



## Détection de gluten de maïs falsifié

S. DUBOIS, G. FRICK, C. CHAUBERT et S. AMPUERO KRAGTEN, Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, Tioleyre 4, 1725 Posieux

@ E-mail: [sebastien.dubois@alp.admin.ch](mailto:sebastien.dubois@alp.admin.ch)  
Tél. (+41) 26 40 77 213.

### Résumé

Des lots de gluten de maïs falsifié ont été identifiés par plusieurs méthodes d'analyse. Dans des échantillons d'apparence correcte et présentant une teneur normale en protéines brutes ( $\geq 60\%$ ), la microscopie a clairement permis de détecter des particules (son de blé, grains d'amidon) n'appartenant pas au gluten de maïs. Les analyses chimiques de ces échantillons ont confirmé la présence de composés étrangers à un gluten de maïs normal: de l'urée (de 19 à 173 g/kg), de la mélamine (jusqu'à 20 g/kg) et de l'acide cyanurique (jusqu'à 10 g/kg). En revanche, des concentrations très basses en méthionine (dans la plupart des cas  $< 2,5$  g/kg) ont été trouvées dans les produits falsifiés alors que, dans un gluten de maïs, la teneur moyenne normale en méthionine est  $\geq 16$  g/kg. Parallèlement à ces techniques d'analyse classiques, un nez électronique basé sur la spectrométrie de masse a permis l'identification fiable et rapide des produits falsifiés. Le traitement par chimiométrie des données spectrométriques, par analyse en composantes principales (ACP), a fourni une classification 100% correcte des échantillons de gluten de maïs authentique ou falsifié. L'identification a été réalisée à l'aide d'un modèle préalablement établi sur des échantillons de nature connue. A la suite de ces analyses, la Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, dans le cadre de ses activités liées au contrôle des aliments pour animaux, a interdit ou fortement limité l'utilisation de 2500 tonnes de produit falsifié.



Fig. 1. Nez électronique avec passeur d'échantillons.

## Introduction

### Le gluten de maïs en Suisse

Le maïs et les produits qui en sont issus sont largement utilisés dans l'alimentation humaine et animale. Les principales industries de transformation du maïs sont les distilleries et les producteurs d'amidon. Un sous-produit de ces industries est le gluten de maïs, une matière

première riche en protéines (env. 60% de protéines brutes) abondamment utilisée dans les aliments pour ruminants et volailles. Dans l'alimentation des ruminants, son taux élevé de protéines échappant à la dégradation par les microorganismes de la panse est particulièrement apprécié (NRC, 1985); pour les volailles, ses teneurs élevées en méthionine (un acide aminé important), en pigments xanthophylles et en énergie donnent une valeur particulière à ce produit (Cheeke, 1999). Le gluten de

maïs constitue ainsi un composant important, et relativement cher, des aliments pour animaux et les entreprises qui l'incorporent ont donc tout intérêt à vérifier sa qualité.

Pour l'alimentation animale, la Suisse importe environ 50 000 tonnes de gluten de maïs par année. Ces dernières années, le marché chinois en a fourni plus de 80%, pour éviter les produits en provenance des Etats-Unis, dont la plupart contiennent des organismes génétiquement modifiés (OGM).

Dans le cadre du contrôle officiel des aliments pour animaux, ALP effectue régulièrement des prélèvements dans les moulins producteurs et ponctuellement à la douane sur des marchandises importées. Une des analyses de routine est l'observation au microscope (observation des particules et reconnaissance des structures) qui permet la vérification de la composition (Roetschi *et al.*, 2003) et de la présence éventuelle de farines animales (Roetschi *et al.*, 2002).

## Echantillons suspects

L'observation au microscope de quantités inhabituelles d'amidon et de son de blé dans des échantillons de gluten de maïs, ainsi que la connaissance de cas de substitution de protéines par addition de composés organiques riches en azote (EFSA statement, 2007), ont poussé l'organisme de contrôle officiel à effectuer d'autres vérifications dans ces lots. En effet, on pouvait suspecter la présence de substituts de protéines tels qu'urée, mélamine et autres substances organiques (acide cyanurique, ammélidine et amméline). L'ingestion de telles substances peut causer des problèmes aux animaux. L'urée, par exemple, peut être utilisée dans les aliments pour ruminants, mais à raison de 2% au maximum dans la ration (Cheeke, 1999) pour éviter un effet toxique; en outre, le régime devrait être adapté progressivement à cette source d'azote facilement utilisable. Quant à la mélamine, plus de 12,5 mg/kg de la ration totale (88% de matière sèche) pourraient se révéler nocifs (EFSA statement, 2007; Puschner *et al.*, 2007).

A la suite des premières analyses ayant confirmé cette falsification (gluten «ralongé» par l'ajout de sous-produits cé-

réaliers avec un taux de protéines brutes «ajusté» par l'adjonction de composés azotés), 2500 tonnes de gluten de maïs importées de Chine pendant le printemps 2007 ont été refusées ou – dans les cas où l'urée était seule présente – autorisées pour les ruminants après analyse détaillée et modification de la déclaration. Cet exemple montre qu'il est utile de vérifier régulièrement les matières premières entrant dans l'alimentation animale et de mettre en lumière d'éventuelles irrégularités, comme l'a fait ALP dans un communiqué de presse en juin 2007.

Par ailleurs, la possibilité de remplacer les méthodes analytiques classiques par une technique rapide et économique, au moyen d'un nez électronique, a été testée dans le cadre de cette procédure de vérification.

## Matériel et méthodes

Les échantillons déclarés comme gluten de maïs ont été soit envoyés par des entreprises privées à ALP, soit prélevés aux douanes ou dans des moulins par les inspecteurs d'ALP. Les paramètres suivants ont été analysés sur un nombre représentatif d'échantillons: protéines brutes (CP, Dumas), cellulose brute (CF, ISO 6865:2000), méthionine (acides aminés déterminés par HPLC), urée (méthode enzymatique), mélamine, acide cyanurique, ammélidine et amméline (ces quatre derniers par méthode GC-MS/MS).

La microscopie classique ou optique (MC) consiste à observer directement des particules au stéréomicroscope (grossissement de 6,3 à 50 fois), ou à mettre en suspension des particules fines dans un milieu d'inclusion ou de coloration, puis à les observer au microscope (grossissement de 50 à 400). Dans le cas présent, c'est la suspension des particules dans une solution d'iode/iodure de potassium (Roetschi *et al.*, 2002) colorant l'amidon en bleu foncé et les protéines en brun-rouge qui a produit les meilleurs résultats.

Le nez électronique utilisé est un système

Smart Nose® (SMart Nose SA, Marin-Epagnier, Suisse) dont le détecteur est un spectromètre de masse. Ce système est composé des principaux éléments suivants: un spectromètre de masse quadripôle (Inficon SA, Suisse) pouvant mesurer des fragments ioniques compris entre 1 et 300 m/z (rapport masse-charge), un dispositif spécial d'injection de phase gazeuse, un capillaire de transfert et un système de conditionnement/injection automatique (CTC Analytics AG, Zwingen, Suisse), avec une capacité maximale de conditionnement individuel de 99 flacons de 10 ml chacun (fig.1). L'acquisition des données est réalisée au moyen du logiciel Quadstar 32-bit (Inficon SA, Suisse). Le traitement des données par analyse multivariée est effectué avec le logiciel SMart Nose 151.

2,0 ± 0,1 g de gluten, sans préparation préalable, sont introduits dans des flacons de 10 ml qui sont ensuite fermés hermétiquement avec un septum de silicone/Teflon et un capuchon magnétique. Chaque flacon est conditionné pendant trente minutes à 120 °C avec une agitation de 350 rpm. Immédiatement après, le mélange des composés présents dans l'espace de tête (phase gazeuse) est prélevé à l'aide d'une seringue de 2,5 ml chauffée à 130 °C, et transféré dans le dispositif d'injection, chauffé à 200 °C. La fragmentation ionique est obtenue avec une énergie d'ionisation de 55 eV. L'acquisition des données est effectuée dans un domaine compris entre 10 et 150 m/z à une vitesse de 0,2 sec/m/z pendant six minutes. Après chaque injection, le système est purgé en entier avec de l'azote (260 Sml/min) pendant deux minutes. Chaque échantillon est mesuré à trois reprises et un blanc (flacon vide) est intercalé tous les dix flacons.

Les données brutes sont ensuite normalisées par l'intensité de la masse ionique 40 afin de corriger les dérives potentielles du système.

Le principe du nez électronique (NE) est d'analyser la phase gazeuse sans séparer les molécules présentes au contraire de la chromatographie classique (Ampuero *et al.*, 2003). Le spectre de masse ainsi obtenu représente une sorte d'«empreinte digitale» de l'échantillon, caractéristique de chaque classe d'échantillon.

**Tableau 1. Analyses de 56 échantillons de gluten de maïs, falsifié (28) ou normal (28).**

Au moins deux des dix analyses suivantes ont été réalisées par échantillon: MC (microscopie classique); méthionine; CP (protéine brute); CF (cellulose brute); urée; mélamine; acide cyanurique; ammélidine; amméline; NE (nez électronique).

Paramètres analysés										
Analyses	MC	Méthionine (g/kg)	CP (g/kg)	CF (g/kg)	Urée (g/kg)	Mélamine (g/kg)	Acide cyanurique (g/kg)	Ammélidine (g/kg)	Amméline (g/kg)	NE
Résultats (nombre d'échantillons analysés)	Gluten falsifié (25)	< 2,5-4,3 (11)	640-680 (14)	39-58 (11)	< 0,001-174 (21)	< 0,005-20 (12)	< 0,01-10 (8)	< 0,01-8 (6)	< 0,01 (6)	falsifié (7) falsifié* (8)
	Gluten de maïs (28)	16,4-18,3 (4)	571-668 (4)	19-21 (2)	< 0,001 (8)	< 0,005 (3)	< 0,01 (1)	–	–	maïs (10) maïs* (11)
	Gluten <sup>1</sup> / <sub>3</sub> falsifié (2)	12,5 (1)	601 (1)	–	19-22 (2)	–	–	–	–	falsifié (1) falsifié* (1)

– = non analysé

NE: classification par le nez électronique comme gluten falsifié ou gluten de maïs.

\*Echantillons modèles (pas de \*: échantillons «inconnus»).

Un modèle de classification a été établi par analyse en composantes principales (ACP), sur la base de vingt échantillons de référence (11 glutens de maïs et 9 glutens de maïs falsifiés). Les échantillons de référence ont été identifiés avec les méthodes classiques de microscopie et d'analyse chimique. Dix-huit échantillons additionnels ont été analysés au NE et classés selon le modèle ACP pré-établi (tabl.1).

## Résultats

### Amidon et son de blé en abondance

Des échantillons déclarés comme gluten de maïs et présentant à l'œil nu l'aspect typique de ce produit (fig. 2) contenaient en fait de grandes quantités d'amidon et de son de blé mises en évidence lors d'un contrôle de routine au microscope. L'observation au stéréomicroscope avec un grossissement de 6,3 n'avait pas fait apparaître une différence nette (fig. 3 et 4). Seules les préparations pour le microscope (fig. 5 et 6, grossissement au minimum 50 fois) ont montré des différences dans les structures. Le gluten de maïs (fig. 5) se caractérise par des particules irrégulières, sans parois cellulaires et de couleur brun-rouge à noire. Le gluten falsifié (fig. 6) présente des grains d'amidons (globules de couleur bleue à noire) et des fragments de son (cellules munies de parois cellulaires, couleur brun clair).

### Contenus anormaux en méthionine et en fibres

Afin de vérifier les observations visuelles, les échantillons suspects (28) et des échantillons de gluten de maïs normaux (28) ont été examinés sur au moins un des paramètres suivants (tabl.1): méthionine, CP, CF, urée, mélamine, acide cyanurique, ammélide, amméline. Les échantillons suspects analysés pour la méthionine ont clairement montré un niveau très bas de cet acide aminé: dix échantillons avaient moins de 2,5 g/kg et un autre 4,3 g/kg de méthionine. Le niveau attendu pour du gluten de maïs a été mesuré dans quatre échantillons de gluten normal (de 16,4 à 18,3 g/kg), démontrant la présence de vraies protéines dans le produit non falsifié. Par contre, la mesure de protéines brutes (calculée à partir du contenu en azote du produit) n'a pas différencié significativement les glutens falsifiés et les produits normaux (environ 650 g/kg). Deux échantillons de gluten normal analysés ont révélé le contenu attendu en cellulose brute (CF): 19 et 21 g/kg.

Deux échantillons de gluten normal analysés ont révélé le contenu attendu en cellulose brute (CF): 19 et 21 g/kg.



Fig. 2. Un échantillon de gluten de maïs entre deux échantillons de gluten falsifié.



Fig. 3. Gluten de maïs observé au stéréomicroscope.



Fig. 4. Gluten falsifié observé au stéréomicroscope.

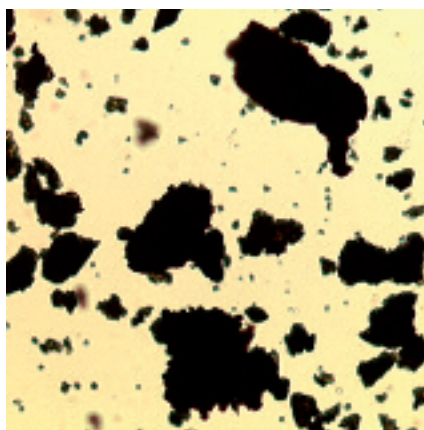


Fig. 5. Fraction fine de gluten de maïs (particules irrégulières sans parois cellulaires visibles) préparée dans une solution d'iode / iodure de potassium et observée au microscope.

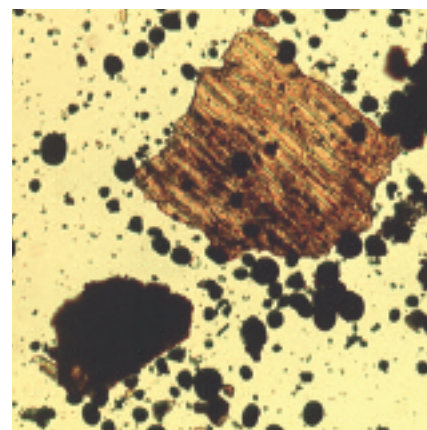


Fig. 6. Fraction fine de gluten falsifié (les globules bleu-noir sont des grains d'amidon, les fragments bruns avec parois cellulaires visibles sont des fragments de son de blé) préparée dans une solution d'iode / iodure de potassium et observée au microscope.

Onze échantillons de gluten falsifié analysés pour ce paramètre ont montré un niveau de cellulose d'environ 50 g/kg, en accord avec la présence d'une quantité significative de son de blé dans ces produits.

## Présence d'urée et de composés organiques indésirables

Comme attendu, les résultats des analyses d'urée ont été négatifs ( $\leq 0,001$  g/kg) dans huit échantillons de gluten normal, tandis que treize échantillons de gluten falsifié en contenaient entre 121 et 174 g/kg, deux d'entre eux contenaient aussi soit de la mélamine (0,2 g/kg), soit de l'acide cyanurique (10 g/kg) et de l'ammélide (8 g/kg). Quatre autres échantillons de gluten falsifié contenaient entre 24 et 86 g/kg d'urée ainsi que de la mélamine (2 à 20 g/kg), de l'acide cyanurique (2 g/kg) et de l'ammélide (4 g/kg). Six autres échantillons de gluten falsifié contenant de l'urée en assez faible quantité (de non détectable à 82 g/kg) n'ont pas été analysés pour les autres composés azotés, mais soit leur contenu en cellulose était trop élevé ( $> 39$  g/kg), soit le taux de méthionine était sous la limite de détection, ce qui confirme l'anormalité de ces produits. L'analyse microscopique de deux autres échantillons a montré qu'ils semblaient être partiellement falsifiés (1/3 falsifié dans le tableau 1). Les analyses chimiques ont confirmé cette observation: contenu en urée faible (19 et 22 g/kg) et taux de méthionine intermédiaire (12,5 g/kg mesuré dans un échantillon).

L'hétérogénéité des teneurs en urée et autres composés azotés peut être expliquée par l'arrivée de lots successifs non identiques. En effet, ALP estime que de tels produits ont pénétré en Suisse pendant au minimum six mois.

Deux autres analyses effectuées sur quelques échantillons (résultats non présentés) ont corroboré les résultats des analyses et des observations: environ trois fois la quantité d'amidon normale (méthode polarographique) et du matériel génétique de blé ont été détectés dans les échantillons falsifiés.

### Nez électronique: identification des glutens falsifiés

Un modèle ACP a été développé sur la base de l'analyse d'un groupe de référence, désigné par des symboles pleins (●;■) dans la figure 7. Ce modèle ACP montre une classification 100% correcte des échantillons de gluten de maïs et de gluten falsifié. Par la suite, dix-huit

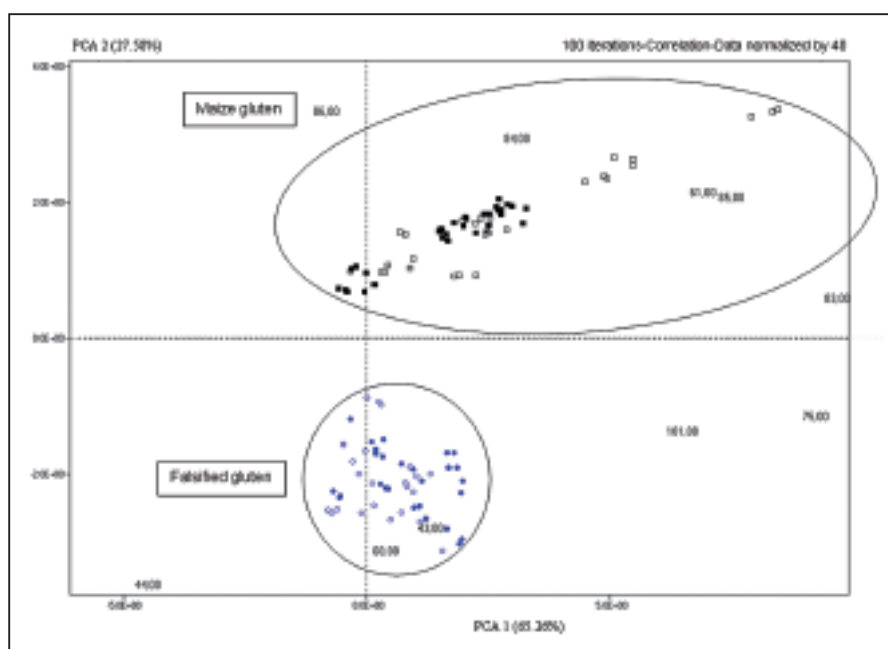


Fig. 7. Double représentation (scores et loadings) de la classification par le nez électronique, PC 1 vs. PC 2, des échantillons de gluten de maïs (symboles carrés) et de gluten falsifié (symboles ronds). Les échantillons de référence et les inconnus sont représentés respectivement par des symboles pleins et vides. Les ellipses montrent les différentes classes.

échantillons nouveaux, désignés par des symboles vides (○;□), ont été analysés et classifiés par le modèle ACP préétabli. Là encore, la classification se révèle correcte à 100%. L'assignement d'un échantillon à une classe donnée est déterminé par la plus courte distance euclidienne qui sépare l'échantillon des différentes classes prédéfinies par le modèle. La figure 7 montre que 93% de la variance totale du modèle est expliquée par les axes PC1 et PC2. La différenciation entre gluten de maïs et gluten falsifié est principalement caractérisée par l'axe PC2. L'axe PC1, expliquant environ 65% de la variance, caractérise surtout les différents teneurs en acides aminés présents dans la classe de gluten de maïs.

Un des deux échantillons 1/3 falsifié (tabl.1) a été utilisé lors de l'établissement du modèle ACP. Les deux échantillons ont été classés par le nez électronique comme étant du gluten falsifié, cependant, ils apparaissent comme étant les plus proches de la classe de gluten de maïs véritable.

### Urée et mélamine: une «empreinte digitale» propre aux glutens falsifiés

Les variables du modèle ACP (fig. 7) montrent que la classe de gluten de maïs est caractérisée par les fragments ioniques 86 (leucine), 84 (lysine), 61 (méthionine) et 85 m/z (tabl. 2). En parallèle, la classe de gluten falsifié est caractérisée par les fragments ioniques 60 et

Tableau 2. Principaux fragments ioniques m/z (masse/charge) de certains acides aminés ainsi que d'autres substances organiques riches en azote (NIST base de données). Les valeurs en gras indiquent une abondance relative importante.

Leucine	<b>86</b> , 74, 44, 43, 30
Thréonine	<b>75</b> , 74, 58, <b>57</b> , 56, 45
Méthionine	149, 131, 116, 104, 101, 83, 75, 74, <b>61</b> , 56, 55
Cystine	<b>44</b> , 34
Lysine	<b>84</b> , 72, 56, 44, 43, <b>30</b>
Urée	<b>60</b> , <b>44</b> , 43
Mélamine	<b>126</b> , 85, 83, 68, 43, 42
Acide cyanurique	<b>129</b> , 86, 70, 44, 43

44 (urée) ainsi que 43 m/z (mélatamine). Ces résultats sont en accord avec les analyses chimiques qui ont montré la présence d'urée et parfois de mélatamine et d'acide cyanurique (tabl.1) dans les glutens falsifiés. Les glutens de maïs normaux ont eux des teneurs en méthionine de 16 à 20 g/kg et ne contiennent pas d'urée, de mélatamine ni d'acide cyanurique. Les fragments ioniques 101, 83 et 75 m/z (fig. 7) sont présents dans les spectres de masse de la méthionine et/ou thréonine mais semblent jouer peu de rôle dans ce modèle.

Bien que le fragment ionique 86 (fragment ionique principal de la leucine) soit présent dans le spectre de masse de l'acide cyanurique également, son intensité y est faible (tabl. 2) et il est plus typique des glutens non falsifiés (fig. 7). Une analyse analogue peut être appliquée aux fragments ioniques 44 et 43 m/z.

## Conclusions

- ❑ Les résultats présentés montrent que des produits frauduleux ont été expressément manipulés dans le but de tromper les acheteurs. En apparence, ces produits étaient analogues au gluten de maïs normal: ressemblance des particules, couleur similaire. Même leur taux de protéines brutes ne permettait pas de les distinguer des glutens conventionnels: en effet, des composés organiques riches en azote ont été ajoutés afin d'obtenir une valeur équivalente à celle d'un gluten de maïs classique (environ 650 g/kg).
- ❑ Les glutens falsifiés étudiés ici ne pourraient être utilisés, dans le meilleur des cas (présence d'urée seule), que pour la fabrication de mélanges d'aliments pour ruminants et dans des quantités ne dépassant pas 10% pour éviter toute toxicité.
- ❑ Les teneurs élevées en mélatamine mesurées dans certains échantillons (jusqu'à 20 g/kg), pouvant mener à une teneur finale dans les rations mélangées de 400 mg/kg, interdisent toute utilisation de ces lots dans l'alimentation animale.
- ❑ Ces observations relèvent l'importance de disposer de méthodes rapides et efficaces pour analyser les échantillons de matières premières et de sous-produits industriels.
- ❑ La technique du nez électronique a prouvé son efficacité pour la détection du maïs falsifié. Cette méthode simple et rapide ne nécessite aucune préparation des échantillons.

## Summary

### Detection of falsified maize gluten

Agroscope Liebefeld-Posieux ALP employed different methods to detect falsified maize gluten products. Microscopic observations – numerous starch grains, seed envelopes and wheat bran fragments – clearly showed atypical maize gluten particles in samples with otherwise normal crude protein levels ( $\geq 60\%$ ) and usual gold-yellow colour. Chemical analyses in these samples confirmed presence of urea (19 to 173 g/kg), melamine (up to 20 g/kg) and cyanuric acid (up to 10 g/kg) as well as low levels of methionine (in most cases  $< 2.5$  g/kg) in incriminated products (genuine maize gluten methionine level  $\geq 16$  g/kg). Furthermore, a fast technique – electronic nose based on mass spectrometry detection – also proved to be reliable for the identification of falsified maize gluten products: 100% correct classification of model and unknown samples was achieved with principal component analysis. These results made Swiss feed-inspection authority prohibit or restrict the use of 2500 tons of falsified products.

**Key words:** maize gluten, urea, melamine, microscopy, electronic nose, chemometrics.

## Zusammenfassung

### Erkennen von gefälschtem Maiskleber

Mikroskopische und chemische Methoden sowie eine neue chemometrische Methode, die elektronische Nase, wurden von Agroscope ALP eingesetzt, um gefälschte Maiskleberprodukte zu erkennen. Beobachtungen unter dem Mikroskop von zahlreichen Stärkekörnchen, Samenkapseln und Weizenkleiefragmenten zeigten deutlich, dass atypische Maiskleberpartikel in Proben mit sonst normalem Rohproteingehalt ( $\geq 60\%$ ) und der üblichen gold-gelben Farbe vorhanden waren. Chemische Analysen bestätigten in einigen Proben die Präsenz von Harnstoff (19 bis 173 g/kg), Melamin (bis zu 20 g/kg) und Cyanursäure (bis zu 10 g/kg), die den niedrigen Methionin-Gehalt (meistens unter 2,5 g/kg) in gefälschten Produkten (echter Methionin-Gehalt von Maiskleber  $\geq 16$  g/kg) erklären. Mit der elektronischen Nase, einer massenspektrometrischen Schnellmethode, konnte gefälschter Maiskleber zuverlässig identifiziert werden: mit der Hauptkomponentenanalyse gelang es, sowohl sämtliche Referenzproben als auch alle unbekanntes Stichproben korrekt zu klassifizieren. In der Folge hat die amtliche Futtermittelkontrolle 2500 Tonnen gefälschte Produkte gesperrt beziehungsweise ihren Einsatz eingeschränkt.

## Riassunto

### Individuazione di glutine di mais contraffatto

Il ricorso a metodi chimici e microscopici, nonché a un nuovo metodo chemiometrico, il naso elettronico, ha permesso a Agroscope ALP di individuare partite di glutine di mais contraffatto. L'analisi al microscopio di diversi granelli di amido, capsule e frammenti di crusca in campioni con valori normali di proteine grezze ( $\geq 60\%$ ) e tipico colore giallo-oro ha rivelato chiaramente la presenza di particelle di glutine di maïs atipiche. Le analisi chimiche confermano la presenza, in alcuni campioni, di urea (da 19 a 173 g/kg), melamina (fino a 20 g/kg) e acido cianidrico (fino a 10 g/kg), come anche il basso tenore di metionina (nella maggior parte dei casi inferiore a 2,5 g/kg) nei prodotti contraffatti (contenuto standard di metionina di glutine di maïs  $\geq 16$  g/kg). Grazie all'utilizzo di un naso elettronico, una tecnica di spettrometria di massa, si è potuto individuare in modo rapido e affidabile il glutine di maïs contraffatto e procedendo all'analisi dei componenti principali si sono potuti classificare in maniera corretta tutti i campioni, sia quelli di riferimento che quelli contraffatti. In seguito a tali analisi, il controllo ufficiale svizzero degli alimenti per animali ha vietato, o fortemente ridotto, l'utilizzo di 2500 tonnellate di prodotti contraffatti.

## Bibliographie

- Ampuero S. & Bosset J. O., 2003. The electronic nose applied to dairy products: A review. *Sensors and Actuators B* 94, 1-12.
- Cheeke PR., 1999. *Applied Animal Nutrition*. 2nd edition. Prentice Hall, New Jersey, USA, 525 p.
- EFSA, 2007. EFSA's Provisional statement on a request from the European Commission related to melamine and structurally related compounds such as cyanuric acid in protein-rich ingredients used for feed and food. Question N° EFSA-Q-2007-093.
- Roetschi A., Frick G. & Hauswirth H., 2002. Analyse des aliments pour animaux par microscopie. *Revue suisse Agric.* 34 (6), I-VI.
- Roetschi A., Frick G. & Hauswirth H., 2003. Analyse des aliments pour animaux: vérification de la composition par microscopie. *Revue suisse Agric.* 35 (3), 131-138.
- Jarrige R., 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA, Paris, 476 p.
- NRC, 1985. National Research Council: Ruminant Nitrogen usage. Washington D.C, National Academy Press, 148 p.
- Puschner B., Poppenga R. H., Lowenstine J., Filigenzi M. S. & Pesavento A., 2007. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation* 19 (6), 616-624.