

Traçabilité de l'alimentation à l'herbe de l'agneau à partir des pigments caroténoïdes dans le sang et le tissu adipeux

S. PRACHE, M. THERIEZ

Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA, 63122 Theix

RESUME – Cette étude a été conduite i) pour déterminer si les pigments caroténoïdes pouvaient être utilisés comme marqueurs de l'utilisation de l'herbe dans l'alimentation de l'agneau, ii) pour proposer une méthode utilisable en abattoir, qui permette d'identifier la présence des pigments caroténoïdes dans le produit (carcasse) et d'estimer leur concentration dans le tissu adipeux sous cutané. Trois modes d'alimentation ont été comparés : H = herbe pâturée (72 agneaux), B = alimentation en bergerie avec concentré et foin (26 agneaux), et HB = herbe pâturée puis finition en bergerie avec concentré et foin (27 agneaux). La teneur en pigments caroténoïdes a été évaluée dans le sang et par le spectre de réflectance du tissu adipeux sous-cutané caudal. Des pigments caroténoïdes ont été détectés dans 97 % des échantillons de sang prélevés sur les agneaux H, alors qu'ils n'ont pas été détectés pour 93 % des échantillons de sang prélevés sur les agneaux B. La teneur en caroténoïdes plasmatiques des agneaux HB a diminué pendant la période de finition en bergerie. Le spectre de réflectance du tissu adipeux a été mesuré à l'abattage pour 38 agneaux H et 26 agneaux B. Les spectres moyens des agneaux H et B différaient dans la zone spectrale 450-510 nm, qui correspond à la zone d'absorption des pigments caroténoïdes. Une analyse mathématique du spectre de réflectance a permis de quantifier l'absorption dans cette zone et de proposer une méthode et un index de traçabilité utilisables en abattoir.

Traceability of lamb grass-feeding from carotenoid pigments in plasma and adipose tissue

S. PRACHE, M. THERIEZ

Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA, 63122 Theix

SUMMARY – This study was conducted i) to determine whether carotenoid pigments can act as biomarkers of grass-feeding to trace lamb production systems, ii) to propose a method that can be used in the meat industry to identify carotenoid pigments' presence in the carcass and estimate their concentration in the subcutaneous adipose tissue. Three production systems were compared : G = grazing (72 lambs), S = stall-feeding (26 lambs), and GS = grazing period followed by a stall-feeding period (27 lambs). Concentration of carotenoids was evaluated in plasma and by reflectance spectrum of subcutaneous caudal adipose tissue. Carotenoids were detected in 97 % of the G blood samples, whereas not detected in 93 % of the S blood samples. Plasma carotenoid content of GS lambs decreased during the stall-feeding period. Reflectance spectrum of adipose tissue was measured at slaughter for 38 G and 26 S lambs. Mean reflectance spectra of adipose tissue of G and S lambs differed between 450-510 nm, which corresponds to light absorption of carotenoids. A mathematical analysis of the spectrum allowed to quantify absorbance in this zone and to propose a traceability method that can be used in the meat industry to trace lamb production system.

INTRODUCTION

La crise de la filière viande a conduit à une forte demande sur la traçabilité du mode d'alimentation des animaux, en particulier sur la traçabilité de l'alimentation à l'herbe, considérée comme sûre, naturelle et respectueuse du bien-être animal. L'objectif est de trouver un ou des marqueurs spécifiques de l'herbe qui laisse une 'signature' identifiable dans le produit animal.

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux associés à la chlorophylle, qui ne peuvent pas être synthétisés par les animaux. On en trouve des concentrations élevées dans l'herbe verte (Rock 1997). Le fanage ou l'ensilage provoque une destruction oxydative de ces pigments (Wolter 1988, Rock 1997). Les tubercules ou leurs dérivés, ainsi que les céréales n'en contiennent pas ou très peu par rapport à l'herbe verte (Wolter 1988).

Le bêta-carotène est le pigment caroténoïde principal accumulé par les bovins dans leur sang et leur gras; il ne semble pas présent dans les tissus de l'espèce ovine qui semblent plutôt accumuler la luteïne (Yang *et al* 1992).

L'objectif de cette étude était i) de déterminer si les pigments caroténoïdes pourraient être utilisés comme traceurs d'une alimentation à l'herbe chez les ovins, ii) de proposer une méthode utilisable en abattoir, qui permette d'identifier et quantifier la 'signature' de ces pigments dans le produit.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. CONDUITE DES ANIMAUX

Ce travail a été mené au cours de 3 années avec 125 agneaux; 72 ont pâturé de l'herbe jusqu'à l'abattage (H), 26 ont été élevés exclusivement en bergerie avec un aliment concentré et du foin (B), et 27 ont été finis en bergerie après une période d'élevage à l'herbe (HB).

1.2. MESURES

La concentration du plasma en pigments caroténoïdes a été mesurée au cours de la phase de pâturage pour les agneaux H et HB, à la rentrée en bergerie pour les agneaux HB, et à l'abattage pour les agneaux H, B et HB. Le spectre de réflectance du gras de la base de la queue a été mesuré sur 38 et 26 agneaux H et B à l'aide d'un spectrophotomètre.

Des informations plus détaillées sur les animaux, leur conduite et les méthodes utilisées peuvent être trouvées dans l'article de Prache et Theriez (1999).

2. RESULTATS

2.1. CONCENTRATION PLASMATIQUE EN CAROTÉNOÏDES

2.1.1. Alimentation à l'herbe vs en bergerie

Les échantillons de sang H ont été prélevés entre le 6 juillet et le 6 novembre. Des caroténoïdes ont été détectés dans 97% d'entre eux; la concentration en caroténoïdes était inférieure au seuil de détection ou à la limite de celui-ci pour 3% des échantillons. La concentration en caroténoïdes plasmatiques des agneaux H a varié de 0 à 529 µg/l (235 µg/l en moyenne). Ces pigments ont été détectés à l'abattage seulement pour 2 des 26 agneaux B (soit 7%).

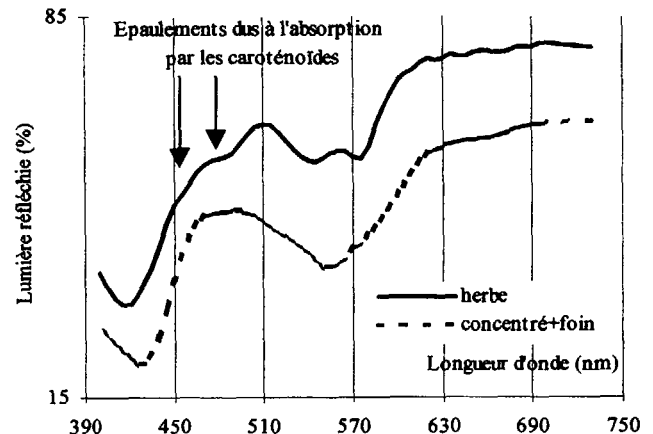
2.1.2. Finition des agneaux d'herbe en bergerie

L'évolution de la concentration plasmatique en caroténoïdes lors d'une finition en bergerie a été mesurée sur 12 agneaux. Cette finition a duré de 13 à 35 jours (28 j en moyenne). A la fin de la période de pâturage, des pigments caroténoïdes étaient détectés dans le plasma de tous les agneaux (teneur moyenne: 307 µg/l). Cette teneur a diminué pour tous les animaux lors de la finition; elle ne s'élevait plus qu'à 84 µg/l en moyenne à l'abattage. A l'abattage, des caroténoïdes étaient encore détectés dans le plasma de 5 agneaux (teneur moyenne: 118 µg/l), alors qu'ils étaient à la limite ou en dessous du seuil de détection pour 7 agneaux.

2.2. SPECTRE DE RÉFLECTANCE DU GRAS CAUDAL ET INDEX DE TRAÇABILITÉ

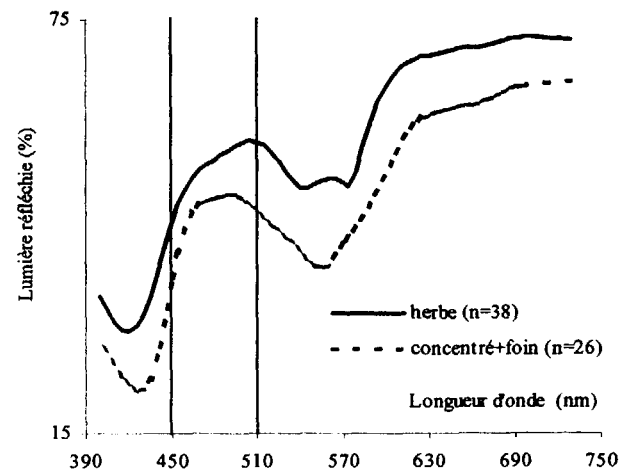
Le spectre moyen de réflectance du gras des agneaux H différait de celui des agneaux B par la présence d'épaulements entre 450 et 510 nm, zone d'absorption de la lumière par les pigments caroténoïdes présents dans le tissu adipeux (Figures 1 et 2). Ces épaulements n'étaient jamais visibles pour aucun des agneaux B. L'amplitude de ces épaulements augmentait avec la concentration en caroténoïdes circulants.

Figure 1
Spectres de réflectance du gras caudal. Données brutes. Agneaux de bergerie vs agneau d'herbe dont la teneur en caroténoïdes plasmatiques à l'abattage était élevée



Dans la zone d'absorption des pigments caroténoïdes, la dérivée première du spectre de réflectance s'annulait à 510 nm pour les agneaux H alors qu'elle s'annulait à 495 nm pour les agneaux B (Figures 1 et 2), indiquant le début d'une absorption de la lumière à 510 nm pour les agneaux H. Pour comparer les profils de réflectance des agneaux H et B dans la zone d'absorption des caroténoïdes, nous avons donc translaté les valeurs Y de chaque spectre (proportion de lumière réfléchie, % LR), de manière à ce que l'ordonnée à 510 nm soit égale à zéro (Figure 3). Les valeurs Y du spectre translaté (%LRt) représentent ainsi l'écart de lumière réfléchie par rapport à celle réfléchie à 510 nm. Les spectres translatés des agneaux H et B se recroisent à nouveau à 450 nm en moyenne (Figure 3). Nous avons donc calculé, pour chaque agneau, l'aire sous ce spectre translaté entre 510 et 450 nm. La valeur de cette aire ($I_{450-510}$, %LRt.nm) a varié entre -426 et +79 et sa valeur absolue a augmenté linéairement avec la teneur en caroténoïdes plasmatiques à l'abattage (Prache et Theriez 1999).

Figure 2
Spectres de réflectance du gras caudal. Données brutes.

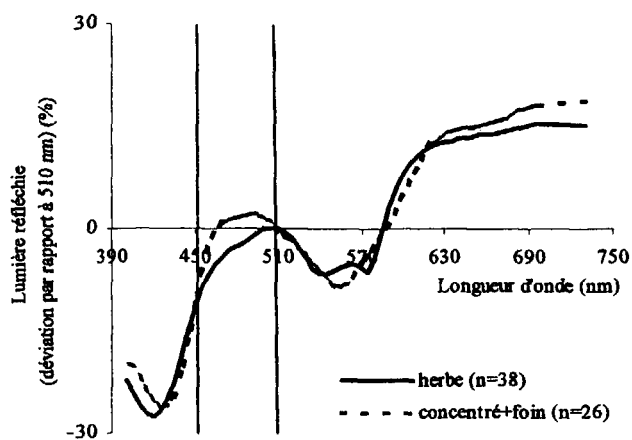


$I_{450-510}$ différait significativement ($P < 0.001$) entre agneaux H et B (en moyenne, $-232 (\pm 98)$ vs $-44 (\pm 56)$ % LRt.nm). La distribution des agneaux H et B dans les différentes classes de

$I_{450-510}$ est rapportée au Tableau 1. Les 27 agneaux de la classe -426 à -200 % LRt.nm sont tous des agneaux H, alors que tous ceux qui sont dans la classe +0 à +100 % LRt.nm sont tous des agneaux B.

Figure 3

Spectres de réflectance du gras caudal. Les spectres ont été translétés de manière à ce que la valeur de Y à 510 nm soit nulle.



Parmi les 12 agneaux de la classe -200 à -90 % LRt.nm, 75 % étaient des agneaux H. Les 2 agneaux H qui se trouvaient dans la classe -90 à +0 % LRt.nm présentaient une teneur en caroténoïdes plasmatiques à l'abattage inférieure au seuil de détection.

Tableau 1
Distribution des agneaux dans les différentes classes de l'index de traçabilité

Valeur de l'index de traçabilité (aire sous le spectre translété)	Nombre d'agneaux	
	Herbe	Bergerie
< -200	27	0
-200 à -90	9	3
-90 à +0	2	18
> +0	0	5

3. DISCUSSION

3.1. LES PIGMENTS CAROTÉNOÏDES : DE BONNS MARQUEURS DE L'ALIMENTATION À L'HERBE

Les pigments caroténoïdes peuvent constituer de bons traceurs de l'alimentation à base d'herbe pour l'agneau. Ces pigments ont été détectés dans 97 % des échantillons de sang prélevés sur des agneaux d'herbe, alors qu'ils n'ont pas été détectés dans 93 % des échantillons de sang prélevés sur des agneaux élevés en bergerie. La teneur plasmatique en caroténoïdes diminue lorsque les agneaux d'herbe sont finis en bergerie, mais il serait nécessaire de mesurer la latence de disparition.

Les caroténoïdes ont été détectés, en faible quantité, dans le sang de deux agneaux B à l'abattage (151 et 184 µg/l). Cependant, le spectre de réflectance du tissu adipeux de ces agneaux ne montrait pas d'épaulement dans la zone 450-510 nm. Une contamination du plasma au moment de l'analyse n'est pas exclue, car ces échantillons ont été dosés après des échantillons H.

La teneur en caroténoïdes plasmatiques était inférieure au seuil de détection pour 3 agneaux H. Deux de ces échantillons ont été prélevés fin août, le troisième courant novembre. Il est possible que la teneur en caroténoïdes de l'herbe était faible à cette époque de l'année. En effet, la disparition des caroténoïdes dans l'herbe est parallèle à celle de la chlorophylle ; une herbe sèche d'été ou d'automne peut ainsi présenter de très faibles teneur en caroténoïdes.

3.2. UNE MÉTHODE ET UN INDEX DE TRAÇABILITÉ UTILISABLES EN ABATTOIR

La présence de caroténoïdes peut être détectée sur le produit (carcasse) par l'analyse du spectre de réflectance du gras, car ce tissu stocke les caroténoïdes. Cette méthode présente aussi des avantages pratiques évidents, car elle est rapide, non destructive, et facilement utilisable en abattoir à l'aide d'un spectromètre portable.

Le spectre moyen de réflectance du gras des agneaux H diffère de celui des agneaux B par une absorption particulière entre 450 et 510 nm. Les spectres H présentent des épaulements (correspondant à l'absorption de la lumière par les pigments caroténoïdes : Prache et al 1990) dont l'amplitude varie avec la teneur du plasma en ces pigments. L'analyse mathématique du spectre de réflectance a permis d'affiner et d'objectiver le jugement, et de proposer une méthode et un index de traçabilité utilisables en abattoir. Les 27 agneaux dont la valeur $I_{450-510}$ était dans la gamme -426 à -200 % LRt.nm étaient des agneaux d'herbe, alors que les 25 agneaux dont la valeur $I_{450-510}$ était dans la gamme -90 à +100 % LRt.nm étaient des agneaux de bergerie (23 agneaux) ou des agneaux d'herbe (2 agneaux) dont la teneur en caroténoïdes plasmatiques était inférieure au seuil de détection. Il y a un certain recouvrement dans la fréquence de distribution de $I_{450-510}$ dans la gamme -200 à -90 % LRt.nm, qui concerne 12 agneaux (donc 19 % des agneaux), mais 75 % de ces agneaux étaient des agneaux d'herbe.

Les spectres moyens des agneaux H et B diffèrent également dans les zones 545 à 575 nm et 420 à 430 nm. Les maxima d'absorption à 420 et 430 nm chez les agneaux H et B respectivement correspondent à des pigments héminiques (bande de Soret). Le maximum d'absorption situé à 555 nm chez les agneaux B pourrait correspondre à la forme réduite de pigments héminiques, et ceux situés à 545 et 575 nm chez les agneaux H à la forme oxygénée de ces pigments (Prache et al 1990). La présence de pigments héminiques dans le tissu adipeux pourrait être due à de l'hémoglobine résiduelle après abattage.

3.3. LES SOURCES DE BIAIS

Ces deux méthodes de traçabilité du mode d'alimentation de l'agneau pourraient être biaisées par i) l'ingestion de caroténoïdes apportés par le lait, ii) la mobilisation du tissu adipeux, dans lequel des pigments caroténoïdes auraient été précédemment stockés, iii) la présence d'autres pigments jaunes tels que la bilirubine, iv) la photosensibilité de ces pigments.

La source principale de biais vient du lait maternel. Si ce lait contient ces pigments, l'agneau en ingère et en dépose dans ses tissus, même s'il ne consomme pas d'herbe. Les pigments caroténoïdes dans le lait maternel peuvent provenir d'une consommation d'herbe, mais aussi d'une mobilisation du tissu adipeux dans lequel des pigments caroténoïdes ont été préalablement stockés. L'ingestion de caroténoïdes par l'agneau est cependant probablement plus faible via le lait maternel que lorsqu'il pâture de l'herbe verte (Rock 1997). De plus, la majorité des agneaux de bergerie produits en France sont sevrés avant abattage. Il serait cependant utile de quantifier l'importance de cette source de biais par la mesure des pigments caroténoïdes du lait.

D'autres pigments jaunes, tels que la bilirubine, dont l'accumulation est toujours due à une pathologie, peuvent biaiser l'analyse du spectre de réflectance du tissu adipeux. La bilirubine absorbe également la lumière entre 450 et 510 nm, et il n'est pas possible de la distinguer des pigments caroténoïdes sur les spectres de réflectance. De même, une accumulation excessive de pigments caroténoïdes a parfois été observée chez des agneaux, pour des raisons encore mal comprises (Prache et al 1990).

Les pigments caroténoïdes sont photosensibles. L'exposition à la lumière peut ainsi induire des biais dans les mesures. Dans cette étude, les tissus ont été conservés très strictement à l'abri de la lumière, et les analyses réalisées rapidement après le prélèvement.

3.4. L'APPLICATION AUX BOVINS

L'absorption, le dépôt, et le métabolisme des pigments caroténoïdes est différent chez les ovins et les bovins (Wolter 1988, Yang *et al* 1992, Rock 1997). Cependant, les données de la littérature sont encourageantes, car la concentration des tissus en pigments caroténoïdes semble plus élevée chez les bovins que les ovins. Ainsi, Yang *et al* (1992) ont observé que des bovins qui pâturaient avec des ovins présentaient des concentrations en pigments caroténoïdes beaucoup plus élevées dans leur sang et leur tissu adipeux, et un indice de jaune plus élevé de leur gras.

CONCLUSIONS

Les pigments caroténoïdes pourraient être utilisés pour tracer le mode d'alimentation des agneaux, et discriminer ceux qui sont produits à l'herbe de ceux qui sont produits avec du concentré et du foin en bergerie. Dans cette étude, des pigments caroténoïdes ont été détectés dans 97 % des échantillons de sang prélevés sur des agneaux d'herbe, et ils n'ont pas été détectés dans 93 % des échantillons de sang prélevés sur des agneaux de bergerie. La concentration plasmatique en caroténoïdes a diminué lorsque les agneaux d'herbe étaient finis en bergerie. La traçabilité du mode d'alimentation de l'agneau peut également être réalisée directement sur la carcasse à partir du spectre de réflectance du tissu adipeux. Cette méthode est non-invasive, rapide, et facilement réalisable en abattoir à l'aide d'un spectrophotomètre portable.

Il serait nécessaire de préciser i) les relations entre la concentration des plantes et des tissus animaux en pigments caroté-

noïdes et les effets de seuil associés, ii) le temps de latence d'apparition de ces pigments dans le sang et le tissu adipeux lors d'une alimentation à l'herbe, et le temps de latence de disparition de ces pigments lorsque l'agneau ne consomme plus d'herbe, iii) la sensibilité aux biais éventuels.

Ces méthodes de traçabilité du mode d'alimentation semblent également prometteuses chez les bovins, connus pour accumuler plus de pigments caroténoïdes dans leurs tissus que les ovins.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient V. Prache, C. Lacroix, Les Laboratoires Roche et S. Ingrand pour leurs conseils, H. Cassagnes, P. Amblard, P. Lebecque, H. Tournadre, M. Delpeux, J.Y. Pailleux pour leur collaboration technique, et le personnel de l'Installation expérimentale de Saint-Genès-Champanelle pour le bon déroulement des expériences.

Prache S., Aurousseau B., Theriez M., Renerre M., 1990. INRA Productions Animales, 3, 275-285.

Prache S., Theriez M., 1999. Animal Science, 69, 29-36.

Rock C. L., 1997. Pharmacol. Ther., 75(3), 185-197.

Wolter R., 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins INRA, pp113-120.

Yang A., Larsen T. W., Tume R. K., 1992. Aust. J. Agric. Res., 43, 1809-1817.