

9<sup>èmes</sup> Journées Européennes

AGRO-INDUSTRIE  
et MÉTHODES  
STATISTIQUES

# AGRO-INDUSTRIE et MÉTHODES STATISTIQUES

## Montpellier

25 - 27 janvier 2006

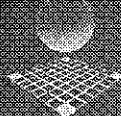


Organisées par la  
Faculté de Pharmacie de l'Université Montpellier 1  
sous l'égide de la  
Société Française de Statistique

INRA

Agro.M

CIRAD



SFS  
SOCIÉTÉ FRANÇAISE  
DE STATISTIQUE

UM  
Université Montpellier 1

# Evaluation de la qualité aromatique de riz par empreinte spectrale

Ch. Mestres, M. Laguerre, R. Boulanger, F. Davrieux, F. Gay

CIRAD, TA 70/16, 73 avenue JF BRETON, Montpellier Cedex 05  
E-mail : christian.mestres@cirad.fr

## Résumé

Il n'existe pas actuellement de méthode analytique rapide et fiable d'empreinte globale qui permette d'évaluer la qualité aromatique d'un riz parfumé. Cette étude vise à tester la faisabilité d'une telle technique appliquée directement sur la matrice solide (Spectrométrie en Proche Infra-Rouge) ou sur la fraction volatile libérée à chaud (espace de tête) par Spectrométrie de Masse (SM).

Une série de 61 échantillons de riz (29 parfumés, 32 non parfumés) a été analysée par SPME/SM et une série de 117 échantillons (65 parfumés, 52 non parfumés) par SPIR. Une classification de ces riz selon leur potentiel aromatique a été réalisée en utilisant une Analyse Factorielle Discriminante de type SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy). Ce traitement nous a permis de séparer les deux types de riz avec un faible taux d'erreur.

**Mots-clés :** : riz aromatique, empreinte spectrale, SPME/MS, SPIR, analyse factorielle discriminante

## Abstract

Fast and reliable fingerprint procedures for assessing aromatic quality of rice do not exist to day. This study aims at testing the ability of such a procedure when applied on rice matrix by near-infrared spectroscopy (NIRS) or on rice volatile fraction by mass spectrometry (MS).

A set of 61 rice samples (29 aromatic and 32 non-aromatic) was analyzed by SPME/MS and another set of 117 samples (65 aromatic, 52 non aromatic) by NIRS. They were classified upon their aromatic potential by using a specific discriminant factorial analysis, SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy). The two types of rice were distinguished with a rather good efficiency.

**Keywords :** : aromatic rice, fingerprint, SPME/MS, NIRS, discriminant factorial analysis.

## 1 Introduction

Les riz naturellement parfumés occupent une part de plus en plus importante sur le marché du riz. Ils représentent ainsi plus de 30 % des riz consommés en France alors que leur production ne représente que 1% de la production mondiale de riz. Les principaux pays producteurs sont l'Inde, le Pakistan (riz « Basmati ») et la Thaïlande (riz « Thaï »). Le caractère parfumé est lié en premier lieu à un composé, la 2-acétyl-1-pyrroline (2AP), qui confère au riz une odeur rappelant celle du « pop corn » (Buttery & Ling, 1982). Seules quelques variétés particulières possèdent le potentiel génétique pour produire ce composé, dont la teneur est de l'ordre de 100-500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dans les riz parfumés (Yoshihashi *et al.*, 2004), mais nulle dans les riz non parfumés.

L'évaluation quantitative du caractère parfumé d'un riz est ainsi une condition nécessaire aux études de création variétale de riz parfumés et au contrôle de sa conformité dans les échanges marchands. Des méthodes rapides et sensibles sont donc nécessaires et ont commencé à être développées (Grimm *et al.*, 2001 ; Yoshihashi, 2002 ; Bergman *et al.*, 2000). Ces méthodes font toutefois appel à plusieurs étapes (extraction, séparation, identification et quantification) et sont difficilement utilisables en routine.

L'utilisation de méthodes d'empreintes globales offre une nouvelle voie d'approche. Osborne *et al.* (1993) proposent

ainsi d'utiliser les spectres d'absorption proche infrarouge du riz pour authentifier des riz type Basmati. Le spectre de masse global des composés volatils est également utilisé pour caractériser et discriminer des produits alimentaires comme l'huile d'olive (Cerrato Oliveros *et al.*, 2005) ou le fromage (Peres *et al.*, 2002). Le but de cet étude vise alors à développer une méthode rapide d'évaluation du caractère aromatique des riz basée sur des données d'empreinte globale interprétées à l'aide d'Analyse Factorielle Discriminante de type SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy). Deux techniques d'empreintes globales seront utilisées : la spectrométrie de masse de la phase volatile et la spectrométrie proche infrarouge de la matrice solide.

## 2 Matériel et méthodes

### 2.1 Spectrométrie de masse (SM)

#### 2.1.1 Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur 61 riz récoltés en Camargue en 2004. La présence de 2AP a été évaluée pour l'ensemble de ces variétés par une méthode semi-quantitative (extraction puis dosage par Chromatographie Phase gazeuse). 32 riz ne présentent pas de 2AP et sont notées non aromatiques, tandis que 29, présentant un taux plus ou moins élevé en 2AP sont classées comme aromatiques.

Les riz réceptionnés sous forme paddy et sous emballage papier, ont été conditionnés en bocaux en verre après décortilage.

#### 2.1.2 Protocole expérimental

3,5 g de riz décortiqués sont placés dans un flacon en verre de 10 ml. 500  $\mu$ l d'eau sont ajoutés, puis le flacon est serti d'un bouchon muni d'un septum en PolyTétraFluoroÉthylène/Silicone. Il est alors conditionné à 80°C durant 5 minutes, et une fibre SPME (DVB/Carboxen/PDMS, Supelco) est mise en contact avec l'espace de tête durant 15 minutes (phase d'adsorption) à cette même température.

Les composés adsorbés sur la fibre SPME sont désorbés dans un injecteur chauffé à 250 °C, durant 4 minutes, en mode split/pulsed splitless et injectés sur une colonne DB-WAX de 60 m de long maintenue à 220°C (Agilent, série 6890). L'acquisition des spectres de masse est réalisé en Impact Electronique par un appareil Agilent (série 5973 N) entre 41 et 199 unités de masse atomique (uma). 8,17 spectres de par seconde sont acquis durant 15 minutes. Les abondances relatives de chaque uma sont sommés entre 2,8 et 8 minutes à l'aide du logiciel Pirouette 3.11 (Infometrix Inc., Bothell). Chaque empreinte est ainsi une série de 160 données d'abondance (une donnée pour chaque unité de masse atomique). Afin de limiter le biais lié aux pollutions apportés expérimentales les ions de 40 à 50, 73 et 147 uma (issus de pollution de composés siliconés) sont éliminés. L'empreinte est ainsi réduite à 147 variables. Les empreintes globales de chacun des riz ont été réalisées en double (à l'aide de deux fibres) en randomisation totale.

### 2.2 Spectrométrie proche infra rouge (SPIR)

#### 2.2.1 Matériel végétal

Pour cette expérimentation, nous avons disposé de 117 riz récoltés en 2004 en Camargue (communs à l'étude précédente) et au VietNam. Comme précédemment, la teneur en 2AP des échantillons a été évaluée par la méthode semi-quantitative et les échantillons ont été classés en « aromatique » (65 riz) ou « non aromatique » (52 riz).

Les riz sont conditionnés à 20°C et à 65% d'humidité, durant le temps nécessaire pour se stabiliser à une teneur en eau comprise entre 12 et 13%, puis décortiqués et immédiatement conditionnés en bocaux en verre munis de bouchons en polypropylène.

#### 2.2.2 Méthode expérimentale

L'acquisition des spectres est réalisée par un appareil Foss-Perstorp 6500 en mode réflectance, à l'aide d'un module tournant dans lequel est disposée une cellule en quartz de 4 cm de diamètre et 1 cm de profondeur. Cette cellule contient approximativement 6 grammes de riz cargo. Les spectres sont acquis en réflexion diffuse de 400 à 2456 nm, avec un pas de 2 nm. Chaque échantillon a été analysé en double avec deux cellules différentes. L'erreur quadratique moyenne (RMS) entre les deux échantillons a été calculée. Si celle-ci est inférieure à 300  $\mu$ abs, la moyenne des 2 spectres est calculée. Si elle est supérieure à 300  $\mu$ abs, une troisième répétition est réalisée et la

	Population initiale	Population modèle	Jeu de validation
Riz parfumés	29 riz	26 riz	3 riz
	58 empreintes	52 empreintes	6 empreintes
Riz non parfumés	32 riz	29 riz	3 riz
	64 empreintes	58 empreintes	6 empreintes
Total	61 riz	55 riz	6 riz
	122 empreintes	110 empreintes	12 empreintes

TAB. 1 – Répartition des populations pour le test d'empreinte globale SM

Classes réelles		Effectif	Classes prédites		
			Absence de 2AP	Présence de 2AP	Non classé
	Absence de 2AP	6	6	0	0
	Présence de 2AP	6	0	4	2

TAB. 2 – Répartition des populations pour le test d'empreinte globale SM

moyenne des 2 spectres présentant la plus faible RMS est calculée. Un prétraitement des spectres est effectué afin de corriger la dérive de la ligne de base et d'améliorer la résolution des pics. Il consiste à appliquer une correction de dispersion de la lumière de type SNVD (Standard Normal Variate and Detrend) et à calculer la dérivée seconde des spectres. Ceci est réalisé à l'aide du logiciel Winisi (InfraSoft).

### 2.3 Statistiques

Les tableaux d'empreinte globale sont traités à l'aide d'une méthode de classification supervisée, la méthode SIMCA (« Soft Independent Modeling of Class Analogy », modélisation douce et indépendante des analogies de classes). Ce traitement est réalisé à l'aide du logiciel Pirouette 3.11 (Infometrix Inc., Bothell). La méthode SIMCA réalise une Analyse en Composante Principale (ACP) sur chaque groupe d'échantillons, ou classe. Chaque classe, dans notre cas « aromatique » ou « non aromatique », est ainsi décrit par un modèle d'ACP indépendant. La distance de Mahalanobis (H) caractérise la distance de chaque spectre au centroïde (spectre moyen) de chaque classe. On calcule alors, pour tout nouvel échantillon, sa probabilité d'appartenance (degré de ressemblance au spectre moyen) à chaque classe, par l'intermédiaire d'un test de Fisher sur les valeurs de H.

## 3 Résultats et discussion

### 3.1 Spectrométrie de masse (SM)

Les empreintes globales de chacun des riz ont été réalisées sous forme cargo en double (à l'aide de deux fibres) en randomisation totale. Nous disposons ainsi de 122 empreintes : 58 empreintes (29 riz x 2 répétitions) de riz parfumés pour 64 empreintes (32 riz x 2 répétitions) de riz non parfumés (Tableau 1). Pour tester la validité de la méthode de classification SIMCA, un jeu d'échantillons de validation est extrait par tirage au hasard de 6 variétés parmi les 61 : les 12 empreintes sont extraites de la base de données (les deux répétitions pour chacune des 6 variétés) et ne serviront pas à bâtir le modèle de discrimination.

Deux modèles d'ACP ont été construits à partir de la matrice des données des empreintes globales du jeu de calibration : un pour la classe des riz parfumés, un pour la classe des riz non parfumés. Le modèle comporte 23 CPs pour la classe des riz aromatiques, contre 22 pour celle des non aromatiques. La distance H interclasse est de 1,95. Ce résultat est correct, mais perfectible, dans la mesure où une distance H de 3 est requise pour séparer parfaitement les classes. Un test de prédiction de l'ensemble des échantillons du modèle montre que les 110 empreintes sont correctement classées par le modèle de discrimination. Les variétés non aromatiques se regroupent bien en un nuage condensé (en rouge sur la Figure 1). Les variétés aromatiques (en bleu) forment un nuage un peu plus étalé. On remarque par ailleurs que les deux répétitions (la répétition 2 porte le suffixe « \_2 » sur le graphique) de chacune des variétés sont proches, même si elles n'ont pas été réalisées avec la même fibre SPME.

Un test de prédiction a ensuite été réalisé sur les 12 empreintes du jeu de validation. Les trois variétés non aromatiques sont bien reconnues comme telles par le modèle (Tableau 2), tandis que deux variétés aromatiques sont bien reconnues. Une variété aromatique ne peut être affectée ni à la classe aromatique, ni à la classe non aromatique. Il

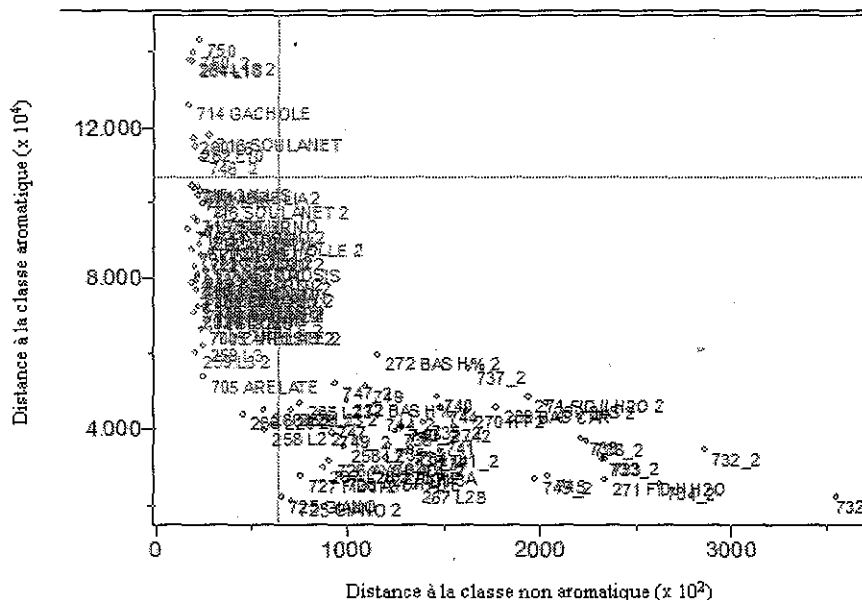


FIG. 1 – Distances des échantillons (aromatiques ou non aromatiques) par rapport au centroïde des classes aromatique et non aromatique

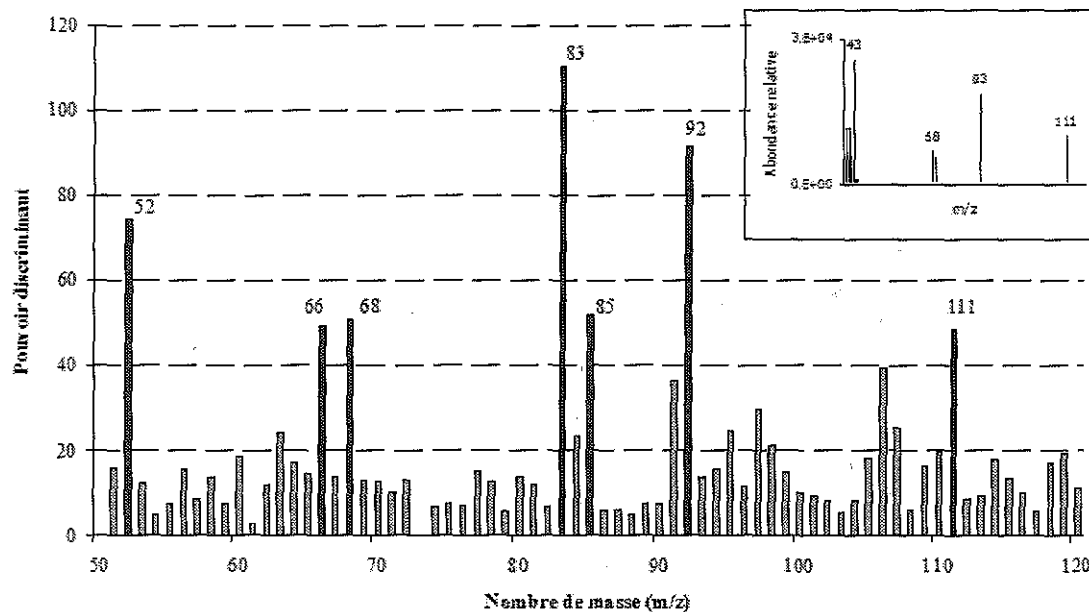


FIG. 2 – Pouvoir discriminant des ions constituant l’empreinte globale

faut noter par ailleurs que les deux répétitions d’une même variété sont toujours classées dans la même catégorie.

Le taux de reconnaissance du modèle est donc de 83 %, ce qui est très prometteur. D’autant plus, que la non reconnaissance d’un riz aromatique entraîne, dans ce modèle, une non classification de l’échantillon et non une erreur de classification.

La méthode SIMCA permet par ailleurs de calculer le pouvoir discriminant de chaque variable (abondance pour chaque unité de masse). Celui-ci représente, sur une échelle relative, la contribution de chaque variable dans la séparation entre les classes « présence ou absence d’arôme ».

Parmi les variables possédant un pouvoir discriminant supérieur à 40 (en rouge, Figure 2), figurent les ions 68,

	Camargue	Vietnam	Total	Modèle	Validation
Riz parfumés	23	42	65	53	12
Riz non parfumés	42	10	52	44	8
<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>52</b>	<b>117</b>	<b>97</b>	<b>20</b>

TAB. 3 – Répartition des populations pour le test d'empreinte globale SPIR

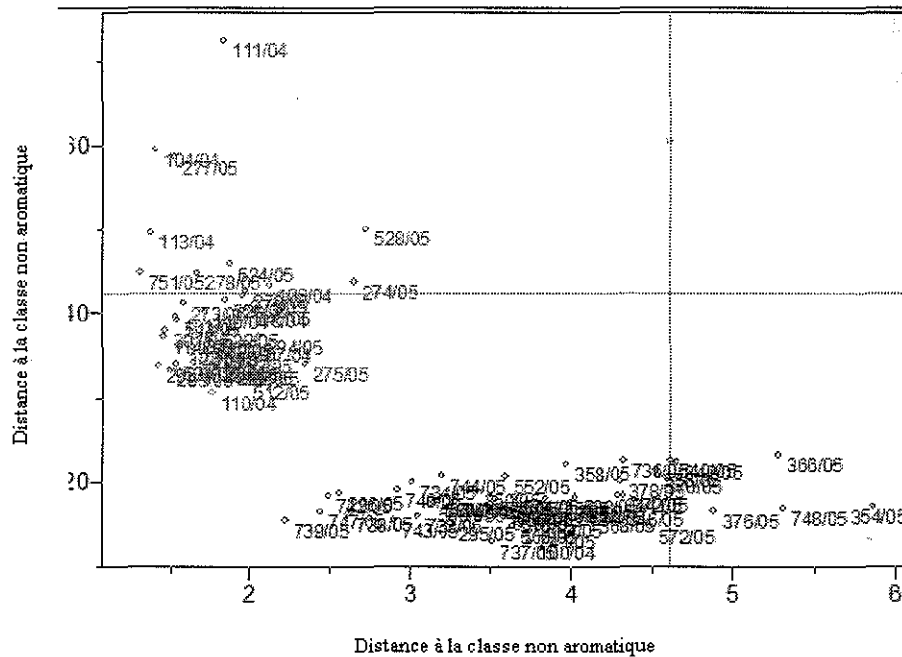


FIG. 3 – Distances des échantillons (aromatiques ou non aromatiques) du modèle par rapport au centroïde des classes aromatique et non aromatique

83 et 111 uma, caractéristiques du spectre de masse de la 2AP (encadré). Ceci démontre *a posteriori* que la discrimination n'est pas fortuite, mais qu'elle est bien basée sur le caractère parfumé des riz. L'ion 52 uma apporte par ailleurs une contribution importante dans la discrimination entre classe aromatique et non aromatique. Il pourrait révéler le caractère discriminant de la pyridine, détectée dans certains riz parfumés mais absent de riz non parfumés. De nouveaux tests seront toutefois nécessaires pour confirmer, ou infirmer, cette hypothèse.

### 3.2 Spectrométrie proche infra rouge (SPIR)

Comme précédemment, la méthode SIMCA a été utilisée en extrayant par tirage aléatoire une sous population (jeu de validation : 20 échantillons, (Tableau 3)) et en définissant le modèle de discrimination sur la population résiduelle (97 échantillons).

Une première analyse a montré que 3 échantillons (2 dans la population du modèle et 1 dans le jeu de validation) présentaient des distances importantes par rapport à la population globale. Ces 3 échantillons ont donc été éliminés. Le modèle de la classe aromatique comporte alors 13 Composantes Principales et celui-ci de la classe non aromatiques, 12. La distance interclasse est relativement faible (0,83), mais l'ensemble de la population d'échantillonnage est classé correctement par le modèle (Figure 3).

Un test de prédiction a ensuite été réalisé sur les 19 échantillons du jeu de validation. Les 7 variétés non aromatiques sont bien reconnues comme telles par le modèle. Parmi les 12 variétés aromatiques, 9 sont bien reconnues (Figure 4), 1 est classée non aromatique par le modèle (516/05) et 2 ne sont pas classées (362/05 et 732/05). Le taux de reconnaissance est donc de 84%, ce qui est particulièrement intéressant pour une méthode aussi rapide et aisée à mettre en œuvre.

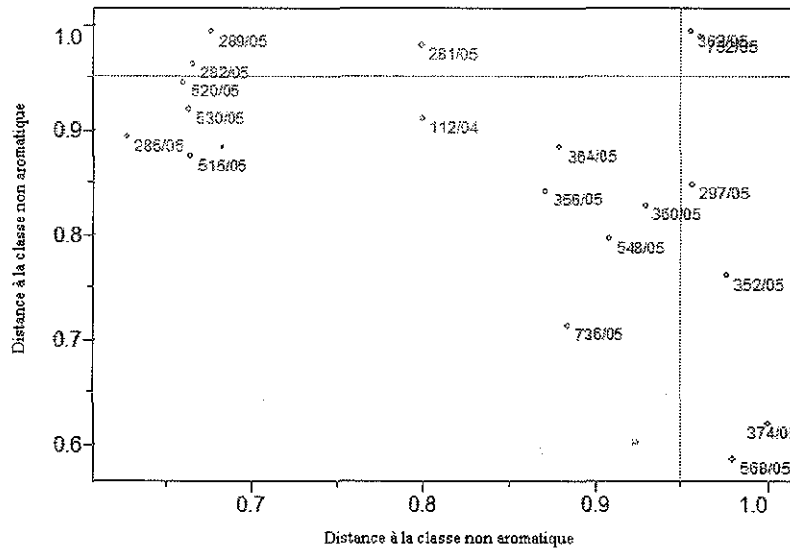


FIG. 4 – Distances des échantillons (aromatiques ou non aromatiques) du jeu de validation par rapport au centroïde des classes aromatique et non aromatique)

### 3.3 Conclusion

Les deux méthodes d'empreinte globale (SM des composés volatils et SPIR de la matrice solide) couplée à la méthode SIMCA sont d'ores et déjà capable, avec un taux de réussite satisfaisant (83 et 84 %) de discriminer les riz (de Camargue ou du VietNam) en fonction de la présence ou de l'absence de 2AP. L'accumulation de données et l'élargissement de la base de référence permettra d'améliorer le pouvoir discriminant. D'autre part, nous souhaitons à moyen terme, établir une discrimination en fonction de l'intensité d'arôme, mais aussi en fonction de l'origine génétique et agro-environnementale des échantillons.

### Références

- Bergman, C.J., Delgado, J.T., Bryant, R., Grimm, C., Cadwallader, K.R. & Webb, B.D. (2000). Rapid gas chromatographic technique for quantifying 2-acetyl-1-pyrroline and hexanal in rice (*Oryza sativa*, L.). *Cereal-chemistry* 77 (4):454-458.
- Buttery, R.G. & Ling, L.C. 1982. 2-acetyl-1-pyrroline: an important aroma component of cooked rice. *Chem. Ind.*:958-959.
- Cerrato Oliveros, C., Boggia, R., Casale, M., Armanino, C. & Forina, M. (2005). Optimisation of a new headspace mass spectrometry instrument. Discrimination of different geographical origin olive oils. *J. Chromatography A* 1076:7-15.
- Grimm, C., Bergman, C., Delgado, J. T. & Bryant, R. (2001). Screening for 2-acetyl-1-pyrroline in the headspace of rice using SPME/GC-MS. *J Agric Food Chem* 49 (1):245-9.
- Osborne, B.G., Mertens, B., Thompson, M. & Fearn, T. (1993). The authentication of Basmati rice using near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectroscopy* 1:77-83.
- Peres, Ch., Denoyer, Ch., Toumayre, P. & Berdague, J.-L. (2002). Fast characterization of cheeses by dynamic headspace-mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 74 (6):1386-1392.
- Yoshihashi, T. (2002). Quantitative analysis on 2-acetyl-1-pyrroline of an aromatic rice by stable isotope dilution method and model studies on its formation during cooking. *Journal of Food Science* 67 (2):619-622.
- Yoshihashi, T., Nguyen Thi, L. & Kabaki, N. (2004). Area dependency of 2-acetyl-1-pyrroline content in aromatic rice variety Khao Dawk Mali 105. *JARQ* 38 (2):105-109.