

# Microscopie-NIR appliquée aux aliments du bétail

François Piraux, Pierre Dardenne

Département Qualité des Productions agricoles. Centre de Recherches agronomiques de Gembloux. Chaussée de Namur, 24. B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : dptqual@cragx.fgov.be.

Reçu le 28 août 2000, accepté le 16 octobre 2000.

L'utilisation de la microscopie-NIR pour la détection et la quantification des farines de viande et d'os dans les aliments composés est envisagée. Premièrement, on montre qu'il est possible de reconnaître des particules d'origine animale dans un aliment composé sur base de leur spectre. Deuxièmement, l'analyse de plusieurs aliments composés indique que la spectromicroscopie-NIR pourrait être quantitativement aussi précise que la méthode par microscopie optique couramment adoptée.

**Mots-clés.** Spectroscopie, microscopie, FT-NIR, authentification, viande, aliment pour animaux, discrimination, classification.

**Application of the NIR-microscopy to the feedstuffs.** In this study, the use of near infrared spectromicroscopy for the detection and the quantification of meat and bone meal in compound feed is investigated. First, we show that it is possible to recognize animal particles in ground compound feedstuffs based on a spectral analysis. Secondly, the analysis of several compound feedstuffs indicates that the NIR-spectromicroscopic method could be as reliable as the currently adopted optical microscopic method.

**Keywords.** Spectroscopy, microscopy, FT-NIR, authentication, meat, feeds, discrimination, classification.

## 1. INTRODUCTION

L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est une maladie dégénérative fatale qui affecte le système nerveux central des bovins. Selon l'explication scientifique la plus généralement admise, l'épizootie d'ESB au Royaume-Uni aurait son origine dans le recyclage de carcasses de bovins contaminés transformées en aliments pour le bétail sous forme de farine de viande et d'os (MBM), et dans des modifications intervenues en 1981–1982 dans les procédés technologiques utilisés pour la production de ces farines (réduction des températures de séchage et abandon du dégraissage par solvant pour optimiser l'extraction des graisses).

La décision de la Commission 94/381/EC du 27 juin 1994 interdit depuis le 27 juillet 1994, dans tous les États membres, l'utilisation de protéines dérivées de tissus de ruminants ou – en cas de difficulté d'identification – de tous mammifères dans l'alimentation des ruminants. Par ailleurs, l'UE a arrêté des normes obligatoires dans tous les États membres pour améliorer la sécurité des farines destinées aux autres animaux (porcs, volailles, poissons, etc.). Ces normes ont été renforcées depuis le 1<sup>er</sup> avril 1997 (décision 94/449/EC du 18/7/96 : paramètres minimaux pour la transformation de déchets animaux de mammifères à l'exclusion des graisses : Ø < 50 mm, t° > 133 °C, t = 20 min, p = 3 bars).

L'interdiction d'utiliser des protéines dérivées de mammifères dans l'alimentation des ruminants implique d'avoir une méthode analytique rapide et fiable permettant d'identifier et de quantifier des ingrédients d'origine animale dans les aliments composés. Différentes techniques peuvent être envisagées.

Dans la plupart des pays européens, la microscopie optique est couramment adoptée. La limite de détection de cette méthode est approximativement de 0,1 % ou même moins. Mais quand elle est utilisée pour quantifier les ingrédients d'origine animale dans un aliment composé, la méthode microscopique est dépendante de la présence d'os dans le produit et, de plus, la précision obtenue dépend fortement de la proportion d'os dans l'ingrédient d'origine animale à identifier dans l'aliment composé. Par ailleurs, la distinction entre les os de mammifères et de volailles est très difficile et une expérience considérable est nécessaire pour parvenir à faire cette différenciation.

Contrairement à la méthode microscopique, les tests ELISA commerciaux peuvent identifier différentes espèces animales en fonction des anticorps disponibles. La limite de détection de ces tests ELISA commerciaux utilisés pour la détection de constituants d'origine animale dans des aliments composés est approximativement de 5 % et est fonction de l'espèce animale. De plus, quand la température de traitement du produit animal est augmentée, la sensibilité du test décroît à tel

point que l'identification de produits chauffés à plus de 130 °C pourrait ne plus être possible (Hahn, 1998 ; Pickering *et al.*, 1996).

Les techniques de biologie moléculaire proposent une autre approche pour l'identification d'ingrédients d'origine animale dans des aliments composés. En utilisant les procédures PCR on peut détecter de manière précise et rapide des séquences d'ADN spécifiques provenant de farines de viande et d'os. On peut de cette manière détecter la présence de farine de viande et d'os dérivée de bovins dans un aliment contenant moins de 0,125 % de cette farine animale (Tartaglia *et al.*, 1998).

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) est encore une autre possibilité pour identifier des ingrédients animaux. Les applications traditionnelles de la SPIR dans le domaine de l'analyse des aliments sont orientées principalement vers le développement d'équations de prédiction reliant des données spectrales à des paramètres chimiques ou nutritionnels (par exemple la teneur en protéine, en graisse, en fibre, en amidon, la digestibilité, l'énergie, etc.). Dans le cas particulier de la reconnaissance d'ingrédients dans un mélange, la SPIR a été utilisée dans de nombreuses applications et semble capable d'estimer avec précision la composition de mélanges binaires (Murray, 1998 – communication personnelle). D'autres recherches sont nécessaires pour ce qui est de la quantification des farines de viande et d'os dans les aliments composés (Garrido, Fernández-Cabanás, 1998).

En fait actuellement, aucune des méthodes décrites ci-dessus n'est totalement satisfaisante pour détecter et quantifier les farines de viande et d'os dans les aliments composés. Nous présentons ci-dessous une nouvelle méthode, basée sur la microscopie proche infrarouge (NIR), pour détecter et quantifier les ingrédients d'origine animale dans les aliments. Les aliments pour bétail sont des aliments composés, c'est-à-dire qu'ils sont le résultat du mélange de plusieurs matières premières différentes choisies parmi une vaste gamme de matières premières disponibles, l'une d'entre elles étant les farines de viande et d'os, interdites actuellement dans les aliments pour bétail. Ces aliments peuvent être présentés sous diverses formes, mais ils sont souvent proposés à l'état de pellets. Le principe de la méthode consistant à analyser des particules homogènes, il est donc nécessaire de broyer l'aliment, chaque particule issue de cette opération étant supposée constituée d'une seule matière première. Par la suite, la méthode s'articule en deux phases, une phase d'identification des particules obtenues par broyage de l'aliment, et une phase de quantification des particules identifiées comme particules de viande et d'os. L'identification des particules est réalisée par analyse discriminante sur base de leur spectre, acquis par microscopie-NIR. La quantification des farines de

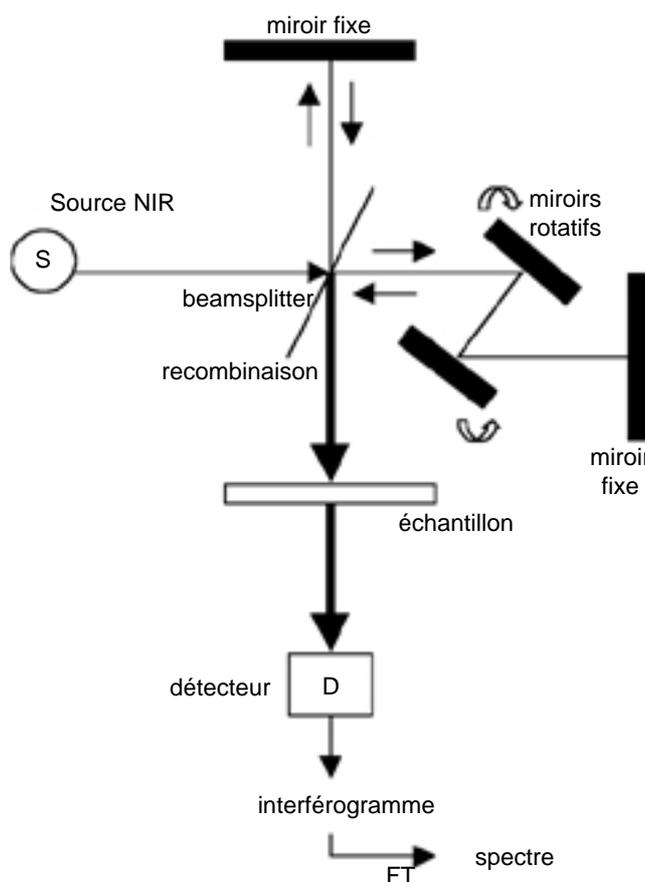
viande et d'os dans l'aliment est réalisée en mesurant, par analyse d'image, la proportion de la surface totale des particules occupée par les particules de viande et d'os.

## 2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 2.1. Microscope NIR Perkin-Elmer

**Principe de fonctionnement.** L'appareillage utilisé doit permettre de prendre le spectre de particules dont la taille est de l'ordre de la centaine de microns. Il s'agit d'un interféromètre infrarouge à transformée de Fourier couplé à un microscope optique. Le principe de fonctionnement de l'appareillage est le suivant : le rayon infrarouge généré par l'interféromètre est envoyé vers le microscope. Au niveau du microscope, une caméra vidéo permet de visualiser l'échantillon et de localiser sur celui-ci la particule que l'on veut analyser. Le rayon infrarouge est dirigé sur la particule à analyser et un détecteur situé dans le microscope permet d'enregistrer son spectre.

**Description du système FT-NIR.** La composante principale d'un interféromètre est un système (beamsplitter, **Figure 1**) qui divise un rayon IR en



**Figure 1.** Système FT-NIR — *FT-NIR system*.

deux et qui recombine ensuite les deux rayons produits après avoir introduit une différence de chemin optique entre les deux rayons. Ce rayon recombinaison passe alors à travers l'échantillon jusqu'au détecteur.

La division du rayon IR est réalisée par un beamsplitter qui transmet environ 50 % de la lumière et qui réfléchit environ 50 % de la lumière. Une partie du rayon IR est envoyée vers un miroir fixe et l'autre partie est envoyée vers deux miroirs rotatifs qui génèrent la différence de chemin optique.

Quand les deux rayons sont recombinaison, un système d'interférences est obtenu en faisant varier le chemin optique. Un spectre classique mettant en relation le niveau d'énergie en fonction du nombre d'ondes par centimètre peut être obtenu à partir de l'interférogramme par le processus mathématique de transformée de Fourier.

**Description du système Auto-image.** Le microscope Auto-image est conçu pour collecter des spectres à partir d'échantillons de très petite taille. Le microscope comprend une caméra vidéo qui permet d'obtenir une image agrandie de l'échantillon visualisée sur l'écran d'un PC. À partir de cette image, on peut observer, positionner (au moyen d'une plateforme mobile sur laquelle on place l'échantillon et qui peut se déplacer par pas minimum de  $1\mu$ ), et isoler un point intéressant. Le logiciel AutoIMAGE permet de contrôler les opérations effectuées par le microscope et de collecter les spectres d'échantillons. Les spectres peuvent être acquis en réflexion ou en transmission.

## 2.2. Identification des particules - modèle qualitatif

Une étape importante de la technique proposée est évidemment l'identification des particules issues du broyage d'un aliment. Il n'est cependant pas nécessaire, dans le cadre de ce projet, de reconnaître chacune des matières premières constitutives d'un aliment, il suffit uniquement de déterminer si une particule est une particule de viande et d'os ou non.

L'identification d'une particule inconnue a été réalisée par analyse discriminante. L'analyse discriminante vise à classer un individu d'origine inconnue  $x$  dans un groupe  $G$  parmi  $k$  groupes différents. Cette affectation de l'individu à un groupe donné se fait sur base de  $p$  caractéristiques, c'est-à-dire de  $p$  variables, observées sur cet individu. À cet effet, une règle de classement  $R$  est établie à partir de  $k$  échantillons d'individus dont on connaît l'origine.

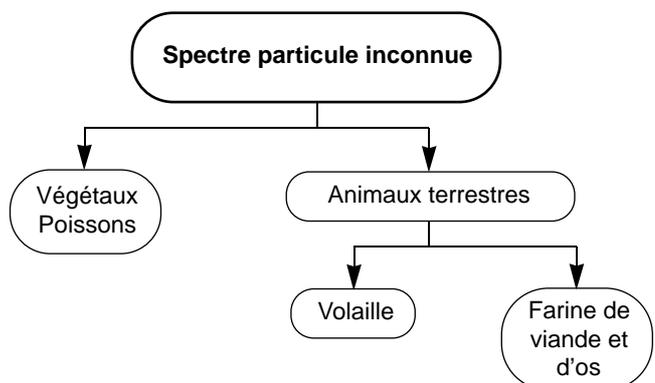
Dans notre cas, l'individu inconnu  $x$  est une particule issue du broyage d'un aliment, les  $p$  variables observées sur cet individu sont les absorbances observées aux différentes longueurs d'onde du spectre infrarouge de cet individu, et les échantillons

d'individus dont on connaît l'origine sont des particules provenant de matières premières pures entrant dans la composition des aliments pour bétail. En réalité, l'identification des particules de viande et d'os a été réalisée en deux étapes (**Figure 2**).

Les matières premières utilisées pour la construction des règles de classement sont reprises ci-dessous.

## 2.3. Modèle quantitatif

L'objectif de cette analyse est de quantifier les farines de viande et d'os se trouvant dans un aliment composé. Cette quantification peut se faire sur base de l'identification des particules de cet aliment réalisée lors de l'analyse qualitative (voir ci-dessus). Des aliments composés avec des teneurs en farines de viande et d'os connues ont été utilisés pour construire et valider le modèle quantitatif. Pour construire le modèle, un aliment composé de base, non adultéré, et différentes farines de viande et d'os ont été soigneusement mélangés en différentes proportions (0 à 10 % de farine de viande). Environ 600 particules ont été choisies au hasard dans chacun des aliments artificiels fabriqués de la sorte et ont été analysées par microscopie proche infrarouge. Les particules analysées ont ensuite été classées, au moyen de la règle de discrimination construite lors de l'analyse qualitative, dans le groupe des particules interdites (particules de viande et d'os) ou dans le groupe des particules autorisées (autres particules) et, pour chaque échantillon, une image des particules analysées ayant été enregistrée, on a pu mesurer, par analyse d'image, la surface des particules en fonction de leur nature. Une régression linéaire a ensuite été établie entre la teneur des aliments en farine de viande et d'os et la surface relative des particules de viande et d'os dans l'aliment. La validation du modèle ainsi construit a été réalisée en analysant, suivant la même procédure que celle



**Figure 2.** Schéma logique pour l'identification de particules de viande et d'os — *Logical scheme for the authentication of meat and bone meal particles.*

suivie lors de l'étape de calibration, trois aliments composés indépendants.

La description des aliments composés utilisés pour construire et valider le modèle quantitatif est donnée ci-dessous.

#### 2.4. Matières premières

Les échantillons de matières premières utilisés pour construire la règle de discrimination ont été fournis principalement par le Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture ainsi que par deux producteurs belges d'aliments.

La liste des matières premières analysées est la suivante (le nombre d'échantillons analysés est donné entre parenthèses) : farine de viande et d'os (15), farine de viande (13), os broyés (4), farine de plumes (3), sous-produits de volaille (8), farine de poissons (19), pois (6), manioc (6), blé (2), farine de sang (1), tourteau d'extraction de colza (3), maïs (3), glutenfeed de maïs (1), tourteau de germes de maïs (1), soja (5), lin (3), luzerne (4), sous-produits de lait (2).

#### 2.5. Aliments composés

Pour construire le modèle quantitatif, un aliment composé de base, non adultéré, fabriqué par une firme belge et préalablement broyé, et différentes farines de viande et d'os ont été soigneusement mélangés en différentes proportions (0 à 10 % de farine de viande). La composition de cet aliment de base est la suivante : palmiste, blé, lin, soja, citrus, cocotier, glutenfeed de maïs, racines, sons, minéraux, vitamines, CIAL(liant), mélasse.

Pour valider le modèle, trois aliments composés ont été utilisés. Le premier a été préparé par le Laboratoire d'Analyse de l'État à Tervuren et les deux autres ont été préparés par un producteur d'aliments belge. La teneur (en poids) en farine de viande et d'os de ces aliments varie de 2 à 6 %.

#### 2.6. Préparation de l'échantillon

Préalablement à l'analyse, les échantillons sont broyés avec un moulin Retsch (Allemagne) muni d'un tamis dont les mailles font 1 mm.

#### 2.7. Analyse des échantillons et acquisition spectrale

Pour les matières premières, 30 particules choisies au hasard dans chacun des échantillons décrits ci-dessus ont été analysées par microscopie NIR. Pour les aliments composés, environ 600 particules ont été choisies au hasard dans chacun d'eux et ont été analysées par microscopie NIR. Les analyses ont été réalisées en réflexion sur des particules dispersées sur une surface

de référence (spectralon) avec une fenêtre d'analyse de 50  $\mu$  sur 50  $\mu$ . Les données ont été enregistrées sous forme de Log 1/R tous les 4 nm dans la région qui va de 1112 à 2500 nm, ce qui donne 348 longueurs d'onde par spectre. Chaque spectre de particule de matière première est la moyenne de 100 scans, et les spectres provenant de l'analyse d'aliments composés sont la moyenne de 10 scans.

#### 2.8. Traitement des données

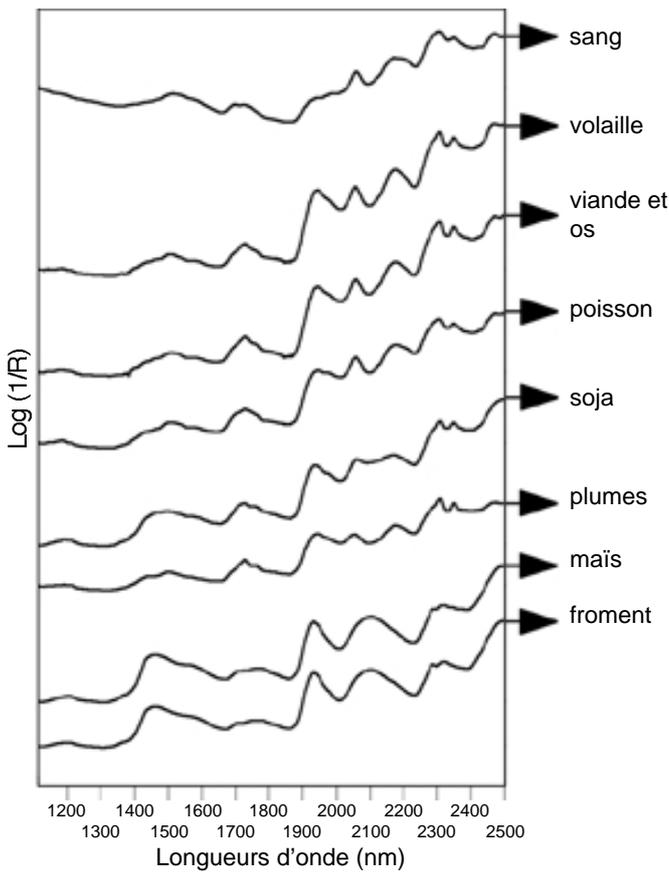
Les données spectrales ont été traitées à l'aide du logiciel ISI (NIRS 3 ver. 4.0 et WinISI, Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). Les images des particules analysées ont été traitées à l'aide du logiciel Micro Image 3.0 (Olympus Optical Co., Hambourg, Europe).

Les spectres de particules des matières premières ont été répartis en deux groupes. Le premier groupe comprend les spectres de farines de poissons, de pois, de manioc, de blé, de farines de sang, de tourteaux d'extraction de colza, de maïs, de glutenfeed de maïs, de tourteaux de germes de maïs, de soja, de lin, de luzerne, et de sous-produits de lait. Ces matières premières sont autorisées pour nourrir les ruminants. Le deuxième groupe comprend les spectres de farines de viande et d'os, de farines de viande, d'os broyés, de farines de plumes et de sous-produits de volaille. Excepté les farines de plumes et les sous-produits de volaille, qu'il n'est pas possible de différencier, pour le moment, des farines de viande et d'os, ce deuxième groupe reprend les matières premières interdites pour nourrir les ruminants. Un réseau neuronal artificiel (réseau perceptron multicouches avec back propagation basé sur les scores PLS) a été utilisé pour discriminer les groupes représentés par une variable binaire prenant la valeur -1 pour le premier groupe (particules autorisées) et la valeur 1 pour le deuxième groupe (particules interdites). Les particules dont les valeurs prédites sont inférieures à 0 étant assignées au premier groupe et les particules dont les valeurs prédites sont supérieures à 0 étant assignées au second groupe. Préalablement à l'analyse neuronale, les données ont subi un traitement SNVD (Standard Normal Variate and Detrend) ainsi qu'une dérivée première de type 1,4,4 (le premier chiffre donne le degré de la dérivée, le second le nombre de points de l'intervalle de soustraction, le troisième le nombre de points pour le lissage mobile).

### 3. RÉSULTATS

#### 3.1. Caractéristiques spectrales

Les caractéristiques spectrales des spectres moyens de particules provenant des matières premières les plus caractéristiques sont montrées dans la **figure 3**. Des



**Figure 3.** Spectres moyens de particules de matières premières caractéristiques — *Mean spectra of particles of typical raw materials.*

bandes d'absorption caractéristiques de l'eau sont observables à 1452 nm (OH first overtone) pour les matières premières végétales et à 1940 nm pour toutes les matières premières (OH second overtone). Le soja et les matières premières animales montrent des bandes d'absorption à 2312 et 2356 nm (combinaisons CH) dues à la présence de matières grasses et des bandes d'absorption à 2064 et 2184 nm (NH second overtone) dues à la présence de protéines tandis que le maïs et le blé montrent une bande d'absorption à 2100 nm (combinaisons OH) due à la présence d'amidon.

Il y a de grandes similitudes entre les spectres de farine de viande et d'os, de volaille, de plumes et de poisson. On peut difficilement différencier ces spectres à l'aide d'un simple examen visuel et le recours à la chimométrie est indispensable si on veut distinguer ces matières premières.

### 3.2. Analyse qualitative

L'objectif de cette analyse est de pouvoir identifier une particule provenant du broyage d'un aliment comme étant une particule issue d'une matière première autorisée ou non.

Une analyse discriminante prédictive, réalisée par réseau neuronal (ANN), est utilisée pour classer des particules inconnues dans deux groupes sur base de leurs absorbances entre 1112 nm et 2500 nm, le premier groupe étant celui des particules autorisées et le second groupe celui des particules interdites. Plus de 3000 particules ont été analysées pour construire et pour valider la règle de discrimination. Les échantillons de calibration et de validation ont été constitués en leur attribuant au hasard les différents échantillons de matières premières. Le **tableau 1** montre les résultats de la validation de la règle de classement. Le taux d'erreur général, estimé par l'échantillon de validation indépendant, est donné par:

$$\text{Taux d'erreur général} = (0,63 + 0,66)/2 = 0,64 \%$$

### 3.3. Analyse quantitative

L'objectif de cette analyse est de quantifier les farines de viande et d'os se trouvant dans un aliment composé. Cette quantification peut se faire sur base de l'identification des particules de cet aliment réalisée lors de l'analyse qualitative (voir ci-dessus).

**Étape de calibration.** Des aliments composés dont les teneurs en farines de viande et d'os sont connues ont été utilisés pour développer l'équation de calibration. Pour construire le modèle, un aliment composé de base, non adulteré, et différentes farines de viande et d'os ont été soigneusement mélangés en différentes proportions (0 à 10 % de farine de viande). Environ 600 particules ont été choisies au hasard dans chacun des aliments artificiels fabriqués de la sorte et ont été analysées par microscopie proche infrarouge. Les particules analysées ont ensuite été classées, grâce à la règle de discrimination construite lors de l'analyse qualitative, dans le groupe des particules autorisées ou interdites, et, pour chaque échantillon, une image des particules analysées ayant été enregistrée, on a pu mesurer, par analyse d'image, la surface des particules en fonction de leur nature.

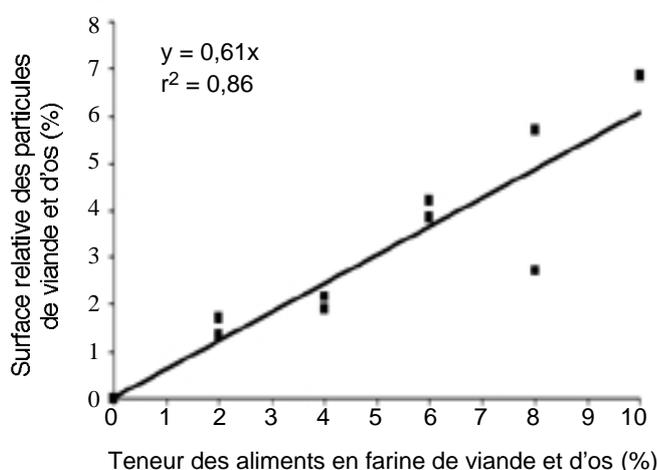
Les résultats sont donnés dans le **tableau 2** et la **figure 4** montre la relation entre la teneur des aliments en farine de viande et d'os (MBM) et la surface relative des particules de viande et d'os dans l'aliment.

**Tableau 1.** Validation de la règle de discrimination — *Validation of the discrimination rule.*

Groupe de particules	Nombre de particules classées dans chaque groupe (%)		Total
	“autorisées”	“interdites”	
“autorisées”	954 (99,37 %)	6 (0,63 %)	960
“interdites”	6 (0,66 %)	906 (99,34 %)	912

**Tableau 2.** Analyse quantitative. Résultats de l'étape de calibration — *Quantitative analysis. Results of the calibration step.*

Numéro de l'échantillon	% MBM (poids) dans l'échantillon	Particules analysées		Particules identifiées comme particules de viande et d'os			
		nbre	surface relative	nbre	%	surface relative	%
0a	0	601		0	0	0	0
0b	0	600		0	0	0	0
2c	2	667	549327	12	1,80	9383	1,71
2d	2	627	599213	8	1,28	8102	1,35
4c	4	599	626755	13	2,17	11980	1,91
4d	4	604	649961	18	2,98	14011	2,16
6c	6	620	585088	19	3,06	22535	3,85
6d	6	634	549133	26	4,10	23081	4,20
8c	8	617	631854	36	5,83	36003	5,70
8d	8	618	542522	20	3,24	14764	2,72
10c	10	623	530410	45	7,22	36396	6,86

**Figure 4.** Proportion de farine de viande et d'os estimée par la surface relative des particules de viande et d'os détectées par microscopie NIR — *Proportion of meat and bone meal in feed estimated by the area proportion of meat and bone particles.*

**Étape de validation.** L'étape de validation consiste en l'analyse, suivant la même procédure que celle suivie lors de l'étape de calibration, de trois aliments composés indépendants dont les teneurs en farine de viande et d'os varient de 2 à 6 %. Les résultats sont donnés dans le **tableau 3**.

#### 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats de l'analyse discriminante entre les particules provenant de matières premières autorisées ou interdites pour nourrir les ruminants montrent qu'il semble possible de détecter, au moyen de la microscopie NIR, les particules de viande et d'os dans un aliment composé broyé avec un taux de réussite supérieur à 99 %. Il faut cependant signaler que le modèle utilisé ne permet pas de différencier les particules de viande

**Tableau 3.** Analyse quantitative. Résultats de l'étape de validation — *Quantitative analysis. Results of the validation step.*

Numéro d'échantillon	Description de l'échantillon	% MBM (poids)	% MBM estimé par microscopie NIR
2a	Supplément pâturage	2	2,02
3a	Aliment pour truie	6	4,57
4a	Aliment pour faisan	6	3,36

bovine des particules de plumes ou de volaille. Toutefois, un modèle de discrimination entre ces deux types de particules est actuellement en développement et les premiers résultats obtenus sont prometteurs. En outre, on pourrait envisager d'utiliser une plage d'analyse spectrale plus étendue (780 à 2500nm ou 400 à 2500 nm) pour différencier les particules de viande bovine des particules de plumes ou de volaille (Thyholt *et al.*, 1997; Murray, 1998 – communication personnelle).

Les résultats de l'analyse quantitative des aliments composés contenant des farines de viande et d'os en proportions connues (**Tableau 3**) sont prometteurs, même s'ils sont encore trop fragmentaires pour permettre de tirer des conclusions définitives. En effet, la précision obtenue semble, pour autant que l'on puisse en juger, certainement aussi bonne que celle permise par la méthode microscopique traditionnelle couramment adoptée. L'analyse quantitative est réalisée, actuellement, par un modèle de régression reliant la proportion de farine de viande et d'os dans un aliment à la surface relative des particules de viande et d'os. Ce modèle pourrait être amélioré en faisant la

différence, parmi les particules de viande et d'os, entre les particules de viande et les particules d'os. Cela permettrait de prendre en compte la différence de densité existant entre ces particules et, en conséquence, pourrait améliorer le modèle quantitatif.

Enfin, il faut noter que si la proportion de MBM dans un aliment composé est faible, il est nécessaire d'analyser un grand nombre de particules si on veut observer au moins une particule de MBM avec une probabilité élevée. Ainsi, par exemple, si un aliment contient 2 % de farine de viande et d'os et que l'on veut observer au moins une particule de MBM avec une probabilité de 95 %, il faut analyser environ 250 particules. Si un aliment contient 0,5 % de farine de viande et d'os, ce qui correspond à la limite maximale acceptable selon l'opinion du Comité directeur scientifique de l'UE, et que l'on veut observer au moins une particule de MBM avec une probabilité de 95 %, il faut analyser environ 1000 particules. L'analyse des particules se faisant une par une, l'analyse d'un tel nombre de particules allonge considérablement la durée totale de l'analyse. La solution envisagée pour remédier à ce problème consisterait à analyser toutes les particules en une seule fois grâce à une caméra infrarouge prenant une image de l'ensemble des particules à chaque longueur d'onde envisagée, la réunion de ces images permettant d'obtenir un spectre pour chaque pixel.

#### Remerciements

Ce projet est financé par le Ministère des Classes moyennes et de l'Agriculture, DG4.

#### Bibliographie

- Garrido A., Fernández-Cabanás V. (1998). NIRS technology for the quantitative prediction of the percentage of meat and bone meal added to a feed compound: a feasibility study. In Jan Sten Jørgensen (ed.). *Workshop on identification of animal ingredients in compound feed focusing on the microscopical method for identification, 25–26th May, Lyngby, Denmark*, 8 p.
- Hahn H. (1998). Commercial ELISA compared with feedstuff microscopy for the identification of animal meal in compound feeds. In Jan Sten Jørgensen (ed.). *Workshop on identification of animal ingredients in compound feed focusing on the microscopical method for identification, 25–26th May, Lyngby, Denmark*, 8 p.
- Pickering K., Green L., Holcombe G., Sargeant J. (1996). The immunological determination of meat content. In Institute of food research (ed.). *Food authenticity 96, 1–3 September, Norwich, UK*, 5 p.
- Tartaglia M., Saulle E., Pestalozza S., Morelli L., Antonucci G., Battaglia PA. (1998). Detection of bovine mitochondrial DNA in ruminant feeds: a molecular approach to test for the presence of bovine-derived materials. *J. Food Prot.* **61**, p. 513–518.
- Thyholt K., Indahl UG., Hildrum KI., Ellekjær MR. (1997). Meat speciation by near infrared reflectance spectroscopy on dry extract. *J. Near Infrared Spectrosc.* **5**, p. 195–208.

(5 réf.)