

BIOMARQUEURS VOLATILS DISTINCTIFS DE LA VOLAILLE

« GÉLINE DE TOURAINE »

Ratel Jeremy ¹, Peyron Marianne ¹, Baéza Elisabeth ², Engel Erwan ¹

¹ INRA, UR370 *Qualité des Produits*, 63122 ST GENES-CHAMPANELLE, FRANCE

² INRA, UR83 *Recherches Avicoles*, 37380 NOUZILLY, FRANCE

RESUME

L'objectif de cette étude était de déterminer des différences éventuelles de profils en composés volatils du tissu adipeux abdominal entre deux types de poulets, la « Géline de Touraine », une race ancienne, qui présente la particularité d'être élevée pendant 120 jours et un poulet «Label Rouge» traditionnel de 84 jours. Ces différences de composition pourraient être reliées à des différences de qualités sensorielle et nutritionnelle et utilisées à des fins d'authentification des « Gélines de Touraine » notamment pour les distinguer des poulets "Label Rouge". Des échantillons de tissu adipeux abdominal ont donc été prélevés sur des femelles Gélines abattues à 84 et 120 jours et des femelles labels abattues à 84 jours uniquement. Après extraction par microextraction en phase solide, les composés volatils étaient analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (MEPS-CPG-SM). Au total, 217 composés volatils ont été quantifiés dans la fraction volatile du tissu adipeux abdominal des trois groupes de volailles. Une analyse de variance montre que 73 de ces composés permettent de distinguer significativement au moins l'un des 3 groupes de volailles. Quarante sept de ces composés discriminants ont pu être identifiés d'après leur structure en spectrométrie de masse. Alors que seulement 24 composés permettent de distinguer les Gélines abattues à 84 et 120 jours, 70 biomarqueurs permettent de distinguer les Gélines, indépendamment de leur durée d'élevage, des poulets labels. Ces données expérimentales suggèrent que les composés volatils permettent à la fois de distinguer des différences liées au génotype et à la durée d'élevage et pourraient à terme être utilisés pour authentifier des labels dont le caractère distinctif reposerait sur ces critères.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine possible differences of profiles in volatile compounds of the abdominal fat tissue between two types of chickens, "Géline de Touraine", an old breed, which presents the peculiarity to be reared during 120 days and a traditional chicken "Label Rouge" of 84 days. These differences of composition could be connected with differences of sensory and nutritional qualities and used in purposes of authentication of "Gélines de Touraine" notably to distinguish them from chickens "Label Rouge". Samples of abdominal fat tissue were thus taken from "Gélines" females slaughtered at 84 and 120 days and "labels" females slaughtered at 84 days only. Volatile compounds were collected by microextraction in solid phase then analyzed thanks to a chromatograph in gaseous phase coupled with a mass spectrometer (MEPS-CPG-SM). A total of 217 volatile compounds were quantified in the volatile fraction of the abdominal fat tissue of the three groups of poultry. A variance analysis showed that 73 compounds significantly allowed discriminating at least one of the three poultry groups. Forty seven discriminating compounds were identified according to their structure in mass spectrometry. While only 24 compounds allowed to distinguish "Gélines" slaughtered at 84 and 120 days, 70 biomarkers allowed distinguishing "Gélines", independently of their slaughter age, from label chickens. These experimental data suggest that the volatile compounds allow distinguishing differences induced by genotype and rearing duration and could be later used to authenticate label chickens, the distinctive character of which would be based on these criteria.

INTRODUCTION

Plusieurs moyens analytiques existent pour authentifier l'origine et le mode de production des produits carnés (Engel et Ratel, 2008). Chez les ruminants, l'analyse des profils en composés volatils peut permettre de tracer un type d'alimentation (Vasta et Priolo, 2006). En effet, la nature et la quantité de ces composés dans les tissus sont directement influencées par l'alimentation et le métabolisme de l'animal. Ces composés sont liposolubles et donc concentrés dans les tissus adipeux. Dans la viande de poulet, environ 500 composés volatils ont été décrits (Farmer, 1999), mais à notre connaissance, aucune étude n'a porté sur la recherche d'un profil spécifique d'un type de production. Nous avons donc entrepris de comparer deux systèmes de production différents : un poulet « Label Rouge » élevé jusqu'à 84 jours et un poulet « Géline de Touraine » élevée jusqu'à 120 jours. La « Géline de Touraine » est une race ancienne, commercialisée sous l'appellation « Dame Noire », car seules les femelles sont utilisées pour cette production. Elle est caractérisée par une vitesse de croissance très lente et un engraissement corporel supérieur à celui des volailles labels (Baéza et al., 2009).

1. MATERIELS ET METHODES

Matériel biologique

Des poulets femelles de type Label Rouge, LR (JA 657, Boyé Accoupage, La Boissière en Gâtine, France) et Géline de Touraine, GT (CSVB, Béchane, France) ont été élevés séparément au pôle expérimental avicole (PEAT) du centre INRA de Nouzilly en respectant leur cahier des charges (Baéza et al., 2009). Toutes les femelles LR et la moitié des femelles GT ont été abattues à l'âge de 84 jours (PEAT). L'autre moitié des femelles GT a été abattue à l'âge de 120 jours. Des échantillons de tissu adipeux abdominal ont été prélevés immédiatement après chaque abattage sur 10 poulets par lot et plongés dans l'azote liquide afin de fixer leur composition. Enveloppés dans une feuille d'aluminium et placés sous vide, les échantillons ont été stockés à -20°C.

Préparation de l'extrait lipidique liquide à partir du tissu adipeux

Le tissu adipeux était réduit en poudre par broyage dans l'azote liquide et une phase lipidique en était extraite. Cette étape, qui avait pour objectifs une homogénéisation ainsi qu'une élimination de l'eau des échantillons de tissus adipeux, s'est appuyée sur les développements réalisés par Engel et Ratel (2007).

Ajout des standards

Afin de prendre en compte les dérives instrumentales de notre système analytique, cinq standards, répartis sur l'ensemble du chromatogramme des échantillons, ont été co-analysés avec les extraits lipidiques de nos échantillons, conformément au cahier des charges établi par Deport et al. (2006) : le fluoro-benzène (S1), le bromo-butane (S2), le bromo-benzène (S3), le fluoro-naphtalène (S4) et le nonyl-benzène (S5). Ceci nous a permis d'utiliser la méthode « Comprehensive Combinatory Standard Correction » (CCSC).

Analyse des composés volatils par MEPS-CPG-SM

Les étapes d'extraction et de piégeage des composés volatils ont été réalisées au moyen d'un passeur automatique (CombiPal, CTC analytics) qui gérait les étapes suivantes : préchauffage de l'échantillon pendant 10 min à 110°C, piégeage des composés volatils de l'espace de tête pendant 15 min à 110°C sous agitation (500 rpm) à l'aide d'une fibre MEPS Carboxen-PDMS (75 µm, calibre 23, Supelco), puis désorption des composés piégés par introduction de la fibre dans l'injecteur du four du chromatographe chauffé à 280°C. Les composés étaient injectés dans le CPG (modèle 6890, Hewlett Packard, Avondale, P.A.) en mode splitless au niveau de la phase non polaire de la colonne capillaire (SPB5, 60 m x 0,32 mm x 1 µm, Supelco). La température du four était maintenue à 40°C pendant 5 min puis augmentait selon un gradient de 3°C.min⁻¹ jusqu'à 230°C où elle était maintenue pendant 10 min. L'interface entre la colonne chromatographique du CPG et le SM (modèle 5973N, Hewlett-Packard) était chauffée à 280°C. L'énergie de l'impact électronique était de 70 eV et l'acquisition était effectuée sur la plage 33-250 unités de masses atomiques (u.m.a.) avec une fréquence de 1,68 scan.s⁻¹. L'identification des composés séparés était fondée sur la comparaison des spectres de masse avec ceux contenus dans les bases de données (NBS 75K, Wiley 275L) et sur la comparaison des indices de rétention linéaire (IRL) avec ceux de la littérature (Kondjoyan et Berdagué, 1996). L'aire des pics des composés identifiés était intégrée sur les ions spécifiques pour chacune des molécules afin d'éviter les problèmes de co-élution. Les intégrations ont été réalisées avec le logiciel HP-ChemStation (Agilent, USA).

Génération d'empreintes virtuelles de la fraction volatile

Le signal chromatographique obtenu par MEPS-CPG-SM était compressé en un signal MEPS-SM virtuel. Le signal obtenu, une empreinte « virtuelle » de la fraction volatile, était utilisable pour mettre en évidence les différences globales susceptibles de

différencier les échantillons. Elle a été utilisée avec succès dans trois études récentes relatives à l'authentification des modes de production des produits animaux (Engel et Ratel, 2007).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Evaluation rapide du potentiel discriminant de la fraction volatile des tissus adipeux de poulet pour différencier les « Gélines de Touraine » et les poulets "Label Rouge"

A partir des empreintes MEPS-SM virtuelles brutes, 30 fragments de masse ont été identifiés par ANOVA ($P < 0,05$) comme discriminant significativement les « Gélines de Touraine » de 120 jours (GT120) des poulets « Label Rouge » de 84 jours (LR84). Afin d'améliorer la discrimination, les données ont été corrigées de l'influence des dérives instrumentales par la méthode CCSC (Deport et al., 2006). Le premier plan de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) construit à partir des fragments de masse « corrigés », a permis d'améliorer la différenciation des GT120 et LR84 et a confirmé le caractère bénéfique de l'utilisation de la méthode CCSC pour améliorer la différenciation d'échantillons biologiques (Engel et Ratel, 2007 ; Figure 1). Afin d'identifier les composés plus particulièrement capables de différencier les deux groupes de volailles, une analyse linéaire discriminante (ALD) a été réalisée sur les données corrigées. Des modèles de discrimination incluant deux variables ont permis une affectation correcte à 100% des échantillons dans leur groupe d'origine.

Identification des composés volatils distinctifs des tissus adipeux des « Gélines de Touraine » et des poulets "Label Rouge"

Afin de déterminer les composés volatils à l'origine des différences de composition entre GT120 et LR84 mises en évidence par MEPS-SM, le signal MEPS-CPG-SM a été analysé. Au total, 217 composés volatils ont été quantifiés dans la fraction volatile des tissus adipeux des poulets GT et LR. Après avoir corrigé les abondances de ces composés par la méthode CCSC, 70 composés discriminant GT120 et LR84 ont été identifiés. Le premier plan de l'ACP des abondances corrigées des composés volatils discriminants est présenté Figure 2. La discrimination des deux groupes GT120 et LR84 apparaît plus nettement que sur la Figure 1. Cette comparaison entre les données issues d'empreintes MEPS-SM et les données MEPS-CPG-SM montre le gain d'information apporté par l'exploitation des données de chromatographie en phase gazeuse. Plusieurs modèles de classification construits à partir de seulement deux des composés volatils discriminants permettent aussi de différencier correctement les « Gélines de Touraine » et les poulets « Label

Rouge ». Le couple de composés donnant le modèle discriminant le plus performant a été retenu. La Figure 3 présente une projection de chaque échantillon dans le plan formé par l'abondance de chacun des deux composés.

Influence des facteurs « durée d'élevage » et « génétique » sur la différenciation entre Gélines de Touraine et poulets "Label Rouge" classiques

Afin de déterminer si la durée de l'élevage des poulets GT avait un effet sur la composition de leurs tissus adipeux et sur leur distinction des tissus des poulets LR, la fraction volatile des « Gélines de Touraine » élevées pendant la durée habituelle de 120 jours a été comparée à celle de « Gélines de Touraine » élevées seulement pendant 84 jours (GT84). Parmi les 217 composés volatils semi-quantifiés, seulement 24 composés ont été identifiés comme discriminant GT120 et GT84 après correction des abondances par CCSC, alors que 70 composés distinguaient GT120 et LR84. Cependant, le premier plan de l'ACP des abondances corrigées des composés volatils discriminants a montré que la séparation entre GT120 et GT84 était possible malgré un nombre plus réduit de composés discriminants.

Afin de vérifier qu'une discrimination des 3 types de poulets (GT120, GT84 et LR84) était aussi possible, les 3 jeux de données respectifs constitués des abondances des 217 composés volatils semi-quantifiés ont été compilés. Après correction par CCSC, 73 composés volatils ont été identifiés par Anova à un facteur ($P < 0,05$) comme discriminant les 3 groupes. Le premier plan de l'ACP construite à partir de ces 73 composés (Figure 4) montre qu'une discrimination des 3 groupes est envisageable et que la première composante de l'ACP semble séparer principalement les « Gélines de Touraine » (élevées 84 ou 120 jours) et les poulets « Label rouge », ce qui indique que l'effet « génétique » est, du moins en terme de nombre de variables affectées, plus influant que l'effet « durée d'élevage » sur la composition des fractions volatiles des tissus adipeux. Enfin, les 3 groupes peuvent aussi être discriminés sans erreur grâce à un modèle construit à partir de 3 composés volatils.

3. CONCLUSION

Cette étude montre que l'analyse de la fraction volatile de tissus adipeux de la « Gélina de Touraine » pourrait fournir un moyen robuste pour la différencier objectivement des poulets « Label Rouge ». Au total, 70 bio-marqueurs de cette différenciation ont pu être mis en évidence et une majorité d'entre eux semble modulée par des déterminants génétiques.

Figure 1 - Discrimination des Gélines de Touraine élevées 120 jours et des poulets "Label Rouge" élevés 84 jours. Représentation du 1^{er} plan de l'ACP normée sur les fragments de masse discriminants corrigés par CCSC sélectionnés dans les empreintes MEPS-SM virtuelles de la fraction volatile de leurs tissus adipeux

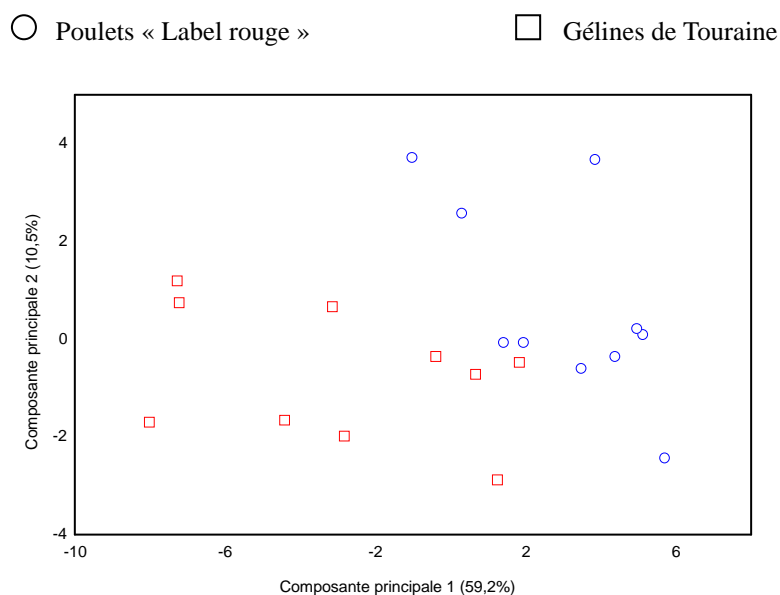
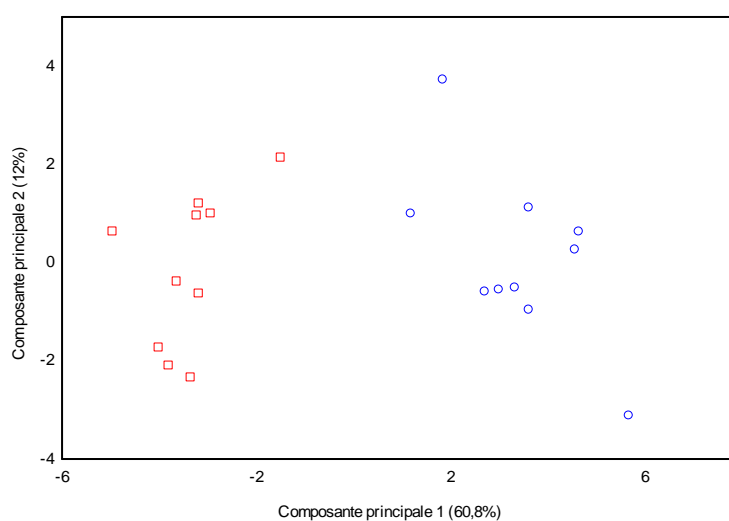


Figure 2 - Discrimination des Gélines de Touraine élevées 120 jours et des poulets "Label Rouge" élevés 84 jours. Représentation du 1^{er} plan de l'ACP normée sur les composés volatils discriminants corrigés par CCSC sélectionnés dans les données MEPS-CPG-SM obtenues par l'analyse détaillée de la fraction volatile de leurs tissus adipeux



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baéza, E., Chartrin, P., Bordeau, T., Le Bihan-Duval, E., Lessire, M., Besnard, J., Berri, C., 2009. 8èmes Journées de la Recherche Avicole, 25-26/03/09, St Malo, France.
- Deport, C., Ratel, J., Berdagué, J.L., Engel E., 2006. J. Chromatogr. A 1116 : 248-258.
- Engel, E., Ratel, J., 2007. J. Chromatogr. A 1154 : 331-341.
- Engel, E., Ratel, J., 2008. 12èmes Journées des Sciences du Muscle et Technologies des Viandes, Tours (France), 8-9/10/08 : 131-138.
- Farmer, L.J., 1999. In Poultry meat science, ED. R.I. Richardson and G.C. Mead. Poultry Symposium Series 25, CABI Publishing, Oxfordshire, England : 127-158.

Kondjoyan, N., Berdagué, J. L., 1996. A Compilation of Relative Retention Indices for the Analysis of Aromatic Compounds. Editeur : Laboratoire Flaveur, Station de Recherche sur la Viande, INRA de Theix, 63122 Saint-Genès Champanelle, France : pp. 234.

Vasta, V., Priolo, A., 2006. Meat Sci. 73 : 218-228.

Figure 3 - Discrimination des Gélines de Touraine élevées 120 jours et des poulets "Label Rouge" élevés 84 jours. Représentation des 2 composés volatils discriminants corrigés par CCSC et sélectionnés par ALD dans les données MEPS-CPG-SM obtenues par l'analyse détaillée de la fraction volatile de leurs tissus adipeux. Les composés volatils sélectionnés sont accompagnés de leur correction CCSC respective (S1=fluoro-benzene ; S2=bromo-butane ; S3=bromo-benzene ; S4=fluoro-naphtalene ; S5=nonyl-benzene)

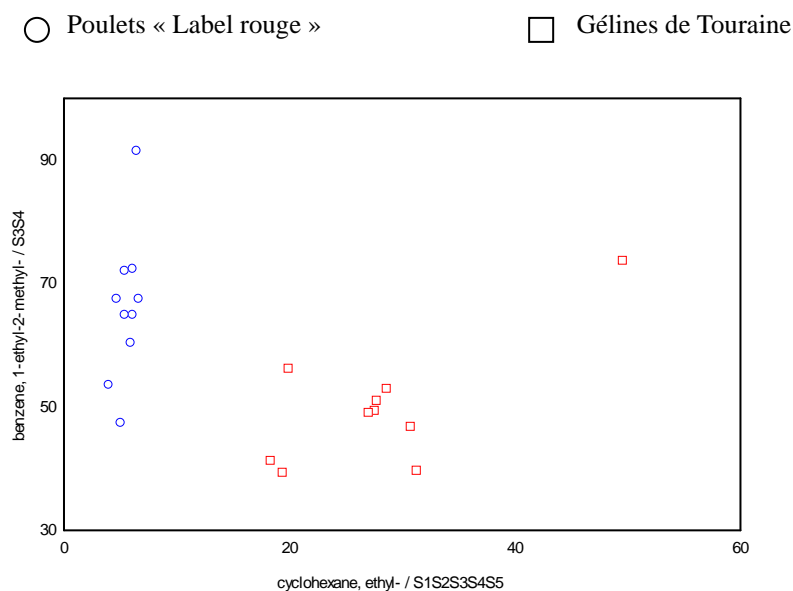


Figure 4 - Discrimination des 3 groupes de poulets (Gélines de Touraine élevées 84 et 120 jours, et poulets "Label Rouge" élevés 84 jours). Représentation du 1^{er} plan de l'ACP normée sur les composés volatils discriminants corrigés par CCSC sélectionnés dans les données MEPS-CPG-SM obtenues par l'analyse détaillée de la fraction volatile de leurs tissus adipeux

