

Dosage haut débit des lipides intramusculaires de la viande de porc par imagerie par résonance magnétique

Armel DAVENEL (1, 2), Christophe BAZIN (3), Stéphane QUELLEC (1, 2), Sylvain CHALLOIS (1, 2), Marina GISPERT (4), Marie-José MERCAT (3), Nelly MULLER (5)

(1) Cemagref, 17 avenue de Cucillé, CS 64427, 35044 Rennes, France

(2) Université Européenne de Bretagne, France

(3) IFIP Institut du porc, La Motte au Vicomte, BP 35104, 35651 Le Rheu Cedex, France

(4) IRTA, Finca Camps i Armet, 17121 Monells, Espagne

(5) INRA, Domaine de la Motte au Vicomte, BP 35327, 35653 Le Rheu Cedex, France

armel.davenel@cemagref.fr

High Throughput Determination of Intramuscular Fat Content By Magnetic Resonance Imaging

In all animal species, the amount of fat and its distribution within body compartments determine both the productive efficiency and quality of meat, including sensory acceptability and potential benefits for human nutrition. Among the characteristics of the pig muscle that predict these qualities, the level of intramuscular fat (IMF) is the most commonly used because of its high heritability and its strong genetic correlation with overall acceptability of the meat, in particular for pork. Thus, flavour and juiciness would be significantly enhanced when IMF levels increased above approximately 2.5%. The determination of intramuscular fat is based on meticulous and time-consuming standard chemical extraction methods. In this work, we validated a reliable and accurate magnetic resonance imaging (MRI) method to determine IMF content and distribution in intact pig muscle samples using very limited sample preparation and image analysis by comparison with a standard chemical extraction method and two physical methods, the near infrared transmittance and a self-calibrated nuclear magnetic resonance NMR relaxometry. IMF values obtained through MRI matched well with those obtained by the NMR technique with a standard error of calibration of 0.18% and by the Soxhlet extraction technique and the near infrared technique, with an identical standard error of calibration of 0.25%. This high throughput MRI method is able to scan 24 samples simultaneously and determine the IMF content of more than 500 samples per day.

INTRODUCTION

Chez le porc, parmi les caractéristiques du muscle qui prédisent le mieux la qualité de la viande, la teneur en lipides intramusculaires (LIM) est celle la plus communément utilisée en raison de sa haute héritabilité (0,50 en moyenne) et sa forte corrélation génétique moyenne avec l'acceptabilité globale de la viande (0,61) (Sellier, 1998). Une teneur en lipides intramusculaires de la longe comprise entre 2,5 et 3% est considérée optimale pour la tendreté et la jutosité de la viande (Fernandez *et al.*, 1999). La détermination de la teneur en lipides intramusculaires est généralement basée sur les méthodes chimiques d'extraction par solvants qui s'avèrent longues et fastidieuses à mettre en œuvre.

Dans cette étude, nous présentons une méthode haut-débit par imagerie de résonance magnétique qui permet de déterminer la teneur et la distribution des lipides de façon non invasive avec une préparation des échantillons limitée à leur conditionnement préalable à une température de 5°C. Nous évaluons la cadence de mesure et validons la précision de la méthode en la comparant à la méthode de référence par extraction chimique Soxhlet et à deux autres méthodes chimiques, la spectrométrie proche infrarouge (SPIR) et la relaxométrie de Résonance magnétique nucléaire (RMN).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Choix des échantillons de longe

Dans un premier temps, la précision de la méthode d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) a été évaluée sur 45 échantillons de longe en provenance de la station de testage du Rheu (France). Les porcs étaient choisis pour assurer une large représentation de différentes origines génétiques. Chaque prélèvement de *longissimus thoracis* correspondant aux trois dernières côtes était prélevé sur les carcasses après un refroidissement de 24 heures à 4°C.

Les cadences de mesure ont été validées par la suite avec une collection de près de 2500 échantillons de *longissimus thoracis* prélevés au niveau de la 13^{ème} côte. Tous les échantillons étaient préalablement conservés à -23°C avant les mesures.

1.2. Protocole d'imagerie par IRM

L'IRM AVANTO 1,5T (Siemens, Erlangen, DE) est équipé d'une boucle de conditionnement d'air qui permet de maintenir les échantillons à 5°C pendant l'acquisition des images. Un total de 24 échantillons, préalablement décongelés à 5°C pendant 24 heures, étaient placés dans leur sachet de congélation sur

4 plateaux superposés, introduits dans la boucle froide au centre de l'aimant, et scannés simultanément.

A la température de 5°C, les lipides intramusculaires sont à environ 50% sous forme de cristaux (Davenel *et al.*, 1999). Dans cet état, le niveau de gris des pixels riches en lipides dans les images apparaissent plus sombres que ceux riches en eau (Figure 1).

Nous avons utilisé une séquence en écho de gradient qui permet de renforcer les contrastes en choisissant un temps d'écho pour lequel l'eau et les lipides sont en opposition de phase. Les veines et les dépôts isolés de gras pouvant être de taille très fine, nous avons adopté une taille de voxel de 0,5 mm par 0,5 mm dans le plan-image et une épaisseur de coupe de 2,5 mm. 73 coupes coronales permettent d'obtenir de 13 à 16 images par échantillon.

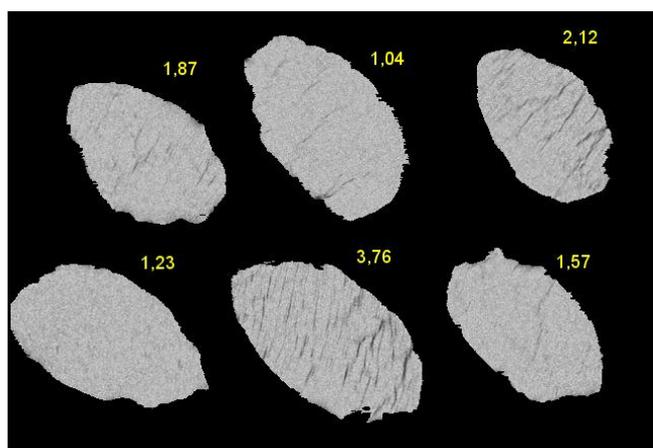


Figure 1 - Une des 73 images acquises par IRM au travers de 6 des 24 échantillons scannés simultanément (les valeurs dans la figure correspondent au %LIM estimé par IRM).

1.3. Traitement des images

Dans une première étape les images ont été binarisées pour séparer les pixels de viande des pixels de fond, puis ce masque a été érodé en 3 dimensions pour éliminer les pixels contenant de l'air.

L'estimation du taux de lipides était réalisée sur la base de l'histogramme de niveaux de gris des pixels retenus par le masque. La distribution des pixels les plus clairs représentant les pixels sans graisse était ajustée par une courbe gaussienne, les pixels restant étant considérés comme contenant une proportion variable de lipides en fonction linéairement de leur intensité entre le niveau maximal de la gaussienne (0% lipides) et un niveau inférieur correspondant à 100% de lipides.

1.4. Préparation des 45 échantillons réservés pour les analyses SPIR, RMN et Soxhlet

Après l'acquisition IRM, 45 échantillons étaient broyés et homogénéisés. Une partie du broyat était réservée pour les mesures Soxhlet et SPIR sur frais. Le reste était séché pour le dosage de l'humidité et le dosage des lipides par relaxométrie RMN sur sec.

La méthode de dosage RMN par Bruker MINISPEC MQ 20 est dérivée de la méthode développée pour le dosage des lipides des poissons (Toussaint *et al.*, 1992). Les échantillons étaient préalablement portés à 60°C pour faire fondre les lipides. Les échantillons frais ont été aussi analysés avec un spectromètre proche infrarouge (Infratec 1265, Meat Analyzer, Tecator, DK) préalablement calibré pour l'estimation des triglycérides avec un appareil Soxhlet comme méthode de référence (AOAC, 1990) avec l'éther de pétrole comme solvant (Valero *et al.*, 1999). Cette même méthode a été utilisée pour le dosage chimique de référence des 45 échantillons.

2. RESULTATS

Analyse de la précision des différentes méthodes

Toutes ces méthodes s'avèrent fortement corrélées entre elles. La relaxométrie RMN et SPIR donnent des résultats similaires (Tableau 1). La méthode IRM, légèrement moins précise que les deux précédentes lorsqu'on les compare à la méthode de référence Soxhlet, fait apparaître une constante positive attestant qu'une petite partie des lipides ne serait pas détectée par IRM par rapport aux autres techniques.

Tableau 1 - Comparaison des méthodes par rapport à la méthode chimique Soxhlet, n=45

	R ²	E.S. (%)	pen	constante
SPIR	97%	0,18	1,032	-0,32
RMN	98%	0,16	1,078	-0,39
IRM	95%	0,25	1,034	0,52

R² : coefficient de détermination ; E.S. : Erreur Standard

Le traitement de 2500 échantillons par IRM a démontré la facilité de mise en œuvre de la méthode et permis de réaliser des cadences journalières de l'ordre de 500 échantillons lorsque les échantillons étaient conformément emballés.

CONCLUSION

La méthode IRM développée s'est avérée précise, très facile à mettre en œuvre et extrêmement compétitive lorsqu'elle est déployée sur de grandes séries d'analyses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Davenel A., Riaublanc A., Marchal P., Gandemer G., 1999. Quality of pig adipose tissue: relationship between solid fat content and lipid composition. *Meat Sci.*, 51, 73-79.
- Fernandez X., Monin G., Talmant A., Mourot J., Lebreton B., 1999. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat. 1. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of muscle *longissimus lumborum*. 2. Consumer acceptability of muscle *longissimus lumborum*. *Meat Sci.*, 53, 59-72.
- Sellier P., 1998. Genetics of meat and carcass traits. In : M.F. Rothschild, & A. Ruvinsky (Eds), *Genetics of The Pig*, 463-510. Wallingford, Cab International, UK.
- Toussaint C. A., Medale F., Davenel A., Fauconneau B., Haffray P., Akoka S., 2002. Determination of the lipid content in fish muscle by a self-calibrated NMR relaxometry method: comparison with classical chemical extraction methods. *J. Sci. Food Agric.*, 82, 173-178.
- Valero, A., Gispert, M., & Garcia-Regueiro, J. A., 1999. Determinación de la grasa intramuscular en diferentes músculos de cerdo por transmitancia en el infrarrojo cercano (NIT). *Eurocarne*, 77, 88-90.