

Cartographie par imagerie de résonance magnétique de l'état physique des lipides de tissus sous-cutanés de porc

Détermination d'un site représentatif de leur consistance

A. DAVENEL (1), A. RIAUBLANC (2), Christelle LEBORGNE (2), P. POMMERET (3), Ph. MARCHAL (1), G. GANDEMER (2)

(1) CEMAGREF - 17, avenue de Cucillé, 35044 Rennes Cedex

(2) I.N.R.A., Laboratoire des Interactions des Molécules Alimentaires
rue de la Géraudière, B.P. 71326, B.P.44316, Nantes Cedex 03

(3) UNIPORC-OUEST - avenue du Chalutier Sans Pitié, B.P.540, 22195 Plérin Cedex

Cartographie par imagerie de résonance magnétique de l'état physique des lipides de tissus sous-cutanés de porc. Détermination d'un site représentatif de leur consistance.

Le tri des bardières selon leur qualité est une nécessité pour les fabricants de produits secs. La mesure du ratio liquide/solide semble une méthode prometteuse sous réserve de disposer d'un site de prélèvement représentatif pour échantillonner la bardière. L'objectif de cette étude était d'étudier la variabilité du taux de solide de bardières par Imagerie de Résonance Nucléaire et de déterminer le site de prélèvement le mieux adapté au tri des tissus adipeux. Le ratio solide/liquide a été mesuré dans 20 bardières par imagerie de résonance nucléaire et 16 prélèvements ont été effectués sur chaque bardière pour déterminer leur composition en acides gras et en triglycérides.

Nos résultats montrent que :

- Le ratio liquide/solide (RLS20) des bardières, mesuré à 20°C sur des carottes de tissus adipeux est très proche du taux de solide mesuré sur lipides extraits.
- Le RSL20 mesuré par imagerie RMN sur des bardières entières montrent que ce paramètre varie peu au sein d'une même couche mais qu'il est beaucoup plus élevé dans la couche interne que dans la couche externe (+8%).
- Les variations du RLS20 en différents points de la bardière sont bien corrélées avec celles de la composition en acides gras et en triglycérides. Cependant les corrélations sont meilleures avec la composition en triglycérides qu'avec celle en acides gras. Ainsi, la couche interne contient une proportion plus élevée de palmitoyl-stéaroyl-oléoyl glycérol (PSO) que la couche externe (+10%) alors que la différence de proportion en acide stéarique entre les deux couches n'est que de 3%.
- Le RSL20 moyen d'une bardière peut être estimé à partir de la mesure de ce paramètre en tout point de la bardière. cependant, le meilleur site de mesure pour pouvoir trier les bardières est situé au dessus de l'épaule dans la couche externe car c'est en ce point que le RSL20 est le plus bas permettant d'écarter toutes les bardières de faible consistance.

Solid/liquid ratio cartography of subcutaneous pig adipose tissues by magnetic resonance imaging. Research for a sampling point allowing to eliminate all soft backfats.

Selecting backfat on quality is required for the producers of dry meat products. The measurement of solid/liquid ratio at 20°C (SLR20) seems an attractive method to find a representative anatomical location for sampling backfat. The aim of this study was to examine the variability of SLR20 of backfats using magnetic resonance imaging and to determine the anatomical location convenient for selecting backfats. The SLR20 was measured in 20 backfats by magnetic resonance imaging (MRI) and 16 samples were taken from each backfat for determining fatty acid and triglyceride compositions.

The results showed that :

- The SLR20 measured on biopsies of backfat was very similar to solid fat content measured on lipid extract.
- The SLR20 measured by MRI indicated that the variability of this parameter is low within a backfat layer. However, it was far higher in inner layer than in outer layer (+8%).
- The variability of SLR20 at various locations of backfat was strongly related to the fatty acid and triglyceride compositions. However the relationships were tighter with triglyceride proportions than with fatty acid ones. Thus, the inner layer of backfat contained more palmitoyl-stearoyl-oleoyl glycerol (PSO) than the outer ones (+10%) while the difference between the two layer was weak for stearic acid (3%).
- The average SLR20 of backfat can be estimated from the SLR20 measured at all location of the tissue. However the more accurate location for sampling is located in the outer layer of the backfat above the shoulder because the SLR20 was minimum at this point allowing without ambiguity to eliminate all soft backfats.

INTRODUCTION

Le manque de consistance des tissus adipeux de porcs pose des problèmes technologiques aux fabricants de produits secs. En effet, ces tissus adipeux, souvent désignés par les termes de gras mous, sont la cause de défauts graves de la qualité des produits secs comme un mauvais séchage, une oxydation rapide et un manque de cohésion entre le maigre et le gras lors du tranchage. Parmi les facteurs qui conditionnent la consistance des tissus adipeux, l'état physique des lipides est l'un des plus importants, car bon nombre de défauts liés aux tissus adipeux mous s'expliquent par la trop grande fluidité des lipides. C'est pourquoi la possibilité de développer une méthode de tri des tissus adipeux basée sur l'évaluation de l'état physique des lipides peut être intéressante à explorer. Peu de travaux se rapportent à l'étude des caractéristiques physiques des lipides des tissus adipeux du porc (LE MESTRE et al., 1984 ; LEA et al., 1970 ; WOOD et al., 1978). La méthode la plus simple d'appréciation de l'état physique d'une matière grasse consiste à évaluer son taux de solide. Traditionnellement, cette mesure est effectuée par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton (Norme NF ISO 8292). Une étude récente (DAVENEL et al., 1998) réalisée sur un large échantillon de porcs représentatif de la production industrielle française a mis en évidence une très forte variabilité du taux de solide à 20°C des lipides extraits de tissus adipeux sous-cutanés dorsaux. Le taux de solide moyen était de $20\% \pm 4,4\%$, les valeurs extrêmes allant de 9 à 31%. La variabilité du TS20 est étroitement liée à celles des proportions des triglycérides disaturés ($R^2 = 0,96$) et en particulier à celle du triglycéride Palmitoyl-stéaroyl-oléoyl-glycérol (PSO) dont le pourcentage allait de 10 à 39%.

Très rapide, la mesure du taux de solide pourrait constituer une méthode de tri des tissus adipeux à usage industriel. Toutefois, notre première étude avait été réalisée sur les lipides fondus provenant d'échantillons prélevés sur toute l'épaisseur de la bardière en un site unique. C'est pourquoi des études complémentaires sont nécessaires pour vérifier s'il est possible de déterminer le taux de solide directement sur des carottes de tissus adipeux sans dégradation excessive des relations existantes entre la composition chimique et le taux de solide des lipides extraits. Il est également important de connaître la variabilité de ce paramètre à l'intérieur des bardières en vue de choisir un site représentatif. L'imagerie de résonance magnétique (IRM) est susceptible de décrire et quantifier la variabilité du taux de solide des tissus adipeux.

Dans cette étude, nous avons comparé les taux de solide des lipides d'une collection de bardières mesurés par IRM à ceux mesurés directement sur des échantillons prélevés à différents endroits des bardières par spectroscopie RMN et sur lesquels, nous avons déterminé les compositions en acides gras et en triglycérides.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. Animaux

Vingt deux bardières dont l'épaisseur variait de 8 à 30 mm ont été prélevées sur la chaîne à l'abattoir Cooperl de

Lamballe. Elles ont été congelées rapidement. Elles provenaient pour moitié de mâles castrés et pour moitié de femelles. Sur chacune d'elles, les positions des 1^{ère} vertèbres dorsale et lombaire ont été repérées.

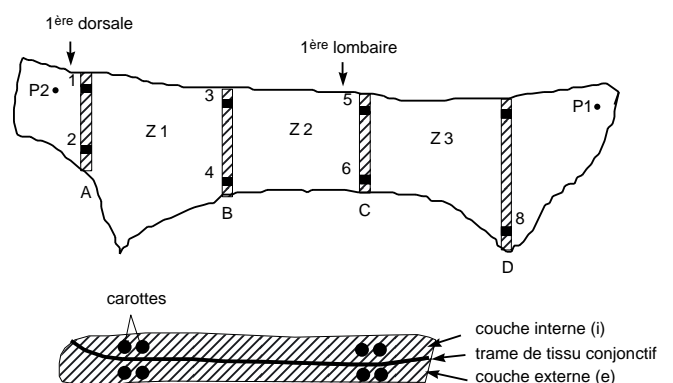
1.2. Imagerie RMN

Les images de densité protonique sur les bardières ont été obtenues avec un imageur (Magnetom Open ; Siemens ; 0,2 T), thermostaté à 20°C. Les bardières ont été décongelées et laissées 4 heures à 20°C de façon à stabiliser l'état physique des lipides. Elles ont été introduites superposées 4 par 4 séparées par des planches dans l'imageur. Des images de coupes transversales espacées de 30 mm ont été acquises sur toute la longueur des bardières. Les coupes virtuelles ont été réalisées en utilisant une séquence conventionnelle multi-coupe d'écho de spins avec un temps d'écho de 15 ms et un temps de répétition de 400 ms. Chaque point (voxel) d'une image correspond à la moyenne du signal enregistré dans un volume élémentaire de 1 x 1 mm dans le plan de la coupe et 10 mm de profondeur. Afin de compenser l'hétérogénéité spatiale du champ magnétique, on a utilisé l'image d'un « fantôme » (sphère homogène d'huile) pour corriger voxel par voxel les images des bardières. Chaque bardière a été reproduite à l'échelle sur papier et les positions des coupes IRM ont été reportées ainsi que celles des 1^{ère} vertèbres dorsale et lombaire. Les bardières ont ensuite été recongelées en attendant les prélèvements pour les analyses chimiques.

1.3. Prélèvement des échantillons

Les bardières ont été décongelées à 4°C et laissées 4 heures à stabiliser à 20°C. Elles ont ensuite été découpées comme sur la figure 1. Quatre tranches de 1 cm ont été prélevées :
 - une à 3 cm en arrière de la 1^{ère} vertèbre dorsale (A)
 - une à la pointe du jambon (D)
 - deux à égale distance des deux premières (B et C).
 Les zones de prélèvement choisies étaient situées dans chaque tranche à 3 cm des extrémités et dans chaque couche du tissu adipeux. Dans chaque zone, un double carottage (8 mm Φ) a été réalisé (figure 1). Une des carottes servait à la détermination du ratio solide/liquide par RMN et l'autre pour les analyses biochimiques.

Figure 1 - Localisation des zones de prélèvement des échantillons dans les bardières.



1.4. Analyses des lipides

Les lipides ont été extraits par broyage des échantillons dans un mélange dichlorométhane / méthanol (2/1) suivi d'une filtration sur sulfate de sodium anhydre. Les lipides ont été dilués dans un mélange chloroforme/méthanol (1/1, v/v) pour obtenir une concentration de 5 mg/ml. Après injection de 20 µl, les triglycérides ont été séparés par CLHP en phase inverse et quantifiés à l'aide d'un détecteur à diffusion de lumière. Les différentes espèces ont été séparées par un gradient de chloroforme dans l'acétonitrile (30/70 à 50/50 en 70 minutes) en utilisant deux colonnes de 250 x 4 mm (Lichrospher 100 RP18e, Merck) montées en séries. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la surface des pics.

Les acides gras ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire 30 m x 0,32 mm (DB 225, JW), après transméthylation de quelques milligrammes d'extrait lipidique par le mélange BF₃ / méthanol selon la méthode de MORRISON et SMITH (1964). Les résultats sont exprimés en pourcentage de la surface des pics.

1.5. Mesure du taux de solide par spectroscopie RMN

Les carottes prélevées dans chaque couche de tissus adipeux ont été transférées dans des tubes RMN et congelées. Les tubes ont par la suite été décongelés et laissés stabiliser une heure à 20°C avant de mesurer le ratio solide/liquide. Celui-ci a été mesuré avec un spectromètre Bruker Minispec à la fréquence de résonance de 20 MHz selon une méthode adaptée de la méthode normalisée (IUPAC, 1992).

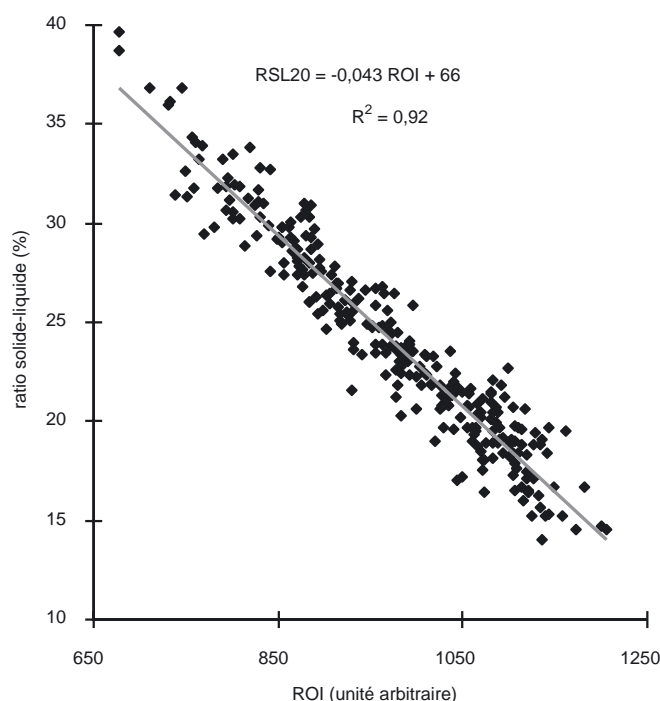
2. RÉSULTATS

2.1. Relation entre la densité protonique et le taux de solide à 20°C

La mesure réalisée sur les carottes de tissu en l'état ne fournit pas exactement une estimation du taux de solide des lipides mais un ratio (noté RSL20) entre les noyaux d'hydrogènes (H) à l'état « solide » ou cristallisés et la totalité des H de l'échantillon. Ces noyaux peuvent appartenir aux lipides à l'eau ou aux protéines. Ce ratio solide/liquide mesuré à 20°C est très fortement corrélé avec la proportion des triglycérides contenant deux acides gras saturés et particulièrement PSO ($R^2 = 0,91$). Les variations des teneurs relatives de lipides, d'eau et de collagène perturbe peu la mesure et le ratio solide/liquide du tissu est très fortement lié au taux de solide des lipides.

Sur les images des bardières, nous avons extrait les valeurs moyennes autour des points de prélèvement (ROI) qui ont été comparées avec les ratios solide/liquide mesuré par spectroscopie RMN (figure 2). Le signal issu des images RMN, après correction des inhomogénéité du champ magnétique, est fortement corrélé au ratio solide/liquide dans le tissu adipeux. L'imagerie de résonance magnétique est donc un bon moyen d'étudier les propriétés physiques des lipides sur des bardières entières sans prélèvement d'échantillon ni extraction des lipides.

Figure 2 - Relation entre la moyenne du signal IRM sur une zone (ROI) et le ratio solide/liquide mesuré par spectroscopie RMN sur un échantillon correspondant à la même zone.



2.2. Cartographie des bardières par IRM

Appliquée aux 22 bardières, l'imagerie RMN a permis de mettre en évidence les variations importantes du RSL 20 au sein d'un même animal (figure 3, p. 296). La principale variation est observée entre la couche externe et la couche interne des bardières. Ce fort contraste permet de localiser directement sur les images RMN, la couche conjonctive qui ne donne pas directement de signal. Le ratio solide/liquide au sein de chaque couche interne est en moyenne de 5,7% (de 3,8 à 7,5 %) supérieur à celui de la couche externe (figure 4, p. 296). Les variations au sein d'une même couche sont beaucoup moins importantes (1 à 2%) que celles mesurées entre les deux couches. Les valeurs les plus faibles sont mesurées au niveau de l'épaule. Cependant le RSL20 évolue au sein de chaque couche : il diminue du muscle à la couenne. Ce phénomène est plus marqué vers le jambon, car à cette extrémité, la couche interne disparaît et la couche externe présente un important gradient du RSL20. Le RSL20 moyen des bardières variait de 19 à 27% et augmentait avec le poids de celles-ci ($R^2 = 0,4$). Cette augmentation résulte à la fois de, l'augmentation du RSL 20 dans chaque couche lorsque le poids total de la bardière augmente et de l'augmentation de la proportion de la couche interne qui présente un RSL20 supérieur à celui de la couche externe.

2.3. Variabilité de la composition lipidique intrabardière

L'ensemble des échantillons prélevés sur les bardières présente une forte variabilité de composition lipidique. Nous avons cherché à quantifier la variabilité inter et intrabardières. Le tableau 1 (p.296) regroupe les domaines de

Figure 3 - Cartographie du ratio solide/liquide de 25 coupes IRM d'une même bardière. Reconstitutions de profils longitudinaux des ratio solide/liquide à l'intérieur des deux couches de tissus adipeux.

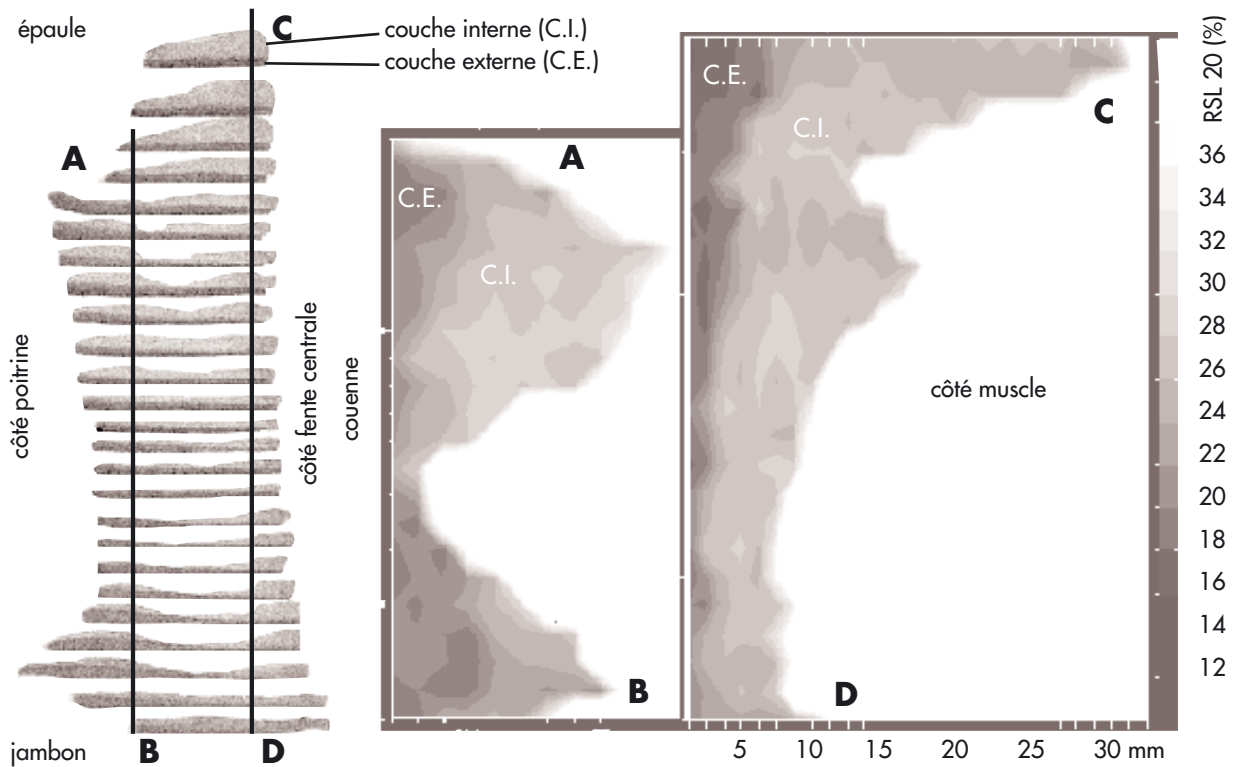
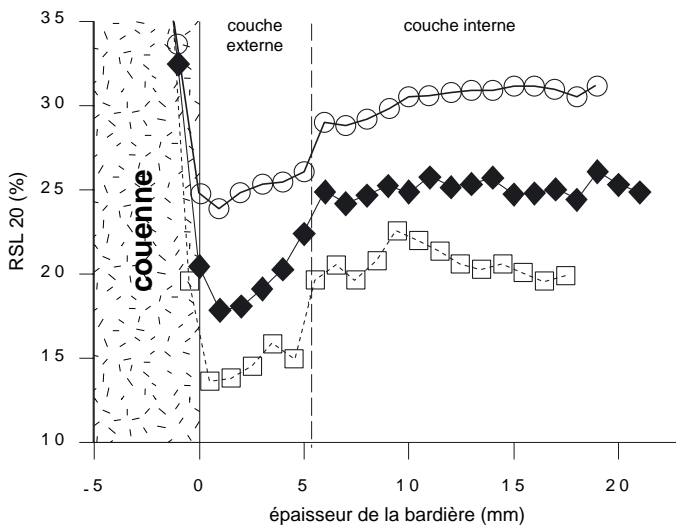


Figure 4 - Évolution sur l'épaisseur des tissus des ratio solide/liquide de trois bardières



variation des principaux acides gras et triglycérides ainsi que les pourcentages de variance expliquée par les effets animal, couche et position, déterminés par la procédure GLM. Pour l'ensemble des acides gras et des triglycérides, les trois effets sont significatifs mais n'ont pas le même poids.

La composition lipidique varie très peu en fonction de la position anatomique du prélèvement au sein d'une même couche de la bardière. Quel que soit l'acide gras ou le triglycéride pris en compte, cet effet n'est responsable de moins de 15% de la variabilité de la proportion du constituant lipidique considéré. Celle-ci est principalement liée

Tableau 1 - Variabilité des différents paramètres mesurés sur les prélèvements et pourcentage de variance expliqué par chacun des effets pris en compte.

	Valeur min	Valeur max	Effet animal	Effet couche	Effet position
Acides gras					
C16:0 (P)	20,9%	29,3%	65,1 %	31,5%	2,3 %
C18:0 (S)	10,0%	19,0%	29,6 %	64,7 %	5,7 %
Σ Saturés	33,8%	50,9%	33,2 %	58,1 %	3,9 %
C18:1 (O)	37,1%	50,7%	57,8 %	26,3 %	10,7 %
C18:2 (L)	7,0%	17,8%	65,6 %	16,2 %	8,0 %
C18:3 (Ln)	0,4%	1,5%	70,0 %	12,1 %	4,4 %
Triglycérides					
POL	4,0%	26,2%	62,6 %	17,3 %	6,4 %
POO	26,4%	51,5%	38,2 %	31,4 %	14,7 %
PSO	10,8%	46,9%	37,9 %	43,7 %	4,0 %
RSL20 (spectroscopie)	14,7%	39,6%	33,6 %	58,1 %	6,1 %

à une plus grande insaturation au niveau de l'épaule. Les différences de composition entre les deux couches des bardières sont très importantes. Pour l'acide stéarique et les triglycérides disaturés, la variabilité est plus importante entre chacune des deux couche qu'entre animaux. La couche interne contient 3,4% de C18:0 et 10% de PSO de plus que la couche externe. Pour les autres acides gras et triglycérides, La variabilité est liée à un effet animal.

2.4. Variabilité du ratio solide / liquide mesuré à 20°C par spectroscopie RMN

La variabilité des ratios solide/liquide dans les échantillons issus des 22 bardières est très importante. Ce résultat s'explique par l'importance de l'effet couche sur ce paramètre (tableau 1). La différence moyenne de RSL20 entre couche interne et externe est de 8 %, légèrement plus élevée que celle estimée par imagerie (6%). Cette valeur est plus proche de la réalité, car elle correspond à la moyenne des écarts des mesures effectuées dans chacune des deux couches aux mêmes points.

La position anatomique du prélèvement au sein de chaque couche n'a qu'une faible influence sur le ratio solide/liquide. Seule une baisse moyenne de 2% est observée au niveau de l'épaule.

3. DISCUSSION

3.1. Variabilité intra-bardière

Au cours de cette étude, l'imagerie de résonance nucléaire a permis de mettre en évidence une forte variabilité intra bardière du ratio solide/liquide mesuré à 20°C. Cette variabilité a été confirmée par les mesures de ratio solide/liquide des bardières par spectrométrie RMN ainsi que par les analyses de compositions en acides gras et en triglycérides réalisées aux différents points de la bardière. Nos résultats confirment les observations antérieures sur la variabilité de la composition en acides gras (CHRISTIE, 1972 ; CAMARA, 1994). Cependant, la variabilité de la composition en acides gras est faible. En effet, les variations des proportions des principaux acides gras sont comprises entre 1,5 % pour le C16:0 et 3 % pour le C18:0. La couche externe est plus insaturée que la couche interne. Aucune donnée ne fait référence à la variabilité du taux de solide des lipides et de la composition en triglycéride en fonction de la localisation anatomique. Notre travail montre que la variabilité du ratio solide/liquide et des proportions de triglycérides est plus marquée. L'écart entre les deux couches atteint 10 % pour PSO et 8 % pour le RSL20. Nos résultats confirment que le tissu adipeux sous cutané de porc est inhomogène en composition en acides gras mais surtout en triglycérides et en propriétés physiques. Il est composé de deux couches dont l'épaisseur varie de place en place et d'un animal à l'autre. Les analyses réalisées en mélangeant les deux couches donnent des résultats qui dépendent plus des proportions relatives des deux couches que des caractéristiques propres à chaque animal. Par conséquent, il convient de rechercher un site représentatif pour estimer les caractéristiques physiques et chimiques de tissus adipeux.

3.2. Choix d'un site représentatif

Suite à cette étude, nous disposons d'un modèle suffisamment fiable des variations de RSL20 à l'intérieur des bardières pour prédire le comportement global de celle-ci en connaissant sa valeur en un point quelconque. Nous avons choisi des sites facilement accessibles permettant de pré-

re la valeur moyenne ou de trier les bardières en fonction de leur consistance. Les deux zones que nous avons retenues sont situées à la pointe de la bardière proche du jambon (P1) et la partie proche de la tête au-dessus de l'épaule (P2) (figure 1, p. 294). Ces zones ont été choisies en raison des épaisseurs importantes du tissu adipeux permettant un prélèvement aisé dans chaque couche. Le point P1 proche du jambon a la particularité de ne présenter qu'une seule couche, l'externe. Les ratio solide/liquide mesuré en P1 et en P2 dans la couche interne sont bien corrélés à valeur moyenne dans la bardière (pour P1, $R^2 = 0,97$; $\sigma = 0,6$ et pour P2, $R^2 = 0,83$; $\sigma = 1,0$).

Cependant nous pensons que cette valeur moyenne n'a que peu de sens pour trier les carcasses. Pour éliminer à coup sûr les bardières de mauvaise qualité, il est préférable de mesurer le ratio solide/liquide à l'endroit le plus défavorable. L'évolution du RSL20 est identique pour toutes les bardières et la zone où il est le plus faible est toujours la couche externe au-dessus de l'épaule et correspond au point P2.

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif majeur d'établir une cartographie tridimensionnelle du taux de solide des lipides du tissu adipeux sous cutané de porc en vue de choisir un site représentatif.

Grâce à l'imagerie de Résonance Magnétique Nucléaire couplée à des mesures plus classiques de spectroscopie RMN, nous avons réalisé cette cartographie et montré que le taux de solide des lipides pouvait être estimé directement sur le tissu en l'état prélevé par carottage. La cartographie des taux de solide a mis en évidence une faible variabilité longitudinale au sein d'une même couche mais une forte variabilité entre les deux couches de tissu adipeux. Ces résultats sont cohérent avec la détermination de la composition en acides gras et en triglycérides réalisées en différents points de la bardière. Ce travail confirme que la variabilité du taux de solide des lipides et de la consistance du tissu adipeux est étroitement dépendant de la composition en triglycérides.

La mesure du ratio solide/liquide sur des carottes, par spectroscopie RMN, semble être un bon moyen de caractériser la qualité des tissus adipeux. Cette étude montre clairement que la méthode généralement utilisée pour déterminer les caractéristiques physiques et chimiques de la bardière qui consistait à prendre un échantillon sur toute l'épaisseur en mélangeant les deux couches est un très mauvais compromis pour évaluer la qualité des tissus adipeux. En effet, le résultat obtenu dépend plus du rapport pondéral entre les deux couches que des caractéristiques du tissu propre à chaque animal. Des prélèvements effectués au centre de la bardière près de la pointe du jambon ou dans la couche interne au-dessus de l'épaule permettent une mesure du ratio solide/liquide représentatif de l'ensemble de la bardière. Pour éliminer les tissus adipeux de mauvaise qualité, il serait préférable de prélever dans la couche externe au-dessus de l'épaule qui est l'endroit où le ratio solide/liquide est le plus faible de toute la bardière.

REMERCIEMENTS

Nous remercions l'Office National Interprofessionnel des Viandes, de l'Élevage et de l'Aviculture (OFIVAL) pour le soutien financier qu'il a apporté à cette étude.

Nous remercions également M. J.P. SEMUR pour son soutien technique dans ce travail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAMARA M., MOUROT J., CHÉROT P., 1994, Journées de la rech. Porcine en France, 26, 163-168.
- CHRISTIE W.W., JENKINSON D. M., MOORE J.H, 1972. J.Sci. Food and Agric, , 23, 1125-1128.
- DAVENEL A., RIAUBLANC A., MARCHAL Ph., GANDEMER G., 1998, Meat Sci, (sous presse).
- LE MESTRE M., CORNILY G., SIMATOS D., 1984. Rev. Franç. Corps Gras, 3,107-115.
- LEA C.H., SWOBODA P.A.T., GATHERUM D.P., 1970. J. Agric. Sci. Camb., 74, 279-289.
- MORRISON W.R., SMITH L.M., 1964. J. Lip. Res., 5, 508-609.
- WOOD J.D., ENSER M.B., MACFIE H.J., 1978. Meat Sci., 2, 289-300.