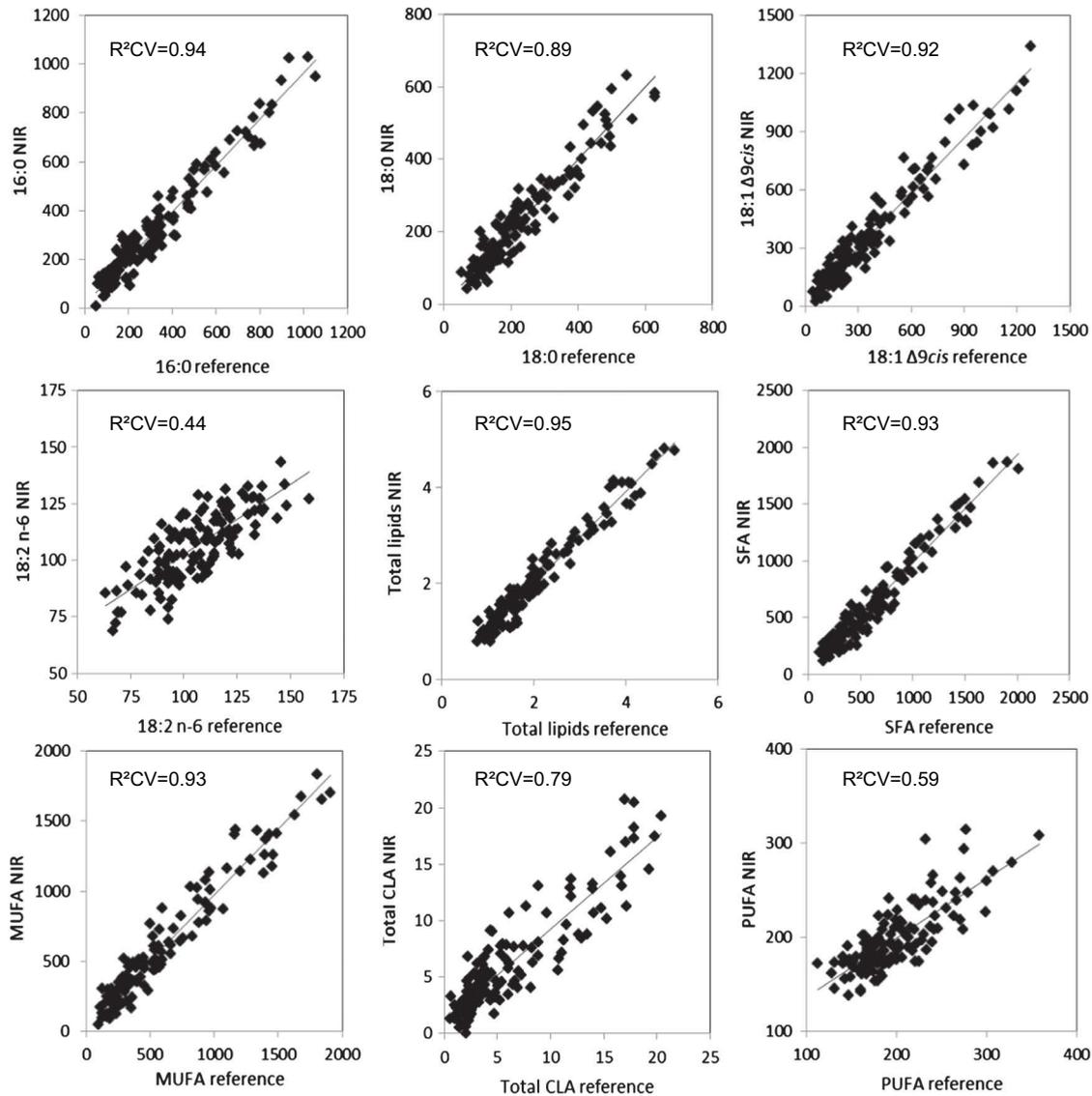


Fig. 2. Relationship between the reference values of total lipids (g/100 g of fresh muscle) and some fatty acids (mg/100 g of fresh muscle) and values predicted by NIR spectroscopy on ground beef samples from different breeds. The coefficient of determination for cross validation (R^2CV) was included for each constituent.

by NIRS than those from RA muscle while no FA models from ST muscle were obtained with an R^2CV higher than 0.7. Several hypotheses can be proposed to explain for these differences.

The first parameter to take into account is the FA content in muscles. The lower FA content of ST could explain for why FAs were not correctly detected. A minimum threshold of detection should have been exceeded for this methodology or material.

It is known that the success of the NIR technique partially depends on variability of reference data. When the compound content in the sample is below the threshold of detection, it would seem that a high level of variability could compensate for this fact. Hence, a narrow range of variability when the constituent content is low in the reference database could have negative effects on prediction quality (Prieto et al., 2009). This could explain for why the statistics for the prediction of FAs of ST were not conclusive. In the same way, RA muscle which had a similar FA content to LT muscle had lower FA variability. This could explain for the less efficient calibration results for RA muscle. However, regarding 14:1 $\Delta 9$, 9cis 11trans CLA and total CLAs (Tables 3 and 4), the CV and content obtained with RA muscle were higher or similar to those of LT muscle which led to a better level of calibration statistics.

Other parameters of matrix composition could play a role in NIRS absorbance and prediction. Indeed, the muscles used in this study

showed different metabolism activities (Hocquette et al., 2012): RA muscle has a slow oxidative metabolism property, ST muscle has a fast glycolytic metabolism property and the LT muscle is an intermediate between these two. No studies have been conducted to evaluate the metabolism activities of muscle by NIRS, however, the difference in calibration of FAs could be explained by the physical properties of muscles related to a specific metabolic activity.

One hypothesis to explain for the differences in prediction between muscles could be linked to meat L^* , b^* colour values which are correlated to intramuscular fat (Priolo, Micol, & Agabriel, 2001). Several studies have shown a significant difference in colour values (L^* , a^* , b^*) between LT and ST muscle, with the ST muscle being brighter than the LT muscle (Dannenberger, Nuernberg, Nuernberg, & Ender, 2006; Torrecano, Sánchez-Escalante, Giménez, Roncalés, & Beltrán, 2003). LT and RA muscles had the same luminosity (Goñi, Beriain, Indurain, & Insausti, 2007). Ozaki, McClure, and Christy (2006) indicated in their study that colour samples could modify the quality of spectra absorption. In this study, the authors compared two samples of white and red wheat seeds of the same size and chemical composition. The spectrum absorbance of the white wheat was better than that of the red wheat in the Vis-NIR range (400–1100 nm). However, in our experimental conditions, the ST muscle which was the brightest, did not lead to a good

Table 3
Descriptive statistics for total lipids and fatty acids (FAs) in bovine *Longissimus thoracis* (LT) muscle, *Rectus abdominis* (RA) muscle and *Semitendinosus* (ST) muscle samples of *Charolais* bulls (n = 67/muscle)^a.

Constituent	LT			RA			ST			Effect
	Mean (SD)	Range	CV (%)	Mean (SD)	Range	CV (%)	Mean (SD)	Range	CV (%)	P-value
Total lipids (g/100 g FM)	2.16 ^a (±0.93)	0.86–4.65	43.2	1.97 ^a (±0.68)	0.97–3.68	34.5	1.30 ^b (±0.38)	0.78–2.91	29.3	<0.001
Total FA (g/100 g FM)	1.55 ^a (±0.84)	0.47–4.13	54.2	1.39 ^a (±0.55)	0.58–3.21	39.4	0.79 ^b (±0.35)	0.32–2.31	44.6	<0.001
Individual FA (mg/100 g FM)										
14:0	37.40 ^a (±24.77)	5.47–122.0	66.2	34.07 ^a (±18.47)	4.7–86.82	54.2	13.94 ^b (±9.57)	2.69–55.6	68.6	<0.001
16:0	367.9 ^a (±218.8)	92.74–1056.3	59.5	328.0 ^a (±59.4)	64.43–813.2	48.6	162.4 ^b (±82.80)	52.18–505.7	51.0	<0.001
17:0	16.70 ^a (±7.02)	5.28–34.97	42.0	13.26 ^b (±4.89)	2.88–24.9	36.9	6.64 ^c (±3.43)	1.93–21.16	51.7	<0.01
18:0	262.2 ^a (±119.0)	87.4–594.5	45.4	207.4 ^b (±78.25)	69.85–442.3	37.7	103.9 ^c (±33.16)	47.71–190.4	31.9	<0.01
20:0	1.79 ^a (±1.08)	0.54–5.63	60.1	1.22 ^b (±0.46)	0.39–2.55	37.9	0.73 ^c (±0.36)	0.24–1.89	49.5	<0.01
iso15	2.26 ^a (±1.09)	0.49–5.64	48.2	1.92 ^a (±0.73)	0.5–3.67	38.2	0.95 ^b (±0.43)	0.4–2.28	45.9	<0.001
iso18	2.18 ^a (±1.08)	0.65–5.33	49.4	1.76 ^b (±0.65)	0.46–3.4	36.8	1.11 ^c (±0.47)	0.25–2.69	42.1	<0.1
14:1 Δ9cis	4.11 ^a (±3.09)	0.64–12.87	75.1	5.52 ^a (±4.13)	0.54–17.66	74.8	2.43 ^b (±1.7)	0.38–8.34	71.6	<0.01
16:1 Δ9cis	29.38 ^a (±21.27)	4.77–108.5	72.4	31.80 ^a (±19.09)	3.92–81.84	60.0	15.59 ^b (±11.13)	2.41–30.67	71.4	<0.001
17:1 Δ9cis	10.43 ^a (±3.53)	4.32–20.52	33.8	10.55 ^a (±3.25)	4.32–18.96	30.8	7.84 ^b (±2.54)	3.17–17.51	32.4	<0.001
18:1 Δ9cis	448.8 ^a (±301.0)	85.85–1379.3	67.1	387.3 ^a (±192.6)	80.41–921.9	49.7	204.3 ^b (±128.1)	44.13–820.1	62.7	<0.001
18:1 Δ11cis	26.69 ^a (±15.23)	7.51–69.75	57.1	24.62 ^a (±9.63)	8.94–49.84	39.1	15.97 ^b (±7.77)	5.43–49.93	48.7	<0.001
18:1 Δ13cis	2.44 ^a (±1.77)	0.35–7.59	72.5	2.63 ^a (±1.81)	0.26–8.23	68.9	1.45 ^b (±1.06)	0.21–5.4	73.4	<0.001
9cis,11tr-CLA	5.79 ^a (±3.97)	1.01–18.16	68.6	6.34 ^a (±4.18)	1.2–19.01	65.9	3.40 ^b (±2.75)	0.45–15.8	81.0	<0.001
Fatty acid families (mg/100 g FM)										
Total SFA	734.7 ^a (±408.4)	207.0–2014.1	55.6	612.8 ^a (±264.1)	150.0–1402.6	43.1	313.2 ^b (±151.8)	111.6–957.3	48.5	<0.001
Total MUFA	612.7 ^a (±402.2)	124.3–1838.0	65.6	535.6 ^a (±254.2)	113.1–1234.7	47.5	294.4 ^b (±182.7)	66.87–1087.1	62.0	<0.001
Total CLA	5.95 ^a (±4.33)	1.01–20.43	72.8	7.15 ^a (±5.12)	1.2–22.16	71.7	3.42 ^b (±2.93)	0.45–17.24	85.5	<0.001
Total PUFA	195.3 ^a (±36.39)	131.8–307.2	18.6	201.5 ^a (±30.23)	143.0–278.9	15.0	176.2 ^b (±30.21)	118.7–258.2	17.1	<0.01

^a Abbreviations: detailed in Table 1.

prediction, while the absorption quality of the spectra was supposed to be better. Thus, it would appear that muscle colour did not play a significant role in the FA NIRS prediction.

Another factor which can differ between beef muscles is the chemical composition. Proteins are an important part of the composition of beef. Ozaki et al. (2006) have shown that proteins were negatively correlated with intramuscular fat. Protein content was also different between beef muscles. However, there is no research data or studies showing a link between the protein (in quantity or quality) of different

muscles and the quality of absorption or the quality of calibration which could explain the difference in calibration of the FAs of these three muscles.

According to Cuvelier et al. (2005), there were differences in dry matter between the muscles of young bulls. According to these authors, LT is drier than ST which is drier than RA. In their studies, Bazar, Kover, Szendro, and Romvari (2008) and De Marchi et al. (2007) obtained more satisfactory results of prediction for chemical components on freeze-dried samples than on fresh samples, suggesting that moisture

Table 4
Statistical parameters of equations for NIR calibration of intramuscular fatty acids in ground bovine *Longissimus thoracis* (LT) muscle, *Rectus abdominis* (RA) muscle and *Semitendinosus* (ST) muscle samples of *Charolais* bulls (n = 67/muscle)^a.

Constituent	LT				RA				ST			
	N	SECV	R ² CV	RPD	N	SECV	R ² CV	RPD	N	SECV	R ² CV	RPD
Total lipids (g/100 g FM)	59	0.23	0.94	4.12	65	0.26	0.86	2.67	61	0.23	0.65	1.67
Total FA (g/100 g FM)	62	0.28	0.89	3.04	63	0.21	0.86	2.67	31	0.21	0.66	1.70
Individual FA (mg/100 g FM)												
14:0	62	10	0.84	2.48	63	7.60	0.84	2.43	59	5.69	0.65	1.68
16:0	62	69.33	0.9	3.16	65	61.41	0.86	2.60	60	48.97	0.66	1.69
17:0	60	3.33	0.78	2.11	65	2.97	0.64	1.65	61	2.51	0.48	1.37
18:0	60	49.20	0.83	2.42	66	43.51	0.70	1.80	59	28.35	0.27	1.17
20:0	57	0.60	0.70	1.83	58	0.38	0.35	1.23	52	0.34	0.14	1.08
iso15	57	0.60	0.70	1.82	64	0.54	0.48	1.36	46	0.33	0.44	1.32
iso18	58	0.5	0.79	2.15	62	0.40	0.63	1.64	56	0.42	0.21	1.11
14:1 Δ9cis	58	1.38	0.80	2.24	62	1.57	0.86	2.62	57	1.42	0.37	1.23
16:1 Δ9cis	61	8.44	0.85	2.52	61	7.17	0.86	2.66	59	5.81	0.73	1.91
17:1 Δ9cis	60	1.53	0.81	2.31	66	1.82	0.69	1.79	59	1.70	0.57	1.50
18:1 Δ9cis	63	102.5	0.89	2.94	64	76.85	0.85	2.51	59	75.78	0.66	1.69
18:1 Δ11cis	62	5.82	0.86	2.62	63	4.17	0.82	2.31	60	4.41	0.69	1.76
18:1 Δ13cis	61	0.73	0.83	2.42	63	0.83	0.80	2.19	58	0.70	0.59	1.53
9cis,11trans-CLA	58	2.11	0.72	1.88	62	2.08	0.76	2.01	60	2.16	0.39	1.28
Fatty acid families (mg/100 g FM)												
Total SFA	62	136.54	0.89	2.99	65	104.78	0.89	2.52	61	91.89	0.64	1.65
Total MUFA	62	134.6	0.89	2.99	64	101.0	0.85	2.52	60	100.2	0.71	1.82
Total CLA	57	2.35	0.71	1.84	65	2.77	0.72	1.85	59	2.01	0.54	1.45
Total PUFA	61	23.09	0.61	1.58	63	21.26	0.51	1.42	62	28.39	0.11	1.06

^a Abbreviations: detailed in Table 2

decreases the quality of prediction. This explanation could be valid for the best FA prediction for the LT muscle. However, according to Cuvelier et al. (2005) the RA muscle was not as dry as the ST muscle but NIRS prediction results were better for RA than ST. The results obtained could be explained by the larger variability of FA in the RA muscle compared to ST muscle. Thus, dry matter could have an effect on quality of calibration at an equivalent range of FAs (LT vs RA) but does not seem to override the effects of variability of FAs (RA vs ST).

It seems that lipid content with its variability was the most important parameter acting in the NIRS quality of FA calibration. For all that, it could be interesting to further investigate the effects of interactions of muscle-specific characteristics on the quality of calibrations.

The calibration model statistics for the RA muscle were not as good as those obtained for LT for most FAs. However, in terms of an industrial application of these results, when carcasses are not cut into pieces, the RA muscle is more accessible and cheaper than LT muscle. This could justify the choice of RA muscle for FA analysis on beef by NIRS. The results of the current study were obtained on ground samples which could actually limit industrial development directly after slaughtering, but they do presume progress will be made in relation to the prediction of FA by NIRS. When ground and intact samples were compared (Guy et al., 2011; Prieto et al., 2011) the NIRS FA predictions were better for ground samples as grinding increases sample homogeneity. However, in order to take advantage of NIRS properties, further studies on intact muscles would be required to try and avoid sample preparation.

5. Conclusion

The results of this study show the ability of NIRS to predict the FA profile of beef muscles using different breeds and diets. Compared to the current literature, the inclusion of several bovine breeds with different lipogenic metabolism improves the performance of calibration models for total and individual SFA and MUFA content probably by increasing the variability of the range. However PUFA and CLA prediction remains insufficient. A minimum threshold FA content would appear to be necessary in order to detect these FAs. The use of RA or ST muscles to build calibration models for FA is not a good strategy when the use of LT muscle is possible. However, more efforts should be made with regard to RA muscle in order to try and use this muscle for prediction of meat quality under industrial conditions. Further investigations are necessary to build models including several types of muscles in the same analysis in order to offer a global calibration for an industrial slaughterhouse application.

Conflict of interest

There are no known conflicts of interest associated with this publication.

Acknowledgements

This work was conducted within the framework of the European ProSafeBeef Program (Project N FOOD-CT-2006-36241) and the “NOUVEAUX DEFIS A RELEVER POUR UNE PRODUCTION DURABLE DE VIANDE BOVINE” Program. The authors express their thanks to the staff of the ‘Animal, Muscle, Viande’ team for their technical assistance, particularly Agnes Thomas and Vincent Largeau. We also thank Dr. Dominique Bauchart for his scientific advice.

References

Azizian, H., & Kramer, J. K. G. (2005). A rapid method for the quantification of fatty acids in fats and oils with emphasis on trans fatty acids using Fourier Transform near infrared spectroscopy (FT-NIR). *Lipids*, 40, 855–867.

Bauchart, D., Gladine, C., Gruffat, D., Leloutre, L., & Durand, D. (2005). Effects of diets supplemented with oil seeds and vitamin E on specific fatty acids of rectus abdominis muscle in charolais fattening bulls. *Indicators of milk and beef quality*, Vol. 112. (pp. 431–435). Wageningen Academic Publishers.

Bazar, G., Kover, G., Szendro, Z., & Romvari, R. (2008). NIR prediction for protein and intramuscular fat content of rabbit hind leg meat. *9th World Rabbit Congress* (pp. 1301–1306). Verona, Italy: World Rabbit Science Association.

Bertrand, D., & Dufour, E. (2006). *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques* (2nd ed.). Paris (France): Lavoisier, 660 (Ed&Toc).

Bureš, D., Bartoň, L., Zahradková, R., Teslík, V., & Krejčová, M. (2006). Chemical composition, sensory characteristics, and fatty acid profile of muscle from Aberdeen Angus, Charolais, Simmental, and Hereford bulls. *Czech Journal of Animal Science*, 51, 279–284.

Cecchinato, A., De Marchi, M., Penasa, M., Casellas, J., Schiavon, S., & Bittante, G. (2012). Genetic analysis of beef fatty acid composition predicted by near-infrared spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 90, 429–438.

Cuvelier, C., Dotreppe, O., Cabaraux, J. F., Dufour, E., Istasse, L., & Hornick, J. L. (2005). Influence of breed, diet and muscle on the fatty acid content in meat from young finished bulls. *Indicators of milk and beef quality*, Vol. 112. (pp. 409–418). Wageningen Academic Publishers.

Dannenberger, D., Nuernberg, K., Nuernberg, G., & Ender, K. (2006). Carcass- and meat quality of pasture vs concentrate fed German Simmental and German Holstein bulls. *Archiv für Tierzucht*, 49, 315–328.

De Marchi, M., Berzaghi, P., Boukha, A., Mirisola, M., & Gallo, L. (2007). Use of near infrared spectroscopy for assessment of beef quality traits. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 421–423.

De Marchi, M., Penasa, M., Cecchinato, A., & Bittante, G. (2013). The relevance of different near infrared technologies and sample treatments for predicting meat quality traits in commercial beef cuts. *Meat Science*, 93, 329–335.

Eugène, M., Martin, C., Mialon, M. M., Krauss, D., Renand, G., & Doreau, M. (2011). Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 330–337.

Fernández-Cabanás, V. M., Garrido-Varo, A., Olmo, J. G., & De Pedro, E., & Dardenne, P. (2007). Optimisation of the spectral pre-treatments used for Iberian pig fat NIR calibrations. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 87, 104–112.

Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.

Goñi, M. V., Beriain, M. J., Indurain, G., & Insausti, K. (2007). Predicting longissimus dorsi texture characteristics in beef based on early post-mortem colour measurements. *Meat Science*, 76, 38–45.

González-Martín, I., González-Pérez, C., Alvarez-García, N., & González-Cabrera, J. M. (2005). On-line determination of fatty acid composition in intramuscular fat of Iberian pork loin by NIRs with a remote reflectance fibre optic probe. *Meat Science*, 69, 243–248.

Gruffat, D., Cherfaoui, M., Bonnet, M., Thomas, A., Bauchart, D., & Durand, D. (2013). Breed and dietary linseed affect gene expression of enzymes and transcription factors involved in n-3 long chain polyunsaturated fatty acids synthesis in longissimus thoracis muscle of bulls. *Journal of Animal Science*, 91, 3059–3069.

Guy, F., Prache, S., Thomas, A., Bauchart, D., & Andueza, D. (2011). Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry*, 127, 1280–1286.

Hocquette, J. -F., Cassar-Malek, I., Jurie, C., Bauchart, D., Picard, B., & Renand, G. (2012). Relationships between muscle growth potential, intramuscular fat content and different indicators of muscle fibre types in young Charolais bulls. *Animal Science Journal*, 83, 750–758.

Morsy, N., & Sun, D. -W. (2013). Robust linear and non-linear models of NIR spectroscopy for detection and quantification of adulterants in fresh and frozen-thawed minced beef. *Meat Science*, 93, 292–302.

Ozaki, Y., McClure, W. F., & Christy, A. A. (2006). *Near-infrared spectroscopy in food science and technology*. Hoboken, USA: John Wiley & Sons Inc, 408 (Wiley).

Prieto, N., Andrés, S., Giráldez, F. J., Mantecón, A.R., & Lavín, P. (2006). Potential use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of chemical composition of oxen meat samples. *Meat Science*, 74, 487–496.

Prieto, N., Dugan, M. E. R., López-Campos, O., McAllister, T. A., Aalhus, J. L., & Uttaro, B. (2012). Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. *Meat Science*, 90, 43–51.

Prieto, N., López-Campos, O., Aalhus, J. L., Dugan, M. E. R., Juárez, M., & Uttaro, B. (2014). Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed. *Meat Science*, 98, 279–288.

Prieto, N., Ross, D. W., Navajas, E. A., Nute, G. R., Richardson, R. I., Hyslop, J. J., Simm, G., & Roehe, R. (2009). On-line application of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict chemical-physical and sensory characteristics of beef quality. *Meat Science*, 83, 96–103.

Prieto, N., Ross, D. W., Navajas, E. A., Richardson, R. I., Hyslop, J. J., Simm, G., & Roehe, R. (2011). Online prediction of fatty acid profiles in crossbred Limousin and Aberdeen Angus beef cattle using near infrared reflectance spectroscopy. *Animal*, 5, 155–165.

Priolo, A., Micol, D., & Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Animal Research*, 50, 185–200.

Purchas, R. W., & Zou, M. (2008). Composition and quality differences between the longissimus and infraspinatus muscles for several groups of pasture-finished cattle. *Meat Science*, 80, 697–702.

Ripoll, G., Alberti, P., Panea, B., Olleta, J. L., & Sañudo, C. (2008). Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental and sensory quality of beef. *Meat Science*, 80, 697–702.

Scislowski, V., Durand, D., Gruffat, D., & Bauchart, D. (2004). Dietary linoleic acid-induced hypercholesterolemia and accumulation of very light HDL in steers. *Lipids*, 39, 125–133.

Scollan, N. D., Choi, N. J., Kurt, E., Fisher, A. V., Enser, M., & Wood, J. D. (2001). Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, 85, 115–124.

- Sierra, V., Aldai, N., Castro, P., Osoro, K., Coto-Montes, A., & Oliván, M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Science*, 78, 248–255.
- Tøgersen, G., Arnesen, J. F., Nilsen, B. N., & Hildrum, K. I. (2003). On-line prediction of chemical composition of semi-frozen ground beef by non-invasive NIR spectroscopy. *Meat Science*, 63, 515–523.
- Torrescano, G., Sánchez-Escalante, A., Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2003). Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. *Meat Science*, 64, 85–91.
- Weeranantanaphan, J., Downey, G., Allen, P., & Sun, D. -W. (2011). A review of near infrared spectroscopy in muscle food analysis: 2005–2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 19, 61–104.
- Williams, P. C. (2001). Implementation of near-infrared technology. In P. C. Williams, & K. Norris (Eds.), *Near-infrared technology in the agricultural and food industries* (pp. 143) (2nd ed.). St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists.
- Zhou, L. J., Wu, H., Li, J. T., Wang, Z. Y., & Zhang, L. Y. (2012). Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*, 90, 658–664.

Publication n°3

New approach to improve the calibration of main fatty acids by near infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat

B.P. Mourot, D. Gruffat, D. Durand, G. Chesneau, S. Prache, G. Mairesse, D. Andueza

Animal Production Science (2014) 54, 1848-1852

Résumé : Cette étude vise à étudier des stratégies alternatives afin d'améliorer l'efficacité de la spectroscopie dans le proche infrarouge (SPIR) pour prédire la composition en acides gras polyinsaturés (AGPI) de la viande bovine, acides gras (AG) d'un grand intérêt nutritionnel et actuellement mal prédits par SPIR. Nous avons comparé les résultats obtenus par SPIR en utilisant deux bases de données pour prédire la teneur en AGPI de viande bovine. Une base de données était composée de 143 échantillons de muscle de bovin, et la deuxième base de données de ruminants était constituée des 143 échantillons de muscle de bovin de la première base auxquels étaient ajoutés 76 échantillons de viande d'agneau. Pour l'ensemble des AG, en particulier pour les AGPI, le coefficient de détermination de la validation croisée (R^2CV) et le ratio de performance de la déviation (RPD) des modèles de calibration sont plus élevés lorsqu'on utilise la base de données « ruminant » (bovin + agneau) par rapport à la base de données « bovin ». Les valeurs de R^2CV pour l'acide linoléique, le CLA total et les AGPI totaux sont passées de 0,44, 0,79 et 0,59 à 0,68, 0,9, 0,8, respectivement, et les valeurs du RPD pour ces AG sont passées de 1,33, 2,14, 1,54 à 1,76, 3,11 et 2,24, respectivement, sachant qu'une valeur de RPD supérieure à 2,5 indique que le modèle d'étalonnage est acceptable pour des fins analytiques. Ainsi, l'utilisation d'une équation universelle pour les viandes de ruminants afin de prédire leur composition en AG semble être une stratégie encourageante.

New approach to improve the calibration of main fatty acids by near-infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat

B. P. Mourot^{A,B}, D. Gruffat^{A,C}, D. Durand^A, G. Chesneau^B, S. Prache^A, G. Mairesse^B and D. Andueza^A

^ANational Institute for Agronomic Research (INRA), UMR 1213 Herbivores, Research Centre of Clermont-Ferrand/Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France.

^BValorex, La Messayais, 35210 Combourtille, France.

^CCorresponding author. Email: dominique.gruffat@clermont.inra.fr

Abstract. This study aims to investigate alternative near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) strategies for predicting beef polyunsaturated fatty acids (PUFA) composition, which have a great nutritional interest, and are actually poorly predicted by NIRS. We compared the results of NIRS models for predicting fatty acids (FA) of beef meat by using two databases: a beef database including 143 beef samples, and a ruminant database including 76 lamb and 143 beef samples. For all the FA, particularly for PUFA, the coefficient of determination of cross-validation (R^2CV) and the residual predictive deviation (RPD) of models increased when the ruminant muscle samples database was used instead of the beef muscle database. The R^2CV values for the linoleic acid, total conjugated linoleic acid and total PUFA increased from 0.44, 0.79 and 0.59 to 0.68, 0.9, 0.8, respectively, and RPD values for these FA increased from 1.33, 2.14, 1.54 to 1.76, 3.11 and 2.24, respectively. RPD above 2.5 indicates calibration model is considered as acceptable for analytical purposes. The use of a universal equation for ruminant meats to predict FA composition seems to be an encouraging strategy.

Additional keywords: beef quality, fatty acid calibration, NIR spectroscopy, standardisation.

Received 13 March 2014, accepted 18 June 2014, published online 19 August 2014

Introduction

Fatty acid composition of meat is a determinant of the nutritional quality of meat and meat products. Chemical determination of fatty acids (FA) is generally performed by gas-liquid chromatography (GLC). However, currently, industries need for quicker, cheaper and less chemical-intensive approach without trashing chemical methods. Near-infrared spectroscopy (NIRS) constitutes this alternative methodology, which is increasingly used in food industry for determination of various nutritional compounds of meat, such as FA composition. NIRS was efficient to determine total FA and their individual saturated (SFA) and monounsaturated (MUFA) FA in meat (Weeranantanaphan *et al.* 2011). For PUFA, despite their great nutritional interest, they are not determined with the same efficiency according to the species studied. For instance, in pork (Pérez-Marín *et al.* 2009), broiler breast (Zhou *et al.* 2012) or lamb meat (Guy *et al.* 2011), NIRS was used to determine efficiently the most important individual and total PUFA. In contrast, when PUFA are present in low amounts and low variability like in beef meat, these FA are poorly predicted (Sierra *et al.* 2008). The success of the NIRS technique relies partially on the variability present in the samples analysed (Prieto *et al.* 2009). Despite the efforts of research, the increment of PUFA concentration and their variability in beef is limited, because of the rumen

biohydrogenation of dietary PUFA (Scollan *et al.* 2001). We hypothesise that the use of a universal equation for ruminant meats could partially solve this problem.

The objective of this study was to evaluate the potential of NIRS to predict the PUFA composition of beef muscles using calibration models produced from meat samples of lamb + beef population and, to compare these results with those obtained using spectra data based on beef samples alone.

Materials and methods

Animals, diets and slaughter procedures

In this study, samples of beef and lamb muscles were used. The bovine muscle samples came from two different experiments gathering 143 bulls between 15 and 18 months old from different breeds (67 Charolais, 26 Angus, 25 Blond d'Aquitaine, 25 Limousin). The experimental design for these experiments was previously described (Eugène *et al.* 2011; Gruffat *et al.* 2013). The lamb muscle samples came from 76 Limousin male lambs. The experimental design for lambs was described by Guy *et al.* (2011). At the end of the experimental period, bulls and lambs were slaughtered in the experimental abattoir of INRA (Saint-Genès-Champanelle, France). The animals were handled by specialised staff to ensure their welfare in accordance with the guidelines for animal research of the French Ministry of

Agriculture, the applicable European guidelines and regulations for animal experimentation.

Samples (80–100 g) of the *Longissimus thoracis* (LT) muscle were collected at 24 h postmortem from the 10th thoracic rib of the ribbed carcass. Muscle samples were cut into small cubes (1 cm³), immediately frozen in liquid nitrogen and stored at –80°C. Just before analysis, the frozen samples of the LT muscle were ground into fine and homogeneous powders in liquid nitrogen with a mixer mill (Retch MM 301, Hann, Germany).

Measurements

Total lipids were extracted according to the method of Folch *et al.* (1957). Fatty acid extraction and transmethylation into FA methyl esters (FAME) and FAME analysis by GLC were performed according to Bauchart *et al.* (2005). Total FA were quantified using C19:0 as an internal standard. The identification of each individual FAME and the calculation of the response coefficients were performed using the quantitative mix C4-C24 FAME (Supelco, Bellefonte, PA, USA). FAME were expressed in mg of FA per sample weight on the base of the internal standard.

The reflectance spectrum of muscles in the visible and near-infrared wavelengths (400–2500 nm) was measured on ground samples. They were first thawed at room temperature for 1 h. Then, portions (~5 g) were scanned in duplicate using two different instruments NIRS 6500 scanning monochromator (NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) using ISI software,

version 3.01, from Infrasoft International (Infrasoft International, State College, PA, USA). Lambs samples were scanned in an instrument equipped with a spinning module, whereas beef samples were scanned in a second instrument of the same type equipped with an autocup module. Circular cups (diameter 50 mm, depth 10 mm). Reflectance data were recorded at 2-nm intervals and stored as log (1/reflectance).

Calibrations for total lipids, total FA and total and individual SFA, MUFA and PUFA were performed using WinISI III version 1.60 (Infrasoft International). Fatty acids were expressed in mg/100 g of fresh meat and total lipids and total FA were expressed in g/100 g of fresh meat. Before performing the calibration procedure for beef + lamb population, beef spectra were corrected to transfer them on the instrument used to scan lamb samples according to the algorithm proposed by Shenk and Westerhaus (1991). This standardisation procedure minimises the impact of using two different instruments for scanning samples. NIR calibration equations were obtained by testing different combinations of pre-treatments (three derivative treatments and seven scattering correction treatments) and using the infrared or the infrared + visible segments as described by Guy *et al.* (2011). Detection of outliers methods used was described by Guy *et al.* (2011).

The models were then tested using a cross-validation procedure in which a quarter of all samples, randomly chosen, were temporarily removed from the initial dataset to be used for validation. This procedure was repeated four times.

The best combination of wavelength range, scattering correction and mathematical pre-treatment was selected for

Table 1. Descriptive statistics for total lipids and fatty acids (FA) in *longissimus thoracis* muscle samples of the bovine database used ($n = 143$) and in *longissimus thoracis* muscle samples of the bovine and lamb database used ($n = 219$)

Total linear saturated FA (SFA): 12:0 up to 24:0; branched-chain SFA: iso (14 up to 18) + anteiso (15 + 17); total SFA: linear + branched-chain SFA; total cis monounsaturated FA (MUFA): 14:1 Δ 9cis + 15:1 Δ 9cis + 16:1 Δ 9cis + 17:1 Δ 8 and Δ 9cis + 18:1 Δ 6cis up to Δ 15cis + 20:1 Δ 9cis + 22:1 Δ 9cis; total trans MUFA: 16:1 Δ 9trans + 18:1 Δ 6trans up to Δ 16trans; total MUFA: cis + trans MUFA; total n-6 polyunsaturated FA (PUFA): 18:2n-6 + 18:3 n-6 + 20:2n-6 + 20:3n-6 + 20:4 n-6 + 22:2 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6; total n-3 PUFA: 18:3n-3 + 20:3n-3 + 20:4 n-3 + 20:5 n-3 + 22:3 n-3 + 22:4n-3 + 22:5n-3 + 22:6n-3; total conjugated linoleic acid (CLA): 9cis, 11trans-CLA + 11cis, 13trans-CLA + total cis,cis CLA + total trans,trans CLA; total PUFA: n-6 PUFA + n-3PUFA + CLA. FM, fresh muscle; s.d., standard deviation; CV, coefficient of variation

Constituent	Beef				Lamb and beef				Mean effect	s.d. effect
	Mean	s.d.	Range	CV (%)	Mean	s.d.	Range	CV (%)		
Total lipids (g/100 g FM)	2.12	1.13	0.78–6.06	53.47	2.81	1.65	0.78–8.95	58.95	<0.001	<0.001
Total FA (g/100 g FM)	1.42	0.90	0.36–4.13	63.24	2.08	1.56	0.36–8.78	74.95	<0.001	<0.001
FA (mg/100 g FM)										
16:0	322.89	231.89	50.64–1056.3	71.82	452.63	352.41	50.64–2134.8	77.86	<0.001	<0.001
18:0	232.81	136.38	41.26–631.1	58.58	310.10	204.27	41.26–1030.3	65.87	<0.001	<0.001
SFA	628.36	415.44	106.53–2014.1	66.12	928.98	704.88	106.53–4055.8	75.88	<0.001	<0.001
18:1 Δ 9 cis	396.44	305.75	41.72–1426.9	77.12	649.42	550.45	41.72–3069.5	84.76	<0.001	<0.001
MUFA	575.18	427.10	96.2–1909.7	74.25	881.86	724.27	96.2–4057.4	82.13	<0.001	<0.001
18:2 n-6	107.49	20.92	63.29–171.76	19.46	119.44	45.98	45.38–339.88	38.50	<0.001	<0.001
20:4 n-6	20.18	3.84	11.91–31.17	19.05	21.19	5.16	8.36–37.54	24.34	0.06	<0.002
PUFA n-6	156.53	33.54	89.04–274.96	21.42	172.73	63.53	67.45–455.32	36.78	<0.001	<0.001
18:3 n-3	20.37	8.21	6.31–46.38	40.28	25.81	14.13	6.31–81.83	54.72	<0.001	<0.001
20:5 n-3	3.92	1.26	1.5–6.61	32.13	5.34	3.13	1.5–17.69	58.60	<0.001	<0.001
22:5 n-3	8.97	2.06	4.84–13.86	22.91	10.27	3.46	4.65–19.82	33.73	<0.001	<0.001
PUFA n-3	34.28	10.35	13.69–65.45	30.20	43.30	20.63	13.69–118.51	47.65	<0.001	<0.001
Total CLA	6.20	5.10	0.51–20.43	82.17	14.40	17.64	0.51–90.58	122.53	<0.001	<0.001
Total PUFA	198.31	44.26	112.64–358.24	22.32	230.25	85.94	112.64–603.61	37.32	<0.001	<0.001

each constituent on the basis of the lowest standard error of cross-validation (SECV), the highest coefficient of determination for cross-validation (R^2CV) and the residual predictive deviation (RPD). The RPD statistic is defined as the ratio of standard deviation (s.d.) of reference data to the SECV (Williams and Sobering 1993). RPD values should be as high as possible. In muscle samples, for FA predictions, RPD values above 2.5 are considered adequate for analytical purposes (Sinnaeve *et al.* 1994).

Statistical analyses

To evaluate the differences of FA composition between databases, the data were subjected to a comparison of means using the bilateral Student's *t*-test, and a comparison of variances using the Bartlett's test. Functions `t.test` and `bartlett.test` of the R stats package (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) were used.

Results

Fatty acid composition measured using the GLC reference method

The mean values, standard deviations, ranges and coefficient of variation (CV) for the beef (B) database and lamb plus beef (LB) database are presented in Table 1. All FA means of both databases were significantly ($P < 0.001$) different, except for 20:4 n-6 ($P = 0.06$). Mean FA values of LB database were higher than that of B population.

All FA variances were also significantly ($P < 0.001$) higher for LB than for B. The CV was above 50% for total lipid, total

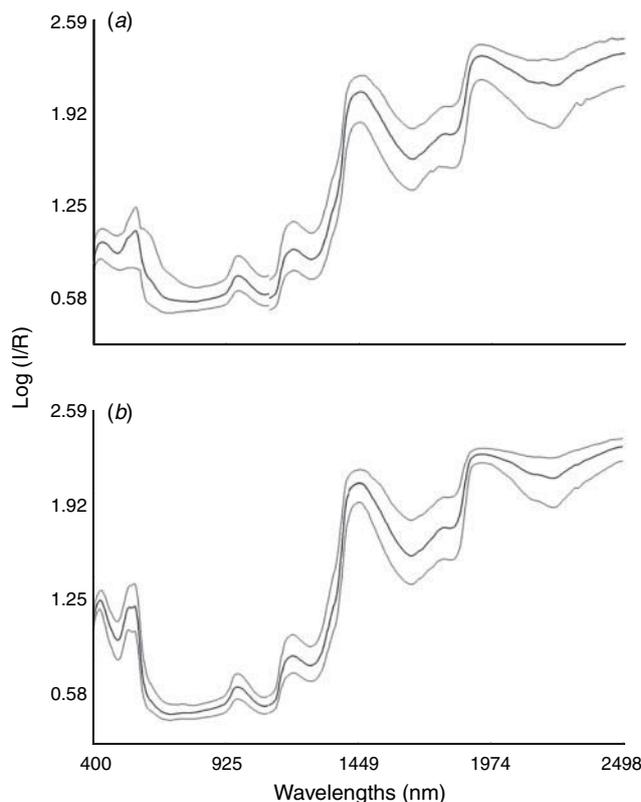


Fig. 1. Average near-infrared spectrum (bold line) and its maximum and minimum spread (normal lines) of the sample calibration set for (a) the lamb and beef group and (b) the beef group.

Table 2. Statistical parameters of equations for near-infrared calibration of intramuscular fatty acids (FA) in ground bovine *longissimus thoracis* muscle samples and in ground lamb and bovine *longissimus thoracis* muscle samples

SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; CLA, conjugated linolenic acid; SECV, standard error of cross-validation; R^2CV , coefficient of determination of cross-validation; RPD, ratio of standard deviation of reference data to the SECV; IR, infrared (702–2500 nm); Vis, visible (402–700 nm); none, without treatment of scatter correction; SNV, standard normal variate; D, detrend; MSC, multiplicative scatter correction

Constituent	Beef				Lamb and beef			
	Math treatment	SECV	R^2CV^A	RPD ^B	Math treatment	SECV	R^2CV	RPD
Total lipids (g/100 g FM)	(IR) MSC 0,0,1,1	0.25	0.95	4.60	(IR) MSC, 2,10,10,1	0.25	0.98	6.59
Total FA (g/100 g FM)	(Vis+IR) SNV 0,0,1,1	0.24	0.93	3.76	(IR) MSC, 2,10,10,1	0.28	0.97	5.63
FA (mg/100 g FM)								
16:0	(Vis+IR) SNV and D 1,4,4,1	59.01	0.94	3.93	(IR) SNV 2,10,10,1	77.16	0.95	4.57
18:0	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	46.09	0.89	2.96	(IR) MSC 2,10,10,1	65.95	0.90	3.10
SFA	(Vis+IR) Detrend 1,4,4,1	108.76	0.93	3.82	(IR) SNV and D 1,4,4,1	135.54	0.96	5.20
18:1Δ9 <i>cis</i>	(Vis+IR) MSC 0,0,1,1	86.61	0.92	3.53	(IR) SNV and D 1,4,4,1	103.89	0.97	5.30
MUFA	(IR) MSC 0,0,1,1	116.03	0.93	3.68	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	140.04	0.96	5.17
18:2 n-6	(IR) Detrend 1,4,4,1	15.68	0.44	1.33	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	26.13	0.68	1.76
20:4 n-6	(IR) MSC 0,0,1,1	3.84	0.01	1.00	(Vis+IR) SNV and D 0,0,1,1	4.57	0.22	1.13
PUFA n-6	(Vis+IR) Detrend 0,0,1,1	22.09	0.58	1.52	(Vis+IR) MSC 1,4,4,1	35.05	0.70	1.81
18:3 n-3	(Vis+IR) MSC 2,10,10,1	5.90	0.49	1.39	(Vis+IR) MSC 1,4,4,1	8.75	0.62	1.62
20:5 n-3	(IR) None 0,0,1,1	1.23	0.06	1.02	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	1.95	0.61	1.61
22:5 n-3	(Vis+IR) None 0,0,1,1	1.91	0.17	1.08	(Vis+IR) MSC 0,0,1,1	2.59	0.44	1.34
PUFA n-3	(Vis+IR) None 2,10,10,1	8.32	0.37	1.24	(Vis+IR) None 2,10,10,1	13.25	0.59	1.56
Total CLA	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	2.38	0.79	2.14	(Vis+IR) SNV 1,4,4,1	5.66	0.90	3.11
Total PUFA	(Vis+IR) Detrend 0,0,1,1	28.71	0.59	1.54	(Vis+IR) MSC 1,4,4,1	38.41	0.80	2.24

^A R^2CV desirable value >0.8.

^BRPD desirable value >2.5.

FA total conjugated linoleic acid (CLA) and total and individual SFA and MUFA in both databases. However, CV for total and individual PUFA was below 50% in both databases with the exception to 18:3 n-3 and 20:5 n-3 in LB.

Near-infrared reflectance spectroscopy models

Figure 1 represents the average spectrum of the sample calibration set obtained in reflectance ($\log 1/R$) and its maximum and minimum spread. The variation range in absorbance between the maximum and minimum spectra was more important on the LB group (Fig. 1a) than on the B population (Fig. 1b). The calibration statistics obtained for models built from the B and LB databases are given in Table 2. For all the constituents of the LB population, the R^2CV and RPD values were higher than those of the B group. This increase concerned as well the FA with the lowest statistics (20:4 n-6) where R^2CV increased from 0.01 to 0.22 than the constituents with the highest statistics (total lipids), where R^2CV values increased from 0.95 to 0.98. However, in the LB database, for PUFA, RPD values were lower than 2 with the exception of total CLA and total PUFA (3.11 and 2.24, respectively). In parallel, the SECV for all calibration models became also higher in LB than B database.

Discussion

The success of NIRS technique relies partially on the variability present in the population samples used (Prieto *et al.* 2009). In the present study, B group, contained muscle samples from several bovine breeds with different rates of maturity and receiving a broad range of diets. This experimental design allows higher dispersion values than that showed by other authors (Sierra *et al.* 2008; Cecchinato *et al.* 2012) who used only one or two breeds and homogeneous diets. Even if variability and calibration statistics for all FA of the B database were higher than that reported by other authors (Sierra *et al.* 2008; Cecchinato *et al.* 2012), PUFA remained poorly predicted compared with MUFA and SFA. When the B database was used, only FA with a CV above 50% showed R^2CV and RPD values higher than 0.8 and 2.5, respectively.

The integration of lamb samples obtained from stall and pasture diets (Guy *et al.* 2011) allowed increasing the CV for all the FA comparing to those of the B database. As a consequence, R^2CV and RPD values for all the FA were improved. This improvement allowed now to obtain calibration models with an RPD near to 5 for total lipids, total FA and total SFA and MUFA and the most important individual SFA and MUFA (Table 2). This improvement also allowed to obtain models for total CLA and total PUFA with R^2CV and RPD values higher (or near) than 0.8 and 2.5, respectively. According to Sinnaeve *et al.* (1994), these models can be used now for screening purposes.

For some FA as 18:3 n-3 and 20:5 n-3 better results could be expected according to their CV values, in the LB group. However, the increment of SECV limited the improvement of statistics values of calibration models. It could be possible to increase accuracy of calibration by reducing the SECV of

prediction models linked to the standardisation of the two databases.

Conclusions

The use of muscle samples from various ruminant species seems to be a good strategy to increase the quality of calibration models for predicting FA profile of meats. More effort should be done to decrease the standard error of models and to increase FA composition variability. In ruminant meat, possibilities to increase PUFA concentration are limited but it could be possible by diversifying breeds and diets. It is also plausible that limits of detection of NIRS were reached. In this case, complementary strategies should be explored, like the prediction of PUFA from SFA and MUFA.

References

- Bauchart D, Gladine C, Gruffat D, Leloutre L, Durand D (2005) Effects of diets supplemented with oil seeds and vitamin E on specific fatty acids of rectus abdominis muscle in charolais fattening bulls. In 'Indicators of milk and beef quality'. (Eds JF Hocquette, S Gigli) pp. 431–435. (Wageningen Academic Publishers: Wageningen: The Netherlands)
- Cecchinato A, De Marchi M, Penasa M, Casellas J, Schiavon S, Bittante G (2012) Genetic analysis of beef fatty acid composition predicted by near-infrared spectroscopy. *Journal of Animal Science* **90**, 429–438. doi:10.2527/jas.2011-4150
- Eugène M, Martin C, Mialon MM, Krauss D, Renand G, Doreau M (2011) Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. *Animal Feed Science and Technology* **166–167**, 330–337. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.023
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley G (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry* **226**, 497–509.
- Gruffat D, Cherfaoui M, Bonnet M, Thomas A, Bauchart D, Durand D (2013) Breed and dietary linseed affect gene expression of enzymes and transcription factors involved in n-3 long chain polyunsaturated fatty acids synthesis in *longissimus thoracis* muscle of bulls. *Journal of Animal Science* **91**, 3059–3069. doi:10.2527/jas.2012-6112
- Guy F, Prache S, Thomas A, Bauchart D, Andueza D (2011) Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry* **127**, 1280–1286. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.084
- Pérez-Marín D, De Pedro Sanz E, Guerrero-Ginel JE, Garrido-Varo A (2009) A feasibility study on the use of near-infrared spectroscopy for prediction of the fatty acid profile in live Iberian pigs and carcasses. *Meat Science* **83**, 627–633. doi:10.1016/j.meatsci.2009.07.012
- Prieto N, Roehle R, Lavín P, Batten G, Andrés S (2009) Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: a review. *Meat Science* **83**, 175–186. doi:10.1016/j.meatsci.2009.04.016
- Scollan ND, Choi NJ, Kurt E, Fisher AV, Enser M, Wood JD (2001) Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *The British Journal of Nutrition* **85**, 115–124. doi:10.1079/BJN2000223
- Shenk JS, Westerhaus MO (1991) New standardization and calibration procedures for NIRS analytical systems. *Crop Science* **31**, 1694–1696. doi:10.2135/cropsci1991.0011183X003100060064x
- Sierra V, Aldai N, Castro P, Osoro K, Coto-Montes A, Oliván M (2008) Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Science* **78**, 248–255. doi:10.1016/j.meatsci.2007.06.006

- Sinnaeve G, Dardenne P, Agneessens R, Biston R (1994) The use of near infrared spectroscopy for the analysis of fresh grass silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **2**, 79–84. doi:[10.1255/jnirs.34](https://doi.org/10.1255/jnirs.34)
- Weeranantanaphan J, Downey G, Allen P, Sun D-W (2011) A review of near infrared spectroscopy in muscle food analysis: 2005–2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **19**, 61–104. doi:[10.1255/jnirs.924](https://doi.org/10.1255/jnirs.924)
- Williams P, Sobering D (1993) Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **1**, 25–32. doi:[10.1255/jnirs.3](https://doi.org/10.1255/jnirs.3)
- Zhou LJ, Wu H, Li JT, Wang ZY, Zhang LY (2012) Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science* **90**, 658–664. doi:[10.1016/j.meatsci.2011.10.010](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.10.010)

Publication n°4

Prediction of polyunsaturated fatty acid proportions from saturated and monounsaturated fatty acids in beef

B.P. Mourot, D. Gruffat, D. Durand, G. Chesneau, G. Mairesse, A. Lebert

Soumis pour publication dans Meat Science

Résumé : L'objectif de cette étude est de prédire la composition en acide gras (AG) polyinsaturé (AGPI) de la viande bovine en utilisant les teneurs en AG saturés (AGS) et monoinsaturé (AGMI) et des données liées aux animaux disponibles en abattoir. Pour cela, 2 bases de données ont été utilisées pour élaborer les équations de calibration par régression linéaire multiple et une troisième base de données externe a été utilisée pour la validation de ces équations. Des équations de prédiction très satisfaisantes ont été obtenues ($R^2 > 0,9$) et validées ($R^2 > 0,8$) pour les AGPI totaux et les AGPI n-6. Pour les AGPI n-3, les équations de prédiction du 18:3 n-3, du 20:5 n-3 et des AGPI n-3 conduisent à un R^2 supérieur à 0,74, mais seuls les AGPI n-3 totaux ont pu être validés ($R^2 = 0,64$). Ces équations de prédiction des AGPI de la viande bovine pourront offrir aux industriels un outil complémentaire de la spectrométrie dans le proche infrarouge afin d'évaluer la qualité nutritionnelle des carcasses bovines et permettre leur classification.

Prediction of polyunsaturated fatty acid proportions from saturated and monounsaturated fatty acids in beef

B.P. Mourot^{a,b}, D. Gruffat^{a,*}, D. Durand^a, G. Chesneau^b, G. Mairesse^b, A. Lebert^c.

^a National Institute for Agronomic Research (INRA), UMR 1213 Herbivores, Research Centre of Clermont-Ferrand/Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France;

^b Valorex, La Messayais, 35210 Combourtille, France.

^c Institut Pascal, UMR6602 UBP/CNRS/IFMA, 24 Avenue des Landais, BP80026, 63171 Aubière, France

This study on fatty acids (FA) aims to predict the polyunsaturated fatty acid (PUFA) composition of beef using saturated fatty acid (SFA) and monounsaturated fatty acid (MUFA) contents together with livestock-related data from slaughterhouse records. Two databases were used to develop the multiple linear regression calibration equations and a third external database was used to validate the equations developed. Very satisfactory prediction equations were obtained ($R^2 > 0.9$) and validated ($R^2 > 0.8$) for total PUFA and n-6 PUFA. For n-3 PUFA, the 18:3n-3, 20:5n-3 and total n-3 PUFA prediction equations yielded R^2 values > 0.74 , but only the total n-3 PUFA equations were subsequently validated ($R^2 = 0.64$). We anticipate these prediction equations for PUFA content in beef to serve industry as a complementary tool alongside near-infrared spectrometry for assessing the nutritional quality of beef carcasses as a starting point for a beef carcass classification scheme.

Key words: Prediction, Multiple linear regression, Bovine, Muscle, Fatty acid

1. Introduction

There is a rising demand from healthcare professionals and consumers alike over the nutritional value of animal products, especially in terms of fatty acid (FA) composition. Against this background, it is vital for the meat industry to be able to quality-control this nutritional value factor as early in the production cycle as possible - ideally right from the slaughterhouse - in order to be able to differentiate carcasses into nutritional quality-based classes.

Today's benchmark methods for determining meat FA composition are reliant on slow, destructive and expensive lab-based analyses, typically lipid extraction and gas chromatography (GC). Several alternatives to GC have thus been developed to be readily

adaptable to industry needs. The two most popular alternatives to emerge so far are fluorescence spectroscopy (FS) (Wold, Kvaal, & Egelanddal, 1999) and near-infrared spectrometry (NIRS) (Weeranantanapha et al., 2011), but neither FS nor NIRS are able to determine meat FA composition as accurately as GC (Mourot et al., 2015; Wold et al., 1999), especially for minor FA of high nutritional value. On FS, the only relevant study published, by Ouanezar et al. (2012), reports that FS gave acceptable predictions of SFA and MUFA content but unsatisfactory predictions of PUFA content in beef, likely due to their narrow range of variance, whereas NIRS appears stronger for determining composition of FA family subsets such as total FA and SFA, MUFA and PUFA in pork (González-Martín et al., 2005), chicken (Zhou et al., 2012), rabbit (Pla et al., 2007) and lamb (Guy et al., 2011). However, refocusing on beef, NIRS is still unable to give anything like satisfactory determinations of PUFA content (Mourot et al., 2015; Prieto et al., 2014) despite their high nutritional value (Calder, 2012), likely due to their low in-matrix content and/or low variability (Mourot et al., 2015).

These limits to NIRS have prompted researchers to propose new strategies based on a more powerful analytical approach, but with little success. Another alternative strategy would be to introduce prediction equations for high-nutritional-value (but often low-compositional-content) FA based on the FA for which NIRS demonstrates satisfactory predictive power. Other predictors could even be drafted in to complete these equations, such as predictor variables easily retrievable from slaughterhouse records (breed, gender, age, and so on). The objective driving this research was thus to use prediction equations based on available data in order to determine the in-beef composition of dietary high-nutritional-value PUFA such as n-6 and n-3 PUFA, 18:2n-6 (linoleic acid), 20:4n-6 (arachidonic acid), 18:3n-3 (α -linolenic acid), 20:5n-3 (eicosapentaenoic acid; EPA) and 22:6n-6 (docosahexaenoic acid; DHA).

2. Material and Methods

2.1. Scope of the databases

The objective of this study is to introduce key PUFA prediction equations essentially fitting the scope of 1) European slaughterhouses, 2) the most representative ruminant livestock slaughtered for meat production today, 3) animals fed conventional rations or farmed to meet product quality label specs. We thus excluded several literature reviews such as reviews focused on veal calves (which are essentially monogastrics), bulls (which only account for a low fraction of slaughtered livestock), or *Bos indicus* species and *Bos indicus*-crossed animals. Note that cattle having received a fish oil-supplemented diet (used only for experimental purposes) were also removed from the study scope.

All analyses used were performed exclusively on muscle tissue, which means fat and organ meats were ruled out.

Furthermore, any analytical data that had not been obtained with the benchmark reference method, i.e. GC, has been excluded. We also added the further constraint that gas chromatographs had to be fitted with highly polar 100-m GC columns in order to guarantee

Table A : Summary of the composition of "ω3Meat", "INRA" and "Validation» databases

Databases	ω3Meat	INRA	Validation
Datas Types	bibliographic	individual	individual
Data Number	214	826	244
Breeds	Alentejana cross breed Angus pure & cross breed Asturiana de la Montana Asturiana de los Valles Blond d'Aquitaine Caracu Charolais Charolais x Holstein Criollo Argentino Czech Fleckviechh Friesian Hereford Holstein Holstein x Friesian Limousin Montbeliard Mertolenga Normand Podolian pure & cross breed Scottish highland Simmental Tudanca	Angus Blond d'Aquitaine Charolais Limousin Normand	Blond d'Aquitaine & cross breed Charolais Limousin Limousin x Prim'Holstein Normand Prim'Holstein
Types of animals	Cull cow Heifer Steer Yearling bull	Cull cow Heifer Steer Yearling bull	Cull cow Heifer Steer Yearling bull
Muscles	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Psoas major Semimembranosus Infraspinatus Par costalis Diaphragma Triceps brachii Splenius Tensor facia latae Gastrocmenius Intercostal	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Psoas major Semimembranosus Infraspinatus Par Costalis Diaphragma Triceps brachii Splenius Tensor facia latae Masseter Latissimus dorsi Fosse poplité	Gluteobiceps Longissimus thoracis Rectus abdominis Semitendinosus Infraspinatus

optimal separation of component PUFA (Kramer et al., 2002). Finally, papers presenting missing data were deleted from the analysis.

2.2. *Databases*

This study used three databases, referred to as “ ω 3Meat”, “INRA” and “Validation”. The composition of each database is summarized in Data Annex Table A. The “ ω 3Meat” and “INRA” databases served to develop and produce the PUFA prediction equations. The “ ω 3Meat” database, built from literature data, should serve to establish sufficiently robust equations offering a broad scope of application. The “INRA” database, compiling the FA compositions determined at our lab over the last 15 years, should serve to minimize method-related effects (same one lab running the same one analytical method) but cannot serve to test the robustness of the equations as its scope of application is too narrow. Co-use of these two databases should therefore make it possible to evaluate the impact of different focuses of study and measurement techniques on how the prediction equations perform.

The external database termed “Validation” was used to help validate the equations obtained.

2.2.1. “ ω 3Meat” database

The “ ω 3Meat” database was built to the conceptual data model structured by Vernet & Ortigues (2006) and is registered with the *Agence pour la Protection des Programmes* [French digital creation and work authorship protection agency] under key number IDDN.FR.001.370029.000.R.2011.000.10300. It is built of bibliographic data tied to the impact of cattle farming system parameters on beef FA composition. The 184 publications featured in this database were whittled down to a selected shortlist of just 38 publications counting 214 observations that met the pre-requisite requirements on eligible animals, diet and assay methods. The 214 observations span 28 cattle breeds (pure-line and crosses) and 13 muscles, predominantly (66%) *longissimus thoracis* (LT; see Table A). The animal groups and FA composition data in this database show high variability due to the many different international research teams included and the different procedural approaches they have used.

2.2.2 “INRA” database

The “INRA” database pools individual beef muscle FA composition data observations (n=825) obtained in our research lab over the last 15 years using the same benchmark reference method (lipid extraction procedure as per Folch et al., 1957; GC analysis of FA content as per Christie, 1989). The FA composition datasets concern 6 cattle breeds (Angus: 3.6%; Blonde d’Aquitaine: 12.5%; Charolais: 38.1%; Limousin: 3.6%; Normande: 33%; Holstein: 9.2%), 4 types of animal (heifers: 6.3%; steers: 2.9%; yearling bulls: 34.8%; cull cows: 56%) and 15 muscles, the most representative being LT muscle (38.8%) (see Table A).

Table 1: Modalities of qualitative variables

Sex	Breed		Type
	Production	Lipogenesis ^A	
Male	Milk	1	Steer
Female	Meat	2	Yearling bull
	Mixed	3	Heifer
		4	Cull cow

^Alipogenesis 1 = late ; 4=early (for example lipogenesis of a charolais bull will be classified as 1 and Angus bull as 4)

Table 2 : Description of quantitative explanatory variables (total lipid in g.100 g⁻¹ of fresh tissue and FA in% of total FA) of "ω3Meat" and "INRA" databases used for calibrations.

		« ω3Meat » (n=214)	« INRA » (n=825)	t	F
Total Lipids (TLp)	Mean (SD)	3.71 (2.72)	3.49 (2.48)	ns	ns
	Min - Max	0.81 – 14.9	0.78 – 16.67	-	-
16:0 (PA)	Mean (SD)	24.42 (2.8)	23.68 (3.09)	> 0.001	ns
	Min - Max	16.13 – 30.85	13.97 – 32	-	-
18:0 (StA)	Mean (SD)	15.67 (2.47)	14.85 (2.78)	> 0.001	0.04
	Min - Max	10.52 – 24.17	8.38 – 25.22	-	-
18:1 <i>cis</i> 9 (OL)	Mean (SD)	33.50 (5.45)	32.5 (5.88)	0.02	ns
	Min - Max	14.56 – 44.15	14.11 – 47.60	-	-
SFA (S)	Mean (SD)	45.05 (3.61)	44.14 (4.52)	0.002	> 0.001
	Min - Max	34.93 – 54.23	30.86 – 58.97	-	-
MUFA (MU)	Mean (SD)	42.53 (5.67)	43.59 (5.95)	0.02	ns
	Min - Max	24.69 – 54.32	22.41 – 59.8	-	-

t : Student's test ; F :Fisher's test; SD: standard deviation; Min: minimum; Max: maximum; ns: non-significant

2.2.3 “Validation” database

The validation database counts 244 data sourced from farms representative of the full span of French livestock farm systems (SpecMeat programme: 14th FUI [French single interministerial fund] call for R&D project proposals). The database serves to help validate the equations established through co-use of the previous two databases on data sourced from farms representative of the full span of French livestock farm systems to converge the broad range of animal factors (breed, livestock system, diet, and so on) in the “ω3Meat” database with the precision of the “INRA” database. This database compiles samples sourced from heifers (8.2%), yearling bulls (38.5%), steers (7.4%) and cull cows (45.9%) on 5 muscles (*infraspinatus*, *gluteobiceps*, LT, *rectus abdominis* and *semitendinosus*).

2.3. Explanatory variables of the calibration equations

The quantitative explanatory variables used to build the predictor models are: total SFA (S), 16:0 (PA), 18:0 (StA), total MUFA (MU), 18:1cis-9 (OL) and total lipids (TLp). These six variables were selected as variables for which NIRS demonstrates satisfactory predictive power (Prieto et al., 2014; Sierra et al., 2008). Furthermore, in beef, they account for over 85% of total FA in terms of FA family subsets (SFA, MUFA, LT) and over 70% in terms of individual FA fractions (16:0, 18:0, 18:1cis-9). On top of these six quantitative variables, we added just three qualitative variables, i.e. “Breed”, “Gender”, and “Type of animal”, in an effort to minimize data sectorization into too many subcategories. These variables were selected as i) they are readily retrievable from both slaughterhouse records and the databases and ii) they can explain a large percentage of sample-on-sample variability. Table 1 details the processing scheme governing each of these variables. However, even if all three qualitative variables were available, only one would be used in the prediction model.

2.4. Statistical analysis

All statistical analyses were performed using R 2.15.0 version software (R Development Core Team, 2012) and the ‘car’ package (Fox & Weisberg, 2011).

The first step was to remove all observations with one or more missing data. Unusual observations and outliers, revealed by running the method of moments on the distribution of each variable and graphing the distributions into histograms and box-and-whisker plots, were then removed. The data was then analyzed by multiple linear regression.

When selecting explanatory variables to be included in the model, we applied a parsimony principle whereby the number of explanatory variables in an equation was capped at 10% of the number of samples used for the calibration process so as to prevent over-adjustment (Hernández-Martínez et al., 2013).

The second step was to construct the prediction models for the various focal PUFA. The construction was done as a phase-wise process. The first phase was to create the simplest models possible using all the quantitative explanatory variables together with only one qualitative variable at a time.

Tableau 3 : Prediction equations of PUFA (in % of total FA) of "ω3Meat" and "INRA" databases

PUFA	Data bases	Type animal	Equations
Total PUFA	I	Ste	$96.395 - 0.021 \times OL - 0.959 \times S - 0.948 \times MU$
		He	$96.170 - 0.039 \times OL - 0.959 \times S - 0.935 \times MU$
		Ye	$96.002 + 0.047 \times OL - 0.959 \times S - 0.995 \times MU$
		CC	$95.48 + 0.038 \times OL - 0.959 \times S - 0.979 \times MU$
	ω	Ste	$201.514 + 0.028 \times PA + 0.015 \times StA + 1.664 \times OL - 20.095 \times \sqrt{OL} - 4.083 \times S + 0.039 \times S^2 - 0.54 \times MU + 0.724 \times Tlp - 4.387 \times \sqrt{Tlp}$
		He	$75.881 - 1.92 \times PA - 2.927 \times StA + 1.664 \times OL - 20.095 \times \sqrt{OL} + 3.687 \times S - 0.026 \times S^2 - 0.54 \times MU + 0.724 \times Tlp - 4.387 \times \sqrt{Tlp}$
		Ye	$163.622 - 0.705 \times PA - 0.573 \times StA + 1.664 \times OL - 20.095 \times \sqrt{OL} - 1.559 \times S + 0.016 \times S^2 - 0.54 \times MU + 0.724 \times Tlp - 4.387 \times \sqrt{Tlp}$
		CC	$103.51 - 0.672 \times PA - 0.357 \times StA + 1.664 \times OL - 20.095 \times \sqrt{OL} + 0.983 \times S - 0.013 \times S^2 - 0.54 \times MU + 0.724 \times Tlp - 4.387 \times \sqrt{Tlp}$
18:2 n-6	I	Ste	$43.145 + 0.186 \times OL - 1.782 \times \sqrt{OL} - 0.374 \times S - 0.404 \times MU + 0.002 \times Tlp^2 - 0.886 \times \log_{10} Tlp$
		He	$44.122 + 0.507 \times OL - 6.858 \times \sqrt{OL} - 0.117 \times S - 0.191 \times MU + 0.08 \times Tlp^2 - 2.583 \times \log_{10} Tlp$
		Ye	$89.279 + 1.557 \times OL - 1.531 \times \sqrt{OL} - 0.424 \times S - 0.726 \times MU - 0.039 \times Tlp^2 - 0.064 \times \log_{10} Tlp$
		CC	$42.954 + 0.243 \times OL - 2.049 \times \sqrt{OL} - 0.358 \times S - 0.43 \times MU + 0.001 \times Tlp^2 - 0.098 \times \log_{10} Tlp$
	ω	Ste	$-47.387 - 0.446 \times PA - 2.701 \times \sqrt{StA} + 2.195 \times OL - 25.612 \times \sqrt{OL} - 1.574 \times MU + 133.039 \times \log_{10} MU + 0.292 \times Tlp - 4.881 \times \log_{10} Tlp$
		He	$-38.003 - 0.34 \times PA - 6.147 \times \sqrt{StA} + 2.195 \times OL - 25.612 \times \sqrt{OL} - 1.557 \times MU + 133.039 \times \log_{10} MU + 0.292 \times Tlp - 4.881 \times \log_{10} Tlp$
		Ye	$-44.105 - 0.209 \times PA - 1.893 \times \sqrt{StA} + 2.195 \times OL - 25.612 \times \sqrt{OL} - 1.832 \times MU + 133.039 \times \log_{10} MU + 0.292 \times Tlp - 4.881 \times \log_{10} Tlp$
		CC	$-60.29 - 0.283 \times PA - 1.538 \times \sqrt{StA} + 2.195 \times OL - 25.612 \times \sqrt{OL} - 1.491 \times MU + 133.039 \times \log_{10} MU + 0.292 \times Tlp - 4.881 \times \log_{10} Tlp$
20:4 n-6	I	Ste	$10.938 - 0.304 \times PA + 3.031 \times \sqrt{PA} + 0.028 \times OL - 0.185 \times S - 0.194 \times MU + 0.168 \times Tlp - 0.942 \times \sqrt{Tlp}$
		He	$8.481 - 0.199 \times PA + 3.031 \times \sqrt{PA} + 0.062 \times OL - 0.185 \times S - 0.218 \times MU + 0.149 \times Tlp - 0.942 \times \sqrt{Tlp}$
		Ye	$10.095 - 0.282 \times PA + 3.031 \times \sqrt{PA} + 0.127 \times OL - 0.185 \times S - 0.276 \times MU + 0.281 \times Tlp - 0.942 \times \sqrt{Tlp}$
		CC	$10.115 - 0.277 \times PA + 3.031 \times \sqrt{PA} + 0.064 \times OL - 0.185 \times S - 0.215 \times MU + 0.159 \times Tlp - 0.942 \times \sqrt{Tlp}$
	ω	Ste	$111.302 + 1.608 \times PA - 92.756 \times \log_{10} PA - 0.058 \times StA + 0.15 \times OL - 1.271 \times S + 0.013 \times S^2 - 0.502 \times MU + 4.194 \times \sqrt{MU} + 0.177 \times Tlp - 3.103 \times \log_{10} Tlp$
		He	$27.43 + 1.913 \times PA - 118.002 \times \log_{10} PA - 0.665 \times StA - 0.067 \times OL + 4.054 \times S - 0.042 \times S^2 - 0.502 \times MU + 4.194 \times \sqrt{MU} + 0.083 \times Tlp - 1.615 \times \log_{10} Tlp$
		Ye	$0.303 - 1.051 \times PA + 52.642 \times \log_{10} PA - 0.159 \times StA + 0.085 \times OL - 2.246 \times S + 0.024 \times S^2 - 0.502 \times MU + 4.194 \times \sqrt{MU} - 0.539 \times Tlp + 1.99 \times \log_{10} Tlp$
		CC	$90.836 + 1.682 \times PA - 85.418 \times \log_{10} PA + 0.195 \times StA + 0.009 \times OL - 0.545 \times S + 0.002 \times S^2 - 0.502 \times MU + 4.194 \times \sqrt{MU} - 0.03 \times Tlp + 0.43 \times \log_{10} Tlp$

$$Y = f(TLp, PA, StA, OL, S, MU, Gender \text{ or } Type \text{ or } Breed) \quad (1)$$

The second phase, to improve the model-set (1), was to study the graph of the partial residual plot (the “crPlots” function in R) in order to determine whether or not it was necessary to transform one or more explanatory variables (square, log, inverse or other transformations) to linearize the relationship between the response variable and the explanatory variables. We reiterated this transformation of explanatory variables operation for each response variable, using different transformations where necessary. This process culminated in equations of type:

$$Y = f(TLp, TLp^2, \sqrt{TLp}, \log_{10} TLp, PA, PA^2, \sqrt{PA}, \log_{10} PA, \dots, Gender \text{ or } Type \text{ or } Breed) \quad (2)$$

The third phase, to retain only those variables that bring substantively significant information to the model, was to run a stepwise forward-selection regression up from model (2).

The fourth phase, run on this simplified model, considered the interactions between the selected quantitative explanatory variables plus their transformations and the selected qualitative variable in order to account for the effect of these interactions on dependent variable Y. Only interactions that bring substantively significant information to the model were retained.

$$Y = TLp^2 \times Type, \sqrt{PA} \times Type, OL^2 \times Type \quad (3)$$

The linear regression methods used are very sensitive to unusual observations. Working from the equations obtained, we ran a residual analysis to detect the unusual values that might be influencing the regression results. Unusual values were pinpointed then eliminated based on the various statistical tests routinely used for this purpose.

(i) studentized residuals, expressed by the formula:

$$t_i^* = \frac{\hat{\varepsilon}_i}{\hat{\sigma}_{(-i)} \sqrt{1 - h_{ii}}}$$

where $\hat{\sigma}_{(-i)}$ is the residual estimate as obtained without observation i and h_{ii} is the value of the leverage factor (defined further down). An observation is considered an outlier when it has a studentized residual that lies outside the ± 2 standard-deviation units range in 95% of cases.

(ii) “leverage points” statistics. The leverage of observation i (notated h_{ii}) is the value read on the diagonal term of the hat matrix $H = X(X^T X)^{-1} X^T$. An observation with a leverage higher than $\frac{2(p+1)}{n}$, where p is number of fitted parameters in the regression model, and n is number of observations, can be considered an outlier. A large value of h_{ii} indicates that the i -th observation is distant from the centre of the input space.

(iii) Cook’s distance compares the predictions obtained with and without the i -th observation. The formula to calculate Cook’s distance is:

Tableau 3 : next part

PUFA n-6	I	Ste	$100.476 + 0.74 \times PA + 0.659 \times StA + 0.738 \times OL - 10.194 \times \sqrt{OL} - 1.293 \times S - 0.666 \times MU + 0.006 \times TLp$
		He	$50.724 + 0.309 \times PA - 0.017 \times StA - 0.486 \times OL + 4.078 \times \sqrt{OL} - 0.656 \times S - 0.595 \times MU - 0.384 \times TLp$
		Ye	$105.136 - 0.113 \times PA - 0.162 \times StA + 1.244 \times OL - 11.842 \times \sqrt{OL} - 0.544 \times S - 0.885 \times MU - 0.224 \times TLp$
		CC	$47.726 + 0.159 \times PA + 0.189 \times StA - 0.516 \times OL + 5.937 \times \sqrt{OL} - 0.798 \times S - 0.64 \times MU - 0.038 \times TLp$
n-6	ω	Ste	$496.903 - 2.635 \times PA + 21.517 \times \sqrt{PA} - 0.394 \times StA + 2.022 \times OL - 0.026 \times OL^2 + 15.771 \times S - 214.264 \times \sqrt{S} - 4.378 \times MU + 53.5 \times \sqrt{MU} - 2.564 \times \log_{10} TLp$
		He	$-939.178 - 2.635 \times PA + 34.765 \times \sqrt{PA} - 0.394 \times StA - 4.93 \times OL + 0.061 \times OL^2 - 18.172 \times S + 234.774 \times \sqrt{S} - 3.842 \times MU + 53.5 \times \sqrt{MU} - 2.564 \times \log_{10} TLp$
		Ye	$91.277 - 2.635 \times PA + 23.251 \times \sqrt{PA} - 0.394 \times StA - 2.164 \times OL + 0.024 \times OL^2 + 4.822 \times S - 67.703 \times \sqrt{S} - 4.774 \times MU + 53.5 \times \sqrt{MU} - 2.564 \times \log_{10} TLp$
		CC	$135.031 - 2.635 \times PA + 23.039 \times \sqrt{PA} - 0.394 \times StA - 2.966 \times OL + 0.039 \times OL^2 + 6.123 \times S - 83.617 \times \sqrt{S} - 4.193 \times MU + 53.5 \times \sqrt{MU} - 2.564 \times \log_{10} TLp$
18:3 n-3	I	Ste	$-37.834 - 1.206 \times PA + 12.638 \times \sqrt{PA} + 0.153 \times StA + 0.455 \times OL - 6.199 \times \sqrt{OL} - 0.198 \times S - 0.773 \times MU + 10.056 \times \sqrt{MU} - 0.079 \times TLp + 0.46 \times \sqrt{TLp}$
		He	$81.322 + 2.884 \times PA - 32.185 \times \sqrt{PA} - 0.291 \times StA + 0.612 \times OL - 5.917 \times \sqrt{OL} + 0.168 \times S - 0.773 \times MU + 7.858 \times \sqrt{MU} - 0.079 \times TLp + 0.46 \times \sqrt{TLp}$
		Ye	$-3.718 + 0.794 \times PA - 6.311 \times \sqrt{PA} + 0.163 \times StA + 0.082 \times OL - 1.612 \times \sqrt{OL} - 0.227 \times S - 0.773 \times MU + 9.711 \times \sqrt{MU} - 0.079 \times TLp + 0.46 \times \sqrt{TLp}$
		CC	$2.169 + 0.025 \times PA - 0.851 \times \sqrt{PA} - 0.018 \times StA + 0.706 \times OL - 8.9566 \times \sqrt{OL} - 0.04 \times S - 0.773 \times MU + 9.964 \times \sqrt{MU} - 0.079 \times TLp + 0.46 \times \sqrt{TLp}$
n-3	ω	Ste	$-51.481 + 1.46 \times PA - 14.988 \times \sqrt{PA} - 0.069 \times StA - 0.044 \times OL - 0.668 \times S + 74.536 \times \log_{10} S$
		He	$649.547 + 1.46 \times PA - 14.988 \times \sqrt{PA} + 0.136 \times StA - 0.044 \times OL + 4.804 \times S - 500.39 \times \log_{10} S$
		Ye	$-8.933 + 1.46 \times PA - 14.988 \times \sqrt{PA} + 0.079 \times StA - 0.044 \times OL - 0.499 \times S + 42.783 \times \log_{10} S$
		CC	$-21.332 + 1.46 \times PA - 14.988 \times \sqrt{PA} + 0.097 \times StA - 0.044 \times OL - 0.594 \times S + 52.935 \times \log_{10} S$
20:5 n-3	I	Ste	$3.435 - 0.021 \times StA - 0.0001 \times StA^2 + 0.279 \times OL - 3.136 \times \sqrt{OL} - 0.049 \times S - 0.33 \times MU + 3.741 \times \sqrt{MU} + 0.092 \times TLp - 0.534 \times \sqrt{TLp}$
		He	$-19.756 - 0.139 \times StA + 0.006 \times StA^2 + 0.491 \times OL - 5.677 \times \sqrt{OL} - 0.049 \times S - 0.924 \times MU + 12.155 \times \sqrt{MU} + 0.119 \times TLp - 0.534 \times \sqrt{TLp}$
		Ye	$-3.708 - 0.126 \times StA + 0.003 \times StA^2 - 0.286 \times OL + 3.22 \times \sqrt{OL} - 0.049 \times S - 0.071 \times MU + 0.245 \times \sqrt{MU} + 0.178 \times TLp - 0.534 \times \sqrt{TLp}$
		CC	$6.903 - 0.016 \times StA + 0.0003 \times StA^2 - 0.269 \times OL + 3.405 \times \sqrt{OL} - 0.049 \times S + 0.177 \times MU - 3.3 \times \sqrt{MU} + 0.096 \times TLp - 0.534 \times \sqrt{TLp}$
n-3	ω	Ste	$0.543 - 0.023 \times PA - 0.024 \times StA + 0.029 \times S - 0.011 \times MU - 0.119 \times \sqrt{TLp}$
		He	$2.732 - 0.092 \times PA - 0.095 \times StA + 0.068 \times S - 0.037 \times MU - 0.111 \times \sqrt{TLp}$
		Ye	$1.319 - 0.055 \times PA - 0.053 \times StA + 0.034 \times S - 0.003 \times MU - 0.229 \times \sqrt{TLp}$
		CC	$7.063 + 0.026 \times PA + 0.09 \times StA - 0.084 \times S - 0.08 \times MU - 0.004 \times \sqrt{TLp}$

$$C_i = \frac{\sum_{j=1}^n (\hat{y}_j - \hat{y}_j^{(-i)})^2}{\hat{\sigma}^2(p+1)}$$

where $\hat{y}_j^{(-i)}$ is the prediction for point x_j obtained using the refitted model in which the i -th observation has been omitted. Despite consensus that points with a Cook's distance greater than 1 can be considered an outlier (Cook & Weisberg, 1982), the cut-off used here was $C_i > 4/n$ (Bollen & Jackman, 1990).

(iv) Welsch distance or DFFITS. This test helps measure the influence of observation i on estimate \hat{y}_i and thus assert that the observation might be influencing the regression results.

$$Dffits = \frac{\hat{y}_i - \hat{y}_i^{(-i)}}{\hat{\sigma}_{(-i)} \sqrt{h_{ii}}}$$

In practice, an observation can prove influential once: $|Dffits| > 2 \sqrt{\frac{p+1}{n}}$.

We then took each case observation these tests had singled out as “unusual” and ran a closer analysis to determine whether there was any objective reason to respecify them or remove them from the database (data input error, unique and unusual experimental treatment, and so on). If one or more observations were deleted from the database through this analysis, then the model construction process was reiterated starting from phase one until the observations kept in stabilized. The model thus obtained was the final prediction model ultimately selected.

The model was validated by applying the obtained equation coefficients to the dataset of the external “Validation” database by comparing predicted values (the model outputs) against the experimentally-measured values.

The procedure for selecting the best-fit model was thus based on the following criteria: adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}), residual standard error (RSE), minimum number of explanatory variables, and coefficient of determination (R^2) in external validation.

Furthermore, to validate the trueness of the prediction output, we determined the deviations between predictions and experimental values. Relative error evaluation was used to characterize these deviations. This parameter is the percentage ratio “prediction residuals” to “reference value”.

3. Results & Discussion

3.1. Quantitative explanatory variables of the “INRA” and “ ω 3Meat” databases

Table 2 reports the key characteristics of explanatory variables in the “INRA” and “ ω 3Meat” databases that served to develop and produce the prediction equations. Total lipids contents were very close between the two databases, but precise meat FA composition - although very close (less than 1.1% difference) - was nevertheless often significantly different between databases ($P < 0.05$). This can be explained by a difference in types of animals and

Tableau 3 : end

22:6 n-3	I	Ste	$3.038 + 0.043 \times PA - 0.001 \times PA^2 - 0.008 \times StA + 0.01 \times OL + 0.068 \times S - 0.912 \times \sqrt{S} - 0.01 \times MU + 0.044 \times TLp - 0.193 \times \sqrt{TLp}$
		He	$-2.747 + 0.595 \times PA - 0.013 \times PA^2 - 0.008 \times StA - 0.001 \times OL + 0.068 \times S - 0.912 \times \sqrt{S} - 0.01 \times MU + 0.044 \times TLp - 0.136 \times \sqrt{TLp}$
		Ye	$2.725 + 0.088 \times PA - 0.002 \times PA^2 - 0.008 \times StA + 0.006 \times OL + 0.068 \times S - 0.912 \times \sqrt{S} - 0.01 \times MU + 0.044 \times TLp - 0.183 \times \sqrt{TLp}$
		CC	$4.468 - 0.04 \times PA + 0.001 \times PA^2 - 0.008 \times StA + 0.003 \times OL + 0.068 \times S - 0.912 \times \sqrt{S} - 0.01 \times MU + 0.044 \times TLp - 0.218 \times \sqrt{TLp}$
ω	ω	Ste	$-0.225 + 0.011 \times PA + 0.024 \times StA + 0.005 \times OL - 0.014 \times S + 0.004 \times MU - 0.044 \times TLp + 0.178 \times \log_{10} TLp$
		He	$-0.504 + 0.011 \times PA + 0.041 \times StA + 0.005 \times OL - 0.014 \times S + 0.003 \times MU - 0.014 \times TLp + 0.14 \times \log_{10} TLp$
		Ye	$-0.103 + 0.011 \times PA + 0.021 \times StA + 0.005 \times OL - 0.014 \times S + 0.0001 \times MU + 0.1 \times TLp - 0.602 \times \log_{10} TLp$
		CC	$1.089 + 0.011 \times PA - 0.002 \times StA + 0.005 \times OL - 0.014 \times S - 0.018 \times MU + 0.29 \times TLp - 0.225 \times \log_{10} TLp$
PUFA n-3	I	Ste	$-17.433 + 0.243 \times PA + 0.253 \times StA - 0.631 \times \sqrt{OL} - 0.485 \times S - 5.969 \times 10^{-5} \times S^2 - 1.158 \times MU + 13.105 \times \sqrt{MU}$
		He	$14.787 - 0.4 \times PA - 0.251 \times StA + 1.038 \times \sqrt{OL} - 1.139 \times S + 0.016 \times S^2 - 1.158 \times MU + 11.25 \times \sqrt{MU}$
		Ye	$-9.066 + 0.95 \times PA + 0.109 \times StA + 0.074 \times \sqrt{OL} - 0.862 \times S + 0.006 \times S^2 - 1.158 \times MU + 12.72 \times \sqrt{MU}$
		CC	$-0.821 - 0.133 \times PA - 0.15 \times StA + 0.803 \times \sqrt{OL} - 0.727 \times S - 0.004 \times S^2 - 1.158 \times MU + 10.747 \times \sqrt{MU}$
ω	ω	Ste	$-39.79 + 3.234 \times PA - 30.829 \times \sqrt{PA} - 1.168 \times OL + 12.464 \times \sqrt{OL} - 2.236 \times S + 28.087 \times \sqrt{S} - 0.351 \times MU + 0.004 \times MU^2$
		He	$-23.945 + 3.234 \times PA - 33.771 \times \sqrt{PA} - 1.168 \times OL + 12.464 \times \sqrt{OL} - 2.236 \times S + 28.937 \times \sqrt{S} - 0.704 \times MU + 0.009 \times MU^2$
		Ye	$0.293 + 3.234 \times PA - 33.565 \times \sqrt{PA} - 1.168 \times OL + 12.464 \times \sqrt{OL} - 2.236 \times S + 28.452 \times \sqrt{S} - 1.748 \times MU + 0.021 \times MU^2$
		CC	$5.321 + 3.234 \times PA - 32.604 \sqrt{PA} - 1.168 \times OL + 12.464 \times \sqrt{OL} - 2.236 \times S + 24.692 \times \sqrt{S} - 0.483 \times MU + 0.001 \times MU^2$

I : “INRA” database ; ω : “ ω 3Meat” database; Ste: steer; He: heifer; Ye: yearling bull; CC: cull cow; PA : C16:0; StA: C18:0; OL: C18:1 *cis*9; S: saturated fatty acid; MU: monounsaturated fatty acid; TLp: Total lipids; PUFA: polyunsaturated fatty acid.

experimental treatments between the two databases. This only slight difference between databases means there is good potential to extend the domain of validity of the equations.

3.2. *Prediction equations*

Table 3 reports the prediction equations for the various focal PUFA obtained by multiple linear regression according to database used (“ ω 3Meat” vs. “INRA”). These equations are expressed in % of total FA, which is the unit that yielded the best predictive performances. The qualitative variable that systematically gives the best result for all the equations is the “type of animal” variable (steer; heifer; yearling bull; cull cow). This is almost certainly due to the fact that it either directly or indirectly factors in all the other qualitative variables (cows and heifers = females; steers and yearling bulls = beef cattle, and so on). Furthermore, this same variable enables an average 1-point increase in R^2 for the “INRA” database and an average 3.3-point increase in R^2 for the “ ω 3Meat” database.

A residual analysis was performed on each model with, as test parameters, studentized residuals, Cook’s distance, DFFITS and leverage points (data not shown). Generally speaking, just under 10% (“ ω 3Meat” database) and 7% (“INRA” database) of case points were singled out as unusuals. Although these points were statistically unusual, we found no objective scientific reason to delete them, but certain unusual points were so far over the detection cut-offs (studentized residuals > 4 , DFFITS value or leverage score > 10 times the cut-off) that we removed them from the databases. The data points thus removed amounted to no more than 3.6% of the “ ω 3Meat” database and 1.2% of the “INRA” database.

3.2.1. *Comparison between databases*

For the prediction of total PUFA and n-6 PUFA, the “INRA”-database equations featured fewer explanatory variables than the “ ω 3Meat”-database equations (≈ 6 variables vs 9) whereas for the prediction of n-3 PUFA, the pattern was reversed (≈ 9 variables vs 7). An equation that can give identical predictive performance with fewer predictor variables makes the best choice as it carries less overall uncertainty, since each coefficient associated to each of the variables is built with a 5% uncertainty, which means a lower number of coefficients will translate into lower prediction error.

The predictive performances of the equations satisfying our specified selection criteria (adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}), residual standard error (RSE), minimum number of explanatory variables) are reported in Table 4. Much of the literature (Peres et al., 2010; Coppa et al., 2013) only works to the coefficient of determination (R^2).

Here, regardless of PUFA subset studied, “INRA” database equations always give a better R^2_{adj} than “ ω 3Meat”-database equations, and regardless of database studied, prediction equations obtained for total PUFA and n-6 PUFA always have an R^2_{adj} higher than 0.9 (Table 4). However, for n-3 PUFA, all predictions from the “ ω 3Meat” database are lower than 0.61. Complexifying the “INRA” database-built prediction models for these variables (excluding 22:6n-3) led to regressions with coefficients of determination higher than 0.74. Coppa et al. (2013) considered model fits as good when the coefficient of determination was higher than

Table 4 Results of calibration equations of "INRA" and "ω3Meat" databases

	INRA database				ω3Meat database			
	n	adjust R ²	RSE	NEV	n	adjust R ²	RSE	NEV
Total PUFA	822	0.998	0.301	3	209	0.964	1.165	9
18:2 n-6	821	0.98	0.624	6	208	0.902	1.136	8
20:4 n-6	820	0.902	0.355	7	194	0.891	0.349	10
PUFA n-6	820	0.988	0.647	7	177	0.933	1.357	10
18:3 n-3	819	0.819	0.306	10	208	0.55	0.474	6
20:5 n-3	804	0.741	0.143	9	183	0.597	0.114	5
22:6 n-3	342	0.42	0.043	9	141	0.354	0.052	7
PUFA n-3	819	0.872	0.505	7	179	0.613	0.965	8

PUFA: polyunsaturated fatty acid; n: number of data used; R²: coefficient of determination; RSE: residual standard errors; NEV: number of explanatory variables

Table 5 : Results of the external validation of prediction equations of "INRA" and "ω3Meat" databases

	n	INRA		ω3Meat	
		adjust R ²	RSE	adjust R ²	RSE
Total PUFA	244	0.998	0.210	0.923	1.297
18:2 n-6	244	0.917	0.810	0.860	1.056
20:4 n-6	240	0.791	0.439	0.468	0.700
PUFA n-6	244	0.957	0.824	0.858	1.499
18:3 n-3	244	0.410	0.430	0.337	0.456
20:5 n-3	145	0.554	0.137	0.471	0.150
22:6 n-3	92	0.117	0.039	0.039	0.041
PUFA n-3	244	0.639	0.717	0.494	0.848

R²: coefficient of determination; RSE: residual standard errors; n: number of data used; PUFA: polyunsaturated fatty acid

0.5 and very good when the coefficient of determination was higher than 0.6. Working to this constraint, here, with the exception of 22:6n-3, all the models from both databases showed good or very good prediction fit. Another study by Peres et al. (2010) set the minimum cut-off for accepting good model fit at between 0.7 and 0.89. Here, we qualify our models using the cut-off proposed by Peres et al. (2010) as it adds a tougher restriction. In this case, the “ ω 3Meat” database-built prediction models for n-3 PUFA and the “INRA” database-built prediction equation for 22:6n-3 are miscalibrated. The residual standard errors are lower on “INRA” equations compared to “ ω 3Meat” equations. The relatively better responses (in terms of R^2_{adj} and RSE) of the “INRA” database are likely explained by lower source-data uncertainty, since the “INRA” database pools individual beef muscle FA composition data obtained in our research lab using the same benchmark reference method, whereas the “ ω 3Meat” database was constructed from beef muscle FA composition data sourced from the literature, so there the uncertainty introduced by the method and by the different labs is necessarily greater. The “INRA” database is nevertheless limited by the relatively low representativity of its sampling frame compared to the “ ω 3Meat” database, which consequently narrows the field of application of equations built from the “INRA” database.

3.2.2. *Comparison against other published equations*

To the best of our knowledge, there is no recent investigation on using equations to predict beef FA contents. However, several studies have attempted to predict product quality on other food matrices. Daza et al. (2013) explored the prediction of major FA in pork from diversified farm systems. The authors attempted to predict 16:0, 18:0, 18:1 n-9 and 18:2 n-6 contents using coefficients of determination of 0.47, 0.56, 0.2 and 0.78, respectively. Likewise, Coppa et al. (2013) attempted to predict milk FA content as a function of farm management practices. The R^2 of SFA, MUFA, PUFA, 18:2 n-6 and 18:3 n-3 were 0.55, 0.41, 0.54, 0.36 and 0.66, respectively. The prediction equations obtained here outperform the other equations found in the literature, probably because they integrate a larger number of explanatory variables (eight here vs four in Coppa et al. (2013) and two in Daza et al. (2013)). Furthermore, our equations account for the interactions between variables, enabling an average 4% and 34% increase in R^2 and 7.5% and 26.7% decrease in RSE for the “INRA” and “ ω 3Meat” databases, respectively (data not shown). However, even though we used similar statistical methods, we cannot viably compare our results output against the previous literature as the data studied, like the outcomes of the studies led, are wildly different.

3.2.3. *Comparison against NIRS*

The ultimate objective of our research is to develop prediction equations for beef-meat PUFA content from NIRS data, which is an otherwise poor predictor of PUFA ($R^2 < 0.67$ according to Sierra et al. (2008), Cecchinato et al. (2012), and Mourot et al. (2015)). The equations developed here yield $R^2 > 0.9$ for n-6 PUFA and $R^2 = 0.87$ (with the “INRA” database set) for n-3 PUFA, i.e. well above the corresponding R^2 obtained by NIRS. However, for individual PUFA such as 18:3 n-3 and 22:6 n-3, the R^2 with the “ ω 3Meat” database were 0.59 and 0.35, respectively, i.e. within the upper range of values reported with NIRS (0.49–0.63 and 0.14–0.38 for 18:3 n-3 and 22:6 n-3, respectively; Mourot et al., (2015),

Sierra et al.,(2008)). In short, for total PUFA, n-3 PUFA and n-6 PUFA, the prediction equations developed here strongly outperform NIRS predictions, whereas for individual n-3 PUFA, our prediction equations can - at best - only match the performances of NIRS predictions.

3.3. *Validation*

The prediction equations obtained with the “ ω 3Meat” and “INRA” database sets were used with the external “Validation” database, and the prediction performances obtained with the calibration equations and this new dataset were evaluated in terms of adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}) and residual standard error (RSE) (Table 5). Once again, the literature only works to the adjusted coefficient of determination. Peres et al. (2010) and Coppa et al. (2013) considered that the validation-set models with a coefficient of determination greater than 0.65 correctly predicts the outcome variable. For equations built from the “INRA” database, total PUFA and n-6 PUFA showed very good prediction fit, with an R^2 of 0.79 up to 0.99. Total n-3 PUFA were borderline acceptable for validation ($R^2 = 0.64$), whereas the validation-set model equations for 18:3 n-3, 20:5 n-3 and 22:6 n-3 failed to make the acceptability cut ($R^2 = 0.41, 0.55$ and 0.12 , respectively). One early explanation stems from the fact that these FA already had low R^2 in the calibration equations (Table 4), which will logically induce a non-validation. In order to understand and interpret these results, we also calculated the percent relative prediction error on the prediction values output for FA family subsets behaving in the same way. As a rule, this indicator showed that as proportional content of the FA to be predicted increases, prediction error decreases, which would explain why 18:3 n-3, 20:5 n-3 and 22:6 n-3 were non-validated since they account for less than 1% of total FA (data not shown). For the components giving the best-fit predictions, such as total PUFA, 18:2 n-6 and n-6 PUFA, mean relative prediction error for 90% of the sample population was 2%, 13.5% and 9.8%, respectively.

Mirroring the calibration equations, the validation-step equations built from the “ ω 3Meat” database were less satisfactory than the equations built from the “INRA” database. For the equations built from the “ ω 3Meat” database, total PUFA, n-6 PUFA and 18:2 n-6 were validated ($R^2 > 0.85$) whereas all-n-3 PUFA was not a good predictor ($R^2 < 0.5$). This outcome, like for the “INRA” database, can be explained by the fact that these FA already had low R^2 values in the calibration equations. Furthermore, the fact that they are minor and relatively homogenous components of beef may blunt the precision of the calibration models.

Finally, these less-than-satisfactory results may also reflect a big uncertainty component when these FA get determined by the benchmark reference method (GC), in which case the uncertainty on the base-data used to build the equations would be greater than the uncertainty ruled acceptable in our calibration and validation models, thus making it impossible to build valid equations.

4. Conclusion

This study produced novel models for predicting the PUFA composition of beef using SFA and MUFA contents together with livestock-related data retrievable from slaughterhouse records. Very good prediction models were developed for total PUFA, n-6 PUFA and a fraction of n-3 PUFA with equations built from the “INRA” database set. Equations built from the “ ω 3Meat” database (data sourced from structured literature surveys) showed less predictive power but cover a broader scope of application. Future users of these equations will therefore need to choose the equations built from either the “INRA” or the “ ω 3Meat” database according to their objectives and their field of application.

Given that the ultimate aim of this research is to use the equations as a complementary tool in tandem with NIRS or FS measurements, further studies will be needed to trial and test our novel coupled NIRS–prediction equations approach. Note that as virtually all the prediction equations for PUFA content developed here are sharper and more precise than NIRS prediction equations, we anticipate our equations to serve industry as a complementary tool alongside NIRS as a way to rapidly determine the FA content of beef.

Acknowledgements

The authors thank Dr. I. Ortigues-Marty and Dr J. Vernet for providing us access to their databases and constant help on how to use them. The authors also thank Dr D. Bauchart and A. Thomas for the lab GC data that served to build the “INRA” database.

References

- Bollen, K., & Jackman, R. (1990). Regression diagnostics: An expository treatment of outliers and influential cases. *Modern methods of data analysis*, 257–291.
- Calder, P. C. (2012). Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *The Journal of nutrition*, 142, 592S–599S.
- Cecchinato, A., De Marchi, M., Penasa, M., Casellas, J., Schiavon, S., & Bittante, G. (2012). Genetic analysis of beef fatty acid composition predicted by near-infrared spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 90, 429–438.
- Christie, W. (1989). *Gas chromatography and lipids*. (P. Barnes & Associates, Eds.) (p. 184). Bridgwater (Scotland): The Oil Press.
- Cook, R. D., & Weisberg, S. (1982). *Residuals and Influence in Regression*. (D. R. Cox & D. V. Hinkley, Eds.) (p. 230). New York: Chapman and Hall.
- Coppa, M., Ferlay, A., Chassaing, C., Agabriel, C., Glasser, F., Chilliard, Y., Borreani, G., Barcarolo, R., Baars, T., Kusche, D., Harstad, O. M., Verbič, J., Golecký, J., Martin, B. (2013). Prediction of bulk milk fatty acid composition based on farming practices collected through on-farm surveys. *Journal of dairy science*, 96, 4197–211.
- Daza, A., Latorre, M. A., & Lopez-Bote, C. J. (2013). Prediction of the major fatty acids in the backfat from in-and outdoor Iberian pigs at slaughter. *Italian Journal of Food Science*, 25, 229–234.

- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. . (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- González-Martín, I., González-Pérez, C., Alvarez-García, N., & González-Cabrera, J. M. (2005). On-line determination of fatty acid composition in intramuscular fat of Iberian pork loin by NIRs with a remote reflectance fibre optic probe. *Meat science*, 69, 243–248.
- Guy, F., Prache, S., Thomas, A., Bauchart, D., & Andueza, D. (2011). Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry*, 127, 1280–1286.
- Hernández-Martínez, M., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Almaraz-Abarca, N., Ponce-Mendoza, A., & Vásquez-Murrieta, M. S. (2013). Prediction of total fat, fatty acid composition and nutritional parameters in fish fillets using MID-FTIR spectroscopy and chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*, 52, 12–20.
- Kramer, J. K. G., Blackadar, C. B., & Zhou, J. (2002). Evaluation of two GC columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA. *Lipids*, 37, 823–835.
- Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Andueza, D. (2015). Breeds and muscle types modulate performance of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat. *Meat Science*, 99, 104–112.
- Ouanezar, M., Gruffat, D., Aït-Kadour, A., Mardon, J., Jacquot, S., Ferlay, A., & Bauchart, D. (2012). Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour la prédiction des teneurs en acides gras dans la viande bovine : comparaison entre les méthodes frontales et synchrone. *Viandes et Produits Carnés, Hors-série*, 37–38.
- Peres, A. M., Dias, L. G., Joy, M., & Teixeira, A. (2010). Assessment of goat fat depots using ultrasound technology and multiple multivariate prediction models. *Journal of animal science*, 88, 572–80.
- Pla, M., Hernández, P., Ariño, B., Ramírez, J. A., & Díaz, I. (2007). Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chemistry*, 100, 165–170.
- Prieto, N., López-Campos, O., Aalhus, J. L., Dugan, M. E. R., Juárez, M., & Uttaro, B. (2014). Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed. *Meat science*, 98, 279–288.
- Sierra, V., Aldai, N., Castro, P., Osoro, K., Coto-Montes, A., & Oliván, M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Science*, 78, 248–255.
- Vernet, J., & Ortigues-Marty, I. (2006). Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants : data gathering and management prior to meta-analysis. *Reproduction Nutrition Development*, 5, 527–546.
- Weeranantanaphan, J., Downey, G., Allen, P., & Sun, D.-W. (2011). A review of near infrared spectroscopy in muscle food analysis: 2005–2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 19, 61–104.

- Wold, J. P., Kvaal, K., & Egelanddal, B. (1999). Quantification of Intramuscular Fat Content in Beef by Combining Autofluorescence Spectra and Autofluorescence Images. *Applied Spectroscopy*, 53, 448–456.
- Zhou, L. J., Wu, H., Li, J. T., Wang, Z. Y., & Zhang, L. Y. (2012). Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*, 90, 658–664.

Chapitre 5 :
Discussion Générale

Dans un contexte de chute de la consommation de viande rouge sur le marché intérieur, les consommateurs sont toujours demandeurs d'un système de prédiction fiable de la qualité de la viande bovine (Verbeke et al., 2010) qui pourrait ainsi contribuer à enrayer la chute de la consommation. La possibilité de créer un outil capable de distinguer dès l'abattage des animaux, la qualité nutritionnelle de la viande bovine peut donner un avantage aux professionnels de la filière. Ceci leur permettrait d'identifier précocement les morceaux de viande ayant une meilleure valeur nutritive pour la santé de l'Homme et de communiquer sur ce sujet. Ce type de démarche serait un avantage pour toute la filière, où l'éleveur serait rémunéré à la qualité nutritionnelle de ses produits, l'industriel serait en mesure de répondre à une demande spécifique des consommateurs en créant un marché spécifique et les consommateurs pourraient avoir des informations précises sur des produits à haute valeur nutritionnelle pour leur santé.

Il apparaît clairement que les attentes des professionnels et des consommateurs de la filière bovine au cours de ces dernières décennies, se sont axées en partie sur la valeur nutritionnelle du produit viande, en particulier sur sa faible teneur en AGPI et plus spécifiquement en AGPI n-3 au vue de l'intérêt qu'ils ont pour la santé humaine.

Cependant, comme pour tout produit, le « déclaratif » ne rassure pas le consommateur, il apparaissait donc essentiel de mettre à disposition de la filière des moyens analytiques appropriés pour garantir les mesures de ces composés d'intérêt.

Nous avons bien identifié, que la méthode de référence actuelle, la CPG, qui permet de déterminer de façon précise la composition en AG de la viande, n'est absolument pas adaptée pour déterminer de façon rapide, à moindre coût et dans des conditions industrielles (environnement humide et froid, cadence,...), la composition en AG de la viande. Notre étude bibliographique a permis de confirmer que la SPIR réunissait l'ensemble des caractéristiques recherchées pour répondre à notre objectif. Toutefois, même si cet outil est performant pour déterminer les AGS et les AGMI de la viande bovine, la SPIR reste limitée pour prédire les teneurs en AGPI dans la viande bovine.

Ainsi, la mission qui m'a été confiée dans le cadre de mon travail de thèse était 1) d'évaluer et améliorer le potentiel de la SPIR pour prédire la composition en AG de la viande bovine, 2) d'élaborer des équations de prédiction des AGPI pour pallier la faiblesse de la SPIR, en utilisant uniquement les données obtenues de façon fiable par SPIR et celles disponibles en abattoir (âge, sexe, race...), et 3) de valider les équations de calibration par SPIR et les équations de prédiction des AG mineurs à partir de données nouvelles et indépendantes par rapport à celles ayant contribué à l'élaboration de nos équations.

En dehors de ces objectifs essentiels, il m'a été demandé d'aborder une validation de la démarche complète, combinant SPIR et équations de prédiction selon l'état d'avancement des étapes précédentes.

1) Étalonage des AG de la viande bovine par SPIR

Nous avons eu la confirmation que la SPIR n'était pas en mesure actuellement de prédire correctement les AGPI. Effectivement, les essais complémentaires d'étalonage des

AG que nous avons réalisé confirment les résultats de la littérature. Toutefois, comparés aux résultats de Sierra et al. (2008) et Cecchinato et al. (2012) qui déterminent également la composition en AG de la viande bovine broyée, nous obtenons dans notre étude des déterminations souvent meilleures pour tous les AG. Ceci résulte de notre stratégie de construction de notre « échantillothèque ». En effet, dans cette première étude, nous avons utilisé des échantillons provenant de jeunes bovins de 4 races aux caractéristiques lipogéniques très différentes, couvrant à la fois des animaux à très faible (Blonde d'Aquitaine), faible (Limousin, Charolais) ou fort potentiel (Angus) lipogénique. Leur alimentation était également très diversifiée, en particulier très variable sur la teneur en AGPI n-3 (enrichie ou non en graine de lin extrudé) alors que dans les études de Sierra et al. (2008) et Cecchinato et al. (2012), les auteurs ont utilisé des échantillons provenant d'une à deux races de bovin dont l'alimentation au sein de chaque expérimentation était la même. Par ailleurs, notre choix d'utiliser des échantillons les plus homogènes possible a également contribué à l'amélioration des performances de notre étude. La grande majorité des études précédentes ont été réalisées à partir de broyages réalisés avec un hachoir, la présentation et l'homogénéité des échantillons ayant son importance pour réaliser des prédictions performantes (Guy et al., 2011; Prieto et al., 2009).

Malgré cette amélioration significative des performances de la SPIR, la prédiction des AGPI restent toujours insatisfaisante. Il est possible que certains paramètres liés à cette approche puissent être encore améliorés. Par exemple, il serait intéressant de tester ces mêmes performances à partir d'échantillons lyophilisés. En effet, De Marchi et al. (2007) et Viljoen et al. (2005) ont rapporté une meilleure prédiction des lipides totaux à partir de viande lyophilisée qu'à partir de viande crue, en raison de l'aspect physique plus homogène de celle-ci. De plus, la dessiccation suite à la lyophilisation des échantillons permet d'éliminer l'eau qui présente de fortes bandes d'absorption à 970, 1190, 1440 et 1940 nm (Bertrand, 2002) permettant ainsi d'éviter l'interférence de ces bandes d'absorption dans les spectres IR dont l'absorption est très élevée (Pedersen et al., 2003).

Cependant, bien que l'intérêt de ce type de préparation des échantillons soit pertinent pour une application en recherche, le temps et les coûts associés à la lyophilisation comme au broyage dans l'azote liquide des échantillons ne sont pas compatibles pour une utilisation dans des conditions industrielles.

Un autre paramètre susceptible d'améliorer les performances de la SPIR concerne la variabilité des AGPI, leur plus grande variabilité devant conduire à une meilleure prédiction. Cependant, il a déjà été rapporté que pour les viandes de lapin (Pla et al., 2007), de porc (González-Martín et al., 2005), de volaille (Zhou et al., 2012) ou d'agneau (Guy et al., 2011), les principaux AGPI n-6 et n-3 ne sont pas bien déterminés. Toutes ces viandes analysées par SPIR présentaient pourtant des teneurs moyennes en AGPI plus importantes que celles de la viande bovine (de 322 mg.100g⁻¹ à 970 mg.100g⁻¹ par rapport au 195 mg.100g⁻¹ chez le bovin). On ne peut cependant exclure l'impact important de la teneur en AGPI sur la qualité de prédiction au vue de nos résultats obtenus sur la chair de poisson. En effet, dans la chair de truite arc en ciel, où les teneurs en AGPI sont de 2 à 50 fois supérieures selon les AGPI à celles de la viande bovine, les prédictions par SPIR sont nettement meilleures (Proceeding ISRP/ISNH, 2014). La totalité des AG de la chair de poisson sont prédits par SPIR avec des

performances d'étalonnage supérieures à 0,84 pour le R²CV et 2,55 pour le RPD. Néanmoins, les AG 18:3 n-6, 20:3 n-6, 22:6 n-6 et 20:3 n-3 présentent encore des R²CV et RPD inférieurs à 0,77 et 2, respectivement. Ces performances relativement « décevantes » peuvent en partie provenir des teneurs encore trop faibles de ces AG chez le poisson (< 50 mg.100g⁻¹ dans le tissu) mais aussi à leur faible variabilité, paramètre que nous avons démontré comme très important dans la qualité de prédiction. Toutefois, ces conclusions sont à nuancer au vu du faible nombre de mesures réalisées, notre étude ayant porté sur seulement 33 spectres. Par ailleurs, nous avons en parallèle testé l'augmentation des teneurs de ces AG et de leur variabilité en élargissant notre « échantillothèque », mais en se fixant comme contrainte de rester chez le Ruminant. Nous avons donc choisi de tester l'ajout de spectres de viande d'agneau à notre base spectrale. Plusieurs avantages ont raisonné ce choix. Les échantillons d'agneau en notre possession avaient déjà été analysés par CPG et par SPIR (Guy et al., 2011), les teneurs en AG de ces échantillons étaient légèrement supérieures à celles des bovins et la variabilité par AG était plus importante. L'ajout d'échantillons d'agneau a ainsi étendu la gamme de variabilité des AGPI sans pour autant créer deux populations distinctes et a permis d'augmenter les performances d'étalonnage de tous les AG.

Tous ces essais nous ont permis d'établir les limites de la méthode SPIR et de proposer les principales règles qui régissent son emploi :

- Lorsque la concentration d'un AG est très importante (environ > 300 mg.100g⁻¹) même si la variabilité est faible (environ < 50%), la SPIR est une méthode adaptée à sa détermination.
- Lorsque la concentration d'un AG est faible mais que sa variabilité est très importante, la méthode peut être adaptée à sa détermination.
- Lorsque la concentration d'un AG est faible et sa variabilité est également peu importante, les performances de la SPIR sont insatisfaisantes (RPD <2,5)

Nous avons pu par la suite, confirmer ces règles, ayant eu l'opportunité de compléter notre « échantillothèque » par près de 300 échantillons de viande bovine provenant du programme FUI « SpecMeat ». Ces échantillons provenaient d'un très large panel de types d'animaux, de races, et de types de muscles de bovins ce qui a permis une augmentation de la variabilité de tous les AG (les coefficients de variation ont augmenté de près de 35 points en moyenne pour les AGS et AGMI et de 26 points en moyenne pour les AGPI) ainsi que de leur concentration (les valeurs des moyennes ont été multipliées par 2,8 en moyenne pour les AGS et AGMI et 1,3 en moyenne pour les AGPI). L'étalonnage à partir de cette nouvelle base spectrale permet maintenant de déterminer les AGS et les AGMI principaux avec une qualité de prédiction se rapprochant des méthodes de référence (RPD>6), ce qui place cette méthode comme une future méthode analytique. Pour les AGPI, nous pouvons constater également une nette augmentation de performance de prédiction des AGPI totaux et des AGPI n-6 totaux qui permet de les déterminer par SPIR en analyse de routine (RDP > 2,4). Toutefois, même si les

performances de prédiction pour les autres AGPI ont également augmenté, elles restent toujours insatisfaisantes ($R^2CV < 0,75$ et $RPD < 2$).

Un autre point mérite d'être discuté. Il concerne le mode d'expression des AG (en valeur absolue ou relative) à partir duquel les équations de calibration sont établies. Jusqu'à présent, les étalonnages des AG de la viande ont préférentiellement été réalisés sur des AG exprimés en valeur absolue ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de tissu) plutôt qu'en valeur relative (% des AG totaux). Selon Siemens & Daun (2005) et Zhou et al. (2012), le fait d'exprimer les AG en valeur relative diminue « mathématiquement » la variabilité de ceux-ci, ce qui altère les performances de la SPIR, comme nous l'avons établi précédemment. De plus, Zhou et al. (2012) rapportent que la SPIR étant basée sur la loi de Beer-Lambert, où l'absorbance varie de façon linéaire avec la concentration d'un paramètre, et ils militent en faveur d'une expression des AG en valeur absolue. À contrario, il est à noter que le mode d'expression en valeur relative peut augmenter l'expression de la variabilité des AG présents en faible quantité. Nous avons pu, très récemment, tester ces deux approches (AG exprimés en valeur relative ou absolue) à partir de notre nouvelle « échantillothèque ». Concernant les AGS et AGMI, nous confirmons que l'expression en valeur absolue améliore les performances de calibration. Cependant, concernant le 18:2 n-6 et le 20:4 n-6 par exemple, les R^2CV des modèles d'étalonnage passent de 0,75 et 0,74 à 0,8 et 0,78 et les RPD de 2 et 1,97 à 2,24 et 2,11, respectivement en utilisant l'expression en valeur relative. Ceci mériterait des investigations supplémentaires pour statuer définitivement sur le meilleur mode d'expression à utiliser, selon l'acide gras à mesurer.

En l'état actuel de la situation, il est possible d'augmenter la prédiction des AGPI mais il semblerait que nous soyons proches de la limite de détection des AGPI mineurs par la SPIR. Pour arriver à notre objectif, une autre stratégie a été initiée qui est de prédire ces AG de façon indirecte par des équations de prédiction.

2) Prédiction des AGPI par des équations

Comme rapporté précédemment, la prédiction des AG d'intérêt reste insatisfaisante par SPIR. Nous avons donc poursuivi notre travail en cherchant à évaluer les performances de la prédiction des AGPI à partir de données très bien prédites par SPIR (AGS, AGMI) et de données facilement accessibles en abattoir (race, sexe, type d'animal, ...). Cette démarche s'est révélée très performante pour calibrer les AGPI totaux, les AGPI n-6 et les AGPI n-3 (excepté le 22:6 n-3).

Nous avons construit notre stratégie de détermination des équations de prédiction des AG d'intérêt autour de deux bases de données différentes, « $\omega 3\text{Meat}$ » qui regroupait les données de la bibliographie et « INRA » qui regroupait les données acquises depuis plus de 10 ans dans mon laboratoire d'accueil. Cette stratégie présentait bien évidemment des risques (doublement du temps d'analyse, obtention d'équations potentiellement divergentes, ...) mais présentait pour nous plusieurs avantages que nous allons détailler par la suite.

Sur le plan statistique, le fait d'avoir utilisé deux bases de données distinctes nous a permis de valider le choix de la méthode statistique la plus adaptée à notre situation.

Effectivement, les données utilisées pour ces deux bases sont d'origine complètement différentes (données individuelles vs données moyennées, expérimentations franco-françaises vs expérimentations internationales), ce qui nous a permis, en plus de la qualité de prédiction, de tester la robustesse de nos équations de prédiction. Le choix de la régression linéaire a permis de tester de nombreuses combinaisons : les différentes variables qualitatives avec ou sans les différentes transformations de variable, avec ou sans les interactions, avec ou sans la régression pas à pas,.... Au final, nous avons obtenu des équations très performantes pour la plupart des AGPI ($R^2_{\text{ajus}} > 0,74$). À notre connaissance, il n'existe aucune étude récente s'intéressant à la prédiction des AGPI de la viande bovine par des équations intégrant les AGS et les AGMI. Toutefois, quelques études ont tenté de prédire la qualité des produits sur d'autres matrices. Ainsi, Daza et al. (2013) ont travaillé sur la prédiction des AG majeurs de la viande de porc à partir de systèmes d'élevage diversifiés. De même, Coppa et al. (2013) ont tenté de prédire la composition en AG du lait en fonction des pratiques d'élevage. Les équations obtenues dans la présente étude présentent des performances de prédiction plus élevées que celles de la littérature pour tous les AG. Ceci peut en partie s'expliquer par le fait que ces auteurs n'ont pas testé autant d'options dans leur méthodologie statistique que dans cette étude (transformation de variables, prise en compte d'interaction,...). Ces étapes peuvent être handicapantes pour l'interprétation des coefficients des équations. Toutefois, même si les méthodes statistiques utilisées sont similaires, il est difficile de comparer les résultats de ces études à la littérature car les données étudiées, comme la finalité des études, sont totalement différentes.

Cependant, les AGPI n-3, le 18:3 n-3 et le 20:5 n-3, et surtout le 22:6 n-3 restent encore assez mal prédits comparativement aux AGPI totaux et AGPI n-6, ceci quel que soit la base de données utilisée. Parmi les facteurs pouvant expliquer ces performances plus faibles, il nous semblerait indispensable de préciser la part de l'incertitude liée à la mesure des AG par la méthode de référence elle-même par rapport à l'incertitude globale des équations de prédiction. Il est fort probable que les incertitudes de mesure, par CPG, soient plus importantes pour les AG les moins représentés et présentant les structures chimiques les plus complexes (avec plusieurs doubles liaisons). Ainsi, l'incertitude des données de base permettant de construire les équations serait plus importante que l'incertitude acceptée dans nos modèles de calibration et de validation rendant impossible la construction d'équations valides. Il est ainsi possible que nous atteignons les limites de prédiction au vue des incertitudes sur l'ensemble des étapes : 1) détermination des AGPI par CPG et 2) faible et assez homogène représentation de ces AGPI dans la viande bovine pouvant entraîner une faible précision des modèles d'étalonnage. Il existe encore certainement de nombreuses possibilités pour améliorer ces modèles, toutefois il est important mettre en regard le gain possible par rapport au temps investi, ce qui dans notre démarche de thèse ne pouvait être envisagé. Parmi ces possibilités, une, par exemple, serait de séparer nos bases de données en fonction des modalités des variables qualitatives et d'élaborer un modèle de prédiction pour chaque modalité. Toutefois, la limite de cette démarche concerne les modalités qui sont peu représentées (par exemple les génisses ne représentent que 6% de la base de donnée « INRA » contre près de 60% pour les vaches de réformes) nécessitant de repenser la méthodologie statistique qui n'est pas adaptée à un nombre restreint de données. Une autre possibilité aurait

été d'intégrer d'autres transformations de variable (fonction inverse, fonction exponentielle,...), ce qui pourrait permettre d'exploiter mieux les informations portées par les données, sans en intégrer les spécificités qui ne sont pas généralisables dans la population. Cette étape nécessiterait également un grand temps d'analyse supplémentaire, impossible dans le cadre de ma thèse.

Notre choix d'utiliser deux bases différentes nous a conduit à établir deux séries d'équations de prédiction, ce qui pourrait apparaître comme une source de confusion pour les futurs utilisateurs de nos équations. Il apparaît que cette stratégie permet d'obtenir des équations plus performantes avec la base de données « INRA », mais dont le champ d'application est plus limité (races françaises principalement) par rapport à la base de données « Meat » où les équations sont un peu moins performantes mais dont le champ d'application est très large (puisque les équations ont été établies à partir de sources bibliographiques du monde entier). En fonction de l'environnement dans lequel le futur utilisateur de ces équations se trouvera, il devra faire un choix en sachant qu'il est préférable si possible d'utiliser les équations issues de la base de données « INRA ».

Cette stratégie intéressante de prédiction des AGPI peut servir potentiellement pour deux publics : l'industrie privée et le monde de la recherche. Pour un industriel, comme présenté dans les objectifs de ce manuscrit de thèse, il pourra utiliser les équations pour déterminer rapidement et à moindre coût la teneur en AGPI dans un morceau de viande après analyse par SPIR. Il pourra ensuite utiliser cette information pour classer les morceaux de viande en fonction de leur qualité nutritionnelle et certifier (avec une incertitude connue) cette qualité aux consommateurs. Pour le domaine de la recherche, cette méthode de prédiction des AGPI pourrait permettre d'enrichir les bases de données actuelles, ou de revisiter les conclusions des expérimentations publiées. En effet, dans de nombreuses études (selon leur objectif ou leur date de parution) la composition en AGPI de la viande n'est pas systématiquement rapportée. Nous pourrions imaginer un retraitement des données, en appliquant nos équations de prédiction, les variables prédictives nécessaires étant le plus souvent disponibles dans la plupart des publications (AGS et AGMI, type d'animal). Une autre possibilité serait d'intégrer les rations alimentaires des animaux en tant que covariables dans les équations. Dans notre étude, nous nous sommes limités aux informations disponibles en abattoir pour prédire les AGPI (type d'animal, race, sexe,...), mais dans un autre contexte, l'alimentation est une variable qualitative qui peut être prise en compte dans les équations de prédiction. En effet, l'alimentation est l'un des facteurs les plus importants de la modulation de la composition en AG de la viande (Bauchart et al., 2005; Habeanu et al., 2013; Scollan et al., 2008). Le régime alimentaire étant spécifique à chaque expérimentation ou système d'élevage, ces régimes alimentaires devraient être catégorisés de façon globale dans un premier temps (fourrage vs concentré vs supplément lipidique) puis créer de plus en plus de modalités en fonction de ce que permet la base de données (pâturage, ensilage, céréale, tourteaux, ...). Cette nouvelle variable pourrait permettre d'améliorer notablement les performances de prédiction des AGPI.

3) Validation des équations de calibration par SPIR et des équations de prédiction des AG mineurs à partir de données nouvelles et indépendantes

Pour finaliser ce travail de thèse, il sera nécessaire de valider l'ensemble de notre démarche, à savoir appliquer nos équations de prédiction à des données obtenues par SPIR, ceci à partir de nouveaux échantillons provenant d'expérimentations récentes.

Lors de cette validation, plusieurs éléments seront à prendre en compte. Les calibrations SPIR ont été effectuées sur des AG exprimés en valeur absolue dans le muscle alors que nos équations de prédiction des AGPI ont été construites à partir d'AG exprimés en valeur relative. La première étape de ce travail consistera donc à convertir en valeur relative les AG prédits en valeur absolue. Pour garantir au mieux cette étape de conversion, nous proposons de se référer aux AG totaux, qui sont très correctement déterminés par SPIR, pour convertir tous les autres acides gras en valeur relative :

$$AG \% = \frac{AG_{mg}}{AG\ totaux} \times 100$$

avec AG_{mg} et $AG\ totaux$ exprimés en $mg \cdot 100g^{-1}$ de muscle.

Dans un deuxième temps, il faudra comparer les valeurs prédites à partir de nos équations de prédiction aux valeurs réellement déterminées par mesure en laboratoire. Une des principales limites d'une telle procédure réside certainement dans le cumul des erreurs de prédiction. En effet, nous allons au fur et à mesure des opérations cumuler les incertitudes liées aux mesures SPIR, aux équations de prédiction et aux conversions d'unité (valeurs relatives par rapport aux valeurs absolues qui sont forcément différentes selon que l'on s'adresse à des AG majeurs ou mineurs).

Dans le cas où la validation ne serait pas satisfaisante, nous proposerions plusieurs démarches supplémentaires. Tout d'abord, il est envisageable de retravailler les étalonnages SPIR à partir d'AG exprimés en valeur relative, même si nous avons montré que les performances de calibration sont moindres. Ces nouvelles données seraient directement introduites dans les modèles de prédiction, sans effectuer une étape de conversion d'unité, ce qui pourrait potentiellement améliorer la validation de la démarche complète. Une deuxième solution, complètement opposée, serait envisageable. Il est possible de conserver les données SPIR en valeur absolue et d'introduire ces données non transformées dans de nouvelles équations de prédiction construites à partir d'AG exprimés en valeur absolue. Dans cette situation, il est possible que les performances de prédiction des équations soient amoindries. Dans un cas comme dans l'autre, la baisse de performance de prédiction peut compenser l'accumulation des erreurs de prédiction lorsque les unités des données sont converties et ainsi améliorer les performances de la validation.

Malgré tous ces essais, il reste possible que notre stratégie ne soit encore que partiellement acceptable (correct pour certains AG mais pas pour d'autres par exemple). Il serait alors envisageable de réfléchir de façon plus globale et de réaliser les validations sur des groupes de teneurs en AGPI (faible teneur vs. teneur moyenne vs. teneur élevée) avec des tolérances bien définies et donc une garantie certifiée pour le consommateur. Ceci permettrait de moyenniser les incertitudes de prédiction des données individuelles et ainsi réduire l'impact

des incertitudes les plus élevées sur la validation globale. Dans ce cas, la quantification individuelle des AG d'un morceau de viande ne serait plus l'objectif principal mais plutôt la teneur moyenne en AGPI. Cette situation permettrait d'envisager un classement des viandes sur la qualité nutritionnelle par exemple comme l'étiquetage actuel qui a évolué sur un système visuel à 3 étoiles pour classer les morceaux selon leur tendreté.

Cette validation du système SPIR couplé aux équations de prédiction sera réalisée très prochainement avec une nouvelle série d'échantillons prélevés sur près de 200 animaux représentatifs des différents systèmes d'élevage français (race, conduite, alimentation,...). Ces nouvelles données seront fournies par le programme FUI « SpecMeat » mais ne sont pas encore disponibles à l'heure actuelle.

Conclusions et Perspectives

Les productions animales ont beaucoup évolué au cours des cinquante dernières années. La prise en compte de la qualité des produits pour l'alimentation humaine, du bien-être animal, d'un meilleur respect de l'environnement sont autant de points nouveaux présentant un intérêt particulier pour les filières de production mais aussi pour le consommateur.

Concernant la qualité nutritionnelle de la viande qui est une des préoccupations majeure du consommateur et du monde médical, il est indispensable de disposer d'informations fiables, détaillées et facilement accessibles à tous les niveaux de la filière (idéalement, du producteur au consommateur). Ce travail de thèse a permis de confirmer que la SPIR était bien un outil performant, répondant aux exigences énoncées ci-dessus, tout au moins pour déterminer la composition en AG majeurs de la viande bovine. Toutefois, la SPIR présente des limites d'utilisation pour les AGPI présents en faible quantité, malgré leur fort intérêt nutritionnel. Nous avons montré qu'il était possible d'augmenter les performances de prédiction par SPIR de ces AG en introduisant dans notre « échantillothèque » des échantillons dont la variabilité et/ou la teneur en AGPI étaient plus importantes. Cependant, cette stratégie a montré des limites de prédiction encore trop importantes pour satisfaire nos commanditaires. Nous avons donc associé à notre démarche, le développement d'équations de prédiction des AGPI (mal prédits par SPIR) à partir des acides gras majeurs (AGS et AGMI, bien prédits par SPIR). Cette stratégie s'est révélée très satisfaisante pour un bon nombre d'AGPI d'intérêt (AGPI totaux, AGPI n-6), mais reste cependant encore perfectible pour les AGPI n-3, le 18:3 n-3, le 20:5 n-3, et surtout le 22:6 n-3.

Au vue des demandes des filières, il nous semble indispensable de continuer à améliorer les performances de prédiction de la SPIR. Une des premières pistes à privilégier serait d'élargir encore la variabilité de notre base spectrale. Cela pourrait être réalisé en introduisant des échantillons de viande d'origine encore plus variée que ceux déjà prospectés, comme par exemple des échantillons provenant de génisses ou de taureaux ou provenant d'animaux ayant reçus des rations plus extrêmes que celles déjà investiguées (durée de pâturage ou supplémentation en lin plus longues,...). En dehors du type d'animal et de son alimentation, nous pourrions également envisager d'intégrer d'autres types de tissus connus pour leurs teneurs plus extrêmes en lipides et/ou en AGPI comme le cœur ou la langue. Enfin, nous pourrions également envisager de créer une base spectrale « viande » plus large en intégrant des échantillons de viande provenant d'autres espèces telles que le mouton, le porc, le lapin et la volaille, présentant une très grande variabilité de teneurs en AGPI.

Il est également envisageable d'améliorer la technique SPIR elle-même. Pour ce faire, deux pistes d'amélioration seraient à envisager, la technique de mesure physique elle-même, ou plus simplement la méthode d'exploitation des spectres. En effet, il est rapporté que l'étalonnage des constituants de la SPIR peut s'envisager par 2 approches différentes : l'approche « globale » ou l'approche « locale ». Nous avons utilisé dans notre travail l'approche « globale », la totalité des spectres ayant été utilisés pour réaliser les prédictions. La méthode dite « locale » consiste à créer un étalonnage spécifique pour un spectre donné à partir d'un petit groupe d'échantillons spectralement similaires afin d'établir une prédiction réellement adaptée à chacun des spectres. Ainsi, cette procédure d'étalonnage est réalisée spectre par spectre, les groupes d'échantillons étant sélectionnés autour du spectre cible. Toutefois, pour réaliser cette procédure, il est nécessaire de disposer d'un grand nombre de spectres (>1000) ce qui n'était pas notre cas dans le contexte de ce travail.

De façon plus générale, parmi les perspectives d'amélioration des performances de la SPIR hors de notre problématique « acides gras », il serait très intéressant de tester son utilisation pour la détermination d'autres composants de la viande qui présentent soit un intérêt sensoriel (tendreté, types de fibres, collagène,...) soit un intérêt nutritionnel (teneur en protéines, vitamines, fer héminique,...) comme cela a été rapporté dans l'étude bibliographique. Effectivement, pour les qualités sensorielles, la tendreté de la viande est le paramètre le plus important. Or, la méthode la plus utilisée pour pouvoir mesurer la tendreté reste l'analyse sensorielle par un jury de dégustateurs. Ces analyses sont longues à mettre en œuvre et coûteuses. La SPIR pourrait remplacer le jury de dégustation et évaluer la tendreté de la viande objectivement et rapidement. Ceci est également envisageable pour la mesure du collagène ou encore la mesure des vitamines, des minéraux, ...

Ainsi, à partir d'une même analyse spectrale, rapide et peu coûteuse, nous pourrions disposer d'un ensemble de paramètres essentiels dans la caractérisation des viandes, données que nous ne pouvons obtenir qu'à partir d'analyses longues, coûteuses et multiples jusqu'à présent.

Pour élargir ce sujet, le projet FUI « SpecMeat » intègre également dans ses objectifs un volet concernant la santé des animaux dont le but est de prédire par la SPIR les teneurs en composés peroxydés (malondialdéhyde, hydroperoxydes, vitamines, indice de peroxydation...) dans les viandes bovines, qui seront à relier à des indicateurs de santé mesurés au niveau plasmatique (statut antioxydant, indice de peroxydation, enzymes,...). En effet, outre les préoccupations liées à la qualité nutritionnelle des produits carnés, les attentes sociétales portent également sur les modes de production (protection de l'environnement, santé et bien-être des animaux...). Or, certaines pratiques alimentaires comme les phases de finition intensives voire même les supplémentation en AGPI dans les rations, peuvent avoir des conséquences sur la santé de l'animal. Ainsi pour le consommateur et le producteur, la mise au point d'outils ou de solutions permettant de mesurer la qualité nutritionnelle des viandes tout en évaluant l'état de santé de l'animal est intéressante dans une optique de pilotage des troupeaux mais également d'identification d'axes de communications et de garanties pour le consommateur.

Concernant le deuxième volet de mon travail de thèse, à savoir les équations de prédiction des AGPI à partir des données SPIR et d'abattoir, cette stratégie s'est révélée encore perfectible pour les AGPI n-3, le 18:3 n-3, le 20:5 n-3, et surtout le 22:6 n-3. En tout premier lieu, il est peut-être possible de réduire l'erreur de prédiction des modèles en prenant en compte les effets inter- et intra-expériences par le biais d'une méta-analyse. Ce travail peut être envisagé à partir de notre base de données « ω 3Meat ». Lorsque nous agrégeons des données issues de plusieurs sources, un ou plusieurs paramètres d'une étude (par exemple une alimentation spécifique à une étude) ou de plusieurs études (par exemple des races d'animaux, des méthodes d'analyses communes à ces études) peuvent être prépondérants pour expliquer leur relation avec la variable à expliquer et amoindrir les effets des autres paramètres. En identifiant ces paramètres interférents, il serait ainsi peut être possible de pondérer leurs effets pour améliorer les performances de prédiction des modèles.

Dans notre étude, le paramètre le plus important qui n'a pas été pris en compte à cause de son incompatibilité avec nos objectifs est l'alimentation des animaux au cours de la période de finition. En effet, de très nombreuses études ont bien démontré le lien étroit entre

alimentation en finition et composition en AGPI des produits (voir chapitre 1 partie III). Nous avons délibérément écarté cette donnée des facteurs prédictifs potentiels, étant donné que cette information n'est pas disponible en abattoir. Cependant, dans un cadre de recherche scientifique visant à améliorer les connaissances qui devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes d'élaboration des qualités de la viande, il serait indispensable de réintroduire ce facteur dans nos variables prédictives.

D'autre part, aussi bien pour la SPIR que pour les équations de prédiction, il semble important de pouvoir quantifier avec précision la part de l'incertitude liée à la méthode de mesure qui a permis d'obtenir nos valeurs de référence en AG par rapport à celle liée uniquement aux équations de calibration ou de prédiction. Ces données nous permettraient de savoir 1) le potentiel d'amélioration des performances de nos équations et 2) s'il y a lieu de travailler sur la méthode de mesure elle-même. En effet, il n'est pas rare qu'en biologie, les incertitudes sur les mesures soient élevées (plus de 10 à 20 %), en particulier dans le cadre de matrice complexe (comme la viande) ou de composés mineurs (comme les AGPI). Il faut être conscient que la donnée expérimentale qui a servi de base à l'élaboration de nos équations intègre plusieurs sources d'incertitude comme la représentativité de l'échantillon, son homogénéité (broyage plus ou moins performant), sa conservation (la durée de congélation impactant l'intensité d'oxydation des AGPI), la fidélité des méthodes d'extraction, de méthylation puis de quantification. Toutes ces incertitudes sont en plus variables selon le type d'acide gras considéré, ce qui augmente la complexité de leur estimation. Ce travail d'estimation des incertitudes de mesure reste à faire et sera un chantier d'envergure.

Enfin, nous pouvons également repenser les modèles en utilisant d'autres méthodes statistiques exploratoires des données. Depuis quelques années, l'utilisation des réseaux de neurones artificiels se développe. Ceci permet de réaliser des prédictions de façon non linéaire en intégrant et pondérant le lien entre toutes les variables du modèle de prédiction. Cette démarche n'avait pas été retenue au début de ma thèse par manque de travaux dans ma thématique sur cette méthode, mais elle peut tout à fait faire l'objet d'essais à l'avenir.

L'évaluation de la qualité nutritionnelle de la viande devrait également faire évoluer la classification des carcasses ou des morceaux de viande dans les abattoirs. Avec la possibilité de différencier la qualité nutritionnelle, il apparaît essentiel de créer un système de communication simple pour le consommateur et l'éleveur comme celui qui se met en place avec le nouvel étiquetage à 3 étoiles pour informer sur la tendreté des viandes. Il serait également important de revoir le système de paiement des éleveurs qui ne sont actuellement rémunérés que sur la conformation des carcasses et non la qualité de la viande.

Enfin, tout ce qui a été réalisé dans le cadre de la viande bovine peut aussi être transposé à d'autres espèces comme la volaille ou le porc ou d'autres petits ruminants. Des données sont déjà disponibles pour ces espèces mais elles n'intègrent pas l'aspect prédictif de l'état de santé de l'animal comme c'est le cas pour le projet « SpecMeat ».

Références bibliographiques

- Abdel-Nour, N., Ngadi, M. (2011). Detection of omega-3 fatty acid in designer eggs using hyperspectral imaging. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 62, 418–422.
- Adzitey, H., Nurul, H. (2011). Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats : causes and measures to reduce these incidences - a mini review. *International Food Research Journal* 18, 11–20.
- AFNOR (2007). Recueil Normes Agroalimentaires Analyse sensorielle. NF EN ISO 8586-1; NF ISO 13300-1; NF ISO 13300-2; NF V 09-110 (La Plaine Saint-Denis : AFNOR).
- AFNOR (2008). Analyse sensorielle, Lignes directrices générales pour la sélection, l'entraînement et le contrôle des sujets. Partie 2 : sujets experts sensoriels. NF EN ISO 8586-2 (La Plaine Saint-Denis : AFNOR).
- AFNOR (2009). Analyse sensorielle, Vocabulaire. NF EN ISO 5492 (La Plaine Saint-Denis : AFNOR).
- AFNOR (2010). Analyse sensorielle, Directives générales pour la conception des locaux destinés à l'analyse. Partie 1 : sujets qualifiés. NF EN ISO 8589 (La Plaine Saint Denis : AFNOR).
- Ailhaud, G., Massiera, F., Weill, P., Legrand, P., Alessandri, J.-M., Guesnet, P. (2006). Temporal changes in dietary fats: role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research* 45, 203–236.
- Aït-Kaddour, A., Boubellouta, T., Chevallier, I. (2011). Development of a portable spectrofluorimeter for measuring the microbial spoilage of minced beef. *Meat Science* 88, 675–681.
- Alling, C., Bruce, A., Karlsson, I., Sapia, O., Svennerholm, L. (1972). Effect of Maternal Essential Fatty Acid Supply on Fatty Acid Composition of Brain , Liver , Muscle and Serum in 21-day-old Rats. *Journal of Nutrition* 102, 773–782.
- ANC (2009). Apports nutritionnels conseillés pour la population française (Paris: Tec et Doc / Lavoisier).
- Angulo, J., Hiller, B., Olivera, M., Mahecha, L., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Losand, B., Nuernberg, K. (2012). Dietary fatty acid intervention of lactating cows simultaneously affects lipid profiles of meat and milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 2968–2974.
- Anses (2007). Apport en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations. Rapport D'expertise Collective Saisine 2004 – SA – 0052.

- Anses (2009). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'estimation des apports en acides gras trans de la population française. Saisine n° 2007 – SA – 0220.
- Anses (2010). Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Saisine no 2006 – SA – 0359.
- Baeza, E. (1995). La viande de canard : production et principales caractéristiques. *INRA Productions Animales* 8, 117–125.
- Banwell, C.N. (1966). *Fundamentals of molecular spectroscopy*.
- Barbin, D.F., ElMasry, G., Sun, D.-W., Allen, P. (2013). Non-destructive determination of chemical composition in intact and minced pork using near-infrared hyperspectral imaging. *Food Chemistry* 138, 1162–1171.
- Basarab, J.A., Mir, P.S., Aalhus, J.L., Shah, M.A., Baron, V.S., Okine, E.K., Robertson, W.M. (2007). Effect of sunflower seed supplementation on the fatty acid composition of muscle and adipose tissue of pasture-fed and feedlot finished beef. *Canadian Journal of Animal Science* 87, 71–86.
- Bauchart, D., Aurousseau, B. (1981). Postprandial lipids in blood plasma of preruminant calves. *Journal of Dairy Science* 64, 2033–2042.
- Bauchart, D., Verite, R., Remond, B. (1984). Long chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass spring to autumn. *Canadian Journal of Animal Science* 64, 330–331.
- Bauchart, D., Gladine, C., Gruffat, D., Leloutre, L., Durand, D. (2005). Effects of diets supplemented with oil seeds and vitamin E on specific fatty acids of rectus abdominis muscle in charolais fattening bulls. In *Indicators of Milk and Beef Quality*, J.F. Hocquette, and S. Gigli, eds. (Wageningen Academic Publishers), pp. 431–435.
- Bauchart, D., Chantelot, F., Gandemer, G. (2008). Qualités nutritionnelles de la viande et des abats chez le bovin : données récentes sur les principaux constituants d'intérêt nutritionnel. *Cahier de Nutrition et Diététique* 43, 29–39.
- Bauchart, D., Thomas, A., Durand, D., Parafita, E. (2010). Maturation sous vide et lipides des viandes bovines. *Viandes et Produits Carnés* 28, 111–115.
- Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., Griinari, J.M. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1–15.
- Bertrand, D. (2002). La spectroscopie proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale. *INRA Productions Animales* 15, 209–219.
- Bertrand, D., Dufour, E. (2006). *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques* (2° Éd.) (Paris (France): Lavoisier).

- Birlouez, É. (2013). La viande dans les cultures alimentaires : du désir au tabou. *Médecine & Nutrition* 48, 38–42.
- Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M.-P., Maubois, J.-L., Beaufrère, B. (1997). Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial accretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 94, 14930–14935.
- Bonnet, M., Cassar-Malek, I., Chilliard, Y., Picard, B. (2010). Ontogenesis of muscle and adipose tissues and their interactions in ruminants and other species. *Animal* 4, 1093–1109.
- Bougnoux, P. (1999). n-3 polyunsaturated fatty acids and cancer. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2, 121–126.
- Bourre, J. (2005). Enrichissement de l'alimentation des animaux avec les acides gras ω -3 : Impact sur la valeur nutritionnelle de leurs produits pour l'homme. *Médecine Sciences* 21, 773–779.
- Bratzler, J.L. (1932). Measuring the tenderness of meat by mechanical shear. *Kansas State Clollege*.
- Brondum, J., Munck, L., Henckel, P., Karlsson, A., Tornberg, E., Engelsen, S.B. (2000). Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. *Meat Science* 55, 177–185.
- Burdge, G.C., Calder, P.C. (2005). Conversion of α -linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reproduction Nutrition Development* 45, 581–597.
- Burr, G., Burr, M. (1929). A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *Journal of Biological Chemistry* 82, 345–367.
- Calder, P.C. (2012). Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. *The Journal of Nutrition* 142, 592S – 599S.
- Cartier, P., Moëvi, I. (2007). Le point sur... La qualité des carcasses et des viandes de gros bovins (Paris).
- Cecchinato, A., De Marchi, M., Penasa, M., Casellas, J., Schiavon, S., Bittante, G. (2012). Genetic analysis of beef fatty acid composition predicted by near-infrared spectroscopy. *Journal of Animal Science* 90, 429–438.
- Chardigny, J. (2007). Mise au point sur les acides gras trans. *Cholé-Doc, Centre de Recherche et D'informations Nutritionnelles* 103, 1–3.
- Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., De Lamballerie-Anton, M., Verrez-Bagnis, V. (2004). Caractérisation des mécanismes protéolytiques dans le muscle de Bar (*Dicentrarchus labrax* L.). *Viandes et Produits Carnés Hors-série*, 2003–2004.

- Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science* 70, 31–48.
- Choi, Y.M., Kim, B.C. (2009). Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science* 122, 105–118.
- Christie, W.W. (1998). Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. *Lipids* 33, 343–353.
- CIQUAL (2013). Composition nutritionnelle des aliments. disponible à : <https://pro.anses.fr/TableCIQUAL/index.htm>.
- Clark, R.N., Swayze, G.A. (1995). Mapping minerals , amorphous materials , environmental materials , vegetation , water , ice and snow , and other materials : the USGS tricorder algorithm. In *Summaries of the Fifth Annual JPL Airborne Earth Science Workshop*, (JPL Publication), pp. 39–40.
- Clerjon, S., Kondjoyan, A., Bonny, J.M., Portanguen, S., Chevarin, C., Thomas, A., Bauchart, D. (2012). Oil uptake by beef during pan frying: impact on fatty acid composition. *Meat Science* 91, 79–87.
- Connor, W., Connor, S. (1995). Dietary fatty acids and cholesterol effects on the plasma lipids and lipoproteins. In *Atherosclerosis*, F. Woodford, J. Davignon, and S. A, eds. (Amsterdam: Elsevier B.V.), pp. 275–283.
- Coppa, M., Ferlay, A., Chassaing, C., Agabriel, C., Glasser, F., Chilliard, Y., Borreani, G., Barcarolo, R., Baars, T., Kusche, D., Harstad, O.M., Verbič, J., Golecký, J., Martin, B. (2013). Prediction of bulk milk fatty acid composition based on farming practices collected through on-farm surveys. *Journal of Dairy Science* 96, 4197–4211.
- Corino, C., Pastorelli, G., Douard, V., Rossi, R., Musella, M., Mouro, J. (2006). L'acide linoléique conjugué en nutrition porcine. *INRA Productions Animales* 19, 39–46.
- Corrigan, F.M., Horrobin, D.F., Skinner, E.R., Besson, J.A.O., Cooper, M.B. (1998). Abnormal content of n-6 and n-3 long-chain unsaturated fatty acids in the phosphoglycerides and cholesterol esters of parahippocampal cortex from Alzheimer's disease patients and its relationship to acetyl CoA content. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 30, 197–207.
- Culioli, J., Berri, C., Mouro, J. (2003). Muscle foods : consumption, composition and quality. *Sciences Des Aliments* 23, 13–34.
- Cuvelier, C., Cabaraux, J. F., Dufrasne, I., Hornick, J. L., & Istasse, L. (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. In *Annales de Médecine Vétérinaire* 148, No. 3.
- Cuvelier, C., Dotreppe, O., Cabaraux, J.F., Dufrasne, I., Istasse, L., Hornick, J.L. (2005). Influence of breed, diet and muscle on the fatty acid content in meat from young

- finished bulls. In *Indicators of Milk and Beef Quality*, (Wageningen Academic Publishers), pp. 409–418.
- Cuvelier, C., Clinquart, A., Hocquette, J.F., Cabaraux, J.F., Dufrasne, I., Istasse, L., Hornick, J.L. (2006). Comparison of composition and quality traits of meat from young finishing bulls from Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus breeds. *Meat Science* 74, 522–531.
- Daley, C. a, Abbott, A., Doyle, P.S., Nader, G. a, Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal* 9, 1–12.
- Dalle Zotte, A. (2002). Le lapin doit improviser le consommateur. *Viandes et Produits Carnés* 23, 161–166.
- Dangin, M., Guillet, C., Garcia-Rodenas, C., Gachon, P., Bouteloup-Demange, C., Reiffers-Magnani, K., Fauquant, J., Ballèvre, O., Beaufrère, B. (2003). The rate of protein digestion affects protein gain differently during aging in humans. *The Journal of Physiology* 549, 635–644.
- Davis-Bruno, K., Tassinari, M.S. (2011). Essential fatty acid supplementation of DHA and ARA and effects on neurodevelopment across animal species: a review of the literature. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology* 92, 240–250.
- Daza, A., Latorre, M.A., Lopez-Bote, C.J. (2013). Prediction of the major fatty acids in the backfat from in-and outdoor Iberian pigs at slaughter. *Italian Journal of Food Science* 25, 229–234.
- De La Torre, A., Gruffat, D., Durand, D., Micol, D., Peyron, A., Scislawski, V., Bauchart, D. (2006). Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. *Meat Science* 73, 258–268.
- De Marchi, M., Berzaghi, P., Boukha, A., Mirisola, M., Gallo, L. (2007). Use of near infrared spectroscopy for assessment of beef quality traits. *Italian Journal of Animal Science* 6, 421–423.
- De Marchi, M., Penasa, M., Cecchinato, A., Bittante, G. (2013). The relevance of different near infrared technologies and sample treatments for predicting meat quality traits in commercial beef cuts. *Meat Science* 93, 329–335.
- Demeyer, D., Doreau, M. (1999). Pourquoi et comment modifier les lipides du lait et de la viande bovine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 34, 301–308.
- Depledge, F. (2009). *Évaluation sensorielle : Manuel méthodologique* (Collection Sciences et techniques agroalimentaires).
- Dilzer, A., Park, Y. (2012). Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52, 488–513.

- Dubost, A., Micol, D., Picard, B., Lethias, C., Andueza, D., Bauchart, D., Lustrat, A. (2013). Structural and biochemical characteristics of bovine intramuscular connective tissue and beef quality. *Meat Science* 95, 555–561.
- Dufour, E., Frencia, J.-P. (2001). Les spectres de fluorescence frontale: Une empreinte digitale de la viande. *Viandes et Produits Carnés* 22, 9–14.
- Dufour, E., Lopez, C., Riaublanc, A., Riou, N.M. (1998). La spectroscopie de fluorescence frontale: une approche non invasive de la structure et des interactions entre les constituants des aliments. *Agoral* 10, 209–215.
- Durand, D., Scislowski, V., Chilliard, Y., Gruffat, D., Bauchart, D. (2005). High fat rations and lipid peroxidation in ruminants; consequences on animal health and quality of products. In *Indicators of Milk and Beef Quality*, J.F. Hocquette, and S. Gigli, eds. (Wageningen Academic Publishers), pp. 137–150.
- Durand, D., Gatellier, P., Parafita, E. (2010). Stabilité oxydative et qualités des viandes. In *Muscle et Viande de Ruminant*, D. Bauchart, and B. Picard, eds. (Versailles: Quaes), pp. 183–196.
- ElMasry, G., Sun, D. (2010). Principles of hyperspectral imaging technology. In *Hyperspectral Maging for Food Quality Analysis and Control*, D.-W. Sun, ed. (Elsevier Inc), pp. 3–43.
- ElMasry, G., Sun, D.-W., Allen, P. (2013). Chemical-free assessment and mapping of major constituents in beef using hyperspectral imaging. *Journal of Food Engineering* 117, 235–246.
- Elmore, J.S., Warren, H.E., Mottram, D.S., Scollan, N.D., Enser, M., Richardson, R.I., Wood, J.D. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Science* 68, 27–33.
- Enquête Crédoc (2007). Comportements et consommations alimentaires en France (Tech&Doc / Lavoisier).
- FAO Expert consultation (2013). Dietary protein quality evaluation in human nutrition (Rome).
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497–509.
- FranceAgriMer (2010). La consommation française de viandes - Evolutions depuis 40 ans et dernières tendances. *Les Synthèses de FranceAgriMer n°1*, 8p.
- Frank, L., Friedman, J. (1993). A statistical view of some chemometrics regression tools. *Technometrics* 35, 109–135.

- Fritsche, J., Fritsche, S., Solomon, M.B., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Morehouse, K., Ku, Y. (2000). Quantitative determination of conjugated linoleic acid isomers in beef fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 102, 667–672.
- Gandemer, G. (1999). Lipids and meat quality : Lipolysis, oxidation, Maillard reaction and flavour. *Sciences Des Aliments* 19, 439–458.
- Gatellier, P., Gomez, S., Gigaud, V., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Santé-Lhoutellier, V. (2007). Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. *Meat Science* 76, 543–547.
- Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V., Portanguen, S., Kondjoyan, A. (2009). Use of meat fluorescence emission as a marker of oxidation promoted by cooking. *Meat Science* 83, 651–656.
- Geay, Y., Bauchart, D., Hocquette, J.-F., Culioli, J. (2002). Valeur diététique et qualités sensorielles des viandes de ruminants . Incidence de l'alimentation des animaux. *INRA Productions Animales* 15, 37–52.
- Gebauer, S., Chardigny, J., Jakobsen, M.U., Lamarche, B., Lock, A., Proctor, S., Baer, D. (2011). Effects of ruminant trans fatty acids on cardiovascular disease and cancer: a comprehensive review of epidemiological, clinical, and mechanistic studies. *Advances in Nutrition*: 2, 332–354.
- González-Martín, I., González-Pérez, C., Alvarez-García, N., González-Cabrera, J.M. (2005). On-line determination of fatty acid composition in intramuscular fat of Iberian pork loin by NIRs with a remote reflectance fibre optic probe. *Meat Science* 69, 243–248.
- Griinari, J. M., & Bauman, D. E. (1999). *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research*, Vol. 1.
- Gruffat, D., Rémond, C., Durand, D., Loreau, O., Bauchart, D. (2008). 9 cis,11 trans conjugated linoleic acid (CLA) is synthesised and desaturated into conjugated 18:3 in bovine adipose tissues. *Animal* 2, 645–652.
- Grunert, K.G., Bredahl, L., Brunsø, K. (2004). Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector-a review. *Meat Science* 66, 259–272.
- Guesnet, P., Alessandri, J., Astorg, P., Pifferi, F., Lavialle, M. (2005). Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides* 12, 333–343.
- Guillemain, N., Jurie, C., Micol, D., Listrat, A., Leveziel, H., Renand, G., Picard, B. (2009). La maîtrise de la tendreté de la viande bovine : identification de marqueurs biologiques. *INRA Productions Animales* 22, 331–344.
- Guillemain, N., Jurie, C., Cassar-Malek, I., Hocquette, J.-F., Renand, G., Picard, B. (2011). Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal* 5, 885–894.

- Guillevic, M., Kouba, M., Mourot, J. (2009). Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat Science* 81, 612–618.
- Guy, F., Prache, S., Thomas, A., Bauchart, D., Andueza, D. (2011). Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry* 127, 1280–1286.
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8, 1881–1887.
- Habeanu, M., Thomas, A., Bispo, E., Gobert, M., Gruffat, D., Durand, D., Bauchart, D. (2013). Extruded linseed and rapeseed both influenced fatty acid composition of total lipids and their polar and neutral fractions in longissimus thoracis and semitendinosus muscles of finishing Normand cows. *Meat Science*.
- Harvey, A.R., Lawlor, J., McNaught, A.I., Williams, J.W., Fletcher-Holmes, D.W. (2002). Hyperspectral imaging for the detection of retinal disease. In *International Symposium on Optical Science and Technology*, S.S. Shen, ed. (International Society for Optics and Photonics), pp. 325–335.
- Hernández-Martínez, M., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Almaraz-Abarca, N., Ponce-Mendoza, A., Vásquez-Murrieta, M.S. (2013). Prediction of total fat, fatty acid composition and nutritional parameters in fish fillets using MID-FTIR spectroscopy and chemometrics. *LWT - Food Science and Technology* 52, 12–20.
- Hildrum, K.I., Rødbotten, R., Høy, M., Berg, J., Narum, B., Wold, J.P. (2009). Classification of different bovine muscles according to sensory characteristics and Warner Bratzler shear force. *Meat Science* 83, 302–307.
- Hocquette, J.F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C., Pethick, D.W. (2010). Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal* 4, 303–319.
- Hocquette, J.-F., Bernard-Capel, C., Vidal, V., Jesson, B., Levéziel, H., Renand, G., Cassar-Malek, I. (2012). The GENOTEND chip: a new tool to analyse gene expression in muscles of beef cattle for beef quality prediction. *BMC Veterinary Research* 8, 135.
- Hoehne, A., Nuernberg, G., Kuehn, C., Nuernberg, K. (2012). Relationships between intramuscular fat content, selected carcass traits, and fatty acid profile in bulls using a F2-population. *Meat Science* 90, 629–635.
- Hoffman, D.R., Boettcher, J.A., Diersen-Schade, D.A. (2009). Toward optimizing vision and cognition in term infants by dietary docosahexaenoic and arachidonic acid supplementation: a review of randomized controlled trials. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 81, 151–158.
- Hughes, T., Heimberg, M., Wang, X., Wilcox, H., Hughes, S.M., Tolley, E., Desiderio, D.M., Dalton, J.T. (1996). Comparative lipoprotein metabolism of myristate, palmitate, and stearate in normolipidemic men. *Metabolism* 45, 1108–1118.

- INCA 2 (2007). Etude individuelle nationale des consommations alimentaires. Agence Française de Sécurité Sanitaire Des Aliments (Afssa) 227p.
- ISO 5983 (1997). Aliments des animaux - Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes - Méthodes Kjeldahl.
- Jenkins, T.C., Wallace, R.J., Moate, P.J., Mosley, E.E. (2008). Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86, 397–412.
- Jump, D. B. (2004). Fatty acid regulation of gene transcription. *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 41, 41-78.
- Jurie, C., Listrat, A. (2010). Structure et fonction des constituants du muscle squelettique. In *Muscle et Viande de Ruminant*, D. Bauchart, and B. Picard, eds. (Versailles: Quaes), pp. 61–70.
- Kamruzzaman, M., Barbin, D., ElMasry, G., Sun, D.-W., Allen, P. (2012a). Potential of hyperspectral imaging and pattern recognition for categorization and authentication of red meat. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16, 316–325.
- Kamruzzaman, M., ElMasry, G., Sun, D.-W., Allen, P. (2012b). Non-destructive prediction and visualization of chemical composition in lamb meat using NIR hyperspectral imaging and multivariate regression. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 16, 218–226.
- Karoui, R., Blecker, C. (2011). Fluorescence Spectroscopy Measurement for Quality Assessment of Food Systems—a Review. *Food and Bioprocess Technology* 4, 364–386.
- Karoui, R., Mouazen, A.M., Dufour, É., Pillonel, L., Picque, D., Bosset, J.-O., De Baerdemaeker, J. (2006). Original article Mid-infrared spectrometry : A tool for the determination of chemical parameters in Emmental cheeses produced during winter. *Lait* 86, 83–97.
- Kellicut, D.C., Weiswasser, J.M., Arora, S., Freeman, J.E., Lew, R.A., Shuman, C., Mansfield, J.R., Sidawy, A.N. (2004). Emerging Technology: Hyperspectral Imaging. *Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy* 16, 53–57.
- Keys, A. (1970). Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 41, 186–195.
- Knothe, G., Kenar, J. (2004). Determination of the fatty acid profile by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology* 106, 88–96.
- Kobayashi, K., Matsui, Y., Maebuchi, Y., Toyota, T., Nakauchi, S. (2010). Near infrared spectroscopy and hyperspectral imaging for prediction and visualisation of fat and fatty acid content in intact raw beef cuts. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 18, 301–315.
- Kobayashi, K., Mori, M., Nishino, K., Toyota, T., Nakauchi, S. (2012). Visualisation of fat and fatty acid distribution in beef using a set of filters based on near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 20, 509–519.

- Kouba, M., Benatmane, F., Blochet, J.E., Mourot, J. (2008). Effect of a linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat. *Meat Science* 80, 829–834.
- Kramer, J.K.G., Blackadar, C.B., Zhou, J. (2002). Evaluation of two GC columns (60-m SUPELCOWAX 10 and 100-m CP sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2 and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA. *Lipids* 37, 823–835.
- Krettek, A., Thorpenberg, S., Bondjers, G. (2008). *Trans Fatty Acids and Health : A Review of Health Hazards and Existing Legislation*.
- Kris-etherton, P.M., Dietschy, J. (1997). Design criteria for studies examining individual fatty acid effects on cardiovascular disease risk factors : human and animal studies. *The American Journal of Clinical Nutrition* 65, 1590–1596.
- Kromhout, D., Bloemberg, B., Feskens, E., Menotti, A., Nissinen, A. (2000). Saturated fat , vitamin C and smoking predict long-term population all-cause mortality rates. *International Journal of Epidemiology* 29, 260–265.
- Lambert, J.-L. (1987). *L'évolution des modèles de consommation alimentaire en France*. Nantes.
- Lavialle, M., Layé, S. (2010). Acides gras poly-insaturés (omega 3, omega 6) et fonctionnement du système nerveux central. *Innovations Agronomiques* 10, 25–42.
- Layé, S. (2010). Polyunsaturated fatty acids, neuroinflammation and well being. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids 82, 295–303.
- Leaf, A., Xiao, Y.-F., Kang, J.X., Billman, G.E. (2003). Prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids. *Pharmacology & Therapeutics* 98, 355–377.
- Lecerf, J. (2011). Viande et santé humaine : excès et défauts. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 195, 1801–1812.
- Lee, M.R.F., Shingfield, K.J., Tweed, J.K.S., Toivonen, V., Huws, S. a, Scollan, N.D. (2008). Effect of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids in steers fed grass or red clover silages. *Animal* 2, 1859–1869.
- Lefaucheur, L. (1989). Les différents types de fibres musculaires chez le porc. *INRA Productions Animales* 2, 205–213.
- Lefevre, F., Kerneis, T., Dupont-Nivet, M., Jouquan, A., Leuret, V., Labbe, L., Quillet, E., Bugeon, J. (2014). Les lignées isogéniques: un modèle d'étude de la qualité chez la truite arc-en-ciel. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 121–122.
- Legrand, I., Hocquette, J.F., Polkinghorne, R.J., Turin, F., Pethick, D.W. (2011). Prédire la qualité sensorielle de la viande bovine à l'aide du système australien MSA (Meat Standards Australia). In *18èmes Rencontres Recherches Sur Les Ruminants*, (Paris), pp. 173–176.

- Legrand, I., Hocquette, J.-F., Polkinghorne, R.J., Pethick, D.W. (2013). Prediction of beef eating quality in France using the Meat Standards Australia system. *Animal* 7, 524–529.
- Legrand, P., Rioux, V. (2010). The complex and important cellular and metabolic functions of saturated fatty acids. *Lipids* 45, 941–946.
- Legrand, P., Bourre, J., Descomps, B., Durand, G., Renaud, S. (2009). Lipides apports nutritionnels conseillés. In *Apports Nutritionnels Conseillés Pour La Population Française*, 3eme Edition, ed. (Paris: Tec et Doc / Lavoisier), pp. 62–82.
- Lepetit, J. (2007). A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science* 76, 147–159.
- Logan, A.C. (2003). Neurobehavioral Aspects of Omega-3 Fatty Acids: Possible Mechanisms and Therapeutic Value in Major Depression. *Alternative Medicine Review* 8, 410–425.
- Mandell, I.B., Buchanan-Smith, J.G., Holub, B.J., Campbell, C.P. (1997). Effects of fish meal in beef cattle diets on growth performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of longissimus muscle. *Journal of Animal Science* 75, 910–919.
- Maria, R.M., Colnago, L.A., Forato, L.A., Bouchard, D. (2010). Fast and simple nuclear magnetic resonance method to measure conjugated linoleic acid in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 6562–6564.
- Martin, A. (2001). *Apports nutritionnels conseillés pour la population française* (Paris: Edition Tec et Doc).
- Martin, A.J., Synge, R.L. (1941). A new form of chromatogram employing two liquid phases: A theory of chromatography. 2. Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins. *The Biochemical Journal* 35, 1358–1368.
- McAfee, A.J., McSorley, E.M., Cuskelly, G.J., Moss, B.W., Wallace, J.M.W., Bonham, M.P., Fearon, A.M. (2010). Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Science* 84, 1–13.
- McCrorie, T.A., Keaveney, E.M., Wallace, J.M., Binns, N., Livingstone, M.B. (2011). Human health effects of conjugated linoleic acid from milk and supplements. *Nutrition Research Reviews* 24, 206–227.
- Médale, F., Lefèvre, F., Corraze, G. (2003). Qualité nutritionnelle et diététique des poissons. *Cahier de Nutrition et Diététique* 38, 37–44.
- Mello, A.S., Calkins, C.R., Jenschke, B.E., Carr, T.P., Dugan, M.E.R., Erickson, G.E. (2012). Beef quality of calf-fed steers finished on varying levels of corn-based wet distillers grains plus solubles. *Journal of Animal Science* 90, 4625–4633.
- Mensink, R.P., Zock, P.L., Kester, A.D.M., Katan, M.B. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids

- and apolipoproteins : a meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition* 77, 1146–1155.
- Micol, D., Oury, M.P., Picard, B., Hocquette, J.F., Briand, M., Dumont, R., Egal, D., Jailler, R., Dubroeuq, H., Agabriel, J. (2009). Effect of age at castration on animal performance, muscle characteristics and meat quality traits in 26-month-old Charolais steers. *Livestock Science* 120, 116–126.
- Micol, D., Jurie, C., Hocquette, J.-F. (2010). Qualités sensorielles de la viande bovine. Impacts des facteurs d'élevages. In *Muscle et Viande de Ruminant*, D. Bauchart, and B. Picard, eds. (Versailles: Quaes), pp. 163–179.
- Mitchell, M.A., Kettlewell, P.J. (2009). Welfare of poultry during transport – a review. In *Poultry Welfare Symposium*, (Cervia, Italy), pp. 90–100.
- Moëvi, I., Hocquette, J.-F., Jurie, C., Micol, D. (2008). Expertise du système australien de prédiction de la qualité de la viande bovine (MSA). Quelles perspectives pour la filière française ? *Compte rendu final n° 170832010* (Paris).
- Monin, G. (2003). Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *INRA Productions Animales* 16, 251–262.
- Morsy, N., Sun, D.-W. (2013). Robust linear and non-linear models of NIR spectroscopy for detection and quantification of adulterants in fresh and frozen-thawed minced beef. *Meat Science* 93, 292–302.
- Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Kramer, J.K.G., Eulitz, K.D., Fritsche, J., Sehat, N., Roach, J.A.G., Ku, Y., Pariza, M.W., Nelson, G. (1999). Confirmation of conjugated linoleic acid geometric isomers by capillary gas chromatography-Fourier transform infrared spectroscopy. In *Advances in Conjugated Linoleic Acid Research, Volume 1*, M.P. Yurawecz, M.M. Mossoba, M.M. Kramer, M.W. Pariza, and G. Nelson, eds. (Champaign, USA: AOCS Press), pp. 141–151.
- Mourot, J., Hermier, D. (2001). Lipids in monogastric animal meat. *Reproduction Nutrition Development* 41, 109–118.
- Mourot, J., Lebret, B. (2009). Modulation de la qualité de la viande de porc par l'alimentation. *INRA Productions Animales* 22, 33–40.
- Mourot, J., De Tonnac, A., Azzopardi, M., Le Noc, J., Robin, G., Perrier, C. (2014). Amélioration de la qualité nutritionnelle des produits transformés du porc en relation avec l'alimentation des animaux. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 73–74.
- Ngapo, T., Berge, P., Culioli, J., Dransfield, E., De Smet, S., Claeys, E. (2002). Perimysial collagen crosslinking and meat tenderness in Belgian Blue double-musced cattle. *Meat Science* 61, 91–102.
- Olsen, E., Vogt, G., Ekeberg, D., Sandbakk, M., Pettersen, J., Nilsson, A. (2005). Analysis of the Early Stages of Lipid Oxidation in Freeze-Stored Pork Back Fat and Mechanically Recovered Poultry Meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 338–348.

- Osborne, B.G. (2006). Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, (John Wiley & Sons Inc),.
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C.H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., Sentandreu, M.A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science* 74, 44–58.
- Ouanezar, M., Gruffat, D., Aït-Kadour, A., Mardon, J., Jacquot, S., Ferlay, A., Bauchart, D. (2012). Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour la prédiction des teneurs en acides gras dans la viande bovine : comparaison entre les méthodes frontales et synchrone. *Viandes et Produits Carnés Hors-série*, 37–38.
- Palmquist, D.L. (2009). Omega-3 Fatty Acids in Metabolism , Health , and Nutrition and for Modified Animal Product Foods. *The Professional Animal Scientist* 25, 207–249.
- Palmquist, D.L., Saint-Pierre, N., McClure, K.E. (2004). Tissue Fatty Acid Profiles Can Be Used to Quantify Endogenous Rumenic Acid Synthesis in Lambs. *The Journal of Nutrition* 134, 2407–2414.
- Pedersen, D.K., Morel, S., Andersen, H.J., Balling Engelsen, S. (2003). Early prediction of water-holding capacity in meat by multivariate vibrational spectroscopy. *Meat Science* 65, 581–592.
- Pérez-Marín, D., Fearn, T., Guerrero, J.E., Garrido-Varo, A. (2010). Robustness in pig fat NIRS calibrations by orthogonal projection. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 100, 36–40.
- Peyron, M.-A., Bax, M.L., Brustel, P.Y., Salel, A., Sebedio, J.-L., Hafnaoui, N., Buisson, C., Buffière, C., Rémond, D. (2014). Pour la viande en tranche, le mode de cuisson et l'efficacité masticatoire impactent la biodisponibilité des acides aminés. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 75–76.
- Picard, B., Cassar-Malek, I. (2009). Evidence for expression of IIB myosin heavy chain isoform in some skeletal muscles of Blonde d'Aquitaine bulls. *Meat Science* 82, 30–36.
- Picard, B., Jurie, C., Cassar-Malek, I., & Hocquette, J. F. (2003). Typologie et ontogenèse des fibres musculaires chez le bovin. *INRA Productions Animales* 16, 125-131.
- Picard, B., Jurie, C., Bauchart, D., Dansfield, E., Ouali, A., Martin, J., Jailler, R., Lepetit, J., Culioli, J. (2007). Muscle and meat characteristics from the main beef breeds of the massif central. *Sciences Des Aliments* 27, 168–180.
- Picard, B., Berri, C., Lebret, B., Lefevre, F., Liaubet, L., Damon, M., LE Bihan-Duval, E., Hocquette, J.-F., Renand, G. (2012). Génomique et viande : Quelles avancées, quelles applications? *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 127–134.
- Pierre, F., Tache, S., Guéraud, F., Rerole, a L., Jourdan, M.-L., Petit, C. (2007). Apc mutation induces resistance of colonic cells to lipoperoxide-triggered apoptosis induced by faecal water from haem-fed rats. *Carcinogenesis* 28, 321–327.

- Pierre, F., Santarelli, R., Taché, S., Guéraud, F., Corpet, D.E. (2008). Beef meat promotion of dimethylhydrazine-induced colorectal carcinogenesis biomarkers is suppressed by dietary calcium. *The British Journal of Nutrition* 99, 1000–1006.
- Pla, M., Hernández, P., Ariño, B., Ramírez, J.A., Díaz, I. (2007). Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chemistry* 100, 165–170.
- Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G., Andrés, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science* 83, 175–186.
- Prieto, N., Ross, D.W., Navajas, E.A., Richardson, R.I., Hyslop, J.J., Simm, G., Roehe, R. (2011). Online prediction of fatty acid profiles in crossbred Limousin and Aberdeen Angus beef cattle using near infrared reflectance spectroscopy. *Animal* 5, 155–165.
- Prieto, N., López-Campos, O., Aalhus, J.L., Dugan, M.E.R., Juárez, M., Uttaro, B. (2014). Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed. *Meat Science* 98, 279–288.
- R Development Core Team (2012). *R: A language and environment for statistical computing.* (Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing).
- Raes, K., De Smet, S., Balcaen, A., Claeys, E., Demeyer, D. (2003). Effect of diets rich in N-3 polyunsaturated fatty acids on muscle lipids and fatty acids in Belgian Blue double-muscled young bulls. *Reproduction Nutrition Development* 43, 331–345.
- Rapantzikos, K., Balas, C. (2005). Hyperspectral imaging: potential in non-destructive analysis of palimpsests. In *IEEE International Conference on Image Processing, (IEEE)*, pp. 618–621.
- Rapoport, S., Igarashi, M., Gao, F. (2010). Quantitative contributions of diet and liver synthesis to docosahexaenoic acid homeostasis. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 82, 273–276.
- Rémond, D., Machebeuf, M., Yven, C., Buffière, C., Mioche, L., Mosoni, L., Mirand, P.P. (2007). Postprandial whole-body protein metabolism after a meat meal is influenced by chewing efficiency in elderly subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition* 85, 1286–1292.
- Rémond, D., Duchène, C., Bax, M.L., Hafnaoui, N., Oberli, M., Santé-Lhoutellier, V., Gaudichon, C. (2014). Les 3 points des protéines de la viandes : composition en acides aminés, digestibilité et vitesse de digestion. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 59–60.
- Renand, G., Picard, B., Touraille, C., Berge, P., Lepetit, J. (2001). Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Science* 59, 49–60.

- Rickert, R., Steinhart, H., Fritsche, J., Sehat, N., Yurawecz, M.P., Mossoba, M.M., Roach, J.A.G., Eulitz, K.D., Ku, Y., Kramer, J.K.G. (1999). Enhanced Resolution of Conjugated Linoleic Acid Isomers by Tandem- Column Silver-Ion High Performance Liquid Chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography* 22, 144–148.
- Rioux, V., Lemarchal, P., Legrand, P. (2000). Myristic acid, unlike palmitic acid, is rapidly metabolized in cultured rat hepatocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 11, 198–207.
- Ripoll, G., Albertí, P., Panea, B., Olleta, J.L., Sañudo, C. (2008). Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental and sensory quality of beef. *Meat Science* 80, 697–702.
- Rymer, C., Givens, D.I. (2005). n-3 fatty acid enrichment of edible tissue of poultry: A review. *Lipids* 40, 121–130.
- Sahar, A., Boubellouta, T., Lepetit, J., Dufour, É. (2008). Potentiel de la spectroscopie de fluorescence pour discriminer différents muscles et pour prédire certains paramètres physico- chimie de la viande. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 468–469.
- Sahar, A., Portanguen, S., Kondjoyan, A., Dufour, É. (2010). Potential of synchronous fluorescence spectroscopy coupled with chemometrics to determine the heterocyclic aromatic amines in grilled meat. *European Food Research and Technology* 231, 803–812.
- Salari, P., Rezaie, A., Larijani, B., Abdollahi, M. (2008). A systematic review of the impact of n-3 fatty acids in bone health and osteoporosis. *Medical Science Monitor* 14, 37–45.
- Sampath, H., Miyazaki, M., Dobrzyn, A., Ntambi, J.M. (2007). Stearoyl-CoA desaturase-1 mediates the pro-lipogenic effects of dietary saturated fat. *The Journal of Biological Chemistry* 282, 2483–2493.
- Scollan, N.D., Gibson, K., Ball, R., Richardson, I. (2008). Meat quality of Charolais steers: influence of feeding grass versus red clover silage during winter followed by finish off grass. In *British Society of Animal Science*, (York), p. 52.
- Serini, S., Piccioni, E., Calviello, G. (2009). Dietary n-3 PUFA Vascular Targeting and the Prevention of Tumor Growth and Age-Related Macular Degeneration. *Current Medicinal Chemistry* 16, 4511–4526.
- Shaw, G., Manolakis, D. (2002). Signal processing for hyperspectral image exploitation. *IEEE Signal Processing Magazine* 19, 12–16.
- Siciliano, C., Belsito, E., De Marco, R., Di Gioia, M.L., Leggio, A., Liguori, A. (2013). Quantitative determination of fatty acid chain composition in pork meat products by high resolution ¹H NMR spectroscopy. *Food Chemistry* 136, 546–554.
- Siemens, B.J., Daun, J.K. (2005). Determination of the fatty acid composition of canola, flax, and solin by near-infrared spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 82, 153–157.

- Sierra, V., Aldai, N., Castro, P., Osoro, K., Coto-Montes, A., Oliván, M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Science* 78, 248–255.
- Simopoulos, A.P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56, 365–379.
- Storlien, L.H., Hulbert, A.J., Else, P.L. (1998). Polyunsaturated fatty acids, membrane function and metabolic diseases such as diabetes and obesity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 1, 559–563.
- Sullivan, G.A., Calkins, C.R. (2011). Ranking Beef Muscles for Warner-Bratzler Shear Force and Trained Sensory Panel Ratings From Published Literature. *Journal of Food Quality* 34, 195–203.
- Swatland, H.J. (1987). Autofluorescence of Adipose Tissue Measured with Fibre Optics. *Meat Science* 19, 277–284.
- Swatland, H.J., Findlay, C.J. (1997). On-line probe prediction of beef toughness, correlating sensory evaluation with fluorescence detection of connective tissue and dynamic analysis of overall toughness. *Food Quality and Preference* 8, 233–239.
- Swatland, H.J., Gullett, E., Hore, T., Battenham, S. (1995). UV fiber-optic probe measurements of connective tissue in beef correlated with taste panel scores for chewiness. *Food Research International* 28, 23–30.
- Tatzer, P., Wolf, M., Panner, T. (2005). Industrial application for inline material sorting using hyperspectral imaging in the NIR range. *Real-Time Imaging* 11, 99–107.
- Terlouw, C., Ludriks, A., Schouten, W., Vaessen, S., Fernandez, X., Andanson, S., & Pere, M. C. (2001). Réactivité des porcs au stress à l'abattage: prédominance de l'allèle de sensibilité à l'halothane. *Viandes et Produits Carnés* 22, 127-136.
- Terlouw, E.M.C., Bourguet, C., Cassar-Malek, I., Deiss, V., Lebre, B., Lefevre, F., Picard, B. (2012). Stress à l'abattage et qualités des viandes : les liens se confirment. *Viandes et Produits Carnés Hors-Série*, 135–142.
- Torrescano, G., Sánchez-Escalante, A., Giménez, B., Roncalés, P., Beltrán, J.A. (2003). Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. *Meat Science* 64, 85–91.
- Verbeke, W., Pérez-Cueto, F.J. a, Barcellos, M.D. De, Krystallis, A., Grunert, K.G. (2010). European citizen and consumer attitudes and preferences regarding beef and pork. *Meat Science* 84, 284–292.
- Vernet, J., Ortigues-Marty, I. (2006). Conception and development of a bibliographic database of blood nutrient fluxes across organs and tissues in ruminants : data gathering and management prior to meta-analysis. *Reproduction Nutrition Development* 5, 527–546.

- Viljoen, M., Hoffman, L.C., Brand, T.S. (2005). Prediction of the chemical composition of freeze dried ostrich meat with near infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science* 69, 255–261.
- Warner, K.F. (1929). Progress Report of the Mechanical Test for Tenderness of Meat. *Journal of Animal Science* 114–116.
- Warner, K.F. (1952). Adventures in testing meat for tenderness. In *Reciprocal Meat Conference*, pp. 156–160.
- WCRF (2007). *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective* (Washington DC).
- Weeranantanaphan, J., Downey, G., Allen, P., Sun, D.-W. (2011). A review of near infrared spectroscopy in muscle food analysis: 2005–2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 19, 61–104.
- Wertheimer, E., Shapiro, B. (1948). The physiology of adipose tissue. *Physiological Reviews* 28, 451–464.
- Williams, P., Sobering, D. (1993). Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 1, 25–32.
- Wold, H. (1966). *Multivariate analysis* (Academic).
- Wold, J.P., Kvaal, K., Egelanddal, B. (1999). Quantification of Intramuscular Fat Content in Beef by Combining Autofluorescence Spectra and Autofluorescence Images. *Applied Spectroscopy* 53, 448–456.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, a V, Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science* 66, 21–32.
- Zhou, L.J., Wu, H., Li, J.T., Wang, Z.Y., Zhang, L.Y. (2012). Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science* 90, 658–664.
- Zhukov, A. V, Vereschagin, A.G. (1981). Current techniques of extraction, purification, and preliminary, fractionation of polar lipids of natural origin. *Advances in Lipid Research* 18, 247–282.