



Déclaration d'intérêts en rapport avec la présentation

➤ **Activités de conseil, fonctions de gouvernance, rédaction de rapports**

Non

Société(s) :

➤ **Essais cliniques, autres travaux, communications de promotion**

Non

Société(s) :

➤ **Intérêts financiers (actions, obligations)**

Non

Société(s) :

➤ **Liens avec des personnes ayant des intérêts financiers ou impliquées dans la gouvernance**

Non

Société(s) :

➤ **Réception de dons sur une association dont je suis responsable**

Non

Société(s) :

➤ **Détention d'un brevet, rédaction d'un ouvrage utilisé par l'industrie**

Non

Société(s) :

* *Effacer l'option inadéquate*



VetAgro Sup

INTERET DE LA SPECTROSCOPIE DE FLUORESCENCE POUR LA CARACTERISATION DES PRODUITS ANIMAUX

Abderrahmane AÏT KADDOUR – UR CALITYSS – Equipe COQUA

MC Sciences et technologies des aliments
VetAgro Sup campus agronomique

abderrahmane.aitekaddour@vetagro-sup.fr

VetAgro Sup Campus Agronomique

89 Avenue de l'Europe

PLAN

I. Introduction : la spectroscopie, généralités et applications

II. Principe de la spectroscopie de fluorescence (SF)

III. Cas concret : Evaluation de la composition lipidique de la viande

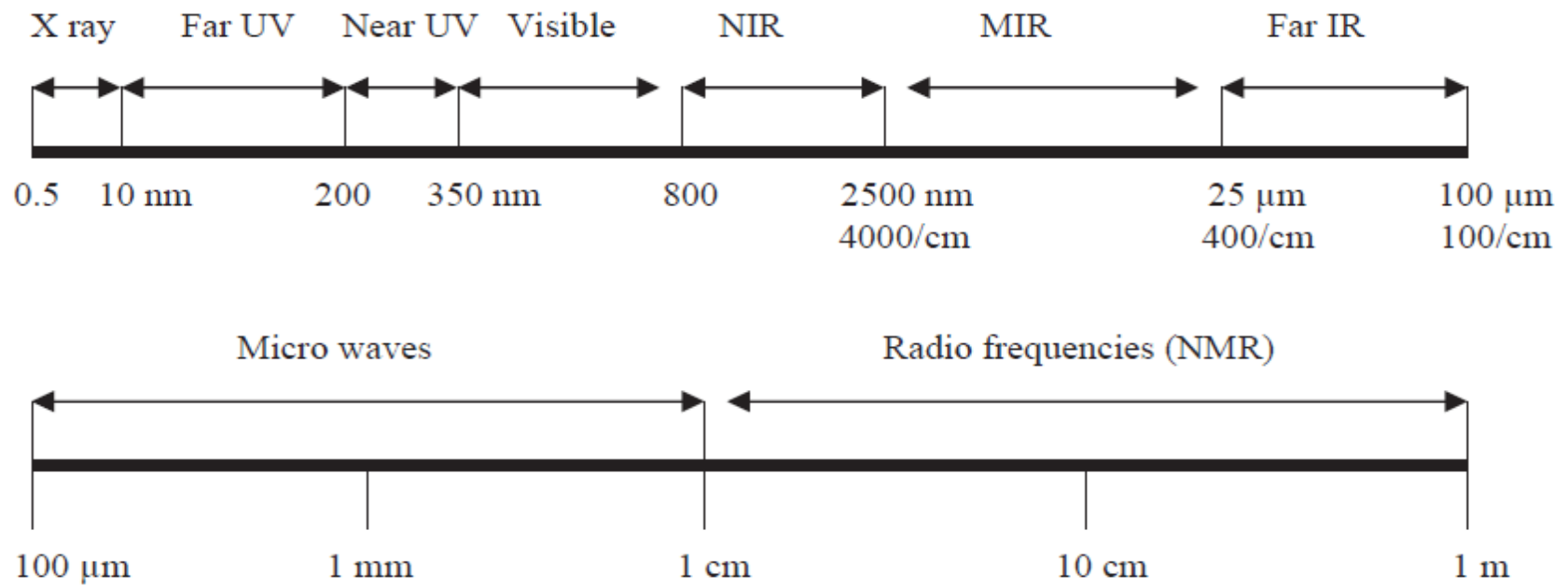
IV. Conclusion

SPECTROSCOPIE

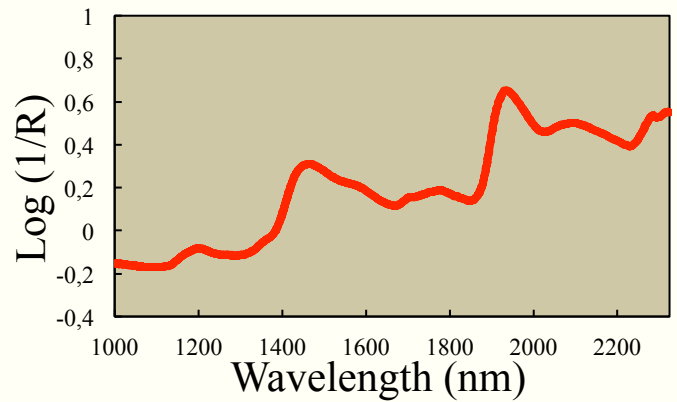
Généralités et applications

La spectroscopie : généralités

Un ensemble de techniques qui étudient le **rayonnement électromagnétique absorbé par la matière**

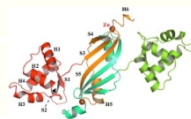


Dufour 2011, IJDT



La spectroscopie : applications

1- Recherche (structure des protéines...)



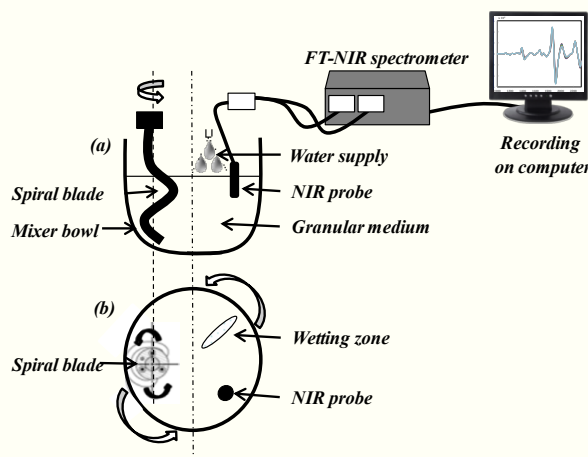
2- Recherche et développement (optimisation...)



3 - Contrôle qualité (matière première...)



4 - Suivi de procédé (PAT) (mélange...)



Acquisition des données

A

Sélection de variables

B

Prétraitement des données

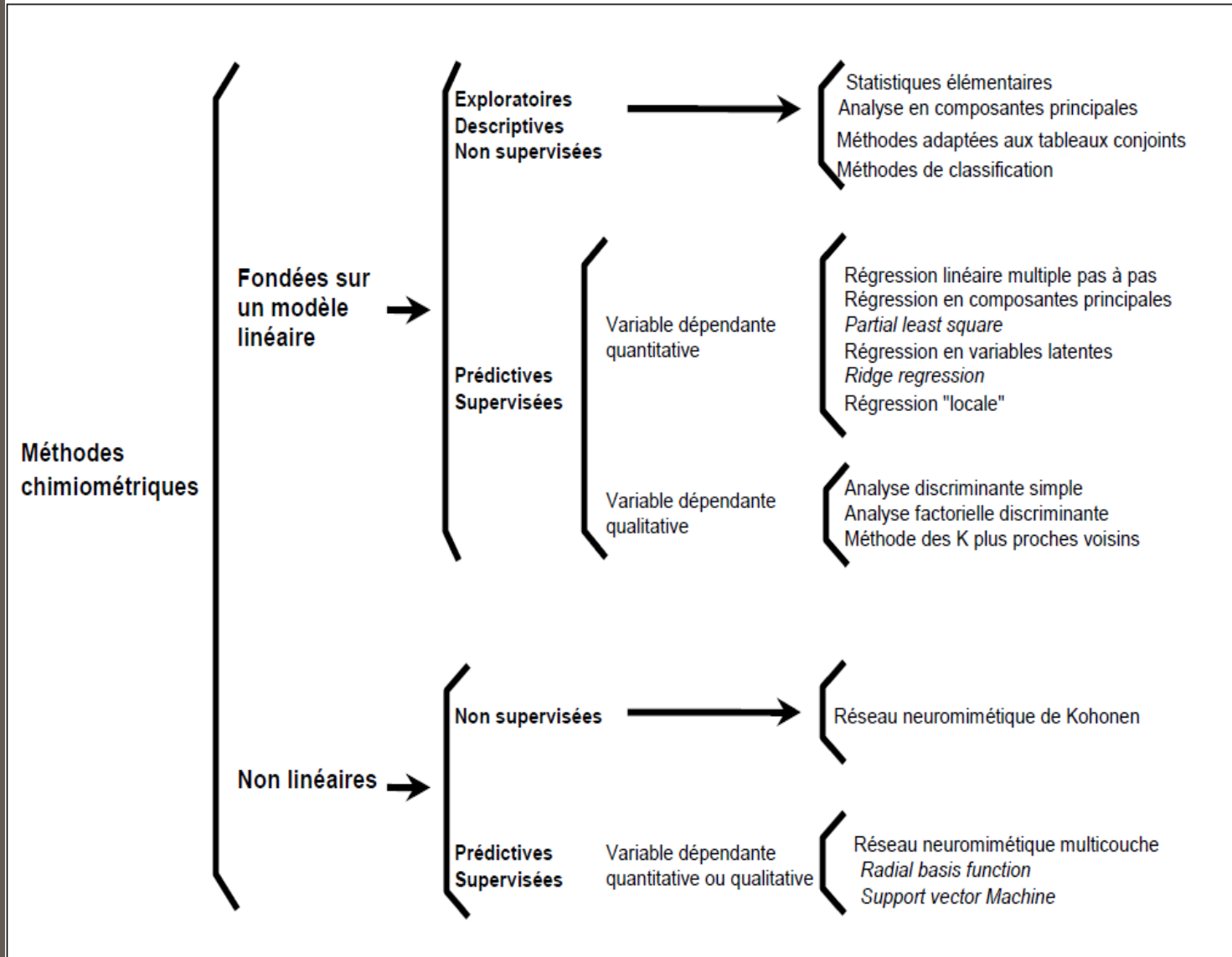
C

Analyse de données

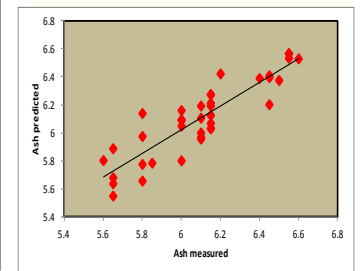
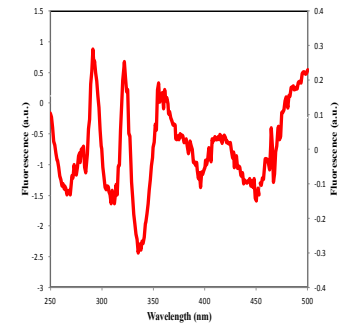
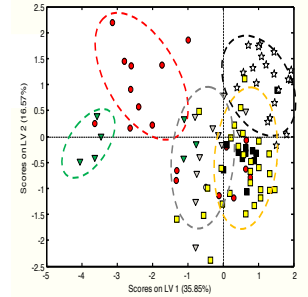
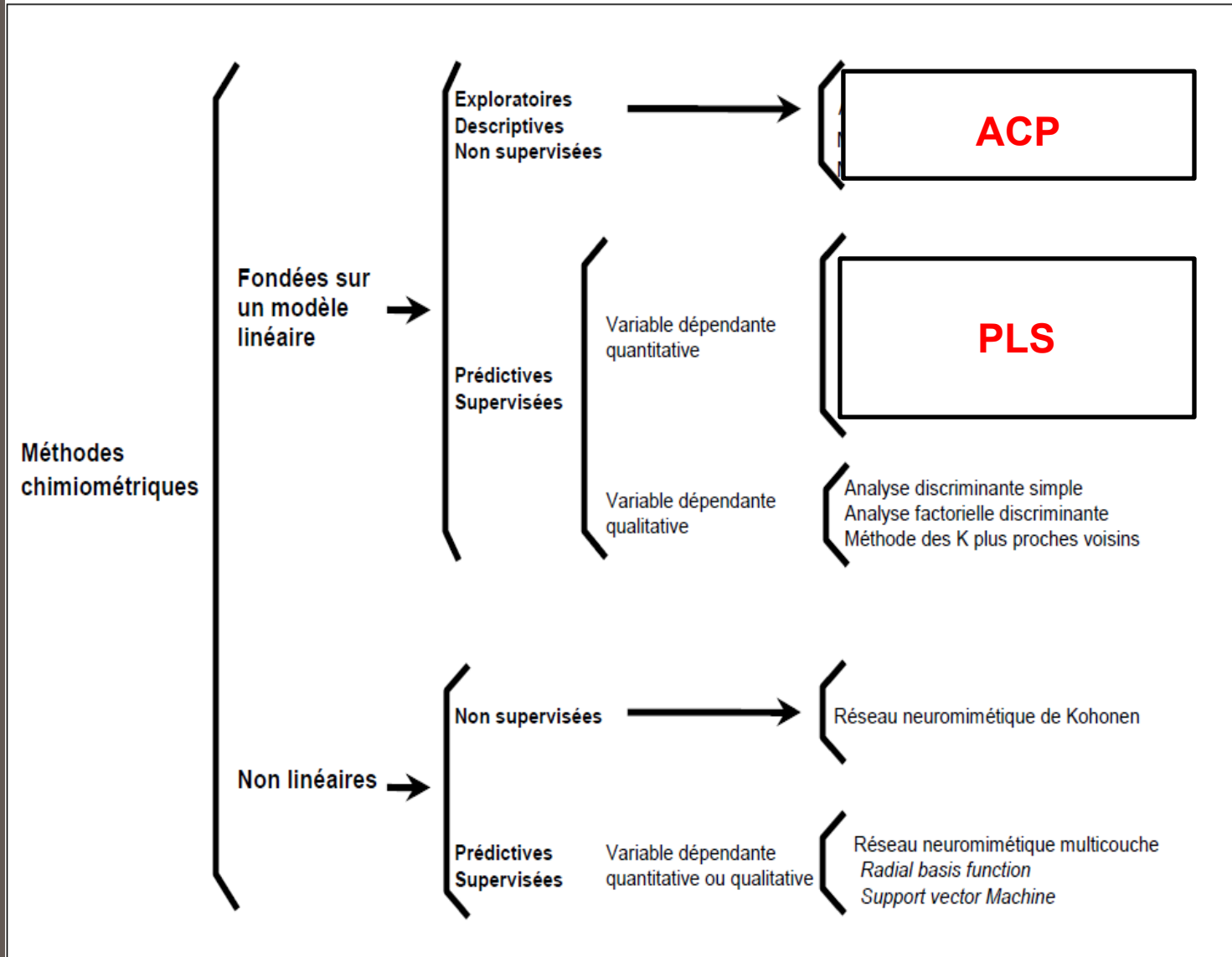
D

Interprétation des résultats

La spectroscopie : lien étroit avec la chimiométrie



La spectroscopie : lien étroit avec la chimiométrie

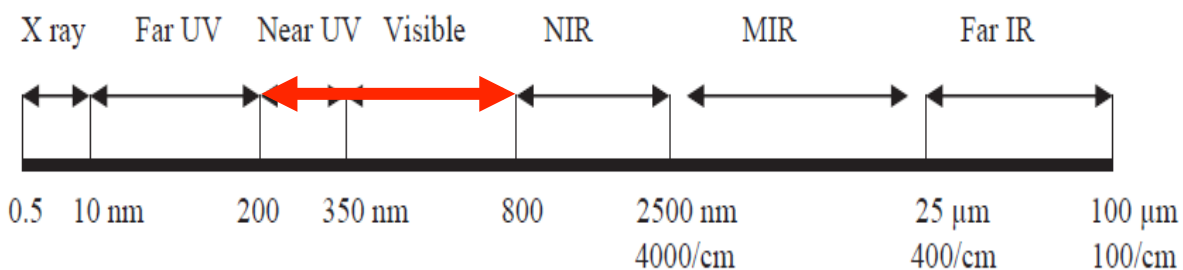


PRINCIPE

Spectroscopie de fluorescence

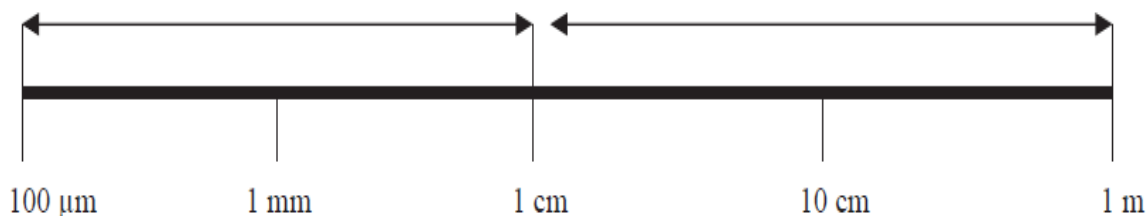
Spectroscopie de fluorescence : les fluorophores

Dufour 2011,
IJDT

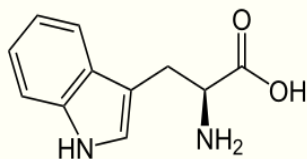


Micro waves

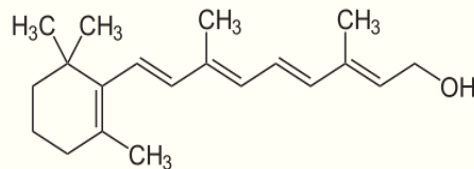
Radio frequencies (NMR)



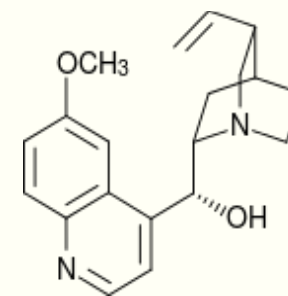
Dufour 2011,
IJDT



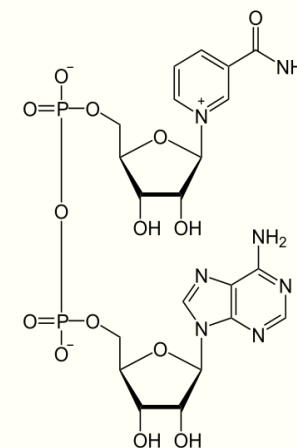
Tryptophane



Vitamine A



Quinine



NADH

Spectroscopie de fluorescence : Le diagramme de Jablonski

PRINCIPE

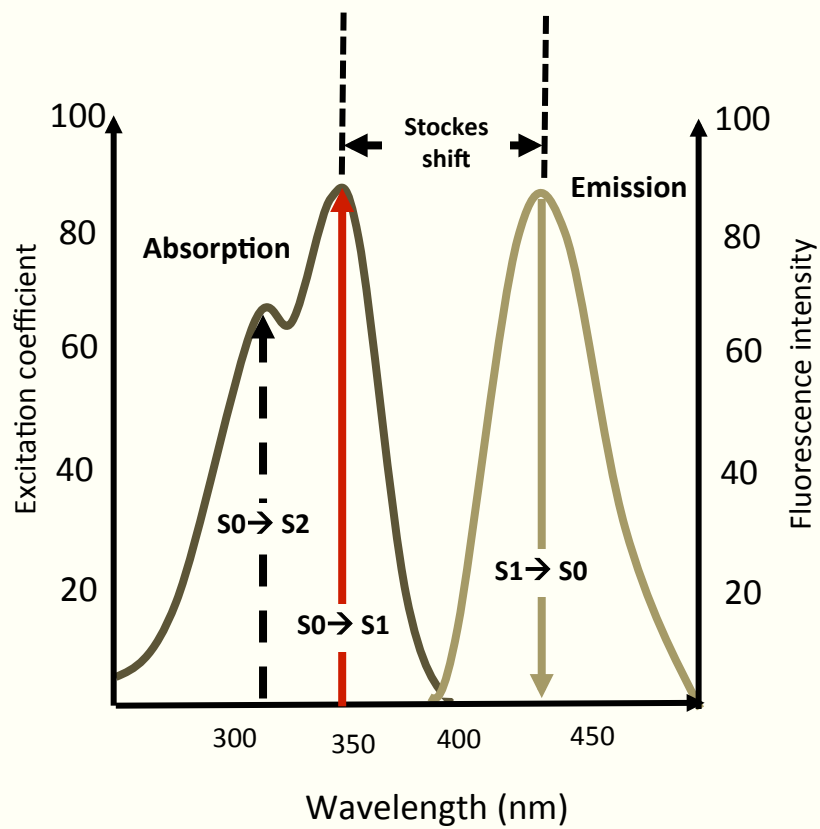
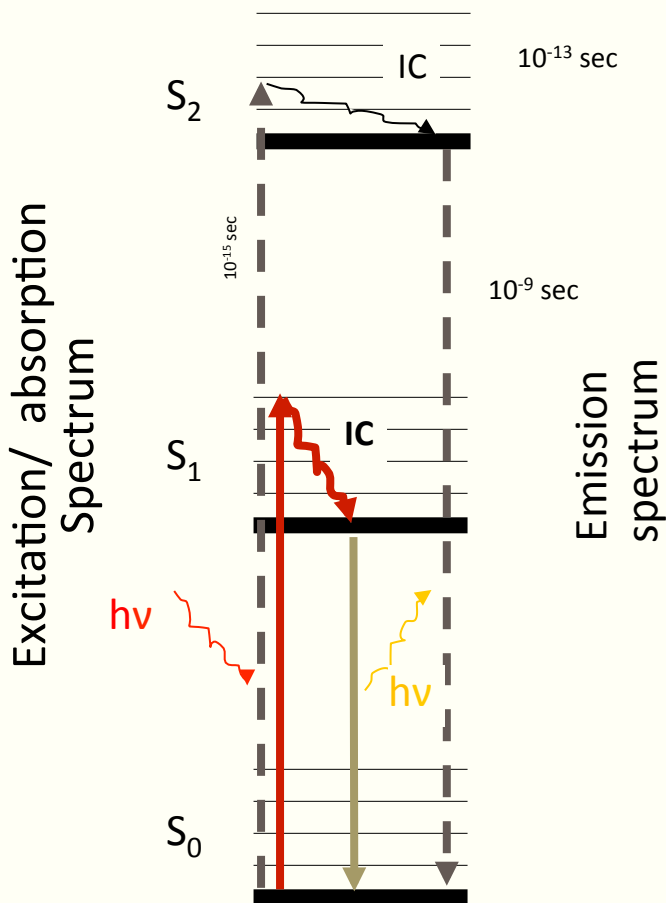
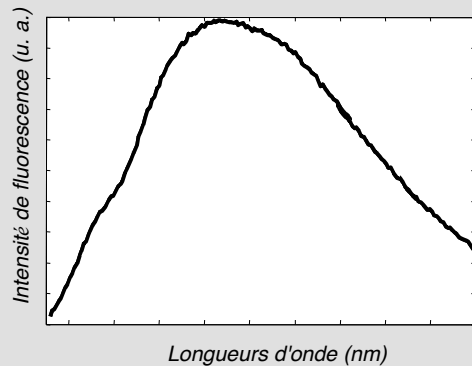
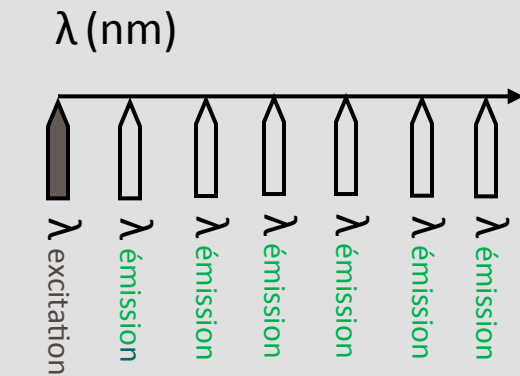


Figure 1.4. Professor Alexander Jablonski (1898–1980), circa 1935. Courtesy of his daughter, Professor Danuta Frackowiak.

Les différents spectres de fluorescence

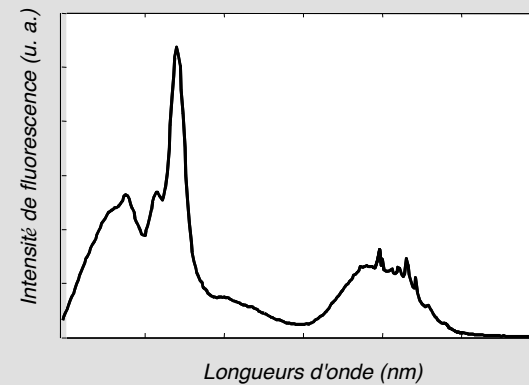
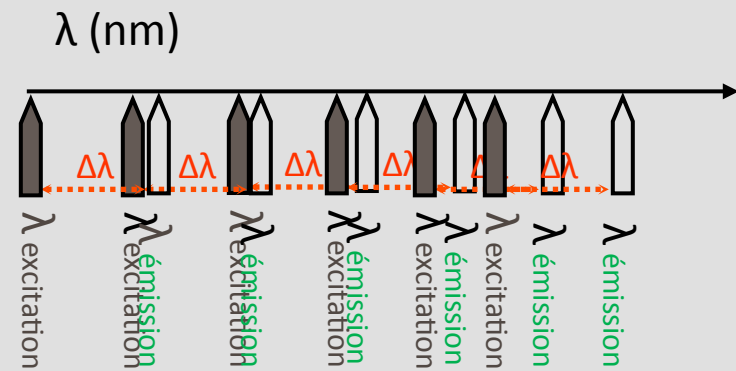
SFS : Caractérisation simultanée de plusieurs fluorophores

Spectre d'émission



Fluorescence à angle droit/frontale

Spectre synchrone



Fluorescence à angle droit/frontale

Spectroscopie de fluorescence

Qualité des produits d'origine animale

Le domaine des produits animaux

- **Authentification** de produits alimentaires (fromages...)
- **Evaluation des propriétés/caractéristiques** :
 - physico-chimiques (structure ...),
 - Nutritionnelles (teneurs en MG, protéine...),
 - Fonctionnelles (fonte MG...)
 - Sensorielles (oxydation poisson, tendreté viande..)
- Etude des **relations structure-texture**
- Evaluation de la **qualité microbiologique**
- **Process Analytical Technology** (coagulation du lait, affinage de fromages...)



CAS CONCRET

Evaluation de la composition lipidique de la viande

**Etude financée par un crédit incitatif « bottom-up » du Département
Physiologie Animale et Systèmes d'élevage (PHASE).**

Evaluation de la composition lipidique de la viande

IV



Composition lipidique

UR CALITYSS
UMR H

- Contrôle des caractéristiques des matières 1^{ère}

→ utilisation en l'état

→ utilisation en mélange

- Informer précisément le consommateur

→ teneur en lipides

→ composition en A.G.

(règlement UE n° 1169/2011).

L'étiquetage nutritionnel sera obligatoire à partir du 13 décembre 2016.

ÉTIQUETAGE NUTRITIONNEL	Unité de mesure (pour 100 g/100 ml)
Valeur énergétique	KJ/Kcal
Graisses dont	g
Acides gras saturés	g
Glucides dont	g
Sucres	g
Protéines	g
Sel	g

Ces sept éléments sont obligatoires. Il est possible d'ajouter d'autres nutriments : acides gras mono-insaturés, acides gras poly-insaturés, polyols, amidon, fibres alimentaires, vitamines et sels minéraux (présents en quantité significative) et autres nutriments allégués. Les exploitants peuvent préciser, près de cet étiquetage, que "le sel est exclusivement dû à la présence de sodium présent naturellement". Calcul selon la formule : sel = sodium x 2,5.

Evaluation de la composition lipidique de la viande

Matériels et méthodes

Matière première

- **85 échantillons** (Longissimus thoracis)
- **3 races : AN, LI, BA** (taurillons)
- 4 régimes, T, RL, RLE, RLEAOV
- Muscles réduits en poudre (-80°C, INRA – UMR H)
- Echantillonnage (5 g, -20°C, INRA – UMR H)
- Conservation à -20°C (VetAgro Sup – UR CALITYSS)

Analyse biochimique

33 composés lipidiques analysés (INRA)

Composés lipidiques

Lipides totaux	C20:5 n3
AG totaux	C22:5 n3
AGS totaux	C22:6 n3
AGS ramifiés	...
AGS linéaires	...
AGMI totaux	...
AGMI cis	
AGMI trans	
AGPI totaux	
AGPI n-6 trans	
C14	
C16	
C18	
C18:1 9 cis	
C18:1 9 trans	
C18:1 10-11 trans	
C18:3 n-3	
CLA	

Evaluation de la composition lipidique de la viande

Matériels et méthodes

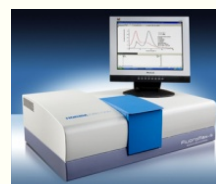
Matière première

- **85 échantillons**
- **1 seul muscle** : Longissimus thoracis
- **3 races** : AN, LI, BA
- 4 régimes, T, RL, RLE, RLEAOV
- Muscles réduits en poudre (-80°C, INRA – UMR H)
- Echantillonnage (5 g, -20°C, INRA – UMR H)
- Conservation à -20°C (VetAgro Sup – UR CALITYSS)

Analyse biochimique

33 composés lipidiques analysés (INRA)

Analyse spectrale



Fluoromax-4 équipé d'une cellule pour échantillons solides
Mesure à 20°C

Mesures SFF

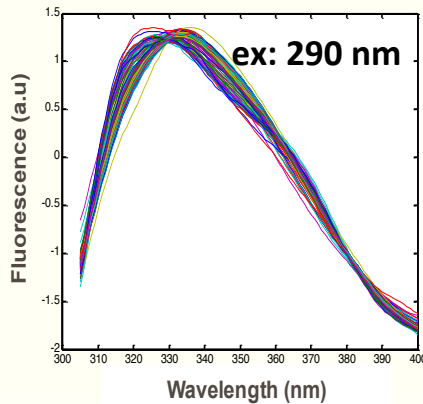
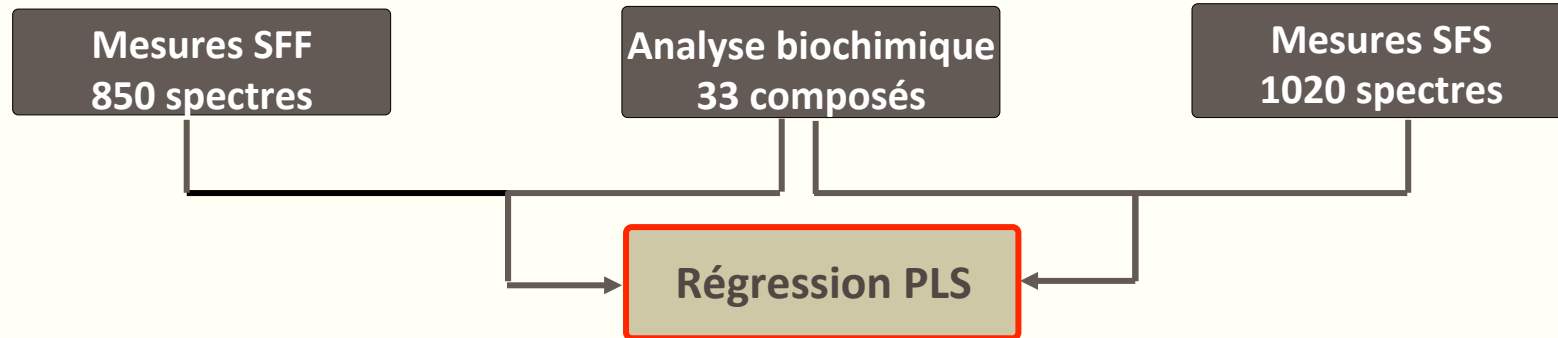
Fluorophore	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)
"Vit. A"	322	340-540
"Vit. E"	350	400-650
"Vit. B2"	382	410-700
"NADH"	335	360-570
"Trp"	290	305-400

Mesures SFS

Plage d'excitation: 250-550 nm
 $\Delta\lambda$: 20-40-60-80-100-120 nm

Evaluation de la composition lipidique de la viande

Matériels et méthodes



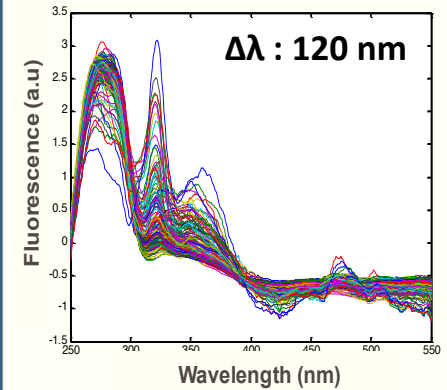
1- Matlab 7.0.4 software PLS-Toolbox®

2- **Lissage** des données par méthode Savitsky - Golay

3 - **Prétraitements** : Raw, SNV, MSC, AREA

4- **Validation** des modèles :

5- Qualité des modèles R^2_p , RPD_p, R^2_{cv} , RPD_{cv},



Evaluation de la composition lipidique de la viande

Résultats – tableaux des régressions

Composé	Σ lipides	Σ AG	Σ AGS Linéaires	Σ AGS Ramifiés	Σ AGS	Σ AGMI cis	Σ AGMI trans	Σ AGMI
R2p	0,80	0,81	0,82	0,76	0,82	0,84	0,68	0,81
méthode	Δλ: 40 nm	Δλ: 40 nm	Δλ : 40 nm	Δλ : 120 nm	Δλ: 40 nm	Δλ: 40 nm	320 nm	Δλ: 40 nm

Composé	Σ AGPI n-6 trans	Σ AGPI	Σ CLA	C14-0	C16-0	C18-0	C18-1 Δ 9 cis	C18-1 Δ 9 trans	C18-1 Δ 10-11 trans
R2p	0,60	0,56	0,68	0,81	0,82	0,80	0,84	0,79	0,67
méthode	320 nm	320 nm	320 nm	Δλ: 40 nm	Δλ: 40 nm	Δλ: 120 nm	Δλ : 40 nm	Δλ: 40 nm	320 nm

Pour 17 composés/33 on a une *bonne* prédiction ($0,56 \leq R2p \leq 0,84$)

Meilleure prédiction des AGS / AGPI → teneur dans la viande

CONCLUSION

Une méthode qui a beaucoup de potentiel

- Etude de produits complexes (composition, structure, qualité ...)
- Plus spécifique et sensible que l'IR
- Rapide
- Non destructrice/non invasive
- Coût faible en fonctionnement
- Non polluante
- Miniaturisable



Spectrofluorimètres portables

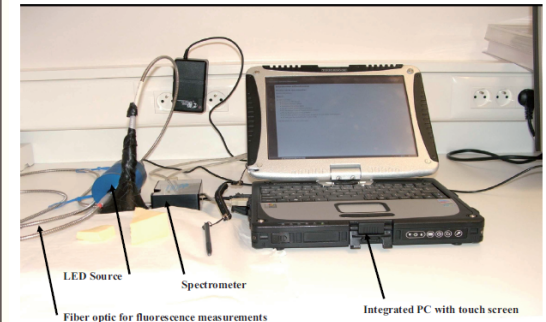
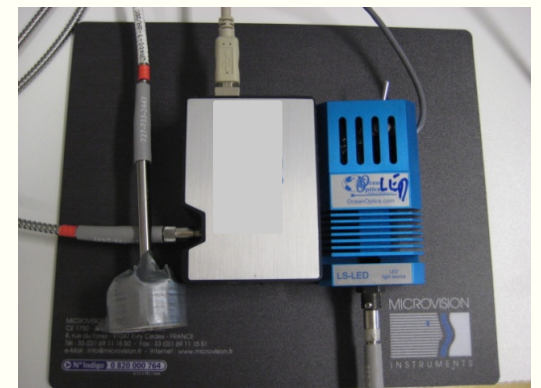


Figure 1. Integrated portable spectrofluorometer.

Karoui et Dufour, 2008 Dairy Sci. Technol.

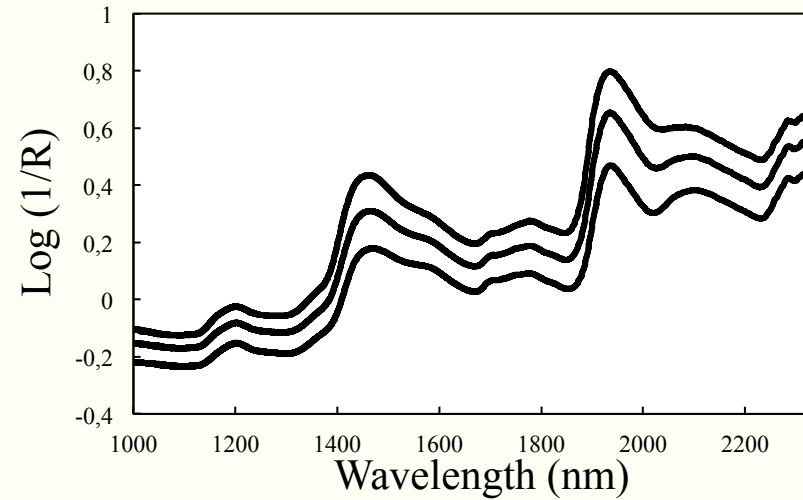
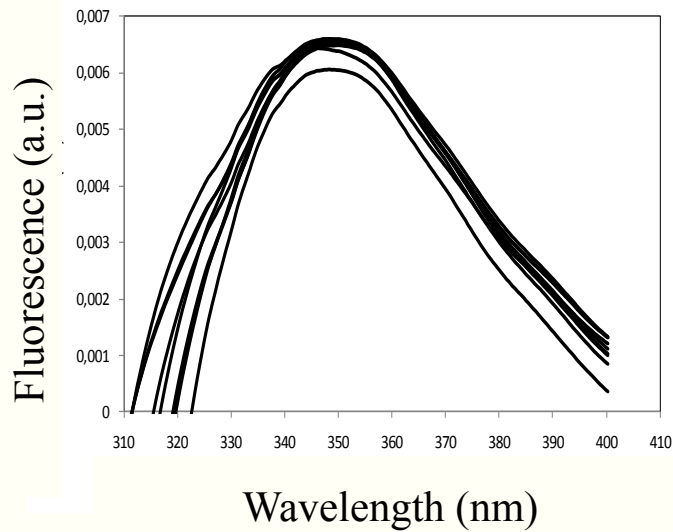


Aït Kaddour et al 2013, Meat Science

SF vs SPIR

Tableau - Comparaison SPIR et SF

R ²	Σ lipides	Σ AGS	Σ AGI	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
SPIR	0,61 – 0,92*	0,86**	0,90**	0,23**	0,10-0,69**	0,90**	0,72-0,92**	0,04**	0,92**
SF	0,82	0,82	0,27-0,84	0,81	0,82	0,80	0,67-0,84	0,26	0,34



CONCLUSION

*Rodbotten et al. (2002); Rodbotten et al. (2002); Alomar et al. (2003); Cozzolino et al. (2002); Cozzolino et al. (2002)

**Realini et al. (2004); Windham and Morrison (1998)

SF vs SPIR

Tableau - Comparaison SPIR et SF

R ²	Σ lipides	Σ AGS	Σ AGI	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
SPIR	0,61 – 0,92*	0,86**	0,90**	0,23**	0,10-0,69**	0,90**	0,72-0,92**	0,04**	0,92**
SF	0,82	0,82	0,27-0,84	0,81	0,82	0,80	0,67-0,84	0,26	0,34

Une méthode prometteuse

*Rodbotten et al. (2002); Rodbotten et al. (2002); Alomar et al. (2003); Cozzolino et al. (2002); Cozzolino et al. (2002)

**Realini et al. (2004); Windham and Morrison (1998)

Les limites de la SF

Calibration et validation du modèle :

- choix des échantillons (variabilité)
- nombre d'échantillons de calibration (≥ 50)
- conditions expérimentales
- analyses de référence
- nombre d'échantillons de validation (1/3 calibration)

Coût important

Temps long

Représentativité de la mesure :

- surface petite (nombre de mesures)
- échantillons anisotropes

L'imagerie
multispectrale

L'imagerie
hyperspectrale






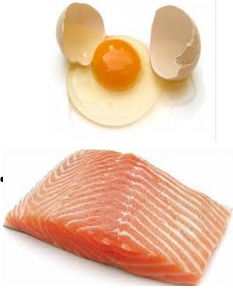


Bordeaux
11 - 13 décembre 2013

MERCI !!



Le domaine des produits animaux

<p>I.</p> 	<p>Acides aminés</p> <p>Acides nucléiques</p> <p>P. Réaction de Maillard</p>	<p>IV.</p> 	<p>Acides aminés</p> <p>Acides nucléiques</p> <p>P. Réaction de Maillard</p>
<p>II.</p> 	<p>NADH</p> <p>FADH</p> <p>Produits d'oxydation</p>	<p>V.</p> 	<p>Collagène</p> <p>NADH</p> <p>Produits d'oxydation</p>
<p>III</p> 	<p>Vitamine A</p> <p>Vitamine B2</p> <p>Vitamine E</p>	<p>VI.</p> 	<p>Pyridinoline/riboflavin</p> <p>Vitamine A</p>

REFERENCE*	MUSCLE	PIR
Rodbotten et al. (2002)	Boeuf (intact)	0.64
Rodbotten et al. (2002)	LD (intact)	0.61
Alomar et al. (2003)	Boeuf (broyage)	0.83
Cozzolino et al. (2002)	LD (intact)	0.89
Cozzolino et al. (2002)	LD (broyage)	0.92