

La mise en œuvre de méthodes analytiques permettant de caractériser les viandes selon leur origine géographique ou selon le type d'alimentation des animaux répond à une forte demande sociale. La Station de Recherches sur la Viande et l'Unité de Recherches sur les Herbivores de l'Inra de Clermont-Ferrand/Theix contribuent activement aux recherches conduites dans ce domaine. Les techniques utilisées sont essentiellement basées sur des méthodes spectrales (spectrométrie de masse ou résonance magnétique nucléaire) et consistent à rechercher des traceurs spécifiques sur ces points.

L'objectif de cet article est de montrer que l'analyse des composés volatils dans les tissus adipeux des animaux est une piste à explorer si l'on désire contrôler certains aspects liés au mode de production des viandes, en relation ou non avec leur origine géographique. Parmi les composés volatils considérés dans ce travail, certains sont directement issus des végétaux consommés par les animaux, comme les terpènes. Ces substances, ainsi que leurs dérivés oxygénés (ou terpénoïdes), sont rencontrés en quantités et proportions variables dans la plupart des végétaux consommés par les herbivores [1-3]. Ils sont qualitativement et quantitativement très abondants chez certaines ombellifères et composées des prairies naturelles comme la cistre (*Meum athamanticum*) ou l'Achillée millefeuille (*Achillea millefolium*). À l'inverse, les terpènes sont très mal représentés chez les graminées et dans les prairies cultivées qui sont aujourd'hui essentiellement (voire uniquement) semées en graminées. Sur un plan chimique, les terpènes sont des substances lipophiles qui se retrouvent concentrées par simple affinité dans les matières grasses des produits animaux tels que le lait, le fromage ou la viande [4-10]. Comme d'une région à l'autre, la flore des prairies naturelles [11] ainsi que les pratiques alimentaires des animaux sont très différentes, la composition des terpènes ingérés est également différente. Sur la base de ces observations, il semble que les profils terpéniques des produits animaux puissent constituer une signature des végétaux, qu'il est envisageable de relier à certains éléments du terroir [12].

## Tracer l'alimentation des bovins

# Déchiffrer le message des composés volatils des tissus adipeux

**L'information contenue dans la fraction volatile des tissus adipeux permet l'authentification de certains modes de conduite des animaux. Ainsi, les terpènes renseignent sur la diversité floristique de l'alimentation et constituent l'empreinte de la région d'élevage. Le 3-méthylindole et la 2,3-octanedione, pour leur part, témoignent d'une alimentation "en vert".**

CORNU A. <sup>(1)</sup>, KONDJOYAN N. <sup>(2)</sup>, FRENCIA J.P. <sup>(3)</sup>, BERDAGUE J.L. <sup>(2)</sup>

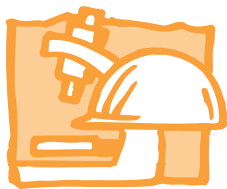
<sup>(1)</sup>Unité de Recherche sur les Herbivores,

<sup>(2)</sup>Station de Recherches sur la Viande

INRA, Theix, 63122 SAINT-GENÈS CHAMPANELLE

<sup>(3)</sup>ADIV, 2 rue Chappe, 63039 CLERMONT FERRAND cedex 2.

Science et technique



D'autres composés volatils, provenant du métabolisme, peuvent aussi être considérés comme des traceurs de certains modes de conduite des animaux. Ainsi, la 2,3-octanedione est un marqueur reconnu de l'alimentation à l'herbe verte chez les agneaux [9] comme chez les bovins [13]. Il en est de même pour le 3-méthylindole, produit de la dégradation ruminale du tryptophane.

Dans cette étude, les composés volatils ont été analysés dans les tissus adipeux de bovins choisis pour leurs alimentations très différentes. Certains ont été nourris essentiellement à base de graminées au pâturage, ou à l'ensilage de maïs (animaux élevés en Normandie), d'autres à partir de foin de prairies naturelles (animaux élevés dans la région du Mézenc). Le Mézenc, région montagneuse située en bordure orientale du Massif Central, a été choisi comme exemple de site géographique possédant une diversité floristique importante. En particulier, la composition en terpènes des foin du Mézenc est fortement influencée par la présence de cistre dans ces foin.

## LES TERPÈNES : UNE PRÉSENCE FAIBLE MAIS CARACTÉRISTIQUE

Les principaux composés volatils identifiés dans les tissus adipeux sont, par ordre quantitativement décroissant, des alcanes, des aldéhydes, des cétones, des alcools, des acides, des lactones, des alcènes, des terpènes, des esters et des composés benzéniques. Bien que présents pour la plupart à l'état de traces, les terpènes sont facilement détectables grâce à leurs ions caractéristiques (figure I). Le profil chromatographique sur ions spécifiques peut être considéré comme l' "empreinte terpénique" du gras sous-cutané d'un animal. Dans le cas des animaux 'BFGM', l'existence de bonnes corrélations ( $r = 0,76$ ;  $P < 0,05$ ) entre les profils terpéniques des foin du Mézenc consommés par les animaux et les profils terpéniques de leurs tissus adipeux a pu être démontrée expérimentalement (données non présentées).

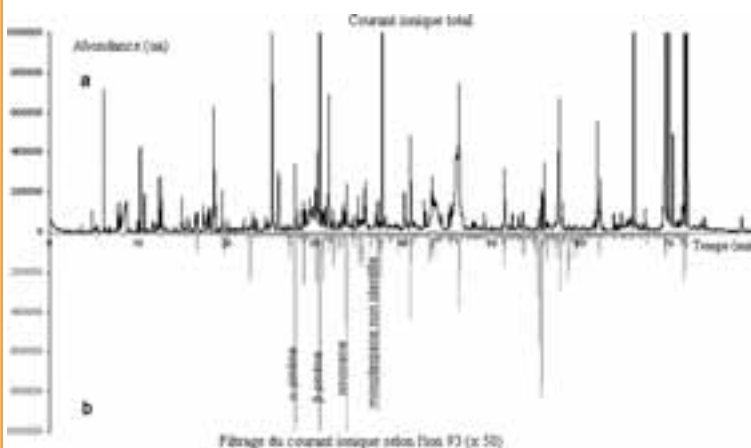
L'analyse des tissus adipeux de tous les animaux a permis de détecter 22 terpénoïdes. Dix d'entre eux ( $\alpha$ -

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Au total, 10 animaux ont été utilisés dans cette étude : huit "bœufs Fins-Gras du Mézenc" (BFGM) provenant de 5 élevages de Haute Loire (43), et deux bœufs originaires du domaine Inradu Pin au Haras (PH) dans l'Orne (61). Les BFGM comprenaient six génisses abattues en 1997 (BFGM 1 à 6) et deux bœufs abattus en 2000 (BFGM 7 et 8). Ces animaux ont essentiellement été alimentés à partir d'herbe ou de foin de prairies naturelles contenant de la cistre. Trois des génisses de 1997 avaient reçu, en plus du foin de la région du Mézenc, 10 % d'un complément à base de céréales et de soja (animaux BFGM 1, 4 et 5). Les deux bœufs du Pin au Haras abattus en 1998, étaient alimentés l'un à l'ensilage de maïs (PHe), l'autre au pâturage (PHv). Les animaux avaient entre 18 mois et 3 ans et leurs poids variaient de 200 à 600 kg.

Les échantillons de tissus adipeux (sous-cutané pour les 10 animaux et en plus intra-péritonéal (-p) pour ceux du Pin au Haras), prélevés dans différents abattoirs, ont été stockés à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , à l'abri de l'air et de la lumière. L'analyse des composés volatils a été faite sur des fragments de 0,3 g de tissus adipeux, par "ETD-CPG-SM" (cf. encadré).

**FIGURE I :  
LES TERPÈNES SONT FACILEMENT REPÉRABLES**



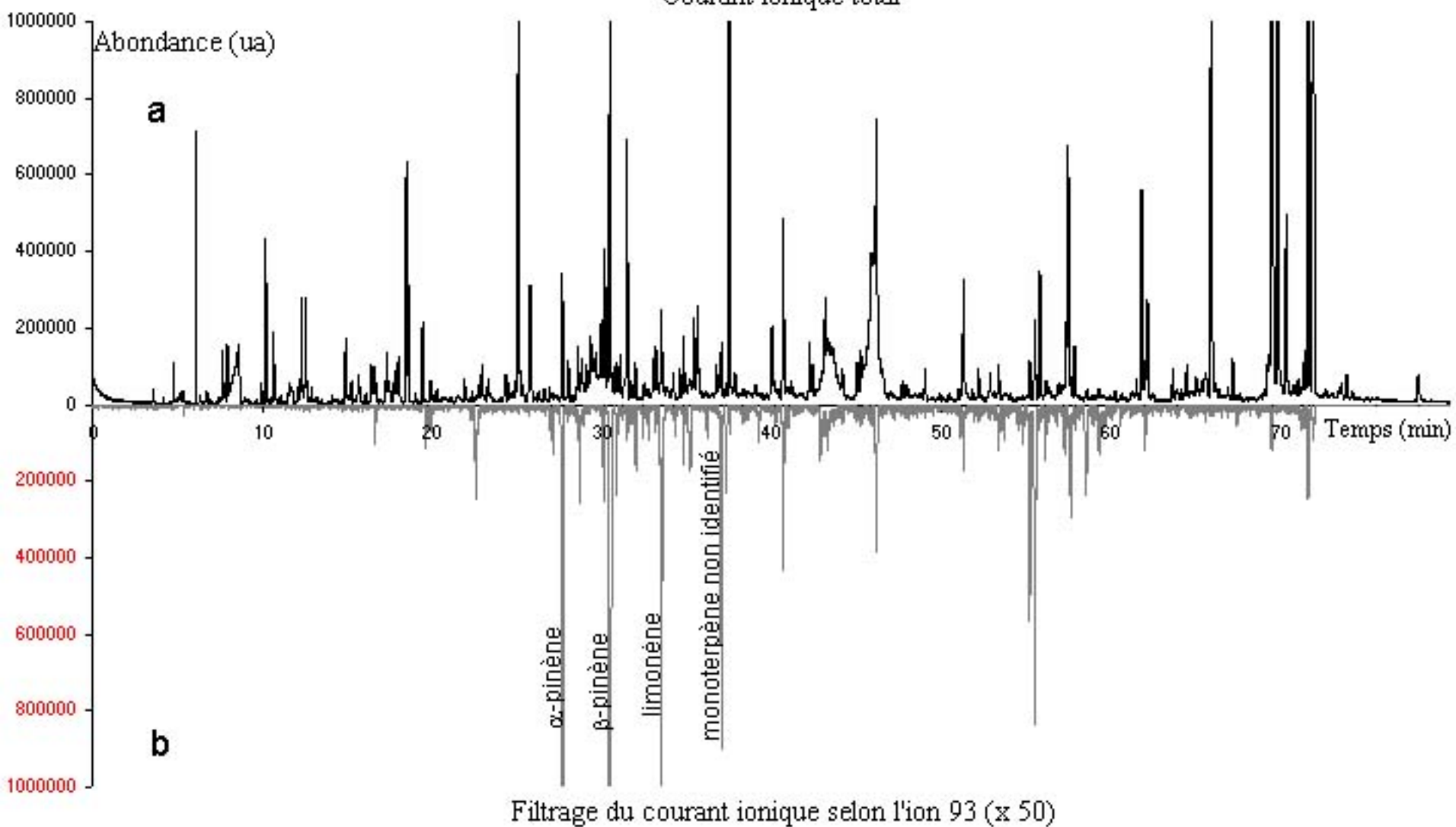
*Le profil chromatographique sur ions spécifiques peut être assimilé à une signature des composés terpéniques du gras sous-cutané des animaux.*

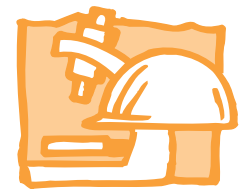
*Analyse du tissu adipeux sous-cutané du bœuf fin gras du Mézenc 'BFGM1' : (a) chromatogramme du courant ionique total (b) chromatogramme de l'ion 93 extrait. Les terpènes sont pour la plupart présents à l'état de traces. En revanche, ils sont facilement détectables grâce à leurs ions caractéristiques, de masse 93 et 136 pour les mono- et sesquiterpènes, plus 161 et 204 pour les sesquiterpènes. Les quatre principaux pics du chromatogramme correspondent par ordre d'abondance au  $\beta$ -pinène, à l' $\alpha$ -pinène, à un monoterpène non identifié et au limonène. Les autres terpènes détectés sont présents en quantités beaucoup plus faibles.*

et  $\beta$ -pinène, 3-carène, limonène,  $\gamma$ -terpinène, terpinolène,  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -farnésène,  $\beta$ -bisabolène,  $\beta$ -curcumène) s'avèrent être des terpènes majoritaires de la cistre. Les proportions dans les tissus adipeux d'un monoterpène : le  $\beta$ -pinène et d'un sesquiterpène : le  $\beta$ -cubébène sont très différentes entre les animaux 'BFGM' et les animaux élevés en Normandie à l'herbe ou à l'ensilage (figure IIa). Ainsi, le  $\beta$ -pinène est absent dans tous les échantillons de bœufs du Pin au Haras et il est présent dans les échantillons 'BFGM' excepté 'BFGM6'. À l'inverse, le  $\beta$ -cubébène est plus abondant dans les bœufs du Pin au Haras tout en étant présent dans les 'BFGM' sauf dans 'BFGM6'. La simple projection plane des individus en fonction de leurs proportions de  $\beta$ -pinène et de  $\beta$ -cubébène parmi les terpènes désorbés lors des analyses (figure IIb) permet de séparer clairement les animaux de la région du Mézenc (alimentés avec des fourrages de prairies naturelles diversifiées) des animaux de Normandie (ayant consommé principalement des monocotylédones : ensilage ou prairie de ray-grass et dactyle).

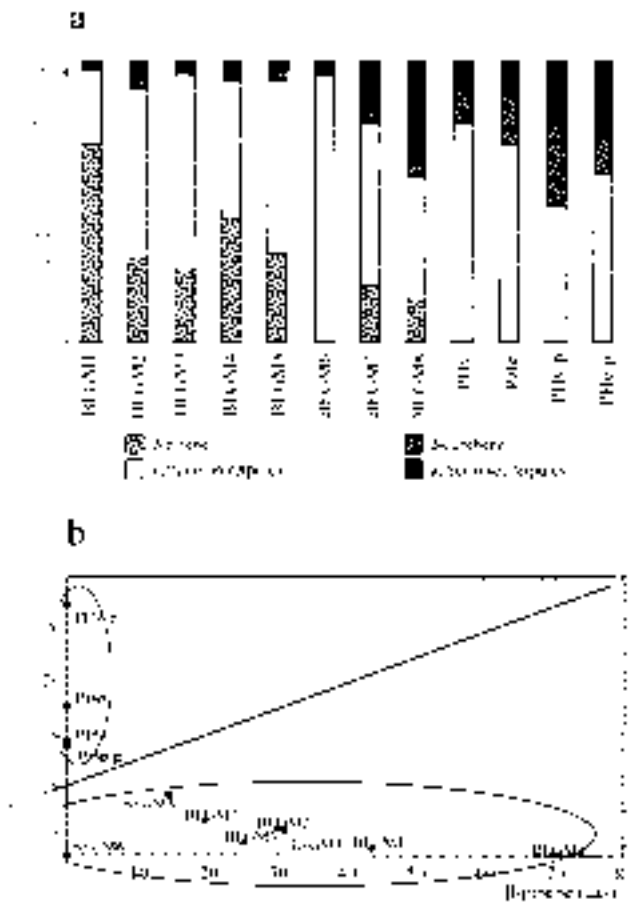
figure 1

Courant ionique total





**FIGURE II**  
**B-PINÈNE ET B-CUBÉBÈNE SIGNENT LA PROVENANCE DU BŒUF**



Les proportions d'un monoterpène, le  $\beta$ -pinène, et d'un sesquiterpène, le  $\beta$ -cubébène, permettent de différencier les bœufs fins-gras du Mézenc (BFGM) des bœufs du Pin au Haras (PH-).

(a) Histogrammes cumulatifs en pourcentage de la surface totale.

(b) Dans le plan défini par les proportions de  $\beta$ -pinène et de  $\beta$ -cubébène, le groupe des BFGM et celui des PH se positionnent chacun le long d'un axe.

L'analyse plus détaillée des profils terpéniques permet également de distinguer les animaux 'BFGM' qui ont reçu un complément alimentaire de ceux qui n'en ont pas reçu.

D'autres substances que les terpènes, comme le 3-méthylindole (scatole) ou la 2,3-octanedione permettent également de distinguer l'alimentation à l'herbe verte de l'alimentation à l'ensilage de maïs par analyse du tissu sous-cutané, conformément aux données de la littérature. En effet, ces composés sont extraits en quantités respectivement 20 et 50 fois supérieures dans le cas d'alimentation à l'herbe verte (figure III). Par contre l'analyse de la 2,3-octanedione dans le gras intra-péritonéal ne permet pas de distinguer les types d'alimentation. Cette observation montre que l'accumulation et l'élimination des

composés issus de l'oxydation des lipides varient selon la localisation anatomique des tissus adipeux, qui doivent être choisis avec soin pour l'analyse.

### CHOISIR AVEC SOIN TRACEURS ET TISSUS CONTRÔLÉS

Bien qu'appliquée à un nombre réduit d'échantillons, l'analyse de la fraction volatile des tissus adipeux a montré l'existence de nombreux traceurs susceptibles de permettre, après abattage, un contrôle de certains aspects du mode de conduite des animaux, en relation avec leur terroir.

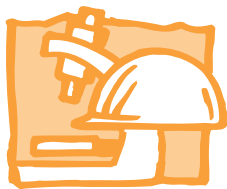
Les recherches en cours qui visent à développer de nouvelles méthodes d'authentification des modes d'ali-

### ANALYSE DES COMPOSÉS VOLATILS DES TISSUS ADIPEUX PAR ESPACE DE TÊTE DYNAMIQUE - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE - SPECTROMÉTRIE DE MASSE (ETD-CPG-SM)

L'extraction par espace de tête dynamique permet d'extraire et de concentrer une grande variété de composés. L'enceinte, contenant l'échantillon chauffé, est balayée par un courant d'hélium qui entraîne les composés volatils vers un piège où ils sont adsorbés. En fin d'extraction, les composés piégés, désorbés par une montée en température rapide, sont condensés en tête de colonne capillaire par refroidissement à l'azote liquide. Un brusque réchauffement de la colonne capillaire permet leur volatilisation et le départ de la séparation chromatographique. Le couplage avec un spectromètre de masse permet la détection et l'identification des composés. Les opérations de semi-quantification consistent à mesurer (en unités arbitraires) la surface des pics des différents composés chromatographiés. L'analyse plus détaillée de la fraction volatile a été décrite par Viallon et al. [14].

mentation des animaux ont pour objectif d'utiliser les connaissances actuelles sur la fraction volatile des tissus animaux et de découvrir de nouvelles substances caractéristiques des principaux types d'alimentation rencontrés dans les élevages. Pour cela, il sera indispensable d'acquérir une meilleure connaissance des différents tissus adipeux et de leur métabolisme afin de définir la meilleure localisation possible des prélèvements à effectuer. En effet, la latence d'apparition, la concentration, l'élimination et la rémanence des terpènes peuvent être différents d'un tissu à l'autre.

A terme, l'objectif est de faire émerger des "signatures multicritères" à partir de quelques-uns parmi les centaines de composés présents dans la fraction volatile des viandes. Pour cela, il sera nécessaire de construire des classifieurs robustes, reposant sur des bases de données et qui feront appel à des techniques de modélisation performantes. L'aspect "multidimensionnel" de ces classifieurs sera un des points forts de la robustesse de leur diagnostic. En effet, celui-ci ne repose-

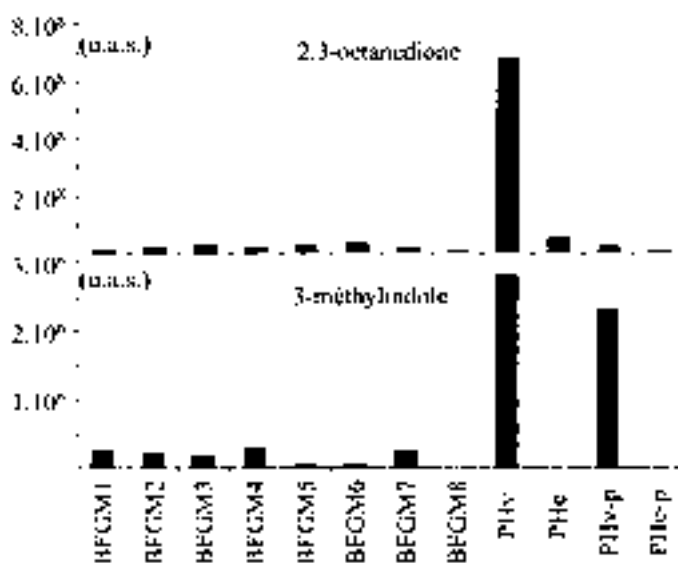


ra pas sur une seule mais sur plusieurs sources d'information indépendantes (terpènes, métabolites...), qu'il sera par conséquent très difficile de falsifier.

Compte-tenu de la complexité des problèmes de caractérisation à mettre en œuvre, ce n'est que grâce à la recherche de "signatures instrumentales complexes" qu'il sera bientôt possible de "certifier analytiquement" de nombreux éléments de la qualité et de l'origine des viandes.

Les auteurs remercient l'ADIV de Clermont-Ferrand, Monsieur Léogier de la DRAF Rhône-Alpes et l'Association des Elus du Massif du Mézenc pour leur collaboration et leur soutien, les personnels INRA du domaine du Pin au Haras, de l'Abattoir expérimental de Theix, et du programme transversal "alimentation à l'Herbe et qualité de la Viande des Herbivores".

**FIGURE III :**  
**3-MÉTHYLINDOLE ET 2,3-OCTANEDIONE**  
**POUR CARACTÉRISER L'ALIMENTATION À L'HERBE**



*Le 3-méthylindole (scatole) et la 2,3-octanedione du tissu adipeux sous-cutané caractérisent l'alimentation à l'herbe verte.*

*Dans le cas d'alimentation à l'herbe verte, ces composés sont extraits du tissu adipeux sous-cutané en quantités respectivement au moins 20 et 50 fois supérieures par rapport à l'alimentation à l'ensilage de maïs ou au foin. Par contre l'analyse de la 2,3-octanedione dans le gras intra-péritonéal ne permet pas de distinguer les types d'alimentation.*

## B I B L I O G R A P H I E

- (1) CORNU, A., CARNAT, A.-P., MARTIN, B., DENOYER, C. ET BERDAGUÉ, J.L. (2000) in : 7emes Rencontres Recherches Ruminants, pp. 310, Paris.
- (2) AMBID, C., CLASTRE, M., SOLER, E., BANTIGNIES, B. ET LIBOZ, T.H. (1995) in : Bioflavour 95, Vol. 75, pp. 319-328 (Etievant, P. et Schreier, P., Eds.) Ed. I.N.R.A., Paris 1995 (Les colloques, n°175), Dijon.
- (3) MARIACA, R.G., BERGER, T.F.H., GAUCH, R., IMHOF, M.I., JEANGROS, B. ET BOSSET, J.O. (1997) J. Agric. Food Chem. 45, 4423-4434.
- (4) DUMONT, J.P., ADDA, J. ET ROUSSEAU, P. (1981) Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 14, 198-202.
- (5) BOSSET, J.O., BÜTIKOFER, U., GAUCH, R. ET SIEBER, R. (1994) Schweizerische Milchwirtschaftliche Forschung 23 (2), 37-41.
- (6) MOIO, L., RILLO, L., LEDDA, A. ET ADDEO, F. (1996) Journal of Dairy Science 79, 1322-1331.
- (7) UM, K.W., BAILEY, M.E., CLARKE, A.D. ET CHAO, R.R. (1992) J. Agric. Food Chem. 40, 1641-1646.
- (8) VIALON, C., VERDIER-METZ, I., DENOYER, C., PRADEL, P., COULON, J.B. ET BERDAGUÉ, J.L. (1999) Journal of Dairy Research 66, 319-326.
- (9) YOUNG, O.A., BERDAGUÉ, J.L., VIALON, C., ROUSSET-AKRIM, R. ET THERIEZ, M. (1997) Meat Sci. 45,2, 183-200.
- (10) CORNU, A., KONDOYAN, N., BEGNAUD, F., MICOL, D., RENOU, J.P. ET BERDAGUÉ, J.L. (2001) in : 8emes Rencontres Recherches Ruminants, pp. 61 (Inra, I.D.L.E.-, Ed.), Paris.
- (11) BUGAUD, C., BORNARD, A., HAUWUY, A., MARTIN, B., SALMON, J.C., TESSIER, L. ET BUCHIN, S. (2000) Fourrages 162, 141-155.
- (12) VIALON-FERNANDEZ, C., ASTIER, C., ROCK, E., COULON, J.B. ET BERDAGUÉ, J.L. (2001) Le lait sous presse.
- (13) LARICK, D.K., HEDRICK, H.B., BAILEY, M.E., WILLIAMS, J.E., HANCOCK, D.L., GARNER, G.B. ET MORROW, R.E. (1987) J. Food Sci. 52,2, 245-251.
- (14) VIALON, C., MARTIN, B., VERDIER-METZ, I., PRADEL, P., GAREL, J.P., COULON, J.B. ET BERDAGUÉ, J.L. (2000) Le Lait 80 (6), 635-641.

figure II

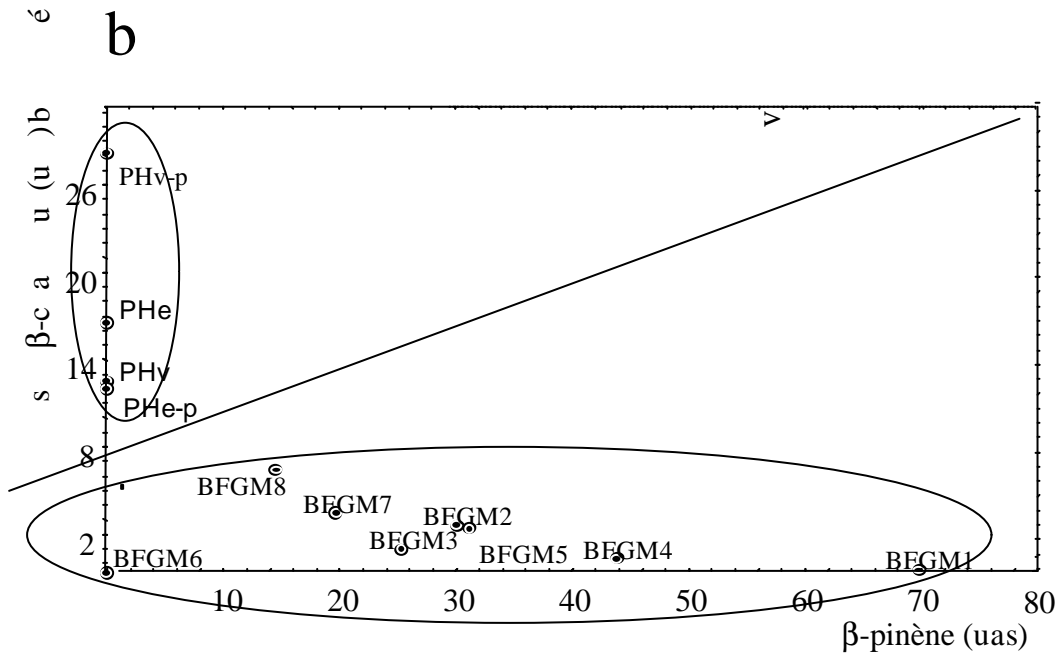
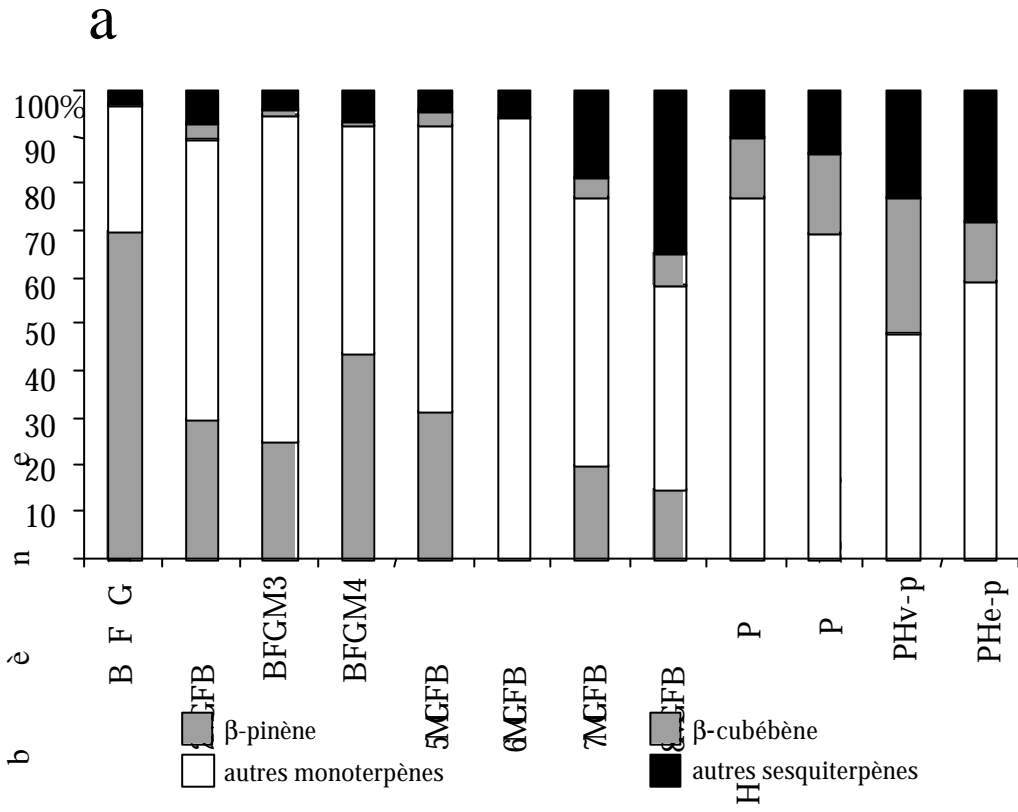


figure III

