



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Volkswirtschaftsdepartement EVD
Forschungsanstalt Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras

Fettsäurenmuster in Futtermitteln und Fett

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

Kolloquium vom 13. Dezember 2012, Agroscope Liebefeld-Posieux
Sébastien Dubois (sebastien.dubois@alp.admin.ch)



Traktanden

- Fettanalytik und Fettsäuren in Futtermitteln
- Warum eine neue Methode?
- Methoden-Vergleich
- Methoden-Validierung und Referenzen

Fettanalytik und Fettsäuren in Futtermitteln

- Einzelfuttermittel (Getreide)
- Mischfuttermittel (komplexe Matrizen)
- Fett (tierisch, pflanzlich)
- Rohfutter

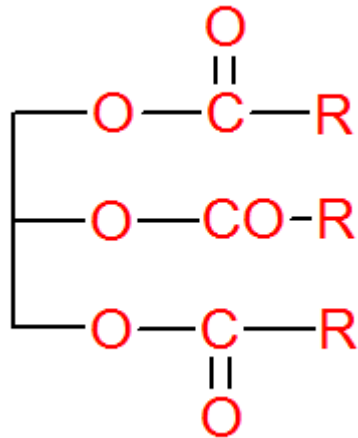


⇒ Die Lipide sind in den Proben sehr verschieden und weisen unterschiedliche chemische Eigenschaften auf

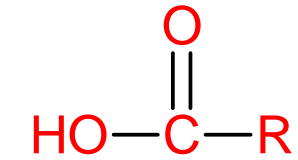


Verschiedene Lipidformen in Proben

Einfache Lipide



Triglyceride



Freie Fettsäuren

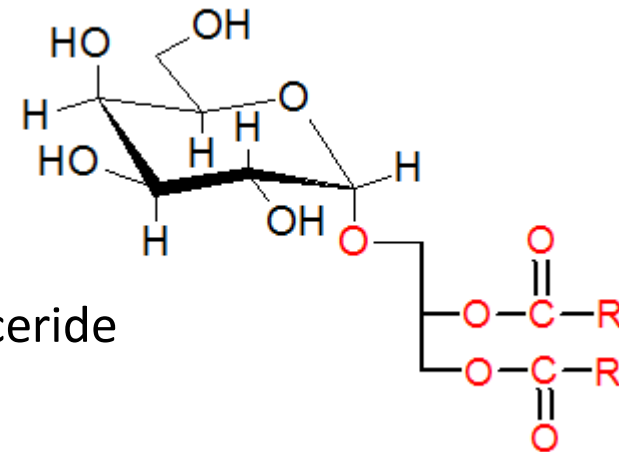
- Diglyceride
- Sterole
- Wachse



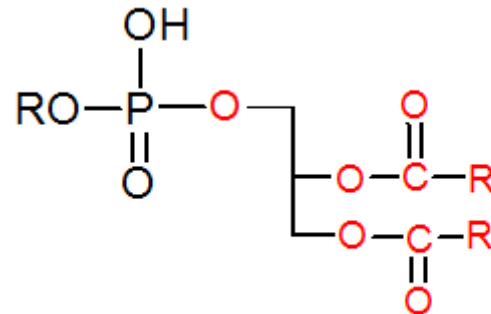
Verschiedene Lipid-Formen in Proben

Glycolipide

Monogalactosyldiglyceride



Phospholipide



...





Entwicklungs-Schritte der neuen GC-Methode

- 2009 : Erste GC-Methode (Fettsäurenmuster in Gras)
- 2010-2011 : Anpassung für andere Proben (Futtermittel, Fett, ...)
 - ⇒ ALP Forscher bekunden wachsendes Interesse
 - ⇒ Optimierung der Analytische Bedingungen (komplexe Matrizen)
 - ⇒ Zusätzliche Fettsäuren werden identifiziert



Warum eine neue Methode?

«Klassische» Methode



Fettextraktion

- Lösungsmittel:
(Dichloromethan + Methanol (2:1) für alle Proben
- Homogenisierung / Extraktion
(Ultra-Turrax)



Warum eine neue Methode?

«Klassische» Methode



Hydrolyse + Veresterung

- Hydrolyse mit NaOH (Verseifung)
- Veresterung mit BF_3 10% in MeOH



Warum eine neue Methode?

«Klassische» Methode



Gaschromatographie

Quantifizierung: Interner Standard
Säule : 30m; ID=0.32mm; film= 0.25um
Gas: Stickstoff
Analysendauer : 50 Minuten

Probenvorbereitung

«Klassische» Methode

Fettextraktion

Veresterung



Neue Methode

Umesterung

clean up



Gaschromatographie



Neue Methode

Probenvorbereitung

- Gleiche Probenvorbereitung

Neue Methode

Probenvorbereitung



Umesterung

clean up



Gaschromatographie

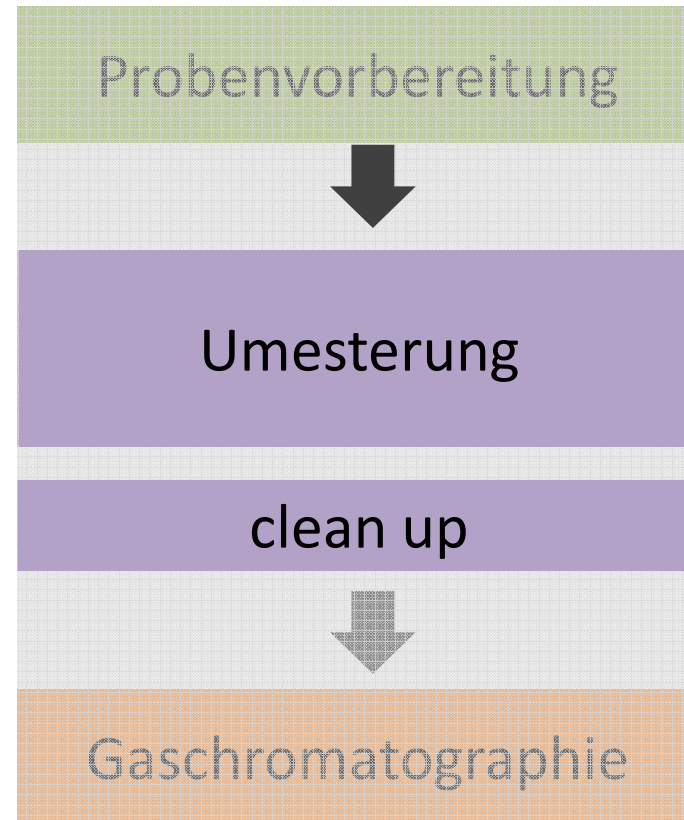


Neue Methode

Umesterung & clean up

- Lösungsmittel:
Mischung HCl 5% in Methanol -
Toluol
(verschiedene Polaritäten)
- Reaktionszeit (3Std, 70°C)
- SPE (Lichrolut Si; 500mg/3ml)

Neue Methode





Neue Methode

Gaschromatographie

Quantifizierung: Interner Standard
Säule : 15m; ID=0.1mm; film= 0.1um
Gas: Wasserstoff (FAST GC)
Analysendauer: 15 Minuten

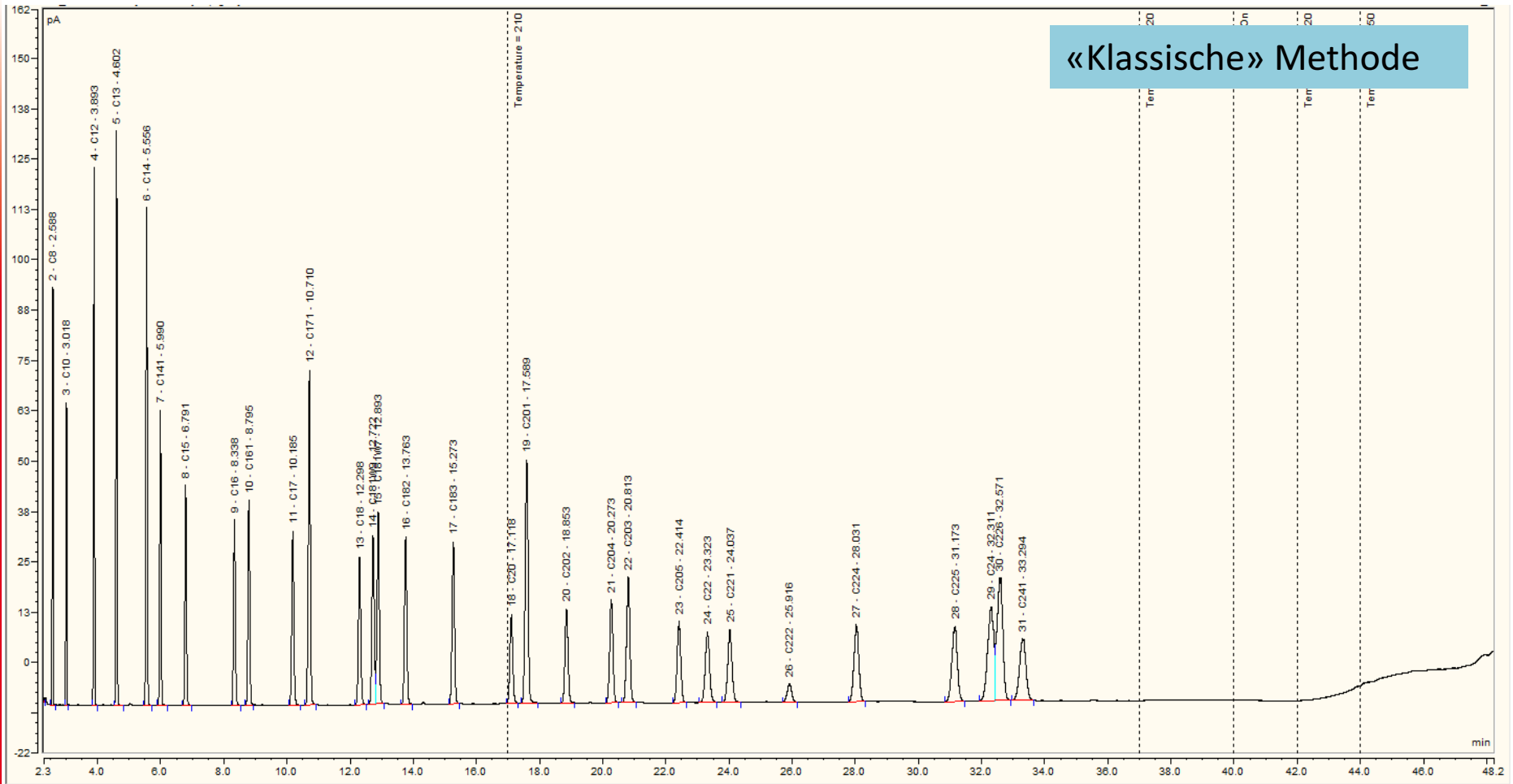


Neue Methode

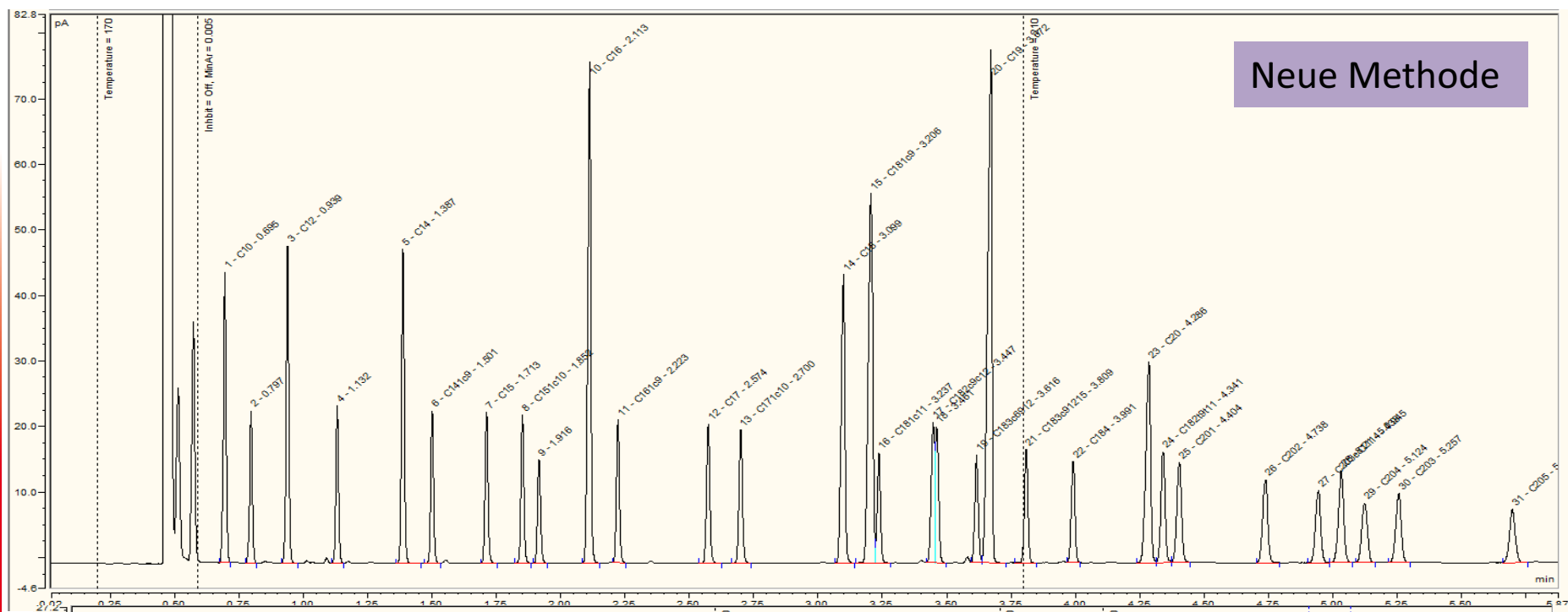




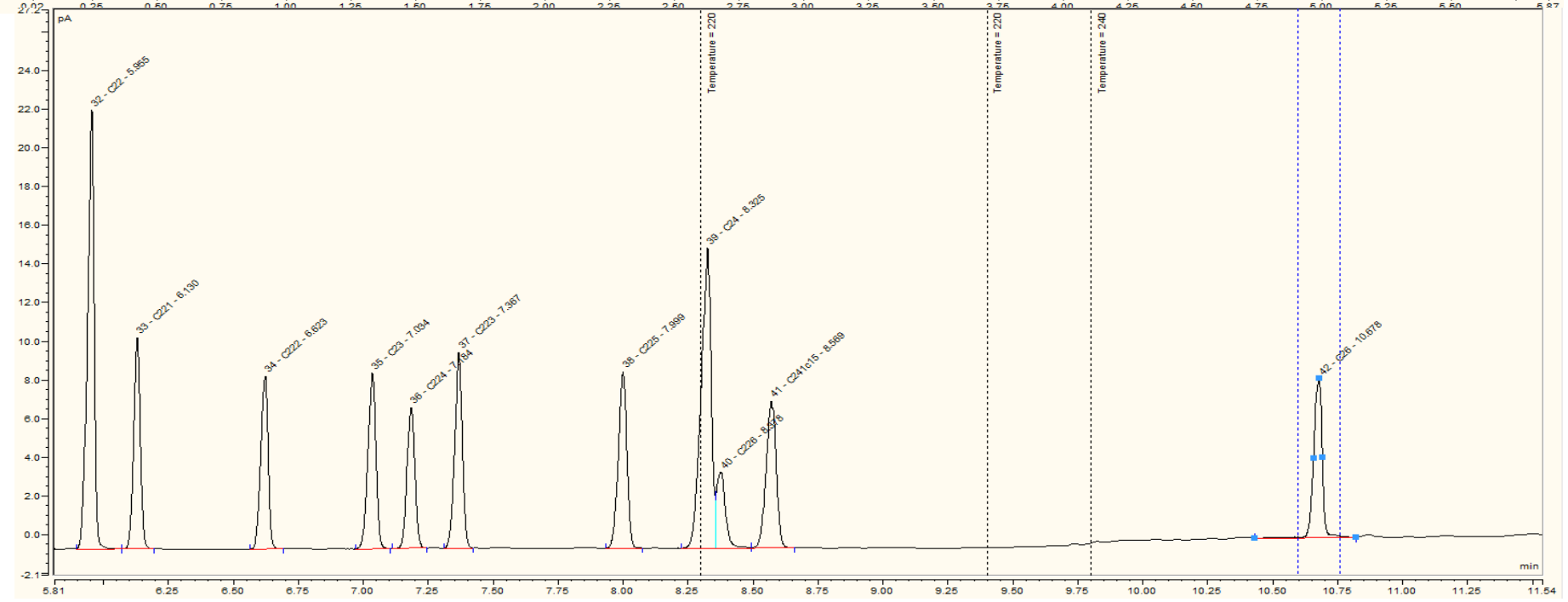
Gaschromatographie



Neue Methode



Agroscope



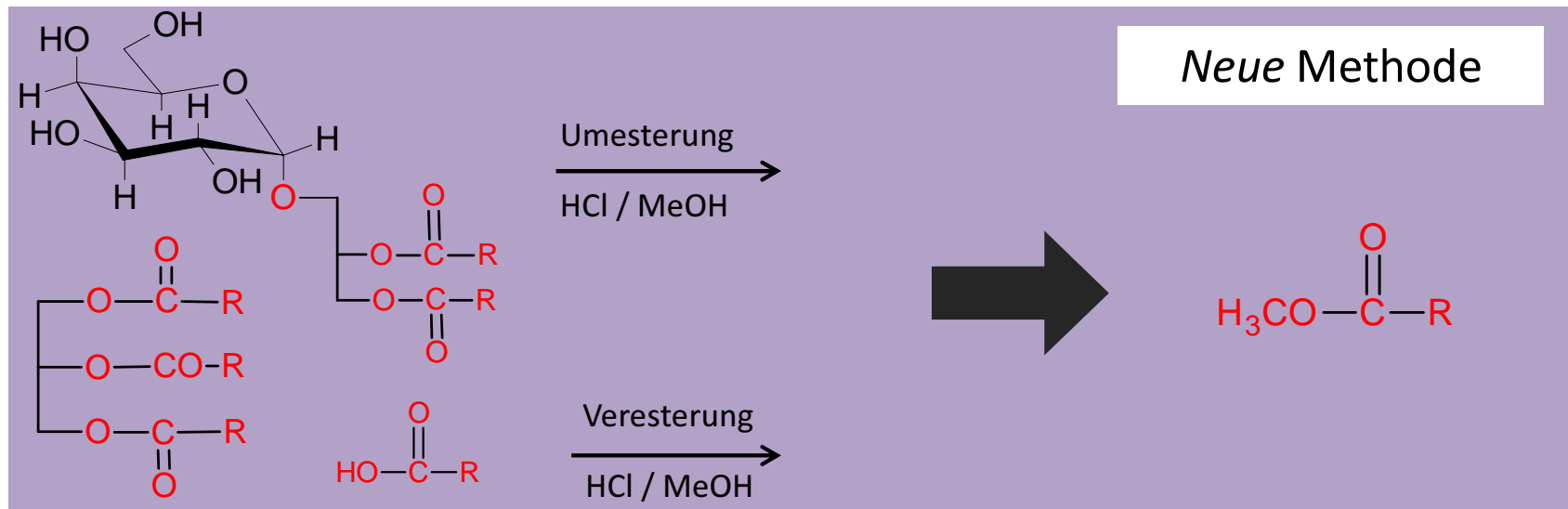
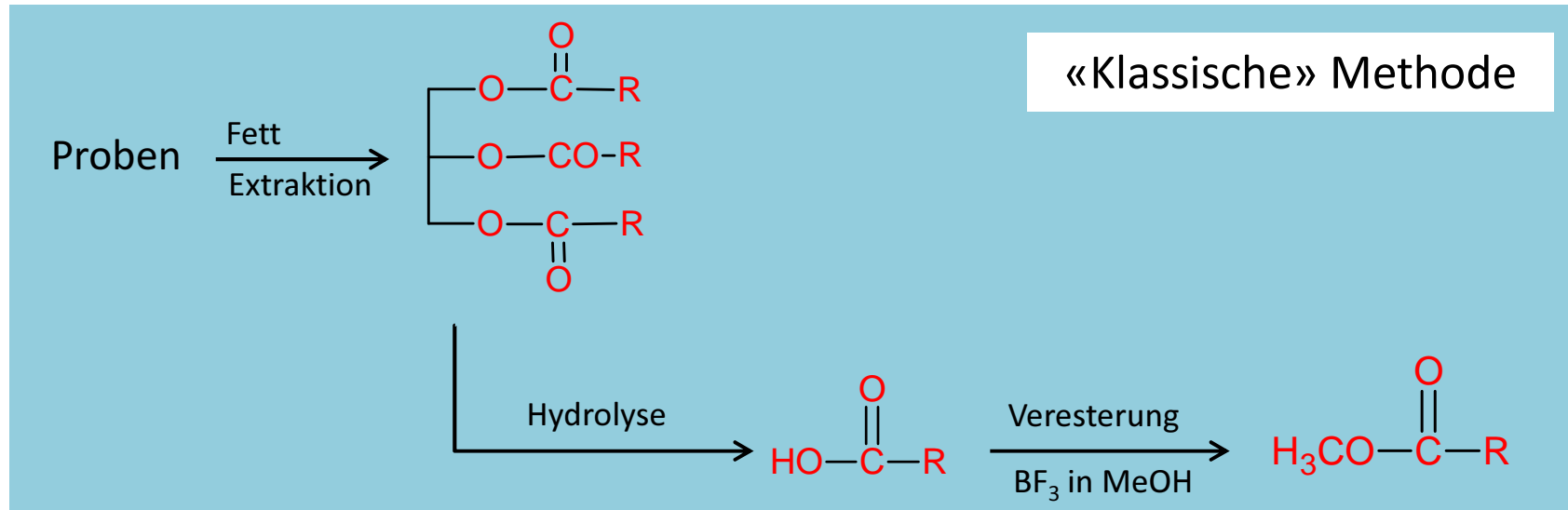


«Klassische» Methode

- ✓ Lösungsmittel:
(Dichloromethan + Methanol
(2:1) für alle Proben
- ↳ Schlechte Selektivität (komplexe
Lipide ungenügend löslich)
- ✗ Viele Arbeitsschritte
(Extraktion und Veresterung)
- ✗ Weniger Fettsäuren identifiziert

Neue Methode

- ✓ Lösungsmittel:
Mix HCl 5% in Methanol -Toluol
(verschiedene Polaritäten)
- ✓ Weniger Arbeitsschritte
(In Situ Lipide Umesterung und
Veresterung der freien Fettsäuren)
- ✓ Zusätzliche Fettsäuren identifiziert



Einfluss auf Rohfett-Gehalt

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
Milchprodukte			
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
Getreide			
Maïs	48.1	51.1	41
Weizen	12.4	21.8	14
Gerste	16.1	29.4	23
Hafer	36.6	46.0	44

Höher Rohfett-Gehalt ! Warum?

↳ **Bessere Extraktion von komplexen Lipide (Glycolipide, Phospholipide)**

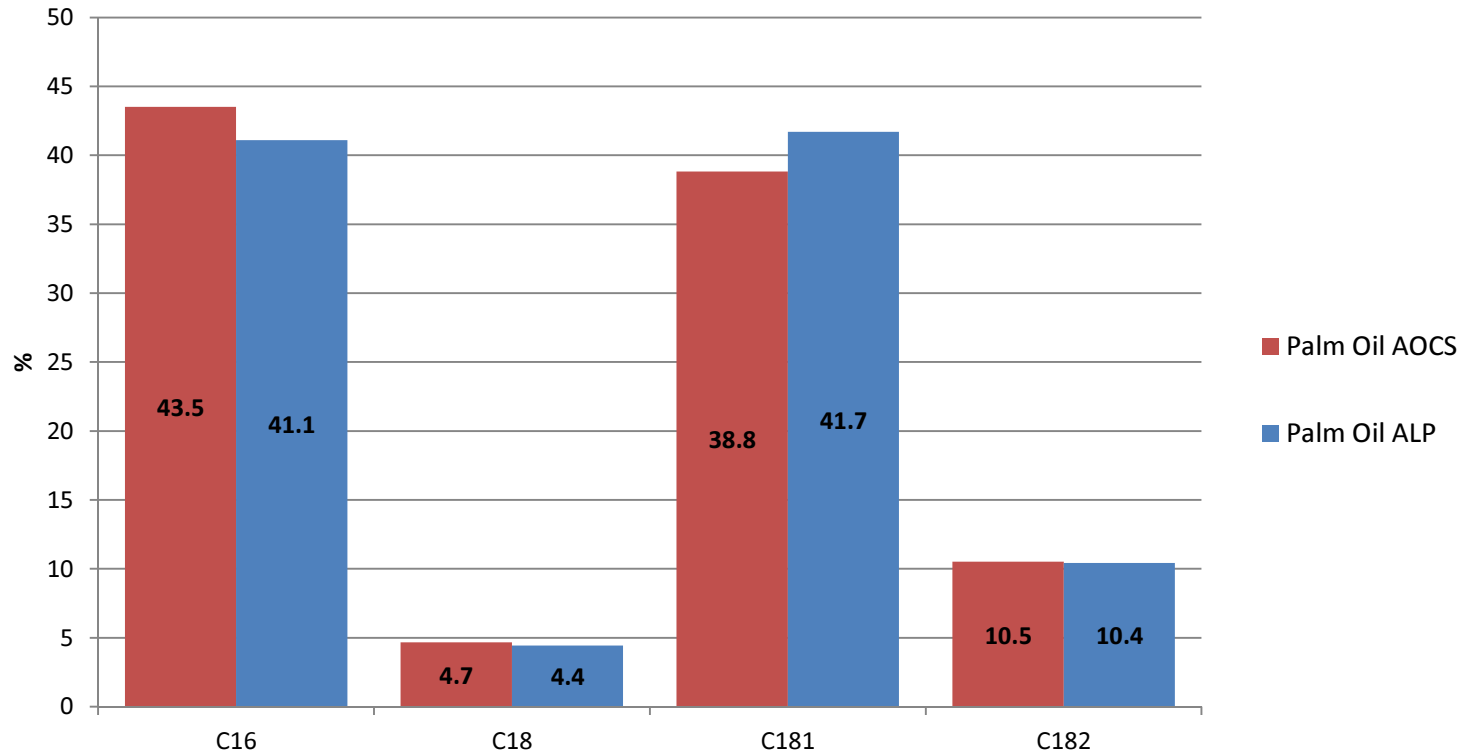


↳ **Zusätzliche Fettsäuren identifiziert**



Neue Methoden - Vergleichung mit Referenzen

Palm Oil - Proficiency program AOCS

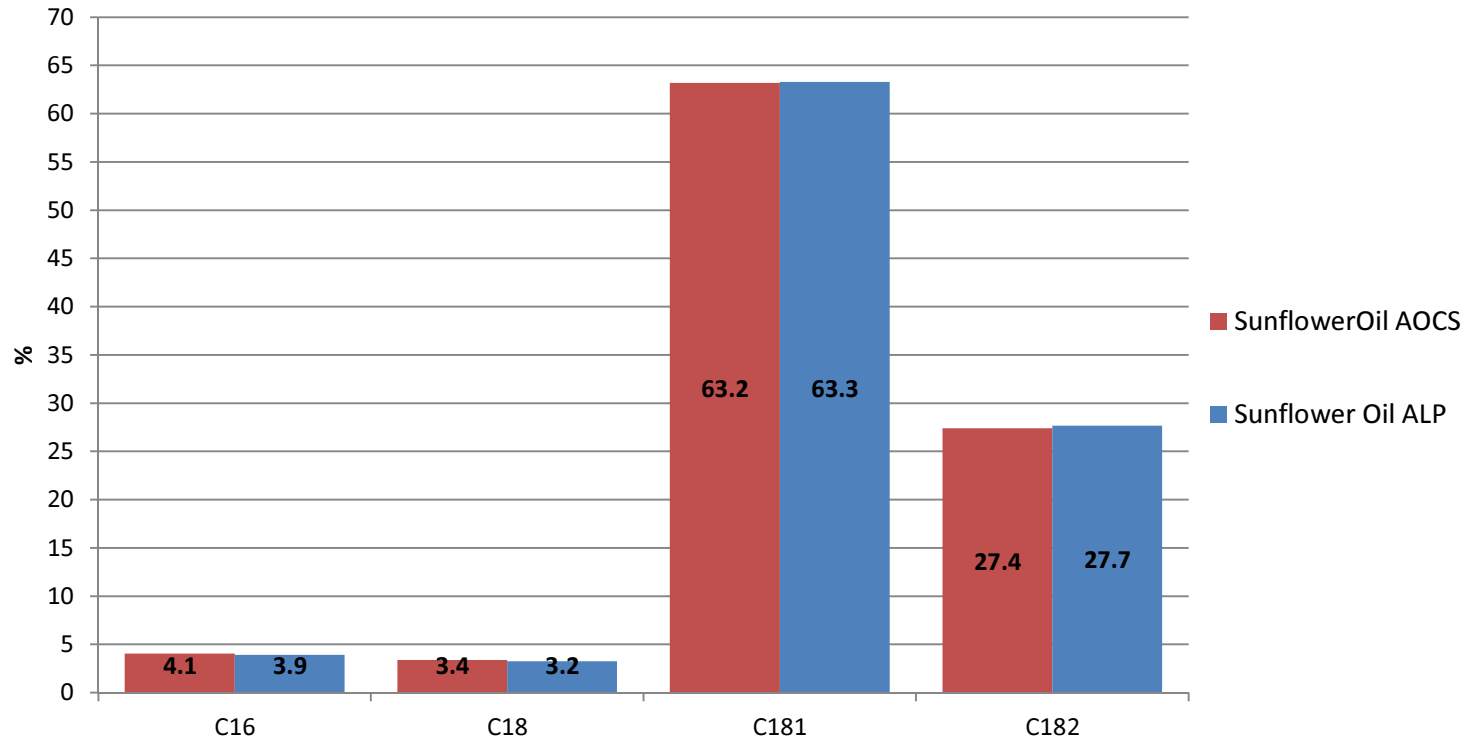


Σ C16 + C18 + C181 + C182	ALP : 97.6%
	AOCS: 97.5%



Neue Methoden - Vergleichung mit Referenzen

Sunflower Oil - Proficiency program AOCs



Σ C16 + C18 + C181 + C182	ALP : 98.1%
	AOCs: 98.1%



Neue Methoden - Präzision

	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
Moyenne [g/kg]	241.8	135.9	380.1	76.8	15.5	22.3	3.9	3.8	27.9	4.6
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
RSD [%]	1.3	1.0	1.3	1.4	2.2	1.8	1.5	1.5	3.2	1.6

	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
Moyenne [g/kg]	1.8	7.4	3.0	0.6	0.2	404.3	452.3	92.1	994.4
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
RSD [%]	3.3	1.8	1.5	3.3	3.2	1.2	1.4	1.4	1.2

Probe: Reinfett



Neue Methoden - Wiederfindung

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

	C14	C16	C161 all isomers (C161c9+C161t3)	C18	C181 all isomers (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
Moyenne [%]	2.21	25.53	2.57	17.79	38.30
Valeurs théoriques [%]	2.29	25.96	2.58	18.29	39.3
Recouvrement [%]	96.7	98.3	99.8	97.3	97.4

	C182c9c12	C182t9t11	C182 all isomers	C183c6912	C183c91215	C183 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
Moyenne [%]	7.15	0.16	7.31	0.21	0.75	0.95
Valeurs théoriques [%]	7.05	7.05	7.05	0.86	0.86	0.86
Recouvrement [%]	101.4	2.3	103.7	23.8	87.0	110.8



Danke für Ihre Aufmerksamkeit

