

# UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques  
Département des Sciences Vétérinaires

## MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité: Sciences vétérinaires

Option : Physiologie de la gestation et de la lactation

Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait  
cru de vache

Par

**MEKLATI Fawzi Rostane**

Devant le jury composé de

R. ISSAADI	Professeur, Univ de Blida	Président
A. BAALIOUAMEUR	Professeur, U.S.T.H.B., Alger	Examineur
A. BERBER	Maître de Conférences, Univ. de Blida.	Examineur
D. GUETARNI	Professeur, Univ. de Blida.	Promoteur

Blida, 2010

## RESUME

La présente étude est une contribution à l'évaluation de la composition en acides gras contenus dans la matière grasse des sécrétions mammaires (colostrum et lait) de vaches.

Les résultats obtenus ont permis la caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) de 21 esters méthyliques d'acides gras, dont 9 à chaînes courtes (<16 atomes de carbone), 2 à chaînes moyennes (à 16 atomes de carbone) et 10 à chaînes longues (>16 atomes de carbone), d'une part et l'identification par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) de 17 esters méthyliques d'acides gras, dont 8 à chaînes courtes, 2 à chaînes moyennes et 7 à chaînes longues, d'autre part.

Dans le colostrum, l'analyse semi-quantitative a révélé des teneurs en acides gras à chaînes moyennes plus élevées que celles à chaînes longues (37,4% vs 35,57%), suivies dans cet ordre par celles des acides gras à chaînes courtes (20,19%). Cette situation pourrait être expliquée d'une part, par la grande richesse du colostrum en acide palmitique (C16:0) lorsque la vache est en balance énergétique négative et d'autre part, par la faible capacité de synthèse «*de novo*» dans les cellules de la glande mammaire en début de la lactation. Dans le colostrum, la faible proportion d'acides gras à chaînes courtes (excepté le C14:0) serait compensée par une teneur élevée en acide myristique (C14:0). Dans le lait, cet ordre apparaît inversé pour les acides gras à chaînes longues et pour ceux à chaînes moyennes (45% vs 26,64%). La richesse du lait en acides gras à chaînes longues (prédominance des acides stéarique et oléique) pourrait être expliquée par la nature de l'aliment concentré (tourteaux de soja) distribué par l'éleveur qui diminuerait les proportions en acides gras à chaînes courtes et moyennes, au profit de ceux à chaînes longues.

Actuellement, la composition en acides gras du lait constitue une préoccupation croissante aussi bien pour la filière agro-alimentaire que pour la santé humaine car les teneurs élevées de certains acides gras insaturés pourraient induire des problèmes d'oxydations des produits laitiers tandis que certains acides gras, tel que l'acide linoléique conjugué (ALC) semblent avoir des effets bénéfiques pour la santé humaine.

**Mots clés** : colostrum, lait, matière grasse, acide gras, lactation, alimentation.

## SUMMARY

The present study is a contribution to evaluate the composition of fatty acids in the fat content of cows' mammary secretions (colostrum and milk). The results allowed to characterize by gas chromatography coupled with the mass spectrometry (GC-MS) 21 fatty acids methyl esters, including 9 short-chain fatty acids (< 16 carbon atoms), 2 medium-chain fatty acids (with 16 carbon atoms) and 10 long-chain fatty acids (> 16 carbon atoms), on the one hand and to identify by gas chromatography equipped with a flame detector ionization (GC-FID) 17 fatty acids methyl esters, including 8 short-chain fatty acids, 2 medium-chain fatty acids and 7 long-chain fatty acids on the other hand.

In the colostrum, the semi-quantitative analysis revealed that medium-chain fatty acid contents were higher than those found in long-chains (37,4% vs 35,57%), followed in this order by the short-chain fatty acids (20,19%). This situation could be explained by the great abundance of the palmitic acid (C16:0) in the colostrum when the cow is in negative energy conditions, on the one hand and by the reduced synthesis «*de novo*» in the mammary gland cells at the beginning of lactation, on the other hand. The small proportion of short-chain fatty acids (except C14:0) in the colostrum would be compensated by the high percentage of myristic acid (C14:0). In milk, a reversed order appears for long- and medium-chain fatty acids (45% vs 26,64%). The richness of long-chain fatty acids (stearic and oleic acids) in milk could be explained by the nature of dietary concentrate (soybean oil cakes) distributed by the stockbreeder which would decrease the short- and medium-chain fatty acids proportions for the benefit of the long-chain ones. Nowadays, the composition of fatty acids in milk is an increasing preoccupation not only for the agro-alimentary field, where the high percentage of some unsaturated fatty acids could cause oxidation trouble of dairy produce, but for human health, where fatty acids such as Conjugated Linoleic Acids (CLA) seem to be beneficial to human health, as well.

**Key words:** colostrum, milk, fat content, fatty acid, lactation, dietary.

## ملخص

إنّ الدراسة الحالية تساهم في تقييم الأحماض الدسمة التي تدخل في تركيبة المادة الدسمة لحليب و لبأ البقرة

النتائج المحصّل عليها سمحت من جهة، بعزل 21 أحماض دسمة على شكل أستر متيل باستخدام الفصل الكروماتوغرافي الغازي المزدوج بمقياس الطيف الكتلي، من بينهم 9 ذات سلسلة قصيرة (أقل من 16 ذرة كربون)، 2 ذات سلسلة متوسطة (16 ذرة كربون) و 10 ذات سلسلة طويلة (أكثر من 16 ذرة كربون) ، من جهة أخرى تم تعيين 17 أحماض دسمة على شكل أسترمثيل باستخدام الفصل الكروماتوغرافي الغازي المركب بكاشف تأين اللهب، من بينهم 8 ذات سلسلة قصيرة 2 ذات سلسلة متوسطة و 7 ذات سلسلة طويلة.

تحليل اللبأ بيّن أنّ نسبة الأحماض الدسمة ذات السلسلة المتوسطة تفوق تلك التي سلسلتها طويلة (37.4% مقابل 35.7%)، متبوعة في هذا الترتيب بالأحماض الدسمة ذات السلسلة القصيرة (20.19%). هذه الحالة يمكن أن تُفسّر بالتركيبية الغنية لللبأ بحمض البالميتيك من جهة وبنقص إمكانية خلية الغدة الثديية على التركيب عند بداية الحلب لما تتواجد البقرة في ميزانية طاغوية سلبية من جهة أخرى

ضعف نسبة الأحماض الدسمة ذات السلسلة القصيرة (باستثناء حمض المريسنيك) في اللبأ تنزّن بالنسبة العالية لحمض المريسنيك. يظهر هذا الترتيب في الحليب بشكل منعكس بالنسبة للأحماض الدسمة ذات السلسلة الطويلة و ذات السلسلة المتوسطة (45% مقابل 26.64%). تواجد كميات عالية من الأحماض الدسمة ذات السلسلة الطويلة (بما في ذلك أحماض الستياريك و الأولييك)، يمكن أن يفسّر بطبيعة الغذاء المركز (فول الصويا منزوع الزيت جزئياً) الموزع من طرف الراعي الذي يؤدي في إنخفاض نسب الأحماض الدسمة ذات السلسلة القصيرة و المتوسطة لصالح ذات السلسلة الطويلة.

حاليا في حليب البقرة مكونات الأحماض الدسمة تشكل قلفا متزايدا سواء بالنسبة للصناعة الغذائية أو لفائدة صحة السكان لأنّ النسب العالية لبعض الأحماض الدسمة الغير مشبعة قد تسبب مشاكل في أكسدة الحليب و مشتقاته على عكس بعض الأحماض الدسمة كحمض اللينولييك المتقارن الذي يتمييز بفوائد إيجابية لصحة السكان.

الكلمات المفتاحية: لبأ، حليب، مواد دسمة، أحماض دسمة، حلب، غذاء مركز.

## REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde gratitude à mon promoteur **Monsieur D. GUETARNI**, Professeur à l'Université Saad DAHLEB de Blida, pour m'avoir permis de réaliser de ce mémoire, pour son aide et son soutien. Chaleureux remerciements.

J'adresse mes sincères remerciements:

### A **Monsieur R. ISSADI**

Professeur à l'Université Saad DAHLEB de Blida, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

### A **Monsieur A. BAALIOUAMEUR**

Professeur à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari BOUMEDIENE (USTHB) de Bab Ezzouar, pour nous avoir fait l'honneur de siéger à notre jury de mémoire. Profonds respects.

### A **Monsieur A.BERBER**

Maître de Conférences à l'Université Saad DAHLEB de Blida pour avoir accepté d'examiner notre travail et de faire partie de notre jury de mémoire. Remerciements respectueux.

A Messieurs **R. LADJI** et **K. ASSAMI** ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire d'Analyse en Chimie Organique (USTHB).

A **Madame C. TOUIL-BOUKOFFA** ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire (USTHB).

A **Monsieur R.BAKOUR** ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire de Génétique Moléculaire (USTHB).

A **Monsieur I.LAHIANI** pour m'avoir accueilli au sein de son exploitation d'élevage de bovins laitiers dans la région de Chaiba (W.Tipaza).

A tous mes amis (es), **Dalila, Imene, Assia, Kamelia, Souad, Aicha, Sofiane, Mohammed**, Pour leur disponibilité et pour tous les moments de joies ou de peines partagés. MERCI de tout cœur de m'avoir soutenue chacun à votre façon du début jusqu'à la fin.

A mes parents, pour m'avoir soutenu, encouragé et donné la force de persévérer durant toutes ces longues années. Je partage à présent ce moment de bonheur avec vous. Un grand MERCI à lui seul ne suffit pas, il faut dire que les mots n'expriment pas tout....

A mon frère et ma sœur, pour le précieux soutien et pour tous les bons moments passés ensemble....

A Nassim et Lila. Toute mon affection.

A mes nièces, que j'aime infiniment.

A mes chers cousins!

A mes grands-parents et mon oncle, je leurs dédie ce mémoire, j'aurais tellement aimé qu'ils soient encore là...

## TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

1. COMPOSITION ET STRUCTURE DE LA MATIERE GRASSE DES SECRETIONS MAMMAIRES	18
1.1. Définition du lait et du colostrum	18
1.2. Les composants majeurs des sécrétions mammaires	18
1.2.1. Le lait	18
1.2.2. Le colostrum	19
1.3. La matière grasse du lait	20
1.3.1. Définition	20
1.3.2. Structure de la matière grasse du lait	20
1.3.2.1 Triacylglycérides	22
1.3.2.2. Phospholipides et glycosphingolipides	24
1.3.2.2.1. Composition des phospholipides	24
1.3.2.3. Glycosphingolipides	25
1.3.2.3. Stérols	26
1.4. Les acides gras	27
1.4.1 Définition	27
1.4.2. Nomenclature des acides gras	27
1.4.2.1. Nomenclature normalisée de chimie organique	29
1.4.2.2. Appellation courante	29
1.4.2.3. Numérotation abrégée	29
1.4.3. Isomérisation des acides gras	32
1.4.3.1. Isomérisation géométrique et isomérisation positionnelle	32
1.4.4. Les différents types d'acides gras du lait	32



1.4.4.1 Les acides gras saturés	32
1.4.4.2. Les acides gras insaturés de configuration <i>cis</i>	33
1.4.4.3. Les acides gras insaturés de configuration <i>trans</i>	34
1.4.4.4. Exemples d'isomères d'acides gras mono-insaturés	35
1.4.4.5. Cas de l'isomérisation des acides gras poly-insaturés	36
1.5. Synthèse de la matière grasse du lait	37
1.5.1 Lipogénèse mammaire	37
1.5.1.1 Prélèvement et métabolisme des acides gras circulants	37
1.5.1.2 Synthèse mammaire des acides gras	38
1.5.1.3 Estérification des acides gras	41
1.6. Transformations des lipides dans le rumen	42
2. LES FACTEURS INFLUENCANT LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU LAIT	44
2.1. Introduction	44
2.2. La génétique	44
2.3. Stade de lactation	46
2.4. Les mammites	46
2.5. Effet des matières grasses provenant des régimes alimentaires	47
2.5.1. Effet des régimes alimentaires à taux faible de matière grasse	47
2.5.2. Effets des acides gras spécifiques	47
2.5.3. Régimes alimentaires pour des profils spécifiques en acides gras	48
2.5.4. Effet des régimes alimentaires s'appuyant sur les pâturages	50
2.6. Effet des saisons	51
2.7. Effet des températures ambiantes élevées	52
3. L'IMPACT DES ACIDES GRAS SUR LA SANTE HUMAINE	53
3.1 Acides gras du lait et cancer	53
3.1.1 Acide butyrique	53
3.1.2 Acide linoléique conjugué	54
3.2. Acides gras du lait et athérosclérose	54
3.2.1. Acides gras saturés	54
3.2.2. Acides gras mono-insaturés	55
3.2.3. Acides gras polyinsaturés	55

3.2.4. Acides gras trans	56
3.3. Acides gras du lait et thrombose	56
3.3.1. Acides gras saturés	57
3.3.2. Acides gras poly-insaturés	57
3.4. Acides gras du lait et pression artérielle	58
3.4.1. Acides gras saturés	58
3.4.2. Comparaison des Acides Gras Saturés par rapport aux Mono-Insaturés et aux Poly-Insaturés	58
4. PREPARATION DES ESTERS METHYLIQUES D'ACIDES GRAS (EMAG) POUR ANALYSE PAR CPG	59
4.1. Introduction	59
4.2. Estérification par catalyse acide et <i>trans</i> -estérification	59
4.2.1. Estérification par catalyse acide	59
4.2.2. <i>Trans</i> -estérification catalysée par les acides	60
4.2.3. Le méthanol en milieu acide chlorhydrique	61
4.2.4. Le méthanol en milieu acide sulfurique	63
4.2.5. Trifluorure de bore dans le méthanol	63
4.3. <i>Trans</i> -estérification catalysée par les bases	65
4.3.1. Catalyseurs méthylates de sodium et de potassium	65
4.3.1.1. Le diazométhane et les réactifs apparentés	66
4.4. Travaux réalisés par différents auteurs sur la préparation des EMAG provenant de la matière grasse de lait de vache	67
5. LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE	69
5.1. Introduction à la chromatographie	69
5.2. Le chromatographe	69
5.2.1. Processus chromatographique	70
5.2.2. Le gaz vecteur	71
5.2.3. Le Détecteur à Ionisation de flamme	72
5.2.3.1. Principe de fonctionnement	72
5.2.4. Les colonnes capillaires	73
5.2.4.1. La phase stationnaire	73
5.2.4.2. Les polyéthylène glycols	74

5.2.5. Injecteurs pour colonnes capillaires	75
5.2.5.1. Système d'injection avec division (splitter)	75
5.2.6. Détection par spectrométrie de masse (GC/MS)	76
5.2.6.1. Principales caractéristiques d'un appareil GC-MS compact	78
6. PARTIE EXPERIMENTALE	79
6.1. Matériel	79
6.1.1. Choix des animaux	79
6.1.2. Prélèvements	80
6.1.3. Conditionnement du lait	82
6.1.4. Acheminement	82
6.1.5. Réactifs et solvants	82
6.1.6. Appareillages	82
6.2. Méthode	83
6.2.1 Extraction de la matière grasse	83
6.2.2. <i>Trans</i> -esterification	87
6.2.3. Conditions chromatographiques	87
6.2.3.1. Appareillage	87
6.2.3.2. Principe de fonctionnement	89
6.2.4. Traitement des données	90
6.2.4.1. Paramétrage du logiciel ChemStation	90
6.2.4.1.1. Modèle de données	90
6.2.4.1.2. Description	91
6.2.4.2. Intégration	91
6.2.4.3. Identification des pics	92
6.2.4.3.1. Procédure d'identification des pics	92
6.2.4.4. Quantification	93
6.2.4.5. Calculs dans la quantification	93
6.2.5. Etapes d'exécution de la méthode d'exploitation des données	93
6.3. Résultats et discussion	94
6.3.1. Analyse des solutés injectés	94
6.3.1.1. Identification des pics chromatographiques par GC/FID	94
6.3.1.2. Identification des pics chromatographiques par GC /MS	104

6.3.1.2.1. Spectres de masse des pics chromatographiques identifiés par GC/MS	109
6.3.1.3. Résultats semi-quantitatifs des pics identifiés par GC/FID	110
CONCLUSION	122
RECOMMANDATIONS	123
REFERENCES	
APPENDICE	
ANNEXES	

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1.	Composition de la matière grasse du lait	21
Figure 1.2.	Formation d'un triglycéride	22
Figure 1.3.	Distribution des différents acides gras sur le glycérol	23
Figure 1.4.	Terminologie de l'acide octadécadien 9c, 12c oïque	30
Figure 1.5.	Isomérisation géométrique <i>trans</i> (à gauche) et <i>cis</i> (à droite)	32
Figure 1.6.	Isomères géométriques et positionnels de l'acide oléique	35
Figure 1.7.	Isomères géométriques de l'acide linoléique 18:2 9c, 12c	36
Figure 1.8.	Isomères géométriques et positionnels de l'acide linoléique 18:2 9c, 12c	36
Figure 1.9.	Synthèse des acides gras dans la cellule mammaire	40
Figure 1.10.	Synthèse et sécrétion des lipides du lait chez les ruminants	41
Figure 1.11.	Principales voies de synthèse des acides gras <i>trans</i> et de l'acide linoléique conjugué du lait	43
Figure 4.1.	Estérification des acides gras catalysée par les acides	60
Figure 4.2.	<i>Trans</i> -estérification des lipides catalysée par les acides	60
Figure 4.3.	Préparation de l'acide chlorhydrique dans le méthanol via le chlorure d'acétyle	62
Figure 4.4.	<i>Trans</i> -estérification des lipides par catalyse acide au Trifluorure de Bore dans le Méthanol	64
Figure 4.5.	<i>Trans</i> -estérification des lipides catalysée par des bases	65
Figure 4.6.	Préparation des esters méthyliques par réaction du diazométhane sur un acide gras	66
Figure 4.7.	Préparation du diazométhane à partir du N-méthyl, N-nitroso-p-toluène sulfonamide (12)	67
Figure 5.1.	Description schématique d'un chromatographe en phase gazeuse	70
Figure 5.2.	Représentation schématique d'un injecteur-diviseur	76
Figure 5.3.	Représentation schématique du couplage GC-MS	77
Figure 6.1.	Protocole de prélèvement des échantillons selon une courbe de lactation standard	81

Figure 6.2.	Etape de la centrifugation	83
Figure 6.3.	Etape du prélèvement de la couche de matière grasse	84
Figure 6.4.	Ajout des 2 solvants organiques (Hexane et Isopropanol)	84
Figure 6.5.	Préparation d'une solution de Sulfate de sodium (échantillon au stade de la lactation à J <sub>172</sub> )	85
Figure 6.6.	Séparation en 2 couches, la couche supérieur ou phase organique contenant l'Hexane et les lipides	85
Figure 6.7.	Transfert de la couche supérieure d'Hexane dans 1g de Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> anhydre	86
Figure 6.8.	Evaporation de l'Hexane sous courant d'azote	87
Figure 6.9.	Chromatographe en phase gazeuse et Spectromètre de masse vue de face	88
Figure 6.10.	Chromatographe en phase gazeuse en vue dorsale	88
Figure 6.11.	Identification par GC/FID de 37 EMAG, étalons commerciaux (Supelco, Référence N° : 47885-U mixture de 37 EMAG)	95
Figure 6.12.	Identification des 37 EMAG à partir d'un étalon standard du commerce sur une colonne de type PEG	96
Figure 6.13.	Identification par GC/FID au moyen d'une solution étalon, des acides gras à chaînes courtes provenant d'un échantillon issu de la sécrétion mammaire à J <sub>299</sub> d'un quartier ArD	99
Figure 6.14.	Identification par GC/FID de 17 EMAG d'un échantillon issu du colostrum d'un quartier ArD à J <sub>0</sub>	100
Figure 6.15.	Chromatogramme en GC/FID de 17 EMAG provenant d'un lait de quartier PrD à J <sub>69</sub>	102
Figure 6.16.	Identification par couplage GC/MS de 21 EMAG issus d'un colostrum à J <sub>0</sub>	105
Figure 6.17.	Identification par couplage GC/MS de 18 EMAG issus d'un lait à J <sub>204</sub>	106
Figure 6.18.	Spectre de masse du butanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J <sub>0</sub>	109
Figure 6.39.	Histogramme représentant les pourcentages en acides gras selon la longueur de la chaîne carbonée chez 5 vaches laitières (J <sub>0</sub> , J <sub>69</sub> , J <sub>151</sub> , J <sub>238</sub> , J <sub>299</sub> ).	111

Figure 6.40. Evolution des fractions en acides gras par extrapolation par rapport à la courbe théorique de la lactation (305j)	112
Figure 6.41. Moyenne des pourcentages en acides gras des 4 quartiers de la vache laitière à J <sub>0</sub>	113
Figure 6.42. Moyenne des pourcentages en acides gras des 4 quartiers de la vache laitière à J <sub>69</sub>	113
Figure 6.43. Moyenne des pourcentages en acides gras des 4 quartiers de la vache laitière à J <sub>151</sub>	114
Figure 6.44. Moyenne des pourcentages en acides gras des 4 quartiers de la vache laitière à J <sub>238</sub>	114
Figure 6.45. Moyenne des pourcentages en acides gras des 4 quartiers de la vache laitière à J <sub>299</sub>	115
Tableau 1.1. Compositions du colostrum et du lait exprimées en g/litre	20
Tableau 1.2. Profil en acides gras (mol %) des triacylglycérols d'un lait de vache	23
Tableau 1.3. Composition des phospholipides du lait de vaches durant la lactation	25
Tableau 1.4. Composition en phospholipides et sphingolipides du lait de vache	26
Tableau 1.5. Composition lipidique du lait (g/100g de lipides) au cours de la lactation	27
Tableau 1.6. Composition en acides gras de la matière grasse laitière bovine telle qu'identifiée jusqu'à Février 1991	28
Tableau 1.7. Principaux acides gras alimentaires	31
Tableau 1.8. Concentration en acide <i>trans</i> -octadécénoïque dans la matière grasse laitière bovine	35
Tableau 5.1. Spécifications techniques de GC/MS compacts disponibles en 1994	78
Tableau 6.1. Protocole de prélèvement des échantillons de sécrétions lactées (colostrum et lait)	80
Tableau 6.2. Ordre d'élution et t <sub>R</sub> de 37 EMAG, étalons commerciaux en GC/FID	97

Tableau 6.3. Ordre d'élution et $t_R$ en GC/FID de 17 EMAG provenant d'une sécrétion colostrale d'un quartier ArD à J <sub>0</sub> .	101
Tableau 6.4. Identification, ordre d'élution, masse moléculaire et $t_R$ de 17 EMAG d'un échantillon issu d'une sécrétion lactée d'un quartier PrD à J <sub>69</sub> .	103
Tableau 6.5. Identification par couplage GC/MS des EMAG de l'ensemble des sécrétions lactées. Nomenclature et masses moléculaires	107
Tableau 6.6: Moyennes des teneurs en AG des sécrétions lactées à différents jours de la lactation (J <sub>0</sub> , J <sub>69</sub> , J <sub>151</sub> , J <sub>238</sub> , J <sub>299</sub> ).	110



## INTRODUCTION

La sécrétion mammaire récoltée durant la première semaine du *post-partum* communément appelée «colostrum»; fait partie de l'alimentation du veau nouveau-né grâce à sa richesse en anticorps lui conférant une immunité, mais aussi par son abondance en matières grasses utilisées comme facteurs de croissance. Le lait cru de vache qui constitue le produit de la sécrétion des glandes mammaires destinée à l'alimentation humaine, est un produit très complexe de par sa composition physico-chimique et biochimique, joue un rôle important dans la qualité nutritionnelle, diététique et organoleptique des produits laitiers.

Le lait de vache contient naturellement entre 3,6 et 4,5% de matière grasse. Celle-ci est composée majoritairement de triglycérides (près de 98%) qui sont constitués par plus de 400 acides gras, ayant de 2 à 28 atomes de carbones, à chaîne courtes, moyennes ou longues; saturés ou insaturés; mono ou polyinsaturés; de configuration *cis* ou *trans* [28, 32]. Actuellement, la composition en acides gras du lait constitue une préoccupation croissante aussi bien pour la filière agro-alimentaire, que pour la santé humaine, car augmenter la teneur de certains acides gras insaturés pourrait induire des problèmes d'oxydations des produits laitiers, tandis que dans un autre coté des acides gras, tel que l'acide linoléique conjugué (ALC) semblent avoir des effets bénéfiques pour la santé humaine. Ceci a été démontré sur des modèles animaux, avec pour conséquence une réduction de l'incidence du diabète, de l'obésité, de l'athérosclérose, ainsi qu'un effet protecteur contre les maladies cardio-vasculaires et certains types de cancers [194].

En effet, dans le choix de ses aliments, le consommateur privilégie de nos jours de plus en plus la sécurité et la santé par rapport aux notions de prix, ce qui justifie une étude des constituants de la matière grasse du lait, notamment sa composition en acides gras.

En Algérie, à ce jour peu de travaux ont été menés sur ce thème. La présente étude est une contribution à l'étude de la composition en acides gras issus de sécrétions mammaires de vaches avec comme objectifs :

- 1) La caractérisation et l'identification des acides gras (sous forme d'esters méthyliques) de sécrétions mammaires de vaches.
- 2) L'estimation de leurs teneurs.

# CHAPITRE 1

## COMPOSITION ET STRUCTURE

### DE LA MATIERE GRASSE DES SECRETIONS MAMMAIRES

#### 1.1. Définition du lait et du colostrum :

Le Congrès international de la répression des fraudes a fixé en 1909 la définition suivante du lait destiné à la consommation humaine : «Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum». Cette définition a été complétée en France par le décret du 25 mars 1924 qui précise dans son article 2 : «Ne peut être considéré comme lait propre à la consommation humaine : le lait provenant d'une traite opérée moins de 7j après le part, et d'une manière générale, le lait contenant du colostrum». La définition d'un lait «contenant du colostrum» est problématique, compte tenu de la difficulté qu'il y a déjà à définir le colostrum [1].

Selon Rochaix et Tapournoux [2]: «Tout ce qu'on peut dire c'est que le colostrum précède le lait et sa composition après le part tend vers celle du lait qui est finalement sécrété, entre le troisième et le quatorzième jour après le part».

En 1983, La Fédération internationale de laiterie, définit le lait comme : «Le produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction».

#### 1.2. Les composants majeurs des sécrétions mammaires :

##### 1.2.1. Le lait :

Le lait proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséuse, du lactose, des sels minéraux, et des traces d'éléments divers [3].

Les principaux constituants du lait par ordre décroissant sont [4] :

- l'eau, très majoritaire.
- glucides, principalement représentés par le lactose.
- lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- protéines : caséines rassemblés en micelles, albumines et globulines solubles.
- sels et minéraux à l'état ionique et moléculaire.
- éléments à l'état de traces notamment les enzymes, vitamines et oligoéléments.

### 1.2.2. Le colostrum :

Pour le colostrum, outre sa richesse en cellules polynucléaires; il se caractérise également par des concentrations très élevées en protéines et, plus particulièrement, en protéines solubles, mais aussi par sa richesse en matières grasses. On trouve par ordre décroissant les éléments suivants [5]:

- L'eau.
- Matières azotées.
- Matières grasses.
- Lactose.
- Sels minéraux.
- Eléments à l'état de traces.

Le Tableau 1.1 ci-dessous fait apparaître les teneurs moyennes des constituants du colostrum et du lait de vache [6].

Tableau 1.1 : Compositions du colostrum et du lait exprimées en g/litre.

Constituants des sécrétions lactées	Première traite	Après 10j
Matières grasses	50	39
Matières azotées	160	35
- Caséines	30	27
- Albumines	40	4,5
- Globulines	80	0,7
Lactose	30	49
Sels minéraux	12	8

### 1.3. La matière grasse du lait :

#### 1.3.1. Définition :

On range sous le terme de matières grasses des substances aux propriétés et aux structures chimiques parfois très éloignées, mais possédant les caractéristiques communes suivantes :

- ❖ la plupart sont insolubles dans l'eau.
- ❖ toutes se dissolvent dans les solvants organiques (éther, benzène).
- ❖ leurs masse volumique est inférieure à celle de l'eau (# 0,92 Kg/l).

#### 1.3.2. Structure de la matière grasse du lait :

Le lait de vache contient naturellement entre 3,6 et 4,5% de MG. C'est le second constituant de la matière sèche du lait après le lactose [7]. La composition et la structure de la MG du lait de vache ont été rapportées par Morrison [8], Christie [9, 10], Jensen et Clark [11], Jensen et al [12]. Aussi de récentes recherches ont été entreprises par Jensen en 2002 [13]. De même des chapitres d'ouvrages (Vanhootte et Huyghebeart [14], Zegarska [15]), et plus récemment un livre (MacGibbon et Taylor [16]) sur la composition chimique du lait ont été consacrés à ce sujet.

Les MG du lait se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène

Les MG du lait ont la forme de petits globules sphériques invisibles à l'œil nu. La dimension des globules varie de 0,1 à 20  $\mu\text{m}$  (1  $\mu\text{m}$ = 0,001 mm) selon la race (les globules sont plus petits chez la race Holstein que chez les races Ayrshire et Jersey) [17].

Le diamètre moyen d'un globule gras étant de 3 à 4  $\mu\text{m}$ , on estime qu'il y a environ trois à quatre milliards de globules gras par millilitre de lait.

La MG du lait se compose de triglycérides (les composants dominants), de diglycérides et monoglycérides, d'acides gras, de stérols, de caroténoïdes (la couleur jaune de la MG), de vitamines (A, D, E et K). La Figure 1.1 présente un GG du lait.

La membrane est constituée de phospholipides qui sont hydrophiles et hydrophobes (et qui jouent le rôle d'émulsifiants dans la stabilité du GG); de lipoprotéines, cérébrosides, protéines, d'acides nucléiques, enzymes et oligo-éléments (métaux) et d'eau [4, 17].

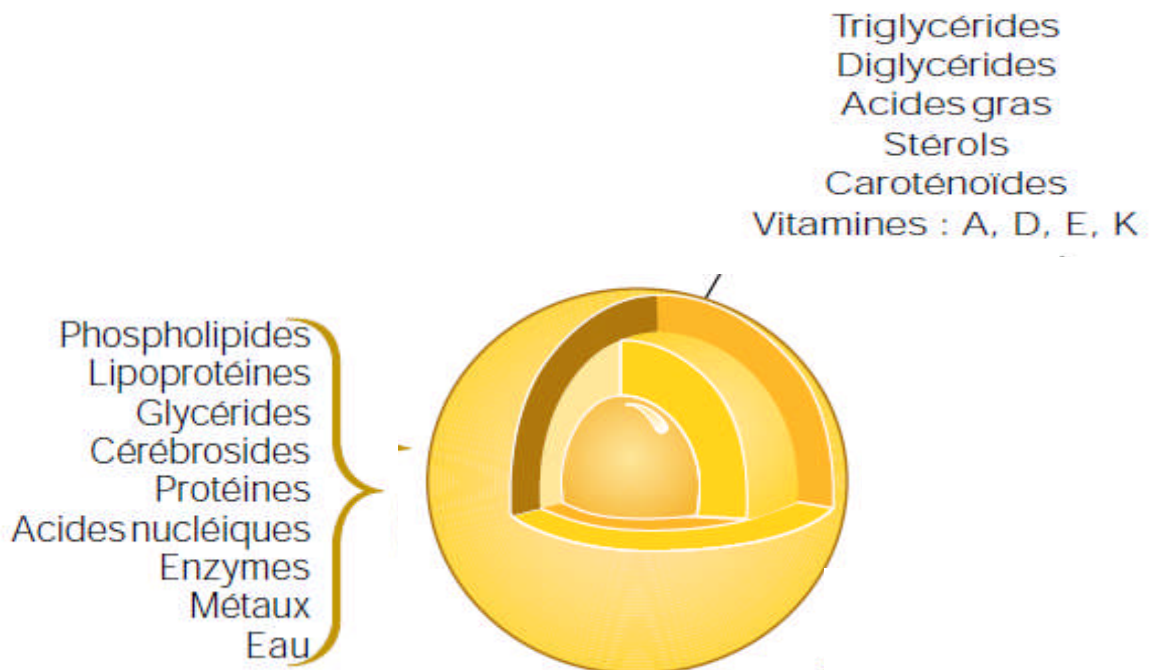


Figure.1.1: Composition de la matière grasse du lait. Taille moyenne: 3 à 4 $\mu\text{m}$  [4].

### 1.3.2.1 Triacylglycérides :

Les triglycérides constituent près de 98% de la MG du lait. Ce sont des esters de glycérol, c'est-à-dire qu'ils sont formés par condensation de trois molécules d'AG sur une molécule de glycérol, par perte de trois molécules d'eau. La Figure 1.2 montre la réaction générale de la formation d'un triglycéride. On peut bien voir la formation du lien ester entre la fonction acide carboxylique de chaque AG.

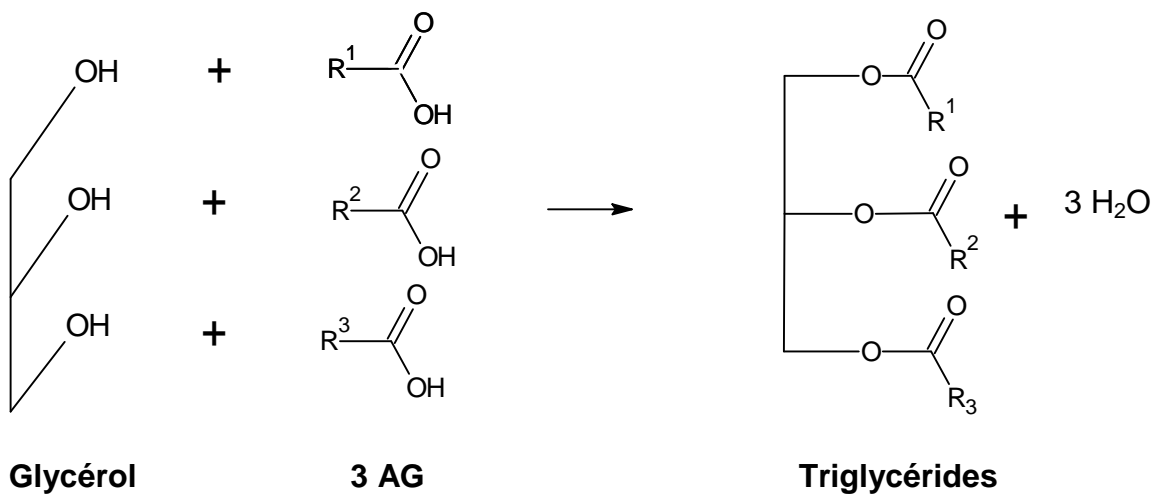


Figure 1.2 : Formation d'un triglycéride [16].

Les triglycérides sont dit «purs» si les trois AG sont identiques et «mixtes» si au moins un des AG est différent. La majorité des triglycérides présents dans le lait sont mixtes; le nombre de combinaisons possibles des AG dans la molécule de triglycérides est considérable, ce qui fait de la MG du lait l'une des graisses les plus complexes que l'on connaisse.

L'action des lipases du lait peut provoquer une hydrolyse partielle ; le glycérol se retrouve alors partiellement estérifié. On l'appelle : «diglycéride» si on est en présence de deux esters d'AG et «monoglycéride» s'il y a un seul ester d'AG.

Puisque la partie glycérol est identique dans tous les triglycérides, ce sont les AG qui leurs confèrent leurs différentes propriétés physico-chimiques.

Celles-ci variant suivant la composition en AG et suivant position de ces derniers sur la molécule [4, 8] comme représenté schématiquement sur la Figure 1.3.

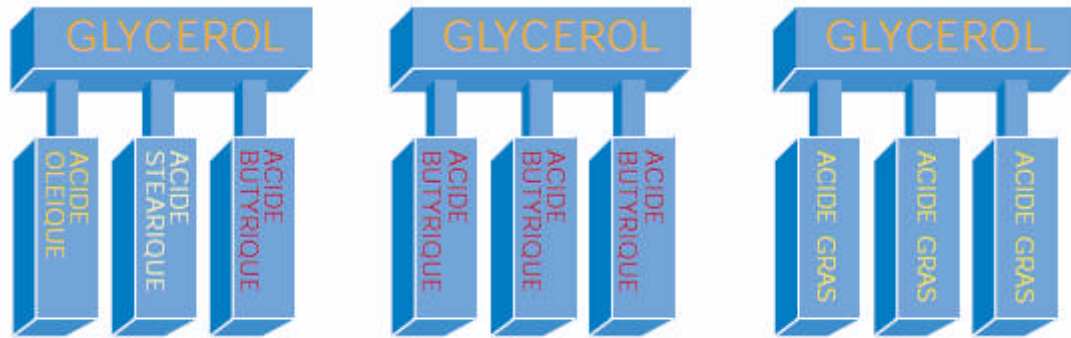


Figure 1.3 : Distribution des différents acides gras sur le glycérol.

Christie et Clapperton [18] ont décrit les principaux AG obtenus par analyse des triacylglycérols des laits de vaches, ainsi l'acides palmitique est peu présent en position *sn3* alors que les acides gras courts (4:0, 6:0) sont préférentiellement estérifiés en cette position comme cela est démontré dans le tableau 1.2 [18].

Tableau 1.2 : Profil en acides gras (mol %) des triacylglycérols d'un lait de vache.

AG	Dénomination	TAG	<i>sn1</i>	<i>Sn2</i>	<i>sn3</i>
<b>Saturés</b>					
4:0	Butyrique	11,8	-	-	35,4
6:0	Caproïque	4,6	-	0,9	12,9
8:0	Caprylique	1,9	1,4	0,7	3,6
10:0	Caprique	3,7	1,9	3,0	6,2
12:0	Laurique	3,9	4,9	6,2	0,6
14:0	Myristique	11,2	9,7	17,5	6,4
15:0	Pentadécanoïque	2,1	2,0	2,9	1,4
16:0	Palmitique	23,9	34,0	32,3	5,4
17:0	Heptadécanoïque	0,8	1,3	1,0	0,1
18:0	Stéarique	7,0	10,3	9,5	1,2
<b>Insaturés</b>					
16:1	Palmitoléique	2,6	2,8	3,6	1,4
18:1	Oléique	24,0	30,0	18,9	23,1
18:2	Linoléique	2,5	1,7	3,5	2,3

Kuksis et *al.* ont classé les TAG du lait en 3 familles [19]:



- 1) La 1<sup>ère</sup> comprend ceux comportant de 48 à 54 atomes de carbones, avec en position *sn1* et *sn2* les 18:0, 18:1 et 18:2; la position *sn3* est acylée par un AG à au moins 12 carbones.
- 2) La 2<sup>nde</sup> comprend ceux comportant de 36 à 46 atomes de carbones, c'est-à-dire comportant les mêmes AG sur les positions *sn1* et *sn2* et un AG de type 4:0, 6:0 ou 8:0 en position *sn3*.
- 3) La 3<sup>ème</sup> de 26 à 34 carbones est constituée de TAG contenant des AGCM en positions *sn1* et *sn2*, et des AG courts ou moyens en positions *sn3*.

### 1.3.2.2. Phospholipides et glycosphingolipides :

#### 1.3.2.2.1. Composition des phospholipides :

Classés comme lipides complexes, les phospholipides sont les constituants mineurs de la MG du lait (1% des lipides totaux). Ils se distinguent par la présence de phosphore dans leurs structures. Ils contiennent du glycérol ou de la sphingosine relié à un ou deux AG et à un groupement phosphate auquel est rattaché un groupement azoté qui peut être la choline, l'éthanolamine ou la sérine (un acide aminé).

Dans le lait on distingue trois types de phospholipides: les lécithines, les céphalines et les sphingomyélines. Les deux plus importants sont les lécithines et les céphalines, qui se composent de glycérol estérifié par deux AG et par l'acide phosphorique auquel se rattache un groupement azoté.

Pour les lécithines, le groupement azoté est la choline; chez les céphalines il s'agit de l'éthanolamine ou de la sérine.

D'après Bitman et Wood, les phospholipides se subdivisent en 5 grandes sous classes contenant chacune de 25 à 30 types d'AG [20]:

- 1) sphingomyeline.
- 2) phosphatidylcholine.
- 3) phosphatidylserine.
- 4) phosphatidylinositol.
- 5) phosphatidyléthanolamine.

Bitman et Wood [20] ont notés que les teneurs en phospholipides varient peu au cours des 42 premiers jours de la lactation (de 0,7 à 1,1%).

Une diminution de cette teneur a été décrite à 180 jours de la lactation comme cela est montré dans le tableau 1.3, où l'on observe une augmentation importante de la teneur en phosphatidylinositol (+187%) compensée par une chute de la teneur en phosphatidyléthanolamine (-36%) et en phosphatidylsérine (-77%).

Tableau 1.3 : Composition des phospholipides du lait de vaches durant la lactation.

Classe des phospholipides	Stades de lactation (mg/l)			
	3	7	42	180
Sphingomyéline	28,7	34,1	28,7	31,4
Phosphatidylcholine	28,0	25,1	26,4	35,1
Phosphatidylsérine	8,1	8,4	8,5	1,9
Phosphatidylinositol	4,1	4,6	5,2	11,8
Phosphatidyléthanolamine	31,0	27,8	31,1	19,8

#### 1.3.2.3. Glycosphingolipides :

Ils peuvent être divisés en glycolipides neutres et gangliosides. Hladik et Michalec [21], ont décrit la fraction «glycolipides neutres» comme représentant 6% des phospholipides totaux, soit environ 20 à 24 mg/L de lait.

Les principaux constituants de cette fraction sont les glucosylcéramides et lactocéramides [22], qui représentent respectivement 35% et 65% du total [23].

On trouve également de petites quantités de globotriacylcéramides ou globoside [24].

On trouve dans les gangliosides bovins l'acide N-acétylneuraminique et l'acide N-glycolylneuraminique [25]. Les variations de la teneur en gangliosides au cours de la lactation ont été rapportées par Puente et al. [26]. Le colostrum contient 7,5mg d'acide N-acétylneuraminique par litre. Cette teneur diminue au cours de la lactation. Elle n'est plus que de 1,4mg/L dans le lait mature (>30jours).

Jensen et Newberg ont rapporté la composition en phospholipides et en sphingolipides du lait de vache (Cf. Tableau 1.4).

Tableau 1.4 : Composition en phospholipides et sphingolipides du lait de vache [12].

Phospholipides et sphingolipides	Mol %
Phosphatidylcholine	26.4
Phosphatidyléthanolamine	31.1
Phosphatidylsérine	5.5
Phosphatidylinositol	5.2
Sphingomyéline	28.7
Lysophosphatidylcholine	Trace
Lysophosphatidyléthanolamine	Trace
Total choline phospholipides	55.1
Plasmalogènes	3
Diphosphatidylglycérol	Trace
Céramides	Trace
Cerebrosides (glycolipides neutres)	Trace
Gangliosides	11 [27]

#### 1.3.2.3. Stérols :

Le lait contient 10 à 20mg/dL de cholestérol ou 308 à 606mg/100g de MG dans un lait contenant 3,3% de MG La quantité est positivement corrélée avec la teneur en MG des produits laitiers.

Le cholestérol est le constituant majeur du stérol; à raison de 95% du total, aussi il se trouve essentiellement dans la MFGM [12]

Bitman et Wood ont donné la composition du lait au cours de la lactation aux jours J<sub>3</sub>, J<sub>7</sub> et J<sub>42</sub> comme mentionné dans le Tableau 1.5.

On note une diminution régulière du cholestérol au fur et à mesure de l'avancement de la lactation.

Tableau 1.5 : Composition lipidique du lait (g/100g de lipides) au cours de la lactation [20].

	Stade de lactation (jours)		
	3	7	42
Acides gras libres	0,26	0,19	0,28
Cholestérol	0,53	0,41	0,46
Diacylglycérols	1,01	1,16	2,25
Esters de cholestérol	0,05	0,03	0,02
Monoacylglycérols	0,06	0,06	0,08
Phospholipides	0,72	1,06	1,11
Triacylglycérols	97,35	97,11	95,80

#### 1.4. Les acides gras:

La MG du lait, spécialement la MG des ruminants contient un large éventail d'AG. Les recherches ont permis de mettre à jour approximativement 400 AG dans la MG du lait par l'utilisation combinée des techniques de chromatographie et de spectroscopie.

##### 1.4.1 Définition :

Ce sont des acides organiques monocarboxyliques à chaîne hydrocarbonée constituée de quatre à environ 30 atomes de carbones. Leurs molécules sont formées d'une chaîne hydrophobe et d'un groupement acide hydrophile plus ou moins dissocié suivant le pH du milieu [6].

##### 1.4.2. Nomenclature des acides gras :

La MG laitière est composée majoritairement de TAG constitués de plus de 400 AG différents, de C2 à C28, pairs ou impairs, saturés (AGS), mono insaturés (AGI) ou poly insaturés (AGPI), *cis* ou *trans*, linéaire ou ramifiés, cétoniques ou hydroxylés [28, 29, 30].

Le Tableau 1.6 regroupe 400 AG de lait de vache positivement identifiés jusqu'à Février 1991 [11, 31, 32].

Tableau 1.6 : Composition en acides gras de la matière grasse laitière bovine telle qu'identifiée jusqu'à Février 1991 [11, 31, 32].

Type	Nombre	Identité des AG
Saturés		
Normaux	27	C <sub>2</sub> -C <sub>28</sub>
Monobranchés	39	C <sub>11</sub> -C <sub>24</sub> ; C <sub>13</sub> -C <sub>19</sub> ; trois ou plusieurs isomères de position
Multibranchés	16	C <sub>16</sub> -C <sub>28</sub>
Monoènes		
<i>cis</i>	61	C <sub>10</sub> -C <sub>26</sub> , exception pour C <sub>11:1</sub> isomères de position pour C <sub>12:1</sub> , C <sub>14:1</sub> , C <sub>16:1</sub> , C <sub>18:1</sub> et C <sub>23:1</sub> , C <sub>25:1</sub>
<i>trans</i>	49	C <sub>12</sub> -C <sub>14</sub> , C <sub>16</sub> -C <sub>24</sub> ; isomères de position du C <sub>14:1</sub> , C <sub>16:1</sub> - C <sub>18:1</sub> et C <sub>23:1</sub> -C <sub>25:1</sub>
Diènes	45	C <sub>14</sub> -C <sub>26</sub> : <i>cis</i> , <i>cis</i> ; <i>cis</i> , <i>trans</i> ; ou <i>trans</i> , <i>cis</i> et <i>trans</i> , <i>trans</i> , isomères de géométrie, non conjugués et conjugués, et isomères de position.
Polyènes		
Tri –	10	C <sub>18</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>22</sub> ; isomères de position / géométrie conjugués et isomères non conjugués C <sub>18</sub> , C <sub>20</sub> , C <sub>22</sub>
Tetra-	5	
Penta-	2	Isomères de position C <sub>20</sub> , C <sub>22</sub>
Hexa-	1	C <sub>22</sub>
Céto (oxo)		
Saturés	38	C <sub>10</sub> , C <sub>12</sub> , C <sub>14</sub> , C <sub>15</sub> -C <sub>20</sub> , C <sub>22</sub> , C <sub>24</sub> ; isomères de position
Insaturés	21	C <sub>14</sub> , C <sub>16</sub> , C <sub>18</sub> ; isomères de position du carbonyle et des doubles liaisons
Hydroxy		
position 2-	16	C <sub>14:0</sub> , C <sub>16:0</sub> à C <sub>26:0</sub> ; C <sub>16:1</sub> , C <sub>18:1</sub> , C <sub>21:1</sub> , C <sub>24:1</sub> , C <sub>25:1</sub>
position 4- et 5-	9	C <sub>10:0</sub> à C <sub>16:0</sub> , C <sub>14:Δ-6</sub> et C <sub>12:1-Δ9</sub>
Autres positions	60	
Cycliques		
Hexyl	1	C <sub>11</sub> ; cyclohexyl terminal
Total	400	

Les AG sont communément exprimés par leurs nomenclatures triviales, (exemple de l'acide Linoléique); bien que leurs structures exactes soient données par leur nomenclature systématique (acide *cis*-9, *cis*-12 octadecadienoic) ainsi que par abréviation 18:2Δ9c, 12c [33, 34]. Il existe plusieurs manières de désigner un AG [35] (Cf., Figure 1.4 et Tableau 1.7).

#### 1.4.2.1. Nomenclature normalisée de chimie organique :

Les AG sont désignés à partir du radical alkyle correspondant (nombre d'atomes de carbone en terminologie grecque); la structure de la chaîne carbonée (nature des liaisons, nombre, position et configuration des doubles et triples liaisons s'il y a lieu) et enfin la nature de la fonction (acide).

Eventuellement, un substituant ou une fonction secondaire est signalé avant le nom du radical alkyle par le nom du substituant ou de la fonction secondaire avec indication du rang de l'atome carbone porteur [36].

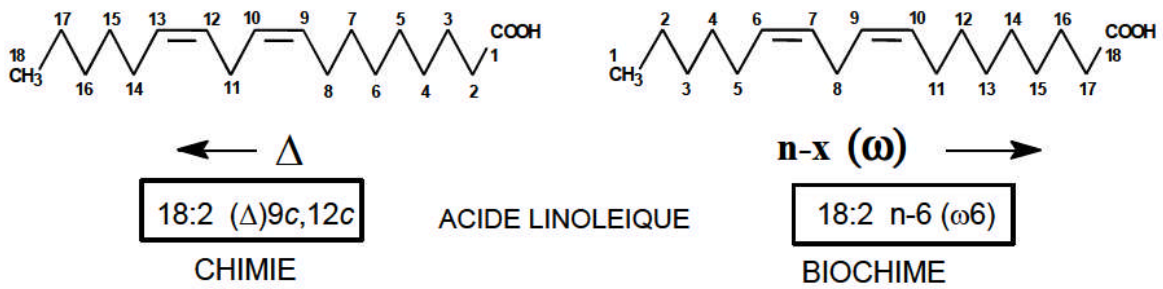
Ainsi l'acide octadécadiène 9 *cis*, 12 *cis* oïque est un acide (terminaison «oïque») à 18 atomes de carbone (octadéca), à 2 (di) doubles liaisons (ène) positionnées sur les carbones 9 et 12 en comptant à partir de la fonction carboxylique (acide), de configurations géométriques *cis* [37].

#### 1.4.2.2. Appellation courante :

Elle désigne les principaux AG communs selon des critères plus «affectifs» (produit dans lequel l'AG a été découvert ou extrait ou identifié pour la 1<sup>ère</sup> fois, produit où l'AG se trouve en grande quantité, produit pour lequel l'AG est caractéristique). L'acide octadécadiène 9*cis*, 12*cis* oïque est couramment appelé acide linoléïque.

#### 1.4.2.3. Numérotation abrégée :

Reprenant la nomenclature normalisée, celle-ci désigne un acide gras par son nombre de carbone, le nombre de double liaisons et la position et la géométrie de ces liaisons. L'acide octadécadiène 9*cis*, 12*cis* oïque ou acide linoléïque devient le 18:2  $\Delta$ 9*cis*,  $\Delta$ 12*cis* ou plus souvent 18:2 9*c*, 12*c* (Cf., Figure 1.4).

ACIDE OCTADECADIEN 9*c*,12*c* OÏQUEFigure1.4 : Terminologie de l'acide octadécadien 9*c*, 12*c* oïque.

Pour mettre l'accent sur la fonction physiologique de certains AG, les biochimistes et nutritionnistes ont introduit une variante de cette numérotation abrégée, qui consiste à numéroter les atomes de carbone à partir du méthyle terminal et non plus du carboxyle. L'acide linoléique devient alors le 18:2 n-6 (n étant le nombre de carbone et 6 la position portant la première insaturation comptée à partir du méthyle terminal) [37]. On trouve encore parfois l'ancienne nomenclature utilisant le «ω» : l'acide linoléique était abrégé 18:2 ω6. Cette numérotation fait ressortir la notion de «famille» d'AG n-6 (ω6) et n-3 (ω3), découlant respectivement de l'acide linoléique et de l'acide linoléique (ou acide octadécatrien 9*cis*, 12*cis*, 15 *cis* oïque, abrégé en 18:3 9*c*, 12*c*, 15*c* ou 18:3 n-3 (ω3).

Tableau 1.7 : Principaux acides gras alimentaires [35].

Nomenclature Normalisée	Nomenclature Triviale	Nomenclature Abrégée	
		Chimie	Physiologie
<b>SATURES</b>			
butanoïque	butyrique	4:0	
hexanoïque	caproïque	6:0	
octanoïque	caprylique	8:0	
décanoïque	caprique	10:0	
dodécanoïque	laurique	12:0	
tétradécanoïque	myristique	14:0	
pentadécanoïque	pentadécylique	15:0	
hexadécanoïque	palmitique	16:0	
heptadécanoïque	margarique	17:0	
octadécanoïque	stéarique	18:0	
eïcosanoïque	arachidique	20:0	
docosanoïque	béhénique	22:0	
tétracosanoïque	lignocérique	24:0	
hexacosanoïque	cérotique	26:0	
<b>MONO-INSATURES</b>			
dodécèn 9c oïque	laurolique	12:1 $\Delta$ 9c	n-3 ( $\omega$ 3)
tétradécèn 9c oïque	myristoléique	14:1 $\Delta$ 9c	-
hexadécèn 9c oïque	palmitoléique	16:1 $\Delta$ 9c	n-7
octadécèn 9c oïque	oléique	18:1 $\Delta$ 9c	n-9 ( $\omega$ 9)
octadécèn 9t oïque	élaïdique	18:1 $\Delta$ 9t	n-9t
octadécèn 11t oïque	vaccénique	18:1 $\Delta$ 11t	-
eïcosèn 9c oïque	gadoléique	20:1 $\Delta$ 9c	n-11
docosèn 9c oïque	cétoléique	22:1 $\Delta$ 9c	-
docosèn 13c oïque	érucique	22:1 $\Delta$ 13c	n-9 ( $\omega$ 9)
<b>POLY-INSATURES</b>			
octadécadièn 9c, 12c oïque	linoléique	18:2 $\Delta$ 9c, 12c	n-6 ( $\omega$ 6)
octadécadièn 9c, 11t oïque	ruménique	18:2 $\Delta$ 9c, 11t	-
octadécatrièn 9c, 12c, 15c oïque	$\alpha$ -linoléinique	18:3 $\Delta$ 9c, 12c, 15c	n-3 ( $\omega$ 3)
octadécatrièn 6c, 9c, 12c oïque	$\gamma$ -linoléinique	18:3 $\Delta$ 6c, 9c, 12c	n-6 ( $\omega$ 6)
eïcosatétraèn 5c,8c,11c,14c oïque	arachidonique	20:4 $\Delta$ 5c,8c,11c,14c	n-6 ( $\omega$ 6)
eïcosapentaèn 5c,8c,11c,14c,17c oïque	EPA	20:5 $\Delta$ 5c,8c,11c,14c,17c	n-3 ( $\omega$ 3)
Docosahexèn 4c,7c,10c,13c,16c,19coïque	DHA	22:6 $\Delta$ 4c,7c,10c,13c,16c,19c	n-3 ( $\omega$ 3)



### 1.4.3. Isomérisation des acides gras :

#### 1.4.3.1. Isomérisation géométrique et isomérisation positionnelle :

Comme pour toute chaîne carbonée, une double liaison sur un AG peut s'arranger selon deux géométries possibles: soit de configuration **cis**, les deux atomes d'hydrogène sont du même côté du plan de la liaison, cas le plus fréquent dans la nature, notamment pour les AG alimentaires, soit de configuration **trans**, les deux atomes d'hydrogène sont de part et d'autre du plan de la liaison, cas le moins fréquent (Cf., Figure 1.5).

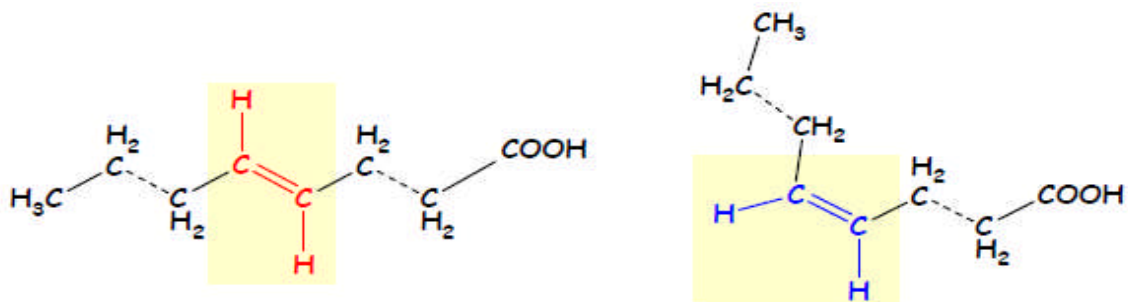


Figure 1.5 : Isomérisation géométrique *trans* (à gauche) et *cis* (à droite) [38].

L'isomérisation positionnelle est fonction de la position de la double liaison sur la chaîne carbonée. S'il apparaît en fait que certaines positions sont privilégiées dans la nature, une double liaison peut se situer en théorie à n'importe quel niveau de la chaîne carbonée d'un AG.

#### 1.4.4. Les différents types d'acides gras du lait :

Selon le degré de saturation de la chaîne hydro-carbonée les AG sont classés en :

- ❖ Acides gras saturés.
- ❖ Acides gras insaturés de configuration *cis* ou *trans*.

##### 1.4.4.1 Acides gras saturés :

Les AGS ont la formule chimique suivante :  $C_nH_{2n+1}COOH$ , celle-ci contient un maximum de groupes d'atomes d'hydrogènes permis par leur structure

chimique. Elles n'ont pas de doubles liaisons dans leurs structures, ce qui leurs permet d'être plus stables au plus haut point de fusion.

Les AGS qui sont présents en quantités significative dans la MG de lait, sont des molécules ayant une longueur de chaîne variant de 4 à 18 atomes de carbones.

Ces AG sont estimés approximativement à 70-75% des AG totaux.

Le plus important AG d'un point de vue quantitatif est le C16:0 qui représente 25 à 30% du total, tandis que deux autres AG, C14:0 et C18:0 ont des valeurs estimées à 10 et 13% respectivement.

Les AG à chaînes courtes et moyennes raisonnablement représentées dans le lait; ont certaines caractéristiques intéressantes; ainsi les teneurs importantes en AGCC et moyennes seraient responsables de la bonne digestibilité des lipides laitiers. Contrairement aux AG à chaînes longues, ceux à chaînes courtes et moyennes sont absorbés en tant qu'AG non estérifiés par voie sanguine et sont métabolisés rapidement par le foie [39].

#### 1.4.4.2. Acides Gras Insaturés (AGI) de configuration-*cis* :

Les formules générales des AGI sont de type  $C_nH_{2n-1}COOH$  ou  $C_nH_{2n-3}COOH$  ou  $C_nH_{2n-5}COOH$ . Les AGI ont une ou plusieurs doubles liaisons dans leurs structure, aussi leurs point de fusion est plus bas que les AGS.

Les AGI sont classés selon une configuration *cis* ou *trans*, ceux de configuration *cis* contiennent au moins une double liaison non conjugué avec une teneur dans la MG du lait de vache de l'ordre de 18-24%. L'acide oléique (9*c*-18:1) est le principal AGMI de configuration *cis* avec une teneur de l'ordre de 15-21% du total. Pour le *cis*11-18:1, cette teneur n'est plus que de 0,5%, alors que la proportion des autres isomères du C18:1 est faible. Il est à noter la faible mais significative contribution des autres AGMI de configuration *cis* notamment le 14:1 (1%) et le 16:1 (1,5%).

Les AGPI de configuration *cis* sont présents à de faibles concentrations dans la MG du lait. Ces AG sont représentés en grande partie par l'acide linoléique (*cis*9, *cis*12 -18:2), avec des teneurs allant de 1,2 à 1,7% et par l'acide  $\alpha$  linoléique (*cis*9, *cis*12, *cis* 15-18:3) dont la teneur reste comprise entre 0,9 à 1,2%.

Ces deux AG sont dit «essentiels» car ne pouvant être synthétisés par l'organisme, ils doivent donc être apportés par la ration alimentaire. La proportion

en acide  $\alpha$  linoléique semble être affectée par la nature de la ration alimentaire; la concentration est supérieure dans les laits provenant de vaches mises au pâturage comparativement aux vaches recevant une alimentation à l'étable [40, 41].

#### 1.4.4.3. Les acides gras insaturés de configuration *trans* :

Ce sont des AGI contenant au moins une double liaison non conjuguée dans leurs configuration *trans* c'est-à-dire dont les substituants (ou les atomes d'hydrogène) se situent de part et d'autre du plan de la liaison [38].

La présence de l'AG *trans*-C18 dans la MG du lait résulte d'une biohydrogénation ruménale incomplète des lipides insaturés provenant du régime alimentaire.

Ces AG ont attiré l'attention des chercheurs, en raison de leurs effets nutritionnels néfaste.

Des essais cliniques ont montré que l'acide *trans*-octadécénoïc pourrait élever les concentrations en LDL-cholesterol et diminuer l'HDL-cholesterol produisant ainsi un effet défavorable du ratio LDL/HDL [42].

Precht et Molkenton ont séparé 13 isomères du *trans*-18:1 par Ag-CCM allant de  $\Delta 4$  à  $\Delta 16$  [43] (Cf., Tableau 1.8).

L'acide vaccénique 11*t*-18:1 est le plus important isomère *trans* avec des valeurs de l'ordre de 30 à 60% du total *trans*-18:1.

La concentration du *trans*-18:1 varie considérablement de 2 à 6% avec une valeur faible associée à une consommation d'aliments concentrés en hiver et plutôt élevée pour les VL au pâturage d'été. L'alimentation en pâturage semble réduire les réactions de biohydrogénation au niveau du rumen, entraînant une élévation des teneurs en AG *trans*.

Precht et Molkenton ont identifié un certain nombre d'acides *trans*-octadécénoïques dans la MG du lait avec une ou deux doubles liaisons *trans* [44].

La plupart de ces AG sont présents en faible quantité avec seulement le *trans* 11, *cis* 15-18:2 (0,33%) et *cis* 9, *trans* 11-18:2 (0,85%) ayant une concentration supérieure à 0,3%.

Ces acides *trans*-octadécénoïques révèlent des variations considérables par exemple le *c*9, *t*11-18:2 montre des teneurs variant de 0,25 à 1,95%.

Tableau 1.8 : Concentration en acide *trans*-octadécénoïque dans la matière grasse laitière bovine [43].

Composition en isomères de l'acide <i>trans</i> -octadécénoïque % (W/W)	Moyenne
Δ 4	0,05
Δ 5	0,05
Δ 6-8	0,17
Δ 9	0,24
Δ 10	0,17
Δ 11	1,75
Δ 12	0,21
Δ 13/14	0,48
Δ 15	0,28
Δ 16	0,34
Total	3,74

#### 1.4.4.4. Exemples d'isomères d'acides gras mono-insaturés :

L'acide oléique 18:1 9c (octadécèn 9c oïque), acide en 18:1 le plus rencontré dans le lait, a pour isomère géométrique l'acide élaïdique 18:1 9t (octadécèn 9t oïque) et pour isomère de position et géométrique, l'acide vaccénique 18:1 11t (octadécèn 11t oïque) qui est également isomère de position de l'acide élaïdique (Cf., Figure 1.6).

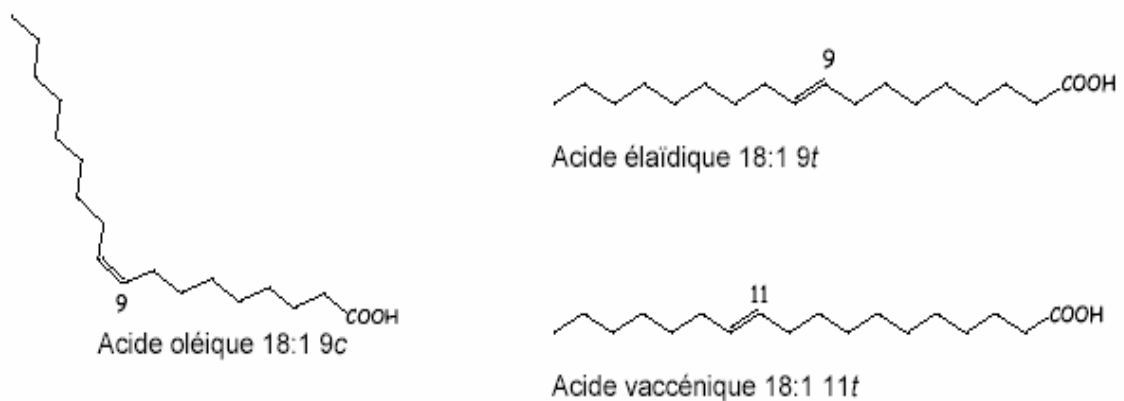


Figure 1.6: Isomères géométriques et positionnels de l'acide oléique.

#### 1.4.4.5. Cas de l'isomérisie des acides gras polyinsaturés :

Les AGPI possèdent plusieurs doubles liaisons qui peuvent être chacune de géométrie *cis* ou *trans* : les AGPI pourront donc être soit tout *cis*, soit tout *trans*, soit combinés *cis/trans*. L'acide linoléique 18:2 9*c*, 12*c*, acide octadécadiénoïque rencontré dans le la MG du lait de vache, possède 3 isomères géométriques 9*c*, 12*t*; 9*t*, 12*c* et 9*t*, 12*t* (Cf., Figure 1.7).

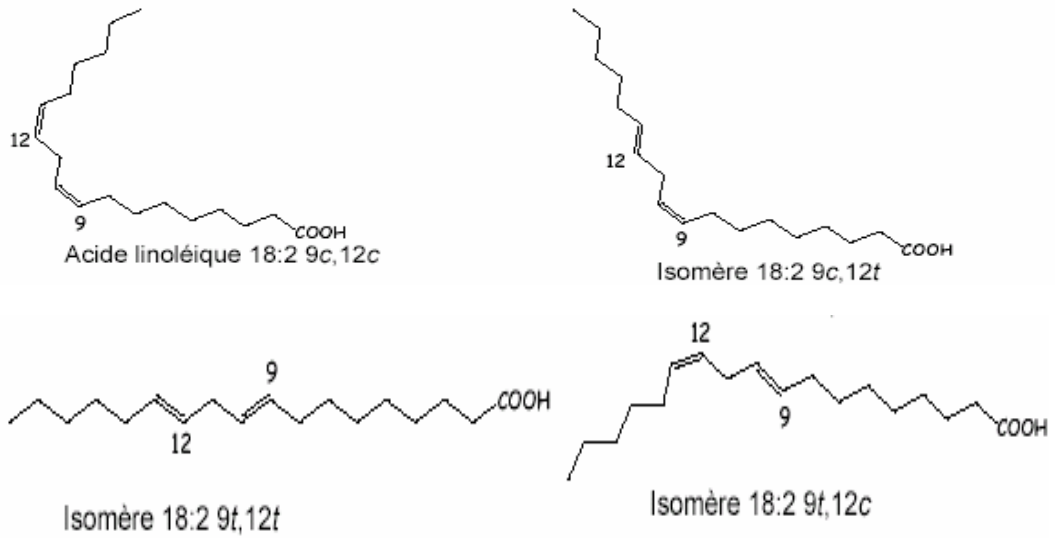


Figure 1.7 : Isomères géométriques de l'acide linoléique 18:2 9*c*, 12*c*.

Les doubles liaisons des AG polyinsaturés peuvent se situer en différents points de la chaîne carbonée (Cf., Figure 1.8).

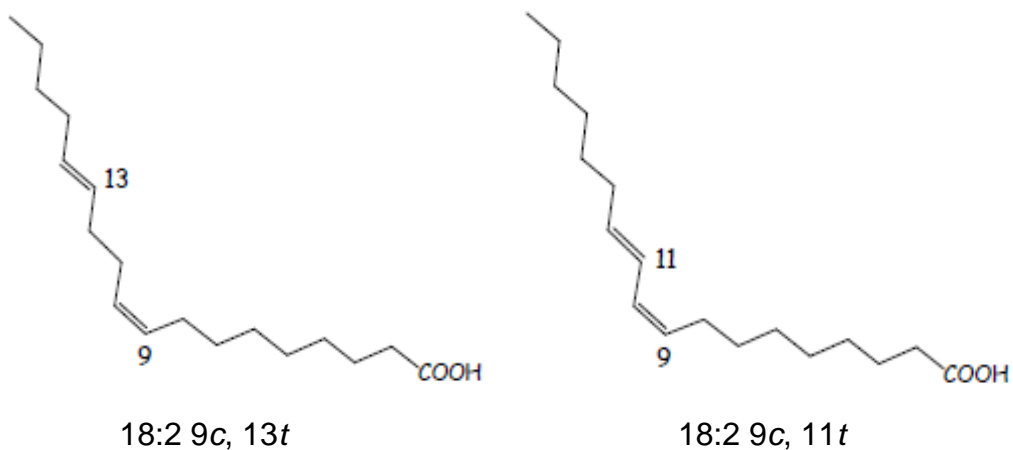


Figure 1.8 : Isomères géométriques et positionnels de l'acide linoléique 18:2 9*c*, 12*c*.

## 1.5. Synthèse de la matière grasse du lait :

### 1.5.1 Lipogenèse mammaire :

Les AG du lait ont une double origine [45, 46, 47, 48]:

- Prélèvement dans le courant sanguin (60% des AG sécrétés dans le lait).
- Synthèse «*de novo*» dans la glande mammaire (40%) à partir de l'acétate et du  $\beta$ -hydroxybutyrate (contribuant à environ 15% des AG néosynthétisés).

#### 1.5.1.1 Prélèvement et métabolisme des acides gras circulants :

Le prélèvement d'AG dans le courant sanguin n'intéresse ni les phospholipides, ni les esters du cholestérol. La majorité des AG prélevés proviennent des triglycérides, des chylomicrons et des Lipoprotéïnes de très basse densité «Very Low Density Lipoproteins» (VLDL) [49].

Cette hydrolyse se fait sous l'action de la lipoprotéine-lipase, à la surface de l'endothélium des capillaires. Les bilans artério-veineux des AGNE circulants sont nuls. Certains sont pourtant prélevés par la mamelle, mais ils s'équilibrent quantitativement avec la fraction des AG résultant de l'hydrolyse des triglycérides mais entraînés dans le courant sanguin avant leur passage dans les cellules. Le taux de prélèvement des triglycérides circulatoires est d'environ 40% [50].

Les taux d'extraction des AG circulants varient en fait selon leur nature, selon Thompson et Christie [51], l'extraction serait de 31% pour l'acide myristique, de 48% pour l'acide palmitique, de 74% pour l'acide stéarique, de 43% pour l'acide oléique et de 74% pour l'acide *trans*-vaccénique ( $t_{11}$  C18:1). Les taux d'extraction des AGPI (acides linoléique et linoléique) sont difficiles à mesurer eu égard à leur très faible teneur, tant dans les triglycérides sanguins que dans le lait [45].

La quantité d'AG prélevée à partir du courant sanguin peut ainsi s'accroître lorsque le taux de lipide circulant augmente, en particulier :

- avec des rations enrichies en MG [52], l'augmentation portant essentiellement sur les triglycérides des chylomicrons.
- lors de mobilisation des réserves énergétiques, en particulier en début de lactation : la glande mammaire utilise les AGNE plasmatiques libérés par le

tissu adipeux comme source d'AG à chaînes longues pour la synthèse des lipides du lait. Les AG stockés en triglycérides dans les tissus adipeux de ruminant sont principalement le C16:0, C18:0, C18:1 9-*cis* et dans une moindre mesure le C14:0, le C16:1 9-*cis*, le C17:0, le C18:1 11-*trans* et des AG mineurs. La disponibilité en AGNE plasmatiques pour la glande mammaire est fortement corrélée à la lipomobilisation, qui intervient en début de lactation et/ou quand le bilan énergétique est négatif.

La glande mammaire ne peut pas convertir le C16:0 en C18:0 par élongation de la chaîne carbonée. En outre les cellules mammaires sécrétrices entièrement différenciées présentent une forte activité de la  $\Delta 9$  désaturase, qui convertit l'acide stéarique (C18:0) en acide oléique (C18:1 9-*cis*). Environ 40% de l'acide stéarique prélevé par la glande mammaire est désaturé, contribuant ainsi à plus de 50% de la quantité d'acide oléique sécrétée dans le lait [53].

Clapperton et Banks, ont montré une relation linéaire entre les teneurs du lait en acides stéarique et oléique [54].

De plus l'acide *trans*-vaccénique (C18:1 11-*trans*) d'origine ruminale peut être désaturé pour former l'acide ruménique (C18:2 9-*cis*, 11-*trans*), principal isomère de l'ALC dans le lait [55]. D'autres isomères mineurs de l'ALC sont probablement synthétisés à partir d'autres isomères du C18:1 *trans* [56].

Griinari et Bauman [56], suggèrent qu'environ 30% du C18:1 11-*trans* prélevés par la mamelle seraient désaturés en acide ruménique.

Des désaturations très limitées peuvent concerner l'acide palmitique, voire l'acide myristique.

#### 1.5.1.2 Synthèse mammaire des acides gras :

La principale voie métabolique implique deux enzymes clefs: l'Acétyl-CoA Carboxylase (ACC) et l'Acide Gras Synthétase.

La synthèse «*de novo*» des AG dans la glande mammaire utilise principalement l'acétate et le  $\beta$ -hydroxybutyrate, ces précurseurs proviennent de la fermentation microbienne de la cellulose et de matériaux apparentés dans le rumen.

Une fois dans la glande mammaire, l'acétate est activé en Acétyl-CoA.

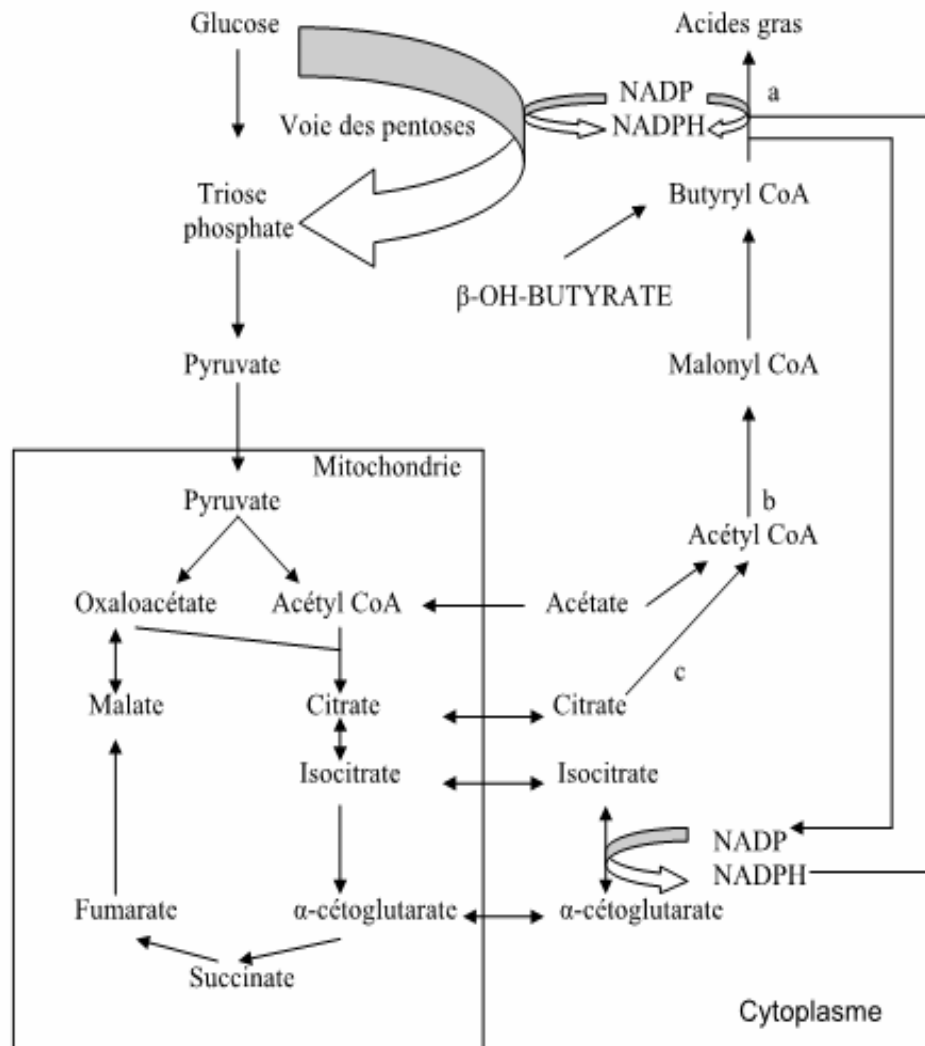
L'ACC catalyse la formation de Malonyl-CoA, tandis que l'enzyme Acide Gras Synthétase catalyse la condensation du Malonyl-CoA avec l'Acétyl-CoA ou le Butyryl-CoA, produits respectivement à partir du métabolisme de l'acétate et du  $\beta$ -hydroxybutyrate (Cf., Figure 1.9 et 1.10). L'Acide Gras Synthétase condense entre elles les unités à 2 carbones jusqu'à l'obtention de chaînes à 14 et surtout à 16 atomes de carbone, qui seront ensuite libérées du complexe enzymatique par une de ses enzymes constitutives (thioestérase I).

A l'inverse des rongeurs, l'Acide Gras Synthétase de la glande mammaire des ruminants peut interrompre le processus de condensation plus précocement avec la possibilité de libérer des chaînons acyl de 4 à 12 atomes de carbone grâce à la thioestérase II.

L'allongement de la chaîne d'AG, deux carbones par deux carbones, au cours de la synthèse nécessite, de l'hydrogène, fourni par un cofacteur d'oxydoréduction, le NADPH, celui-ci peut avoir deux origines :

- La principale, est la dégradation du glucose par la voie des pentoses. Cette voie est utilisée préférentiellement à la glycolyse dans la mamelle du ruminant, ce qui permet une fourniture suffisante en NADPH malgré un métabolisme énergétique fondé davantage sur des acides gras volatils (AGV) que sur le glucose. Cela explique, d'autre part, le moins bon rendement énergétique de la synthèse des constituants du lait avec les rations pauvres en concentrés, donc fournissant peu de précurseurs de la néoglucogénèse. Ainsi, la conversion de l'acétate en AG augmente lorsque le taux de glucose augmente dans les cellules mammaires [57].
- La deuxième origine est la voie de l'isocitrate, dérivation extra-mitochondriale du cycle citrique. Cette transformation de l'isocitrate en  $\alpha$ -cétoglutarate est catalysée essentiellement par une NADP citrate déshydrogénase dans la mitochondrie, et dans le cytoplasme. L'importance de cette voie est confirmée par la forte augmentation de la concentration en NADPH isocitrate-déshydrogénase après le vêlage [58].





- Acide gras synthétase.
- Acetyl Coenzyme A Carboxylase.
- ATP-citrate lyase.

Figure 1.9: Synthèse des acides gras dans la cellule mammaire [57].

La part relative des AG synthétisés dans les AG totaux du lait peut varier dans de larges proportions chez la vache. D'une façon générale, la présence abondante d'AG prélevés du courant circulatoire a un effet inhibiteur sur la synthèse d'AG mammaires, probablement par inhibition de l'ACC [52]. Cela se traduit par une augmentation des proportions d'AG longs, d'origine sanguine, et une diminution des proportions d'AG courts, synthétisés.

Cette inhibition est plus forte avec les AG *trans*, en particulier l'acide *trans*-11 vaccénique [59], et s'accompagne d'une augmentation de l'incorporation en acide butyrique dans les triglycérides.

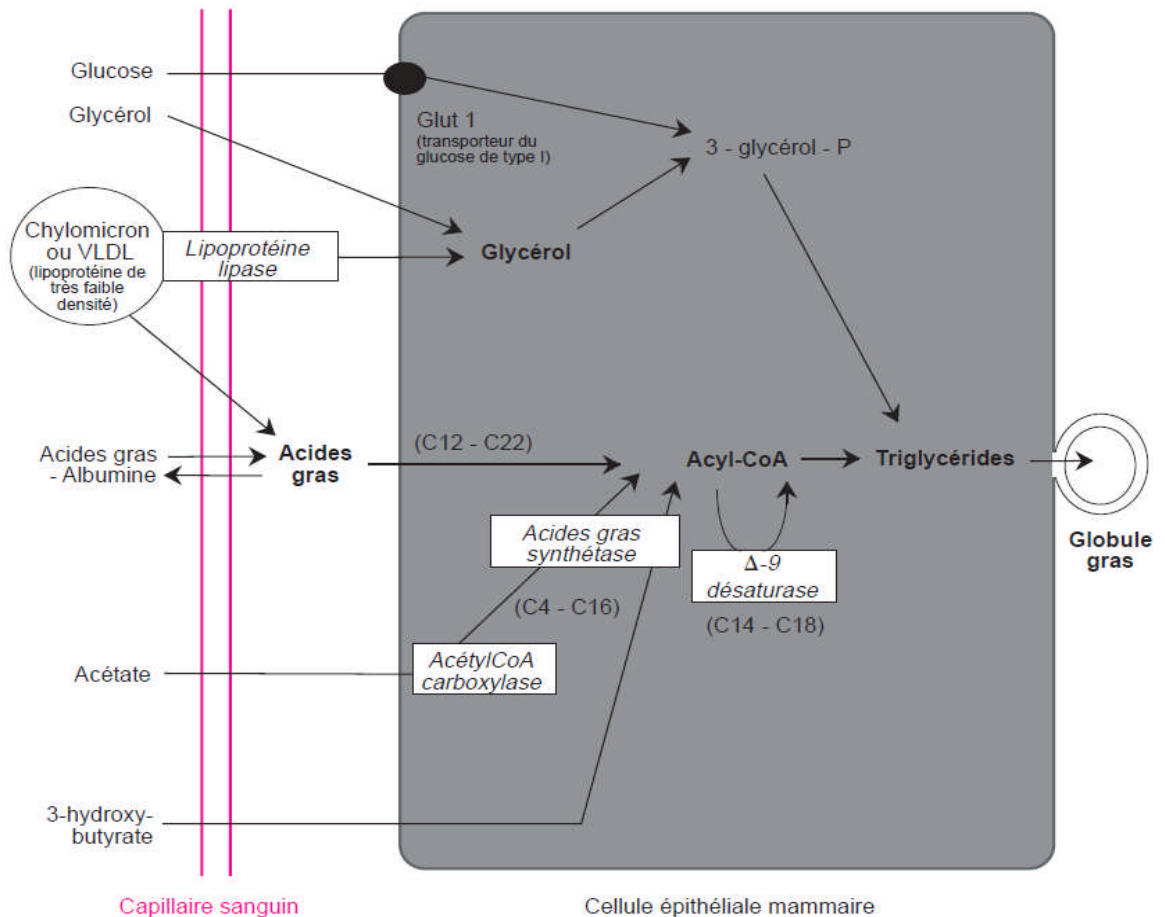


Figure 1.10: Synthèse et sécrétion des lipides du lait chez les ruminants.

### 1.5.1.3 Estérification des acides gras :

Le glycérol sous forme de glycérol 3-phosphate sur lequel seront estérifiés trois AG provient des:

- ❖ Triglycérides sanguins hydrolysés.
- ❖ Trioses produits lors de la dégradation du glucose.

Les AG synthétisés ou prélevés sont transformés en acyl coenzyme A avec consommation d'ATP.

Dans un premier temps, le glycérol 3-phosphate fixe deux acyl coenzyme A, en devenant «phosphatidate» qu'une phosphatase transforme en 1,2 diacylglycérol.

Dans un deuxième temps, celui-ci fixe un troisième acyl coenzyme A.

Les AG courts sont préférentiellement estérifiés sur le carbone 3 du glycérol, alors que l'acide palmitique s'estérifie préférentiellement sur les carbones 1 et 2 [45].

### 1.6. Transformations des lipides dans le rumen : (Biohydrogénation ruménale)

Le rumen est le lieu d'un métabolisme des lipides de forte intensité, lié à l'activité microbienne. La lipolyse des glycolipides, phospholipides et triglycérides du régime est très rapide et presque complète, et les AG qui en sont issus sont fortement hydrogénés.

Harfoot et Hazlewood [60], ont décrit les voies biochimiques d'hydrogénation des acides linoléique et linoléique. Ainsi l'acide linoléique (C18:2 9-*cis*, 12-*cis*) est isomérisé en acide ruménique (C18:2 9-*cis*, 11-*trans*), puis ce dernier est hydrogéné en acide *trans*-vaccénique (C18:1 11-*trans*) et enfin en acide stéarique C18:0 (Cf., Figure 1.11).

L'acide linoléique donne un nombre plus important d'intermédiaires, dont l'acide *trans*-vaccénique, mais la production d'acide ruménique n'a pour l'instant pas été montrée.

Dans le milieu ruminal, on ne trouve pas moins de 12 isomères mono-insaturés *trans* à 18 carbones [61] et de nombreux isomères de l'ALC ont été signalés.

Le terme ALC regroupe un ensemble d'isomères géométriques et de position de l'acide linoléique. La réduction des C18:1 *trans* est généralement une étape limitante pour l'hydrogénation complète des C18 insaturés, induisant une accumulation ruminale des C18:1 *trans*, mais rarement celle de l'ALC.

Une partie de l'ALC provenant de l'hydrogénation ruminale des AGPI est toutefois absorbée au niveau intestinal, prélevée par la glande mammaire et sécrétée dans le lait. Cependant la synthèse d'acide ruménique se ferait principalement (pour 75%) dans la mamelle mais pour cela il est nécessaire qu'une quantité suffisante d'acide *trans*-vaccénique ait été formée dans le rumen.

Doreau et Ferlay ont précisé le bilan quantitatif et qualitatif du métabolisme ruminal, l'hydrogénation dans le rumen définie comme le pourcentage de disparition des acides linoléique et linoléique entre la bouche et le duodénum est en moyenne respectivement de 80 et de 92% pour ces deux AG [62].

Le pourcentage d'hydrogénation ne semble pas dépendre de la nature ou de la quantité des AG ingérés, mais plutôt du pourcentage de concentré dans la ration. Quand celui-ci est supérieur à 70%, l'hydrogénation n'est en moyenne que de 50 et 65% pour les acides linoléique et linoléique.

Ce phénomène est relié à une chute du pH ruminal, qui limite non seulement l'hydrogénation, mais aussi en premier lieu la lipolyse.

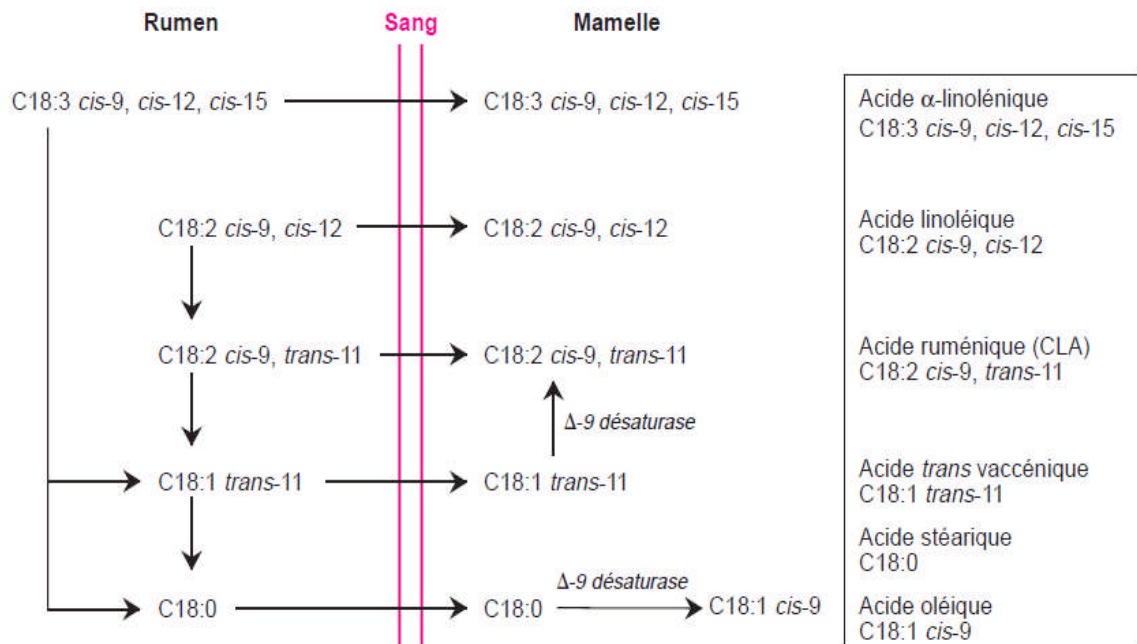


Figure 1.11: Principales voies de synthèse des acides gras *trans* et en acide linoléique conjugué du lait [46].

## CHAPITRE 2

### LES FACTEURS INFLUENCANT LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS DU LAIT

#### 2.1. Introduction :

La MG du lait des ruminants est d'une composition unique parmi les mammifères terrestres, par suite de la grande diversité des AG qui y sont rencontrés. Celle-ci augmente avec les effets de la biohydrogénation ruminale des AGI d'origine alimentaire et avec l'étendue des AG synthétisés «*de novo*» dans la glande mammaire. La composition en AG de la MG du lait est la composante la plus variable du lait, elle est influencée par de nombreux facteurs incluant la race, le stade de la lactation, l'état sanitaire de l'animal, ainsi que la qualité et la quantité de la ration ingérée [63, 64].

#### 2.2. La génétique :

En plus des différences bien caractérisées parmi et au sein des races en ce qui concerne la teneur en MG du lait; des différences sont observées également dans la composition en AG.

Karijord et al. [65], ont conclu à une corrélation génétique positive entre les proportions en AGCC et moyennes; et la teneur en MG de lait, tandis que la corrélation était négative pour la proportion de l'ensemble des AG en C18. Ces auteurs ont remarqué une relation très fortement négative entre la teneur en MG du lait et la proportion des C18:1 et qu'il était alors possible que cela était dû à la présence des isomères C18:1 *trans*, quand l'acide C18:1 était dans des pourcentages élevés [66]. La corrélation positive observée entre les AGCC et la teneur en MG est en accord avec les données de Stull et Brown [67] et de Beaulieu et Palmquist [68].

Ces auteurs avaient trouvé que les acides allant de C6 à C14 (en pourcentage des AG totaux dans le lait) étaient de 8 à 42% plus élevés dans la vache Jersey que Holstein et que ces différences étaient indépendantes du régime alimentaire.

Dans la race Jersey, l'acide stéarique (C18:0) était plus élevé de 13% et l'acide oléique (C18:1) plus faible de 15%. Plusieurs études ont par ailleurs confirmé l'existence d'une activité de l'enzyme Stéaryl-CoA désaturase. Ainsi le rapport C18:1/C18:0 variait selon les races [68] et au sein d'une même race [69].

Beaulieu et Palmquist [68] ont trouvé que ce rapport augmentait dans le lait pour la race Holstein mais n'augmentait pas pour la race Jersey, quand des pourcentages croissants de MG étaient donnés dans la ration. Ces auteurs suggèrent que la Stéaryl CoA désaturase pouvait être limitative dans les tissus mammaires de la race Jersey. Lawless et al [70] ont comparé 4 races, Holstein Irlandaise/race Frisonne, Holstein Allemande/race Frisonne, les Montbéliardes et les Normandes au pâturage. Ces auteurs ont rapporté un léger effet de la race chez les Montbéliardes, avec une teneur moyenne en ALC dans la MG du lait de 13% plus élevé que dans les 3 autres races. White et al [71] ont comparé les vaches Holstein et Jersey qui étaient nourrit en confinement selon un tableau de matière rationalisée ou en pâturage. Ils ont trouvé que les vaches Holstein avaient des concentrations en ALC dans la MG du lait légèrement plus élevées. Whitlock et al. [72] ont examiné l'interaction race X alimentation dans une étude sur les vaches suisses Brunnes et Hostein, mais cette comparaison n'avait impliqué qu'un nombre limité d'animaux (4 vaches Suisses Brunnes et 8 Holstein).

De même, Copps et al. [73] et Dhiman et al. [74] ont comparé plusieurs races de VL mais ces 2 études avaient seulement 4 ou 5 vaches pour chaque race. Récemment, Auldist et al. [75] ont rapporté que les vaches Frisonnes avaient plus d'ALC dans la MG de lait que les vaches de race Jersey, en justifiant cela par le fait que l'enzyme Stéaryl CoA désaturase serait moins active dans la race Jersey [76].

Toutefois, Kelsey et al [69] avaient rapporté que la race contribuait pour environ moins de 0,1% de la variation totale de la concentration en ALC dans la MG du lait entre les vaches Suisses Brunnes et les Holstein

### 2.3. Stade de lactation :

Les laits de début de la lactation (30j) contiennent moins de C4:0 et C12:0 que ceux du milieu de la lactation (120j) et de fin de la lactation (210j) [77].

L'écart était indépendant de l'effet saisonnier (alimentation) et fut attribué à l'incapacité physiologique des vaches, en début de lactation à consommer suffisamment de matière sèche pour parvenir à l'énergie requise. La synthèse des acides C4:0 à C12:0 dans la glande mammaire augmente en début de lactation puis diminue et la mobilisation des AG à partir des tissus adipeux augmente [78].

Quand la mobilisation du tissu adipeux décroît, en raison de l'équilibre énergétique de plus en plus positif, les proportions des AGCC et moyennes dans la MG de lait augmentent.

Le temps requis pour la stabilisation de la composition en AG du lait dépend de la teneur et du pourcentage de MG emmagasinée, de l'équilibre énergétique et de la quantité de MG du régime alimentaire.

Auld et al. [77] ont examiné les effets de l'étape de la lactation sur la teneur en ALC dans la MG de lait, en prenant comme exemple des vaches nourries au pâturage. Ces auteurs ont comparé le commencement (<30 jours de lactation), le milieu (<120 jours de lactation) et la fin (<210 jours de lactation) de la lactation et ont observé un léger accroissement allant de 7,9mg/g d'AG au commencement de la lactation jusqu'à 9,7mg/g d'AG en fin de lactation.

Stanton et al. [79] n'ont constaté aucun effet de l'étape de lactation sur les niveaux des ALC dans la MG de lait. Ce travail a été rapporté dans 2 études à portée limitée car la première impliquait 36 vaches allant de 12 à 93 jours de lactation et la seconde étude avait rassemblé 45 vaches allant de 99 à 193 jours de lactation.

### 2.4. Les mammites :

Les mammites cliniques réduisent la quantité de lait ainsi que les teneurs en protéine et en MG en faisant varier leurs quantités [80]. Les pertes en quantité de lait étaient estimées à 4-6% ou 300-400 Kg/lactation. Celle des lipides étaient de l'ordre de 0,1%, les protéines à 0,05%.

## 2.5. Effet des matières grasses provenant des régimes alimentaires :

### 2.5.1. Effet des régimes alimentaires à taux faible de matière grasse :

Les régimes alimentaires à très faible taux de MG réduisent les teneurs en MG du lait et diminuent fortement les proportions et les rendements en AG C18 avec des teneurs en C16:0 s'approchant de 50% du rendement total en MG [81]. L'augmentation de la teneur en C18 des régimes alimentaires à faible taux de MG conduit à une augmentation linéaire des AG C18 dans la MG du lait :

$$y=75+0,54x$$

Où  $y$  = AG C18 totaux dans la MG du lait (en g/jour)

Et  $x$  = AG C18 totaux pris (en g/jour)

Ainsi les AG provenant des régimes alimentaires sont transférés dans la MG du lait avec une efficacité de 54%; ainsi Banks et al [81] ont estimé à 93% le transfert de l'acide C16 issu du régime alimentaire vers la MG de lait, cette valeur exceptionnellement élevée pourrait être attribuée seulement à une prise presque complète des TAGs absorbés par le tissu mammaire; toutefois, les estimations du transfert de l'acide C16 sont fortement bouleversées par les effets de changements du régime alimentaire sur la synthèse «*de novo*» de l'acide C16.

### 2.5.2. Effets des acides gras spécifiques :

Les AG provenant du régime alimentaire ont des effets prononcés sur la composition de la MG du lait et ont conduit à une littérature particulièrement fournie durant les 20 dernières années [78, 82, 83].

L'acide palmitique (C16:0) fut accru de 45% à 53% dans le lait quand des suppléments élevés (68%) en acide C16 furent ajoutés au régime alimentaire.

De la même manière, un supplément en huile de soja (90% en acide C18) a augmenté la teneur totale en C18 de la MG du lait de 25 à 60% des AG totaux.

Les rendements des AG en C6 à C14 furent réduits par l'utilisation simultanée de ces 2 suppléments, alors que le rendement du C16 fut augmenté par utilisation de l'huile de palme et réduit par utilisation de l'huile de soja [81, 84].



De façon identique, un supplément croissant en pourcentage d'huile de noix de coco (riche en acides C12 et C14) augmente les proportions et le rendement des AGCC et de l'acide C16:0 [85].

L'acide oléique fut augmenté jusqu'à 48% du total en AG du lait par une alimentation en «oléamide» comme une source protectrice d'acide oléique du rumen [86].

La réponse fut presque linéaire jusqu'à 5% de supplément dans la matière sèche du régime alimentaire. Les proportions de tous les AG du lait synthétisé «*de novo*», à l'exception de l'acide butyrique furent réduites [87].

LaCount et al. [88] ont infusé dans la caillette de vaches en cours de lactation, des AG à haute teneur en acide oléique provenant de colza ou de tournesol; ainsi la proportion en C18:1 dans la MG du lait fut augmenté tandis que la proportion totale de l'acide C18:0 était inchangée.

L'acide linoléique provenant de colza a été transféré linéairement (pente 0,527 ; 0-90g d'infusion/jour). Ces transferts à partir de l'intestin sont presque identiques à ceux rapportés par Banks et al. [81].

Hagemester et al. [89] ont rapporté un transfert de 42 à 57% d'acides linoléique infusé dans l'abomasum vers la MG de lait.

### 2.5.3. Régimes alimentaires pour des profils spécifiques en acides gras:

Un très large éventail de la littérature focalisé sur les effets de la MG du lait, a été publié durant les dernières années et était dû à l'intérêt croissant porté pour le rôle et le rapport joué par la MG dans le régime alimentaire humain.

La plupart des études d'affouragement impliquent comme approche expérimentale des essais de recherche de régimes alimentaires et de pourcentages de MG dans la ration des vaches en lactation. Dans plusieurs travaux, le rôle de la biohydrogénation ruminale ou de son exploration, avait été suivi avec une grande attention.

Par conséquent, les résultats tirés de ces études sont une:

- 1) augmentation des acides insaturés
- 2) diminution de la saturation.
- 3) augmentation des n-3 par rapport aux AG d'huile de poisson.
- 4) augmentation de la teneur en ALC dans la MG du lait.

Les premiers efforts pour modifier la composition de la MG du lait ont utilisé une protéine insoluble réticulée à base de formaldéhyde pour encapsuler des huiles végétales insaturées. Dans plusieurs travaux utilisant cette approche, l'acide linoléique fut augmenté à hauteur de 35% (poids/poids) des AG totaux du lait [90]. Bitman et al. [91] ont nourri des vaches avec des pourcentages croissants en huile de carthame encapsulée dans de la caséine traitée au formaldéhyde.

Le pourcentage de MG a augmenté linéairement de 3,5 à 4,6% quand l'huile supplémentaire de protection fut augmentée à 33% des AG totaux du lait avec une décroissance compensatrice du C16:0 et une décroissance plus faible du C14:0.

La concentration en MG du lait décroît à des niveaux plus bas qu'avant le traitement lorsque le supplément est éliminé [92].

Quoique qu'une alimentation riche en MG polyinsaturée de protection ait été un instrument de développement dans la compréhension du mécanisme de synthèse de la MG du lait, celle-ci n'a pas trouvé un terrain d'application pratique. En plus de l'augmentation du prix de l'alimentation du bétail dans les marchés mondiaux, il fut difficile d'assurer la qualité du produit (reproductibilité du produit). Aussi il fut difficile d'accepter le formaldéhyde comme un ingrédient entrant dans l'alimentation bovine du fait que quelques acides aminés peuvent être transformés en de potentiels produits cancérigènes.

La MG de lait hautement polyinsaturé a une très faible stabilité envers l'oxydation et ses propriétés physiques ne sont pas bien adaptées aux produits courants [90]. Le traitement des denrées alimentaires par le formaldéhyde est maintenant plus largement accepté et le regard s'est tourné vers l'utilisation de cette méthode pour protéger les graines d'huile riches en oléates.

Ashes et al. [93] ont nourri des vaches en lactation à raison de 0,52 kg/j de graines de colza. Le pourcentage de la MG du lait et les rendements étaient augmentés sans que le rendement du lait ne soit changé. Les proportions en acides C14:0 et C16:0 furent réduits respectivement de 20 et 25% tandis que ceux en C18:0, C18:1, C18:2 et C18:3 furent augmentés respectivement de 30%; 22%; 122 % et 62%. Des changements relativement faibles furent observés pour les AGCC et moyennes.

Plusieurs autres procédures furent développées pour protéger les AGI de la biohydrogénation ruminale. De celle-ci, seulement la procédure mettant en jeu le

dérivé amide a présenté une documentation de recherche étendue [86, 87] mais n'a pas reçu d'application commerciale.

#### 2.5.4. Effet des régimes alimentaires s'appuyant sur les pâturages :

Parmi les facteurs de régime alimentaire qui affectent la composition en AG du lait, il fut montré que les régimes alimentaires s'appuyant sur les pâturages conduisaient à des laits avec des niveaux élevés en AGI, à longue chaîne et incluant l'ALC [94].

En comparant les concentrations en ALC dans le lait de vaches nourries par des régimes alimentaires à base de rations totales mixtes et ceux de pâturages, à partir de 7 travaux [95, 96], les concentrations en ALC dans le lait des vaches nourries aux pâturages fut accru de 134% (plage allant de 15 à 396%).

Cette augmentation dans les concentrations en ALC des vaches nourries dans les pâturages peut être due à la production ruminale élevée du *trans*-11 C18:1, dérivé du C18:3 et à sa conversion endogène en ALC dans la glande mammaire par les enzymes désaturase [83, 97].

Murphy et al. [98] ont étudié les effets d'ajouts supplémentaires de colza à des VL nourries au pâturage et ont trouvé que l'addition de graines diminuait la teneur des acides allant de C6:0 à C14:0 et augmentait celle des acides C18:1, C18:2 et C18:3.

Dhiman et al [99] ont montré que le bétail mis au pâturage avait dans le lait un pourcentage plus élevé en ALC que celui nourrit au pâturage mais avec une association de graines.

La MG du lait obtenue à partir de vaches nourries au pâturage (avec ou sans supplément) avait 2,5 fois plus d'isomères ALC *cis*-9, *trans*11 que dans le lait de régime alimentaire d'une ration totale mixte [100]. L'herbe fraîche contient de 1 à 3% d'AG dont 55 à 65% sont de type acide linoléique [83].

Les régimes alimentaires contenant soit des graines à huile totale soit des graines à huile extraite ont été largement utilisés pour manipuler la composition en AG du lait. Les graines de colza, de soja et de lin sont riches respectivement en acides oléique (C18:1 n-9), linoléique (C18:2 n-6) et linoléique (C18:3 n-3), ce qui conduit généralement à des niveaux augmentés de ces acides dans les produits animaliers.

Des huiles de poissons ont été utilisées pour l'approvisionnement en 2 AGCL : L'acide eïcosapentaénoïque (C20:5 n-3) et l'acide docosahéxaénoïque (C22:6 n-3) et peuvent stimuler des niveaux élevés en ALC [101].

## 2.6. Effet des saisons :

Banni et al [102] avaient remarqué qu'il y avait des variations saisonnières marquées, de la teneur en ALC du lait. Les 2 travaux avaient trouvé que sa teneur était plus élevée quand les vaches recevaient de l'herbage frais durant la saison estivale.

Lock et Garnsworthy [97] ont rapporté que les pourcentages en ALC et des AG C18:1 *trans* du lait variaient significativement avec les saisons et qu'ils étaient plus élevés quand les vaches recevaient de l'herbe fraîche. Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux [102, 79].

Jahreis et al. [95] ont constaté que les variations dans la MG du lait dépendaient des saisons et des systèmes de gestion dans les fermes et ont trouvé des pourcentages plus élevés en AGS dans le groupe de vaches en stabulation entravée tandis que les teneurs en AG *trans* et en acide linoléique étaient nettement plus élevées dans le groupe de vaches en stabulation libre.

Thordotti et al. [103] ont trouvé des teneurs en ALC dans la MG de lait plus basses dans les pays nordiques que dans les pays européens.

De la même manière, Precht et Molketin [104] avaient également détecté une teneur en ALC dans le lait européen plus élevée que dans les pays nordiques (0,89% contre 0,58%).

Suivant ces auteurs, cette variation peut être expliquée par les différences de régimes alimentaire en hiver et en été, car il est bien connu que le régime alimentaire pastoral (été) augmente la teneur en ALC dans la MG du lait comparativement au régime hivernal riche en aliments concentrés, et ce, par suite des concentrations élevées en AG n-3 contenus en été dans les herbages source des ALC.

## 2.7. Effet des températures ambiantes élevées :

Les températures ambiantes élevées ont de nombreux effets défavorables sur les performances de production des animaux en lactation.

Chez les VL, les besoins alimentaires et en accroissement énergétiques pour la thermorégulation conduisent à une décroissance dans les rendements en lait [105].

## CHAPITRE 3

### L'IMPACT DES ACIDES GRAS SUR LA SANTE HUMAINE

#### 3.1 Acides gras du lait et cancer

Dans cette section nous considérons certaines hypothèses liées aux composés lipidiques du lait comme l'acide butyrique et l'ALC.

##### 3.1.1 Acide butyrique :

L'acide butyrique est un acide gras à chaînes courtes à quatre carbones. Des études expérimentales récentes suggèrent que le butyrate aurait différentes propriétés anticarcinogènes, ainsi il inhiberait «*in vitro*» la croissance cellulaire et induirait la différenciation d'un large spectre de souches cellulaires tumorales [106, 107].

De plus, il bloquerait les récepteurs aux œstrogènes des cellules cancéreuses du sein [108] et activerait des enzymes intervenant dans la réparation de l'ADN, supprimerait l'expression de différents proto-oncogènes et stimulerait l'expression de gènes suppresseurs des tumeurs [109, 110].

D'autres auteurs ont pu mettre en évidence le rôle du butyrate sur l'apoptose qui inhiberait les tumeurs invasives et les métastases [112, 113].

L'acide butyrique alimentaire se trouve exclusivement dans la fraction lipidique du lait et de ses dérivés. La seule étude animale qui ait étudié l'effet du butyrate alimentaire sur la cancérogenèse [114] a montré que l'addition de 6% de butyrate, réduirait l'incidence de carcinomes et d'adénocarcinomes mammaires chimiquement induits.

Plusieurs études expérimentales ont mis en évidence l'effet protecteur de l'acide butyrique laitier sur le cancer du côlon [116, 117].

Le mécanisme d'action de l'acide butyrique laitier sur la cancérogenèse colique reste cependant méconnu.

### 3.1.2 Acide Linoléique Conjugué :

Les lipides laitiers constituent la source alimentaire principale d'ALC [118, 119]. De plus, 90% de l'ALC contenu dans les produits laitiers est sous forme isomérique *cis*-9, *trans*-11, qui est considérée comme la forme biologiquement active de l'ALC [118]

Sur les lignées cellulaires, des études ont démontré que l'ALC inhibait la prolifération des cellules tumorales du colo-rectum, du sein et de la peau [120]. Ces observations ont été confirmées en expérimentation animale, par une réduction notable de l'incidence des lésions précancéreuses du côlon. Le mécanisme d'action de l'ALC est encore à l'étude, avec l'hypothèse que l'ALC pourrait agir en modifiant la fluidité des membranes cellulaires, en diminuant la synthèse des prostaglandines et/ou en stimulant la réponse immunitaire [121].

### 3.2. Acides gras du lait et athérosclérose :

De récents travaux ont été menés ces dernières années afin d'étudier les éventuelles relations entre la consommation du lait et l'athérosclérose, la thrombose, l'ischémie des artères coronaires, l'infarctus du myocarde et l'hypertension artérielle. Certains composants du lait pourraient être considérés comme des facteurs à risques ou au contraire comme des facteurs de prévention de l'athérosclérose ainsi que de ses complications cardiovasculaires [122].

Le lait entier a pu être considéré comme un facteur favorisant l'hypercholestérolémie en raison de sa teneur en AGS, qui selon Jensen et Newburg, représente 62% des AG totaux [123].

#### 3.2.1. Acides gras saturés :

Les AGS, principalement les acides palmitique (C16:0), myristique (C14:0) et laurique (C12:0), soit 42% des AG du lait, augmentent la cholestérolémie totale et le LDL-cholestérol [124, 125]. L'importance relative de leurs effets hypercholestérolémiant respectifs est encore sujette à discussion [126, 127].

En revanche l'acide stéarique et les AG à chaînes moyennes ou courtes soit au total 20% des AG du lait, ne modifient que très peu la cholestérolémie [125].

La substitution de l'acide palmitique par de l'acide stéarique ou oléique provoque une diminution de la cholestérolémie, ainsi Aro et al. [128], ont montré qu'une consommation élevée d'acide stéarique (9,33% de l'apport énergétique) pendant 5 semaines diminuait la cholestérolémie de 13%.

Comme 59% des lipides du lait ne sont pas hypercholestérolémiant, les effets de sa consommation sur la cholestérolémie sont très faibles [129].

Il faut tenir compte du capital génétique des consommateurs; ainsi l'acide palmitique est plus hypercholestérolémiant chez les sujets hypercholestérolémiques que chez les sujets dont la cholestérolémie est normale [130].

Malgré son action favorable sur la cholestérolémie, l'acide stéarique augmente plus le risque de coronaropathies que les acides palmitique, myristique et laurique [131].

### 3.2.2. Acides gras mono-insaturés :

Comme d'autres acides gras mono-insaturés, l'acide oléique (28% des lipides du lait) diminue le LDL-cholestérol. Des études ont montré que les AGMI élèvent les taux plasmatiques du HDL-cholestérol [132] ou ne les modifient pas [133,134].

### 3.2.3. Acides gras poly-insaturés :

La substitution des AGS par des AGPI n-6 diminue le cholestérol total et le LDL-cholestérol plasmatique mais également le HDL-cholestérol lorsque les apports sont élevés [124, 132, 135].

L'ALC est un ensemble d'isomères de l'acide linoléique dont le plus représenté (90% des CLA du lait) est l'acide ruménique (C18:2-9c, 11t) [136].

Le pourcentage d'ALC dans le sérum et le tissu adipeux est fortement corrélé à la consommation de lait [137].

Si l'activité antioxydante de l'ALC est démontrée «*in vitro*» et «*in vivo*» [138], son rôle protecteur de l'athérosclérose [139] fait encore l'objet de travaux de recherches. Cet AG réduit le rapport LDL/HDL, le dépôt des lipides, la formation de stries lipidiques et le développement du tissu conjonctif dans l'aorte [140, 141].



Consommés en quantités élevées (3 à 4 g/j), les AGPI n-3 élèvent faiblement le LDL-cholestérol (5 à 10%) et le HDL-cholestérol (1 à 3%) et diminuent les TG (25 à 30%) [142].

La comparaison des effets des AGPI en *n-6* et *n-3* consommés en quantités équivalentes montre que les concentrations plasmatiques des TG, de l'HDL-cholestérol sont plus faibles avec les AG *n-3* [143].

#### 3.2.4. Acides gras *trans* :

Une alimentation riche en AG *trans* augmente le LDL-cholestérol, diminue le HDL-cholestérol et accroît la valeur du rapport LDL/HDL-cholestérol [128, 118, 144]. Cependant les interprétations des résultats sont discutables car ayant été effectués sur un nombre réduit de sujets et pendant une courte durée, aussi la description de la composition de l'alimentation est insuffisante. Selon Kris-Eterton et al, l'augmentation du LDL-cholestérol serait similaire [145] ou inférieure à celle qui est induite par les AGS [146].

La réduction des AG *trans* dans l'alimentation serait utile pour prévenir l'hypercholestérolémie [147]. Les isomères de l'acide palmitoléique (C16:1) exposeraient à un risque cardiovasculaire plus élevé que les dérivés de l'acide oléiques [145]. L'acide élaidique (C18:1-9*t*) serait plus athérogène que son isomère l'acide vaccénique (18:1-11*t*) [148].

L'association positive entre la consommation des AG *trans* et le risque de coronaropathie a été constaté mais n'est pas confirmé par toutes les études [149, 150].

#### 3.3. Acides gras du lait et thrombose :

La thrombose se caractérise par la formation d'un caillot dans la lumière endothéliale des vaisseaux.

### 3.3.1. Acides gras saturés :

Les AGS favoriseraient *in vitro* la thrombogenèse en activant le facteur XII et en induisant l'agrégation plaquettaire. Cet effet est d'autant plus faible que la longueur de la chaîne d'AG est courte [151].

Les résultats sur l'utilisation de repas tests riches en AGS sont discordants; selon les essais, ils entraîneraient une augmentation du risque de thrombose artérielle ou une diminution de l'agrégation plaquettaire. Donc, ces résultats ne permettent pas de conclure à d'éventuels effets des AGS sur les différents facteurs de l'hémostase.

Bien qu'il soit admis que l'acide stéarique favorisait la coagulation [152], les résultats des études concernant son effet thrombogène sont discordants [153].

Chez 50 personnes ayant une coronaropathie et dont 20% de l'apport provient des lipides, la progression des lésions d'athérosclérose, évaluée lors de coronaropathies, est corrélée avec la consommation des acides palmitique et palmitoléique, mais surtout avec celle des acides stéarique et élaidique [154]. Cet effet indépendant du cholestérol, est vraisemblablement dû à l'acide stéarique qui active les facteurs VIIc et XII en augmentant l'agrégation plaquettaire [155].

En revanche, selon Schoene, le volume moyen des plaquettes et l'activation de leur agrégation sont diminués 24 heures après la consommation d'acide stéarique [156].

Enfin le volume des plaquettes augmente de 2% avec l'acide palmitique et diminue de 6% avec l'acide stéarique [153].

### 3.3.2. Acides gras polyinsaturés :

L'ALC exerce un effet antithrombotique en inhibant la formation d'agrégats plaquettaires. Un mélange d'isomères de l'ALC (9*c*, 11*t* et 10*t*, 12*c*-18:2) inhibe plus l'effet agrégant des plaquettes humaines induit par l'acide arachidonique.

Un apport alimentaire élevé en AGPI de la famille n-3, notamment l'acide eicosapentaénoïque (20:5n-3) et docosahexaénoïque (22:6n-3), prévient la thrombose [157].

### 3.4. Acides gras du lait et pression artérielle :

Parmi les composants du lait, certains lipides pourraient avoir une action préventive.

Beilin et al. ainsi que Iacono et al. ont évalué les effets de la consommation des AGS et des AGPI sur la pression artérielle [158, 159].

#### 3.4.1. Acides gras saturés :

Chez 19 hommes et femmes âgés de 14 à 54 ans, dont la ration comporte 35% de lipides, la réduction durant trois mois de la consommation de graisses saturées de 21 g/j à 10g/j, sans modification des autres AG ni des autres nutriments, n'influence pas les pressions artérielles [160].

#### 3.4.2. Comparaison des Acides Gras Saturés par rapport aux Mono-Insaturés et aux Poly-Insaturés :

Selon les résultats de la plupart des études réalisées chez les sujets dont la pression artérielle est normale, les AGPI n'influencent pas les pressions artérielles.

Leur action hypotensive est cependant observée lors de quelques enquêtes épidémiologiques mais aussi lors d'études expérimentales au cours desquelles la synthèse des prostaglandines est accrue.

Chez les sujets hypertendus, l'apport d'AGPI n-6 ou n-3 diminue les pressions artérielles systolique et diastolique [161], en revanche ils sont sans effets chez les sujets dont la pression artérielle est normale.

Les enquêtes épidémiologiques devront prendre en compte l'influence des marqueurs génétiques associés à l'hypertension, leurs distributions dans les populations et les interactions d'une part des gènes entre eux et d'autre part entre les gènes et l'environnement [162].

## CHAPITRE 4

### PREPARATION DES ESTERS METHYLIQUES D'ACIDES GRAS POUR ANALYSE PAR CPG

#### 4.1. Introduction :

La technique de chromatographie en phase gazeuse (CPG) révolutionna l'étude des lipides en rendant possible, en un temps très court, la détermination complète de la composition en AG d'un lipide. A cette fin, les AG des lipides sont convertis en des dérivés volatils convenables, plus accessibles, généralement des «esters méthyliques», quoique d'autres esters peuvent être préférés pour des raisons particulières. La préparation de tels esters est donc devenue le type de réaction chimique le plus employé par les analystes d'AG.

Bien que les AG existent dans la nature à l'état libre (non estérifiés), ils sont le plus souvent rencontrés comme esters liés au glycérol, au cholestérol ou à des alcools aliphatiques à longue chaîne.

Il n'existe pas de procédé unique d'estérification qui puisse être utilisé en toute circonstance. Dans ce chapitre, nous nous proposons de passer en revue les plus importantes procédures d'estérification et de *trans*-estérification et de discuter d'une part de leurs avantages et inconvénients et d'autre part de leurs applications à l'analyse de diverses classes de lipides.

#### 4.2. Estérification par catalyse acide et *trans*-estérification :

##### 4.2.1. Estérification par catalyse acide :

Les acides carboxyliques peuvent être estérifiés par les alcools en présence d'un catalyseur acide convenable tel que présenté dans la Figure 4.1.

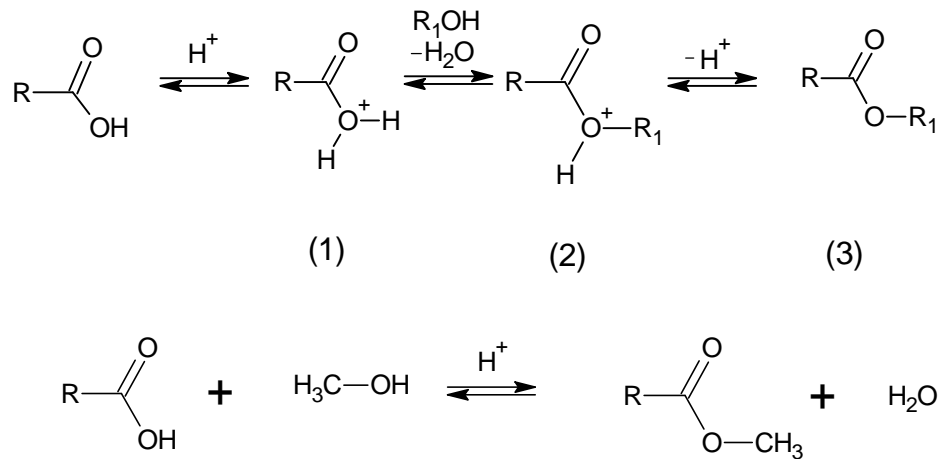
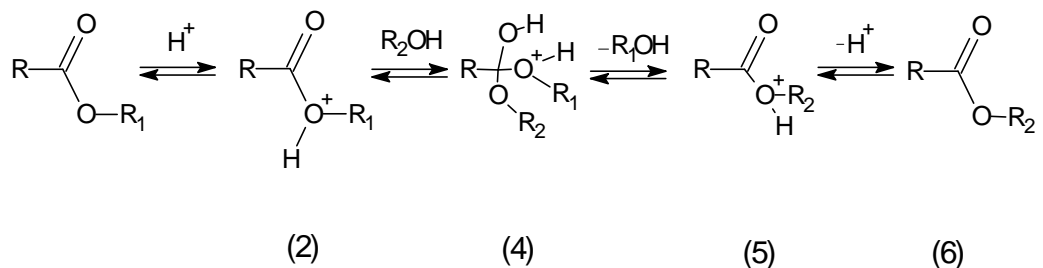


Figure 4.1 : Estérification des acides gras catalysée par les acides.

L'étape initiale est la protonation de l'acide pour obtenir l'ion oxonium (1), qui par une réaction d'échange avec un alcool, conduit à l'intermédiaire (2). Ce dernier, par perte d'un proton devient l'ester (3). Dans le processus, chaque étape est réversible mais en présence d'un large excès d'alcool, l'équilibre réactionnel est déplacé de telle sorte que l'estérification tendrait à être totale. Toutefois, dans le milieu, la présence d'eau (solvant électron donneur plus fort que les alcools aliphatiques), défavorise la formation de l'intermédiaire (2) et l'estérification est incomplète.

#### 4.2.2. *Trans*-estérification catalysée par les acides :

L'échange d'ester ou *trans*-estérification a lieu sous des conditions similaires (Cf., Figure 4.2).



La réaction globale est la suivante :

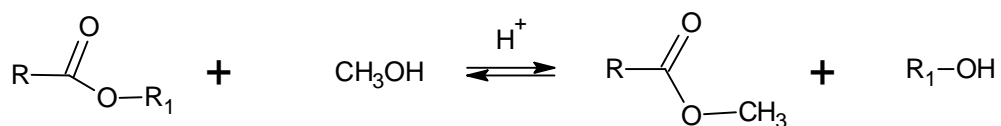


Figure 4.2 : *Trans*-estérification des lipides catalysée par les acides.

Dans ce cas, la protonation initiale des esters est suivie de l'addition de l'alcool d'échange pour conduire à l'intermédiaire (4) qui peut être dissocié via l'état de transition (5) pour aboutir à l'ester (6). Là encore, chaque étape est réversible et en présence d'un large excès d'alcool, l'équilibre réactionnel est déplacé de telle sorte que le produit obtenu sera presque entièrement l'ester (6) attendu. L'eau, doit une fois de plus, être exclue parce qu'elle pourrait conduire à une hydrolyse partielle de l'ester par dissociation d'un intermédiaire analogue à (4) ( $R'' = H$ ) en acide libre.

De ce fait les conditions recommandées pour l'estérification des AG ou la *trans*-estérification des esters existants, par catalyse acide, sont d'une part la présence d'un alcool approprié en grand excès et d'autre part l'absence d'eau. Ce dernier écueil peut être éliminé parce qu'il est possible d'obtenir des conditions réactionnelles exemptes d'eau en ajoutant simplement au milieu réactionnel du sulfate de sodium anhydre. En général, on opère avec des réactifs anhydres et avec de la verrerie préalablement séchée. Dans la pratique, un point critiquable, est le choix de l'acide comme catalyseur car il doit faciliter la réaction sans être source de réactions secondaires indésirables. En principe la méthodologie présentée ici peut être utilisée avec n'importe quel alcool mais en pratique, elle est limitée aux alcools qui peuvent être éliminés du milieu réactionnel par évaporation sélective (c'est-à-dire en allant du méthanol au butanol environ).

#### 4.2.3. Le méthanol en milieu acide chlorhydrique :

Le réactif fréquemment cité dans la littérature pour la préparation des esters méthyliques est 5% d'acide chlorhydrique anhydre dans le méthanol. Il est préparé en barbotant de l'acide chlorhydrique gazeux dans du méthanol anhydre. Il est disponible commercialement dans des bouteilles cylindriques ou peut être préparé au laboratoire en versant de l'acide sulfurique concentré sur du chlorure d'ammonium fondu.

La stabilité du réactif fut étudiée par Kishimoto et Radin [163] qui trouvèrent que la moitié de l'acide titrable était perdue au bout de six semaines, à la température ordinaire, probablement par réaction entre l'acide et le méthanol pour donner le chlorure de méthyle et de l'eau. En pratique, le faible pourcentage d'eau formée n'affecte pas de manière significative le réactif d'estérification qui a une durée de

vie moyenne de deux semaines environ, à la température ordinaire et une vie plus longue, s'il est réfrigéré. Une méthode de compromis pour la préparation rapide de ce réactif consiste à ajouter du chlorure d'acétyle à un large excès de méthanol (Cf., Figure 4.3). L'acétate de méthyle est formé comme un sous-produit mais ne doit pas interférer avec la réaction aux concentrations proposées. Le réactif préparé par cette voie est stable durant une semaine environ.

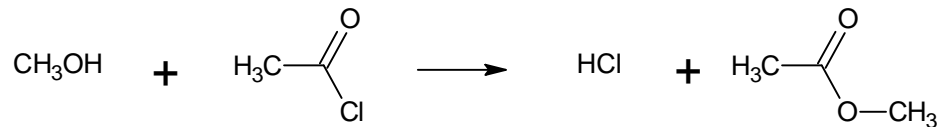


Figure 4.3: Préparation de l'acide chlorhydrique dans le méthanol via le chlorure d'acétyle.

Dans la procédure modèle d'estérification utilisant le méthanol en milieu HCl, l'échantillon lipidique est dissous au moins dans un excès de réactif égal à 100 fois l'échantillon. La solution obtenue est portée à reflux pendant deux heures et maintenue à 50°C durant la nuit (30 minutes à 50°C sont suffisants pour les acides libres isolés). A ce moment, l'eau est ajoutée et les esters recherchés sont extraits à l'aide d'un solvant approprié tel que l'éther éthylique, l'hexane et l'éther de pétrole. La phase organique est lavée par une solution de bicarbonate de potassium dilué pour éliminer l'excès d'acide. Elle est séchée sur sulfate de sodium ou de potassium anhydre. Les esters sont alors récupérés après élimination du solvant par évaporation sous pression réduite dans un évaporateur rotatif ou sous un courant d'azote.

Tous les AG sont estérifiés approximativement à la même vitesse par le méthanol en milieu chlorhydrique; aussi, il est peu probable que des pertes substantielles d'AG spécifiques aient lieu durant l'étape d'estérification. Néanmoins, des précautions spéciales sont nécessaires pour s'assurer de la récupération quantitative des esters à chaîne courte.

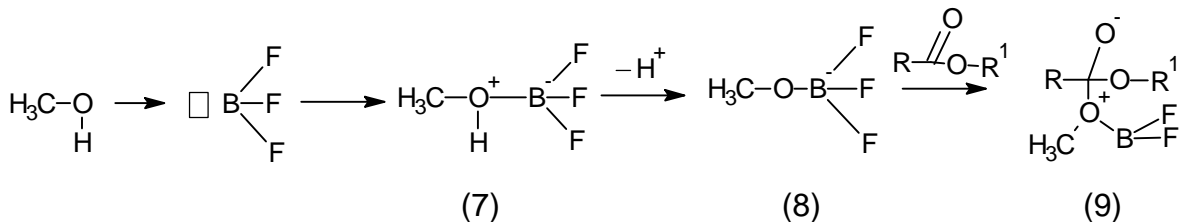
En résumé, le méthanol (ou tout autre alcool), en milieu chlorhydrique, peut être utilisé pour estérifier les AG libres ou pour *trans*-estérifier les AG fixés au glycérol ou au cholestérol par des liaisons esters. Probablement, ce réactif aurait pu être accepté comme le meilleur agent estérifiant disponible s'il ne présentait pas comme désavantage un temps de reflux nécessaire relativement long pour que la réaction d'estérification soit complète.

#### 4.2.4. Le méthanol en milieu acide sulfurique :

Quoique des concentrations beaucoup plus élevées soient quelquefois utilisées, une solution de 1 à 2% d'acide sulfurique concentré dans le méthanol a des propriétés presque identiques à celle de 5% d'acide chlorhydrique dans le même alcool. Les AG libres sont estérifiés très rapidement en les chauffant dans une solution de méthanol à 10% en acide sulfurique jusqu'à ce que la température du reflux soit atteinte. Toutefois cette méthode ne peut être recommandée pour les AG poly-insaturés, car l'acide sulfurique est un agent d'oxydation puissant. Dans le cas où le méthanol en milieu sulfurique est dilué et que les températures de la réaction d'estérification sont modérées, il est peu probable que des réactions secondaires aient lieu. Sous ces conditions, l'utilisation de ce réactif fut accepté par le Comité Instrumental de la Société Américaine des Chimistes travaillant sur les Corps Gras (Instrumental Committee of the American Oil Chemists' Society) bien que, naturellement, quelques inconvénients aient été observés pour des AG particuliers comme cela avait été déjà rapporté pour d'autres catalyseurs acides.

#### 4.2.5. Trifluorure de Bore dans le méthanol :

Le premier article important sur l'utilisation du Trifluorure de Bore ( $\text{BF}_3$ ) dans le méthanol daté de 1961 est de Metcalfe et Schmitz [164] Il fut suivi par celui de Morrison et Smith [165] où fut présentée une étude complète de ce réactif comme méthode d'estérification, en examinant les vitesses de méthylation d'une large variété de lipides. L'acide de Lewis,  $\text{BF}_3$ , dans la forme de son complexe de coordination avec le méthanol est un catalyseur acide puissant pour la *trans*-estérification des lipides (Cf., Figure 4.4). Par exemple, l'estérification des AG est complète en 2 minutes en utilisant, sous reflux, 12 à 14% de  $\text{BF}_3$  dans le méthanol.





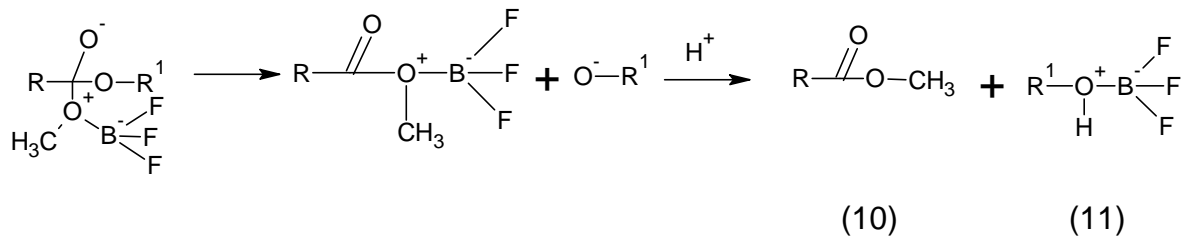


Figure 4.4: *Trans*-estérification des lipides par catalyse acide au Trifluorure de Bore dans le Méthanol.

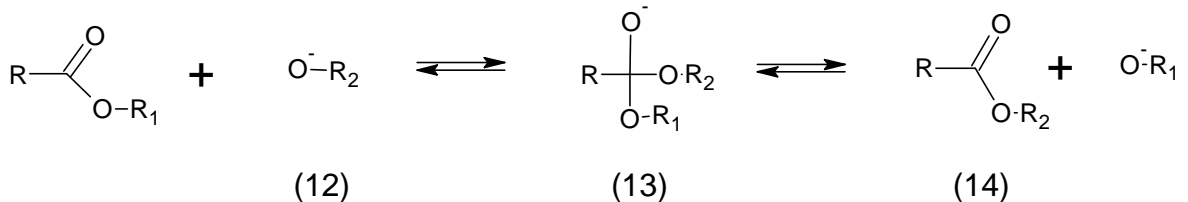
Le complexe (7) va perdre le proton du cation hydroxyle pour conduire à l'anion Borofluorure (8) qui sous l'action de l'ester R-COO-R<sub>1</sub> va aboutir au nouveau complexe (9) instable qui conduira à l'ester (10) recherché et au nouveau complexe (11).

Morrison et Smith ont montré que le réactif pouvait être utilisé pour *trans*-estérifier la plupart des classes lipidiques (un solvant inerte devant être de nouveau ajouté pour la mise en solution des lipides simples), quoiqu'en général, les temps de réaction mis en jeu soient nécessairement plus longs que dans le cas des AG libres. Quand seuls des AG libres sont à méthyler, le méthanol reste le seul solvant nécessaire. De plus, un temps de réaction de seulement, 20 minutes à reflux, ou de 2 heures à 50°C est requis.

Malheureusement BF<sub>3</sub> dans le méthanol a de sérieux désavantages, comme par exemple l'obtention, à partir d'AG insaturés, de produits secondaires méthoxylés, par action du méthanol sur la double liaison éthylénique pour de fortes concentrations (50%) de BF<sub>3</sub> dans le méthanol. La formation d'artéfacts est souvent liée à l'âge du réactif. Les solutions commerciales de BF<sub>3</sub> dans le méthanol doivent donc être agitées avec soin avant leur utilisation. Le réactif a une durée de vie limitée à la température ordinaire et doit donc être conservé en condition réfrigérée pour une utilisation plus sûre. Ce réactif a reçu l'appui de la Société Américaine des Chimistes travaillant sur les Corps Gras (American Oil Chemists' Society) et de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) pour son utilisation comme agent d'estérification des AG. Sa popularité est certainement liée au fait qu'il se trouve parmi les rares réactifs à être disponible dans le commerce.

### 4.3. *Trans*-estérification catalysée par les bases :

Les esters, en présence de base, tel qu'un anion alcoolate  $R''O^-$  (12) forme un anion intermédiaire (13) qui peut se dissocier pour revenir à l'ester original de départ ou conduire à un nouvel ester (14) comme cela est présenté dans la Figure 4.5 :



La réaction globale est la suivante:

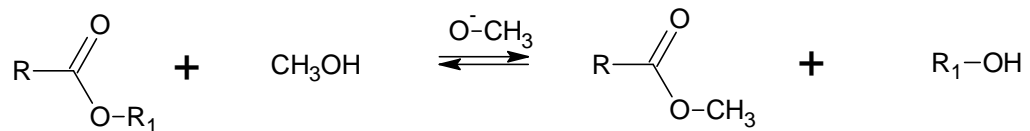


Figure 4.5: *Trans*-estérification des lipides catalysée par des bases.

En présence d'un grand excès d'alcool relatif à l'anion (12), l'équilibre réactionnel se déplacerait vers la formation du nouvel ester (14). D'autre part, un AGNE est converti, en solution basique, en anion carboxylate  $R\text{-COO}^-$ . Il n'est pas sujet à une attaque nucléophile par les alcools ou les bases (alcoolates correspondants) par suite de sa charge négative. La *trans*-estérification par catalyse basique, à l'opposé de l'estérification, peut donc avoir lieu par ce mécanisme.

En présence d'eau, l'intermédiaire (13,  $R'' = H$ ) se dissociera, de manière irréversible, en acide libre. Pour la *trans*-estérification en milieu basique des esters existants, il faut donc un grand excès de l'alcool réactant et l'absence d'eau du milieu réactionnel.

#### 4.3.1. Catalyseurs méthylates de sodium et de potassium :

L'agent de *trans*-estérification le plus commun est le méthylate de sodium ou de potassium (concentration 0,5 à 2M) dans le méthanol anhydre. Il est préparé en dissolvant les métaux purs dans du méthanol anhydre (la réaction est fortement exothermique). Les méthylates de sodium et de potassium en solution méthanolique sont stables durant plusieurs mois à température réfrigérée mais ils peuvent se détériorer éventuellement par précipitation du sel bicarbonate en

réaction avec le CO<sub>2</sub> atmosphérique et quelquefois par la formation d'autres sous-produits qui peuvent interférer dans les analyses par GC. La formation d'artéfacts est minimisée et la durée de vie du réactif augmentée si du méthanol (sans oxygène dissous) est utilisé dans sa préparation. Il est à noter toutefois que, comme pour l'ensemble des solutions fortement basiques, ce réactif doit être manipulé avec précaution. Comme pour la catalyse acide, des solvants inertes doivent être ajoutés pour dissoudre des lipides simples avant que la méthanolyse n'ait lieu. Le benzène a été utilisé fréquemment à ce propos, mais n'a pas été longtemps recommandé en raison de son aspect cancérigène.

Dans une réaction de *trans*-estérification classique, l'échantillon lipidique, dissous si nécessaire, dans suffisamment de toluène (ou d'un autre solvant pour qu'il reste en solution), est mis en présence d'un excès (100 fois) de méthylate de sodium 2M à 50°C (un chauffage à reflux accélérera la réaction mais n'est pas généralement utilisé). A la fin du temps nécessaire, l'acide dilué est ajouté pour neutraliser le méthylate de sodium en excès ainsi que pour minimiser le risque d'hydrolyse possible. Les esters méthyliques sont récupérés soit par extraction avec un solvant ou bien par catalyse acide.

En résumé, le méthylate de sodium est donc un réactif intéressant pour la *trans*-estérification rapide des AG reliés par des liaisons esters aux alcools. Sous des conditions normales, aucune isomérisation de double liaison n'a lieu dans les AG insaturés mais une manipulation prolongée ou sans précaution avec des réactifs basiques peut être source d'altération des AG.

#### 4.3.1.1. Le diazométhane et les réactifs apparentés :

Le diazométhane (15) réagit rapidement avec les AGI pour conduire aux esters méthyliques (Cf., Figure 4.6) mais il n'effectue pas la *trans*-estérification des autres lipides. La réaction n'est pas instantanée sauf toutefois si un peu de méthanol est présent comme catalyseur de la réaction

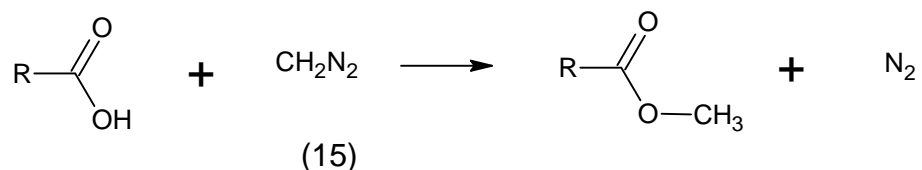


Figure 4.6: Préparation des esters méthyliques par réaction du diazométhane sur un acide gras

Le diazométhane est préparé généralement en solution étherée par action d'une base sur un nitrosamide (exemple du N-méthyl, N-nitroso-p-toluène sulfonamide (16), en présence d'un alcool (Cf., Figure 4.7).

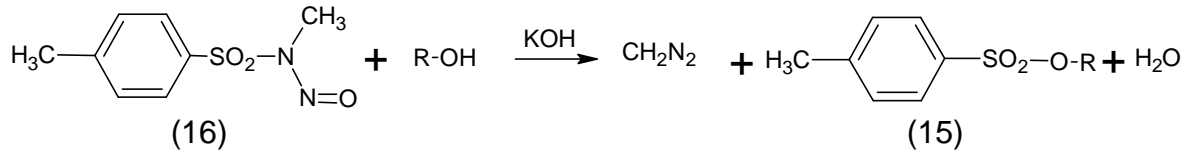


Figure 4.7: Préparation du diazométhane à partir du N-méthyl, N-nitroso-p-toluène sulfonamide (16).

Les solutions de diazométhane dans l'éther diéthylique (avec un peu d'alcool) sont stables durant de courtes périodes si elles sont stockées à l'abri de la lumière sur des pastilles de potasse à température réfrigérée.

#### 4.4. Travaux réalisés par différents auteurs sur la préparation des Esters Méthyliques d'Acides Gras provenant de la MG de lait de vache :

Peterson et al. [166] ont préparé les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) par *trans*-estérification avec le méthylate de sodium selon la méthode de Christie [167] et qui fut détaillée par Chouinard et al [168].

Dans une étude comparative de la composition lipidique du lait provenant de vaches danoises et américaines, Bitman et al [169], ont dosé les AG totaux après leur *trans*-méthylation par le chlorure d'acétyle, selon la méthode de Lepage et Roy [170].

L'estérification des AG à haute température, par le méthanol, à la pression atmosphérique a été récemment réalisée par Kocsisova et al [171].

Loor et al [172] ont étudié la relation existant entre tous les AG (*trans* et conjugués) et le pourcentage de MG bovine et ce, en fonction de la nature de l'alimentation du bétail.

Les AG sont méthylés selon la méthode de Christie et al [173] qui consiste en une addition de méthylate de sodium 2N dans le méthanol à la température ordinaire suivie de celle d'une solution de BF<sub>3</sub> à 14% dans le méthanol durant 20 minutes à la température ordinaire. Loor et Herbein [172] ont effectué la méthylation des AG *in situ* par *trans*-estérification par NaOH 0,5 N dans le méthanol, suivie de

l'addition de  $\text{BF}_3$  à 14% dans le méthanol. Morrison et Hay [175] ont estérifié les AGL par  $\text{BF}_3$  dans le méthanol à  $60^\circ\text{C}$  durant 10 minutes.

En conclusion, la dérivation des AG en esters méthyliques [176] est la technique la plus utilisée pour l'analyse des lipides par CPG. Les esters méthyliques sont couramment préparés par *trans*-estérification directe des triglycérides ou des phospholipides en présence d'un catalyseur qui est soit acide ( $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{BF}_3$  dans le méthanol) soit basique (méthylate de sodium ou de potassium).

Par contre, la saponification suivie d'une estérification des AG libérés est, de nos jours, une méthode moins utilisée.

## CHAPITRE 5

### LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

#### 5.1. Introduction à la chromatographie :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges éventuellement très complexes de nature et de volatilité très diverses. Son domaine essentiel est l'analyse des composés organiques. Elle a donné lieu néanmoins à des applications importantes en chimie inorganique.

#### 5.2. Le chromatographe :

Instrument qui permet la mise en œuvre de la CPG, le «chromatographe», réalise à la fois la séparation des constituants de l'échantillon et la mesure des quantités séparées des produits. Enfin une qualité essentielle de la CPG moderne tient à la possibilité d'opérer sur de très petites quantités d'échantillons, de l'ordre du milligramme, et généralement inférieures, rendant possible l'analyse de concentrations de  $10^{-6}$  à  $10^{-9}$  et parfois moindres dans l'échantillon de départ (Cf., Figure 5.1).

Le cœur du chromatographe est la «colonne», tube plus ou moins perméable aux gaz qui renferme une substance active, solide ou liquide, appelée «phase stationnaire». La colonne est balayée en permanence par un gaz appelé «gaz porteur» (ou *gaz vecteur*) [177].

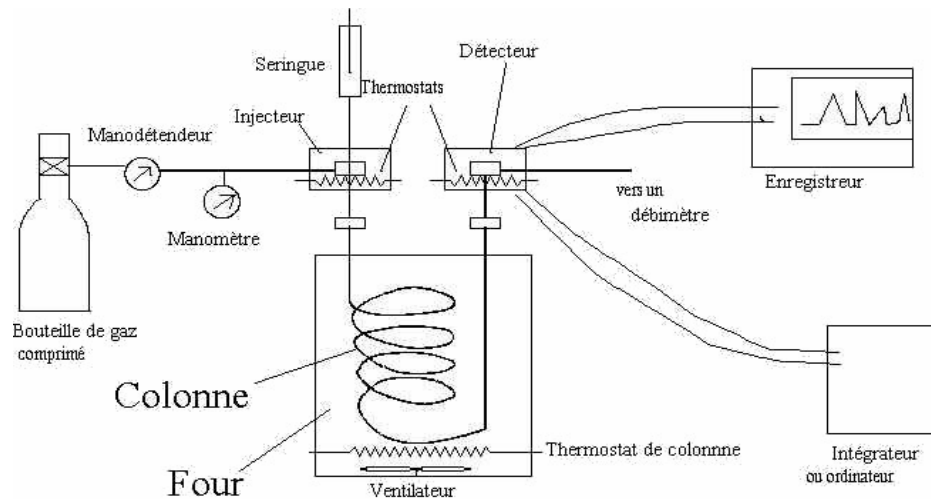


Figure 5.1 : Description schématique d'un chromatographe en phase gazeuse [177].

### 5.2.1. Processus chromatographique :

Il est discontinu. A l'instant initial, l'échantillon est introduit en tête de colonne par injection de ce dernier en solution, au moyen d'une micro seringue à travers une pastille de caoutchouc appelée septum dans une petite chambre située en amont de la colonne sur le circuit des gaz, appelée «injecteur» (chambre portée à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon). Les constituants du mélange injecté seraient entraînés à la même vitesse (celle du gaz porteur) et parviendraient tous ensemble à l'autre extrémité de la colonne, s'ils n'étaient freinés de façons différentes par l'interaction de leurs molécules avec celles de la phase stationnaire. Ainsi les constituants de l'échantillon, partis en même temps de l'injecteur, vont se détacher les uns des autres dans la course à travers la colonne, selon leur affinité pour la phase stationnaire. Les arrivées sont enregistrées par un organe essentiel appelé «détecteur». Cet appareil évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés au sein du gaz porteur, grâce à la mesure d'une certaine propriété physique (exemple : conductivité thermique du gaz à la sortie de la colonne; densité du gaz ou de son aptitude à produire des ions dans une flamme) du mélange gazeux qui dépend de cette quantité.

Cependant, on peut dire, que dans tous les cas, la colonne sert à transformer l'analyse d'un mélange très compliqué en une série d'analyses des mélanges

binaires de chaque constituant avec le gaz porteur, ces analyses ayant été effectuées par le détecteur après séparation. Ainsi, à la sortie de chaque composé et grâce aux ressources de l'électronique, on observera une déviation vers le haut, puis vers le bas de la plume d'un enregistreur. A chaque arrivée d'un constituant du mélange correspond un pic qui se détache de la ligne de base enregistrée en l'absence de constituant. L'ensemble des pics et de la ligne de base tracée depuis l'injection constitue le «chromatogramme».

Sur ce chromatogramme, l'abscisse des sommets des pics, «le temps de rétention», permet de caractériser qualitativement les constituants du mélange. L'ordonnée des sommets ou la surface comprise entre la ligne de base et le pic permet de mesurer la quantité de chaque soluté séparé dans l'échantillon.

La colonne, l'injecteur et le détecteur sont les trois éléments essentiels du chromatographe.

Cependant, un certain nombre d'organes annexes sont indispensables :

D'abord, comme le temps de rétention en CPG est extrêmement sensible à de très faibles variations de la température de la colonne, il est donc absolument nécessaire que celle-ci soit très soigneusement contrôlée. On utilise généralement un thermostat à bain d'air qui permet soit de fixer la température à une valeur appropriée, soit de la programmer en fonction du temps.

Ceci reste valable pour l'injecteur et le détecteur qui doivent être thermostatés indépendamment. Par ailleurs, plus le gaz porteur est rapide, plus les solutés sortent vite. En outre, la largeur des pics dépend beaucoup de la vitesse du gaz porteur. Celle-ci doit donc être soigneusement contrôlée et régulée pour garantir la reproductibilité des conditions de travail. Enfin la mesure des surfaces des pics et le calcul des concentrations des constituants de l'échantillon sont obtenus au moyen d'un outil de calcul couplé au chromatographe qui fournit directement le bulletin d'analyse.

### 5.2.2. Le gaz vecteur :

Le gaz vecteur ou gaz porteur (en anglais carrier gas) est la phase mobile, dynamique de la CPG. C'est dans son flux qu'on injecte le mélange à analyser, c'est lui qui le véhicule jusqu'au détecteur à travers toute la colonne. Dans la



grande majorité des cas, on lui demande d'être inerte à la fois vis-à-vis des solutés et vis-à-vis des phases stationnaires.

Le gaz vecteur doit être pur, exempt d'eau et d'oxygène qui pourraient réagir avec la phase stationnaire. Concernant les gaz vecteurs, nous pouvons citer les gaz permanents qui sont bien adaptés à un usage en CPG. On a donc le choix entre l'hydrogène, l'hélium, l'azote, les gaz rares tels que l'argon ou le néon.

La nature du gaz vecteur n'a aucune influence sur les valeurs de rétention. Par contre, un certain nombre d'éléments vont intervenir dans son choix tels que :

- le coût de fonctionnement: plus un gaz est pur, plus il est cher sous sa forme commerciale. L'hélium ou l'argon sont plus chers que l'azote à pureté égale. Néanmoins le critère «coût» est assez peu retenu car d'autres, plus importants, obligent l'analyste à ne pas le considérer comme primordial.
- le détecteur à utiliser
- l'efficacité de la colonne à une température donnée et qui est liée à la vitesse linéaire du gaz vecteur.

### 5.2.3. Le Détecteur à Ionisation de Flamme : (abréviation anglaise courante FID)

Décrit pour la première fois en 1958, le détecteur à ionisation de flamme est encore le plus couramment utilisé. Il réunit en effet un nombre important de qualités : grande sensibilité, bonne linéarité, volume mort très faible, quasi-universalité pour les composés organiques. Il s'accommode très bien d'un montage avec une colonne capillaire.

#### 5.2.3.1. Principe de fonctionnement :

Les effluents de la colonne chromatographique et le gaz vecteur pénètrent dans une flamme d'hydrogène. Une arrivée d'air (généralement d'air reconstitué) alimente la combustion par diffusion. Dans cette configuration, les solutés organiques forment des ions qui sont collectés au moyen de deux électrodes entre lesquelles on applique une différence de potentiel. Il en résulte un courant

électrique qui est recueilli par un électromètre transformateur d'impédance qui le transforme en une tension que l'on peut enregistrer.

#### 5.2.4. Les colonnes capillaires :

Les colonnes capillaires sont des tubes vides, aujourd'hui le plus souvent en silice fondue, inertes et flexibles, à l'intérieur desquels la phase stationnaire est déposée sur la paroi interne, sous la forme d'un film aussi régulier que possible. Leur diamètre intérieur est généralement compris entre 0,1 et 0,6 mm, leur longueur entre 10 à 100 m, tandis que l'épaisseur du film varie de 0,1 à 5 µm. Leur avantage essentiel sur les colonnes remplies est de conduire à des pics plus étroits donc à des séparations plus poussées dans le cas de mélanges complexes de produits physiquement voisins, comme les AG dans notre cas. Les critères de qualité des colonnes capillaires concernent, entre autres, l'efficacité, la sélectivité, l'inertie (absence d'adsorption ou de réaction avec les substances analysées), l'absence d'activité catalytique, le domaine de température d'utilisation, l'absence de «bleeding» (perte de phase stationnaire dans la colonne). Tous ces critères dépendent non seulement de la surface intérieure de la colonne capillaire mais également à la fois de la nature de la phase stationnaire et des techniques d'injection dans le chromatographe.

##### 5.2.4.1. La phase stationnaire :

Le succès de la séparation par chromatographie dépend pour une grande part du choix de la phase stationnaire qui est un liquide (ou une gomme ou un polymère réticulé ou même des cristaux liquides) répartis en film mince sur la paroi interne d'une colonne capillaire. La phase stationnaire doit présenter une affinité différente envers les composants de l'échantillon afin que leurs temps de rétention ne soient pas les mêmes et qu'ils arrivent séparément au détecteur. Cette affinité dépend des forces d'interaction soluté-solvant.

Une bonne phase stationnaire doit répondre aux 3 propriétés générales suivantes :

- L'inertie chimique : En règle générale, la phase stationnaire ne doit pas réagir chimiquement avec les substances analysées. Certaines impuretés

de la phase stationnaire ou ses produits de décomposition peuvent également réagir sur les solutés : par exemple, l'oxydation du Carbowax par les traces d'oxygène d'un gaz vecteur impur conduit à la formation d'acétaldéhyde susceptible d'adsorber des amines.

- Limites de température d'emploi : Pour qu'une colonne ait une bonne efficacité, il faut en premier lieu que les échanges entre la phase stationnaire et les solutés soient rapides. Ceci n'est possible que si la phase stationnaire présente une *bonne perméabilité aux solutés*. Ceci n'est réalisable qu'au-dessus d'une certaine température, *la température minimale d'emploi*. Il faut également que la phase stationnaire résiste à la température de l'analyse et la limite supérieure est *la température maximale d'emploi*. Plus le domaine entre ces deux limites est vaste, et plus le nombre d'applications possibles est grand pour la phase stationnaire.
- Température minimale d'emploi : Pour les polymères, une solidification partielle de ces derniers réduit la perméabilité aux solutés et la vitesse d'échange entre la phase gazeuse et la phase stationnaire diminue. Par exemple, une perte d'efficacité très nette a été observée à basse température pour la Carbowax 20M.

#### 5.2.4.2. Les polyéthylène glycols : HO- (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-H

Ils sont préparés par condensation d'oxyde d'éthylène en utilisant des hydroxydes alcalins comme catalyseurs ; ils ont différents poids moléculaires. Par exemple, en fonction des poids moléculaires croissants : PEG 600, PEG 1500 (50 à 85°C), Carbowax 1540 (50 à 200°C), Carbowax 20M (60 à 250°C), CP-Wax 51 (60 à 280°C). Plus le poids moléculaire est élevé, plus la viscosité est grande, plus la solubilité dans les solvants d'imprégnation est faible et plus la polarité diminue.

La Carbowax 20<sup>MD</sup> est une marque déposée d'Union Carbide Corporation. Il est synthétisé par la jonction de molécules de polyéthylène glycol 6000 avec un diépoxyde.

Le FFAP (*Free Fatty Acid Phase*) (0 à 275°C) est le produit de réaction du Carbowax 20M avec l'acide 2-nitrotéréphtalique. Il permet l'analyse des acides gras libres.

Les applications des polyéthylèneglycols comme phases stationnaires sont très nombreuses. Comme ce sont de bons mouillants, ils fournissent d'excellentes colonnes capillaires. Etant donné la grande sensibilité à l'oxygène de ce type de phase, il est recommandé de purger le système chromatographique et de balayer les colonnes de Carbowax 20M par le gaz vecteur avant de commencer à chauffer la colonne.

#### 5.2.5. Injecteurs pour colonnes capillaires :

##### 5.2.5.1. Système d'injection avec division (en anglais «splitter») :

Cet injecteur-diviseur (Cf., Figure 5.2) est le système le plus répandu et le plus ancien pour, d'une part, réaliser un transfert rapide de l'échantillon sur la colonne et d'autre part, diminuer la quantité injectée [177]. Le débit du gaz vecteur et des solutés est ensuite divisé en deux parties, la plus petite arrivant sur la colonne alors que la plus importante est évacuée sur ce que l'on appelle «la fuite». Dans cette ligne de fuite, il y a en général une vanne aiguille permettant de régler le débit de fuite.

- La qualité principale qu'on exige d'un diviseur - et la plus difficile à obtenir - est la linéarité, c'est-à-dire son aptitude à introduire sur la colonne une partie représentative de l'échantillon sans discriminer par exemple les légers aux dépens des lourds. Cette qualité est bien sûr exigée de tout injecteur mais est plus difficile à obtenir avec les diviseurs qu'avec les autres injecteurs en raison du processus de division.

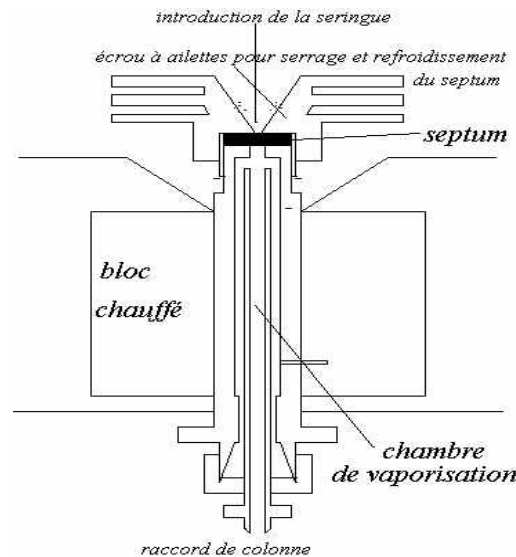


Figure 5.2 : Représentation schématique d'un injecteur-diviseur [177].

#### 5.2.6. Détection par spectrométrie de masse (couplage GC/MS) :

La combinaison en ligne de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse (ou GC/MS) offre de multiples possibilités analytiques et les deux techniques peuvent coupler harmonieusement leurs avantages spécifiques. En résumé, toute substance émergeant de l'extrémité d'une colonne de chromatographie est à priori analysable par une méthode de spectrométrie de masse. La chromatographie est avant tout une méthode séparatrice avec quelques possibilités d'identification; une situation à l'inverse de celle de la spectrométrie de masse, qui est une méthode essentiellement d'identification. Depuis une vingtaine d'années, on a assisté à l'apparition sur le marché de l'instrumentation scientifique de nouveaux spectromètres de masse, moins volumineux et de coût réduit, comparé aux caractéristiques des appareils de spectrométrie de masse conventionnels. Ces nouveaux spectromètres de masse furent également habillés de l'appellation cachée de « détecteurs de masse ». Ce souci de dissimuler un spectromètre de masse derrière la dénomination d'un détecteur chromatographique reste toujours actuel comme en témoigne l'appareil introduit en 1994 par HEWLETT PACKARD, dénommé GCD (pour *Gas Chromatographic Detector*) et dont la documentation commerciale s'efforce de taire qu'il s'agit d'un petit spectromètre de masse à filtre quadrupolaire bien inséré dans le bâti d'un chromatographe qui constitue la partie visible.

La colonne capillaire sort du chromatographe et entre dans le spectromètre de masse via une «ligne de transfert». Il s'agit d'un cylindre intensément chauffé (environ 300°C) de manière à éviter que les molécules éluées ne se recondensent entre les deux appareils. Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des analytes.

Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé «ion moléculaire», permet la détermination de sa «masse molaire». Il peut y avoir rupture des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des «ions fragments» caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés. Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge ( $m/z$ ) par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur. L'ensemble de ces ions fragments constituent le «spectre de masse» dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire.

Le couplage entre le chromatographe et le spectromètre de masse (MS) est très utile, ceci permet d'obtenir la masse et la fragmentation des composés séparés. Cette méthode a l'avantage de ne pas nécessiter de séparation préalable des produits injectés avant leur analyse par spectrométrie de masse. Cette dernière joue également le rôle de détecteur, en lieu et place du FID (Cf. Figure 5.3).

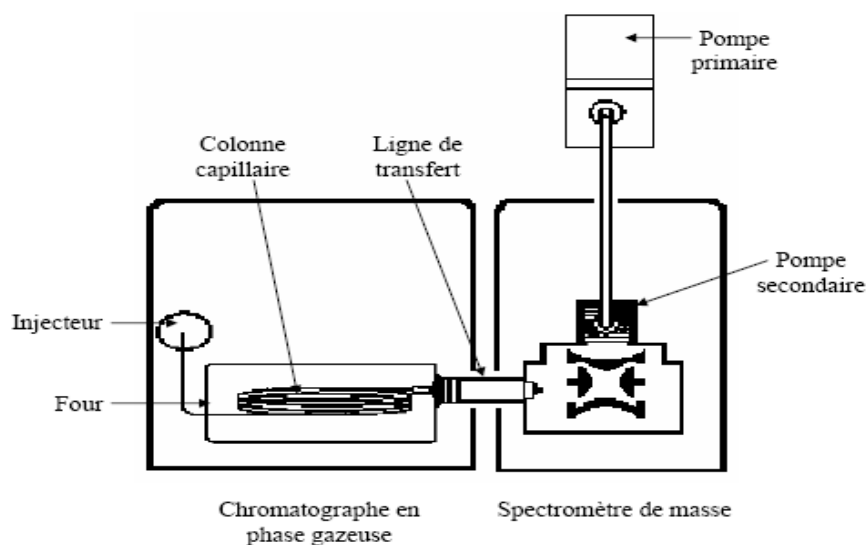


Figure 5.3 : Représentation schématique du couplage GC-MS [177].

### 5.2.6.1. Principales caractéristiques d'un appareil GC-MS compact :

Le mode d'ionisation utilisé dans ce travail étant l'impact électronique (IE), nous reportons ci-dessous les spécifications techniques de GC-MS commerciaux, compacts, disponibles dès 1994 (Cf., Tableau 5.1) [177].

Tableau 5.1 : Spécifications techniques de GC/MS compacts disponibles en 1994 [177].

Fabricant	Modèle	Gamme de masse	Pompage <sup>1</sup> du vide	Interface GC standard	Interface GC en option <sup>2</sup>
Finnigan-Mat	Magnum	10-650	t60	direct	jet, open split
Varian	Saturn 3	10-650	t60	direct	open split
Hewlett Packard	G 1800 (GCD)	1-425	t60	direct	nd
	HP 5972 (MSD)	1,6-700	t60	direct	jet, open split
Perkin Elmer	Q-Mass 910	10-650	t50	direct	Jet
Shimadzu	QP 5000	10-700	t50, t151	direct	jet
ATI-UNICAM	Automass System	4-1000	t60, t240	direct	jet
Fisons	MD 800	2-800	t60-t240	direct	jet
	Trio 1000	2-1000	t240		

Abréviations :

1. t : pompe turbomoléculaire, d : pompe à flux de vapeurs d'huile ; vitesse en l/s selon spécification technique du fabricant du GC/MS.
2. en plus du raccordement à l'aide d'un diviseur d'effluent ou d'un restricteur.

## 6. PARTIE EXPERIMENTALE

### 6.1. Matériel :

#### 6.1.1. Choix des animaux :

La présente étude a été menée dans une exploitation privée d'élevage de bovins laitiers située dans la région de Chaiba (W.Tipaza). Elle a été choisie en raison de l'importance de son effectif (135 vaches en lactation dont 52 en 4<sup>ème</sup> lactation) qui permet une sélection aisée des animaux.

Sur la base d'un même type génétique (race Holstein), d'un même rang de lactation (4<sup>ème</sup> lactation), d'un statut sanitaire sain vis-à-vis des infections mammaires (à l'examen clinique et au test CMT), un lot de 12 vaches a été sélectionné à différentes périodes de leurs lactations de sorte que les prélèvements effectués couvrent une lactation théorique de 10 mois.

Pour chaque vache sélectionnée, nous avons pris en considération :

- la date de son dernier vêlage.
- une durée minimale de 17 jours et maximale de 35 jours pour couvrir une lactation théorique de 300 jours.

L'alimentation distribuée, identique pour l'ensemble des 12 vaches multipares ; est basée, selon les informations recueillies auprès de l'éleveur d'un fourrage distribué *ad libitum* (foin de luzerne), et d'aliments concentrés (maïs, orge, son, tourteaux de soja) ainsi que d'une complémentation minéralo-vitaminée (CMV). Ni la matière sèche ingérée, ni la production laitière journalière n'ont été mesurées.



### 6.1.2. Prélèvements :

Les prélèvements des sécrétions mammaires ont été réalisés au moment de la traite du soir, comme suit :

- la récolte d'un échantillon de colostrum sur une vache ayant vêlé ce jour (27 juin 2006 = J<sub>0</sub>).
- la récolte de douze échantillons de lait de mélange des quatre quartiers (08 juillet 2006) sur 11 autres vaches, à des périodes différentes de leurs lactations, c'est-à-dire à J<sub>35</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>98</sub>, J<sub>128</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>172</sub>, J<sub>204</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>262</sub>, J<sub>279</sub> et J<sub>299</sub> de façon à couvrir une lactation théorique [178] comme schématisé dans la Figure 6.1 et le Tableau 6.1.
- la récolte de vingt échantillons de lait de quartier sur 5 autres vaches (J<sub>0</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub> et J<sub>299</sub>).

Tableau 6.1 : Protocole de prélèvement des échantillons de sécrétions mammaires (colostrum et lait).

Numéro	Numéro d'identification de l'animal	Date du dernier vêlage de l'animal	Numéro de lactation de l'animal	Stade de lactation de l'animal	Date du prélèvement
N°1	3458	27/06/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>0</sub>	27/06/06
N°2	3431	03/06/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>35</sub>	08/07/06
N°3	3085	30/04/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>69</sub>	08/07/06
N°4	2972	01/04/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>98</sub>	08/07/06
N°5	3425	02/03/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>128</sub>	08/07/06
N°6	3462	07/02/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>151</sub>	08/07/06
N°7	3417	17/01/06	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>172</sub>	08/07/06
N°8	2620	16/12/05	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>204</sub>	08/07/06
N°9	2546	12/11/05	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>238</sub>	08/07/06
N°10	3427	19/10/05	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>262</sub>	08/07/06
N°11	2699	02/10/05	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>279</sub>	08/07/06
N°12	3459	12/09/05	4 <sup>ème</sup> Lactation	J <sub>299</sub>	08/07/06

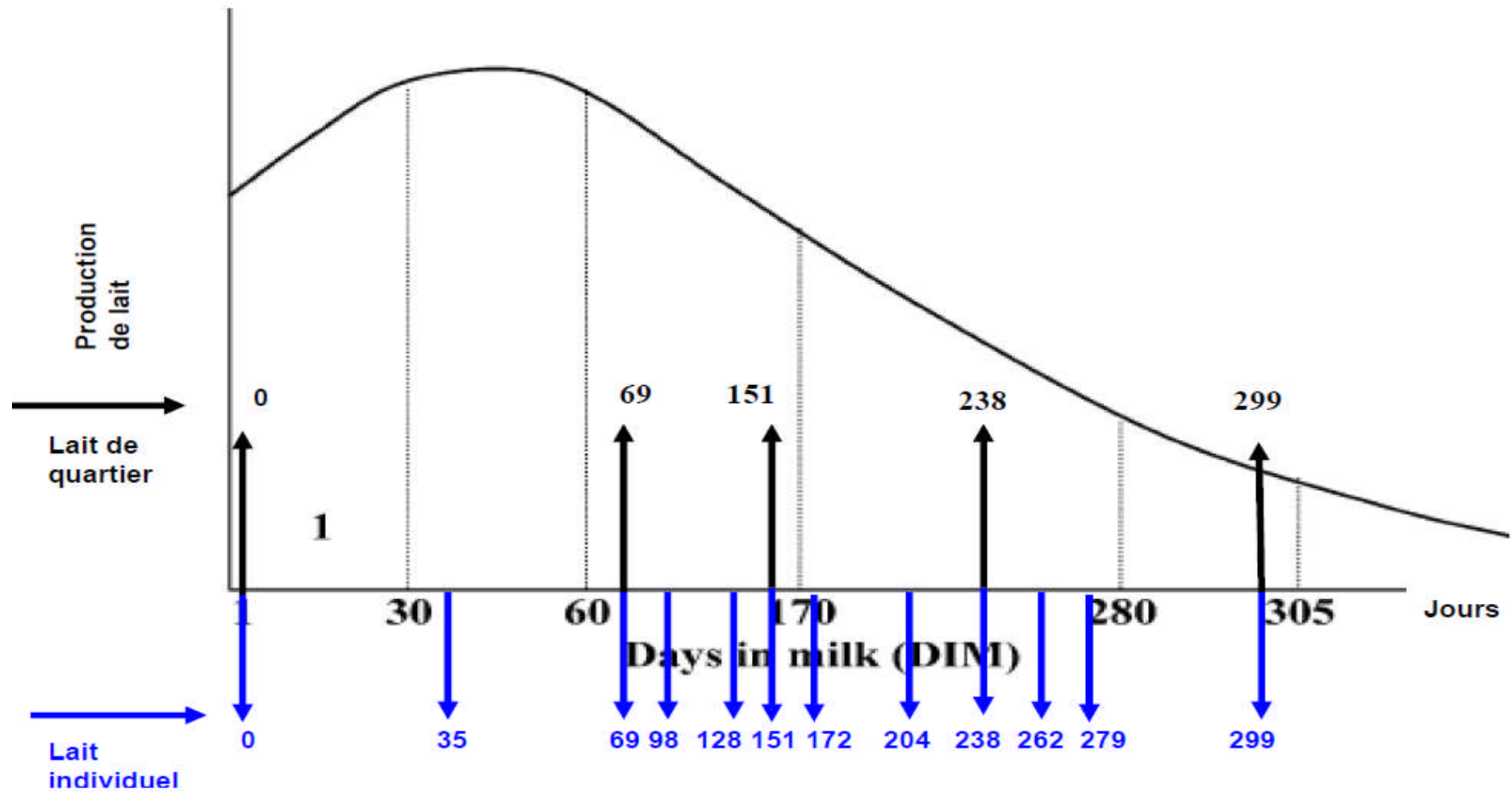


Figure 6.1: Protocole de prélèvement des échantillons selon une courbe de lactation standard [178].

### 6.1.3. Conditionnement du lait :

Le lait est prélevé proprement dans des flacons en verre stériles d'une capacité de 100 mL et identifiés par une étiquette portant les informations sur la date du prélèvement, le numéro d'identification de la vache et du quartier échantillonné.

### 6.1.4. Acheminement :

A partir du moment où les prélèvements sont réalisés à la ferme, les échantillons sont acheminés dans une boîte isotherme (environ + 4°C) au Laboratoire de Chimie Organique et Fonctionnelle de la Faculté de Chimie à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) puis stockés à -18°C (conservation de 1 à 16 jours, en fonction de la date à laquelle ils ont été analysés).

### 6.1.5. Réactifs et solvants :

- Hexane
- Propanol-2 (Isopropanol)
- Sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- Trifluorure de bore ( $\text{BF}_3$ ) /Méthanol (12 %)
- Chlorure de sodium (NaCl)
- Mélange standard de 37 esters méthyliques d'acides gras (Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA ; Référence N°: 47885-U), le pourcentage en poids de chaque composé (solution à 10mg/mL dans du chlorure de méthylène) étant connu.
- Eau distillée.

### 6.1.6. Appareillages :

- Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA type 3K30).
- Agitateur magnétique
- Plaque chauffante avec agitation magnétique.
- Bain marie (100°C).

- Balance de précision (SLALTEC, maximum de pesée : 210g).

## 6.2. Méthode :

L'analyse des échantillons par GC/FID a été menée sur les quatre quartiers de chacune des VL à J<sub>0</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub> afin d'examiner les éventuels changements dans composition de la MG par la prise en compte des facteurs de variation au sein d'un même individu [179].

Toutefois en raison des coûts élevés et de la disponibilité limitée des solvants d'extraction de la MG, seule l'analyse des échantillons sur le lait individuel (mélange des quatre quartiers) a été menée par GC/MS.

Afin d'atteindre notre objectif qui reste l'identification des acides gras sous forme d'esters méthyliques et leur caractérisation semi quantitative, les échantillons ont suivi deux étapes successives :

- ❖ l'extraction de la MG.
- ❖ la *trans*-esterification des AG.

### 6.2.1 Extraction de la matière grasse :

La matière grasse des sécrétions mammaires est extraite selon la méthode de Hara et Radin [180] modifiée par Feng et al. [181].

Environ 20 mL de chaque prélèvement (colostrum ou lait), versés dans des tubes en polypropylène gradués à bouchons vissés de 50mL (tube Falcone) sont centrifugés à 3000 rotations par minute (17800xg) pendant 30 minutes à + 4°C (Cf. Figure 6.2).



Figure 6.2 : Etape de la centrifugation.

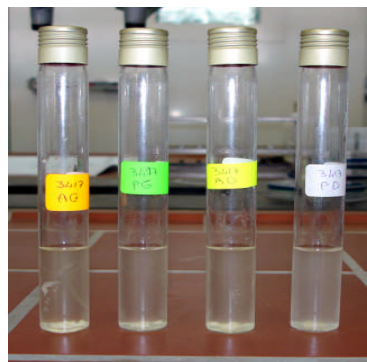
Après centrifugation, une aliquote de 350 à 400mg de la partie supérieure de la couche de graisse est prélevée à l'aide d'une spatule en acier inoxydable puis placée dans un tube en verre à bouchon vissé de 20 mL environ, résistant aux solvants et préalablement rincé à l'Hexane (Cf. Figure 6.3).



**ArG ArD PrG PrD**

Figure 6.3 : Etape du prélèvement de la couche de matière grasse.

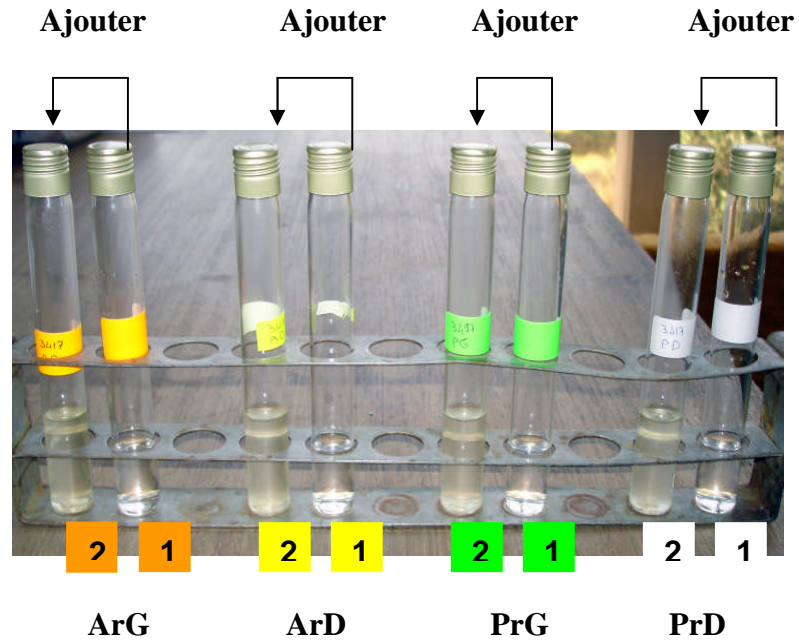
Pour solubiliser la MG recueillie, un mélange d'Hexane et d'Isopropanol (dans un rapport 3v/2v) est ajouté à raison de 18 mL/g de MG. La suspension ainsi obtenue est homogénéisée par agitation au vortex pendant 1 minute environ (Cf. Figure 6.4).



**ArG PrG ArD PrD**

Figure 6.4 : Ajout des 2 solvants organiques (Hexane et Isopropanol).

Une solution de sulfate de sodium (6,7% dans l'eau distillée) est ajoutée à raison de 12 mL/g de MG (Cf. Figure 6.5).



(1) Solution de Sulfate de sodium.

(2) MG dans les solvants organiques.

Figure 6.5 : Préparation d'une solution de Sulfate de sodium (échantillon au stade de la lactation à J<sub>172</sub>)

L'ensemble ainsi obtenu est soumis à une agitation magnétique pendant 1 minute environ, on laisse reposer jusqu'à obtention distincte des 2 phases organique et aqueuse (Cf., Figure 6.6).

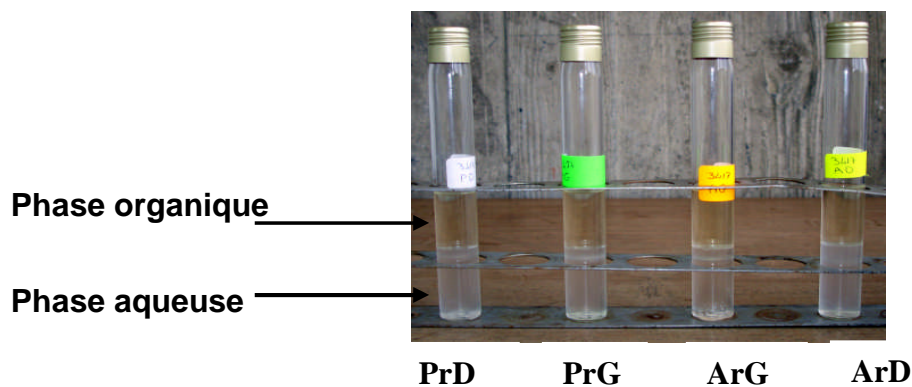
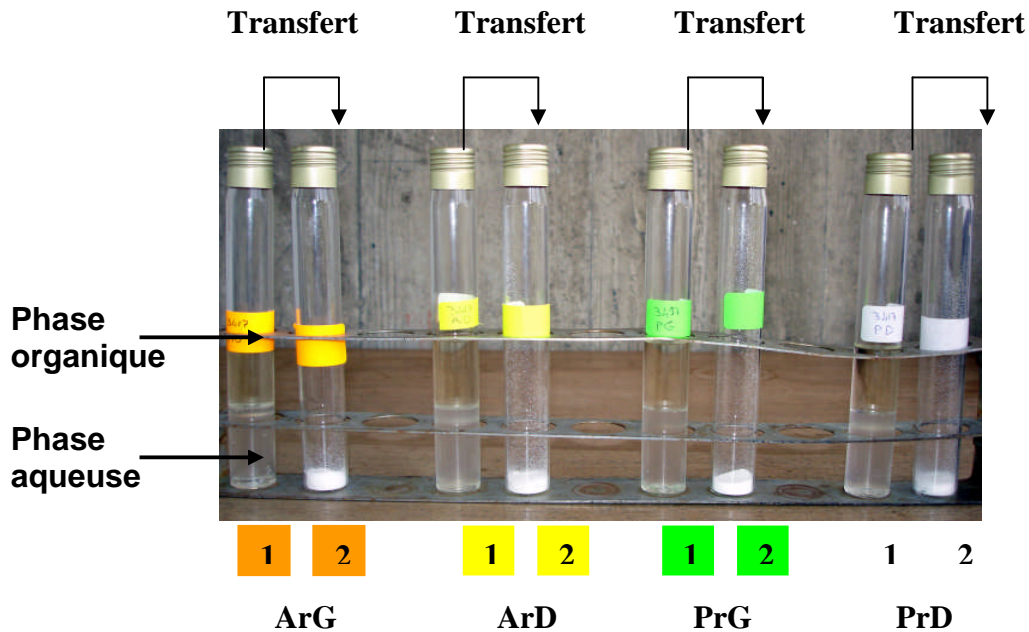


Figure 6.6 : Séparation en 2 couches, la couche supérieure ou phase organique contenant l'Hexane et les lipides.

La couche supérieure d'Hexane est transférée à l'aide d'une pipette Pasteur dans un autre tube en verre de 20 mL préalablement rincé à l'Hexane et contenant 1g de «Sulfate de sodium anhydre» pour éliminer toute trace d'eau (Cf. Figure 6.7). On laisse alors reposer durant 30 minutes environ.



Tube (1) contenant la couche supérieure d'Hexane

Tube (2) contenant du sulfate de sodium anhydre

Figure 6.7 : Transfert de la couche supérieure d'Hexane dans 1g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre.

La couche supérieure, constituée d'Hexane et des lipides présents dans le lait, est transférée à l'aide d'une pipette Pasteur dans un flacon ambré à bouchon vissé d'une contenance de 3 mL préalablement rincé à l'Hexane.

Le contenu du flacon est alors évaporé sous courant d'azote en tenant ce dernier maintenu à une température de  $40^\circ\text{C}$  à l'aide d'une plaque chauffante, pendant environ 30 minutes, et ce jusqu'à ce que le changement de poids soit d'environ 1g (Cf. Figure 6.8).



Figure 6.8 : Evaporation de l'Hexane sous courant d'azote.

### 6.2.2. Trans-esterification :

Après évaporation de l'Hexane sous courant d'azote, l'échantillon va subir une *trans*-estérification.

La *trans*-estérification des AG a été réalisée par méthylation en catalyse acide au Trifluorure de Bore dans le Méthanol selon la méthode de Morrison et Smith [165] :

On ajoute à l'échantillon 1mL d'une solution de Trifluorure de Bore dans le Méthanol à 12%.

Le tube est alors fermé et porté à ébullition (100°C) dans un bain marie pendant 20 à 25 minutes.

On laisse durant 20 minutes refroidir à température ambiante puis on ajoute à la solution obtenue 1 mL d'Hexane.

On verse alors 1 mL de solution saturée de Chlorure de Sodium et on soumet le mélange obtenu à une agitation magnétique. On laisse reposer pendant 20 minutes et on transfère la phase organique obtenue à l'aide d'une pipette Pasteur dans un petit flacon ambré à bouchon vissé, qui sera placé à -18°C jusqu'au jour de son analyse par les équipements GC/MS et GC/FID.

### 6.2.3. Conditions chromatographiques :

#### 6.2.3.1. Appareillage :

- Chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard Co., modèle 6890) équipé d'un Spectromètre de masse (Hewlett Packard Co., modèle 5973),



comme présenté dans les Figures 6.9 et 6.10 et d'un logiciel de traitement des données MSD Chemstation.

- Chromatographe en phase gazeuse (Hewlett Packard Co., modèle 6890) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).
- Deux colonnes capillaires de type polyéthylène glycol (PEG) ont été utilisées :
  - Restek Co., Stabilwax-DA, 60m, 0,25mm diamètre interne (d.i.), épaisseur de film 0,25  $\mu\text{m}$  (USA) pour le GC/MS.
  - Hewlett Packard Co., HP-Wax, 60m, 0,32 mm de diamètre interne (d.i.), épaisseur de film 0,15  $\mu\text{m}$  (USA) pour le GC/FID.

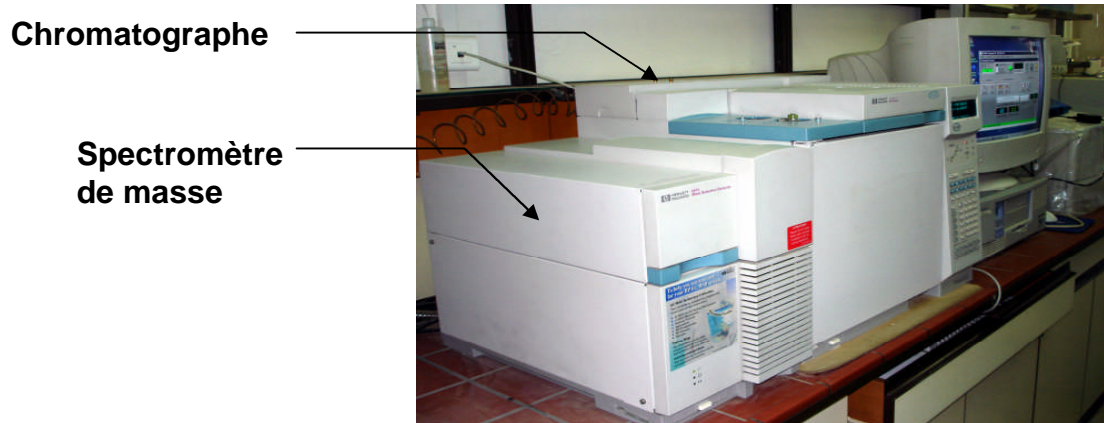


Figure 6.9 : Chromatographe en phase gazeuse et Spectromètre de masse vue de face.

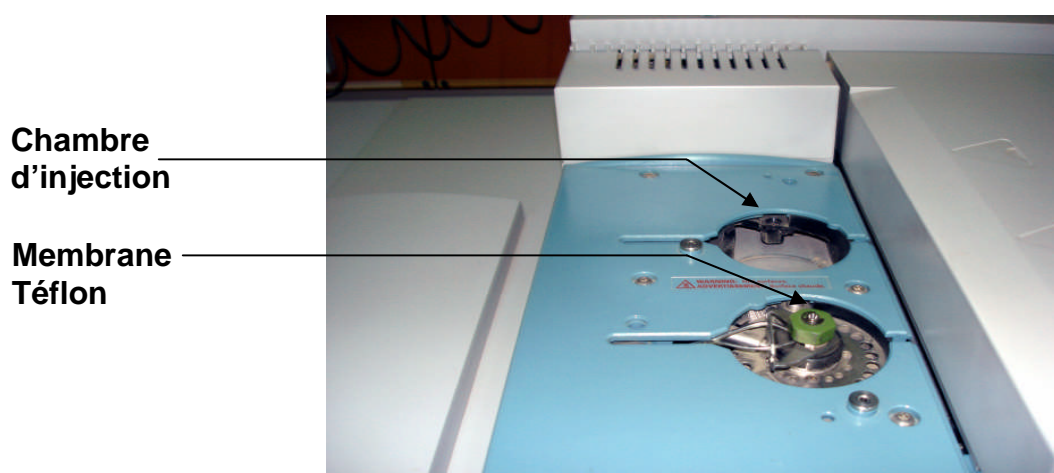


Figure 6.10 : Chromatographe en phase gazeuse en vue dorsale.

### 6.2.3.2. Principe de fonctionnement :

La phase organique prélevée par *trans*-esterification est d'abord introduite en tête de colonne par l'intermédiaire d'une micro-seringue (rincée au solvant volatil avant et après chaque utilisation) qui va traverser une pastille en caoutchouc, appelée «septum», pour se retrouver dans «l'injecteur».

La température de l'injecteur est de 250°C pour le GC/MS et de 220°C pour le GC/FID (la chambre d'injection doit être à une température plus élevée que celle de la colonne pour faciliter l'évaporation des échantillons).

Dans notre travail, le «gaz vecteur» utilisé est l'hélium pour le GC/MS (débit du gaz vecteur: 0,5 mL.min<sup>-1</sup>) et l'azote pour le GC/FID (débit du gaz vecteur: 0,82 mL.min<sup>-1</sup>).

Le volume injecté est de 1µL, et le mode d'injection retenu «Split» (rapport de division 1/20) ne laisse entrer dans la colonne qu'une petite partie du volume injecté. Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique: «la colonne analytique».

Dans notre expérimentation (chromatographie en phase gazeuse seule ou couplée à la spectrométrie de masse), nous avons adopté une programmation de température proche de celle des expérimentations [182, 183] portant sur l'analyse de la MG des sécrétions mammaires où une colonne de type PEGs fut utilisée :

- la température de départ de 40°C est maintenue pendant 4 minutes où des composés volatils à chaînes courtes de type C4:0 [182, 183] sont élués.
- une programmation de la température est engagée alors à raison de 10°C/minute jusqu'à 140°C où un pallier est observé à ce stade durant 1 minute.
- puis la température est à nouveau programmée à raison de 5°C/minute jusqu'à 220°C.
- enfin, une isotherme à cette température est observée durant 40 minutes.

La température du détecteur dans l'expérimentation est de l'ordre de 250°C.

#### 6.2.4. Traitement des données :

La chromatographie en phase gazeuse couplée ou non à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse immédiate qualitative et semi quantitative. Les solutés sont caractérisés par leurs temps d'émergence ou temps de rétention, qui est comparé à celui d'un étalon.

L'aire ou surface des pics est proportionnelle à la concentration des solutés. L'identification et la caractérisation semi-quantitative des EMAG sont exécutées par un logiciel de traitement des données MSD ChemStation (Hewlett Packard Co., G 1701BA version B.01.00, 1989-1998).

Les ChemStations pour CPG sont des modules de contrôle d'instruments, d'acquisition et d'évaluation de données [184] notamment l'intégration, la quantification et la génération de rapports pour CPG (dans cette présente étude, le modèle Hewlett Packard de type 6890).

##### 6.2.4.1. Paramétrage du logiciel ChemStation :

Le logiciel ChemStation requiert le système d'exploitation Microsoft Windows XP Professionnel SP3 ou Windows Vista Professionnel SP1. La fonction tableur du logiciel ChemStation requiert MicroSoft Excel.

##### 6.2.4.1.1 Modèle de données :

Le logiciel ChemStation est conçu sur un modèle de données reposant sur une structure de mémoire appelée «registre».

Les registres sont des structures polyvalentes capables de contenir des informations et des données d'analyses à la fois pour les valeurs en deux dimensions (par exemple, temps/intensité) et en trois dimensions (par exemple, temps/intensité/longueur d'onde).

Le logiciel ChemStation fournit des commandes et des fonctions visant à construire, à développer, à extraire les registres, suivant le protocole suivant :

- Acquisition des données: au cours d'une acquisition de données, tous les signaux analogiques acquis par l'instrument d'analyse sont convertis en signaux numériques dans le détecteur. Le signal numérique est ensuite

transmis électroniquement au logiciel ChemStation et est stocké dans le fichier de données de signaux.

- Analyse des données : l'intégration identifie les pics dans un signal et calcule leurs tailles. L'intégration est une étape indispensable pour la quantification, les calculs de pureté des pics et la recherche de bibliothèques spectrales.

#### 6.2.4.1.2. Description :

Lorsqu'un signal est intégré, le logiciel :

- identifie les temps de début et de fin de chaque pic.
- détecte le sommet de chaque pic.
- construit une ligne de base, et calcule l'aire, la hauteur et la largeur de chaque pic.

Ce processus est contrôlé par des paramètres appelés «événements d'intégration».

#### 6.2.4.2. Intégration :

L'intégration conformément aux paramètres de la boîte de dialogue «événements d'intégration» est exécuté par le logiciel :

- pour chaque pic, le début, le sommet, le temps de rétention / de migration et la fin de celle-ci sont déterminés.
- des lignes de base sont définies pour chaque pic, afin de déterminer l'aire et la hauteur du pic final.
- les résultats d'intégration sont générés sous la forme d'une liste de résultats.

La dernière étape de l'intégration du pic consiste à déterminer son «aire finale».

L'aire du pic est calculée à partir du contenu du fichier de «points cardinaux», qui sont des points sélectionnés par l'intégrateur pour définir et quantifier un pic.

### 6.2.4.3. Identification des pics :

L'identification des composants d'un échantillon est une étape nécessaire dans la quantification. Les caractéristiques du signal de chaque composant concerné sont stockées dans la table d'étalonnage de la méthode.

L'objectif de la procédure d'identification des pics vise à comparer chaque pic du signal aux pics stockés dans la table d'étalonnage. La table d'étalonnage contient les temps de rétention/migration prévus pour les composants concernés. Un pic correspondant au temps de rétention/migration d'un pic dans la table d'étalonnage reçoit les attributs de ce composant.

#### 6.2.4.3.1. Procédure d'identification des pics :

Lorsqu'il tente d'identifier les pics, le logiciel réalise au niveau des données d'intégration ce qui suit:

- Recherche des pics de référence : la première passe vise à identifier les pics de référence. Le logiciel examine les temps de rétention/migration des pics provenant d'une analyse, pour trouver des correspondances dans les fenêtres de rétention/migration des pics de référence dans la table d'étalonnage. Un pic de l'analyse est identifié comme pic de référence dans la table d'étalonnage si son temps de rétention/migration se situe dans la fenêtre construite pour le pic de la table d'étalonnage. Si une fenêtre contient plusieurs pics, le pic avec l'aire la plus grande ou la hauteur la plus élevée, est alors désigné comme pic de référence. Une fois chaque pic de référence trouvé, la différence entre son temps de rétention/migration et celle qui figure dans la table d'étalonnage, est utilisée pour ajuster les temps de rétention/migration prévus de tous les autres pics dans la table d'étalonnage.
- Classification des pics non identifiés: s'il reste des pics non identifiés, ils sont répertoriés dans la catégorie des pics inconnus.

#### 6.2.4.4. Quantification :

Une fois que les pics ont été intégrés et identifiés, l'étape suivante de l'analyse est la «quantification». La quantification utilise l'aire ou la hauteur de pic pour déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon.

#### 6.2.4.5. Calculs dans la quantification :

La quantification repose sur différents calculs (% normalisé) visant l'aire ou la hauteur du pic en utilisant les temps de rétention/migration et les qualificatifs de pic facultatifs, le logiciel identifie les pics en les associant aux composants connus définis dans la table d'étalonnage.

Le logiciel utilise la hauteur ou l'aire des pics pour calculer la quantité de chacun des composants détectés à l'aide des paramètres d'étalonnage spécifiés dans la table d'étalonnage.

#### 6.2.5. Etapes d'exécution de la méthode d'exploitation des données :

Le fonctionnement d'une méthode est décomposé sur la liste ci-dessous (cas où tous les éléments de la liste de vérification de l'exécution sont sélectionnés) :

- Lancement du programme d'injection de l'échantillon.
- Acquisition et stockage des données brutes.
- Enregistrement avec les données d'une copie de la méthode.
- Analyse des données (traitement des données).
- Chargement et intégration du fichier de données.
- Identification et quantification des pics.
- Recherche dans la bibliothèque spectrale.
- Vérification de la pureté des pics.
- Impression du rapport.

### 6.3. Résultats et discussion :

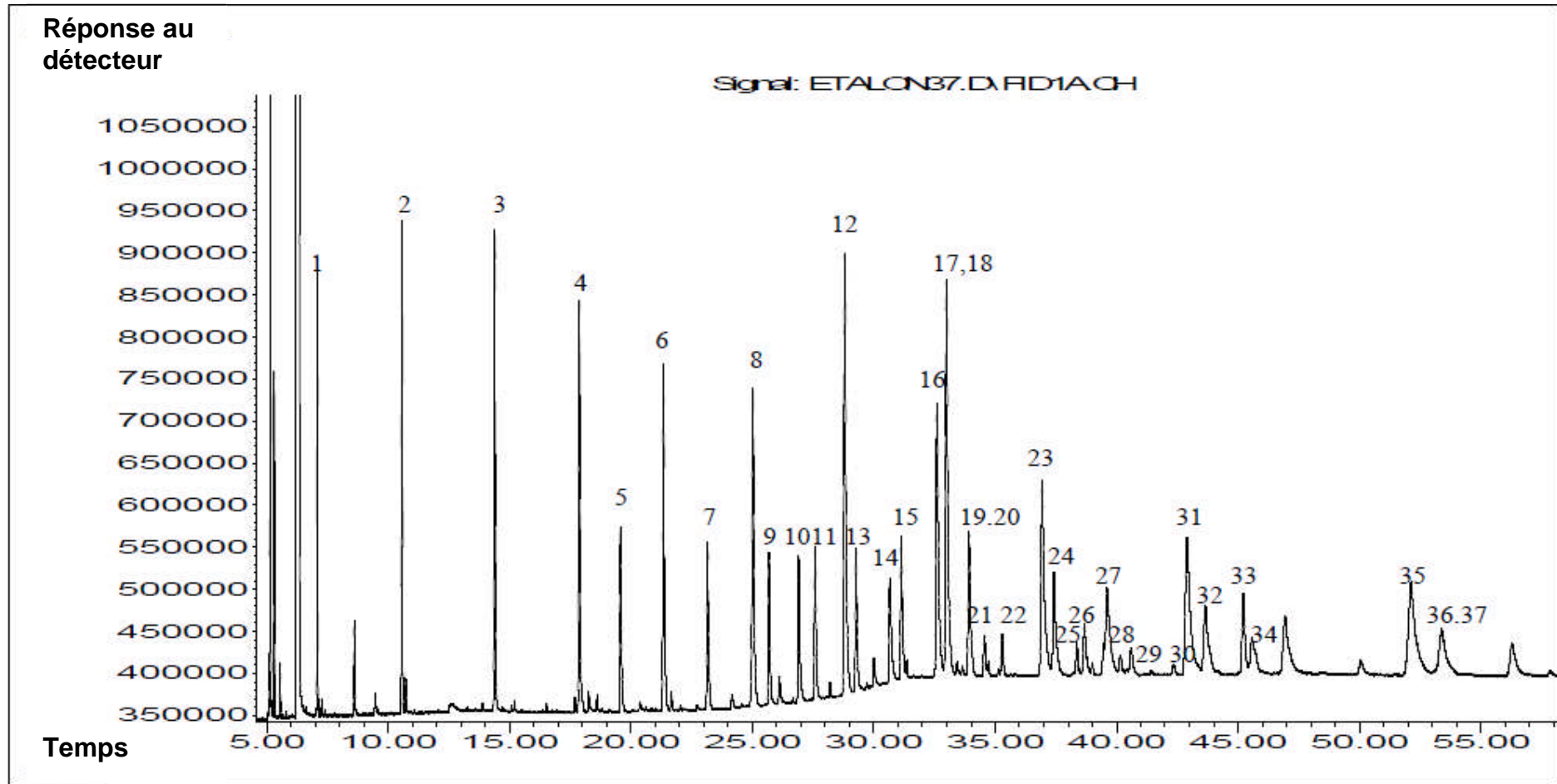
#### 6.3.1. Analyse des solutés injectés :

Notre étude sur l'analyse de sécrétions lactées de vaches à différentes périodes de leurs lactations par l'emploi de deux techniques d'analyse, à savoir la Chromatographie en Phase Gazeuse, avec détection par ionisation de flamme (GC/FID) et la Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS) a conduit aux résultats suivants :

##### 6.3.1.1. Identification des pics chromatographiques par GC/FID :

L'identification des pics chromatographiques des 20 solutés issus des laits de quartiers, a été menée en comparant l'ordre d'élution ainsi que les temps de rétention  $t_R$  des pics obtenus à ceux d'une solution étalon préparée à partir d'un mélange de 37 esters méthyliques d'AG commerciaux de très haute pureté. L'injection du mélange étalon des esters méthyliques d'AG, effectuée en chromatographie en phase gazeuse, sous les mêmes conditions opératoires que celles de l'échantillon de MG issue des sécrétions lactées à analyser, a permis de confirmer d'une part, l'ordre d'élution et d'autre part, l'identification (sous forme estérifiée) des principaux pics chromatographiques d'acides gras (Cf. Figure 6.11). Les 37 esters méthyliques d'AG composant la solution étalon ont été identifiés sur une colonne capillaire (60 mètres de long ; 0,32 mm de diamètre intérieur) recouverte d'une phase stationnaire de type HP-Wax (0,15  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de film) comme rapportés simultanément dans la Figure 6.11 et dans le Tableau 6.2, en comparant les caractéristiques chromatographiques (ordre d'élution) des pics obtenus avec cette phase stationnaire à celles d'une autre, DB-WAX [185], commercialisée et correspondant à une même famille chimique, celle des PEG (Cf. Figure 6.12).

Après leur injection en GC/FID et leur caractérisation sous forme estérifiée, l'analyse des 20 échantillons de MG issue de sécrétions lactées a révélé l'existence de 17 AG, à chaînes courtes, moyennes et longues, saturés et/ou insaturés (Cf. Figures 6.13 à 6.15 et Tableaux 6.3 et 6.4).



(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C11:0, (6) C12:0, (7) C13:0, (8) C14:0, (9) C14:1, (10) C15:0, (11) C15:1, (12) C16:0, (13) C16:1, (14) C17:0, (15) C17:1, (16) C18:0, (17) C18:1c, (18) C18:1t, (19) C18:2 9c,12c, (20) C18:2 9t, 12t, (21) C18:3 n6, (22) C18:3 n3, (23) C20:0, (24) C20:1, (25) C20:2, (26) C20:3 n6, (27) C21:0, (28) C20:3 n3, (29) C20:4 n6, (30) C20:5 n3, (31) C22:0, (32) C22:1, (33) C22:2, (34) C23:0, (35) C24:0, (36) C22:6, (37) C24:1

Figure 6.11: Identification par GC/FID de 37 EMAG, étalons commerciaux (Supelco, Référence N° : 47885-U mixture de 37 EMAG).



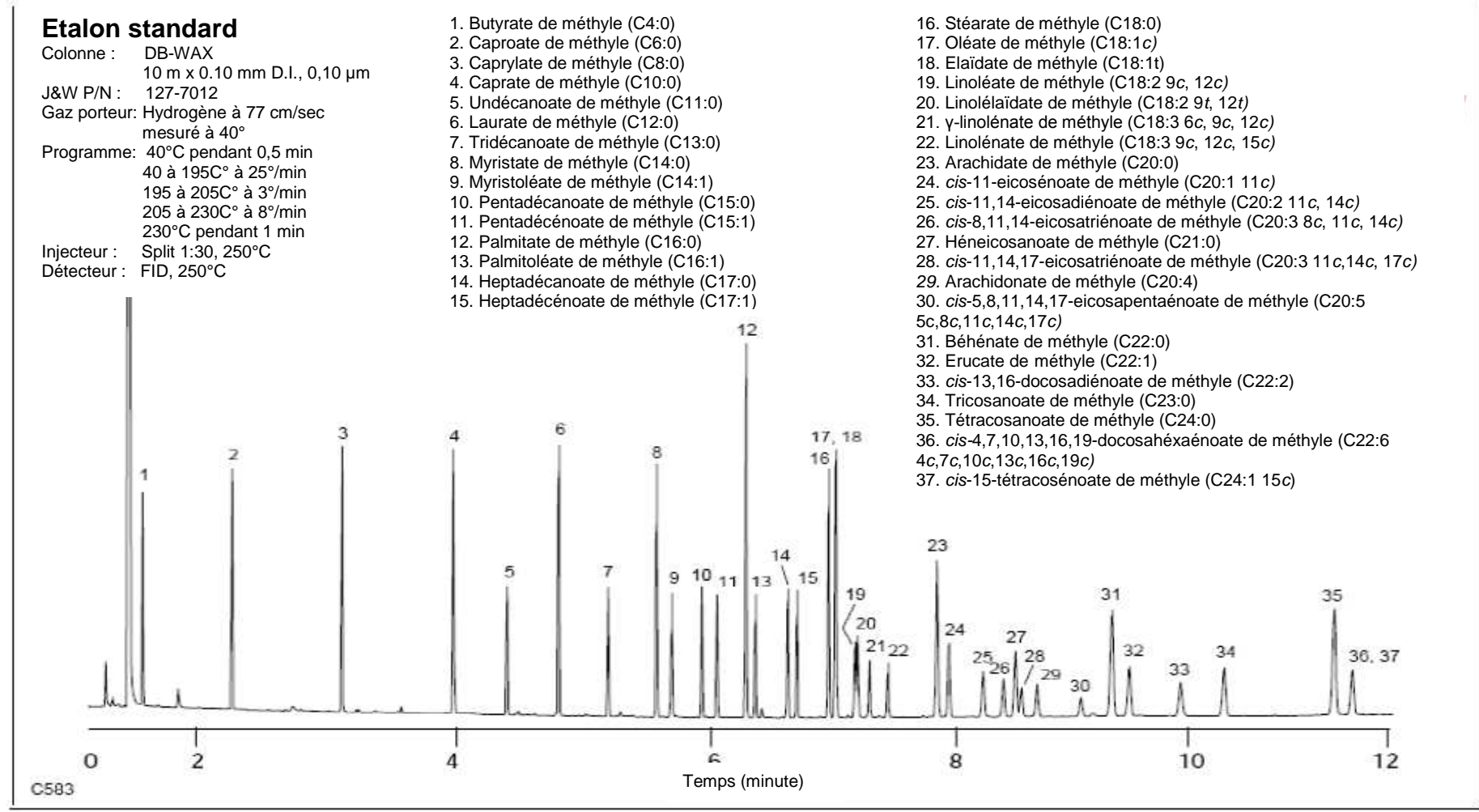


Figure 6.12: Identification des 37 EMAG à partir d'un étalon standard du commerce sur une colonne de type PEG [185].

Tableau 6.2: Ordre d'élution et  $t_R$  de 37 EMAG, étalons commerciaux en GC/FID.

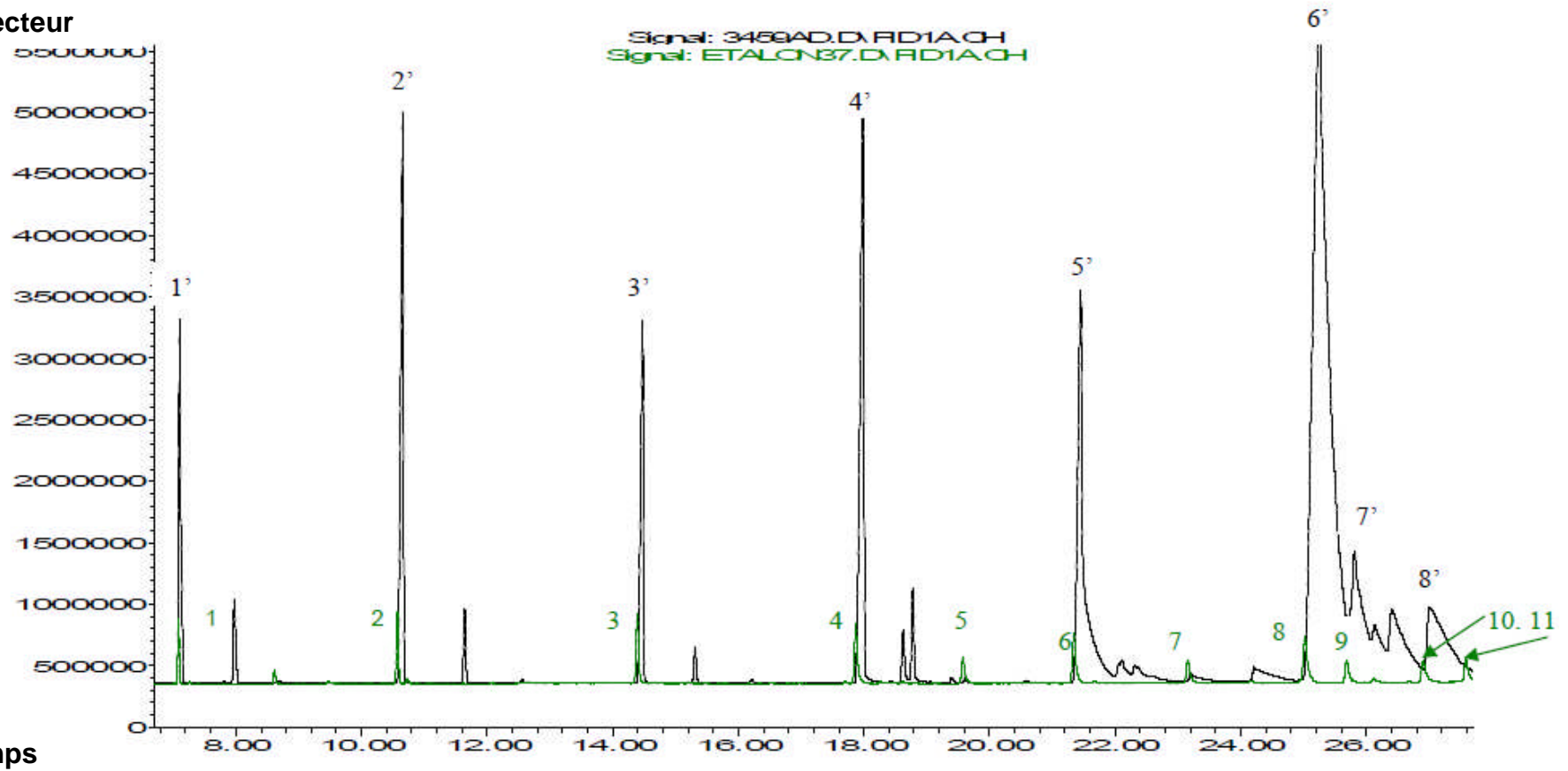
Pic N°	Nomenclature Abrégée	Nomenclature Triviale	Masse Moléculaire	$t_R$ (min)	Abondance du Pic (%)
1	C4:0	butyrate de méthyle	102.07	7.09	2,36
2	C6:0	caproate de méthyle	130.10	10.57	3,39
3	C8:0	caprylate de méthyle	158.13	14.39	4,18
4	C10:0	caprate de méthyle	186.16	17.87	4,31
5	C11:0	undécanoate de méthyle	200.32	19.58	2,07
6	C12:0	laurate de méthyle	214.19	21.34	4,17
7	C13:0	tridécanoate de méthyle	228.21	23.16	2,16
8	C14:0	myristate de méthyle	242.22	25.02	4,78
9	C14:1	myristoléate de méthyle	240,21	25.69	2
10	C15:0	pentadécanoate de méthyle	256.24	26.90	2,36
11	C15:1	pentadécénoate de méthyle	254.41	27.59	2,15
12	C16:0	palmitate de méthyle	270.26	28.81	7,63
13	C16:1	palmitoléate de méthyle	268.24	29.27	2,11
14	C17:0	heptadécanoate de méthyle	284.27	30.67	1,87
15	C17:1	heptadécénoate de méthyle	282.46	31.14	2,19
16	C18:0	stéarate de méthyle	298.29	32.61	5,88
17	C18:1 <i>c</i>	oléate de méthyle	296.27	32.99	8,05
18	C18:1 <i>t</i>	elaïdate de méthyle	296.49	32.99	
19	C18:2 9 <i>c</i> , 12 <i>c</i>	linoléate de méthyle	294.26	33.93	2,85

Suite du Tableau 6.2: Ordre d'élution et  $t_R$  de 37 EMAG, étalons commerciaux en GC/FID.

T: Elément à l'état de trace non intégré par le computer du fait de la faible valeur de la surface comparée aux autres.

20	C18:2 9 <i>t</i> , 12 <i>t</i>	linoléaïdate de méthyle	294.26	33.93	
21	C18:3 6 <i>c</i> , 9 <i>c</i> , 12 <i>c</i>	$\gamma$ -linoléate de méthyle	292.46	34.56	0,54
22	C18:3 9 <i>c</i> , 12 <i>c</i> , 15 <i>c</i>	linoléate de méthyle	292.24	35.29	0,7
23	C20:0	arachidate de méthyle	326.32	36.94	5,54
24	C20:1 11 <i>c</i>	<i>cis</i> -11-eicosénoate de méthyle	324.54	37.42	2,69
25	C20:2 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i>	<i>cis</i> -11,14-eicosadiénoate de méthyle	322.53	38.36	0,51
26	C20:3 8 <i>c</i> , 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i>	<i>cis</i> -8,11,14-eicosatriénoate de méthyle	320	38.67	1,17
27	C21:0	hénéicosanoate de méthyle	340.58	39.61	3,03
28	C20:3 11 <i>c</i> ,14 <i>c</i> , 17 <i>c</i>	<i>cis</i> -11,14,17-eicosatriénoate de méthyle	320.51	40.2	T
29	C20:4	arachidonate de méthyle	332	40.6	0,72
30	C20:5 5 <i>c</i> ,8 <i>c</i> ,11 <i>c</i> ,14 <i>c</i> ,17 <i>c</i>	<i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaénoate de méthyle	316.48	42.3	T
31	C22:0	béhénate de méthyle	354.61	42.90	5,97
32	C22:1	erucate de méthyle	352.59	43.66	2,64
33	C22:2	<i>cis</i> -13,16-docosadiénoate de méthyle	350.58	45.22	2,1
34	C23:0	tricosanoate de méthyle	368.64	45.58	1,54
35	C24:0	tétracosanoate de méthyle	382.66	52.13	5,7
36	C22:6 4 <i>c</i> ,7 <i>c</i> ,10 <i>c</i> ,13 <i>c</i> ,16 <i>c</i> ,19 <i>c</i>	<i>cis</i> -4,7,10,13,16,19-docosahéxaénoate de méthyle	342.51	53.39	2,61
37	C24:1 15 <i>c</i>	<i>cis</i> -15-tétracosénoate de méthyle	380.65	53.39	

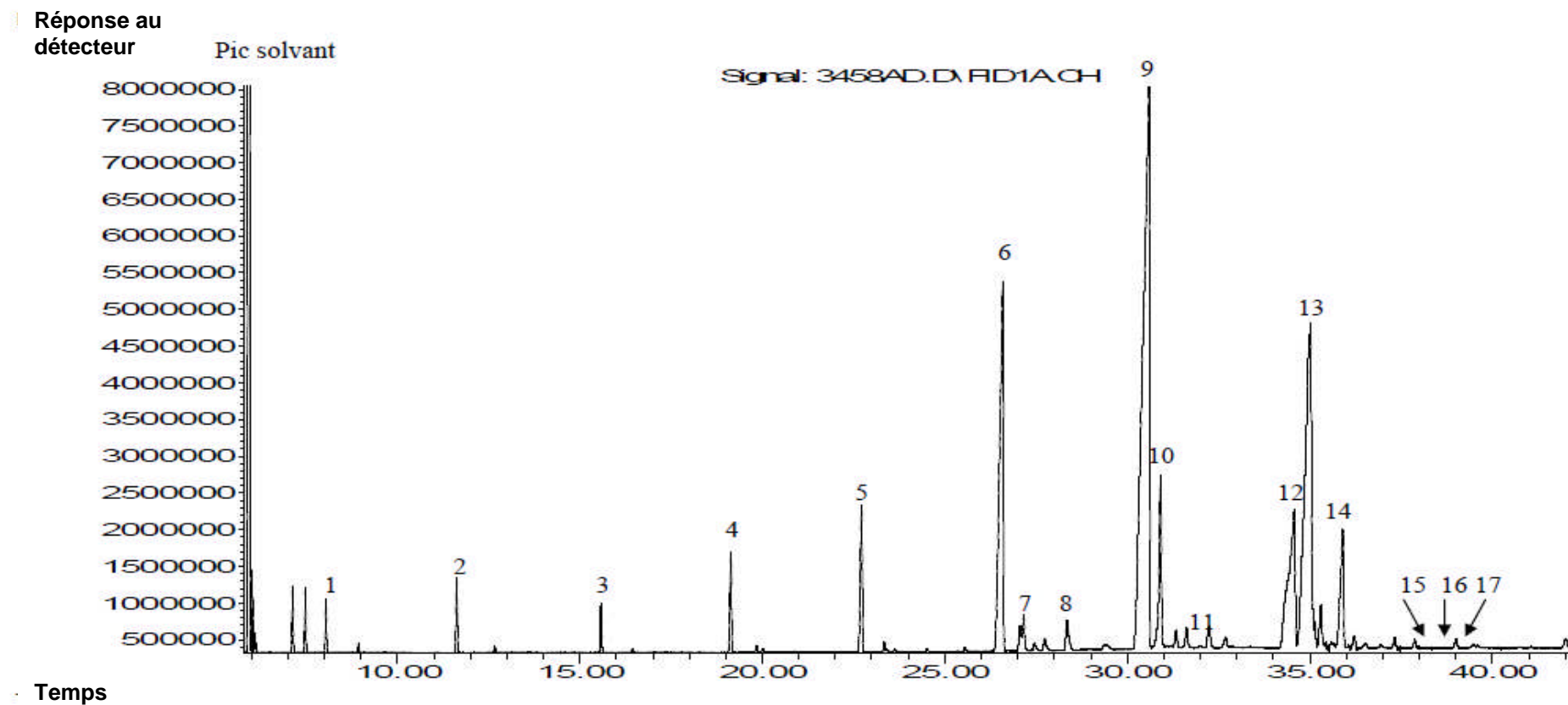
□ Réponse au détecteur



(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C11:0, (6) C12:0, (7) C13:0, (8) C14:0, (9) C14:1, (10) C15:0, (11) C15:1

(1') C4:0, (2') C6:0, (3') C8:0, (4') C10:0, (5') C12:0, (6') C14:0, (7') C14:1

Figure 6.13: Identification par GC/FID au moyen d'une solution étalon, des acides gras à chaînes courtes provenant d'un échantillon issu de la sécrétion mammaire à J<sub>299</sub> d'un quartier ArD.

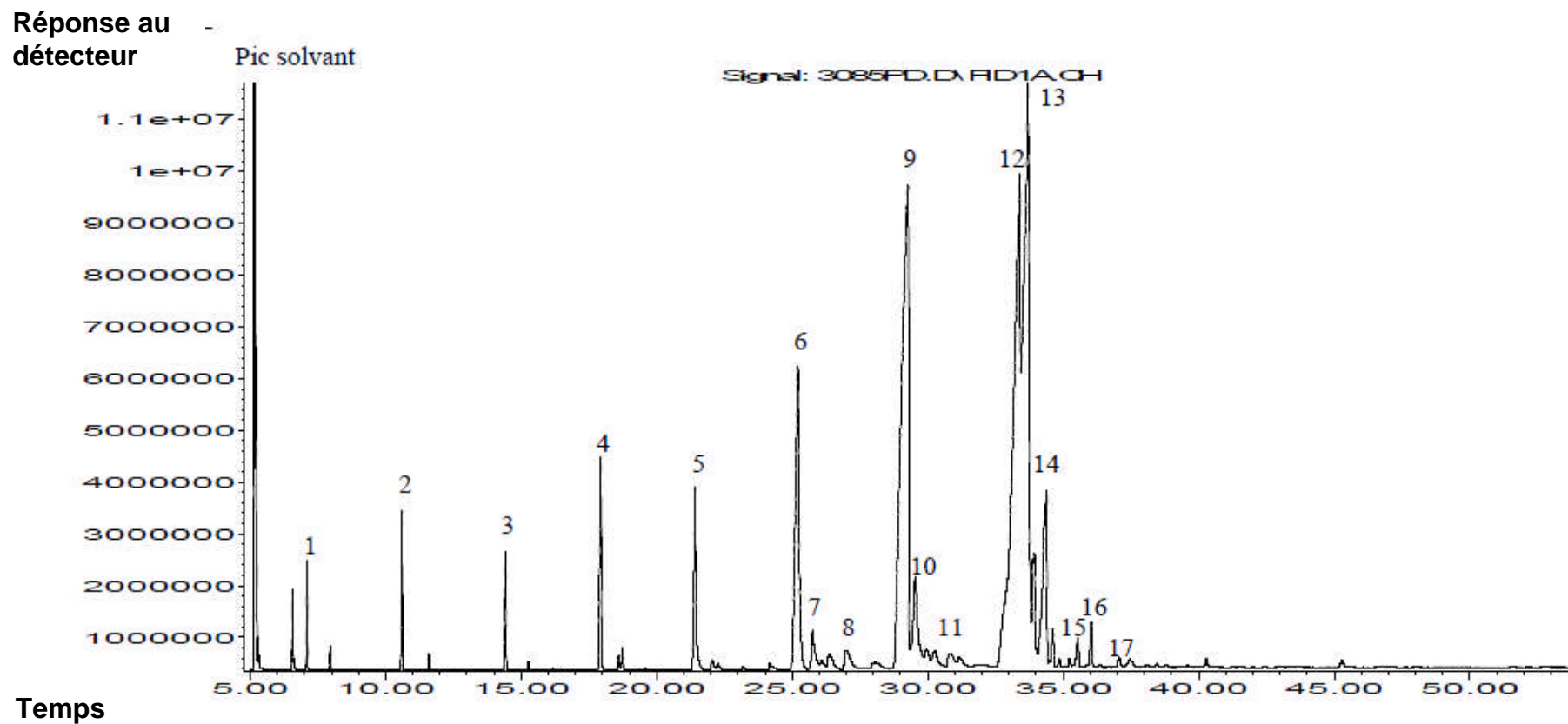


(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C12:0, (6) C14:0, (7) C14:1, (8) C15:0, (9) C16:0, (10) C16:1, (11) C17:0, (12) C18:0, (13) C18:1, (14) C18:2, (15) C18:3, (16) C18:2 -ALC-, (17) C20:0.

Figure 6.14: Identification par GC/FID de 17 EMAG d'un échantillon issu du colostrum d'un quartier ArD à J<sub>0</sub>.

Tableau 6.3: Ordre d'élution et  $t_R$  en GC/FID de 17 EMAG provenant d'une sécrétion colostrale d'un quartier ArD à J<sub>0</sub>.

Pic N°	Nomenclature Abrégée	Nomenclature Triviale	Masse Moléculaire	$t_R$ (min)	Abondance du Pic (%)
1	C4:0	butyrate de méthyle	102.07	8.05	0,50
2	C6:0	caproate de méthyle	130.10	11.63	0,83
3	C8:0	caprylate de méthyle	158.13	15.59	0,61
4	C10:0	caprate de méthyle	186.16	19.14	1,41
5	C12:0	laurate de méthyle	214.19	22.72	2,59
6	C14:0	myristate de méthyle	242.22	26.59	12,81
7	C14:1	myristoléate de méthyle	240,21	27.16	1,21
8	C15:0	pentadécanoate de méthyle	256.24	28.35	0,82
9	C16:0	palmitate de méthyle	270.26	30.60	34,15
10	C16:1	palmitoléate de méthyle	268.24	30.91	3,75
11	C17:0	heptadécanoate de méthyle	284.27	32.24	0,59
12	C18:0+	stéarate de méthyle	298.29	34.58	29,47
13	C18:1	octadécénoate de méthyle	296.49	35.01	
14	C18:2 9 <i>c</i> ,12 <i>c</i>	linoléate de méthyle	294.26	35.90	3,62
15	C18:3	linoléate de méthyle	292.46	37.32	0,27
16	C18:2 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i>	ruménate de méthyle	292.24	37.87	0,38
17	C20:0	arachidate de méthyle	326.32	39.01	0,39



(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C12:0, (6) C14:0, (7) C14:1, (8) C15:0, (9) C16:0, (10) C16:1, (11) C17:0, (12) C18:0, (13) C18:1, (14) C18:2, (15) C18:3, (16) C18:2 -ALC-, (17) C20:0.

Figure 6.15: Chromatogramme en GC/FID de 17 EMAG provenant d'un lait de quartier PrD à J<sub>69</sub>.

Tableau 6.4: Identification, ordre d'élu­tion, masse moléculaire et  $t_R$  de 17 EMAG d'un échantillon issu d'une sécrétion lactée d'un quartier PrD à J<sub>69</sub>.

Pic N°	Nomenclature Abrégée	Nomenclature Triviale	Masse Moléculaire	$t_R$ (min)	Abondance du Pic (%)
1	C4:0	butyrate de méthyle	102.07	7.10	0,47
2	C6:0	caproate de méthyle	130.10	10.61	1,01
3	C8:0	caprylate de méthyle	158.13	14.43	0,87
4	C10:0	caprate de méthyle	186.16	17.94	2,14
5	C12:0	laurate de méthyle	214.19	21.43	2,52
6	C14:0	myristate de méthyle	242.22	25.22	7,53
7	C14:1	myristoléate de méthyle	240,21	25.76	0,86
8	C15:0	pentadécanoate de méthyle	256.24	26.99	0,71
9	C16:0	palmitate de méthyle	270.26	29.28	21,68
10	C16:1	palmitoléate de méthyle	268.24	29.55	2,91
11	C17:0	heptadécanoate de méthyle	284.27	30.86	0,54
12	C18:0 +	stéarate de méthyle	298.29	33.39	46,67
13	C18:1	octadécénoate de méthyle	296.49	33.69	
14	C18:2 9 <i>c</i> ,12 <i>c</i>	linoléate de méthyle	294.26	34.38	4,78
15	C18:3	linoléate de méthyle	292.46	35.54	0,45
16	C18:2 9 <i>c</i> ,11 <i>t</i>	ruménate de méthyle	292.24	36.04	0,57
17	C20:0	arachidate de méthyle	326.32	37.07	0,17



### 6.3.1.2. Identification des pics chromatographiques par GC/MS :

L'exécution du logiciel MSD Chemstation (Hewlett Packard Co., G 1701BA version B.01.00, 1989-1998), de traitement des données a permis la mise en évidence d'une série de pics chromatographiques.

L'analyse des pics de chaque soluté s'est faite par spectrométrie de masse en utilisant les données spectrales existant dans la bibliothèque Wiley 7N.L. Celle-ci a permis d'identifier 21 pics d'acides gras sous forme d'esters méthyliques comme rapporté dans la Figure 6.16.

Cette identification est valable pour 11 échantillons d'AG de MG de lait, injectés en GC/MS sous leur forme estérifiée, le 12<sup>ième</sup> issu de la sécrétion lactée au stade J<sub>204</sub>, n'ayant montré que 18 pics d'esters méthyliques après utilisation de la bibliothèque spectrale Wiley 7N.L, les composants C20:1, C20:3, C20:4 n'ayant pu être identifiés (Cf. Figure 6.17).

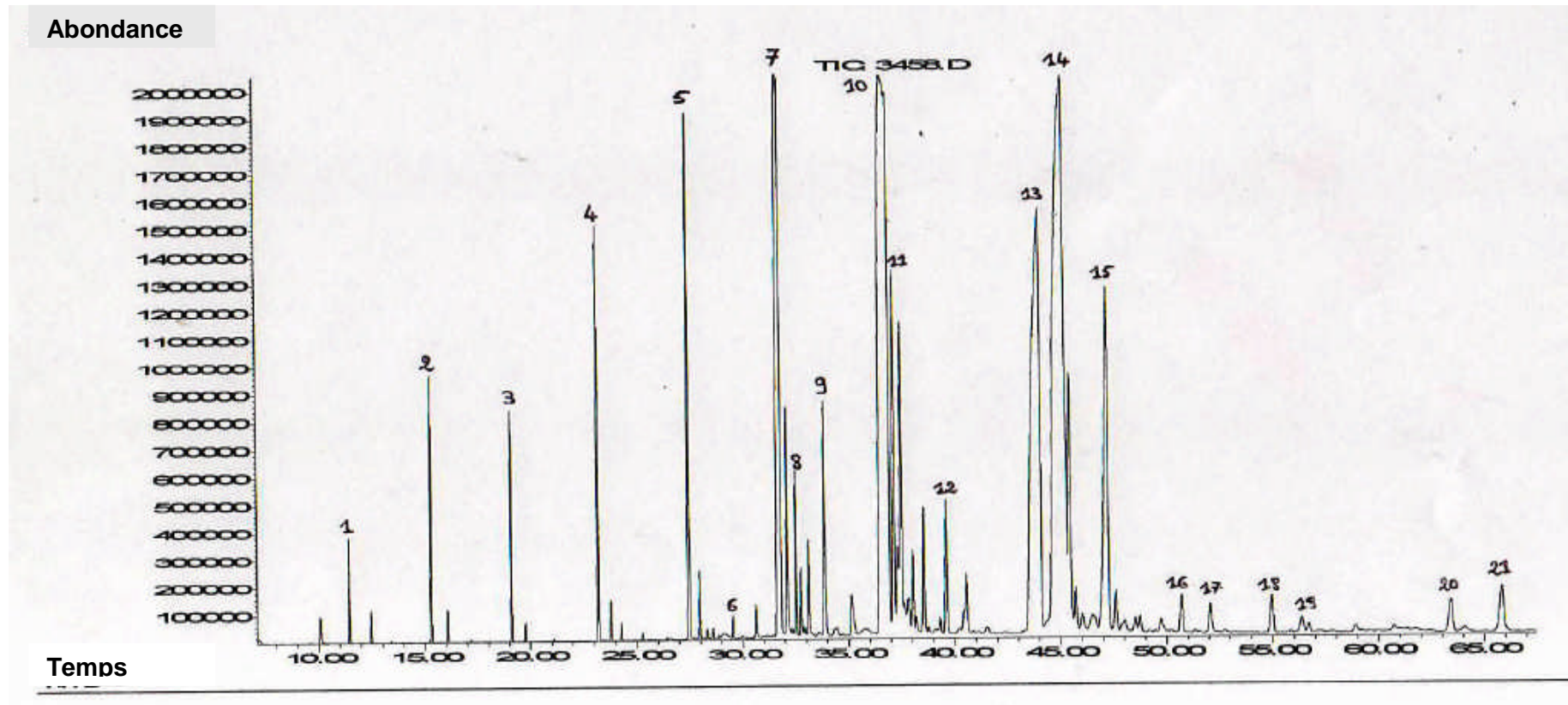
L'ordre d'élution des AG dans chaque échantillon se fait en premier lieu selon le nombre d'atomes de la chaîne carbonée et en second lieu selon le degré d'insaturation des AG tel que:

(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C12:0, (6) C13:0, (7) C14:0, (8) C14:1, (9) C15:0, (10) C16:0, (11) C16:1, (12) C17:0, (13) C18:0, (14) C18:1, (15) C18:2, (16) C18:3, (17) C18:2 -ALC-, (18) C20:0, (19) C20:1, (20) C20:3, (21) C20:4

Les résultats montrent la caractérisation d'un total de 12 AGS et de 9 AGI (4 mono et 5 polyinsaturés) dans les sécrétions lactées (colostrum et lait), à savoir :

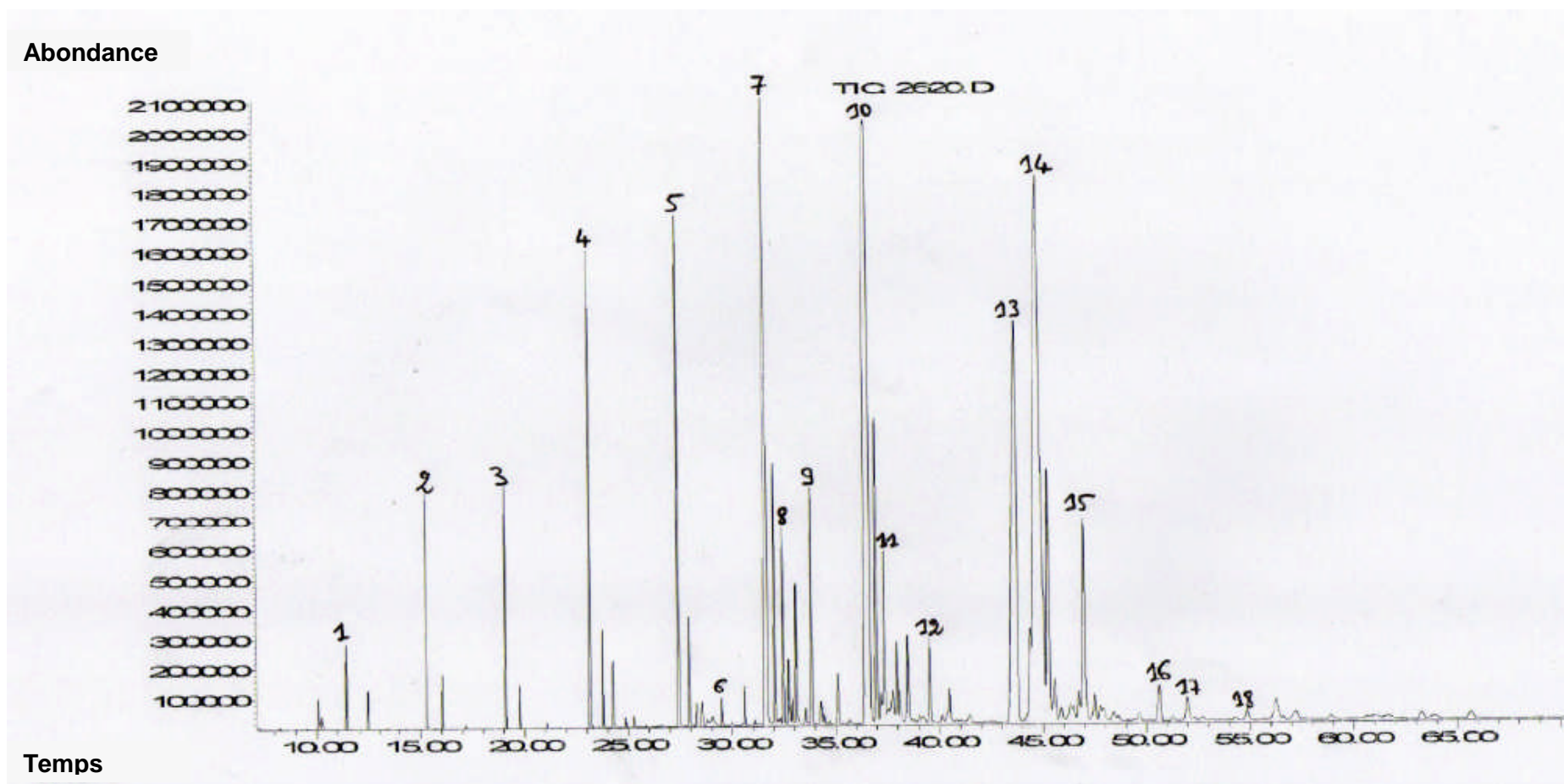
- 9 acides gras à chaînes courtes de <16 atomes de carbone.
- 2 acides gras à chaînes moyennes à 16 atomes de carbone.
- 10 acides gras à chaînes longues de >16 atomes de carbone.

La nomenclature, l'ordre d'élution et le t<sub>R</sub> des 21 pics chromatographiques identifiés dans les 12 échantillons injectés par GC/MS sont rapportés dans le Tableau 6.5.



(1) C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C12:0, (6) C13:0, (7) C14:0, (8) C14:1 9c, (9) C15:0, (10) C16:0, (11) C16:1, (12) C17:0, (13) C18:0 (14) C18:1, (15) C18:2, (16) C18:3, (17) C18:2 -ALC-, (18) C20:0, (19) C20:1, (20) C20:3, (21) C20:4

Figure 6.16: Identification par couplage GC/MS de 21 EMAG issus d'un colostrum à J<sub>0</sub>.



C4:0, (2) C6:0, (3) C8:0, (4) C10:0, (5) C12:0, (6) C13:0, (7) C14:0, (8) C14:1 9c, (9) C15:0, (10) C16:0, (11) C16:1, (12) C17:0, (13) C18:0, (14) C18:1, (15) C18:2, (16) C18:3, (17) C18:2 -ALC-, (18) C20:0.

Figure 6.17 : Identification par couplage GC/MS de 18 EMAG issus d'un lait à J<sub>204</sub>.

Tableau 6.5: Identification par couplage GC/MS des EMAG de l'ensemble des sécrétions lactées. Nomenclature et masses moléculaires.

\* Pour le soluté issu de la sécrétion lactée à J<sub>204</sub>, les pics 19 à 21 n'ont pas été identifiés.

Pic N°	Nomenclature Abrégée Chimie	Nomenclature Normalisée (Ester méthylique de....)	Nomenclature Triviale	Nomenclature Physiologique	Masse Moléculaire
1	C4:0	acide butanoïque	butyrate de méthyle		102.07
2	C6:0	acide hexanoïque	caproate de méthyle		130.10
3	C8:0	acide octanoïque	caprylate de méthyle		158.13
4	C10:0	acide décanoïque	caprate de méthyle		186.16
5	C12:0	acide dodécanoïque	laurate de méthyle		214.19
6	C13:0	acide tridécanoïque	tridécanoate de méthyle		228.21
7	C14:0	acide tétradécanoïque	myristate de méthyle		242.22
8	C14:1	acide tétradécénoïque	myristoléate de méthyle		240,21
9	C15:0	acide pentadécanoïque	pentadécanoate de méthyle		256.24
10	C16:0	acide hexadécanoïque	palmitate de méthyle		270.26
11	C16:1	acide hexadécénoïque	palmitoléate de méthyle		268.24
12	C17:0	acide heptadécanoïque	heptadécanoate de méthyle		284.27
13	C18:0	acide octadécanoïque	stéarate de méthyle		298.29
14	C18:1 Δ9 <sub>c</sub> C18:1 Δ9 <sub>t</sub>	acide octadécèn 9 <sub>c</sub> oïque acide octadécèn 9 <sub>t</sub> oïque	oléate de méthyle (isomère <i>cis</i> ) elaïdate de méthyle (isomère <i>trans</i> )	n-9 (ω)	296.27
15	C18:2 Δ9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub>	acide octadécadièn 9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub> oïque	linoléate de méthyle	n-6 (ω)	294.26
16	C18:3 Δ9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub> , 15 <sub>c</sub> C18:3 Δ6 <sub>c</sub> , 9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub>	acide octadécatrièn 9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub> , 15 <sub>c</sub> oïque acide octadécatrièn 6 <sub>c</sub> , 9 <sub>c</sub> , 12 <sub>c</sub> oïque	α-linolénate de méthyle γ-linolénate de méthyle	n-3 (ω) n-6 (ω)	292.24
17	C18:2 Δ9 <sub>c</sub> , 11 <sub>t</sub>	acide octadécadièn 9 <sub>c</sub> , 11 <sub>t</sub> oïque	ruménate de méthyle		294.26

Suite du Tableau 6.5: Identification par couplage GC/MS des EMAG de l'ensemble des sécrétions lactées. Nomenclature et masses moléculaires.

18	C20:0	acide eicosanoïque	arachidate de méthyle		326.32
19*	C20:1 $\Delta$ 11 <i>c</i>	acide <i>cis</i> -11 eicosénoïque	<i>cis</i> -11 eicosénoate de méthyle		324.30
20*	C20:3 $\Delta$ 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i> , 17 <i>c</i>	acide eicosatrièn 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i> , 17 <i>c</i> oïque	<i>cis</i> -11,14,17-eicosatriénoate de méthyle		320
21*	C20:4 $\Delta$ 5 <i>c</i> , 8 <i>c</i> , 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i>	acide eicosatétraèn 5 <i>c</i> , 8 <i>c</i> , 11 <i>c</i> , 14 <i>c</i> oïque	arachidonate de méthyle	n-6( $\omega$ )	332

### 6.3.1.2.1 Spectres de masse des pics chromatographiques identifiés par GC/MS :

Le spectre de masse du pic n°1 du soluté issu de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub> est rapporté dans la Figure ci-dessous. Ceux des autres pics (n°2 à 21) sont rapportés en annexe I.

Le pic n°1, élué sur le chromatogramme avec un temps de rétention  $t_R$  égal à 11,429 min, a été identifié (Cf., Figure 6.18) comme étant le butanoate de méthyle (C<sub>4</sub>:0 masse moléculaire de 102,07) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley7N.L.

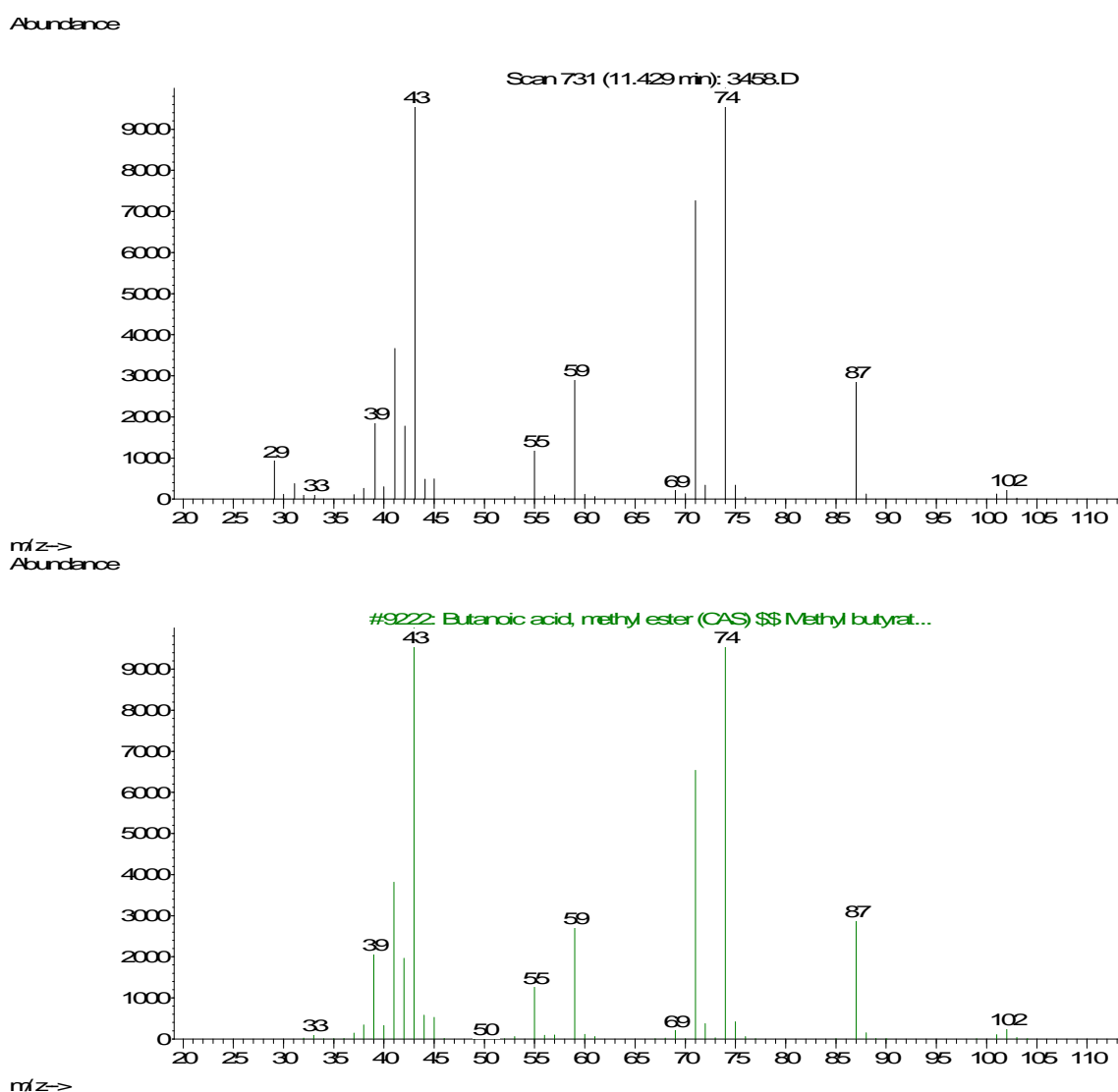


Figure 6.18: Spectre de masse du butanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

### 6.3.1.3. Résultats semi-quantitatifs des pics identifiés par GC/FID :

Après l'analyse qualitative des EMAG par chromatographie en phase gazeuse seule (GC/FID) ou après son couplage à la spectrométrie de masse (GC/MS), et en ayant pris soin de nous assurer de la répétabilité des techniques tel que confirmé sur plusieurs échantillons (20 au total avec la 1<sup>ère</sup> technique et 12 pour la 2<sup>nde</sup>), une étude semi-quantitative des AG ci-dessus (sous leurs forme estérifiée) a été entreprise par GC/FID à l'aide de l'équation suivante :

% AG = Surface de l'aire de l'AG \* 100 / (Somme des surfaces – Surface du pic du solvant)

Les teneurs en AG sont rapportés dans le Tableau 6.6 et en annexe II.

Tableau 6.6: Moyennes des teneurs en AG des sécrétions lactées à différents jours de la lactation (J<sub>0</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>).

Nature des AG		Colostrum (% AG)	Lait (% AG)					Moyenne AG VL de J <sub>69</sub> à J <sub>299</sub> (%)
			J <sub>0</sub>	J <sub>69</sub>	J <sub>151</sub>	J <sub>238</sub>	J <sub>299</sub>	
08 AG à chaines courtes	C4:0	0,47	0,77	0,79	0,64	0,65	0,71	
	C6:0	0,85	1,57	1,67	1,27	1,24	1,44	
	C8:0	0,61	1,30	1,36	0,97	0,82	1,11	
	C10:0	1,37	3,14	3,04	2,16	1,80	2,53	
	C12:0	2,49	3,05	3,42	2,61	1,97	2,76	
	C14:0	<b>12,43</b>	8,53	10,29	10,02	8,51	<b>9,34</b>	
	C14:1	1,15	1,05	1,68	1,55	1,07	1,34	
	C15:0	0,82	0,69	1,18	1,11	1,12	1,03	
	Total	20,19	20,1	23,43	20,33	17,18	20,26	
02 AG à chaines moyennes	C16:0	<b>33,62</b>	22,48	24,54	25,86	22,20	<b>23,77</b>	
	C16:1	3,78	3,03	3,05	2,92	2,49	2,87	
	Total	37,4	25,51	27,59	28,78	24,69	26,64	
07 AG à chaines longues	C17:0	0,61	0,46	0,59	0,55	0,57	0,54	
	C18:0+ C18:1	<b>30,46</b>	41,06	36,46	39,02	44,32	<b>40,22</b>	
	C18:2	3,67	4,17	3,04	2,87	2,81	3,22	
	C18:3	0,28	0,39	0,37	0,39	0,24	0,35	
	C18:2 (ALC)	0,27	0,52	0,45	0,54	0,40	0,48	
	C20:0	0,28	0,15	0,17	0,21	0,25	0,2	
	Total	35,57	46,75	41,08	43,58	48,59	45	
AGs non identifiés		6,48	7,64	7,9	7,31	9,54	8,1	

Les résultats montrent la caractérisation d'un total de 11 AGS et de 6 AGI (3 mono et 3 polyinsaturés) dans les sécrétions lactées (lait et colostrum), à savoir :

- 8 AG à chaînes courtes de <16 atomes de carbone et 2 AG à chaînes moyennes à 16 atomes de carbone<sup>1</sup>.
- 7 AG à chaînes longues de >16 atomes de carbone<sup>2</sup>.

La distribution des fractions d'AG est représentée graphiquement dans la Figure 6.39.

Dans le colostrum (J<sub>0</sub>), les AG se répartissent dans l'ordre des proportions suivantes : AGCM (37,4%), AGCL (35,57%), AGCC (20,19%) et AG non identifiés (6,84%) comme présentés sur l'histogramme (Cf., Figure 5.39). Cet ordre apparaît inversé dans le lait (moyenne des teneurs en AG du groupe VL au stade de lactation J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>) pour seulement les AGCL et AGCM (45% vs 26,64%).

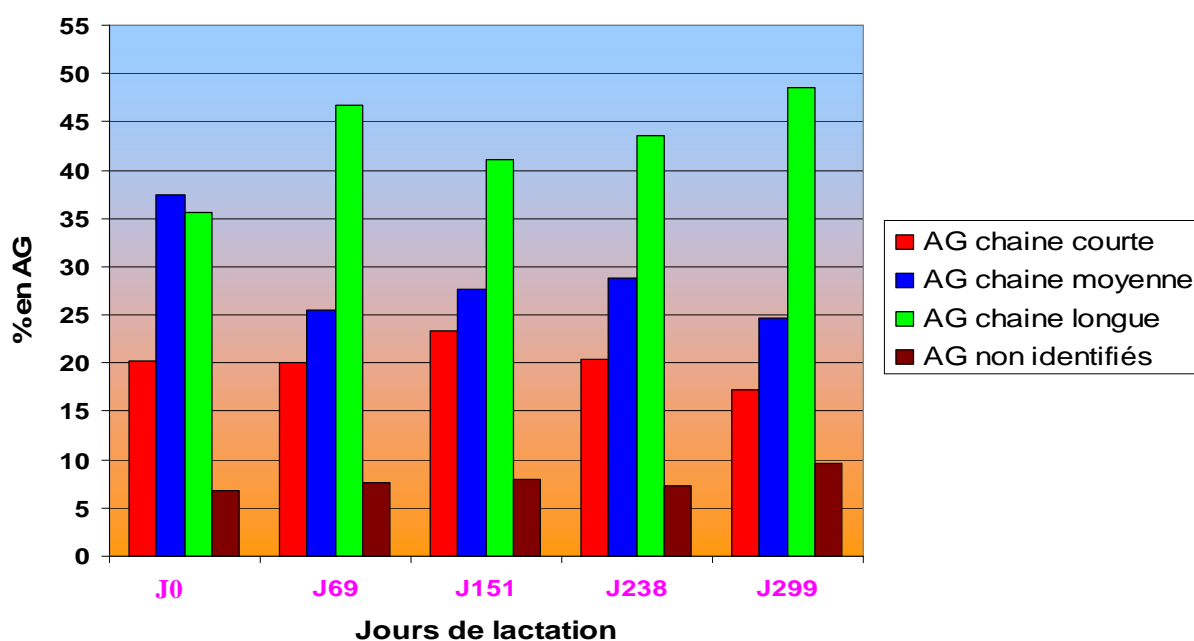


Figure 6.39: Histogramme représentant les pourcentages en acides gras selon la longueur de la chaîne carbonée chez 5 vaches laitières (J<sub>0</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>).

L'évolution des différentes fractions en AG (AGCC, AGCM, AGCL et AG non identifiés) a été étudiée par le biais de l'extrapolation des % en AG obtenus dans les sécrétions lactées [colostrum (J<sub>0</sub>) et lait (J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>)] (Cf., Figure 6.40).



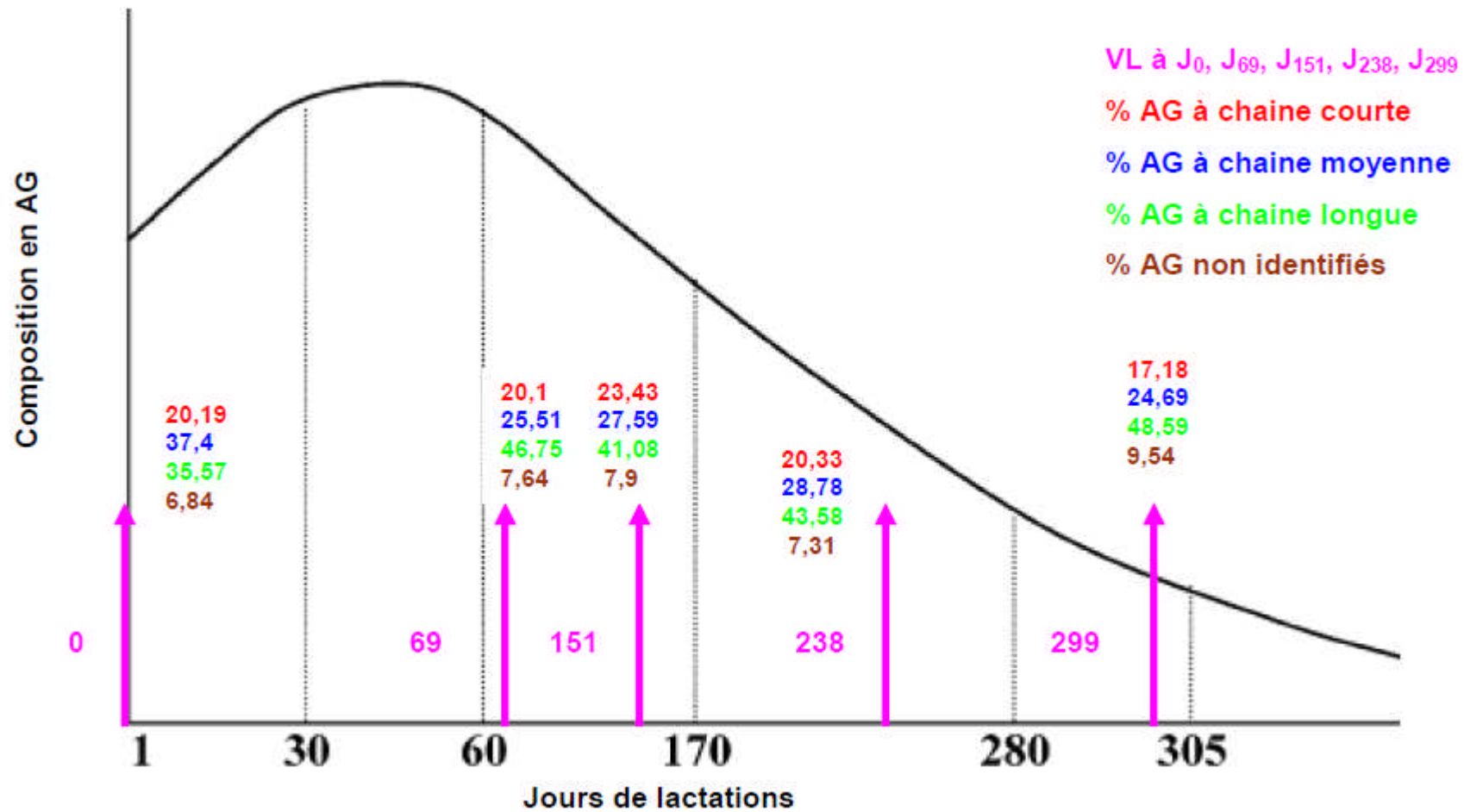


Figure 6.40: Evolution des fractions en acides gras par extrapolation par rapport à la courbe théorique de la lactation (305j).

Il en ressort ce qui suit:

- à  $J_0$  (phase d'entrée en production), le colostrum présente des teneurs plus élevées en AGCM qu'en AGCL (37,4% vs 35,57%) ; suivi par les AGCC (20,19%). Les AG non identifiés, représentent 6,84% des AG totaux du colostrum (Cf., Figure 6.41).

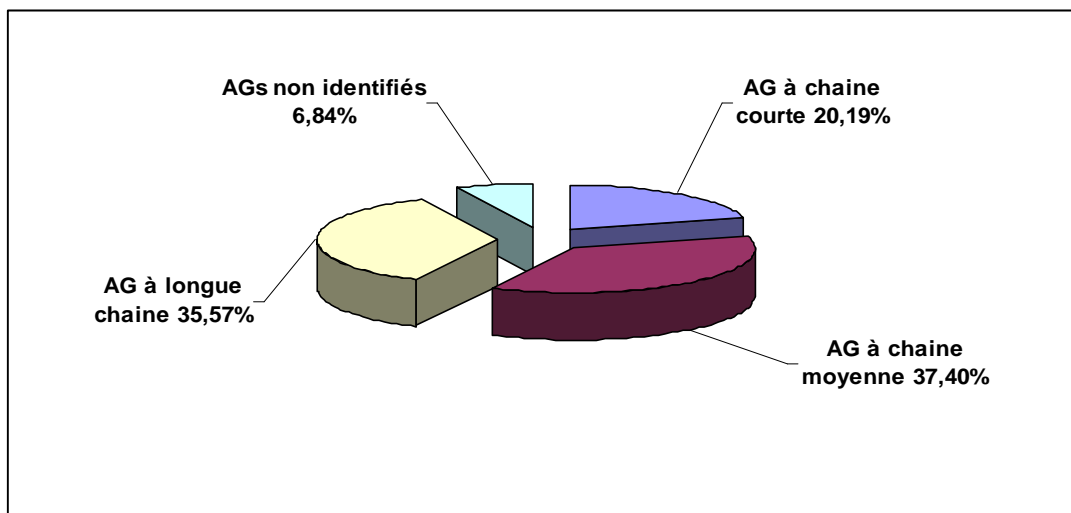


Figure 6.41: Moyenne des pourcentages en AG des 4 quartiers de la VL à  $J_0$

- à  $J_{69}$ , le lait produit à ce stade de lactation présente une inversion en teneurs d'AGCL par rapport aux AGCM (46,75% vs 25,51%) ; suivi par les AGCC (20,1%). Les AG non identifiés représentent 7,64% des AG totaux du lait (Cf., Figure 6.42).

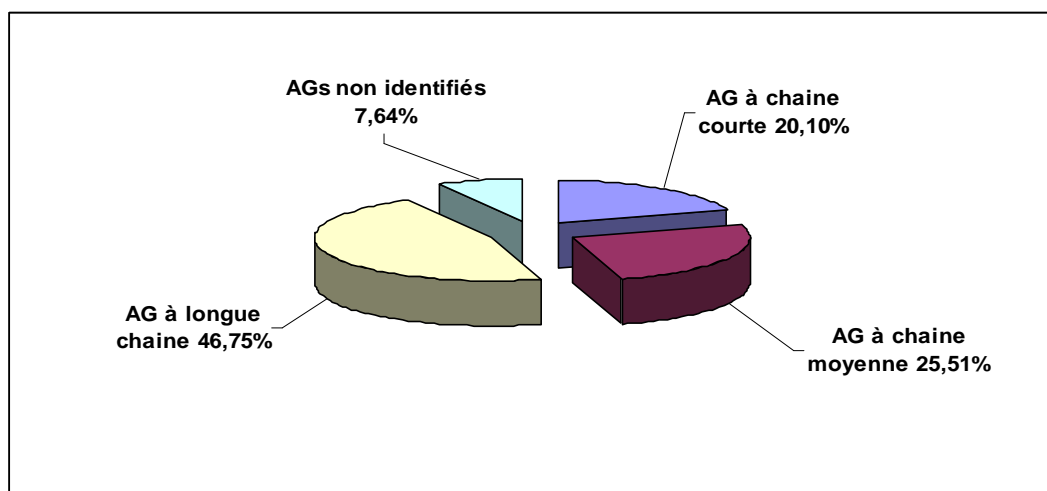


Figure 6.42: Moyenne des pourcentages en AG des 4 quartiers de la VL à  $J_{69}$ .

- à **J<sub>151</sub>**, le lait se caractérise à ce stade de la lactation, par des teneurs en AG qui se présentent dans un ordre décroissant suivant: AGCL (41,08%), AGCM (27,59%), AGCC (23,43%). Les AG non identifiés représentent 7,9% des AG totaux du lait (Cf., Figure 6.43).

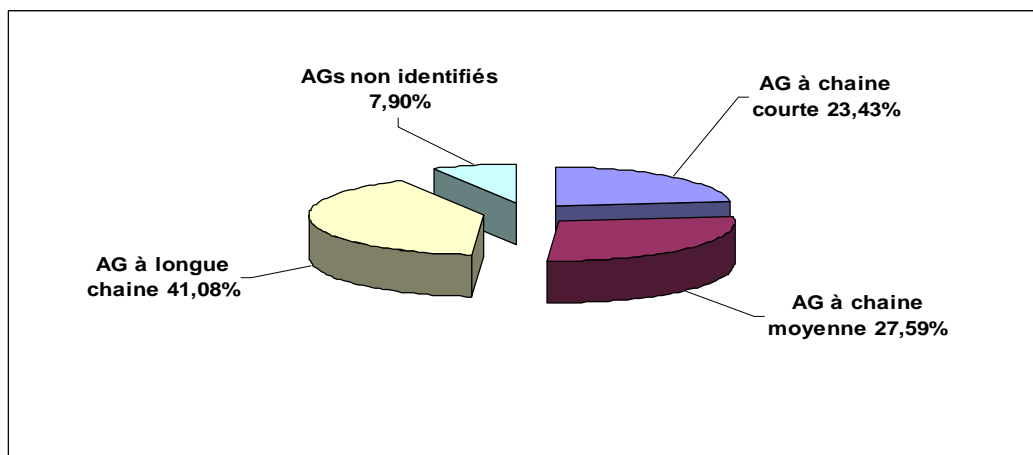


Figure 6.43: Moyenne des pourcentages en AG des 4 quartiers de la VL à **J<sub>151</sub>**.

- à **J<sub>238</sub>**, le lait se caractérise par des teneurs en AG qui se présentent dans un ordre décroissant suivant: AGCL, AGCM, AGCC, soit respectivement 43,58%; 28,78%; 20,33%. Les AG non identifiés représentent 7,31% des AG totaux du lait (Cf., Figure 6.44).

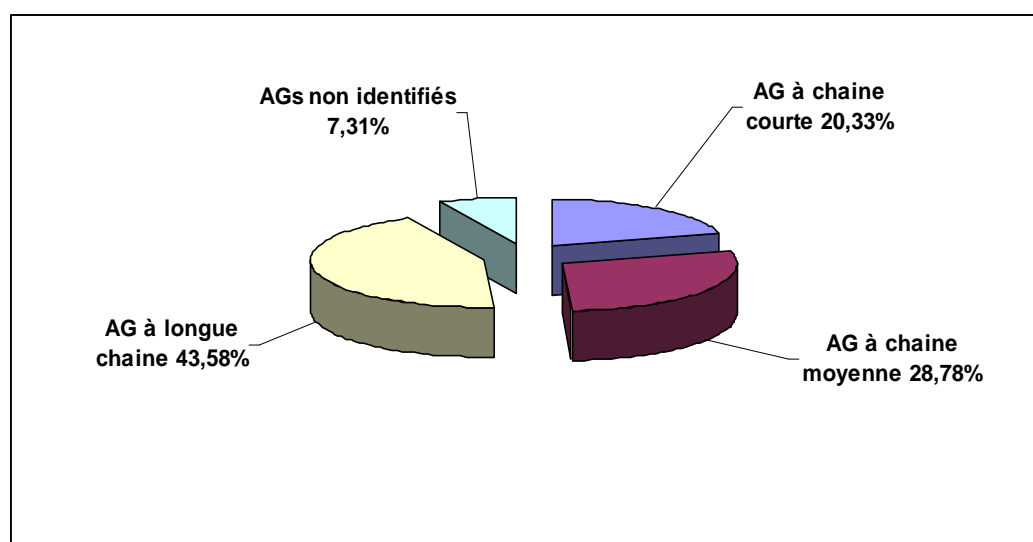


Figure 6.44: Moyenne des pourcentages en AG des 4 quartiers de la VL à **J<sub>238</sub>**.

- à  $J_{299}$ , le lait présente à ce stade de la lactation un même ordre d'importance en % d'AG qu'à  $J_{69}$ ,  $J_{151}$  et  $J_{238}$ , à savoir : AGCL, AGCM, AGCC, soit respectivement 48,59%, 24,69%, 17,18%. Les AG non identifiés représentent 9,54% des AG totaux du lait (Cf., Figure 6.45).

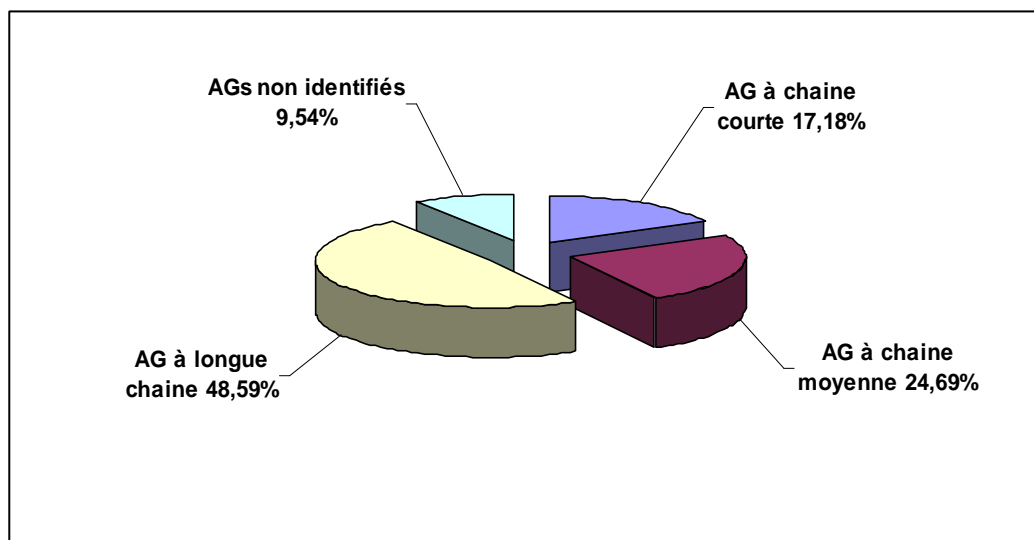


Figure 6.45 : Moyenne des pourcentages en AG des 4 quartiers de la VL à  $J_{299}$ .

Les résultats (Cf., Tableau 6.6, Figure 6.42 jusqu'à 6.48) relatifs à l'évolution des différentes fractions en AG (AGCC, AGCM, AGCL et AG non identifiés) sont discutés comme suit :

### 1. Les acides gras à chaînes courtes et moyennes :

Le colostrum, première sécrétion mammaire récoltée 2h après le vêlage (VL au stade de lactation  $J_0$ ), se caractérise par des teneurs en AGCC (<16 carbones) similaires à celles du lait (moyenne des % en AGCC du groupe VL au stade de lactation  $J_{69}$ ,  $J_{151}$ ,  $J_{238}$ ,  $J_{299}$ ), soit respectivement 20,19% vs 20,26%. Cependant, les teneurs en AGCC allant de C4:0 à C15:0 -exception faite du C14:0- du colostrum sont inférieures à celles du lait (7,76% vs 10,92%). Cette diminution est compensée par la teneur élevée de l'acide myristique (C14:0) du colostrum par rapport à celle du lait [12,43% vs 9,34% (avec une valeur minimale pour la VL au stade de lactation  $J_{299}$  à 8,51%)].

Concernant les AGCM (AG à 16 atomes de carbone), leurs teneurs dans le colostrum sont plus élevées que dans le lait (moyenne des % en AGCM du groupe de VL au stade de lactation J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>), soit respectivement 37,4% vs 26,64%. Cette abondance en AGCM pourrait s'expliquer par la grande richesse du colostrum en acide palmitique (C16:0) par rapport au lait [33,62% vs 23,77% (avec une valeur minimale pour la VL au stade de lactation J<sub>299</sub> à 22,20%)].

Nos résultats, -exception faite du C4:0-, sont similaires à ceux rapportés par Parodi [186], où il montre que :

- la composition de la première sécrétion mammaire *post-partum* récoltée 2h après le vêlage différait beaucoup de celles échantillonnées à J<sub>1</sub>, J<sub>7</sub>, J<sub>14</sub>, J<sub>28</sub> du fait qu'elle contenait des teneurs nettement supérieures en C14:0 et C16:0. Les AGCC allant de C6:0 à C15:0 -exception faite du C14:0-, augmentaient graduellement de J<sub>0</sub> à J<sub>28</sub>, tandis que le C14:0 avec une teneur de 11,8% à J<sub>0</sub> (2h *post-partum*) diminuait progressivement de J<sub>1</sub> (9%) à J<sub>3</sub> (6,1%) pour amorcer par la suite une phase ascendante allant de J<sub>3</sub> à J<sub>28</sub> (respectivement 6,1 et 8,6%).
- la teneur en acide palmitique (C16:0), élevée dans la sécrétion mammaire récoltée 2h *post-partum* (36,3%), diminuait progressivement de J<sub>1</sub> à J<sub>5</sub> (respectivement 28,7% et 22,1%).

Un effet du stade de lactation (J<sub>3</sub>, J<sub>7</sub>, J<sub>42</sub> et J<sub>180</sub>) sur les changements en AG des phospholipides de la MG du lait chez 12 VL multipares de race Holstein a été rapporté par Bitman et Wood [20], où les AGCC et AGCM augmentaient significativement du colostrum au lait, soit de J<sub>3</sub> à J<sub>180</sub>. Les AG, provenant des Acétates et  $\beta$ -Hydroxybutyrates, ayant pour origine les fermentations ruminales, restent les sources majeures pour la synthèse «*de novo*» des AG dans la glande mammaire [187].

La synthèse «*de novo*» dans la glande mammaire est la source des AGCC et de plus de la moitié du C16, tandis que le reste de l'acide palmitique ainsi que les AGCL (AG à 18 atomes de carbone) comme le C18:1 ont pour origine les lipides sanguins circulatoires et les lipides de dépôts, ceci pourrait expliquer les teneurs

élevées en C16:0 lorsque la vache à J<sub>0</sub> (début de la lactation), est dans une balance énergétique négative [188].

Dans le colostrum, les acides myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) semblent compenser la faiblesse des teneurs en AGCC (AG < 16 atomes de carbone) synthétisés «*de novo*» dans la glande mammaire. Il est estimé qu'approximativement 50% de la MG du lait dérive des lipides du plasma [187]. Palmquist et Mattos [189] ont estimé à 88% les AG dérivant du sang et ayant pour origine l'alimentation alors que les 12% restants auraient une contribution endogène. En effet, les travaux de Palmquist et al [78] ont montré que les conditions de déficit énergétique en début de la lactation font suite aux faibles quantités ingérées de la ration, d'où la faible disponibilité des précurseurs en AG qui occasionnerait un affaiblissement de la synthèse des AGCC dans la glande mammaire durant les premières heures de la sécrétion mammaire.

Les teneurs en acide butyrique (C4:0) étaient plus faibles dans le colostrum que dans le lait (moyenne des teneurs en C4:0 du groupe de VL au stade de lactation de J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>), soit respectivement 0,47 vs 0,71. Les travaux de Parodi [186] semblent confirmer cette tendance puisque les valeurs du C4:0 faibles dans la 1<sup>ère</sup> sécrétion mammaire (2h *post-partum*), atteignent des valeurs doubles à J<sub>7</sub> (1<sup>ère</sup> semaine de lactation), pour diminuer par la suite au fur et à mesure qu'avance la lactation.

Les teneurs plus élevées en C4:0, obtenues par Parodi [186] et Nardone et al [190] dans la 1<sup>ère</sup> sécrétion mammaire par rapport à nos résultats, pourraient s'expliquer par l'extrême volatilité, la solubilité ainsi que les pertes rencontrées dans la séparation des AGCC [191, 192]. En effet, nous avons été contraint d'utiliser, dans la présente étude, une programmation à basse température (à partir de 40°C pour la CPG) afin d'éviter que le C4:0 ne soit masqué par le pic du solvant.

Les travaux de Kay et al [193], ont rapporté l'effet de la semaine de la lactation sur la composition en AG du lait chez la VL de race Holstein, donc de même race que celle portée dans notre étude, durant les 1<sup>ères</sup>, 8<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> semaines *post-*

*partum*. Ils ont montré que les proportions en AGCC et AGCM synthétisées «*de novo*» augmentaient de la 1<sup>ère</sup> à la 16<sup>ème</sup> semaine avec une élévation marquée entre la 1<sup>ère</sup> et la 8<sup>ème</sup> semaine. Ce modèle est vérifié pour tous les AG synthétisés «*de novo*», autres que le C4:0 lequel décroît durant toute cette période. La synthèse de l'acide butyrique C4:0 n'est pas du tout inhibée en début de la lactation car provenant de 2 origines indépendantes de l'inhibition de l'Acétyl CoA Carboxylase, à savoir [78] :

- une moitié de l'acide butyrique proviendrait directement à partir de 4 atomes de carbone préformés, nommé  $\beta$ -Hydroxybutyrate.
- l'acide butyrique est aussi formé par une voie indépendante du Malonyl-CoA par condensation des unités acétyles.

La teneur moyenne de l'acide butyrique (C4:0) pour le groupe de VL aux stades de la lactation J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub> est de l'ordre de 0,71% donc très proche de celle trouvée par White et al [71] 1,05%. Ceci pourrait s'expliquer par la nature chimique et la polarité très proches des colonnes capillaires utilisées dans ces deux cas qui n'a pas permis de le séparer aisément. Comme l'acide butyrique peut être synthétisé indépendamment de l'Acétyl CoA Carboxylase, il n'est alors pas soumis à une inhibition par les AGCL [68].

L'effet du stress thermique et de l'humidité sur la composition en AG du colostrum durant les 36 premières heures du *post-partum* a été rapporté par Nardone et al [190]. En effet, ils ont montré dans la première sécrétion mammaire (1h *post-partum*), des teneurs en acide myristique (C14:0) et en acide palmitique (C16:0) proches de celles rapportées dans le présent travail, (respectivement 14,7 et 30,2%) chez un groupe de vaches Holstein maintenu entre 26-31°C. Notre échantillonnage a été effectué durant la saison estivale (Juin /Juillet) où les températures sont proches de celles décrites.

Les teneurs en acide palmitoléique (C16:1), plus élevées dans le colostrum que dans le lait (moyenne des teneurs en C16:1 dans le groupe de VL au stade de lactation J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>) soit respectivement : 3,78% vs 2,87%, sont similaires de celles rapportées par Parodi (4,1% à J<sub>0</sub> et 3,2% à J<sub>28</sub>) et proviendraient de l'activité désaturase de la glande mammaire [186].

## **2. Les acides gras à chaînes longues :**

La teneur en AGCL (>16 atomes de carbones) du colostrum est plus faible que celle du lait (moyenne des teneurs pour le groupe de VL au stade de lactation J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub>, J<sub>299</sub>), soit respectivement : 35,57 vs 45%. Il est à noter que la teneur du C18:0+C18:1 représente la presque totalité des AGCL. La séparation des acides gras C18:0 et C18:1 n'a pas été possible car dans la présente étude, nous avons utilisé une colonne capillaire (Carbowax 20M) qui ne permet pas de séparer les isomères *cis* et *trans* des AG C18:1.

La teneur en AG (C18:0+C18:1) du colostrum obtenue, de 30,46% est proche de celle rapportée par Parodi [186] de 26% (après 2h *post-partum*) et de Nardone et al [190] de 26,7% (après 1h *post-partum*). La teneur en AG (C18:0+C18:1) augmente selon:

- Nardone et al, de 26,7 à 28,8% durant la période allant d'une heure (1h) à 36h *post-partum* [190] ; cette augmentation pourrait s'expliquer par le fait que les génisses soient en balance énergétique négative (diminution du glucose plasmatique avec augmentation des AGNE et du  $\beta$ -Hydroxybutyrate) ce qui a pour conséquence d'entraîner à la fois, la mobilisation des lipides de dépôt et l'incorporation de ces AGCL dans la MG du lait; ceci survenant souvent en saison chaude [194].
- Parodi, de 26% à 32,7% entre 2h jusqu'à 24h *post-partum* et à 39% après 7j de lactation [186]. Selon Kay et al [193], l'augmentation de la mobilisation du tissu adipeux en début du *post-partum* entraîne une augmentation des AG préformés durant la première semaine et leur diminution à la 8<sup>ième</sup> semaine, tout en demeurant stables à la 16<sup>ième</sup> semaine. En effet, l'acide oléique est l'AG prédominant dans les adipocytes et le 1<sup>er</sup> libéré durant la lipolyse. Il décroît de 25% de la 1<sup>ière</sup> semaine à la 8<sup>ième</sup> semaine.

Les travaux de White et al [71], ont révélé une teneur en C18:0+C18:1 de 38,64% au moyen d'une colonne capillaire de type PEGs et pour une ration journalière supplémentée avec 5,5kg d'un concentré riche en graines oléagineuses (maïs, tourteaux de coton et soja, vitamines et minéraux). Dans le présent travail où les conditions expérimentales sont similaires (colonne capillaire, race, saison) et pour



une ration journalière supplémentée avec 8kg de concentré (orge, maïs, son, tourteaux de soja et CMV), nous avons obtenu une teneur moyenne en C18:0+C18:1 de 40,22%, assez proche de celle rapportée par White et al [71]. Cependant, chez la VL au stade de lactation J<sub>299</sub>, la teneur élevée en C18:0+C18:1 obtenue (44,32%) pourrait compenser la valeur minimale relevée pour les AGCC (8,67%).

Selon Whiting et al [195], les AG prédominants aussi bien dans la luzerne fraîche qu'ensilée sont les acides palmitique (C16:0), linoléique (C18:2) et linolénique (C18:3). En effet, la luzerne fraîche contient plus de C14:0, de C14:1 et de C16:1 que la luzerne ensilée. Comme notre échantillonnage en lait a eu lieu durant les mois de Juin / Juillet, période estivale peu propice à la disponibilité en fourrages verts ou à la mise au pâturage, le foin de luzerne a donc constitué la ration de base distribuée *ad libitum* au troupeau. Aussi, l'éleveur a supplémenté la ration avec 8kg/j de concentré afin de couvrir les besoins nécessaires à l'entretien et à la production laitière. Celle-ci est constituée par une source d'amidon riche en énergie (maïs, orge et son) et de protéines issues de graines oléagineuses, particulièrement les tourteaux de soja qui se caractérisent par leur richesse en AGCL. En effet, l'acide linoléique (C18:2 c9, c12) est prédominant dans les graines de soja, suivi dans un ordre décroissant par l'acide oléique (C18:1 c9), l'acide linolénique (C18:3) et l'acide stéarique (C18:0) [196].

La supplémentation de la ration en MG de soja, riche en AG à 18 atomes de carbone mono et polyinsaturés, entraîne une diminution de la quantité d'AGV produite dans le rumen avec une diminution du ratio acide acétique/acide propionique [197]. Cette baisse peut être due à une diminution de la digestion des fibres [198] qui entraîne une modification importante du profil des AG de la MG du lait. En effet, la proportion en AGCC et en AGCM dans le lait diminue significativement au profit des AGCL [199, 200] dont la teneur peut doubler dans le cas d'une supplémentation en huile de soja [187]. Cette situation est marquée par l'augmentation de l'acide stéarique (C18:0) et l'acide oléique (C18:1 c9), mais moins pour l'acide linoléique (C18:2) et linolénique (C18:3) [196]. Ce phénomène pourrait s'expliquer par les inhibitions à la synthèse «*de novo*» exercées par les AGCL du lait, ces derniers provenant de la ration alimentaire, inhiberaient la

synthèse du Malonyl-CoA et par conséquent, la synthèse «*de novo*» à partir d'acétate et du  $\beta$ -Hydroxybutyrate, d'AGCC et moyennes contenant de 6 à 16 atomes de carbone. Ainsi, la dépression des AG du lait allant du C6:0 au C16:0 est élevée quand le niveau des AGCL augmente [187, 68]. La réduction de la teneur en acide palmitique de la MG du lait associée à un supplément en lipides pourrait être perçue comme un effet positif pour la santé humaine, en raison de son pouvoir athérogène, par contre, la réduction des AG allant de C6:0 à C10:0 pourrait être indésirable en raison de leur potentiel hypocholestérolémiant [187].

Dans le présent travail, les teneurs en AGPI (acides linoléique, linoléique ainsi que l'acide linoléique conjugué) obtenues ne varient pas entre le colostrum ( $J_0$ ) et le lait (moyenne du groupe de VL au stade de lactation  $J_{69}$ ,  $J_{151}$ ,  $J_{238}$ ,  $J_{299}$ ). La même observation a été rapportée par Parodi et Nardone et al [186, 190]. Les teneurs moyennes en ALC et en acide linoléique (C18:3), obtenues chez le groupe de VL à  $J_{69}$ ,  $J_{151}$ ,  $J_{238}$ ,  $J_{299}$ , sont de **0,48%** et **0,35%**, respectivement, assez proche de celles rapportée par White et al [71] chez les VL de race Holstein consommant une ration totale mixte. En effet, les valeurs en ALC et en acide linoléique (C18:3) chez les vaches recevant une ration à base d'ensilage et un supplément à base de graines oléagineuses sont inférieures de celles mises au pâturage, soit **0,41%** vs 0,72% et **0,38%** vs 0,71%, respectivement. En effet, durant le processus de séchage nécessaire à l'obtention du foin, le fourrage est sujet à la respiration, ce qui pourrait amener à abaisser de 10-20% certains constituants, principalement les fractions carbohydrates contenues dans les cellules des plantes. Ceci va influencer le niveau de fermentation microbienne et altérer le taux de production de l'ALC des microbes dans le rumen [94].

En raison des effets bénéfiques des ALC pour la santé humaine et notamment de leurs actions anticancéreuses, lipolytiques, hypocholestérolémiante, antiathérosclérotiques et préventive du diabète sucré [201], l'intérêt serait d'augmenter leurs teneurs dans la MG du lait [94].

Une mobilisation des AGCL du tissu adipeux, prédominante en début de lactation, quand les vaches sont dans une balance énergétique négative, ne permettrait pas d'influer sur la composition en AGPI des sécrétions mammaires à travers le rationnement à cause de l'effet de dilution des AG à partir de l'adipose [187].

## CONCLUSION

La matière grasse est l'un des constituants qui entre dans la composition physico-chimique du lait. Cette dernière tient une place de choix aussi bien pour la filière agro-alimentaire que pour le consommateur.

Les résultats obtenus respectivement par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) et par chromatographie en phase gazeuse/détecteur à ionisation de flamme (GC/FID) ont permis la caractérisation et l'identification de 21 et 17 acides gras dans les sécrétions mammaires des vaches étudiées. De plus, les acides butyrique (C4:0) et linoléique conjugué (ALC) dont le caractère bénéfique pour la santé humaine a été rapporté, ont pu être identifiés dans l'ensemble des échantillons analysés.

Les résultats de l'étude semi-quantitative, en accord avec ceux d'autres travaux déjà publiés, ont montré que le stade de la lactation et l'alimentation faisaient varier les teneurs en acides gras. En effet, les teneurs en acides gras à chaînes courtes [exception faite de l'acide myristique (C14:0)] sont plus faibles dans le colostrum que dans le lait. Cet état de fait est dû à aux faibles capacités de synthèse «*de novo*» dans la glande mammaire en raison de la faiblesse en précurseurs d'acides gras en début de la lactation quand la vache est en balance énergétique négative. Les teneurs en acides gras à chaînes moyennes, notamment l'acide palmitique (C16:0), sont plus élevées dans le colostrum que dans le lait, alors que l'inverse a lieu pour les acides gras à chaînes longues en raison du début de la mobilisation des lipides de dépôt par la vache en début de la lactation. Concernant les teneurs élevées en acides gras à chaînes longues dans le lait, notamment celles du mélange (C18:0 + C18:1), ce résultat pourrait s'expliquer par la nature de l'aliment concentré distribué qui est à base de tourteaux de soja.

## RECOMMANDATIONS

Les résultats préliminaires d'identification et de quantification des acides gras obtenus dans la présente étude peuvent être considérés comme une contribution à l'évaluation de la composition des sécrétions mammaires de vaches en Algérie.

Nous recommandons pour de futurs travaux sur ce thème :

- La cinétique des acides gras du lait sur une lactation (suivi à l'échelle individuelle).
- La cinétique des acides gras du colostrum (suivi à l'échelle individuelle).
- L'emploi d'une colonne capillaire de polarité élevée permettant la distinction de configuration *cis* ou *trans* des acides gras.
- La mise en application d'un protocole permettant d'accroître les teneurs en acides gras bénéfiques à la santé humaine et à l'industrie de transformation du lait.

## REFERENCES

1. Levieux, D., « Le colostrum, un lait particulièrement riche en de nombreux composants : peut-on en déceler la présence dans les livraisons de lait de vache? », *Le Lait*, (1999), 465-488.
2. Rochaix, A., et Tapernoux A., « Le lait et ses dérivés », 1<sup>ère</sup> édition Vigot frères, Paris (1943), 115p.
3. Pougheon, S. et Goursaud, J., « Le lait et ses constituants: caractéristiques physico-chimiques », in: Debry, G., « Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 3-42.
4. Vignola, C., L., « Science et technologie du lait : transformation du lait » Edit Presses Internationales Polytechnique, Montréal, (2002), 600p.
5. Mathieu, H., « Facteurs de variation de la composition du lait, in Laits et produits laitiers. 1. Les laits de la mamelle à la laiterie », 1<sup>ère</sup> édition Technique et Documentation Lavoisier, Paris (1985), 127p.
6. Mathieu, J., « Initiation à la physicochimie du lait », édition Lavoisier, paris (1998), 221p.
7. Gnadig, S., Chardigny, J.M. et Sebedio, J.L., « Lipides», in: Debry, G., « Lait, Nutrition et Santé », Edit Lavoisier, Tech &Doc, Paris, (2001), 105-124.
8. Morrison, W.R., « Milk lipids. In Topics in lipid chemistry », Ed Logo Press, London, (1970), 51-106.
9. Christie, W.W., « The composition, structure and function of lipids in tissues of ruminant animals », *Progress in Lipid Research* (1978), 17:111-125.
10. Christie, W.W., « Composition and structure of milk lipids in advanced dairy chemistry », 2<sup>nd</sup> Edition, Chapman and Hall, London (1995), 1-36.
11. Jensen, R.G. et Clark, R.W., « Lipid composition and properties. In fundamentals of dairy chemistry », 3rd Edit Van Nostrand, New York, (1988), p171-213.

12. Jensen, R.G., Ferris, A.M. et LAMMI-KEEFE, C.J., « SYMPOSIUM: MILK FAT-COMPOSITION, FUNCTION, AND POTENTIAL FOR CHANGE: The Composition of Milk Fat », J. Dairy Sci., (1991), 74:3228-3243.
13. Jensen, R.G., « The composition of bovine milk lipids: January 1995-December 2000 », J. Dairy Sci. (2002) 85: 295-350.
14. Vanhoutte, B. et Huyghebaert, A., « Chemical properties of milk fat in oils and fats » Vol 3, Leatherhead International Ltd, UK, (2003), 67-98.
15. Zegarska, Z., « Milk lipids. In Chemical and Fentional Properties of Food Lipids », CRC Press (2003), 265-277.
16. Mac Gibbon, A.K.H. et Taylor, M W., « Compositon and structure of bovine milk lipids. In Advanced Dairy Chemistry », Spriger Science édition, (2006), New York, 1-34.
17. Amiot, J., Fournier, S. et Lebeuf, Y., « Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait », in: Vignola, C., « Science et technologie du lait, transformation du lait », Edit Presses internationales polytechniques, Quebec, (2002), 1-30.
18. Christie, W., et Clapperton, J., « Structures of the triglycerides of cows' milk, fortified milk (including infant formulae) and human milk », J Soc Dairy Technol, (1982), 35: 22-24.
19. Kuksis, A., Marai, L. et Myher, J., « Triglyceride structure of milk fats », JAOCS, (1973), 50: 193-201.
20. Bitman, J. et Wood, L.D., « Changes in Milk Fat Phospholipids During Lactation », J. Dairy Sci., (1990), 73:1208-1216.
21. Hladik, J. et Michalec, C., « Ceramide-mono-hexosides and ceramide-dihexosides in lipoproteins of the membranes of fat globules in bovine milk », Acta Biol Med Germ, (1966), 16:696-699.
22. Morrison, W. et Smith, L., « Identification of ceramide monohexoside and ceramide dihexoside in bovine milk », Biochim Biophysica Acta, (1964), 84: 759-761.
23. Chrisitie, W. W., R. C. Noble, et C. Davies., « Phospholipids in milk and dairy products », J. Soc. Dairy Technol. (1987), 40:10-12.
24. Newburg, D. et Chaturverdi, P., « Neutral glycolipids of human and bovine milk », Lipids, (1992), 27: 923-927.

25. Bushway, A. et Keenan, T., « Composition and synthesis of three higher ganglioside analogs in bovine mammary tissue », *Lipids*, (1978), 13: 59-65.
26. Puente, R., Garcia-Pardo, L. et Hueso, P., « Gangliosides in bovine milk. Changes in content and distribution of individual gangliosides levels during lactation », *Biol Chem Hoppe-Seyler* (1992), 373: 283-288.
27. Laegrid, A., Otnaess, A.B.K et Fuglesang, J., « Human and Bovine milk: comparison of ganglioside composition and enterotoxin inhibitory activity », *Pediatr. Res.* (1986) 20:41.
28. Collomb, M. et Bulher, T., « Analyse de la composition en acides gras de la graisse de lait », *Mitt. Lebensm. Hyg.*, (2000), 91: 306-332.
29. Deman, L. et Deman, J.M., « Trans fatty acids in milk fat », *JAOCS* (1983), 60: 1095-1098.
30. Sommerfeld, M., « Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods », *Prog Lipid Res* (1983), 22: 221-233.
31. Chrisite, W.W., « The analysis of lipids with special reference to milk fat. Ch. 5. Recent advances in chemistry and technology of fats and oils ». Edition Elsevier Appl. Sci, (1987), NewYork.
32. Tensen, R.G., Ferris A.M., Lammi-Keefe, C. J. et Henderson, R. A., « Lipids of bovine and human milks: a comparison ». *J. Dairy Sci.* (1990) 73:223-240.
33. O'keefe, S.F. in: Akoh C.C., Min D.B. (Eds.), « Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology », Marcel Dekker, (1998) New York, p.1.
34. Lobb, K. Chow, C.K., « Fatty Acids in Foods and Their Health Implications », 2nd Edition, Marcel Dekker, New York, (2000), p.241.
35. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), synthèse du rapport « Risques et bénéfices pour la santé des AG *trans* apportés par les aliments – Recommandations », (2005), 1-43.
36. Naudet, M., « Principaux constituants des corps gras. In Manuels des Corps Gras », vol. 1, Karleskind A., ed, (1992). Lavoisier Tec & Doc, Paris, 65-113.
37. Seppanen-Laakso T., Laakso I. et Hiltunen R., « Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition », *Analytica Chimica Acta*, (2002) 465: 39-62.
38. Adrien J., Potus J., Frangne R., « La Science Alimentaire de A à Z », Lavoisier Tec & Doc ed, Paris (1999), 477p.

39. Noble, R.C., « Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals », *Progress in Lipid Research*, (1978), 17: 55-91.
40. Hebeisen, D.F., Hoeflin, F., Resurch, H.P., Junker, E. et Lauterburg, B.H., « Increased concentrations of omega-3 fatty acids in milk and platelet rich plasma of grass-fed cows », *Int. J. Vit. Nut. Res.*, (1993), 63: 229-233.
41. Wolf, R.L., Bayard, C.C. et Fabien, R.J., « Evaluation of sequential methods for the determination of butter fat fatty acid composition with emphasis on trans-18:1 acids: Application to the study of seasonal variation in French butters », *JAOCS*, (1995), 72: 1471-1483.
42. Mensink, R.P. et Katan, M.B., « *Trans* monounsaturated fatty acids in nutrition and their impact on serum lipoprotein levels », *Progress in Lipid Research*, (1993), 32: 111-122.
43. Precht, D. et Molquentin, J., « Rapid analysis of the *trans* octadecenoic acid in milk fat », *Int. Dairy J.*, (1996), 6: 791-809.
44. Precht, D. et Molquentin, J., « *Trans* geometrical and positional isomers of linoleic acid including conjugated linoleic acid in German milk and vegetable fats », *Fett / Lipid*, (1997) 99: 319-326.
45. Enjalbert, F., « Biosynthèse des constituants du lait chez la vache », *Recueil de Médecine Vétérinaire -Spécial Qualité du lait-*, (1994) 6: 353-358.
46. Chilliard, Y., Ferlay, A. et Doreau, M., « Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras *trans*, polyinsaturés, acide linoléique conjugué », *INRA Prod. Anim.*, (2001), 323-335.
47. Chilliard, Y., Ferlay, A., « Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties », *Rep. Nutr. Dev.* (2004), 44: 467-492.
48. Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A., et Griinari J. M., « Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants », *Proc of the Am Soc of An. Sci.*, (1999), 15p. Disponible sur: <http://www.asas.org/jas/sympsia/proceedings/0937.pdf>.
49. Anison, E.F., Linzell, J.L., Fazakerley, S. et Nichols, B.W., « The oxidation and utilisation of palmitate, stearate, oleate and acetate by the mammary gland of the fed goat in relation to their overall metabolism, and the role of plasma phospholipids and neutral lipids in milk fat synthesis », *Biochem J.*, (1967), 102 (3): 637-647.



50. Yang, Y.T., Rohde, J.M. et Baldwin, R.L., « Dietary lipid metabolism in lactating dairy cows », *J. Dairy Sci.*, (1978), 61: 1400-1406.
51. Thomson, G.E., et Christie, W.W., « Extraction of triacylglycérol by the mammary gland of the lactating cow », *J. Dairy Research*, (1991), 58:251-255.
52. Park, C.S. et Rafalowski, W., « effect of dietary fat supplementation on lipid metabolism of holstein heifers », *J. Dairy Sci.*, (1983), 66: 528-538.
53. Bickerstaffe, R. et Annison, E.F., « The desaturase activity of goat and cow mammary tissue », *Comp. Biochem. Physiol.*, (1970), 35: 653-663.
54. Clapperton, J.L. et Banks, W., « Factors affecting the yield of milk and its constituents, particularly fatty acids, when dairy cows consume diets containing added fat », *J. Sci. Food. Agric.*, (1985), 36: 1205-1211.
55. Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V. et Bauman, D.E., « Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta 9-desaturase », *J. Nut.*, (2000), 130: 2285-2291.
56. Griinari, J.M., Bauman, D.E., Chilliard, Y., Perajoki, P. et Nurmela, K., « Dietary influences on conjugated linoleic acids (CLA) in bovine milk fat ». 3rd Meeting of European Section, JAOCS, (2000), 18-21th June, Helsinki, p 87.
57. Forsberg, N.E., Baldwin, R.L. et Smith, N.E., « Roles of acetate and its interactions with glucose and lactate in cow mammary tissue », *J. Dairy Sci.*, (1984), 67: 2247-2254.
58. Farrelly, H.M., Deeney, J.T., Tubbs, K. et Walsh, R.A., « Role of the isocitrate dehydrogenase and other Krebs cycle enzymes in lactating bovine mammary gland », *J. Dairy Sci.*, (1987), 70: 781-788.
59. Selner, D.R. et Schultz, L.H., « Effects of feeding oleic acid hydrogenated vegetable oils to lactating cows », *J. Dairy Sci.* (1980), 63: 1235-1241.
60. Harfoot, C.G. et Hazlewood, G.P., « Lipid metabolism in the rumen. In: The Rumen Microbial Ecosystem » P. N. Hobson, Ed. Elsevier. (1988); London and New York. p285-322.
61. Keeney, M., « Lipid metabolism in the rumen. In Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant », A.T. Phillipson, ed. Oriel Press, (1970), Newcastle upon Tyne, UK p489-503.
62. Doreau, M. et Ferlay A., « Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants » *Anim. Feed. Sci. Technol.* (1994.), 45: 379-396.

63. Hawke, J.C., Taylor, M.W. « Influence of nutritional factors on the yield, composition and physical properties of milk fat. In, *Advanced Dairy Chemistry: Lipids*. 2<sup>nd</sup> eds. (P.F. Fox, ed), Chapman and Hall, (1994) London pp. 37-38.
64. Zegarska, Z., Jaworski, J., Paszczyk, B.B., Charkiewicz, J., Borejszo, Z. « Fatty acid composition with emphasis on *trans* C18:1 isomers of milk fat from lowland black –and- White and Polish red cows. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* (2001) 10/51, 41-44.
65. Karijord, O., Standal, N., Syrstad, O. « Sources of variation in composition of milk fat» *Tierzuchtg. Zuchtgsbiol.* (1982) 99: 81-93.
66. Bauman, D.E., Griinari, J.M. « Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat syndrome » *Livestock Production Science* (2001) 70: 15-29.
67. Stull, J.W., Brown, W.H. « Fatty acid composition of milk. II. Some differences in common dairy breeds» *J Dairy Sci* (1964) 47, 1412.
68. Beaulieu, A.D. et Palmquist, D.L. « Differential effects of high fat diets on fatty acid composition in milk of Jersey and Holstein cows» *J Dairy Sci* (1995) 78:1336-1344.
69. Kelsey, J.A., Corl, B.A., Collier, R.J., Bauman, D. « The effect of breed, parity, and stage of lactating on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows» *J Dairy Sci* (2003) 86: 2588-2589.
70. Lawless, F., Murphy, J.J., Kjellmer, G., Conolly, J.F., Devery, R., Aherne, S., O'Shea, M., Stanton, C. « Effect of diet on bovine milk fat conjugated linoleic acid content» *Irish Journal of Agriculture and Food Research* (1996) 35:208-211.
71. White, S. L., Bertrand, J. A. Wade, M. R., Washburn, S. P., Green, J. T. Jr., et Jenkins, T. C., «Comparison of Fatty Acid Content of Milk from Jersey and Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration» *J. Dairy Sci* (2001) 84: 2295-2301.
72. Whitlock, L.A., Schingoethe, D.J., Hippen, A.R., Kalscheur, K.F., Baer, R.J., Ramaswamy, N., Kasperson, K.M. « Fish oil and extruded soybeans fed in combination increase conjugated linoleic acid in milk of dairy cows more than when fed separately» *J Dairy Sci* (2002) 85: 234-243.
73. Capps, V.A., Depeters, J.E., Taylor, J.S., Perez-Monti, H., Rosenberg, M.W. « Effect of breed of dairy cattle and dietary fat on milk yield and composition» *J. Dairy Sci* (1999) 82 (Suppl.1): 45.

74. Dhiman, T.R., Zaman, M.S., Kilmer, L., Gilbert, D., « Breed of dairy cows has influence on conjugated linoleic acid (CLA) content of milk» J Dairy Sci (2002) 85 (Suppl. 1): 315.
75. Auldism, M.J., Johnston, K.A., White, N.J., Fitzsimons, W.P., Boland, M.J. « A comparison of the composition, coagulation characteristics and Cheese making capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows». J Dairy Research (2004) 71: 51-57.
76. Townsend, S.J., Siebert, B.D., Ptichford, W.S. «Variation in milk fat content and fatty acid composition of Jersey and Frisian cattle». Proceedings of the Association for the Advancement of Animal breeding. Dubbo, (1997), NSW, Australia.
77. Auldism M J; Walsh B J; Thomson N A. «Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand». J. Dairy Research (1998) 65:33, 401-411.
78. Palmquist, D.L., Beaulieu A.D., Barbano, D.M. «Feed and animal factors influencing milk fat composition». J.Dairy Sci (1993) 76: 1753-1771.
79. Stanton, C., Lawless, F., Kjellmer, G., Herrington, D., Devery, R., Connolly, J.F., Murphy, J., «Dietary influences on bovine milk *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content». J. of Food Science (1997) 62: 1083-1086.
80. Hortet, P., et Seegers. H. «Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows». Prev. Vet. Med. (1998) 37:1–20.
81. Banks, W., Clapperton, J.L., Ferrie, M.E. «Effect of feeding fat to dairy cows receiving a fat- deficient basal diet. II. Fatty acid composition of milk fat». J Dairy Research (1976) 43: 219-227.
82. Sutton, J.D. «Altering milk composition by feeding». J Dairy Sci (1989) 72: 2801-2814.
83. Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. «Effect of different type of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids» Livestock Production Science (2001) 70: 31-48.
84. Noble, R.C., Steele, W., Moore, J.H. «The effects of dietary palmitic and stearic acids on milk fat composition in the cow» J Dairy Research (1969) 36: 375-381.

85. Storry, J.E., Hall, A.J., Johnson, V.W. «The effects of increasing amounts of dietary coconut oil on milk- fat secretion in the cow». *J Dairy Research* (1971) 38: 73-77.
86. Jenkins, T.C. «Fatty acid composition of milk from Holstein cows fed oleamide or canola oil». *J Dairy Research* (1998) 81: 794-800.
87. Jenkins, T.C. «Lactation performance and fatty acid composition of milk from Holstein cows fed 0 to 5% oleamide». *J Dairy Sci* (1999) 82: 295-350.
88. LaCount, D.W., Drackely, J.K., Laesch, S.O., Clark, J.H. «Secretion of oleic acid in milk to response to abomasal infusion of canola or high oleic sunflower fatty acids». *J Dairy Sci* (1994) 77: 1372-1385.
89. Hagemeister, H., Precht, D., Franzen, M., Barth, C.A. « $\alpha$ -Linoleic transfer into milk fat and its elongation by cows». *Fat Science Technology* (1991) 93: 387-391.
90. McDonald, I.W., Scott, T.W. «Foods of ruminant origin with elevated content of polyunsaturated fatty acids». *World review of nutrition and dietetics* (1977) 26: 144-207.
91. Bitman, J., Dryden, L.P., Goering, H.K., Wrenn, T.R., Yoncoskie, R.A., Edmondson, L. «Efficiency of transfer of polyunsaturated fats in to milk». *J of Am Oil and Chem Soc* (1973) 50: 93-98.
92. Pan, Y.S., Cook, L.J., Scott, T.W. «Formaldehyde-treated casein- safflower oil supplement for dairy cows. I. Effect on milk composition». *J Dairy Research* (1972) 39: 203-210.
93. Ashes, J.R., Vincent Welch, P., Gulati, S.K., Scott, T.W., Brown, G.H., Blakely, S. «Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds». *J Dairy Sci* (1992) 75: 1090-1096.
94. Kelly, M.L., Kolver, D.S., Bauman, D.E., Van Ambrugh, M.E., Muller, L.D. «Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating dairy cows». *J Dairy Sci* (1998) 81: 1630-1636.
95. Jahreis, G., Fristche, J., Steinhart, H., «Conjugated linoleic acid in milk fat: high variation depending on production system». *Nutrition Research* (1997) 9: 1479-1484.
96. Schroeder, G.F., Delahoy, J.E., Vidaurreta, I., Bargo, F., Gagliostro, G.A., Muller, D. «Milk fatty acid composition of cows fed a total mixed ration or

- pasture plus concentrates replacing corn with fat». *J Dairy Sci* (2003) 86: 3237-3248.
97. Lock, A.L., Garnsworthy, P.C. «Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and  $\Delta 9$ - desaturase activity in dairy cows». *Livestock Production Science* (2003) 9: 47-59.
98. Murphy, J.J., Conolly, J.F., McNeil, G.P., «Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soybeans and rape seeds of dairy cows at pasture». *Livestock Production Science* (1995) 44: 13-25.
99. Dhiman, T.R., Anand, G.R., Satter, L.D., Pariza, M.W. «Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets». *J Dairy Sci* (1999) 82: 2146-2156.
100. Rego, O.A., Portugal, V.P., Sousa, B.M., Rosa, D.J.H., Vouzela, M.C., Rui, S.E.A, Bessa, J.B. «Effect of diet on the fatty acid pattern of milk from dairy cows». *Animal Research* (2004) 53: 213-220.
101. Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. «Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids». *Annales de Zootechnie* (2000) 49: 181-205.
102. Banni, S., Carta, G., Contini, M.S., Angioni, E., Deiana, M., Desse, M.A., Melis, M.P., Corongiu, F.P. «Characterisation of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products and lamb tissues». *Nutritional Biochemistry* (1996) 7: 150-155.
103. Thordotti, I., Hill, J., Ramel, A. «Short communication: Seasonal variation in *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from Nordic countries». *J Dairy Sci* (2004) 87: 2800-2802.
104. Precht, D., Molkentin, J. «Frequency distribution of conjugated Linoleic acid and *trans* fatty acids contents in Europeans bovine milk fats». *Milchwissenschaft* (2000) 55: 687-691.
105. Johnson, H.D., Spencer, K.J., Manula, W., Meador, N.F., Katti, P.S. «Influence of water sprays and wind in hot humid environments on milk yield, metabolic and thermoregulatory functions». In 18<sup>th</sup> Conference on Agriculture and Forest Meteorology and Conference on Biometeorology and Aerobiology. (2002), Lafayette. Indiana pp. 330-333.
106. Parodi, P.W., « Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat », *J. Dairy Sci.*, (1999), 82:1339-1349.

107. Velazquez, O.C., Jabbar, A. et DeMatteo, R.P., « Butyrate inhibits seeding and growth of colorectal metastases to the liver in mice », *Surgery*, (1996), 120: 440-447.
108. Planchon, P., Raux, H et Magnien, V., « New stable butyrate derivatives alter proliferation and differentiation in human mammary cells », *Int. J. Cancer*, (1991), 48: 443-449.
109. Parodi, P.W., « Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents », *J. Nutr.*, (1997), 127:1066-1060.
110. Smith, J.G., Yokoyama, W.H. et German, J.B., « Butyric acid from the diet: actions at the level of gene expression », *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, (1998), 38: 259-297.
111. Chen, Z.X. et Breitman, T.R., « Tributyrin: a prodrug of butyric acid for potential clinical application in differentiation therapy », *Cancer Res.*, (1994), 13: 3494-3499.
112. Lupton, J.R., « Butyrate and colonic cytokinetics: Differences between in vitro and in vivo studies », *Eur j Cancer Prev*, (1995), 4: 373-378.
113. Parodi, P.W., « Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents », *J. Nutr.*, (1997), 127: 1055-1060.
114. Yanagi, S., Yamashita, M. et Imai, S., « Sodium butyrate inhibits the enhancing effect of high fat diet on mammary tumorigenesis », *Oncology*, (1993), 50: 201-204.
115. Hague, A. et Paraskeva, C., « The short-chain fatty acid butyrate induces apoptosis in colorectal tumour cell lines », *Eur.J. Cancer. Prev.*, (1995), 4: 359-364.
116. Hague, A., Elder, D.J. et Hicks, D.J., « Apoptosis in colorectal tumor cells induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate », *Int. J. Cancer*, (1995), 60: 400-406.
117. Marchetti, M.C., Migliorati, G et Moraca, R., « Possible mechanisms involved in apoptosis of colon tumor cell lines induced by deoxycholic acid, short-chain fatty acids, and their mixtures », *Nutr. Cancer*, (1997), 28: 74-80.
118. Chin, S.F., Liu, W. et Storkson, J., « Dietary sources of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens », *J. Food Comp. Anal.*, (1994), 5: 185-197.

119. Lin, H., Boylston, T.D. et Chang, M.J., « Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products », *J. Dairy Sci.*, (1995), 78: 2358-2365.
120. Shultz, T.D., Chew, B.P. et Seaman, W.R., « Differential stimulatory and inhibitory responses of human MCF-7 breast cancer cells to linoleic acid and conjugated linoleic acid in culture », *Anticancer Res.*, (1992), 12: 2143-2145.
121. Liew, C., Schut, H.A. et Chin, S.F., « Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f] quinoline induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms », *Carcinogenesis*, (1995), 16: 3037-3043.
122. Debry, G « Lait nutrition et santé », Technique et Documentation, Edition Lavoisier, (2001), Paris 567p.
123. Jensen, R. et Newburg, D., « Bovine milks lipids. In: Jensen, R., Handbook of milk composition », Academic Press, San Diego, (1995), 543-576.
124. Hegsted, D.M., Ausman, L.M. et Johnson, J.A. « Dietary fats and serum lipids: an evaluation of the experimental data », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1993), 57: 875-883.
125. Kris-Etherton, P.M. et Diestchy, J., « Design criteria for studies examining individual fatty acid effects on cardiovascular disease risk factor: human and animal studies », *Am. J. Clin. Nutr.*, suppl, (1997), 65: 1590-1596.
126. McNamara, D.J., « Dietary fatty acids, lipoproteins, and cardiovascular disease » *Adv. Food. Nutr. Res.*, (1992), 36: 253-351.
127. Tholstrup, T., Marckmann, P. et Jespersen, J., « Fat high in stearic acid favorably affects blood lipids and factor VII coagulant activity in comparison with fats high in palmitic acid or high in myristic and lauric acids », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1994), 59: 371-377.
128. Aro, A., Jauhiainen, M. et Partanen, R. « Stearic acid, *trans* fatty acids, and dairy fat: effect on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein (a), and lipid transfer protein healthy subjects », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1997), 65: 1419-1426.
129. Berner, L.A., « Roundtable discussion on milk fat, dairy foods and coronary heart disease risk », *J. Nutr.*, (1993), 123: 1175-1184.
130. Hayes, K.C. et Khosla, P., « Dietary fatty acids thresholds and cholesterolemia ». *FASB J*, (1992), 6: 2600-2607.

131. Connor, W.E. « Harbingers of coronary heart disease: dietary saturated fatty acids and cholesterol. Is chocolate benign because of its stearic acid content? ». *Am. J. Clin. Nutr.*, (1999), 70:951-952.
132. Kris-Etherton, P.M. et Yu, S., « Individual fatty acids effects on plasma lipids and lipoproteins: human studies », *Am. J. Clin. Nutr.*, suppl, (1997), 65: 1628-1644.
133. Vega, G.L. et Grundy, S.M., « Plasma cholesterol responsiveness to saturated fatty acids », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1988), 47: 822-824.
134. Mensink, R.P. et Katan, M.B., « Effect of diet enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids on levels of low-density and high-density lipoprotein cholesterol in healthy women and men », *N. Engl. J. Med.*, (1989), 321: 436-441.
135. Grundy, S.M. et Denke, M.A., « Dietary influences on serum lipids and lipoproteins », *J. Lip. Res.*, (1990), 31: 1149-1172.
136. Banni, S. et Martin, J. « Conjugated linoleic acid and metabolites. In: Sébédio, J et Christie, W.W., *trans fatty acids in human nutrition* », The Oily Press Dundee, Scotland, (1998), 261-302.
137. Jiang, S., Van Denberg, M. et Rauwerda, J.A., « Hyperhomocysteinemia and atherothrombotic disease », *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, (1999), 24: 381-385.
138. Ha, Y.L., Storkson, J. et Pariza, M.W., « Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid », *Cancer Res.*, (1990), 50: 1097-1101.
139. Rudel, L.L., « Atherosclerosis and conjugated linoleic acid », *Br. J. Nutr.*, (1999), 81: 177-179.
140. Gavino, V.C., Scalzo, G. et Tuchweber, B., « Effect of short-term feeding of conjugated linoleic acid (CLA) on serum cholesterol and atherosclerosis development in hamsters », *FASEB J*, (1998), 12: A535.
141. Sebedio, J.L., Gnaedig, S. et Chardigny, J.M., « Recent advances in conjugated linoleic acid research », *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, (1999), 2: 499-506.
142. Harris, W.S., « n-3 fatty acids and human lipoprotein metabolism: an update », *Lipids*, (1999), 34: S257-S258.



143. Nestel, P.J., « Fish oil and cardiovascular disease: lipids and arterial function », *Am. J. Clin. Nutr.*, (2000), 71,: 228-231.
144. Lichtenstein, A.H., « *trans* fatty acids and blood lipid levels, Lp (a), parameters of cholesterol metabolism, and hemostatic factors », *J. Nutr. Biochem.*, (1998), 9: 244-248.
145. Kris-Etherton, P.M., Emken, E.A. et Allison, D.B., « *trans* fatty acid and coronary heart disease risk. Report of the expert panel on *trans* fatty acids and coronary heart disease », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1995), 62: 655-707.
146. Feldman, E.B, Kris-Etherton, P.M. et Kritchevsky, D., « Position paper on *trans* fatty acids for the ASCN/AIN Task force on *trans* fatty acids of the American society for clinical nutrition and American institute of nutrition », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1996), suppl, 63: 663-670.
147. Grundy, S.M., « What is the desirable ratio of saturated, polyunsaturated and monounsaturated fatty acids », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1997), suppl, 66: 988-990.
148. Precht, D. et Molкетин, J., « *Trans* fatty acids: implications for health, analytical methods, incidence fats and intake », *Nahrung*, (1995), 39: 343-374.
149. Siguel, E.N. et Lerman, R.H., « *Tans* fatty acid patterns in patient with angiographically documented coronary artery disease », *Am. J. Cardio.*, (1993), 71: 916-920.
150. Ascherio, A., Hennekens, C.H. et Buring, J.E., « *Trans* fatty acids intake and risk of myocardial infraction », *Circulation*, (1994), 89: 94-101.
151. Botti, R.E. et Ratnoff, O.D., « The clot-promoting effects of soaps of long-chain saturated fatty acids », *J. Clin. Invest.*, (1963), 42: 1569-1577.
152. Connor, W.E., « The acceleration of thrombus by certain fatty acids », *J. Clin. Invest.*, (1962), 42: 1199-1205.
153. Kelly, F.D., Mann, N.J. et Turner, A.H. « A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males» *Eur. J. Clin. Nutr.*, (2001), 55: 88-96.
154. Watts, G.F., Jackson, P. et Burke, V., « Dietary fatty acids and progression of coronary artery disease in men », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1996), 64: 202-209.
155. Hoak, J.C., « Stearic acid, clotting, and thrombosis », *Am. J. Clin. Nutr.*, (1994), 60: 1050-1053.

156. Schoene, N.W., Allman, M.A. et Dougherty, R.M. « Diverse effects of dietary stearic acid and palmitic acid on platelet morphology. In: Essential fatty acids and eicosanoids », (1993), AOCS Press, Champaign, 290-292.
157. Minno, G.Di, Piemontino, U. et Cerbone, A.M., « Nutrition and thrombogenic factors », Nutr Metab Cardiovasc Dis, (1999), 4:16-20.
158. Beilin, L.J., « Dietary fats and blood pressure » Proc. Nutr. Australia, (1990), 15: 15-18.
159. Iacono, J.M., Dougherty, R.M. et Puska, P., « Dietary fat and blood pressure in humans », Klin Wochenschr, (1990), 68: 23-32.
160. Sacks, F.M., Marais, G. et Handysides, R.N., « Lack of an effect of dietary saturated fat and cholesterol on blood pressure in normotensives », Hypertension, (1984), 6: 93-198.
161. Beilin, L.J., « Dietray fats, fish, and blood pressure », Ann. NY Acad. Sci., (1993), 68 (3): 35-45.
162. Gravas, I., Manolis, A., Gravas, H., « Genetic epidemiology of essential hypertension », J. Hum. Hypert., (1999), 13: 225-230.
163. Kishimoto Y. et Radin N.S. «A reaction tube for methanolysis; instability of hydrogen chloride in methanol» J. Lipid Res. (1965), 6: 435-436.
164. Metcalfe L.D. et Schmitz A.A. «The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic, analysis» Analyt. Chem. (1961), 33: 363-364.
165. Morrison W.R. et Smith L.M. «Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol» J. Lipid Res. (1964) 5: 600-608.
166. Peterson, D. G., Kelsey J. A. et Bauman, D. E., « Analysis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows», J. Dairy Sci., (2002), 85 : 2164-2172.
167. Christie, W. W., «A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters» J. Lipid Res. (1982), 23: 1072-1075.
168. Chouinard, P.Y., Corneau, L., Barbano, D. M., Metzger L.E. et Bauman D. E., « Conjugated Linoleic Acids Alter Milk Fatty Acid Composition and Inhibit Milk fat sécretion in Dairy Cows », J. Nutr., (1999), 129, 1579-1584.
169. Bitman, J., Wood, D.L., Miller, R.H. et Wilk J.C., « Comparison of lipid composition of milk from Half-Danish Jersey cows and United States Jersey cows».J. Dairy Sci. (1995), 78: 655-658.

170. Lepage G. et Roy C.C. « Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification » *J. Lipid Res.* (1984), 25: 1391-1396.
171. Kocsisova T., Cvengros J. et Lutisan J., « High-temperature esterification of fatty acids with methanol at ambient pressure» *Eur. J; Lipid Sci. Techn.* (2005), 107: 87-92.
172. Loor, J.J., Ferlay, A., Ollier, A., Doreau M. et Chilliard Y., « Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk yield due to dietary concentrate and linseed oil», *J. Dairy Sci.*, (2005), 88: 726-740.
173. Christie, W.W., Sebedio J.L. et Juaneda, P., « A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid », *Inform* (2001), 12: 147-156.
174. Loor, J.J. et Herbein, J.H., «Effect of dietary sources of vegetable oils on performance of high-yielding lactating cows and conjugated linoleic acids in milk», *Anim. Res.*, (2001), 51: 119-134.
175. Morrison, W.R. et Hay J.D., « Polar lipids in bovine milk. II», *Biochim. Biophys. Acta.*, (1970), 202: 460-467.
176. Christie, W.W., «Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. Advances in Lipid Methodology Two», Edition, Oily Press, Dundee, (1993) pp. 69-111.
177. Tranchant, J., « Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse », 4<sup>e</sup> Edition, Masson, Paris (1995), 700p.
178. Togashi K. et Lin C. Y. « Modifying the Lactation Curve to Improve Lactation Milk and Persistency », *J. Dairy Sci.* (2003), 86:1487–1493.
179. Natzke, R. P., Schultz, L. H., Barr, G. R., Holtmann, W. B. « Variation in Mastitis Screening Tests and Milk Composition of Udder Quarters under Normal Conditions and Following Omission of a Milking », *J. Dairy Sci.* (1965) 48 (10) 1295-1299.
180. Hara, A., et Radin, N.S., « Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent », *Anal. Biochem* (1978), 90: 420-426.
181. Feng, S., Lock, A.L. et Garnsworthy, P.C. « Technical Note: A Rapid Lipid Separation Method for Determining Fatty Acid Composition of Milk », *J. Dairy Sci.* (2004), 87:3785-3788.

182. Kim, J. et Lindsay, R.C. « Method for the quantitative analysis of volatile free and total branched-chain fatty acids in cheese and milk fat », J. Dairy Sci., (1990), 73: 1988-1999.
183. Chouinard, P.Y., Corneau, L., Saebo, A. et Bauman, D.E. « Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows », J. Dairy Sci., (1999), 82: 2737-2745.
184. Agilent Technologies, Inc., 2005-2008, « Description de votre Chemstation », Edition 07/08. Référence du manuel G2070-93125, (2004), 290p.
185. Agilent Technologies, « Fatty acid methyl esters Standard on DB-Wax column », (2005), 1p.
186. Parodi, P.W., « Positional distribution of fatty acids in triglycerides from prepartum mammary gland secretion and early postpartum milk », J. Dairy Sci., (1983) 66: 912-919.
187. Grummer, R.R., « Effect of Feed on the Composition of Milk Fat », J. Dairy Sci (1991) 74: 3244-3257.
188. Bauman, D.E., et Davis, C.L., « Biosynthesis of milk fat Chapter 2 In lactation: A comprehensive treatise ». Edition Academic Press New York, NY, Vol. 2. (1974), pp 31-75.
189. Mattos, W., et Palmquist. D. L., «Turnover of lipoproteins and transfer to milk fat of dietary (1- carbon-14) linoleic acid in lactating cows».J. Dairy Sci (1978) 61:561.
190. Nardone, A., Lacetera, N., Bernabucci, U., Ronchi, B., « Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period », J. Dairy Sci (1997) 80: 838-844.
191. DeMan J.M., « Gas chromatography of the short-chain fatty acids of milk fat », Milchwissenschaft (1961), 16: 245.
192. Kaufmann H.P. et Mankel G., « Anwendung der Gas-Chromatographie auf dem Fettgebiet. III. Einfluoz der Herstellungsverfahren der Fettsäuremethylester auf das quantitative Ergebnis » Fette u Seifen (1963), 65: 179
193. Kay, J.K. et al., « Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows », J. Dairy Sci (2005) 88: 3886-3893.

194. Piva, G., Fusconi G., et Prandini, A., « Capri.composizione acidica del grasso del latte: fattori di variabilita` in aziende dell'area padana» Sci. Tecn. Latt.-Cas. (1993) 44:309.
195. Whiting, C.M., Mutsvangwa, T., Walton, J.P., Cant, J.P. et McBride, B.W., « Effects of feeding either fresh alfalfa or alfalfa silage on milk fatty acid content in Holstein dairy cows», An. Feed Sci. and Tech. (2004) 113: 27-37.
196. Eynard, P. «Etude in vitro de la biohydrogénation ruminale des acides gras d'un mélange graine de colza - tourteau de colza et de la graine de soja chez la vache laitière : influence de l'extrusion» Thèses Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (2002), p 75.
197. Bateman, H.G. et Jenkins, T.C., «Influence of Soybean oil in high fiber diets fed to non lactation cows on ruminal unsaturated fatty acids and nutrients digestibility» J. Dairy Sci (1998) 81: 2451-2458.
198. Jenkins, T.C., «Effect of fats and fatty acid combinations on ruminal fermentations in semi-continuous in vitro cultures» J. An. Sci (1987) 64: 1526-1532.
199. Bayrouthe, C., Enjalbert, F., et Moncoulon, R., «Effects of different forms of canola oils fatty acids plus canola meal on milk composition and physical properties of butter», J. Dairy Sci (2000) 83: 690-696.
200. Murphy, J.J., Connolly, J.F., et Mac Neill, G.P., «Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soybeans and rapeseeds to dairy cows at pasture» Livestock Production Science (1995) 44: 13-25.
201. Troegeler-Meynadier, A., et Enjalbert, F., «Les acides linoléiques conjugués : 1. Intérêt biologiques en nutrition» Rev. Méd. Vét., (2005), 156, 4, 207-216.

**APPENDICE****LISTES DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

ACC :	Acétyl CoA carboxylase
AG :	Acide gras
AGCC :	Acide gras à chaînes courtes
Ag-CCM :	Chromatographie sur couche mince au nitrate d'argent
AGCL :	Acides gras à chaînes longues
AGCM :	Acide gras à chaînes moyennes
AGI :	Acide gras insaturé
AGL :	Acide gras libre
AGMI :	Acide gras mono-insaturé
AGNE :	Acide gras non estérifié
AGPI :	Acide gras poly-insaturé
AGS :	Acide gras saturé
AGV :	Acide gras volatil
ArD :	Antérieur droit
ArG :	Antérieur gauche
BF <sub>3</sub> :	Tri Fluorure de Bore
<i>c</i> :	<i>cis</i>
CLA :	Acide Linoléique Conjugué
CMT :	California Mastitis Test
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse
EMAG :	Esters Méthyliques Acides Gras
GC/FID :	Chromatographie en phase gaz/détection par ionisation de flamme.
GC/MS :	Chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse
GG :	Globule gras
HCl :	Acide Chloridrique
HDL :	High Density Lipoproteins
LDL :	Low Density Lipoproteins

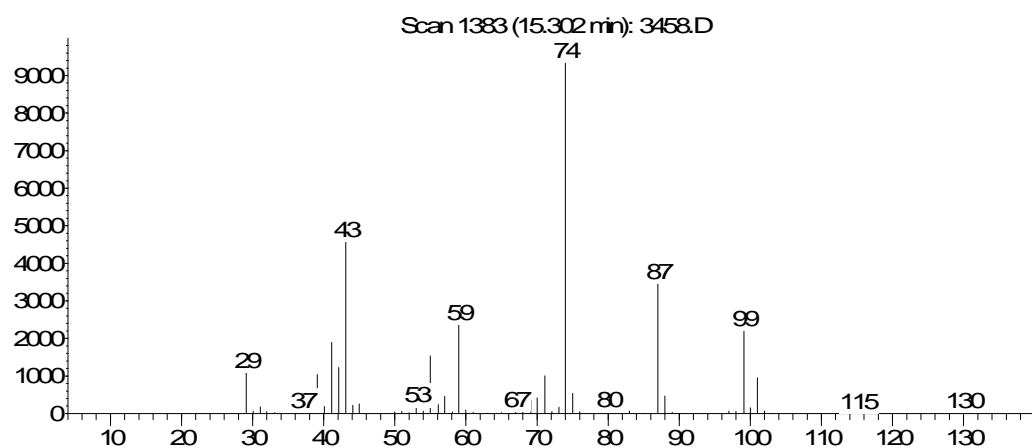
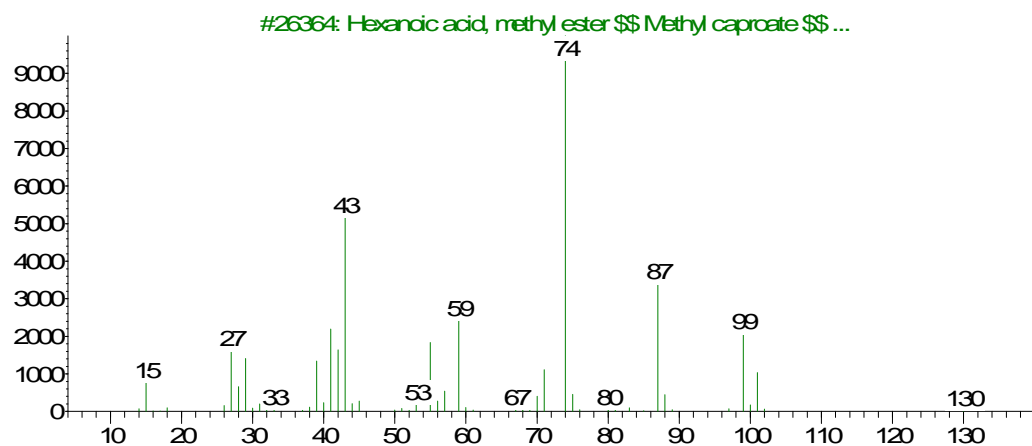
MFGM :	Milk Fat Globule Membrane
MG :	Matière grasse
PEGs :	Poly éthylène glycol succinate
PrD :	Postérieur droit
PrG :	Postérieur gauche
<i>sn</i> :	Substitution nucléophile
<i>t</i> :	<i>trans</i>
TAG :	Triacylglycérol
$t_R$ :	Temps de rétention
VL :	Vache Laitière
vs :	Versus

## ANNEXE I

Spectres de masses des pics n°2 à n°21 du soluté issu de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

Le **pic n°2**, élué sur le chromatogramme avec un t<sub>R</sub> égal à 15,302 min, a été identifié (Cf. Figure 6.19) comme étant l'hexanoate de méthyle C6:0 (masse moléculaire 130,10) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7 N.L.

Abundance

m/z->  
Abundance

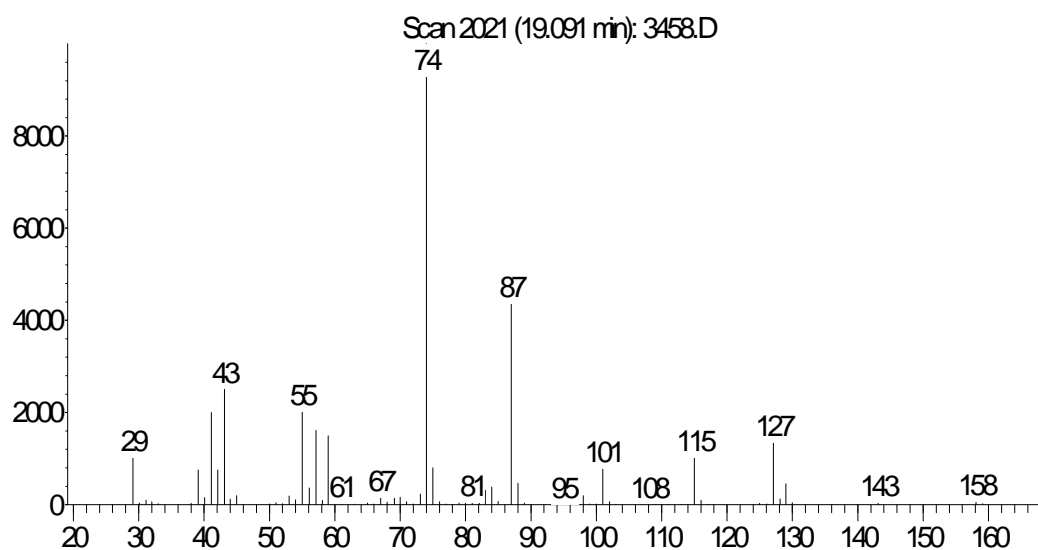
m/z-&gt;

Figure 6.19 : Spectre de masse de l'hexanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

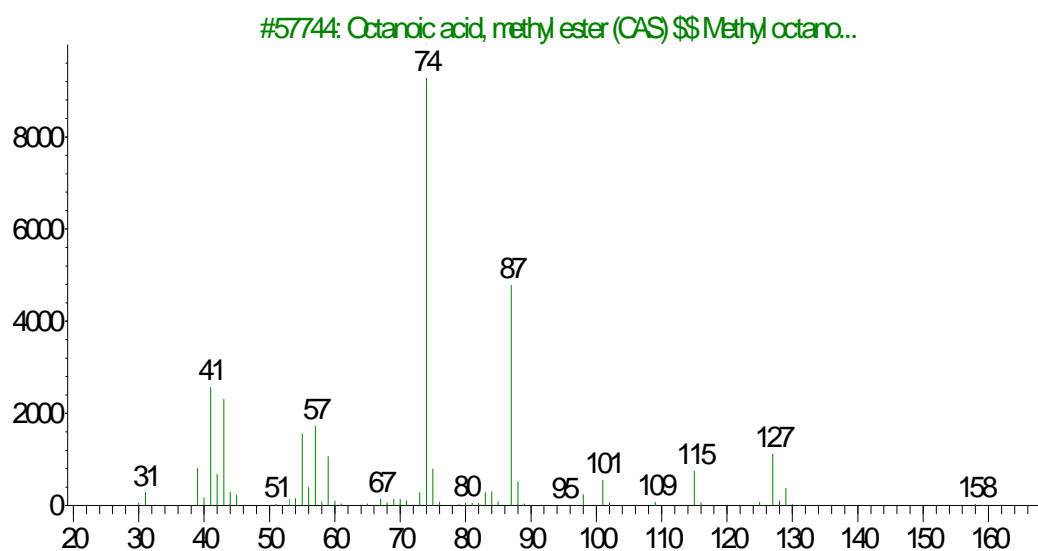


Le **pic n°3**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 19,091 min, a été identifié (Cf. Figure 6.20) comme étant l'octanoate de méthyle C8:0 (masse moléculaire 158,13) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley7N.L

Abundance



m/z->  
Abundance



m/z->

Figure 6.20 : Spectre de masse de l'octanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

Le **pic n°4**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 23,190 min, a été identifié (Cf. Figure 6.21) comme étant le décanoate de méthyle C10:0 (masse moléculaire 186,16) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley7N.L.

Abundance

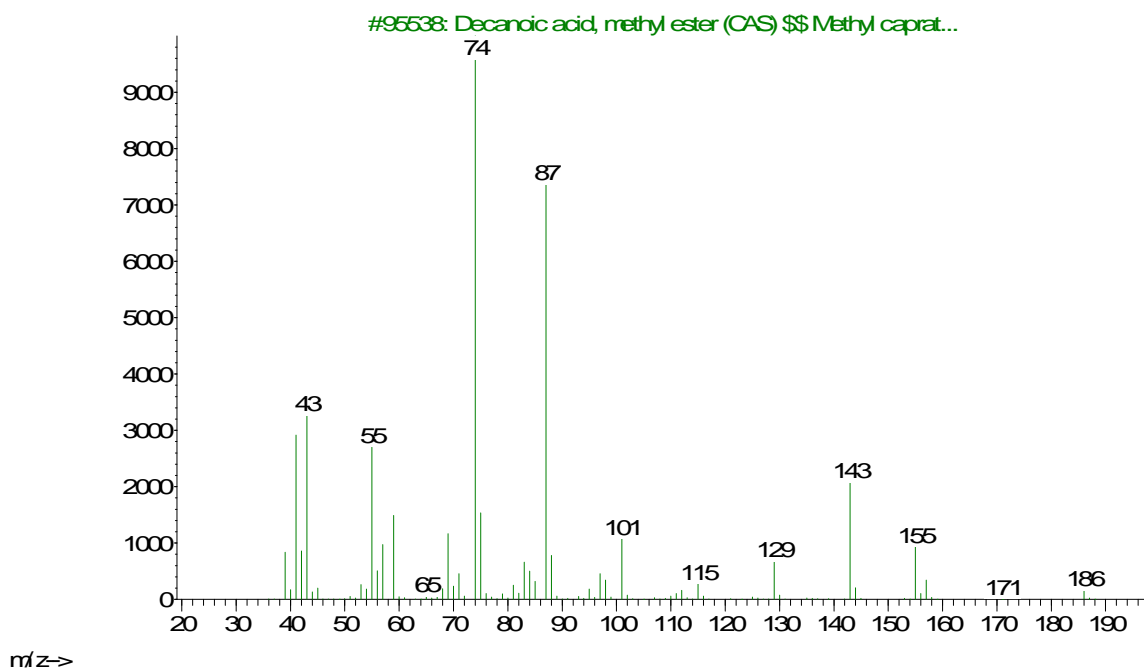
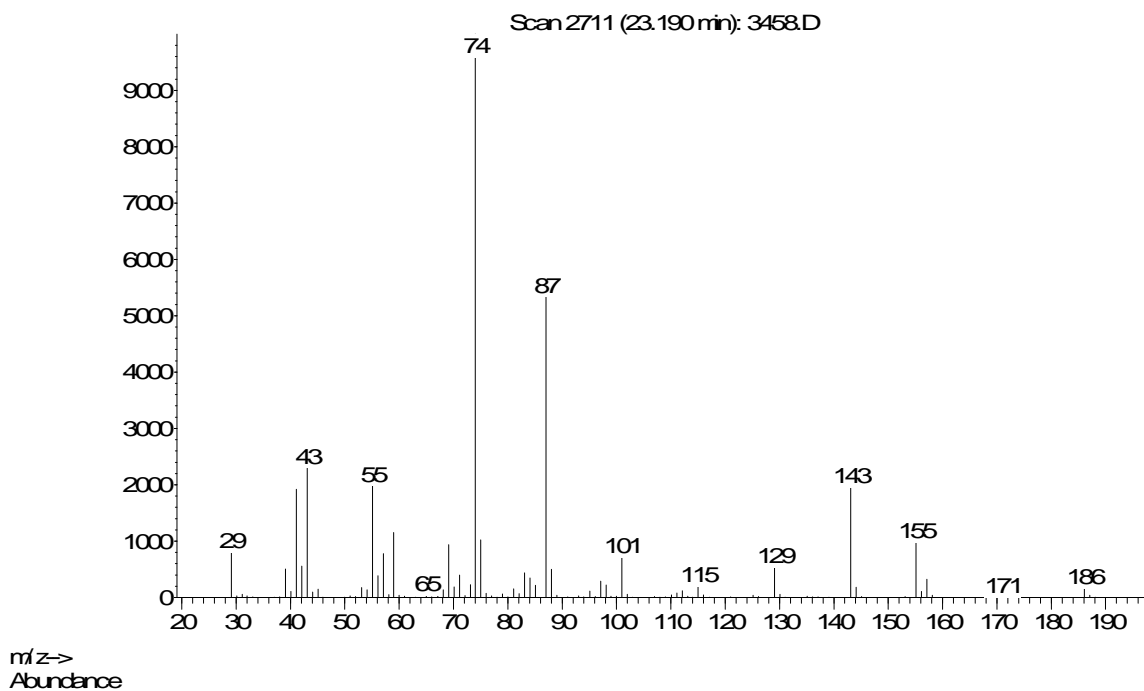


Figure 6.21 : Spectre de masse du décanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°5**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 27,478 min, a été identifié (Cf. Figure 6.22) comme étant le dodécanoate de méthyle C12:0 (masse moléculaire 214,19) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley7N.L.

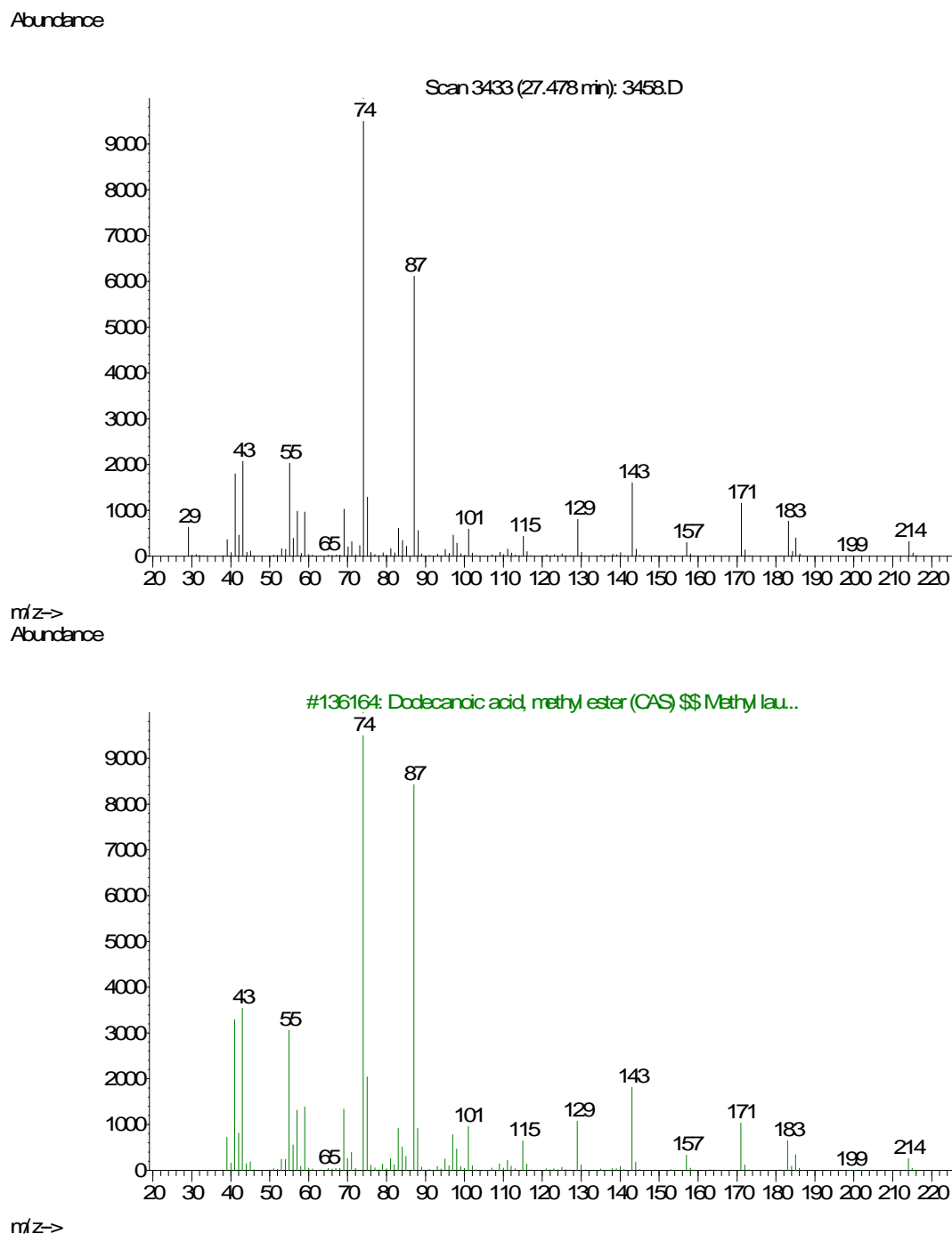
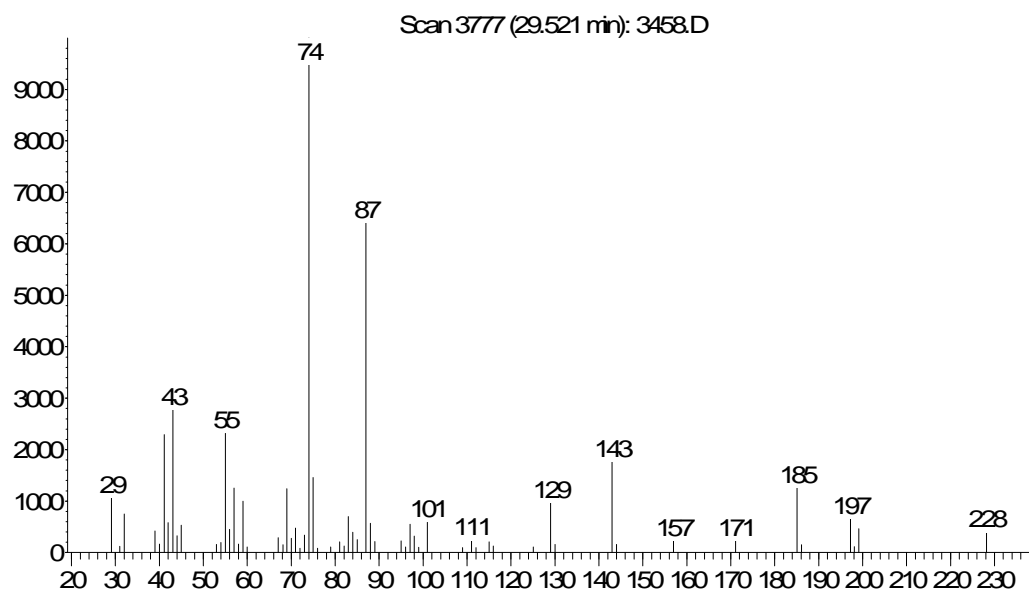


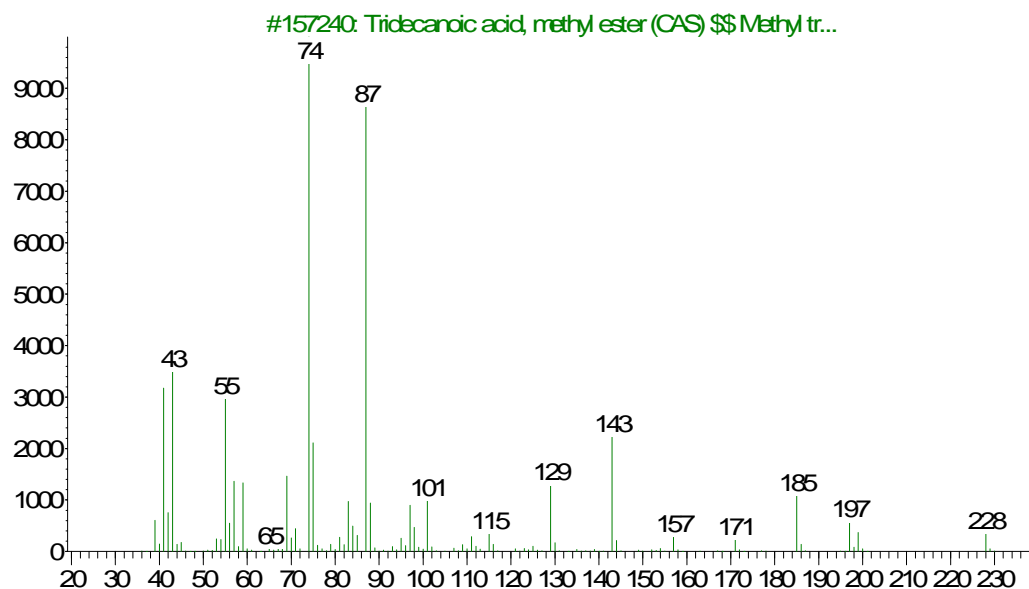
Figure 6.22 : Spectre de masse du dodécanoate de méthyle dans l'échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

Le **pic n°6**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 29,521 min, a été identifié (Cf. Figure 6.23) comme étant le tridécanoate de méthyle C13:0 (masse moléculaire 228,21) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

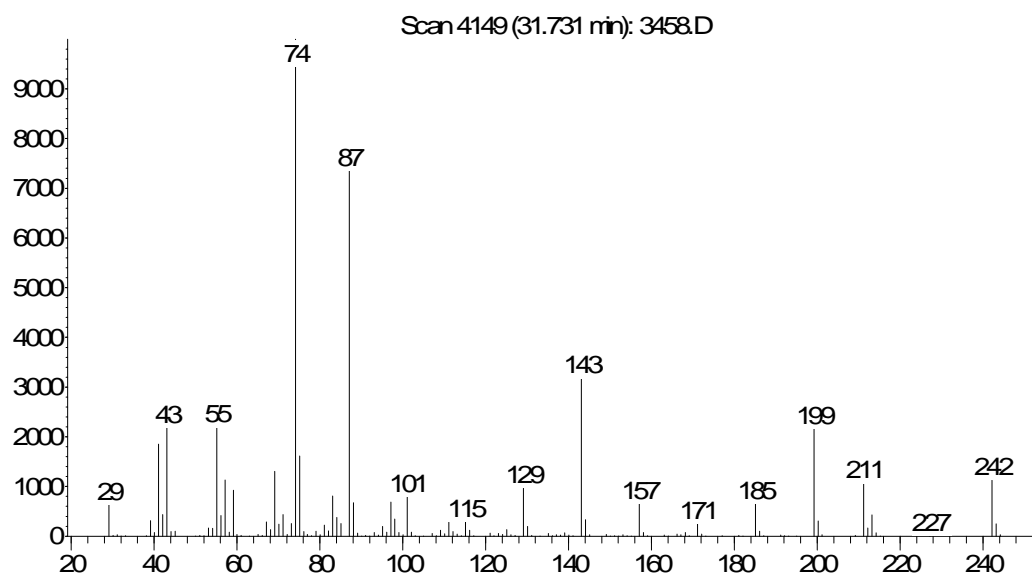


m/z->

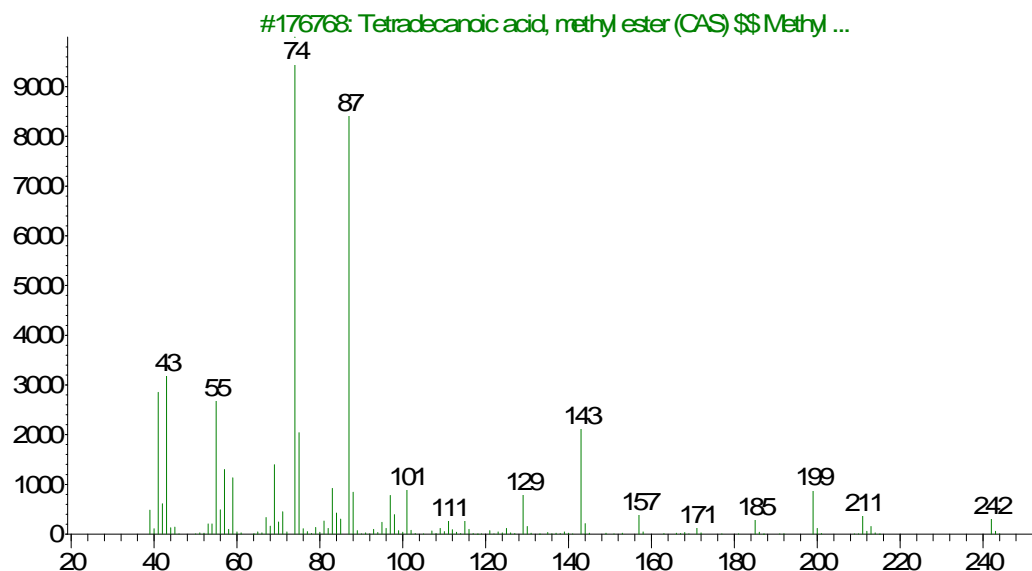
Figure 6.23 : Spectre de masse du tridécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°7**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 31,731 min, a été identifié (Cf. Figure 6.24) comme étant le tétradécanoate de méthyle C14:0 (masse moléculaire 242,22) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance



m/z->

Figure 6.24 : Spectre de masse du tétradécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

Le **pic n°8**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 32,515 min, a été identifié (Cf. Figure 6.25) comme étant le (Z) 11-tétradécénoate de méthyle C14:1 (masse moléculaire 240,21) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance

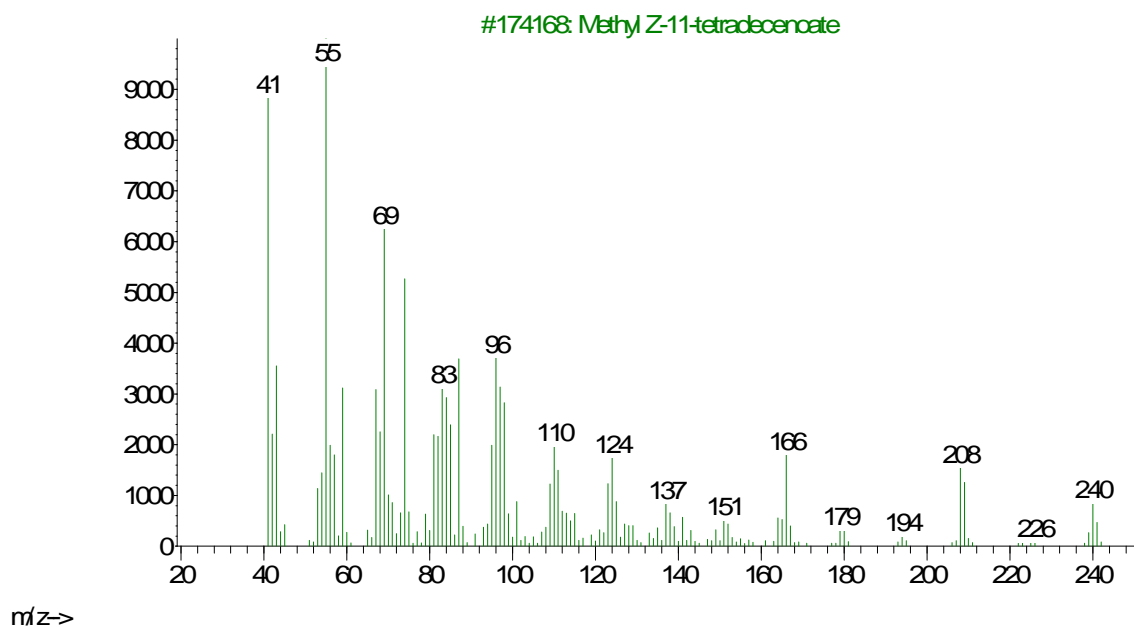
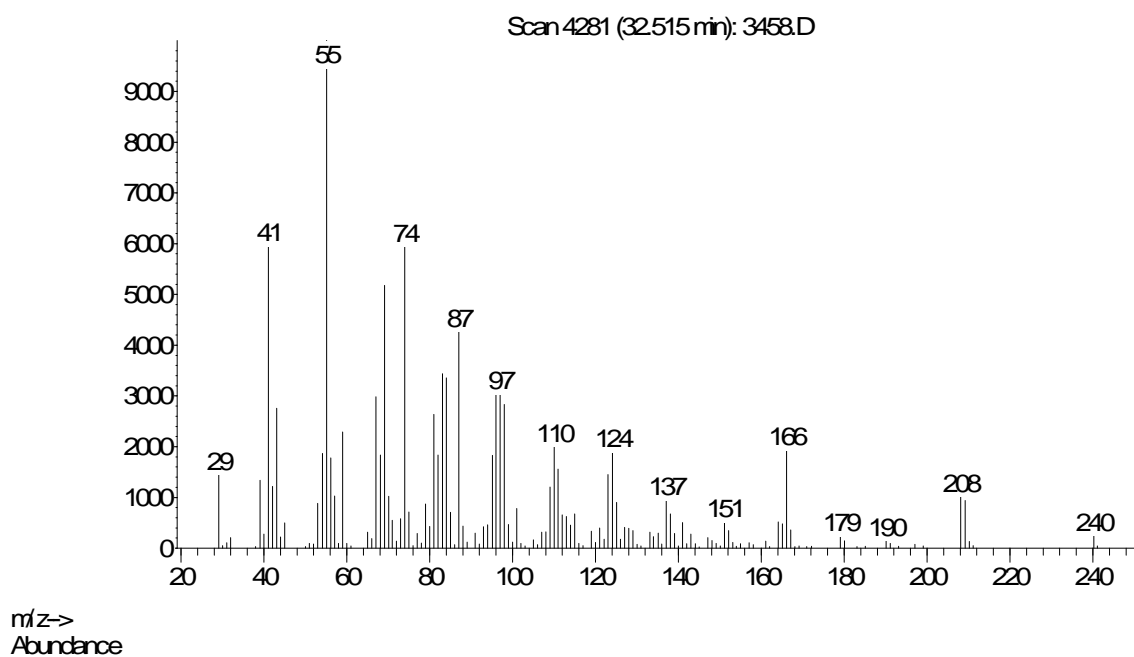
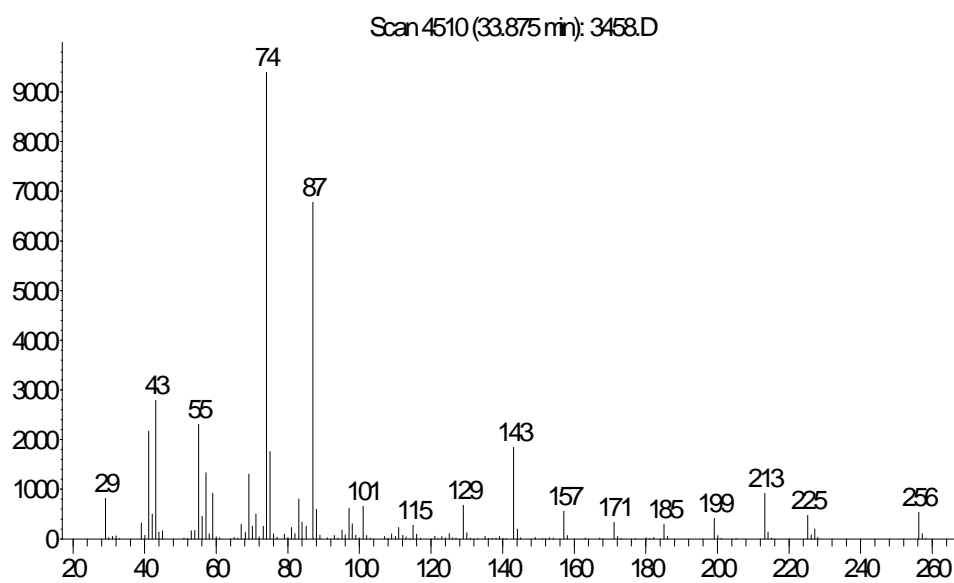


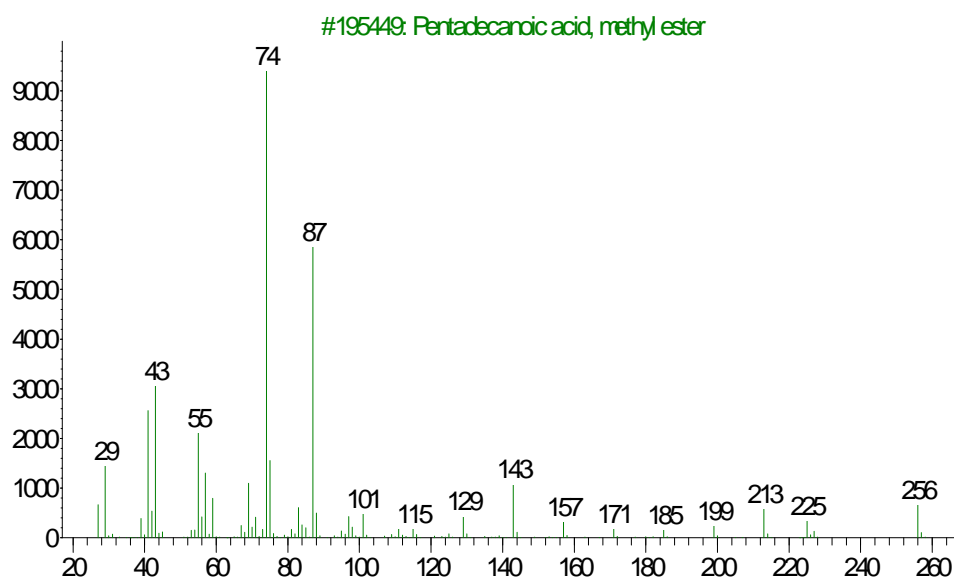
Figure 6.25 : Spectre de masse du (Z) 11-tétradécénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°9**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 33,875 min, a été identifié (Cf. Figure 6.26) comme étant le pentadécanoate de méthyle C15:0 (masse moléculaire 256,24) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

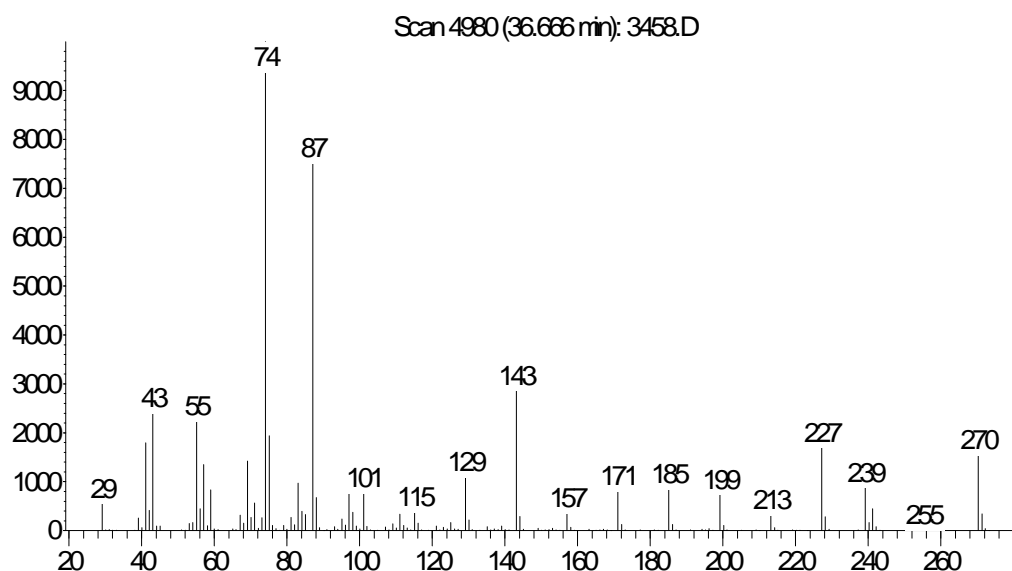


m/z->

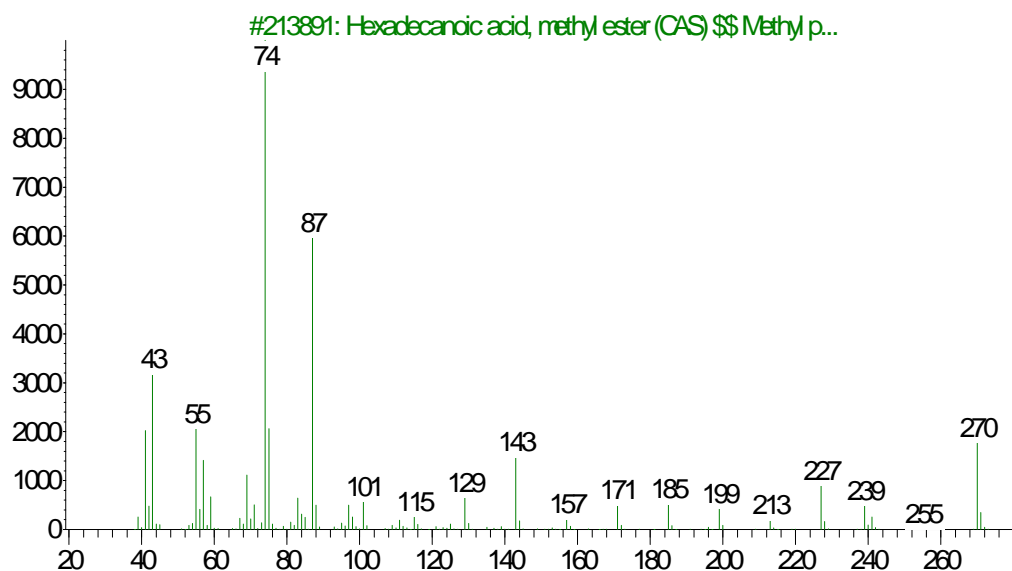
Figure 6.26 : Spectre de masse du pentadécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le pic n°10, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 36,666 min, a été identifié (Cf. Figure 6.27) comme étant l'hexadécanoate de méthyle C16:0 (masse moléculaire 270,26) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance



m/z->

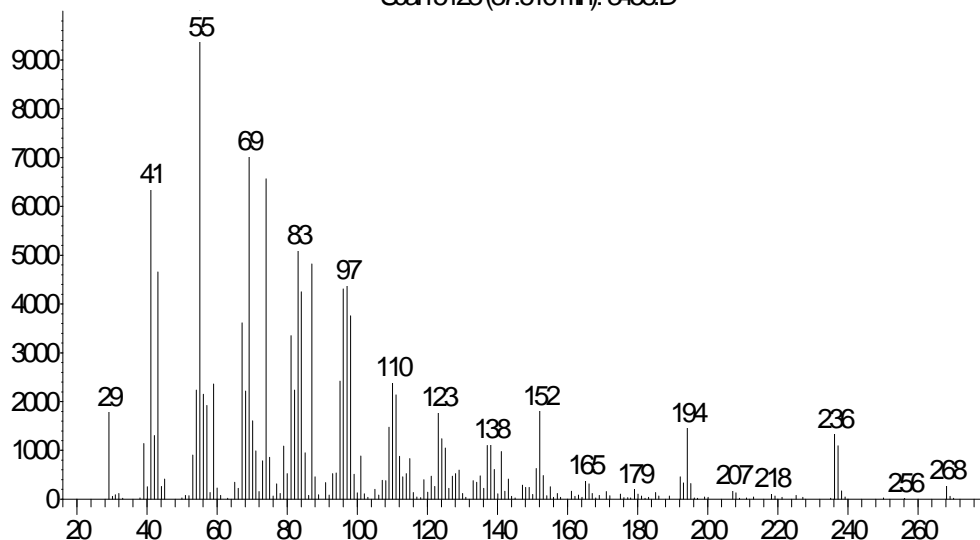
Figure 6.27 : Spectre de masse de l'hexadécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .



Le **pic n°11**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 37,516 min, a été identifié (Cf. Figure 6.28) comme étant le (Z) 9-hexadécénoate de méthyle C16:1 (masse moléculaire 268,24) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance

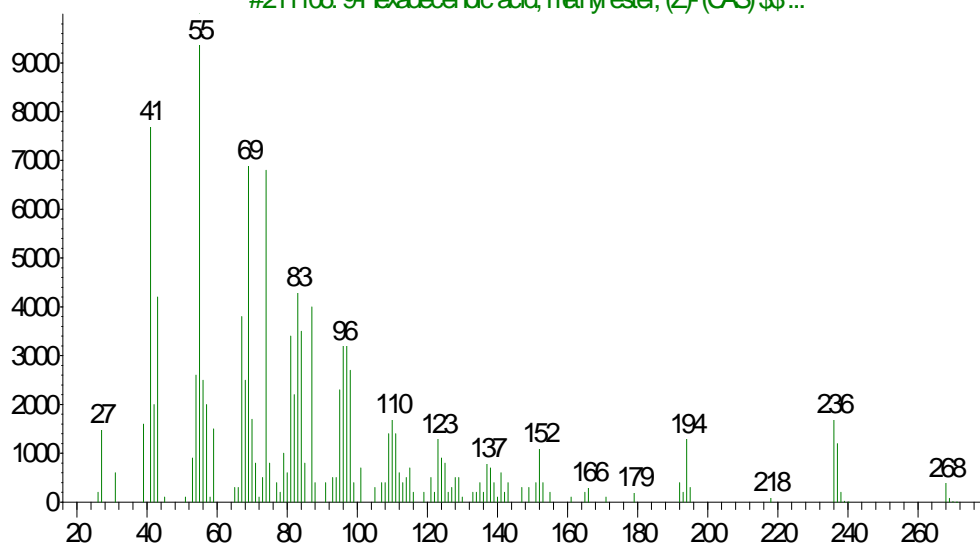
Scan5123 (37.516 min): 3458.D



m/z-&gt;

Abundance

#211106: 9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) \$S\$...

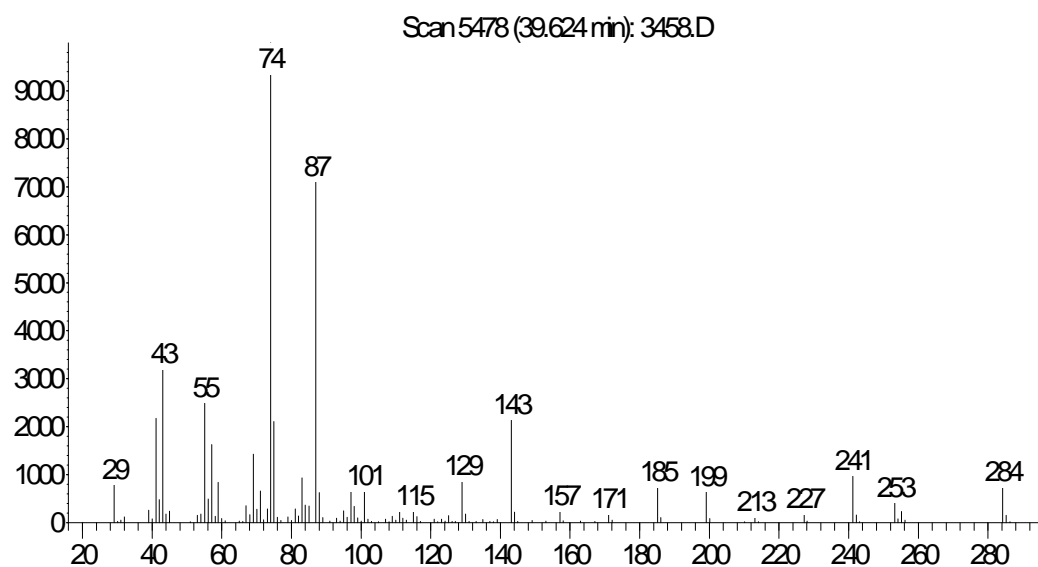


m/z-&gt;

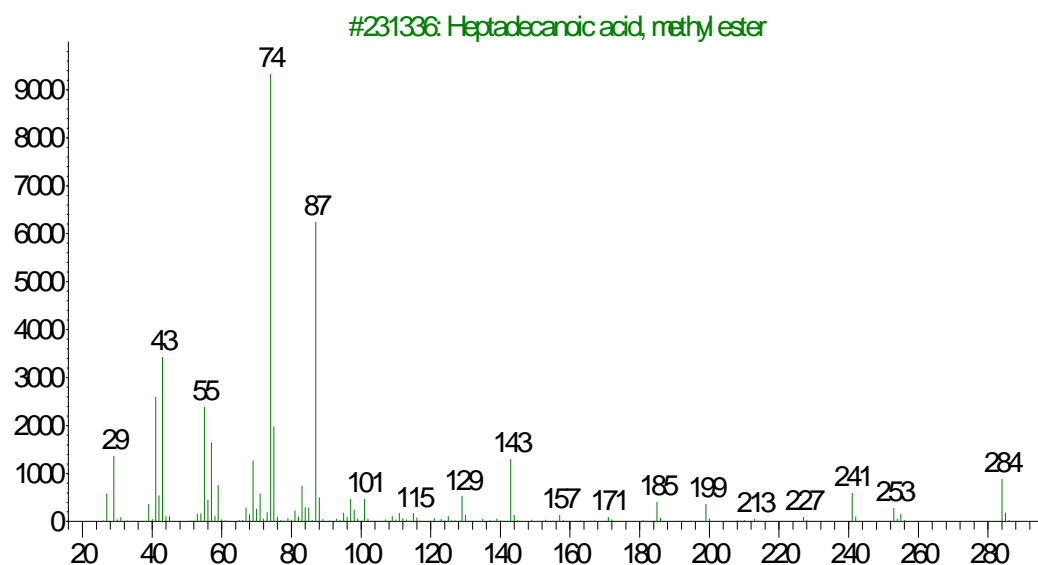
Figure 6.28: Spectre de masse du (Z) 9-hexadécénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°12**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 39,624 min, a été identifié (Cf. Figure 6.29) comme étant l'heptadécanoate de méthyle C17:0 (masse moléculaire 284,27) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

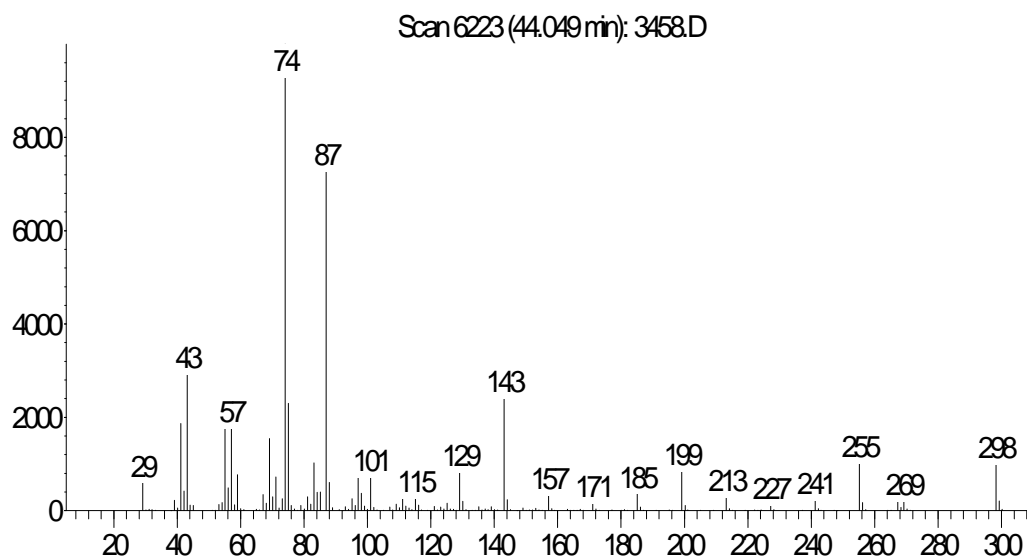


m/z->

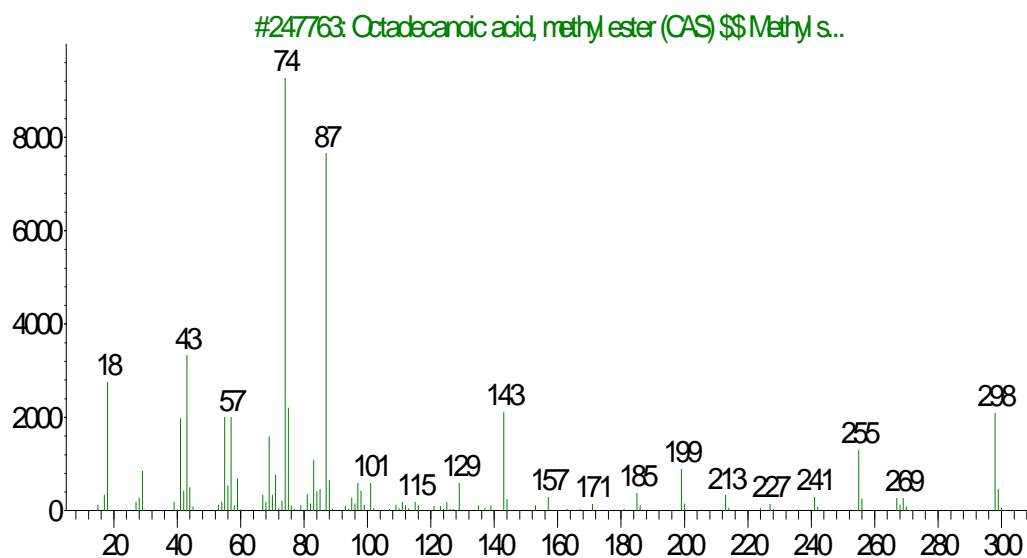
Figure 6.29: Spectre de masse de l'heptadécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°13**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 44,049 min, a été identifié (Cf. Figure 6.30) comme étant l'octadécanoate de méthyle C18:0 (masse moléculaire 298,29) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

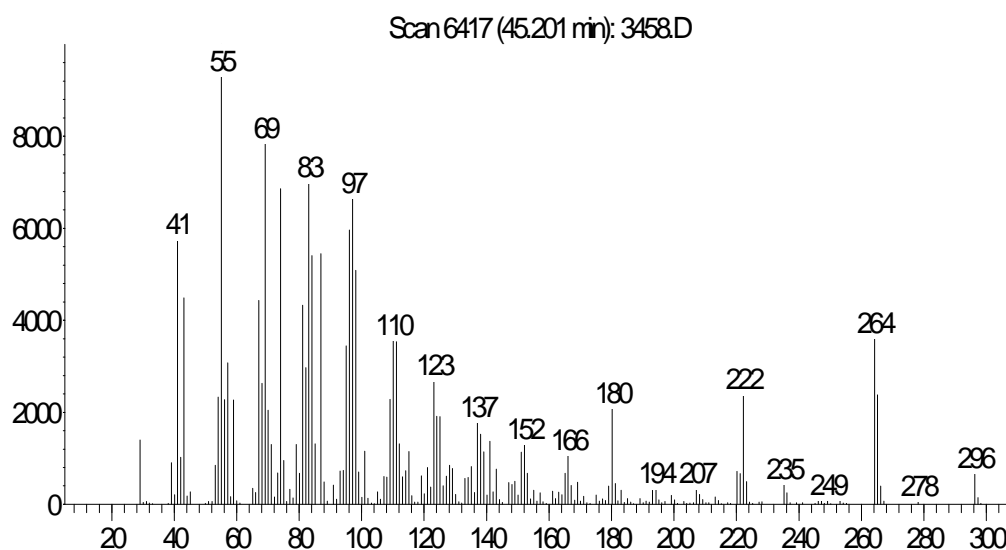


m/z->

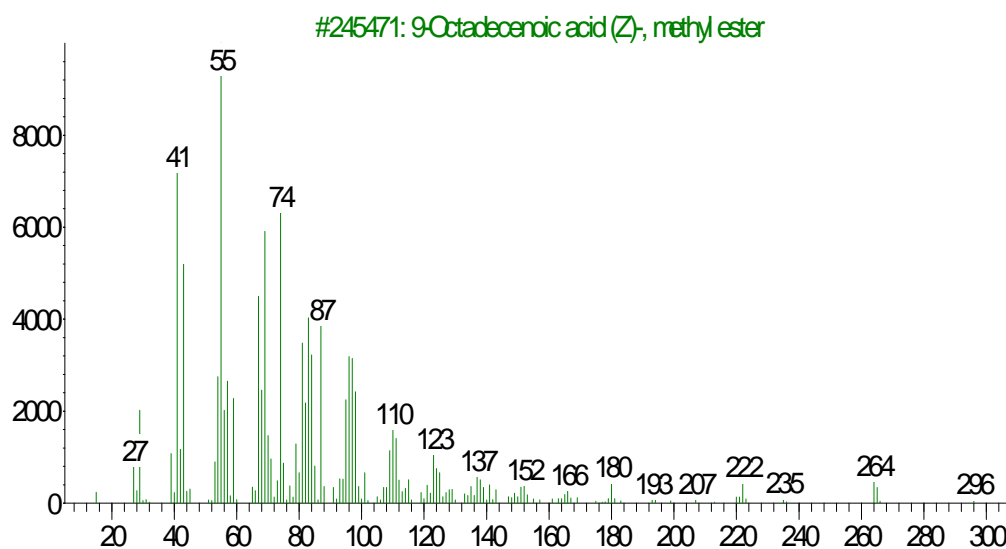
Figure 6.30: Spectre de masse de l'octadécanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°14**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 45,201 min, a été identifié (Cf. Figure 6.31) comme étant le (Z) 9-octadécénoate de méthyle C18:1 (masse moléculaire 296,27) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

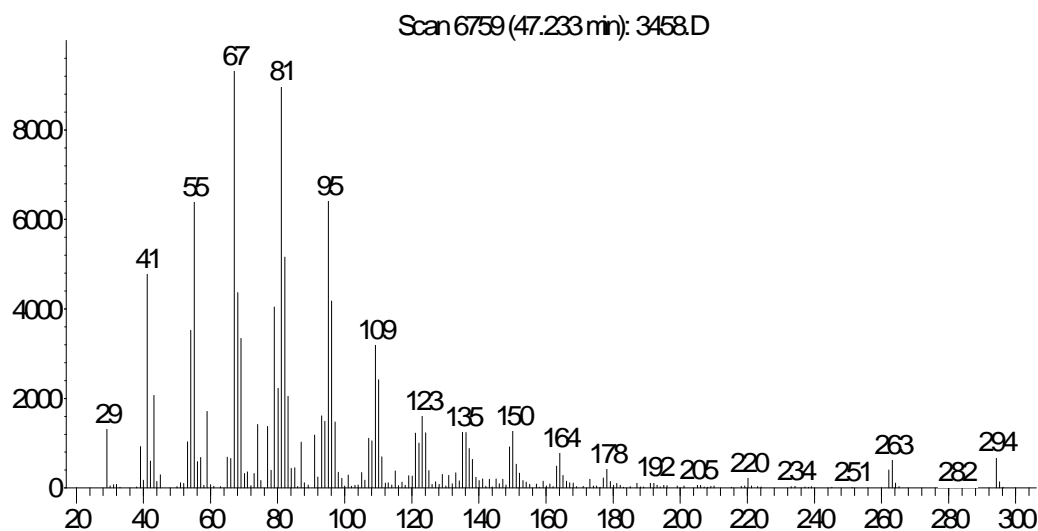


m/z->

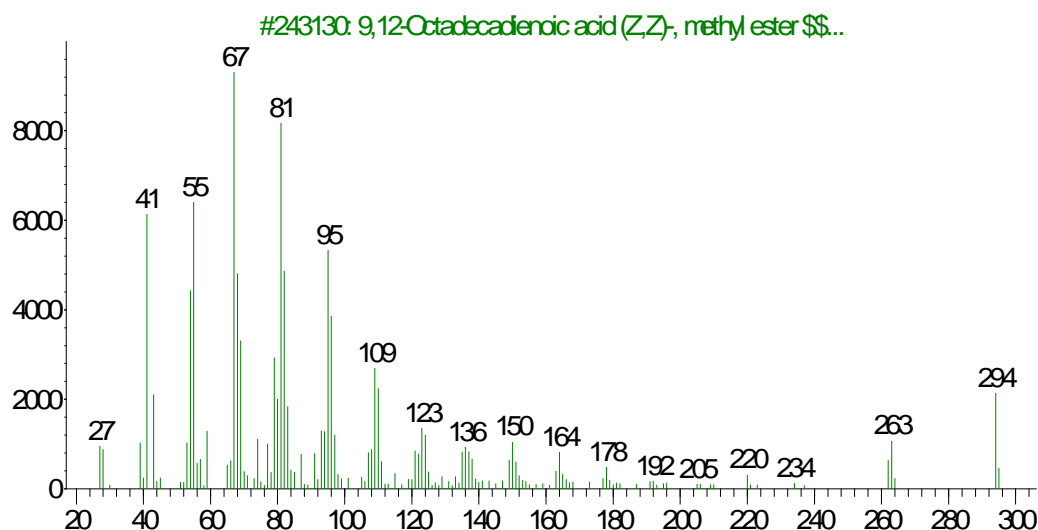
Figure 6.31: Spectre de masse du (Z) 9-octadécénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°15**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 47,233 min, a été identifié (Cf ; Figure 6.32) comme étant le (Z,Z) 9,12-octadécadiénoate de méthyle C18:2 9c,12c (masse moléculaire 294,26) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

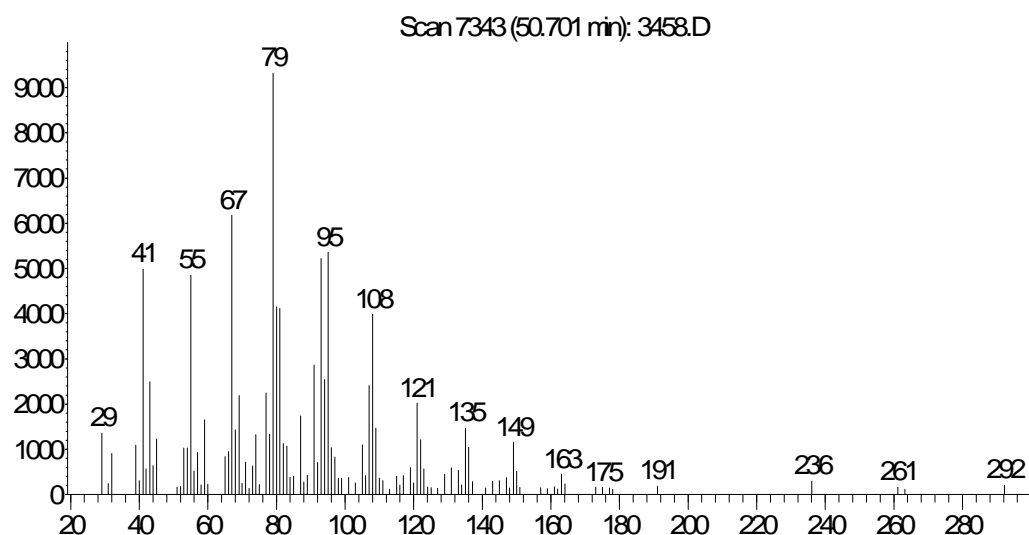


m/z->

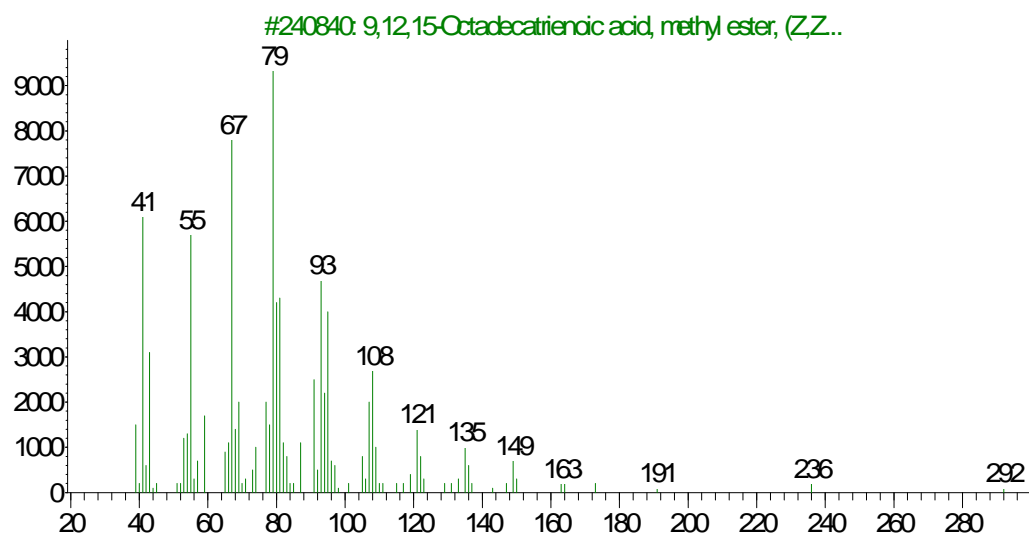
Figure 6.32: Spectre de masse du (Z,Z) 9,12-octadécadiénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

Le **pic n°16**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  50,701 min, a été identifié (Cf. Figure 6.33) comme étant le (Z,Z,Z) 9,12,15-octadécatriénoate de méthyle (C18:3 9c,12c,15c (masse moléculaire 292.24) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

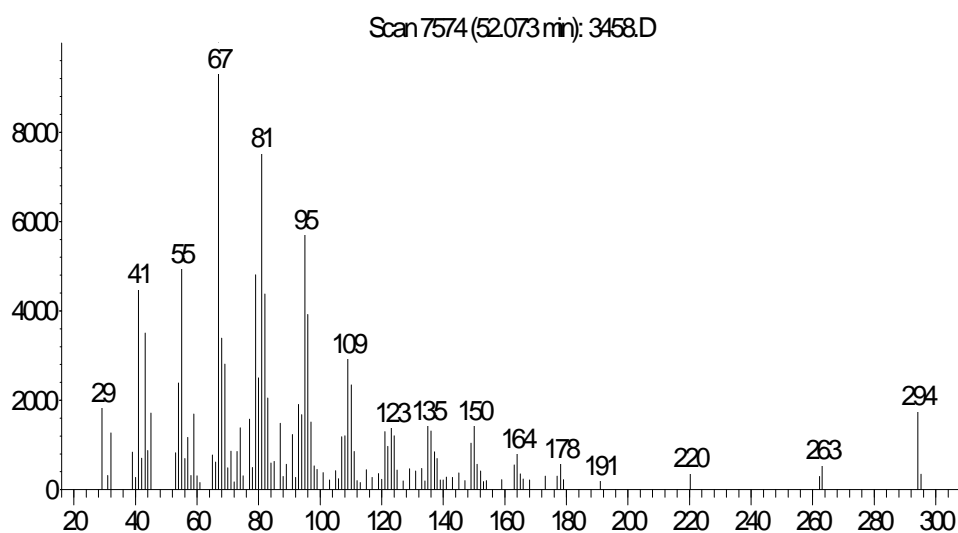


m/z->

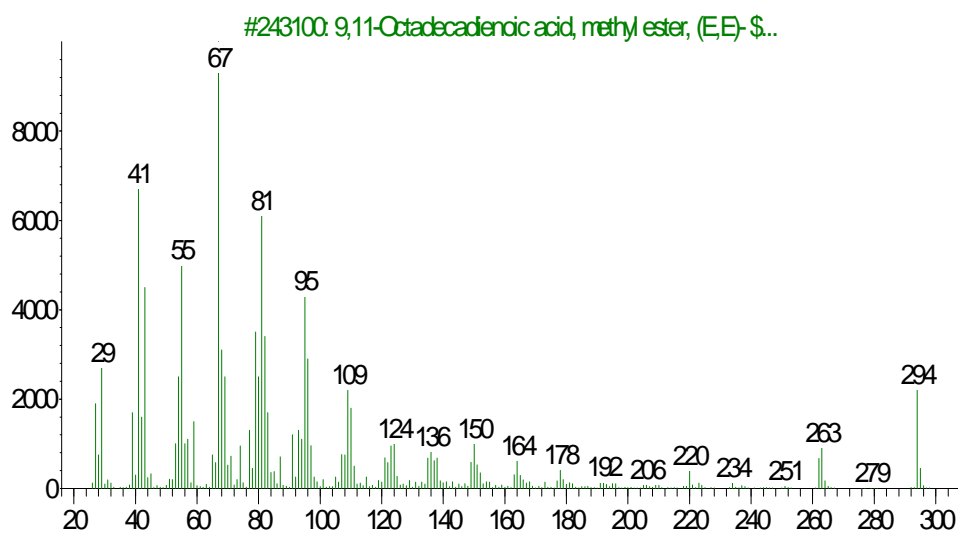
Figure 6.33: Spectre de masse du (Z,Z,Z) 9,12,15-octadécatriénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°17**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 52,073 min, a été identifié (Cf. Figure 6.34) comme étant le 9,11-octadécadiénoate de méthyle (masse moléculaire 294,26) C18:2, isomère de l'ALC, par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

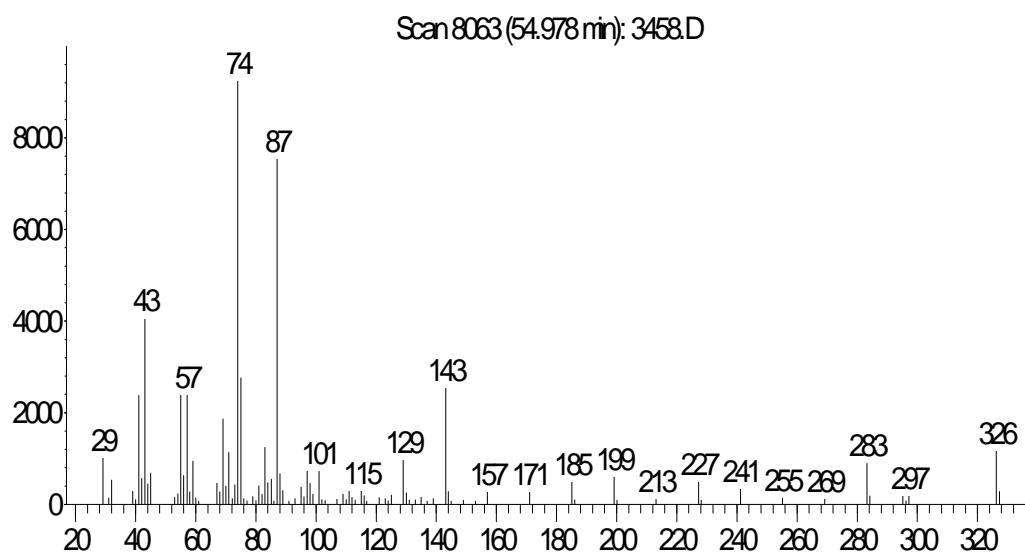


m/z-&gt;

Figure 6.34: Spectre de masse du 9,11-octadécadiénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

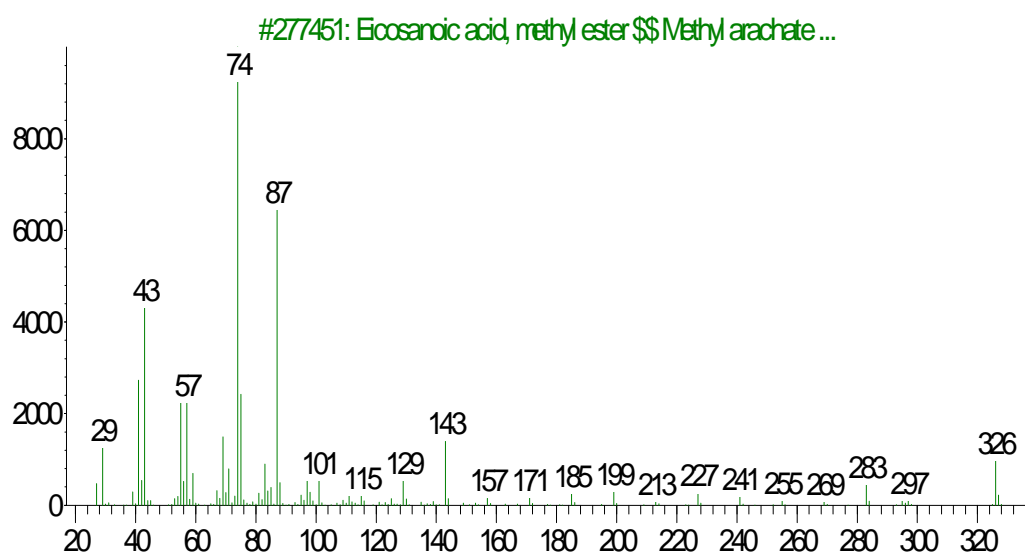
Le **pic n°18**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 54,978 min, a été identifié (Cf. Figure 6.35) comme étant l'eicosanoate de méthyle C20:0 (masse moléculaire 326.32) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->

Abundance



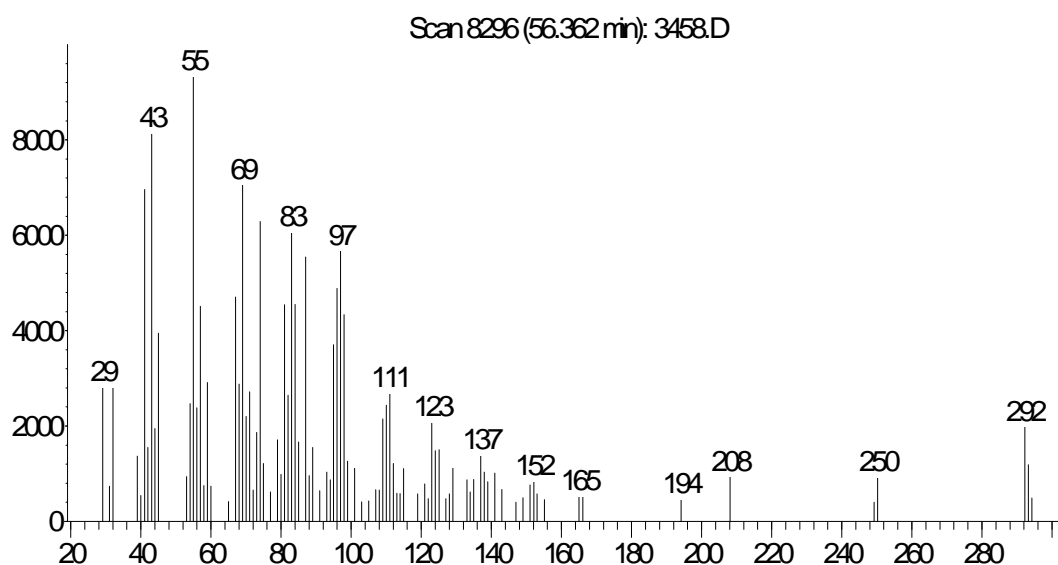
m/z->

Figure 6.35: Spectre de masse de l'eicosanoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

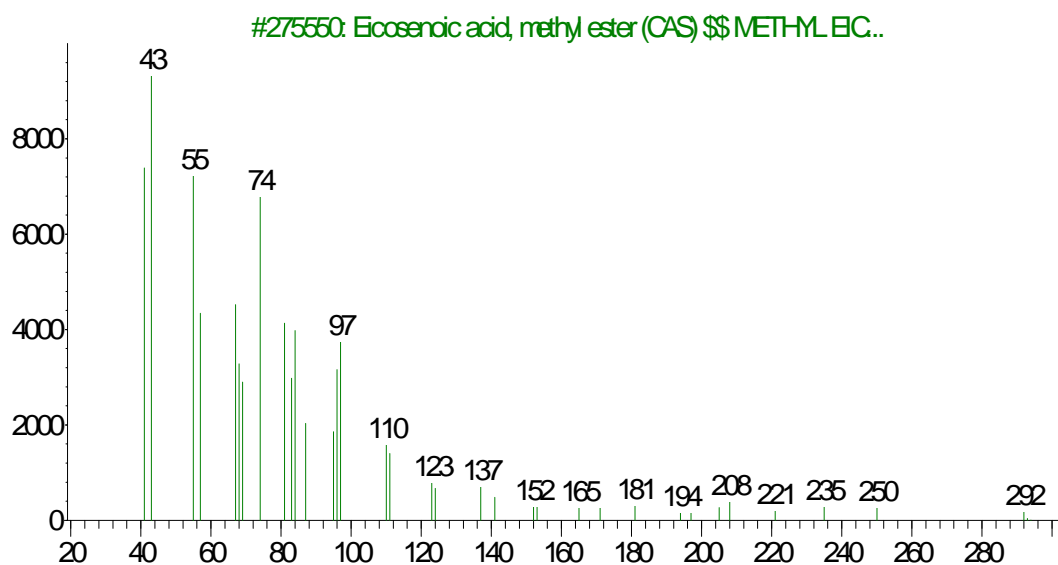


Le **pic n°19**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 56,362 min, a été identifié (Cf. Figure 6.36) comme étant le 11-eicosénoate de méthyle C20:1 (masse moléculaire 324,30) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->  
Abundance

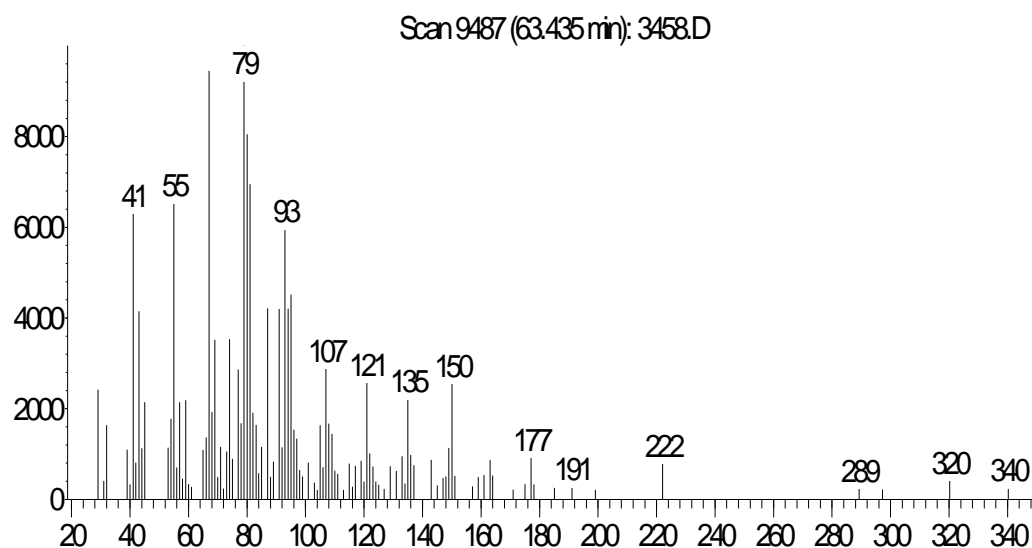


m/z->

Figure 6.36: Spectre de masse du 11-eicosénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

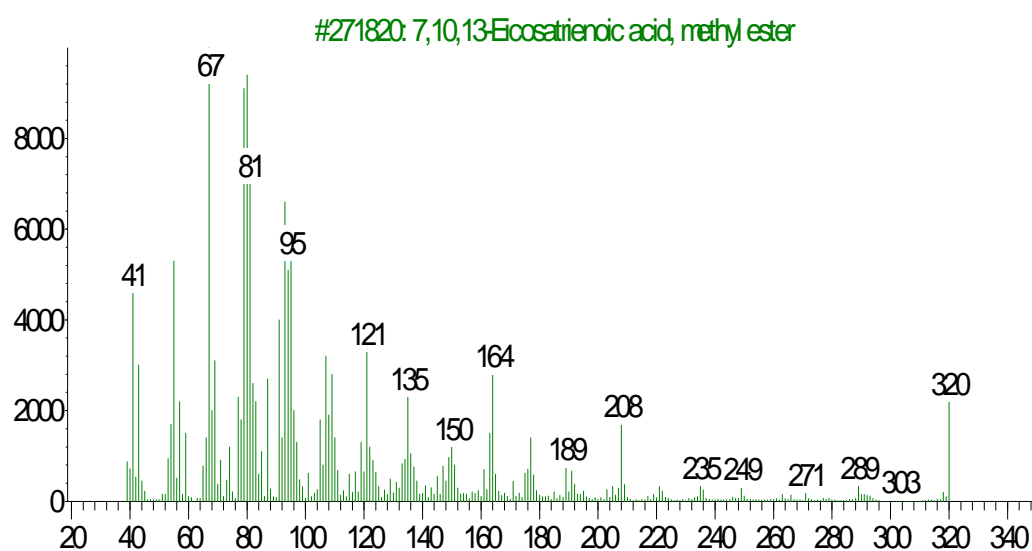
Le **pic n°20**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 63,435 min, a été identifié (Cf. Figure 6.37) comme étant le 7,10,13-eicosatriénoate de méthyle C20:3 (masse moléculaire 320) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance



m/z->

Abundance

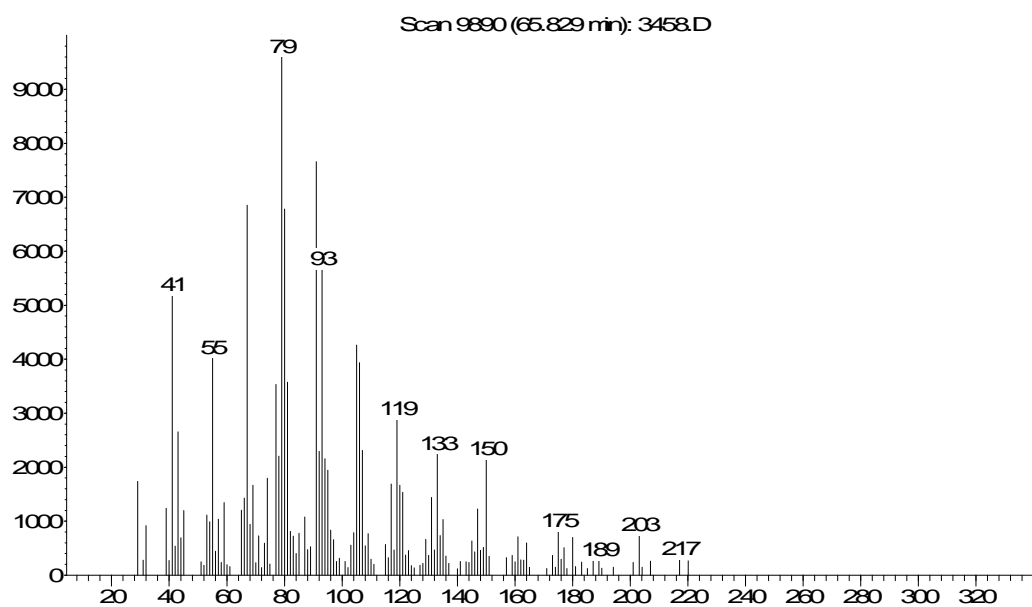
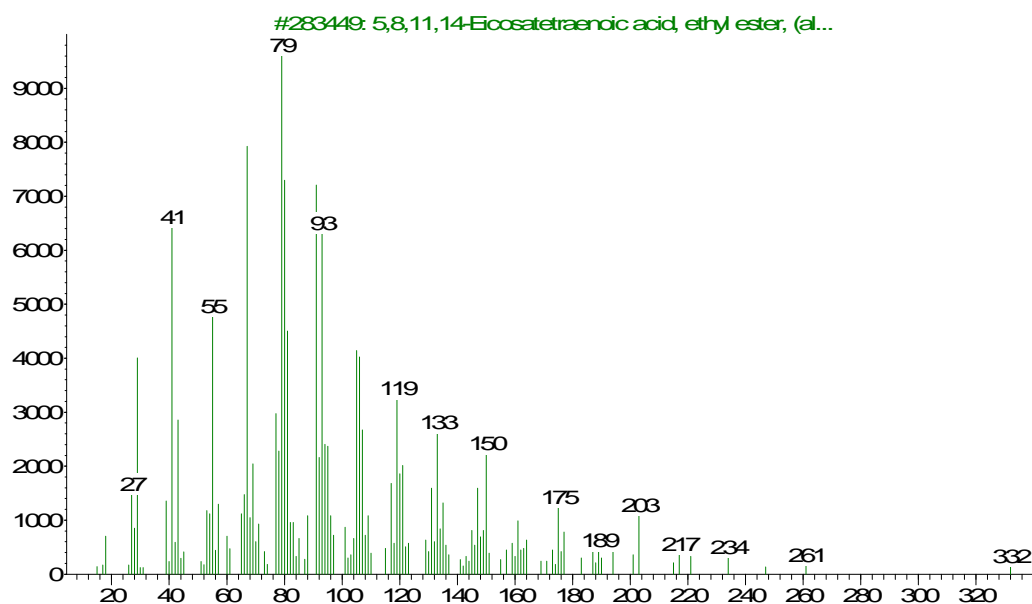


m/z->

Figure 6.37 : Spectre de masse du 7,10,13-eicosatriénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à  $J_0$ .

Le **pic n°21**, élué sur le chromatogramme avec un  $t_R$  égal à 65,829 min, a été identifié (Cf. Figure 6.38) comme étant le 5,8,11,14 eicosatétraénoate de méthyle C20:4 (masse moléculaire 332) par comparaison de son spectre de masse à ceux de la bibliothèque de spectres de masse Wiley 7N.L.

Abundance

m/z->  
Abundance

m/z-&gt;

Figure 6.38: Spectre de masse du 5,8,11,14 eicosatétraénoate de méthyle dans un échantillon de matière grasse issue de la sécrétion lactée à J<sub>0</sub>.

## ANNEXE II

Teneurs en AG des 4 quartiers de la VL à J<sub>0</sub>, J<sub>69</sub>, J<sub>151</sub>, J<sub>238</sub> et J<sub>299</sub>.Tableau 6.7: Moyenne des teneurs en acides gras des 4 quartiers de la VL à J<sub>0</sub>.

Nature des AG		Quartiers (% en AG)				Moyenne AG VL à J <sub>0</sub> (%)
		ArD	ArG	PrD	PrG	
AG à chaînes courtes	C4:0	0,50	0,42	0,64	0,34	0,47
	C6:0	0,83	0,75	1,13	0,69	0,85
	C8:0	0,61	0,56	0,75	0,52	0,61
	C10:0	1,41	1,34	1,51	1,22	1,37
	C12:0	2,59	2,53	2,58	2,28	2,49
	C14:0	12,81	12,80	12,27	11,83	<b>12,43</b>
	C14:1	1,21	1,21	1,06	1,12	1,15
	Total	20,78	20,44	20,76	18,82	20,19
AG à chaînes moyennes	C16:0	34,15	35,06	32,10	33,17	<b>33,62</b>
	C16:1	3,75	3,85	3,58	3,94	3,78
	Total	37,9	38,91	35,68	37,11	37,4
AG à chaînes longues	C17:0	0,59	0,60	0,62	0,63	0,61
	C18:0+ C18:1	29,47	30,22	29,24	32,92	<b>30,46</b>
	C18:2	3,62	3,72	3,45	3,89	3,67
	C18:3	0,27	0,23	0,37	0,24	0,28
	C18:2 (ALC)	0,38	0,21	0,29	0,21	0,27
	C20:0	0,39	0,23	0,25	0,27	0,28
	Total	34,72	35,21	34,22	38,13	35,57
AGs non identifiés		6,6	5,44	9,34	5,91	6,84

Tableau 6.8 : Moyenne des teneurs en acides gras des 4 quartiers de la VL à J<sub>69</sub>.

Nature des AG		Quartiers (% en AG)				Moyenne AG VL à J <sub>69</sub> (%)
		ArD	ArG	PrD	PrG	
AG à chaînes courtes	C4:0	0,96	1,17	0,47	0,47	0,77
	C6:0	1,89	2,37	1,01	1,03	1,57
	C8:0	1,41	2,04	0,87	0,90	1,30
	C10:0	3,47	4,76	2,14	2,21	3,14
	C12:0	3,04	4,08	2,52	2,56	3,05
	C14:0	9,26	9,33	7,53	7,99	<b>8,53</b>
	C14:1	1,29	1,10	0,86	0,97	1,05
	C15:0	0,74	0,71	0,71	0,59	0,69
	Total	22,06	25,56	16,11	16,72	20,1
AG à chaînes moyennes	C16:0	22,73	22,27	21,68	23,24	<b>22,48</b>
	C16:1	3,43	2,91	2,91	2,88	3,03
	Total	26,16	25,18	24,59	26,12	25,51
AG à chaînes longues	C17:0	0,51	0,47	0,54	0,32	0,46
	C18:0+ C18:1	38,61	36	46,67	42,97	<b>41,06</b>
	C18:2	3,85	3,62	4,78	4,44	4,17
	C18:3	0,34	0,33	0,45	0,44	0,39
	C18:2 (ALC)	0,43	0,48	0,57	0,60	0,52
	C20:0	0,11	0,11	0,17	0,19	0,15
	Total	43,85	41,01	53,18	48,96	46,75
AGs non identifiés		7,93	8,25	6,12	8,2	7,64

Tableau 6.9 : Moyenne des teneurs en acides gras des 4 quartiers de la VL à J<sub>151</sub>.

Nature des AG		Quartiers (% en AG)				Moyenne AG VL à J <sub>151</sub> (%)
		ArD	ArG	PrD	PrG	
AG à chaînes Courtes	C4:0	1,52	0,59	0,54	0,53	0,79
	C6:0	2,43	1,40	1,39	1,47	1,67
	C8:0	1,77	1,20	1,19	1,27	1,36
	C10:0	3,63	2,86	2,78	2,89	3,04
	C12:0	3,86	3,44	3,18	3,18	3,42
	C14:0	10,99	10,24	10,05	9,88	<b>10,29</b>
	C14:1	2,21	1,46	1,48	1,57	1,68
	C15:0	1,18	1,18	1,13	1,22	1,18
	Total	27,59	22,37	21,74	22,01	23,43
AG à chaînes moyennes	C16:0	24,31	25,87	24,41	23,57	<b>24,54</b>
	C16:1	3,80	2,77	2,84	2,80	3,05
	Total	28,11	28,64	27,25	26,37	27,59
AG à chaînes longues	C17:0	0,57	0,63	0,60	0,54	0,59
	C18:0+ C18:1	30,44	37,4	38,91	39,1	<b>36,46</b>
	C18:2	2,59	2,99	3,34	3,25	3,04
	C18:3	0,33	0,36	0,41	0,36	0,37
	C18:2 (ALC)	0,28	0,48	0,54	0,50	0,45
	C20:0	0,12	0,19	0,19	0,19	0,17
	Total	34,33	42,05	43,99	43,94	41,08
AGs non identifiés		9,97	6,94	7,02	7,77	7,9

Tableau 6.10 : Moyenne des teneurs en AG des 4 quartiers de la VL à J<sub>238</sub>.

Nature des AG		Quartiers (% en AG)			Moyenne AG VL à J <sub>238</sub> (%)
		ArG	PrD	PrG	
AG à chaînes courtes	C4:0	0,58	0,56	0,79	0,64
	C6:0	1,15	1,24	1,41	1,27
	C8:0	0,92	0,95	1,05	0,97
	C10:0	2,08	2,08	2,33	2,16
	C12:0	2,54	2,51	2,79	2,61
	C14:0	9,74	9,91	10,42	<b>10,02</b>
	C14:1	1,55	1,56	1,55	1,55
	C15:0	1,08	1,14	1,12	1,11
	Total	19,64	19,95	21,46	20,33
AG à chaînes moyennes	C16:0	26,66	24,68	26,24	<b>25,86</b>
	C16:1	3,08	2,91	2,78	2,92
	Total	29,74	27,59	29,02	28,78
AG à chaînes longues	C17:0	0,55	0,54	0,56	0,55
	C18:0+ C18:1	38,85	40,25	37,97	<b>39,02</b>
	C18:2	2,89	2,88	2,83	2,87
	C18:3	0,38	0,41	0,38	0,39
	C18:2 (ALC)	0,55	0,54	0,54	0,54
	C20:0	0,20	0,23	0,21	0,21
	Total	43,42	44,85	42,49	43,58
AGs non identifiés		7,2	7,61	7,03	7,31

Tableau 6.11 : Moyenne des teneurs en AG des 4 quartiers de la VL à J<sub>299</sub>.

Nature des AG		Quartiers (% en AG)				Moyenne AG VL à J <sub>299</sub> (%)
		ArD	ArG	PrD	PrG	
AG à chaînes courtes	C4:0	0,65	0,74	0,63	0,60	0,65
	C6:0	1,24	1,27	1,27	1,17	1,24
	C8:0	0,82	0,84	0,84	0,77	0,82
	C10:0	1,82	1,81	1,78	1,80	1,80
	C12:0	2,05	2,03	2	1,78	1,97
	C14:0	9,05	8,56	8,49	7,96	<b>8,51</b>
	C14:1	1,24	1,11	1,05	0,88	1,07
	C15:0	1,18	1,12	1,15	1,05	1,12
	Total	18,05	17,48	17,21	16,01	17,18
AG à chaînes moyennes	C16:0	23,12	22,40	22,12	21,17	<b>22,20</b>
	C16:1	2,45	2,62	2,43	2,45	2,49
	Total	25,57	25,02	24,55	23,62	24,69
AG à chaînes longues	C17:0	0,28	0,67	0,70	0,65	0,57
	C18:0+ C18:1	44,89	44,91	44,85	42,62	<b>44,32</b>
	C18:2	2,99	2,81	2,78	2,67	2,81
	C18:3	0,11	0,27	0,28	0,28	0,24
	C18:2 (ALC)	0,40	0,40	0,41	0,41	0,40
	C20:0	0,25	0,26	0,22	0,27	0,25
	Total	48,92	49,32	49,24	46,9	48,59
AGs non identifiés		7,46	8,18	9	13,47	9,54