



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



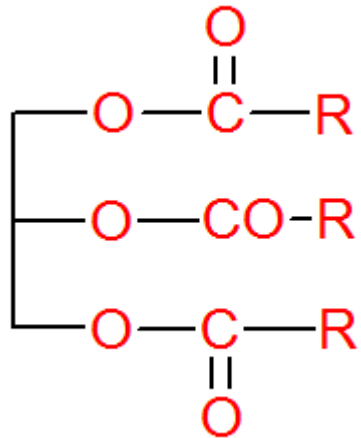
⇒ Composition lipidique très variée

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

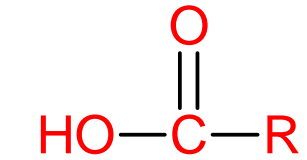


Composition lipidique des aliments

Lipides simples



Triglycérides



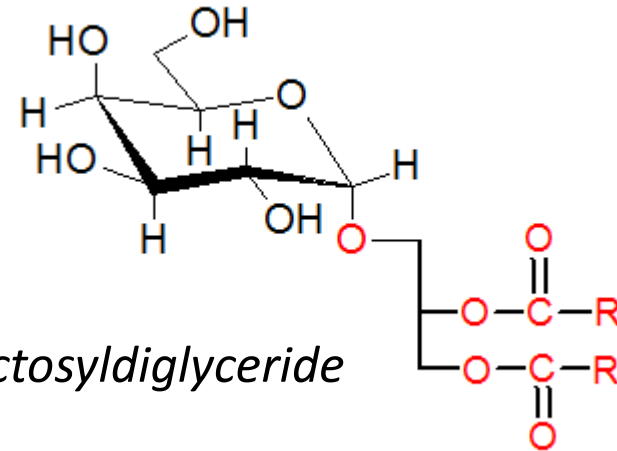
Acide gras libre

- Diglycérides
- Cire



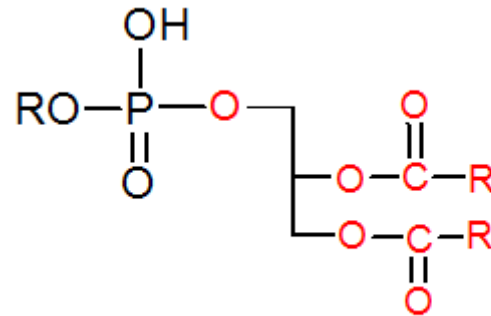
Composition lipidique des aliments

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»



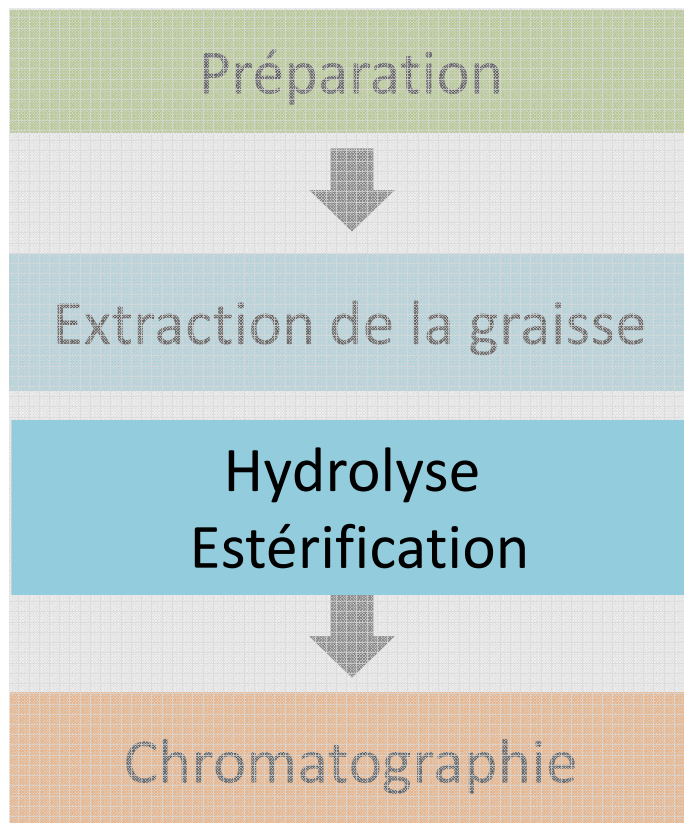
Extraction de la graisse

- 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 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

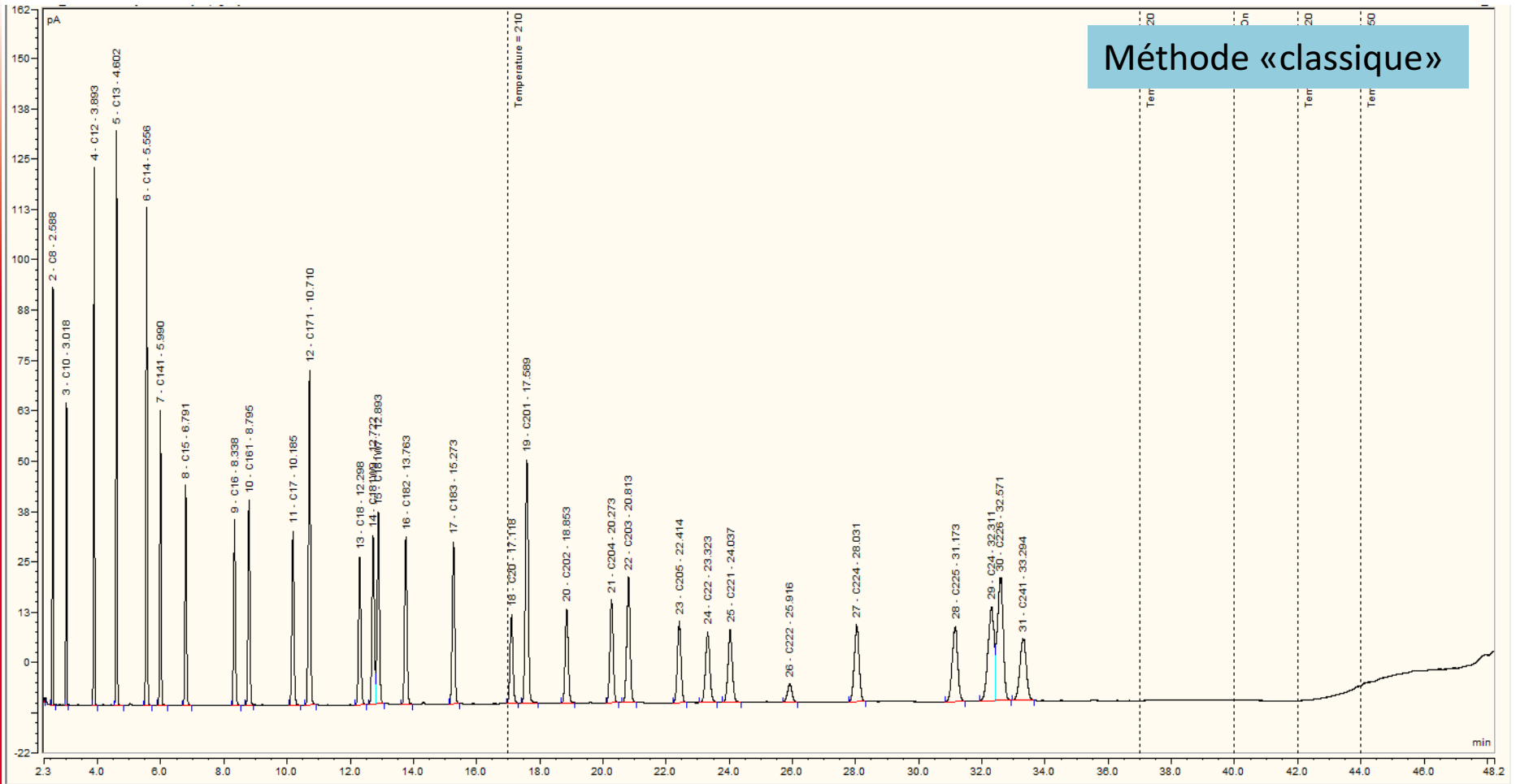


Nouvelle méthode



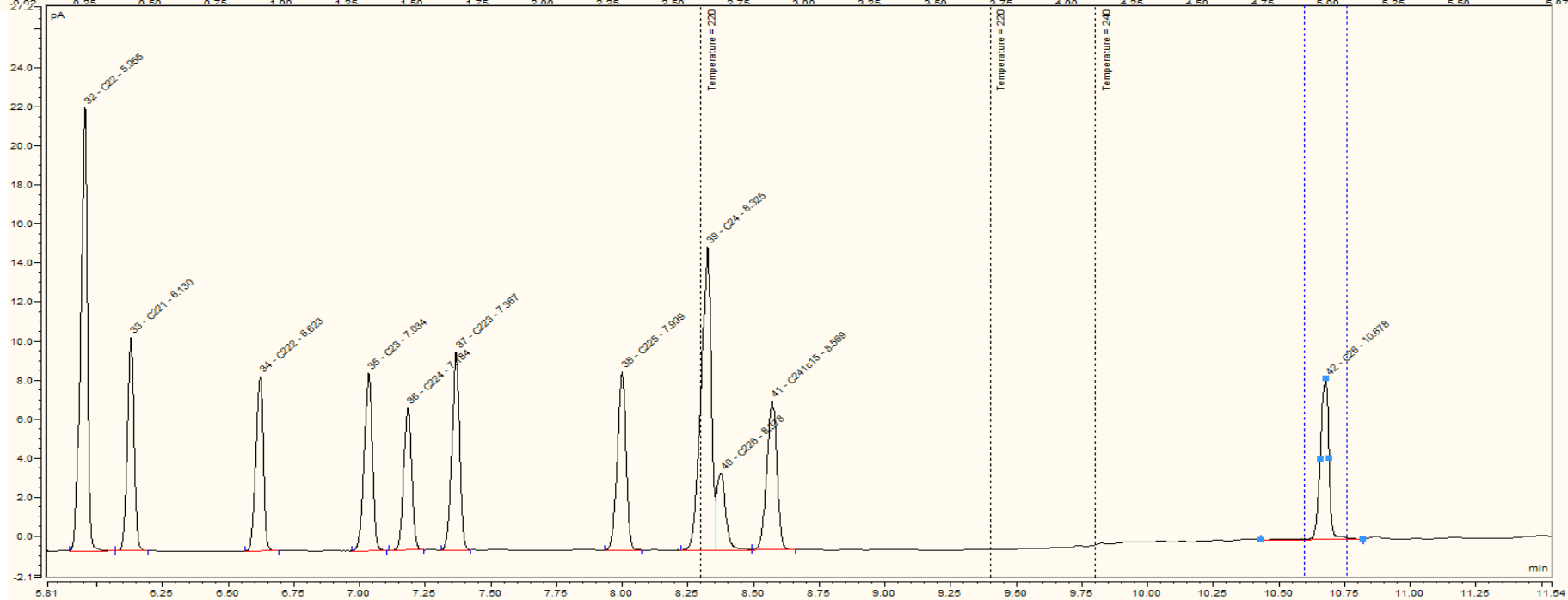
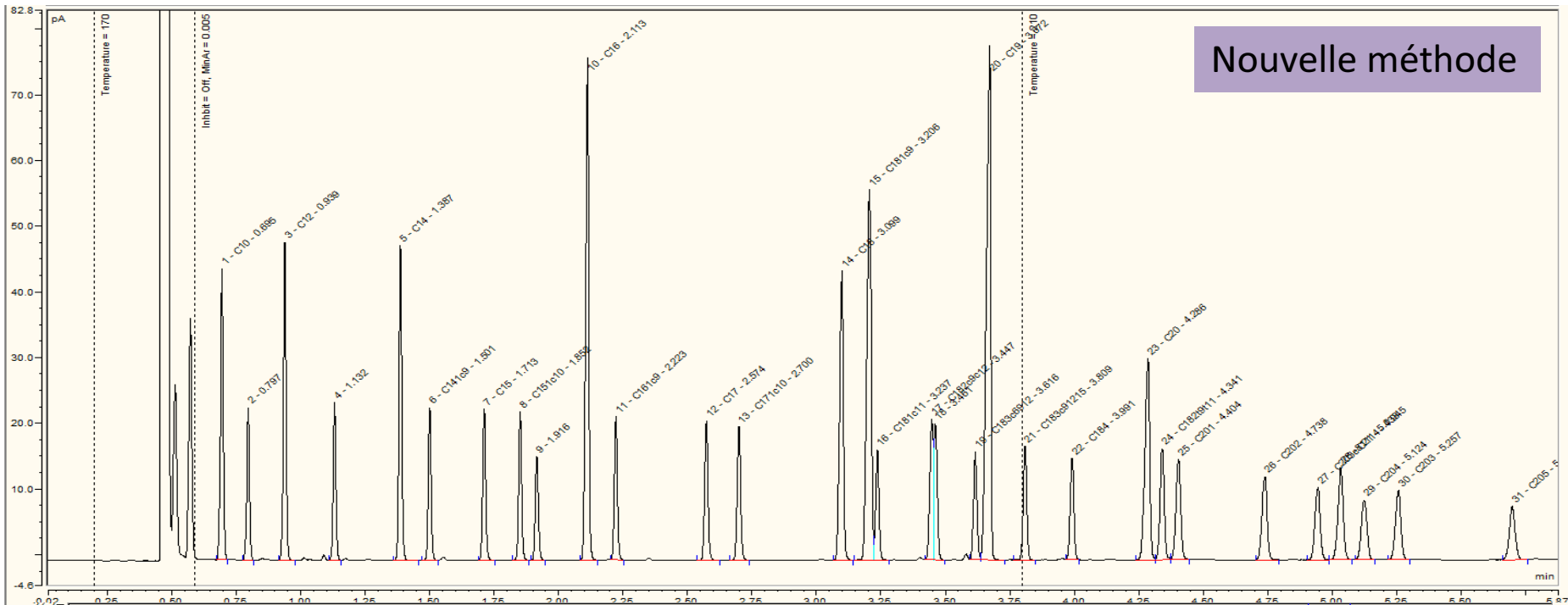


Chromatographie



Méthode «classique»

Nouvelle méthode



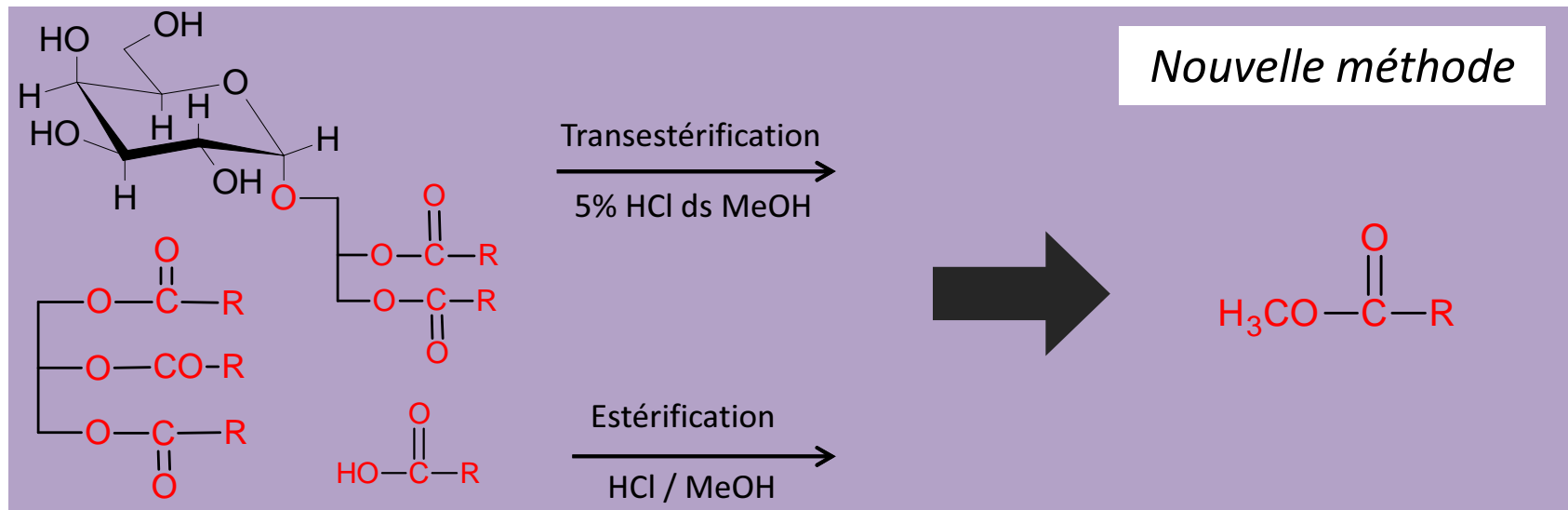
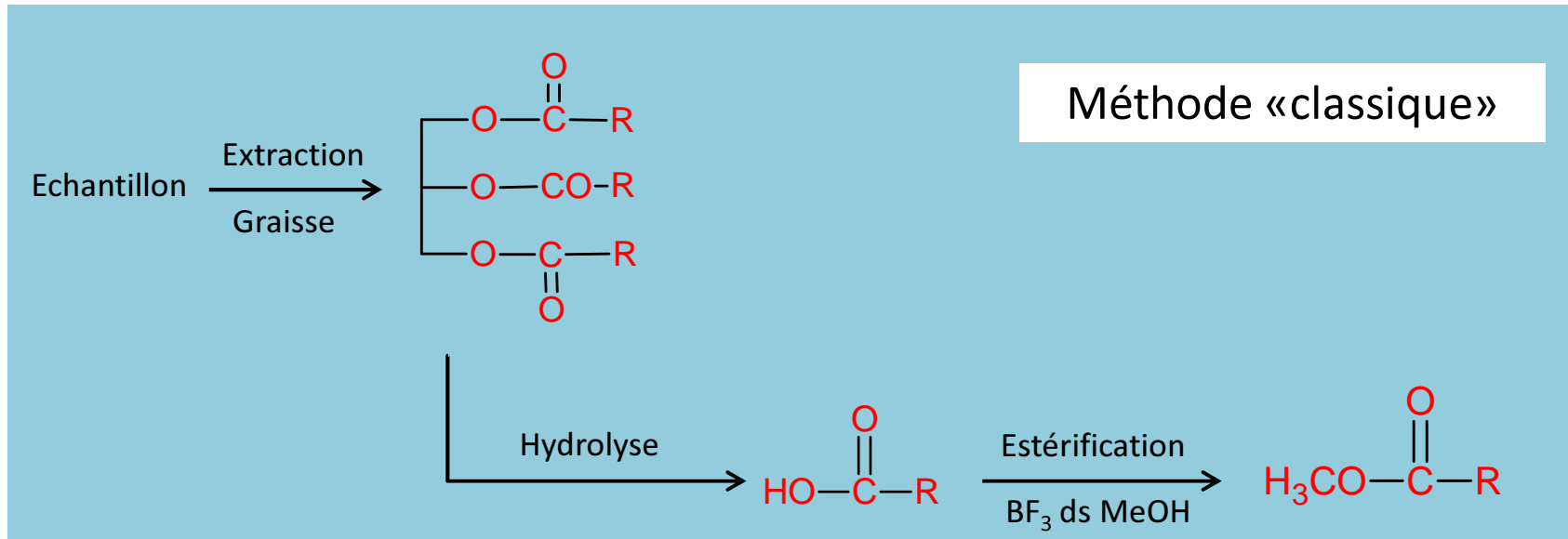


Méthode «classique»

- ✓ 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 RLG»

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

Plus de matière grasse, pourquoi?

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

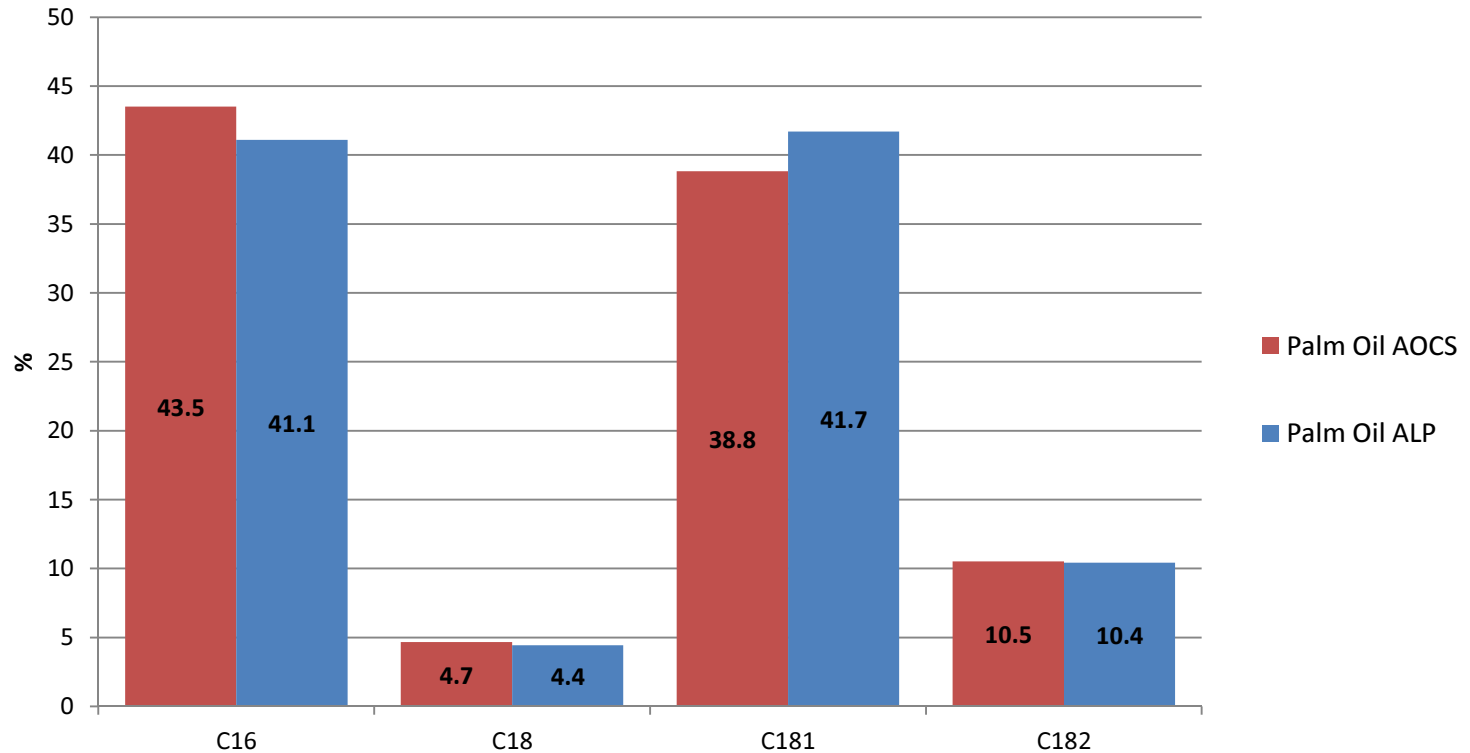


↳ **nombre d'acide gras identifiés plus important**



Validation - Comparaisons

Palm Oil - Proficiency program AOCS 2011-2012

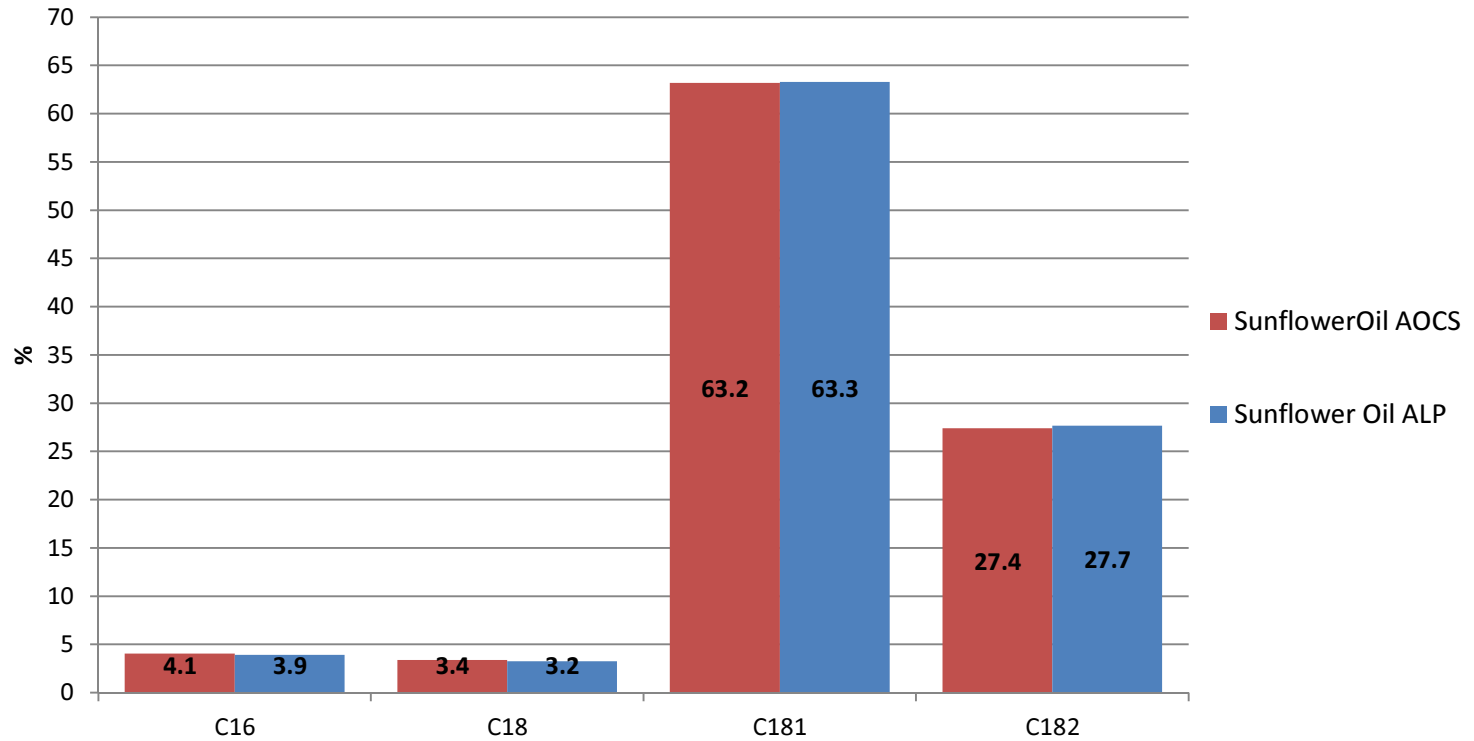


<u>Σ C16 + C18 + C181 + C182</u>	ALP : 97.6%
	AOCS: 97.5%



Validation - Comparaisons

Sunflower Oil - Proficiency program AOCS 2011-2012



Σ 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
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

Echantillon: graisse «pure»



Validation - Recouvrement

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



MERCI

