

Composition des acides gras dans l'alimentation animale – méthodes d'analyse

Silvia Ampuero Kragten¹, Marius Collomb², Sébastien Dubois¹ et Peter Stoll¹

¹Agroscope, Institut des sciences en production animale IPA, 1725 Posieux, Suisse

²Ancien collaborateur scientifique d'Agroscope, 1723 Marly, Suisse

Renseignements: Silvia Ampuero Kragten, e-mail: silvia.ampuero@agroscope.admin.ch



Les porcs aiment les aliments riches en graisse.

Introduction

Historiquement, l'intérêt premier des corps gras dans l'alimentation animale réside dans l'apport énergétique qu'ils constituent dans la ration. L'intérêt pour la composition des corps gras est plus récent, notamment lié aux potentiels bénéfiques pour la santé humaine. Par ailleurs, en Suisse, la qualité technologique de la graisse de la carcasse de porc subit une classification *ad hoc*, qui d'une manière générale tient compte de la présence de liaisons insaturées dans les acides gras (Christen 2014); cette classification, effectuée au niveau des abattoirs, influence le prix de la carcasse. De sorte que les aliments pour porc en Suisse doivent être formulés non seulement en fonction de la teneur en corps gras (MG) de matières premières comme source d'énergie, mais doivent en plus

correspondre aux recommandations quant aux teneurs en PUFA, MUFA et SFA. D'où la nécessité d'une méthode analytique précise.

Structure moléculaire des lipides

Du point de vue chimique, les lipides (corps gras) sont constitués d'une riche variété de composés. Du point de vue de la solubilité, les lipides peuvent être classés selon leur structure moléculaire en lipides neutres ou polaires.

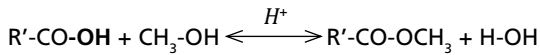
A) Les lipides neutres (ou simples) sont les acides gras libres ainsi que les acides gras liés à une molécule de glycérol pour former des mono, di ou triglycérides. Ce type de lipides est soluble dans des solvants non polaires, par contre les lipides polaires (ou complexes) sont solubles dans des solvants plus ou moins polaires.

B) Les lipides polaires peuvent être de deux types (fig. 1): **Les phosphoglycérides**, lipides où un des acides gras du triglycéride est remplacé par un ester de phosphate (liaison O-acyl). Ces composés peuvent avoir divers degrés de complexité en fonction de l'ester de phosphate (y compris la présence de composés azotés). **Les sphingolipides**, lipides où l'acide gras est lié à l'azote d'une molécule de sphingosine (liaison N-acyl). La sphingosine peut être liée à des sucres (cérébrosides, gangliosides, etc.), des phosphates, etc. Ces lipides polaires peuvent aussi être classés, selon qu'ils comportent une molécule de phosphate ou de sucre, en phospholipides ou glycolipides, indépendamment de la présence de liaisons O-acyl ou N-acyl avec l'acide gras. Les lipides comprennent encore les détergents ou sels d'acides gras, les isoprenoïdes (cholestérol, stéroïdes, etc.), les terpènes ainsi que les cires et autres lipides avec des acides gras cycliques. A l'exception des sels d'acides gras, ces dernières molécules peuvent être considérées comme source d'énergie négligeable dans l'alimentation animale, une partie sera toutefois extraite dans la MG (partiellement les cires et autres).

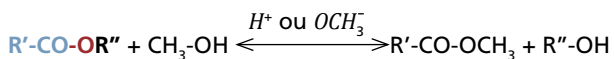
La détermination des acides gras par GC-FID (chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme) passe par leur estérification (généralement méthylation). Ce type de réaction de dérivation a lieu

en présence d'un catalyseur: soit acide, soit basique, en fonction du type de lipide (Christie 1993, Carrapiso *et al.* 2000):

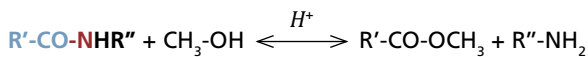
Acide gras libre:



Lipide où l'acide gras est lié par une liaison **O-acyl** (p. ex.: triglycérides, phospholipides):



Lipide où l'acide gras est lié par une liaison **N-acyl** (p. ex. : sphingolipides, céramides, etc.)



Méthodes analytiques

La MG est encore couramment déterminée par des méthodes gravimétriques empiriques, telles que Soxhlet (AOAC 1980) et Weibull-Berntrop, basées sur des principes développés au 19^e siècle (Hammond 2001). Le principe de ces méthodes est la dissolution des corps gras dans un solvant non polaire, souvent de l'éther pétrole ou de l'hexane, etc. Il est aisé de comprendre qu'un seul solvant à polarité donnée ne parviendra pas à dissoudre les différents lipides à polarité diverse. Ainsi, en général, les lipides membranaires (phospholipides, glycolipides, sphingolipides, etc.) seront moins dissous dans des

Résumé Cet article illustre l'importance de la méthode analytique pour la détermination de la composition d'acides gras dans les aliments pour animaux. Notamment dans l'alimentation pour porcs où, en Suisse, non seulement la teneur en lipides mais aussi le profil d'acides gras sont nécessaires pour formuler une ration apte à fournir une qualité optimale de graisse dans la carcasse de porc. L'étude montre que la méthode GC (chromatographie en phase gazeuse) par transestérification *in situ* est plus précise et complète que, d'une part, la méthode GC en deux étapes (par extraction des corps gras puis estérification) et, d'autre part, la méthode empirique, par gravimétrie, qui consiste en l'extraction des composés solubles dans un solvant donné.

PUFA	acides polyéniques (acides gras polyinsaturés)
MUFA	Acides gras monoinsaturés
SFA	Acides gras saturés
GT	Teneur en graisse totale
MG	Matière grasse

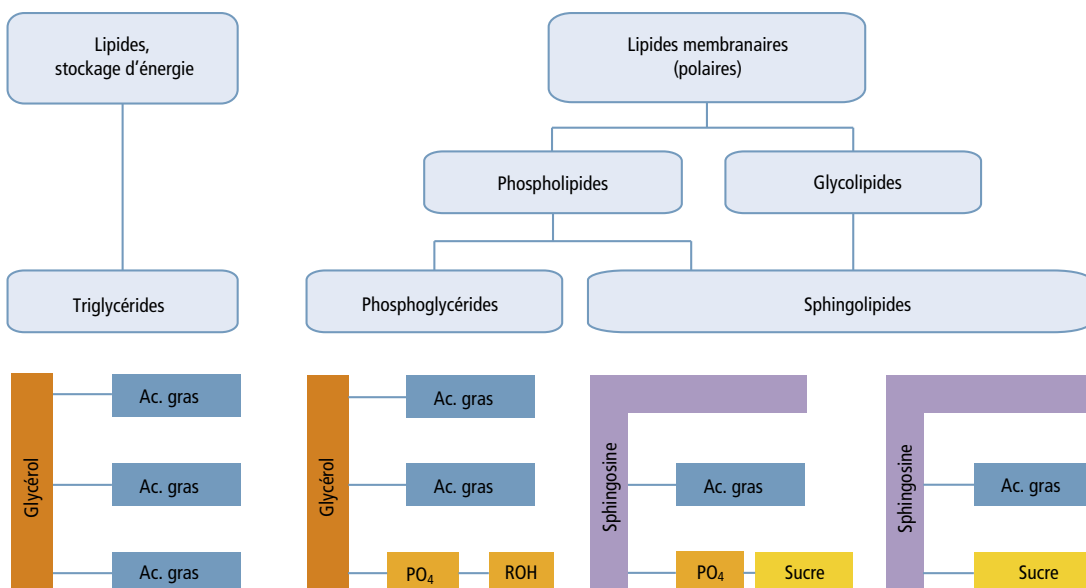


Figure 1 | Schéma de classification des lipides fréquents.



Figure 2 | Echantillons analysés. A = avoine, B = Alikon, C = orge, D = maïs, E = tourteau de pression de colza, F = graines de soja

solvants non polaires comme l'hexane ou l'éther pétrole et, en même temps, une diversité de composés non lipidiques sera extraite (pigments, vitamines, chlorophylle, etc.) ainsi que des cires. De plus, certains composés hydrophiles (urée, hexoses) seront aussi extraits lorsque le solvant utilisé est un peu plus polaire comme l'éther diéthylique (Palmquist *et al.* 2003). Malgré leur caractère approximatif, ces méthodes empiriques sont toujours d'actualité en raison de leur simplicité d'utilisation, mais aussi parce que les outils d'optimisation des rations alimentaires sont basés sur la MG.

La voie qui passe par l'identification/quantification des différents acides gras, par exemple par GC-FID, permet une analyse plus rationnelle et descriptive de la teneur en lipides. Cependant, l'extraction préalable, exhaustive, des lipides polaires et non polaires, n'est pas aisée. Ainsi, des méthodes de transestérification *in situ* gagnent en intérêt, car elles procèdent à l'hydrolyse de lipides y compris les molécules très complexes, et estérifient par méthylation les acides gras ainsi libérés, le tout en une seule étape (Jenkins 2010). Ceci implique des conditions de réaction moins sévères que dans les méthodes à deux étapes qui se traduit par un gain dans la préservation des lipides et par une réduction considérable de la quantité des solvants, des réactifs et du

temps de manipulation (Carrapiso *et al.* 2000). La méthode GC *in situ* (GC-IS) présentée ici a été adaptée d'Alves *et al.* (2008, 2009) et de Palmquist *et al.* (2003).

Cet article illustre les résultats de l'analyse de lipides dans des matières premières et aliments pour animaux en comparant trois méthodes différentes: une méthode gravimétrique (Weibull-Berntrop), une méthode GC-FID en deux étapes (extraction puis estérification) et une méthode GC-FID par transestérification *in situ*. Ces deux dernières permettent la détermination de la composition de lipides en plus de la teneur en graisse totale (GT), tandis que la première ne détermine que la MG. Selon la FDA (U.S. Food and Drug Administration), dans le cas des denrées alimentaires, la graisse totale est déterminée par la somme de tous les acides gras extraits exprimée sous forme de triglycérides (Eller 1999); la GT est ainsi assimilable à la MG. De plus, la validation de la méthode GC *in situ* est présentée ici.

Matériel et méthode

Les échantillons

La comparaison des méthodes analytiques a été réalisée avec une série de 29 échantillons, parmi lesquels des matières premières: du blé, de l'orge, de l'avoine, du

maïs, des germes de blé, des drêches de brasserie, du tourteau de pression de colza, des graines de soja, des graines de tournesol; des aliments complets: aliment pour porc à l'engrais, pour porcelet, pour truie; ainsi que: de la bouillie, des déchets de pâtes et de l'Alikon (graisse végétale cristallisée). L'exactitude de la méthode GC-IS a été déterminée avec un échantillon de référence certifié: BCR® – 163: Beef-Pork Fat Blend (IRMM), et l'incertitude avec quatre échantillons, dont de l'orge, deux aliments pour porc et un échantillon de tissu adipeux porcin.

A l'exception du tissu adipeux, tous les échantillons ont été moulus avec un moulin à couteaux Brabender (1 mm). Les échantillons avec GT > 15 % ont été moulus avec de l' N_2 liquide. Les échantillons de tissus adipeux et de bouillie ont été lyophilisés puis moulus. La teneur en matière sèche (MS) a été déterminée dans tous les échantillons par séchage au four à 105 °C pendant 2 h 40 (basée sur ISO 6496:1999).

Les trois méthodes utilisées

La méthode gravimétrique

Selon la méthode Weibull-Berntrop, l'échantillon est hydrolysé avec du HCl 10 % bouillant pendant 1h. Après rinçage à l'eau jusqu'à pH neutre, l'échantillon est séché dans un four à micro-ondes (30 min, 300 W). Puis l'échantillon est placé dans un système du type Soxtec et extrait avec de l'éther pétrole à 135 °C pendant 85 min. Le résidu (MG) après évaporation du solvant est pesé et exprimé en g/kg MS.

La méthode GC en 2 étapes (GC-2E)

Etape d'extraction: 0,5 à 50 g d'échantillon sont placés dans un bécher, 1 ml de standard interne (C13 FAME (ester méthylique de l'acide gras)) est additionné ainsi que 60 ml de dichlorométhane:méthanol 2:1 (v:v). Le tout est mixé puis laissé reposer pendant 15 min. Les composés non lipidiques sont séparés par l'addition de 1 ml de $MgCl_2$ (2 % dans de l'eau) et de 20 ml H_2O ; ils se concentrent dans la phase aqueuse formée après filtration et 1h de repos. La phase organique contenant les lipides (couche inférieure) est récupérée, puis évaporée à 40 °C et 600–550 mbar. Le résidu solide est quantitativement récupéré dans de l'hexane et le solvant à nouveau évaporé. **Etape d'estérification:** pour cela, 2 ml de NaOH (0,5 M dans méthanol) sont additionnés au résidu solide et le tout est laissé reposer pendant 30 min, puis bouilli pendant 2 min (pour une saponification complète). Ensuite, 3 ml de BF_3 (10% dans méthanol) sont additionnés et le tout bouilli encore 4 min. Après retour à température ambiante, 7 ml de NaCl (1,5 % dans H_2O) et 3 ml d'heptane sont additionnés. Après mélange et centrifugation (5 min à 3000 rpm), 1 μ l (aliquote filtré) de la couche supérieure contenant de l'ester

méthylique des acides gras (FAME) est directement injecté dans le GC. Le système GC (HP 5890) est équipé d'une colonne Supelcowax™ 10 (30m × 0,32mm, 0,25 μ m). L'échantillon est injecté avec une partition 100:1, dans un flux d' N_2 (1,15 ml/min). La température du détecteur FID est de 250 °C. Le programme thermique du four est le suivant: 1 min à 170 °C, monté à 210 °C à 2,5 °C/min, puis à 220 °C à 0,5 °C/min, suivis de 5 min à 220 °C, monté à 250 °C à 15°C/min, et finalement 6 min à 250 °C.

La méthode par transestérification *in situ* (GC-IS)

Transestérification: 250 mg d'échantillon sont placés dans un tube hermétique en téflon avec 0,25 à 2 ml de standard interne (C19 FAME), 3 à 6 ml HCl (5 % dans du méthanol) et entre 0 et 1,75 ml de toluène (ces proportions ont été adaptées et peuvent varier selon le type d'échantillon). Le tube fermé est placé à 70 °C pendant 3h. Après retour à température ambiante, le mélange est neutralisé avec 5 à 8 ml de K_2CO_3 (6 % dans H_2O). Après addition de 2 ml de pentane, le mélange est centrifugé (5 min à 2500 rpm), puis la phase organique (couche supérieure) est transvasée dans un tube contenant 1 g de Na_2SO_4 anhydre et 0,2 g de charbon actif. Après 1h de repos puis centrifugation (5 min à 2500 rpm), la phase organique est récupérée et évaporée à 40 °C. **Purification au SPE:** 1 ml de dichlorométhane est additionné au résidu solide, 250 à 500 μ l de cette solution sont évaporés à 40 °C. Le résidu est dissous dans 100 μ l de dichlorométhane puis placé dans une cartouche SPE pré-conditionnée (LiChrolut Si (40–63 μ m), Merck 1.02024.0001). Le mélange de FAME est élué avec 2,5 ml de dichlorométhane, desquels les premiers 0,5 ml sont rejetés car ils pourraient contenir des impuretés telles que des phytadiènes (Alves et al. 2009). Les 2 ml suivants sont récupérés et évaporés à sec à 40 °C. Le résidu solide est dissous dans 1 ml de pentane, 1 μ l de cette solution est injecté dans le GC. Le système GC (Agilent 6810) est équipé d'une colonne polaire Supelcowax™ 10 (15 m × 0,1 mm, 0,1 μ m). L'échantillon est injecté avec une partition de 150 : 1 et un flux d' H_2 (1 ml/min). La température du détecteur FID est de 250 °C. Le programme thermique du four est le suivant: 0,2 min à 170 °C, puis monté à 210 °C à 11 °C/min, puis à 220 °C à 2 °C/min, 2 min à 220 °C, puis monté à 230 °C à 50 °C/min et maintenu à 230 °C pendant 5 min.

Pour les deux méthodes GC, la quantification de chaque FAME se fait à l'aide du standard interne (voir chromatogramme type dans la figure 2). La somme de tous les FAME identifiés, comptabilisés en tant que triglycérides (par division par le facteur 0,956), constitue la teneur en graisse totale (GT), exprimée en g/kg MS.

Tableau 1 | Teneurs (moyenne de deux répliques ± sd) en GT (graisse totale), SFA (ac. gras saturés), MUFA (ac. gras mono-insaturés) et PUFA (ac. gras poly-insaturés), selon 3 méthodes: GC-IS (GC-FID *in-situ*), GC-2E (GC-FID 2 étapes) et extraction

Echantillon	*GT [g/kg MS]			SFA [g/kg MS]		MUFA [g/kg MS]		PUFA [g/kg MS]	
	GC-IS	GC-2E	Extraction	GC-IS	GC-2E	GC-IS	GC-2E	GC-IS	GC-2E
Blé a	24,0 ± 0,0	15,9 ± 1,1	15,9 ± 1,9	5,9 ± 0,0	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,1	1,8 ± 0,1	14,1 ± 0,0	10,2 ± 0,6
Blé b	26,1 ± 0,2	14,2 ± 0,7	21,9 ± 1,7	5,6 ± 0,0	2,6 ± 0,1	3,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1	15,9 ± 0,1	9,2 ± 0,4
Orge a	30,9 ± 1,2	21,4 ± 0,5	24,5 ± 0,7	8,3 ± 0,3	4,6 ± 0,1	4,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1	15,2 ± 0,7	12,6 ± 0,3
Orge b	37,5 ± 1,2	18,4 ± 0,5	23,6 ± 2,0	8,7 ± 0,1	4,0 ± 0,1	6,0 ± 0,2	2,9 ± 0,1	21,2 ± 0,9	10,8 ± 0,3
Avoine a	43,1 ± 1,1	35,6 ± 0,4	43,1 ± 0,2	11,3 ± 0,1	7,1 ± 0,0	15,4 ± 0,5	12,4 ± 0,2	14,3 ± 0,5	14,6 ± 0,2
Avoine b	47,3 ± 2,1	42,0 ± 0,5	45,5 ± 2,5	11,8 ± 0,4	8,2 ± 0,1	17,9 ± 0,7	15,7 ± 0,2	15,1 ± 0,9	16,2 ± 0,3
Maïs a	59,4 ± 2,2	43,8 ± 0,3	50,1 ± 1,9	8,6 ± 0,2	5,8 ± 0,0	14,0 ± 0,5	10,6 ± 0,1	34,1 ± 1,3	25,5 ± 0,2
Maïs b	70,1 ± 3,0	55,2 ± 0,1	51,0 ± 0,9	9,5 ± 0,2	6,9 ± 0,0	19,8 ± 0,9	16,0 ± 0,0	37,7 ± 1,8	29,9 ± 0,1
Pâtes a	36,0 ± 1,5	17,2 ± 1,0	29,6 ± 0,0	9,7 ± 0,3	4,6 ± 0,3	9,6 ± 0,4	5,2 ± 0,3	15,0 ± 0,7	6,6 ± 0,4
Pâtes b	38,3 ± 0,4	16,5 ± 0,6	30,8 ± 0,4	10,0 ± 0,1	4,2 ± 0,2	9,8 ± 0,1	4,9 ± 0,2	16,0 ± 0,2	6,6 ± 0,2
Bouillie a	42,2 ± 0,3	26,8 ± 0,2	34,4 ± 0,6	16,2 ± 0,1	10,9 ± 0,2	12,8 ± 0,2	8,2 ± 0,1	10,8 ± 0,1	6,6 ± 0,0
Bouillie b	268,0 ± 4,1	172,8 ± 0,0	273,0 ± 13,3	110,7 ± 1,7	74,2 ± 0,1	89,3 ± 1,2	57,3 ± 0,0	51,1 ± 0,7	33,6 ± 0,1
Aliment porc d'engr.	24,6 ± 1,1	24,9 ± 0,1	29,0 ± 0,1	6,3 ± 0,2	5,3 ± 0,1	4,4 ± 0,2	4,7 ± 0,1	12,8 ± 0,7	13,8 ± 0,3
Aliment porcelet a	62,6 ± 2,5	46,4 ± 0,5	57,9 ± 0,2	18,1 ± 0,7	12,5 ± 0,1	19,4 ± 0,9	14,5 ± 0,2	21,7 ± 0,8	17,3 ± 0,2
Aliment porcelet b	65,5 ± 0,4	46,5 ± 0,3	59,1 ± 2,9	23,9 ± 0,5	17,3 ± 0,1	20,6 ± 0,1	15,2 ± 0,1	17,1 ± 0,1	12,0 ± 0,0
Aliment truie a	75,9 ± 1,1	55,5 ± 0,9	61,2 ± 2,2	23,3 ± 0,5	17,8 ± 0,3	26,0 ± 0,4	19,1 ± 0,3	22,2 ± 0,3	16,1 ± 0,2
Aliment truie b	77,5 ± 0,8	64,8 ± 0,4	66,1 ± 2,2	24,6 ± 0,1	21,2 ± 0,2	23,2 ± 0,2	19,6 ± 0,1	25,2 ± 0,3	21,2 ± 0,1
Germe de blé a	76,0 ± 4,6	64,0 ± 0,0	67,4 ± 4,2	15,4 ± 0,7	13,3 ± 0,0	11,4 ± 0,8	9,8 ± 0,0	44,9 ± 3,3	38,1 ± 0,0
Germe de blé b	78,6 ± 0,7	64,6 ± 0,0	n.d.	15,8 ± 0,1	13,2 ± 0,0	12,4 ± 0,1	10,4 ± 0,0	46,6 ± 0,5	38,1 ± 0,0
Drêches a	108,9 ± 0,7	86,1 ± 0,3	101,6 ± 0,7	31,3 ± 0,1	23,1 ± 0,1	14,4 ± 0,1	9,8 ± 0,2	57,9 ± 0,5	49,3 ± 0,3
Drêches b	109,1 ± 0,1	86,5 ± 1,3	90,7 ± 2,2	30,1 ± 0,1	23,1 ± 0,3	14,0 ± 0,0	10,1 ± 0,3	58,8 ± 0,2	49,5 ± 0,7
Tourteau de colza a	112,6 ± 3,5	109,0 ± 0,1	105,9 ± 1,8	15,7 ± 0,7	15,8 ± 0,1	61,2 ± 1,7	58,5 ± 0,1	30,2 ± 1,0	29,8 ± 0,0
Tourteau de colza b	106,8 ± 3,5	102,0 ± 0,5	92,9 ± 1,5	10,8 ± 0,7	9,9 ± 0,0	59,7 ± 1,7	57,3 ± 0,3	30,9 ± 1,0	30,3 ± 0,1
Graines de soja a	248,7 ± 5,4	250,8 ± 2,0	216,4 ± 1,6	38,1 ± 0,4	39,4 ± 0,0	56,1 ± 1,2	56,3 ± 0,0	142,9 ± 3,7	144,0 ± 1,9
Graines de soja b	272,9 ± 0,4	258,7 ± 1,2	213,8 ± 1,6	43,0 ± 0,0	41,2 ± 0,3	63,2 ± 0,6	59,0 ± 0,2	154,4 ± 0,3	147,0 ± 0,7
Tournesol a	374,8 ± 10,0	357,5 ± 4,7	351,7 ± 24,1	40,2 ± 1,2	38,0 ± 0,5	90,6 ± 1,8	84,5 ± 0,8	225,7 ± 6,2	219,1 ± 3,1
Tournesol b	517,7 ± 0,1	511,3 ± 1,1	486,3 ± 27,0	55,6 ± 0,4	54,1 ± 0,2	103,7 ± 0,2	103,3 ± 0,5	333,5 ± 0,3	331,2 ± 0,8
Alikon a	998,1 ± 1,5	1031 ± 4,6	935,9 ± 7,4	947,7 ± 1,1	979,7 ± 4,0	4,7 ± 0,2	4,4 ± 0,3	1,1 ± 0,0	1,4 ± 0,1
Alikon b	1010,1 ± 10,9	1011,6 ± 3,7	n.d.	959,5 ± 10,1	961,0 ± 3,2	4,5 ± 0,3	4,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,2

*GT: correspond à MG par la méthode d'extraction.
n.d.: non détecté.

La caractérisation analytique de la méthode GC-IS

L'exactitude de cette méthode a été déterminée par comparaison avec un échantillon certifié, en utilisant l'incertitude combinée de la valeur certifiée et de la valeur mesurée (à 95 % intervalle de confiance du t test bilatéral de Student).

$$u_{\Delta} = \sqrt{u_{GC-IS}^2 + u_{BCR163}^2}$$

où u_{GC-IS} est l'incertitude de GC-IS, u_{BCR163} celle de l'échantillon certifié et u_{Δ} l'incertitude combinée ($u = sd/\sqrt{n}$), où sd est l'écart-type et n le nombre de mesures).

$$U_{\Delta} = k u_{\Delta}$$

où k est le facteur d'élargissement (facteur t du test bilatéral de Student à 95 % d'intervalle de confiance) et U_{Δ} l'incertitude combinée élargie.

Pour la détermination de l'incertitude, dix répliques de quatre échantillons différents ont été analysés sur une période de deux mois par différents opérateurs mais dans le même laboratoire. L'incertitude élargie, U , a été calculée en % de la valeur moyenne, à 95 % d'intervalle de confiance du t test bilatéral de Student, avec $u = sd/\sqrt{2}$ car l'analyse en routine comprend uniquement deux répliques.

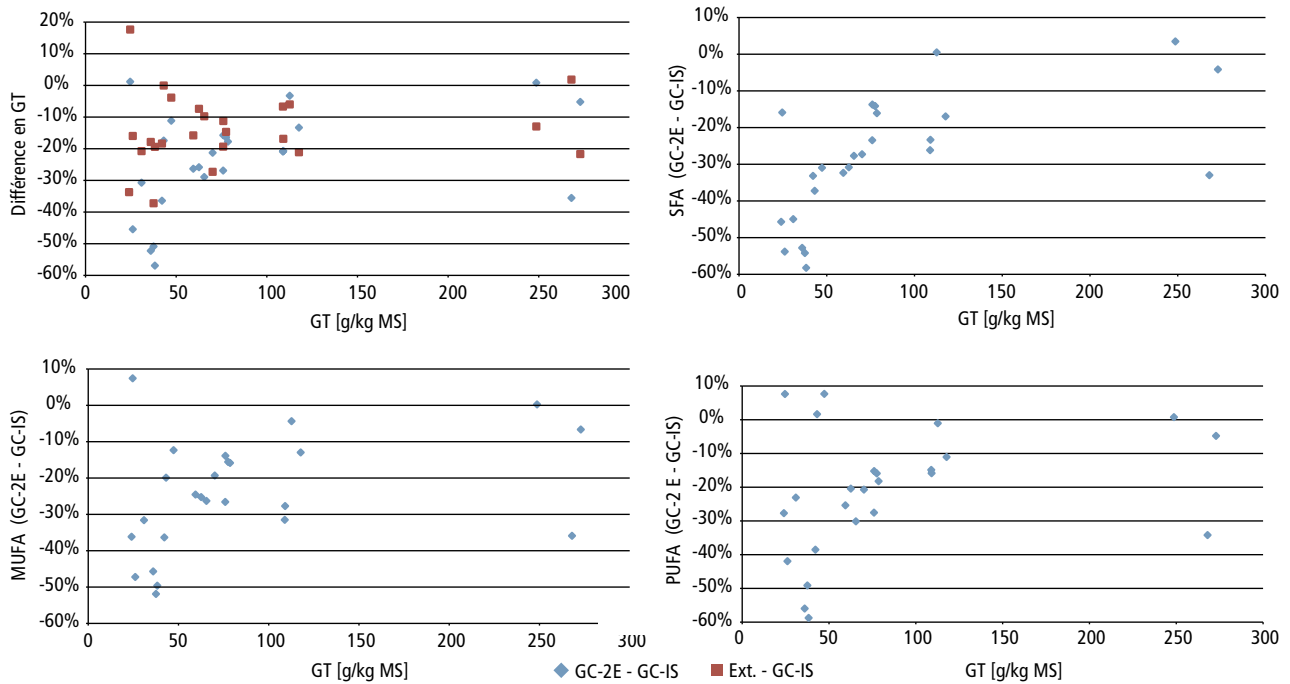


Figure 3 | Différences des GT entre GC-2E et GC-IS ainsi qu'entre Extraction et GC-IS (en % par rapport à GT selon GC-IS), versus GT selon GC-IS.

Résultats et discussion

Teneurs en lipides selon trois méthodes analytiques

Le tableau 1 présente les teneurs en lipides dans 29 échantillons différents, déterminées selon trois méthodes analytiques. Chaque résultat est la moyenne des deux déterminations indépendantes. Dans le cas des échantillons utilisés dans cette étude, d'une façon générale, la méthode GC-IS donne des teneurs en graisse totale plus élevées que les deux autres, tandis que la méthode GC-2E présente le plus souvent les valeurs les plus faibles. Les différences les plus marquées entre GC-2E et GC-IS (exprimées par rapport à GT selon GC-IS) s'observent dans le cas des céréales analysées (GT de 24 à 47 g/kg MS) (fig. 3) et produits céréaliers, avec des différences de l'ordre de 30 à 50 % pour le blé et l'orge, de 10 à 26 % pour l'avoine, le maïs, les germes de blé et les drêches de brasserie. Contrairement aux autres céréales, les teneurs en PUFA

dans l'avoine ont été correctement déterminées par les deux méthodes (tabl. 2). La fraction de lipides neutres/polaires dans l'avoine est de l'ordre de 80 à 90 %, avec > 94 % sous forme de triglycérides (Banaš *et al.* 2007), tandis que dans les autres céréales cette fraction est plus faible (75 % dans l'orge selon Newman *et al.* 2008). Ces particularités s'observent aussi avec la méthode d'extraction. Dans le cas des aliments, cette différence peut être négligeable (1,2 %) ou de l'ordre de 16 à 29 %. Le cas des aliments composés dépend de leur composition, ainsi la présence de lipides neutres facilitera leur extraction. Finalement, les échantillons testés avec des teneurs en graisse totale > 110 g/kg MS, tels que: tourteaux de colza, graines de soja, graines de tournesol et Alikon ne présentent que de très faibles différences, de 0 à 5 %. En effet, l'Alikon de même que les tissus adipeux sont majoritairement composés des triglycérides (Doreau *et al.* 1991, Murphy *et al.* 1998).

Tableau 2 | Certains acides gras déterminés dans des céréales par les méthodes GC-IS et GC-2E

[g/kg MS]	Blé a		Blé b		Orge a		Orge b		Avoine a		Avoine b	
	GC-SI	GC-2E	GC-SI	GC-2E	GC-SI	GC-2E	GC-SI	GC-2E	GC-SI	GC-2E	GC-SI	GC-2E
C16 : 1 t3	5,3	2,4	5,6	2,9	7,6	4,1	8,1	3,6	10,2	6,2	10,7	7,2
C18 : 1 c9	2,9	1,7	2,5	1,7	4,1	3,0	5,4	2,7	14,2	11,4	16,7	14,8
C18 : 2 c9c12	14,8	8,5	13,2	9,4	15,2	11,4	19,8	9,9	13,9	13,9	14,6	15,5
C18 : 3 c9c12c15	1,0	0,7	0,9	0,7	1,2	1,1	1,4	0,8	0,4	0,6	0,4	0,6

Tableau 3 | Détermination de l'exactitude de la méthode GC-SI par comparaison entre les différences de valeurs moyennes, Δ_m , et de l'incertitude combinée élargie, U_Δ (en valeurs absolues)

BCR® – 163: Beef – Pork Fat Blend								
	%	C14	C16	C16 : 1	C18	C18 : 1	C18 : 2	C18 : 3
BCR163	MRC	2,29	25,96	2,58	18,29	38,3	7,05	0,86
	U	0,04	0,3	0,16	0,17	0,4	0,17	0,14
	n	11	11	11	11	12	11	10
GC-IS	moyenne	2,22	26,23	2,55	18,18	39,51	8	0,76
	U	0,08	0,54	0,06	0,16	0,48	0,11	0,02
	n	28	28	28	28	28	28	28
	Δ_m	0,07	0,27	0,03	0,11	1,21	0,95	0,1
	U_Δ	0,08	0,59	0,16	0,22	0,59	0,19	0,12

BCR163: Echantillon de référence certifié: BCR® – 163 : Beef-Pork Fat Blend (IRMM). MRC : Valeur certifiée. U : Incertitude élargie, à 95 % intervalle de confiance du t test bilatéral de Student. n: nombre de répliqués.

Tableau 4 | Incertitude (exprimée en % de la moyenne) de la méthode GC-SI, calculée à 95 % d'intervalle de confiance du t test bilatéral de Student.

	[g/kg MS]	n	SFA	MUFA	PUFA	GT
Orge	moyenne	20	6,9	4,5	18,9	31,7
	U		7,30%	11,70%	11,20%	10,10%
Aliment a	moyenne	20	10,3	6,6	16	34,5
	U		6,30%	8,50%	9,40%	7,70%
Aliment b	moyenne	20	12,4	26,3	31,9	74,3
	U		3,50%	6,90%	7,70%	6,40%
Tissu adip.	moyenne	16	348,5	440,8	139,5	973,1
	U		1,70%	3,80%	3,80%	2,70%

La teneur en graisse totale déterminée par la méthode d'extraction est en général sous-évaluée (6 à 22 %) dans les échantillons oléagineux, probablement due à une extraction incomplète. La GT est aussi sous-évaluée dans les céréales (16 à 37 %), à l'exception de l'avoine (0 à 4 %). Par contre, dans les aliments complets, la méthode d'extraction peut donner des valeurs sous ou surévaluées.

Exactitude et incertitude de la méthode GC-IS

Il y a une bonne correspondance entre les déterminations par GC-IS et les valeurs certifiées du BCR-163 (tabl. 3). C'est seulement pour les acides oléique et linoléique, C18:1 et C18:2, que la différence de valeurs moyennes dépasse l'incertitude combinée élargie ($\Delta_m > U_\Delta$), mais dans ces cas la valeur GC-SI > la valeur certifiée, ce qui pourrait signifier que la méthode GC-SI est plus complète.

L'incertitude calculée pour GT, SFA, MUFA et PUFA, dans quatre échantillons différents, montre des valeurs en-dessous de 12% (tabl. 4).

Conclusions

La détermination de la graisse totale ainsi que de la composition des lipides dans différentes matières premières et des aliments pour animaux montre des résultats plus précis avec la méthode GC-IS qu'avec les méthodes GC-2E ou par extraction (uniquement MG), ce qui représente un avantage indéniable dans l'optimisation de l'aliment pour porc. Néanmoins, ces deux dernières méthodes peuvent donner des résultats corrects dans certains cas (échantillons composés majoritairement de triglycérides). La MG peut être avantageusement remplacée par GT déterminée par la méthode GC-IS. ■

Riassunto

Composizione di acidi grassi negli alimenti per animali – metodi di analisi

Il presente articolo illustra l'importanza del metodo analitico nella determinazione della composizione di acidi grassi negli alimenti per animali. In particolare nell'alimentazione dei suini in cui, in Svizzera, sono necessari per formulare una razione adatta a fornire una qualità ottimale di grasso nella carcassa del suino non solo il tenore in grasso ma anche il profilo di acidi grassi. Lo studio mostra che il metodo GC (cromatografia in fase gassosa) mediante transesterificazione *in situ* è più preciso e completo rispetto al metodo GC in due fasi (mediante estrazione dei corpi grassi, poi esterificazione) e al metodo empirico, mediante gravimetria, che consiste nell'estrazione dei composti solubili in un solvente dato.

Summary

Determination of fatty acid composition in feed – analytical methods

This paper illustrates the importance of the analytical method for the determination of fatty acid composition in feed. In Switzerland, not only the lipid content but also the fatty acids profile are necessary to formulate a ration that will produce an optimum quality of fat in the pig carcass. Results of this study showed that the fatty acid profile obtained by gas chromatography (GC) with *in situ* transesterification was more accurate and complete than that obtained by a GC method in two steps (fat extraction followed by esterification) or by a gravimetric empirical method which employed the extraction of soluble compounds in a given solvent.

Key words: FAME, fatty acid composition, GC-FID trans-esterification, total fat content.

Bibliographie

- Alves S. P., Cabrita A. R. J., Fonseca A. J. M. & Bessa R. J. B., 2008. Improved method for fatty acid analysis in herbage based on direct transesterification followed by solid-phase extraction. *J. of Chromatography A*. **1209**, 212–219.
- Alves S. P., Cabrita A. R. J., Fonseca A. J. M. & Bessa R. J. B., 2009. Effect of a Purification Step and the Type of Internal Standard Used on Fatty Acid Determination of Grass and Maize Silages. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 10793–10797.
- Banaś A., Dębski H., Banaś W., Heneen W. K., Dahlqvist A., Bafor M., Gummeson P.-O., Marttila S., Ekman Å., Carlsson A. S. & Stymne S., 2007. Lipids in grain tissues of oat (*Avena sativa*): differences in content, time of deposition, and fatty acid composition. *J. of Experimental Botany* **58** (10), 2463–2470.
- Carrapiso A. I. & García C., 2000. Development in Lipid Analysis: Some New Extraction Techniques and *in situ* Transesterification. *Lipids* **35** (11), 1167–1177.
- Christen P., 2014. Nouveaux critères d'appréciation de la qualité de la graisse des porcs. Accès: http://www.schweizerfleisch.ch/fileadmin/dokumente/downloads/Medienmitteilung/2014/20140305/Faktenblatt_f_20140224.pdf
- Christie W. W., 1993. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. *In: Advances in Lipid Methodology – Two* (Ed. W. W. Christie). The Oily Press LTD. Vol 4, 69–112.
- Doreau M., Chilliard Y., Bauchart D. & Michalet-Doreau B., 1991. Influence of different fat supplements on digestibility and ruminal digestion in cows. *Ann. Zootech.* **40**, 19–30.
- Eller F. J., 1999. Interference by methyl levulinate in determination of total fat in low-fat, high sugar products by gas chromatographic fatty acid methyl ester (GC-FAME) analysis. *J. Assoc. of Anal. Chem. Int.* **82**, 766–769.
- Hammond E. W., 2001. Lipid analysis – a 20th century success?. *J. Science & Food Agriculture* **82**, 5–11.
- Jenkins T. C., 2010. Technical note: Common analytical errors yielding inaccurate results during analysis of fatty acids in feed and digesta samples. *J. Dairy Sciences* **93**, 1170–1174.
- Murphy D. J. & Vance J., 1999. Mechanisms of lipid-body formation. *Trends in Biochemical Sciences (TiBS)* **24** – March, 109–115.
- Newman R. K. & Newman C. W., 2008. Lipids. *In: Barley for Food and Health* (Ed. J. Wiley & Sons) Technology & Engineering, 72–74.
- Palmquist D. L. & Jenkins T. C., 2003. Challenges with fats and fatty acid methods. *J. of Animal Science* **81**, 3250–3254.