

EFFET DU MOMENT D'ACQUISITION DES SPECTRES PROCHE INFRAROUGE SUR LA QUALITE DE PREDICTION DU TAUX DE LIPIDES ET DU TAUX DE FONTE DES FOIES

**Deneufbourg Chloé¹, Manse Hélène¹, Céline Bravo¹, Bernadet Marie-Dominique ²,
Morisson Mireille¹, Bonnefont Cécile MD¹**

¹ *GenPhyse, Université de Toulouse, INRA, INPT, ENVT, 31326 CASTANET-TOLOSAN*

² *INRA UEFG, 1076 Route de Haut Mauco, 40280 Benquet, France*

cecile.bonnefont@ensat.fr

RÉSUMÉ

Pour caractériser la composition biochimique des tissus animaux, la spectrométrie proche infrarouge (SPIR) est de plus en plus utilisée. Des études précédentes sur le foie gras ont montré la capacité de prédire le taux de lipides et le taux de fonte. L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du moment d'acquisition des spectres sur la qualité de prédiction de ces deux paramètres. Des spectres infrarouges ont été acquis deux fois sur les mêmes foies gras, en post éviscération (PE) et en post refroidissement (PEPR). Le taux de fonte à la cuisson (n=182) et le taux de lipides (n=125) ont été mesurés. Chacun des groupes de spectres PE et PEPR ont été séparés en deux jeux de données, un jeu de calibration (2/3 des échantillons) et un jeu de validation afin d'établir des équations de prédiction de la composition des foies. Les deux jeux de calibration ainsi que les deux jeux de validation ont aussi été regroupés afin d'établir une équation de prédiction globale.

Les équations développées avec les spectres acquis en post éviscération permettent de prédire le taux de fonte et le taux de lipides des foies dont les spectres ont été acquis au même moment post-mortem, mais ne permettent pas de prédire ces grandeurs pour des spectres acquis en post refroidissement. Des résultats similaires ont été obtenus sur les spectres en post refroidissement. En outre, les équations développées sur l'ensemble des spectres disponibles ont une qualité de prédiction équivalente à celles citées précédemment. Ainsi, il est possible de rassembler des spectres acquis à différents moments post mortem et de faire une seule équation afin de prédire soit le taux de lipides des foies, soit leur taux de fonte.

ABSTRACT

Effect of time acquisition of near infrared spectra on the quality of the prediction of fatty liver lipid content and melting rate

Near infrared spectroscopy (NIRS) is more and more used to characterize the biological composition of animal tissues. Previous studies established that NIRS can predict the lipid content of fatty livers and their melting rate. This study aims at analyzing the effect of time acquisition of the spectra on the quality of the predictions of these two parameters. NIR spectra were both measured on the same fatty livers, in post evisceration (PE) and post cooling (PEPR). The melting rate (n=182) and the lipid content (n=125) were measured. Each of the spectra groups PE and PEPR were divided into two datasets, a calibration dataset (2/3 of the samples) and a validation dataset to develop prediction equation of the liver composition. Both calibration datasets and both validation datasets were pooled to develop a global prediction equation.

The equations developed with the spectra acquired in post evisceration can predict the melting rate and the lipid content of livers whose spectra were acquired at the same post mortem moment, but cannot predict these parameters on livers whose spectra were acquired in post cooling. Similar results were obtained with spectra acquired on post cooling livers. The equations developed on pooled spectra have a prediction quality equivalent to the previous ones. Spectra acquired at different post-mortem moments can be pooled together to develop a unique equation so as to predict either the melting rate or the lipid content.

INTRODUCTION

Afin d'évaluer la composition et la qualité des foies gras, différentes analyses biochimiques sont réalisées (matière sèche, taux de protéines et de lipides...). Cependant, celles-ci nécessitent de prélever un échantillon, ce qui entraîne une dévalorisation notable du produit. En outre, ces méthodes analytiques de référence sont complexes à mettre en œuvre, coûteuses, chronophages et polluantes (utilisation de produits chimiques). La spectrométrie proche infrarouge (SPIR) représente une alternative intéressante pour la détermination de la nature ou de la composition des échantillons, notamment lorsqu'il y a beaucoup d'échantillons à analyser. En effet, cette méthode rapide permet, entre autres, d'analyser plusieurs constituants en une seule mesure et de préserver l'intégrité des échantillons. Elle a déjà été mise en œuvre pour caractériser la composition des tissus d'animaux et notamment la teneur en matière grasse de la viande de bœuf (Mourot et al., 2013), de porc (Pérez-Marín et al., 2007), de lapin (Zomeño et al., 2011), de poulet (Zhou et al., 2012), de canard (Bastianelli, et al. 2008) ainsi que le foie gras de canard et d'oie (Molette et al., 2001 ; Marie-Etancelin et al., 2010). Concernant le foie gras plus particulièrement, Bastianelli et al. (2011) ont montré que l'acquisition des spectres en laboratoire, après broyage des échantillons, permettait d'obtenir des performances d'étalonnage meilleures que l'acquisition des spectres en surface des foies. Lors d'essais précédents dans notre laboratoire (non montrés), les spectres PIR ont été acquis soit sur des foies après leur éviscération à chaud, soit sur des foies après leur refroidissement. L'effet du moment d'acquisition des spectres sur la qualité de prédiction n'a pas été encore étudié. L'objectif de ce travail est donc de connaître le moment optimal d'acquisition des spectres afin d'améliorer la qualité de prédiction du taux de fonte à la cuisson des foies et de leur taux de lipides.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et analyses des foies

Un lot de 182 canards mulards mâles et femelles a été élevé et gavé à la ferme expérimentale de l'INRA d'Artiguères (INRA-UEPFG, France ; projet MetEpic, Cornuez et al. 2015). Les échantillons de foies gras ont été prélevés et congelés dans de l'azote liquide, puis conservés à -80°C jusqu'à leur analyse. Le taux de fonte a été déterminé sur l'ensemble des échantillons. Pour ce faire, un morceau de 60 g de foie a été stérilisé, en boîte de fer sertie, à 105°C pendant 65 minutes. Le taux de lipides a été mesuré sur un

sous-groupe de 125 échantillons avec une extraction à froid au chloroforme-méthanol (Folch et al., 1957).

1.2. Acquisition des spectres PIR et analyses

Les données spectrales ont été collectées en réflectance (R) dans les régions du visible et du PIR (350-2500 nm, pas de 1 nm) avec un spectromètre portable LabSpec® 5000 (ASD Inc., Boulder (CO), USA) équipé d'un module de contact. Deux acquisitions successives des spectres ont été réalisées sur les mêmes foies : juste après l'éviscération à chaud des canards (spectres « *post* éviscération - PE ») et après refroidissement du foie en chambre froide à 4°C durant 6 h (spectres « *post* éviscération et *post* refroidissement PEPR »). Respectivement six et quatre spectres ont été acquis sur toute la surface du foie et enregistrés en absorbance ($A = \log 1/R$).

Le traitement des spectres et le développement des équations de prédiction ont été réalisés avec le logiciel WinISI (version 4.6.8, FOSS Analytical A/S, Hilleroed, Danemark). Les analyses ont été réalisées sur le spectre moyen de chaque échantillon. La fenêtre spectrale étudiée a été réduite à 650-2350 nm afin d'éliminer le bruit sur les valeurs extrêmes.

Les spectres PE ont été divisés aléatoirement afin de construire un jeu de calibration contenant deux tiers des données et un jeu de validation (le tiers restant). Des jeux de données contenant les mêmes échantillons ont été établis pour les spectres PEPR. Afin de tester, l'efficacité des prédictions dans des conditions variables, les jeux de calibration des spectres acquis sur les foies juste après l'éviscération à chaud ou après refroidissement des foies (PE et PEPR) ont été rassemblés pour former le jeu de calibration avec tous les spectres (Tous). Ce groupe est donc composé de deux répétitions de chaque échantillon de foie l'une avec le spectre PE et l'autre avec le spectre PEPR. Le jeu de validation Tous a été composé de façon identique en regroupant les jeux de validation PE et PEPR.

Des analyses en composantes principales ont été réalisées afin de comparer les groupes d'échantillons. Plusieurs prétraitements mathématiques ont été testés afin d'optimiser la qualité de prédiction du taux de fonte et du taux de lipides des foies. Seul le meilleur prétraitement est présenté ici. Les équations de prédiction ont été établies par régression partielle des moindres carrés (mPLS du logiciel WinISI) après transformation des données par une Standard Normal Variate and Detrend (SNVD) avec une dérivée première et un lissage de 10 (1,10,10,1). Ces équations ont été établies avec les jeux de calibration PE, PEPR et Tous. Des validations croisées ont été effectuées afin d'estimer la robustesse des équations de prédiction. Les erreurs standards de calibration (SEC), erreurs standards de validation croisée (SECV), le coefficient de corrélation R^2 et la variance expliquée (1-VR, la Variance Résiduelle) ont été déterminés pour chacun des modèles de prédiction. Plus le SECV est proche du SEC et plus il est petit,

meilleure est la prédiction. Plus le R^2 et le 1-VR sont élevés, meilleur est le modèle. Les équations obtenues ont été appliquées aux trois jeux de validation (PE, PEPR et Tous). L'erreur standard de la prédiction (SEP) a été déterminée, elle permet d'estimer la qualité de la prédiction du modèle sur un jeu de données séparé. Plus la SEP est proche de la SECV, meilleure est la qualité de prédiction du modèle. On notera $SEP_{PEPR/PE}$ la SEP du jeu de validation PE obtenue avec l'équation développée avec le jeu de calibration PEPR. Lors de la régression, les échantillons considérés comme atypiques (valeur critique « T » $\geq 3,5$) ont été retirés du modèle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les statistiques descriptives des taux de fonte et taux de lipides des foies des groupes de calibration et de validation sont présentées dans le Tableau 1. Pour le taux de fonte, les moyennes et écart-types sont de $33,4 \pm 15,7 \%$ et $33,5 \pm 14,9 \%$ dans les jeux de calibration et de validation et pour le taux de lipides, ils sont respectivement de $55,9 \pm 4,0 \%$ et de $54,9 \pm 4,2 \%$. Les jeux de données sont donc bien représentatifs de l'ensemble des données.

Des ACP réalisées sur les spectres PE, PEPR et tous les spectres n'ont pas montré de séparation entre les spectres des foies des mâles et des femelles (non montré), ainsi, par la suite, le facteur sexe n'est pas pris en compte.

L'ACP représentant les spectres acquis sur les foies en *post* éviscération et *post* refroidissement montre une superposition des deux groupes (Figure 1).

Les équations de prédiction du taux de fonte et du taux de lipides ont été réalisées avec un modèle mPLS de Winisi et un prétraitement mathématique SNVD (1,10,10,1). Les caractéristiques des équations de prédiction développées avec les spectres PE, les spectres PEPR et tous les spectres pour prédire le taux de fonte et le taux de lipides sont présentées respectivement dans les tableaux 2 et 3.

Pour le taux de fonte, l'équation développée à partir des spectres acquis sur les foies en *post* éviscération (PE) donne les meilleurs résultats, car la variance expliquée est la plus grande (86,9%), le coefficient de corrélation est maximal (0,921) et l'erreur standard de la validation croisée est la plus petite (5,729) (Tableau 2). Les performances de l'équation développée sur les spectres acquis sur les foies après refroidissement sont moins bonnes, la variance expliquée n'est que de 74,4% et le SECV est supérieur de 1,7 point (Tableau 2) et celles de l'équation développée sur tous les spectres quel que soit le moment d'acquisition sont intermédiaires. Une étude précédente réalisée sur des spectres acquis sur des foies gras juste après leur éviscération à froid à 24h *post-mortem*, ont montré des performances légèrement meilleures que celles sur les spectres acquis après refroidissement, mais moins bonnes que celles sur les spectres acquis juste après

une éviscération à chaud des foies ($SEC = 5,69$, $R^2 = 0,85$ et $SECV = 6,52$; Marie-Etancelin et al. 2014).

L'application des équations de prédiction du taux de fonte développée avec les spectres PE sur des spectres PE indépendants (jeux de validation PE) montre que la prédiction est de bonne qualité ($SEP_{PE/PE} = 8,977$ et $SEP_{PE/PE} - SECV_{PE} = 3,248$; Tableau 2). Il en est de même pour l'équation développée sur les spectres PEPR ($SEP_{PEPR/PEDR} = 8,651$ et $SEP_{PEPR/PEDR} - SECV_{PEDR} = 1,168$). Les courbes des valeurs prédites du taux de fonte en fonction des valeurs mesurées sont présentées sur la figure 2 (A et B). La pente de la droite tracée avec les valeurs PE est plus proche de 1 (0,83) que celle réalisée avec les valeurs PEPR (0,74). L'équation Tous développée avec les spectres PE et PEPR améliore la prédiction du taux de fonte des foies dont les spectres ont été acquis après refroidissement ($SEP_{Tous/PEPR} = 7,518$ et $SEP_{Tous/PEPR} - SECV_{Tous} = 1,098$) mais dégrade légèrement la prédiction du taux de fonte des foies dont les spectres ont été acquis après éviscération ($SEP_{Tous/PE} = 9,016$ et $SEP_{Tous/PE} - SECV_{Tous} = 2,596$). La prédiction du taux de fonte atteignait une SEP de 7,12 et une valeur de SEP-SECV de 0,6 dans l'étude de Marie-Etancelin et al. (2014), ce qui est meilleur que nos résultats mais les effectifs dans les jeux de calibration et de validation étaient bien supérieurs.

En revanche, lorsque l'équation de prédiction du taux de fonte établie à partir des foies PE est appliquée sur des spectres PEPR, la SEP est 1,5 fois plus élevée par rapport à celle obtenue sur des spectres PE ($SEP_{PE/PEPR} = 18,397$ et $SEP_{PE/PE} = 8,977$; Tableau 2), ce qui montre une forte dégradation de la prédiction du modèle. Cette dégradation est encore plus marquée (multipliée par 2,1) pour l'utilisation de l'équation de prédiction des spectres PEDR pour prédire des valeurs sur des spectres PE ($SEP_{PEDR/PE} = 18,678$ et $SEP_{PEPR/PEDR} = 8,651$; Tableau 2).

En ce qui concerne le taux de lipides, la meilleure équation de prédiction est obtenue avec le jeu de calibration PE ($R^2 = 0,883$, 1-VR = 77,3%, $SECV = 1,860$; Tableau 3). L'application de cette équation sur les spectres du jeu de validation PE montre que la prédiction est de bonne qualité ($SEP_{PE/PE} = 2,325$ et $SEP_{PE/PE} - SECV_{PE} = 0,465$; Tableau 2). De même, la prédiction du taux de lipides avec les spectres PEPR sur les spectres PEPR est bonne ($SEP_{PEPR/PEDR} = 2,638$ et $SEP_{PEPR/PEDR} - SECV_{PEDR} = 0,665$).

De même que pour le taux de fonte, l'équation développée avec tous les spectres améliore légèrement la prédiction du taux de lipides des spectres PEPR ($SEP_{Tous/PEPR} = 2,532$ et $SEP_{Tous/PEPR} - SECV_{Tous} = 0,403$) mais dégrade légèrement celle des spectres PE ($SEP_{Tous/PE} = 2,491$ et $SEP_{Tous/PE} - SECV_{Tous} = 0,369$).

Dans la même étude que Marie-Etancelin et al. (2014), Bastianelli et al. (2011) ont étudié la prédiction du taux de lipides avec des spectres acquis sur des foies gras juste après leur éviscération à froid à 24h *post-mortem*. Ils ont montré des performances

proches de celles présentées ici ($SEC = 2,07$, $R^2 = 0,89$ et $SECV = 2,24$; Bastianelli et al. 2011).

En revanche l'équation développée sur les spectres PE ne permet pas une bonne prédiction des spectres PEPR (SEP multipliée par 5,7 ; ($SEP_{PE/PEPR} = 13,221$ et $SEP_{PE/PE} = 2,325$; Tableau 2), et l'équation développée sur les spectres PEPR n'apporte pas des résultats satisfaisants pour la prédiction des spectres PE ($SEP_{PEDR/PE} = 4,035$ et $SEP_{PEPR/PEDR} = 2,638$; Tableau 3).

Les courbes des valeurs prédites du taux de lipides en fonction des valeurs mesurées sont présentées sur la figure 2 (D,E,F). La pente de la droite tracée avec les valeurs PE est plus proche de 1 (0,81) que celle réalisée avec les valeurs PEPR (0,64).

CONCLUSION

Cette étude confirme que la spectrométrie proche infrarouge permet de prédire le taux de fonte et le taux de lipides des foies gras. Mais elle montre que le moment d'acquisition des spectres influence les résultats obtenus. En effet, les équations, établies à

partir de spectres acquis avant ou après le refroidissement des foies permettent une bonne prédiction du taux de fonte et du taux de lipides pour des spectres acquis dans les mêmes conditions. Pour le taux de lipides, la prédiction est meilleure avec les spectres acquis sur des foies chauds après leur éviscération. En revanche, les équations de prédiction du taux de fonte ou du taux de lipides, établies sur des spectres de foies après éviscération, ne permettent pas une bonne prédiction de la composition des foies, dont les spectres ont été acquis sur des foies après refroidissement, et vice-versa.

L'étude montre qu'il est possible d'analyser de façon conjointe des spectres qui ont été acquis sur des foies encore chauds après leur éviscération et sur des foies déjà refroidis.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Aurélie Tircazes-Secula, UMR GenPhySE, pour la gestion des échantillons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bastianelli, D., Fernandez X., Bernadet MD., Manse H., Bonnal L., Marie-Etancelin C., 2011. Proceedings of the 15th International Conference on Near Infrared Spectroscopy: 13–20 may 2011, Cape Town, 328-330.
- Bastianelli, D., Bonnal L., Chartrin P., Bernadet MD., Marie-Etancelin C., Baéza E., 2008. 8^e JRPFG, Arcachon, France, 161-164.
- Cornuez A., Bernadet MD., Cobo E., Mercierand F., Le Bourhis C., Lessire M., Martin X., Pitel F., Bonnefont CMD., Brun JM., Morisson M., 2015, 11^e JRA-JRFG, 25-26 mars 2015, Tours, 424-428.
- Folch J., Lees M., Sloane Stanley GH., 1957. J. Biol. Chem., (226), 497–509.
- Marie-Etancelin, et al., 2010. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, Allemagne.
- Marie-Etancelin C., Vitezica ZG., Bonnal L., Fernandez X., Bastianelli D., 2014. GSE, (46) 38.
- Molette, C., Berzaghi P., Dalle Zotte A., Rémignon H., Babilé R., 2001. Poult. Sci., (80), 1625-1629.
- Mourou BP., Gruffat D., Durand D., Chesneau G., Mairesse G., Andueza D., 2013. Nutrition clinique et métabolisme, (27), S45.
- Pérez-Marín, D., Garrido-Varo A., De Pedro E., Guerrero-Ginel JE., 2007. Chemometrics and intelligent laboratory systems, (87), 241-246.
- Zhou, LJ., Wu H., Li JT., Wang ZY., Zhang LY., 2012. Meat Sci, (90), 658-664.
- Zomeño, C., Hernandez P., Blasco A., 2011. World Rabbit Science, (19), 203-208.

Tableau 1. Statistiques descriptives du poids de foie, du taux de fonte et du taux de lipides pour les 3 jeux de données : calibration, validation et de l'ensemble des données.

	Poids foie			Taux fonte			Taux lipides		
	Calibration n=121	Validation n=61	Ensemble n=182	Calibration n=121	Validation n=61	Ensemble n=182	Calibration n= 89	Validation n=36	Ensemble n=125
Minimum	321	328	321	6,1	6,3	6,1	47,0	44,6	44,6
Maximum	779	740	779	58,5	61,6	61,6	64,1	61,9	64,1
Moyenne	528	533	530	33,4	33,5	33,5	55,9	54,9	55,6
Ecart-type	90	110	97	15,7	14,9	15,4	4,0	4,2	4,1

Tableau 2. Caractéristiques des équations de prédiction du taux de fonte obtenues sur les jeux de calibration (post éviscération [PE], post refroidissement [PEPR] et sur la combinaison de ces deux jeux [Tous]) et appliquées à chacun des trois jeux de validation (PE, PEPR et Tous).

	Calibration					Validation - SEP		
	Effectif	SEC	R ²	SECV	1-VR	Jeu Val. PE (n=61)	Jeu Val. PEPR (n=61)	Jeu Val. Tous (n=122)
Equation PE	112/121	4,460	0,921	5,729	0,869	8,977	18,397	14,475
Equation PEPR	119/121	6,433	0,835	7,483	0,744	18,678	8,651	14,555
Equation Tous	230/242	5,548	0,875	6,420	0,832	9,016	7,518	8,301

SEC : erreur standard de la calibration ; R² : coefficient de corrélation ; SECV : erreur standard de la validation croisée ; 1-VR : variance expliquée par le modèle ; SEP : erreur standard de la prédiction.

Tableau 3. Caractéristiques des équations de prédiction du taux de lipides obtenues sur les jeux de calibration (post éviscération [PE], post refroidissement [PEPR] et sur la combinaison de ces deux jeux [Tous]) et appliquées à chacun des trois jeux de validation (PE, PEPR et Tous).

	Calibration					Validation - SEP		
	Effectif	SEC	R ²	SECV	1-VR	Jeu Val. PE (n=36)	Jeu Val. PEPR (n=36)	Jeu Val. Tous (n=72)
Equation PE	88/89	1,344	0,883	1,860	0,773	2,325	13,221	9,492
Equation PEPR	85/89	1,728	0,797	1,973	0,732	4,035	2,638	3,409
Equation Tous	175/178	1,760	0,797	2,129	0,701	2,491	2,532	2,512

Figure 1. ACP de l'ensemble des spectres acquis après l'éviscération des foies (croix bleues) et après leur refroidissement (carrés verts)

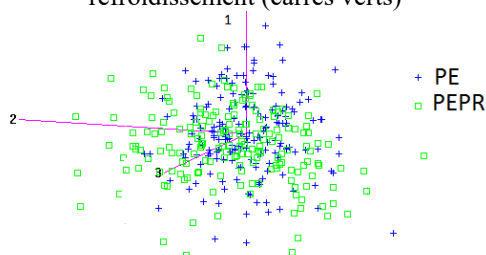


Figure 2. Représentations graphiques des valeurs prédites en fonction des valeurs mesurées pour le taux de fonte (A, B et C) et pour le taux de lipides (D, E et F) à partir de spectres acquis sur les foies post éviscération (A et D), sur les foies post refroidissement (B et E) et sur l'ensemble des foies (C et F).

