



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Volkswirtschaftsdepartement EVD  
Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras

# Profil des acides gras dans les aliments pour animaux et dans les graisses

Sébastien Dubois, Peter Stoll, Marius Collomb, Anne-Marie Bossens  
Dominique Guerry

Colloque du 13 décembre 2012, Agroscope Liebefeld-Posieux  
Sébastien Dubois (sebastien.dubois@alp.admin.ch)



# Thèmes

- Analyse des graisses et du profil des acides gras dans les aliments pour animaux
- Pourquoi une nouvelle méthode?
- Comparaison des méthodes
- Validation et références



# Types de matrices

- Matières premières (Céréales)
- Aliments composés (matrices complexes)
- Graisses (animale, végétale)
- Fourrages



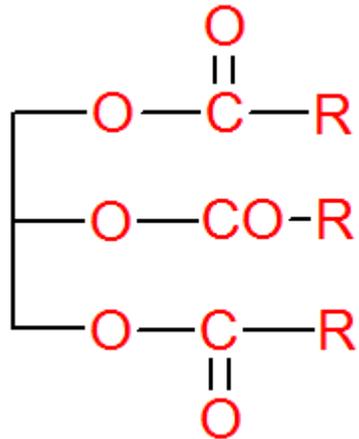
⇒ Composition lipidique très variée

⇒ Les propriétés chimiques des lipides présents dans ces matrices sont très différentes

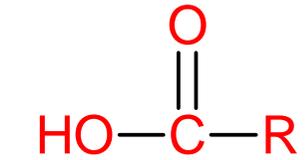


# Composition lipidique des aliments

## Lipides simples



Triglycérides



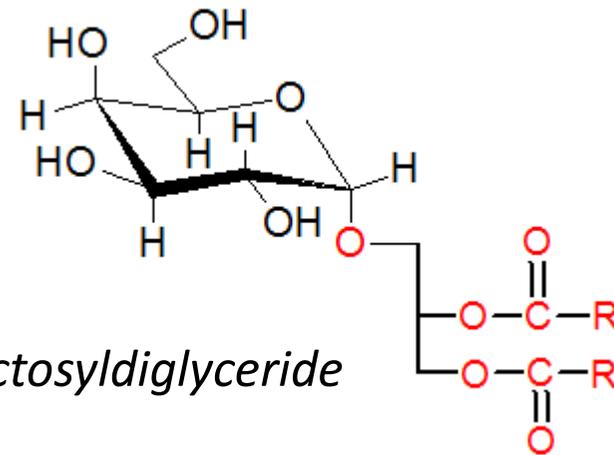
Acide gras libre

- Diglycérides
- Cire



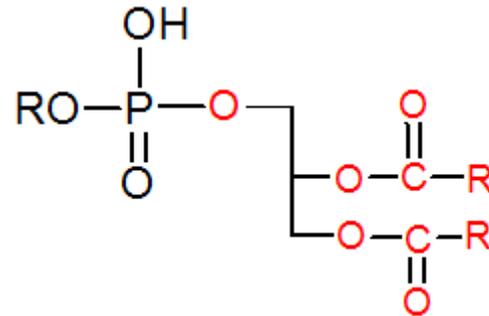
# Composition lipidique des aliments

## Glycolipides



*Monogalactosyldiglyceride*

## Phospholipides



...





# Historique

- 2009 : 1ère méthode GC (profil des acides gras dans les herbages)
- 2010-2011 : adaptation de la méthode pour d'autres types de matrices (aliments pour animaux, graisse, ... )
  - ⇒ La recherche agronomique (ALP) s'intéresse à cette nouvelle méthode
  - ⇒ Optimisation des paramètres analytiques pour les matrices complexes



# Pourquoi une nouvelle méthode?

## Méthode «classique»



## Extraction de la graisse

- Solvants:  
dichlorométhane + méthanol (2:1)  
pour tout les types de matrices
- homogénéisation / extraction  
(Ultra-Turrax)



# Pourquoi une nouvelle méthode?

## Méthode «classique»



## Hydrolyse Estérification

- Hydrolyse avec NaOH (saponification)
- Estérification avec  $\text{BF}_3$  (10% ds méthanol)



# Pourquoi une nouvelle méthode?

## Méthode «classique»



## Chromatographie

**Quantification:** standard interne

**Colonne :** 30m; ID=0.32mm; film= 0.25um

**Gaz:** azote

**Temps d'analyse :** 50 minutes

# Préparation

Méthode «classique»

Extraction de la graisse

Estérification



Nouvelle méthode

Transestérification

Clean up



Chromatographie

# Nouvelle méthode

## Préparation

- Méthodes identiques

## Nouvelle méthode

### Préparation



Transestérification

Clean up



Chromatographie

# Nouvelle méthode

Transestérification

Clean up

- Solvants:  
mélange 5% HCl ds méthanol –  
toluène
- Temps de réaction (3h, 70°C)
- SPE (Lichrolut Si; 500mg/3ml)

## Nouvelle méthode

Préparation



Transestérification

Clean up



Chromatographie

# Nouvelle méthode

## Chromatographie

**Quantification:** standard interne  
**Colonne :** 15m; ID=0.1mm; film= 0.1um  
**Gaz:** hydrogène (FAST GC)  
**Temps d'analyse:** 15 minutes

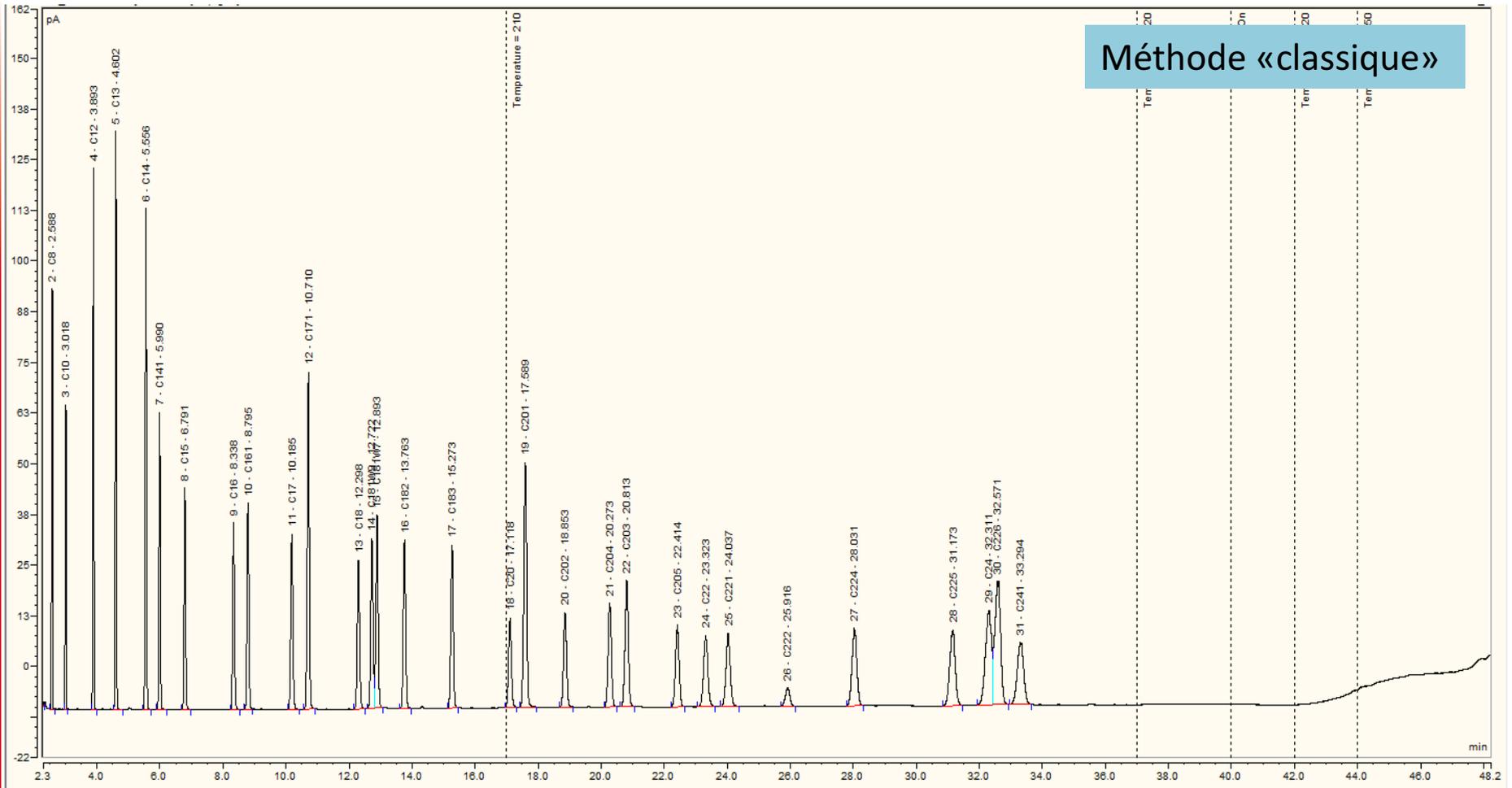


## Nouvelle méthode

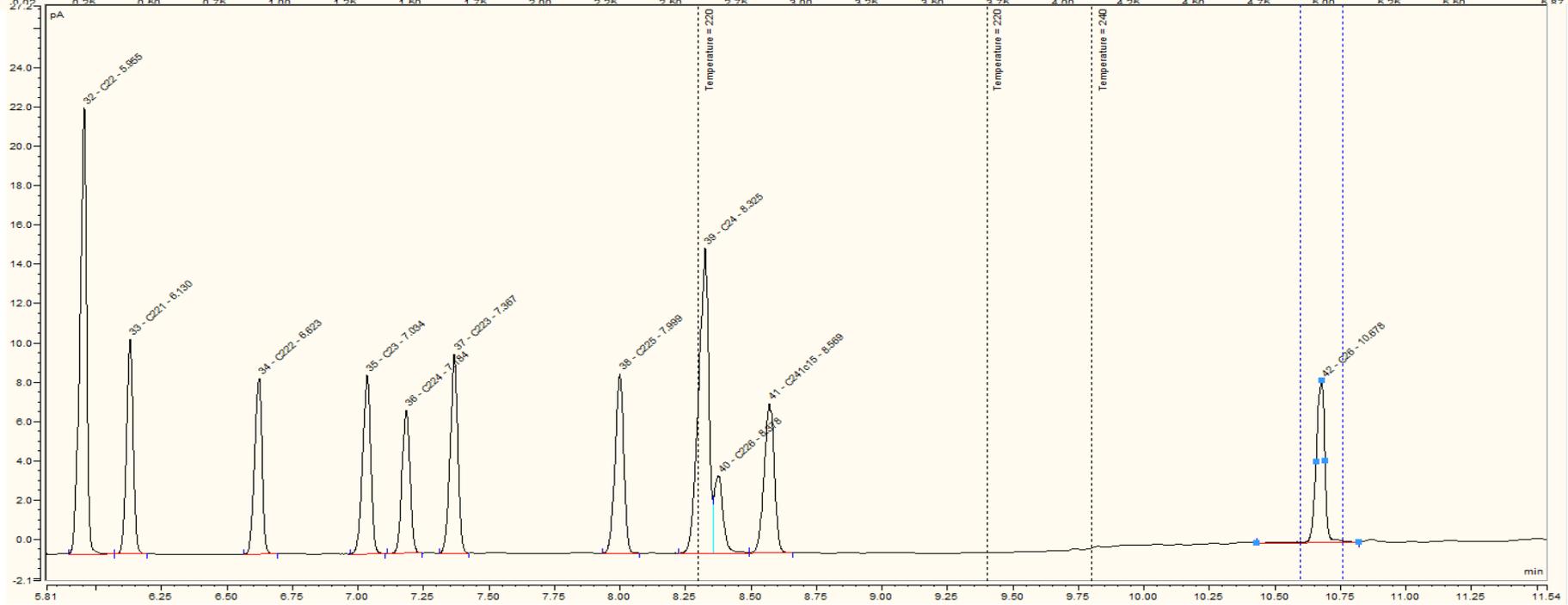
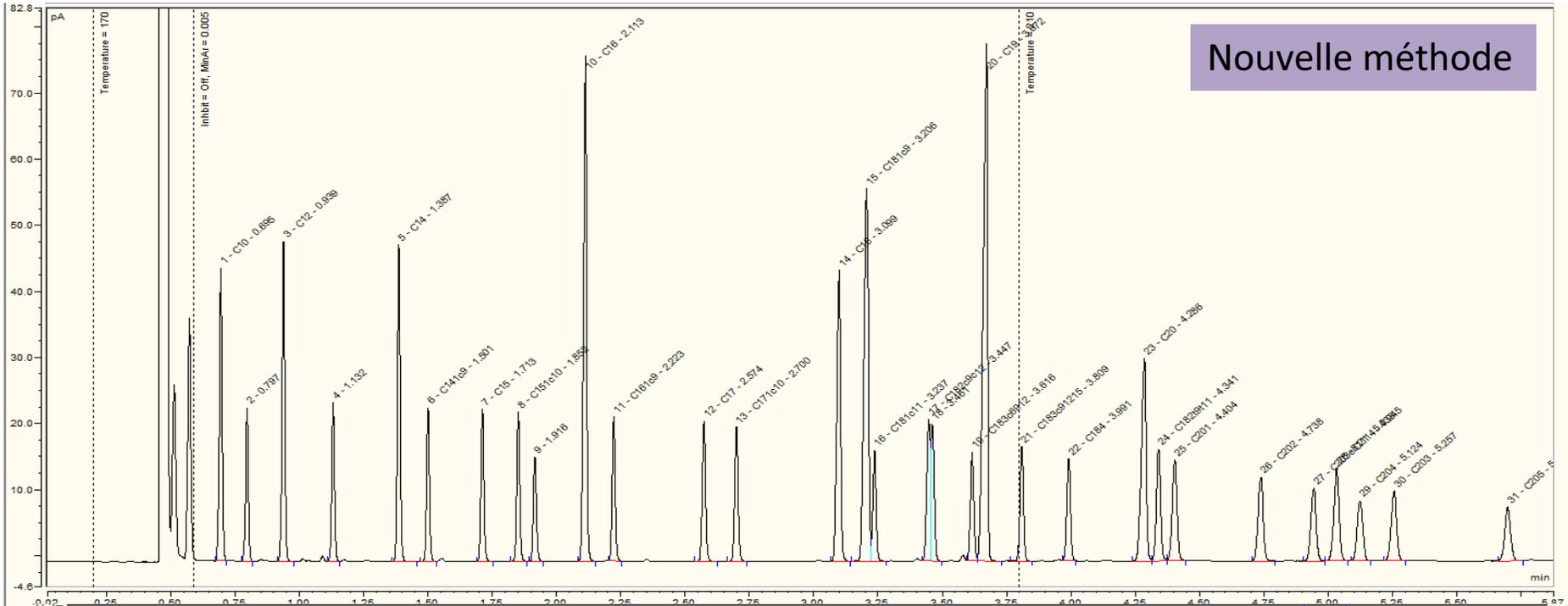




# Chromatographie



Nouvelle méthode



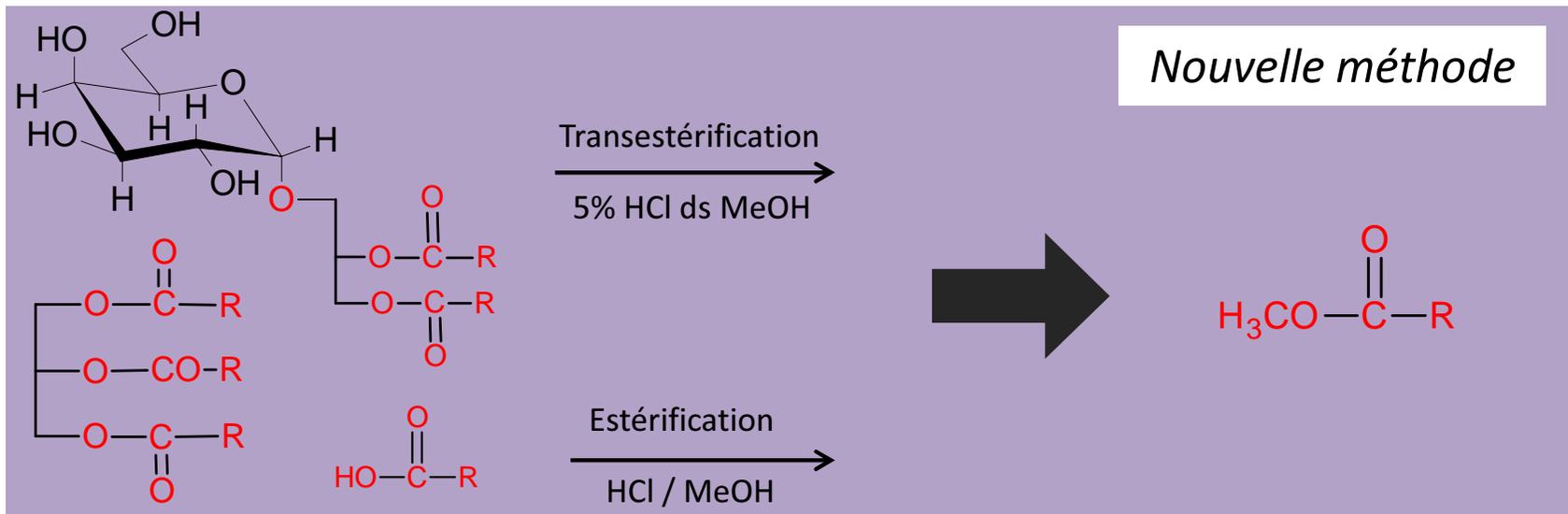
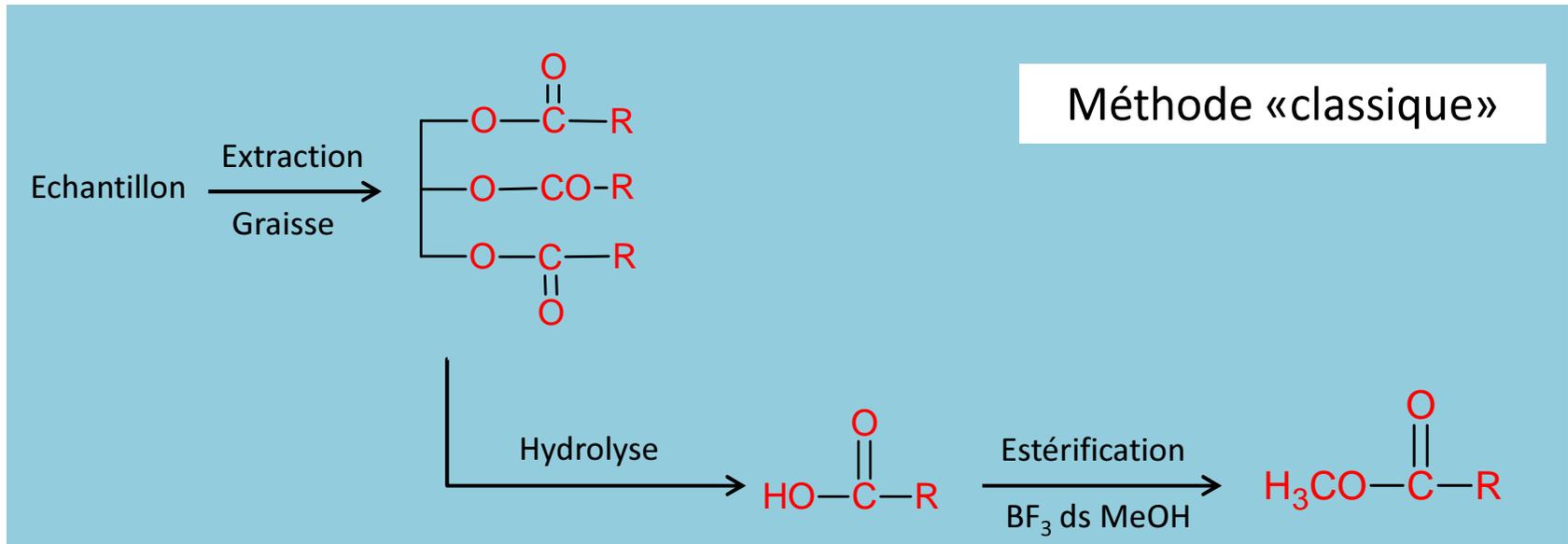


## Méthode «classique»

- ✓ Solvants:  
dichlorométhane + méthanol  
(2:1) pour tout les types de  
matrices
- ↳ dissolution incomplète des  
lipides complexes
- ✗ plusieurs étape de travail  
(extraction et estérification)
- ✗ moins d'acides gras identifiés

## Nouvelle méthode

- ✓ Solvants:  
mélange 5% HCl ds méthanol –  
toluène
- ✓ moins d'étapes de travail  
(transestérification direct «*In Situ*»  
des lipides et estérification des  
acides gras libres)
- ✓ profil des acides gras plus «complet»



# Influences sur la teneur «graisse totale RLGc»

Proben	Klassische Methode	Neue Methode	Sollwert
	Rohfett (RLGC) [g/kg]	Rohfett (RLGC) [g/kg]	
Rapskuchen	99.4	96.5	92
Sonnenblkrne	339.7	334.2	333
Sauenfutter	57.5	58.8	60
Weizenkeime	60.7	62.3	81
Sojabohnen	227.1	220.7	200
Fischmehl	101.3	108.5	100
Ferkelfutter	41.5	50.2	60
Mastschweinefutter	22.2	26.6	26
Strohmel	3.2	4.5	10
Obstrestler	13.3	16.7	20
Grasmehl	17.3	22.0	30
Luzerne	19.4	30.2	24
Teigwaren	15.5	26.8	20
Biertreber	83.5	107.0	88
Torulahefe	9.4	27.9	38
Bierhefe	8.6	42.5	26
<b>Milchprodukte</b>			
Molkenpulver	0.5	11.7	9
Käseabfälle	411.9	437.6	360
Na-Kaseinat	5.2	6.3	8
Futtersuppe	25.6	37.9	43
<b>Getreide</b>			
Maïs	48.1	51.1	41
Weizen	12.4	21.8	14
Gerste	16.1	29.4	23
Hafer	36.6	46.0	44

Plus de matière grasse, pourquoi?

↳ **Meilleure extraction des composés lipidiques peu solubles (glycolipides, phospholipides)**

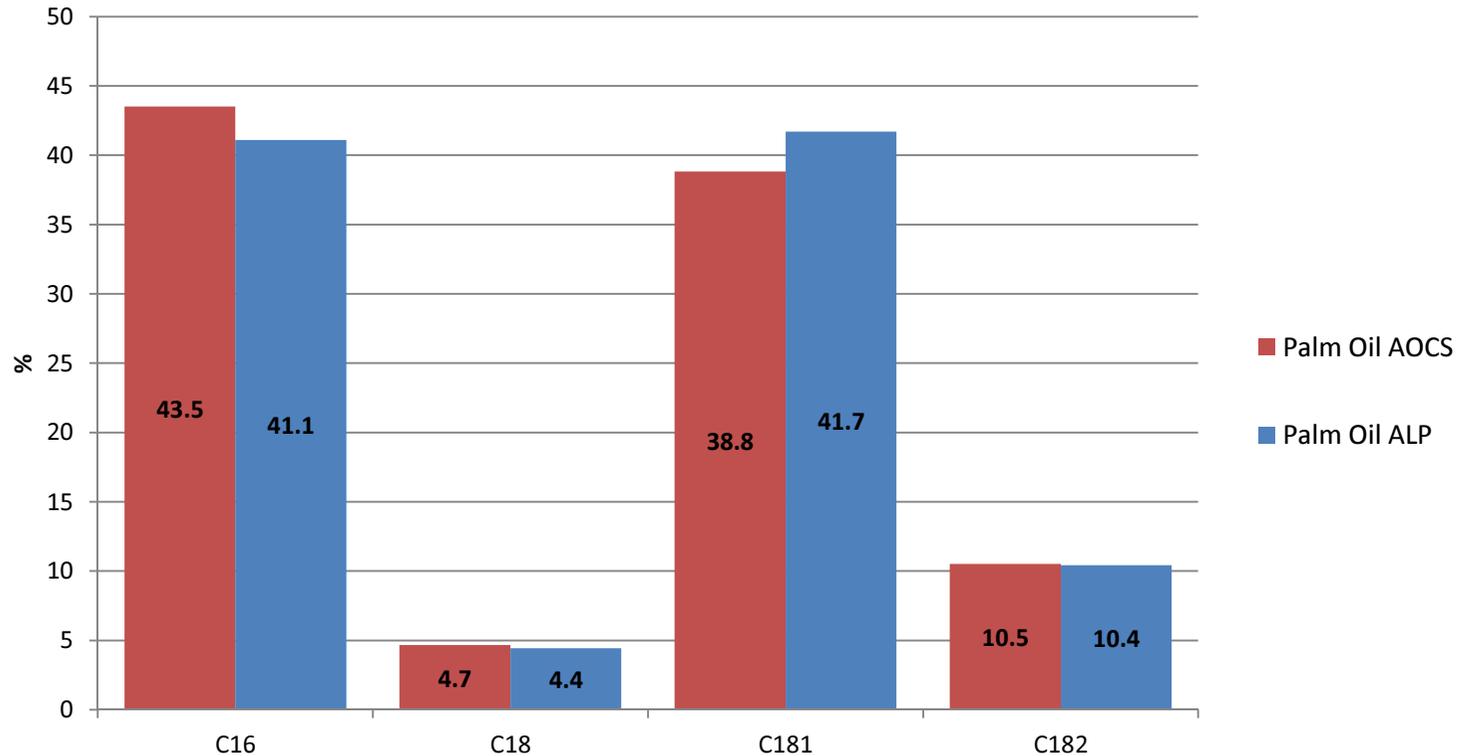


↳ **nombre d'acide gras identifiés plus important**



# Validation - Comparaisons

## Palm Oil - Proficiency program AOCS 2011-2012

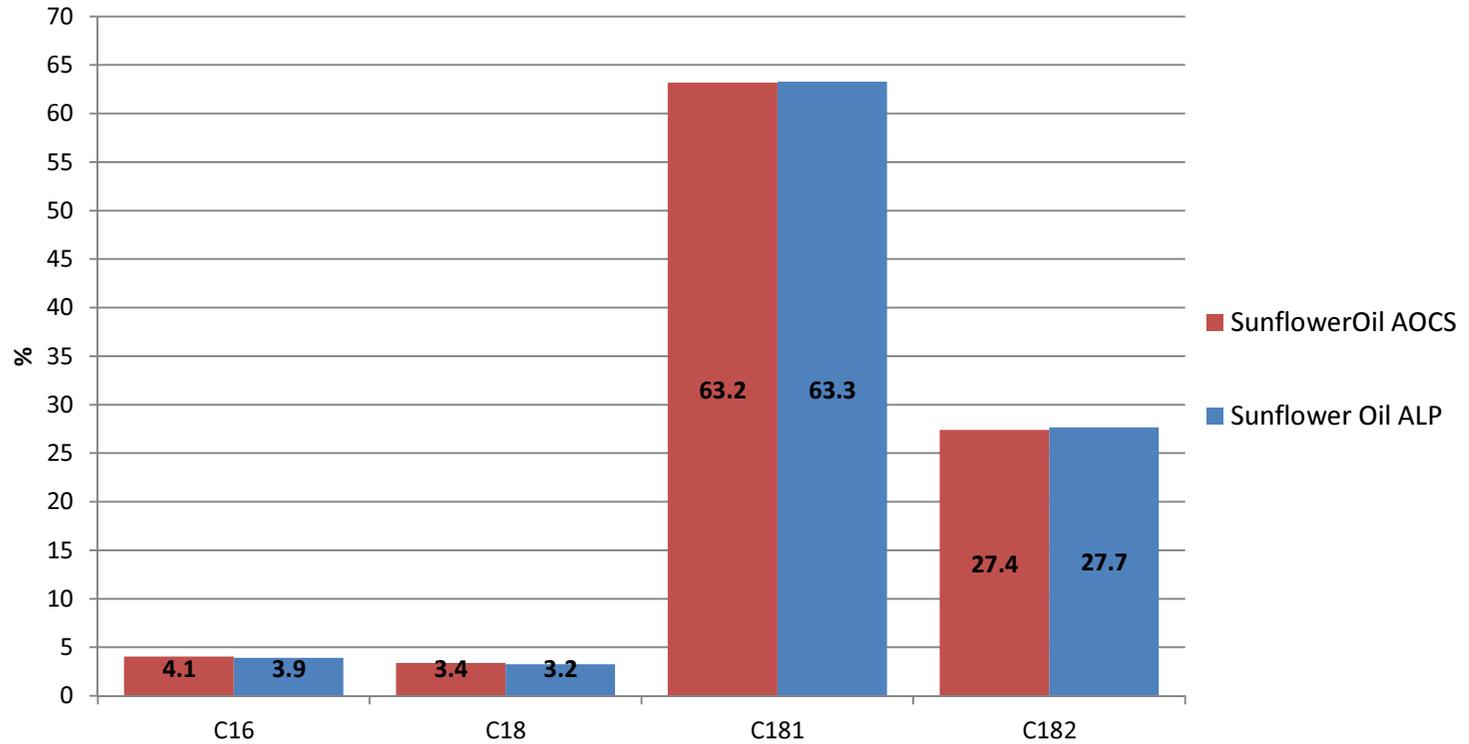


$\Sigma$ C16 + C18 + C181 + C182	ALP : 97.6%
	AOCS: 97.5%



# Validation - Comparaisons

## Sunflower Oil - Proficiency program AOCS 2011-2012



$\Sigma$ C16 + C18 + C181 + C182	ALP : 98.1%
	AOCS: 98.1%



# Validation - Stabilité de la méthode

	Teneur g/kg C16	Teneur g/kg C18	Teneur g/kg C181c9	Teneur g/kg C182c9c12	Teneur g/kg C14	Teneur g/kg C161c9	Teneur g/kg C17	Teneur g/kg C171c10	Teneur g/kg C181c11	Teneur g/kg C183c91215
<b>Moyenne [g/kg]</b>	<b>241.8</b>	<b>135.9</b>	<b>380.1</b>	<b>76.8</b>	<b>15.5</b>	<b>22.3</b>	<b>3.9</b>	<b>3.8</b>	<b>27.9</b>	<b>4.6</b>
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
s [g/kg]	3.23	1.31	5.05	1.07	0.35	0.41	0.06	0.06	0.89	0.07
<b>RSD [%]</b>	<b>1.3</b>	<b>1.0</b>	<b>1.3</b>	<b>1.4</b>	<b>2.2</b>	<b>1.8</b>	<b>1.5</b>	<b>1.5</b>	<b>3.2</b>	<b>1.6</b>

	Teneur g/kg C20	Teneur g/kg C201	Teneur g/kg C202	Teneur g/kg C203	Teneur g/kg C224	Teneur g/kg SAT	Teneur g/kg MONO	Teneur g/kg POLY	Teneur g/kg RLGC
<b>Moyenne [g/kg]</b>	<b>1.8</b>	<b>7.4</b>	<b>3.0</b>	<b>0.6</b>	<b>0.2</b>	<b>404.3</b>	<b>452.3</b>	<b>92.1</b>	<b>994.4</b>
n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
s [g/kg]	0.06	0.13	0.04	0.02	0.01	4.67	6.17	1.31	11.74
<b>RSD [%]</b>	<b>3.3</b>	<b>1.8</b>	<b>1.5</b>	<b>3.3</b>	<b>3.2</b>	<b>1.2</b>	<b>1.4</b>	<b>1.4</b>	<b>1.2</b>

Echantillon: graisse «pure»



# Validation - Recouvrement

Certified Reference Material CRM BCR-163 (Beef-Pork Fat Blend)

	<b>C14</b>	<b>C16</b>	<b>C161 all isomers</b> (C161c9+C161t3)	<b>C18</b>	<b>C181 all isomers</b> (C181c9+C181c11)
n	10	10	10	10	10
s [%]	1.05E-04	8.04E-04	2.12E-04	1.09E-03	1.44E-03
RSD [%]	0.005	0.003	0.008	0.006	0.004
<b>Moyenne [%]</b>	<b>2.21</b>	<b>25.53</b>	<b>2.57</b>	<b>17.79</b>	<b>38.30</b>
<b>Valeurs théoriques [%]</b>	<b>2.29</b>	<b>25.96</b>	<b>2.58</b>	<b>18.29</b>	<b>39.3</b>
<b>Recouvrement [%]</b>	<b>96.7</b>	<b>98.3</b>	<b>99.8</b>	<b>97.3</b>	<b>97.4</b>

	<b>C182c9c12</b>	<b>C182t9t11</b>	<b>C182</b> all isomers	<b>C183c6912</b>	<b>C183c91215</b>	<b>C183</b> all isomers
n	10	10	10	10	10	10
s [%]	1.08E-03	2.36E-04	9.93E-04	5.84E-05	5.12E-05	5.69E-05
RSD [%]	0.015	0.148	0.014	0.028	0.007	0.006
<b>Moyenne [%]</b>	<b>7.15</b>	<b>0.16</b>	<b>7.31</b>	<b>0.21</b>	<b>0.75</b>	<b>0.95</b>
<b>Valeurs théoriques [%]</b>	<b>7.05</b>	<b>7.05</b>	<b>7.05</b>	<b>0.86</b>	<b>0.86</b>	<b>0.86</b>
<b>Recouvrement [%]</b>	<b>101.4</b>	<b>2.3</b>	<b>103.7</b>	<b>23.8</b>	<b>87.0</b>	<b>110.8</b>



# MERCI

