

Mise au point sur l'analyse de la réiodistribution en acides gras des triacylglycérols

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 10, Numéro 2, 144-9, Mars 2003, FONDAMENTAL

Auteur(s) : Fabrice TURON, SEA OIL, 50441 Beaumont Hague, France .

Author(s) : Fabrice TURON

Résumé : Dans la première partie de cette mise au point sont examinées les deux méthodes usuelles (enzymatique et chimique) pour l'analyse de la réiodistribution en acides gras des triacylglycérols. Le but est notamment de montrer les limites de leurs applications ainsi que les problèmes posés par la mise en œuvre des modes opératoires. Dans la deuxième partie de cet exposé, une nouvelle méthode d'analyse de la réiodistribution à partir des α -monoacylglycérols obtenus par dégradation des triacylglycérols avec un réactif de Grignard est examinée à la lumière des résultats d'une étude théorique faite sur un triacylglycérol modèle.

Summary : In the first field of this survey, the two usual methods (enzymatic and chemical) for the regiospecific analysis of triacylglycerols are reviewed. Then follows a discussion of the critical step in the procedure and some methodology problems : restrictions due to the intrinsic characteristics of the lipase, acyl migration incidence on the accuracy of a chemical regioanalysis are detailed. The last part of this communication is devoted to a new analytical procedure developed for regiospecific analysis of triacylglycerols, using α -monoacylglycerols prepared by an ethyl magnesium bromide deacylation \; informations from a theoretical evaluation on a given triacylglycerol structure are reported.

Mots-clés : triacylglycérols, réiodistribution, réactif de Grignard, migration acyle, α -monoacylglycérols.

Keywords : triacylglycerols, regiodistribution, Grignard deacylation, acyl migration, α -monoacylglycerols.

ARTICLE

Auteur(s) : Fabrice TURON

SEA OIL, 50441 Beaumont Hague, France <fturon@danone.com>

Cet article est tiré d'un travail qui s'est vu décerner le prix de thèse AFECG 2002.

En théorie, déterminer la réiodistribution en acides gras (AG) des triacylglycérols (TAG) devrait consister simplement à isoler les deux positions externes *sn*-1,3 de la position interne *sn*-2 des TAG, et à les analyser directement sans effectuer aucun calcul. En pratique, cette détermination est beaucoup plus contraignante car il est indispensable que la technique de déacylation génère des

glycérides partiels « représentatifs », c'est-à-dire que leur profil en AG corresponde parfaitement à la distribution initiale en AG des TAG à analyser [1]. Cela implique que le réactif de déacylation d'une part ne présente aucune sélectivité vis-à-vis de la nature des chaînes grasses, et d'autre part n'entraîne pas de migration acyle d'une position à l'autre, pendant ou après la dégradation. Dans ces conditions, de quels réactifs dispose l'analyste pour conduire cette détermination ? La plupart du temps, il utilise une enzyme *sn*-1,3 régiosélective comme la lipase pancréatique, pour mener une hydrolyse ménagée des TAG en libérant des β -monoacylglycérols (β -MAG) [2, 3]. Cette méthode devenue normalisée permet l'analyse directe de la position interne des TAG par la composition en AG des β -MAG libérés [4]. Toutefois, en raison des particularités d'action du biocatalyseur, la méthode enzymatique ne s'applique pas sans restrictions aux corps gras :

(i) soit ayant un point de fusion supérieur à 45 °C,

(ii) soit renfermant des quantités importantes d'AG à 12 atomes de carbone ou moins [5], ou d'AG à 20 atomes de carbone ou plus et d'insaturation élevée [6-8],

(iii) soit possédant des fonctions oxygénées secondaires.

Dans l'analyse de ces corps gras particuliers, on met alors à profit la réactivité des organomagnésiens à froid et en milieu étheré sur les fonctions esters des glycérides pour débiter la détermination par une déacylation partielle des TAG [9-18]. Il en résulte la libération des AG qui sont immédiatement transformés en alcools tertiaires et, dans le même temps, la formation d'un mélange de glycérides partiels, à savoir des $\alpha\beta$ -diacylglycérols ($\alpha\beta$ -DAG), des $\alpha\alpha'$ -DAG, des α -MAG et des β -MAG. La réaction s'effectue selon le mécanisme décrit dans la *figure 1*. Elle débute par une addition sur le carbonyle pour donner un premier composé intermédiaire A. Ce composé est instable et se détruit spontanément. La cétone B, générée *in situ*, réagit à son tour en présence du magnésien pour donner un nouvel intermédiaire réactionnel C. Cet intermédiaire se détruit en présence d'eau et en milieu acide, pour former un alcool tertiaire dont les trois radicaux sont respectivement la chaîne grasse R de l'ester initial et deux fois le radical alkyl R' du réactif de Grignard.

Non sélectivité des organomagnésiens vis-à-vis des chaînes grasses

La dégradation chimique n'a de sens du point de vue analytique qu'à la condition que les liaisons esters primaires et la liaison ester secondaire réagissent de façon équivalente, quelle que soit la nature de la chaîne grasse. Toutefois, aucune étude expérimentale ne l'a jamais clairement démontré, alors que cela est depuis toujours tenu pour acquis. Seuls Becker *et al.* [15] ont étudié la déacylation chimique sur des TAG synthétiques composés des acides caprique à oléique sans observer de discrimination entre les chaînes grasses. C'est pourquoi la même stratégie que celle développée pour l'analyse des AG courts [19] a été suivie pour évaluer la réactivité d'un organomagnésien [20]. En faisant réagir le bromure d'éthyl magnésium (EtMgBr) sur des corps gras, on réalise une dégradation ménagée et une dégradation totale. Au cours de chacune des deux dégradations, les AG sont convertis en diéthylalkylcarbinol (DEAC) correspondant. Pour un même corps gras, on compare ensuite entre elles chacune des deux compositions molaires en DEAC ainsi que celle obtenue par conversion classique des AG en esters méthyliques correspondants (EMAG). Les trois huiles analysées ont été choisies pour la particularité des AG qu'elles contiennent : (i) d'abord une huile de thon, contenant des AG de 14 à 24 atomes de carbone saturés et polyinsaturés ; (ii) ensuite l'huile de *Calendula officinalis* contenant des insaturations conjuguées, précisément

l'acide calendique 18 :3 (8t, 10t, 12c) ; (iii) enfin l'huile de *Ricinus communis* composée à plus de 80 % d'un acide hydroxylé, l'acide ricinoléique (12-hydroxy, 9-octadécanoïque).

De manière générale, les compositions molaires des deux dérivations en alcools tertiaires sont identiques entre elles, et comparables également à celle en esters méthyliques. Aucune sélectivité n'est observée pour les chaînes linéaires de 12 à 20 atomes de carbone présents dans l'huile de thon (*tableau 1*), comme cela avait été par ailleurs déjà décrit [15, 21]. Si l'on examine maintenant les divers isomères de position des acides en C18 :1, C20 :1 et C22 :1, le *tableau 1* montre que les compositions molaires des alcools diéthylés sont identiques à celle des esters méthyliques. En particulier, le contenu en acide oléique 18 :1 (n-9) représente 17,1 % ± 0,1 % des esters méthyliques et 16,9 % ± 0,3 % des DEAC. De la même façon, le dosage de son isomère de position en (n-7) conduit à des valeurs identiques de 2,4 % ± 0,1 % pour les esters méthyliques et 2,3 % ± 0,2 % pour les DEAC. Ceci traduit le fait que l'organomagnésien agit de manière non sélective entre deux AG ne différant que par la position de leur double liaison. L'analyse des AGPI permet de préciser la réactivité de l'EtMgBr en fonction de l'insaturation des AG. On constate là encore que les deux profils des alcools diéthylés comportant de 2 à 6 insaturations et des esters méthyliques correspondants sont équivalents. Ces observations permettent de conclure expérimentalement que la réactivité de l'organomagnésien est indépendante de l'insaturation de la chaîne grasse considérée.

Tableau 1. Analyses comparées de la composition en AG (en moles %) d'une huile de thon selon les esters méthyliques d'acide gras (EMAG) ou les diéthylalkylcarbinols (DEAC) correspondants (^a : dégradation totale ; ^b : dégradation partielle ; m : moyenne de trois déterminations).

	EMAG	DEAC ^a	DEAC ^b
	m D.S.	m D.S.	m D.S.
12 :0	0,00 (0,1)	0,00 (0,0)	0,00 (0,1)
14 :0	3,92 (0,1)	3,85 (0,2)	3,72 (0,3)
16 :0	19,54 (0,2)	19,82 (0,3)	17,63 (0,6)
17 :0	0,92 (0,0)	0,86 (0,1)	0,76 (0,1)
18 :0	4,06 (0,0)	4,07 (0,3)	3,81 (0,3)
20 :0	0,23 (0,1)	0,32 (0,1)	0,24 (0,1)
18 :1 (n-9)	17,15 (0,1)	16,79 (0,4)	17,06 (0,6)
20 :1 (n-9)	1,61 (0,0)	1,78 (0,2)	1,64 (0,2)
22 :1 (n-9)	0,25 (0,0)	0,27 (0,1)	0,28 (0,1)

16 :1 (n-7)	6,08 (0,1)	6,20 (0,3)	5,72 (0,3)
18 :1 (n-7)	2,42 (0,1)	2,29 (0,2)	2,32 (0,2)
20 :1 (n-7)	0,15 (0,0)	0,19 (0,0)	0,16 (0,0)
20 :2 (n-6)	0,26 (0,0)	0,31 (0,1)	0,44 (0,1)
20 :3 (n-6)	0,13 (0,1)	0,10 (0,0)	0,23 (0,1)
20 :4 (n-6)	1,81 (0,1)	2,10 (0,2)	2,26 (0,2)
22 :5 (n-6)	0,91 (0,1)	0,89 (0,1)	1,08 (0,2)
20 :3 (n-3)	0,32 (0,0)	0,31 (0,0)	0,31 (0,1)
20 :4 (n-3)	0,50 (0,0)	0,52 (0,1)	0,58 (0,1)
20 :5 (n-3)	6,90 (0,1)	7,19 (0,3)	7,24 (0,3)
22 :6 (n-3)	21,99 (0,4)	21,88 (0,7)	23,33 (0,8)

En ce qui concerne la réactivité de l'organomagnésien vis-à-vis d'un AG conjugué ou hydroxylé, le *tableau 2* indique les compositions molaires de l'acide calendique et ricinoléique présents respectivement dans une huile de *Calendula* et de ricin. On montre qu'ici encore la réactivité de l'EtMgBr vis-à-vis de ces AG particuliers est comparable à celle des autres AG. Le mécanisme de formation de l'alcool tertiaire correspondant à l'acide ricinoléique pourrait pourtant souffrir d'une réaction parasite, dans le cas où une substitution interviendrait avec le groupement hydroxyle pour former de l'éthane et un composé intermédiaire instable. Ce dernier se détruirait alors spontanément en présence d'eau et en milieu acide, en régénérant alors le groupement hydroxyle initial. Dans ce cas de figure, la réaction de déacylation aurait simplement consommé une molécule d'EtMgBr supplémentaire par groupement hydroxyle, ce qui n'interférerait pas quand on travaille avec un excès d'organomagnésien.

Tableau 2. Compositions comparées en AG (en moles %) des huiles de calendula et de ricin selon les EMAG ou les DEAC correspondants (légende voir tableau 1)

		EMAG	DEAC ^a	DEAC ^b
		m D.S.	m D.S.	m D.S.
<i>Calendula officinalis</i>	16 :0	4,14 (0,1)	3,83 (0,3)	4,01 (0,3)

	18 :0	2,26 (0,1)	2,77 (0,3)	2,52 (0,3)
	18 :1 (n-9)	4,10 (0,1)	3,50 (0,4)	3,95 (0,4)
	18 :1 (n-7)	0,65 (0,0)	0,48 (0,1)	0,59 (0,2)
	18 :2 (n-6)	39,06 (0,4)	39,33 (0,5)	39,53 (0,7)
	18 :3 (n-3)	0,88 (0,1)	1,05 (0,2)	1,56 (0,4)
	18 :3 conj.	48,70 (0,4)	48,42 (0,8)	47,40 (1,1)
	Autres	0,22	0,61	0,43
<i>Ricinus communis</i>	16 :0	1,31 (0,1)	1,40 (0,2)	1,02 (0,3)
	18 :0	1,04 (0,1)	1,17 (0,2)	0,85 (0,3)
	18 :1 (n-9)	3,31 (0,2)	3,64 (0,3)	2,62 (0,5)
	18 :1 (n-7)	0,58 (0,2)	0,55 (0,2)	0,47 (0,2)
	18 :2 (n-6)	5,11 (0,3)	5,50 (0,4)	4,59 (0,6)
	20 :1 (n-9)	0,26 (0,1)	0,34 (0,1)	0,32 (0,2)
	18 :3 (n-3)	0,54 (0,1)	0,62 (0,1)	0,52 (0,2)
	18 :1 OH	87,43 (0,8)	86,20 (1,0)	88,80 (0,9)
	Autres	0,42	0,58	0,83

Quoi qu'il en soit, tous les résultats précédents concourent à définir le caractère de non sélectivité de l'organomagnésien vis-à-vis de la nature des TAG et de la chaîne grasse estérifiée. Toutefois, de la même manière que la lipase pancréatique, en hydrolysant les TAG, forme plus rapidement des DAG que des MAG [22], une sélectivité a été observée en mettant en œuvre de l'éthyl magnésium bromide dans la dégradation ménagée de TAG [17]. Dans cette étude, il est dit que l'organomagnésien produirait des β -MAG et des α -MAG dans une proportion de 1/4 alors que la logique voudrait qu'on en forme dans un ratio 1/2. A l'inverse, la proportion de β -MAG formée est la plus élevée quand la déacylation est menée en présence du bromure d'allyl magnésium [15, 23]. Cette particularité d'action des réactifs d'attaque ne modifiant pas la composition en AG des glycérides partiels formés, la distribution en AG obtenue reste fiable.

Migration acyle induite par les organomagnésiens

Tout en tenant compte de ces réserves, l'effet de la migration acyle sur la composition en AG des glycérides partiels doit retenir l'attention, dans la mesure où il est établi que la migration acyle vient

contaminer par isomérisation tous les glycérides partiels nouvellement formés [13]. Ainsi, des auteurs ont constaté qu'en dégradant des TAG par de l'éthyl magnésium bromide, ce sont parfois les $\alpha\beta$ -DAG [7, 10, 12], les α -MAG [18], ou encore les MAG [14, 16] qui donnent la distribution la plus fidèle. Il semblerait que jusqu'à une certaine valeur de migration acyle, l'analyse des α -MAG donne directement la distribution en AG des TAG. Par contre, au-delà de cette valeur, les α -MAG fortement isomérisés seraient moins représentatifs de la structure triglycérique que ne le sont les $\alpha\beta$ -DAG, à partir desquels la distribution est alors calculée. Pour vérifier cette hypothèse, on suppose que le réactif d'attaque peut induire une migration acyle chaque fois qu'il réagit sur une des fonctions esters du TAG. En reportant sur un graphe la contamination en ordonnée et la migration acyle en abscisse, on constate que la contamination de chaque catégorie de glycérides est en première approximation une fonction linéaire de la migration acyle. Ceci est illustré par les *figures 2 et 3*. Lorsque l'on compare les taux de contamination en fonction de la migration acyle, on observe un incrément plus important pour les α,α' -DAG (de 2,0 % à 9,4 %) ou β -MAG (de 2,6 % à 11,6 %) que pour les α -MAG (de 1,0 % à 4,7 %) ou α,β -DAG (de 0,5 % à 2,5 %). L'ensemble de ces résultats est à rapprocher des observations [10, 12] selon lesquelles la dégradation chimique de TAG par un réactif de Grignard entraîne une faible contamination des α,β -DAG par isomérisation (de 1,5 % à 2 %) et une importante contamination des α,α' -DAG (de 6 % à 10 %).

De manière générale, les α,β -DAG apparaissent comme les glycérides partiels les moins sensibles à la contamination par isomérisation, et par voie de conséquence, leur profil en AG correspond le mieux à la distribution initiale du TAG modèle. Pour autant, si l'on examine maintenant la distribution en AG des TAG, le calcul utilisant les α,β -DAG peut dans de fortes proportions amplifier les erreurs analytiques. A titre d'exemple, nous avons décomposé dans la *figure 4* le calcul de la composition en AG de chaque glycéride partiel obtenu par déacylation d'un TAG modèle, en considérant arbitrairement 3 % comme valeur de la migration acyle. Le TAG est symbolisé par ACA, les positions interne et externe étant respectivement occupées par C et A. Dans la mesure où l'analyse GC induit une erreur de détermination égale à 2 % [24, 25], la composition du TAG devient 65,4 % de A et celle des $\alpha\beta$ -DAG 51,8 % de A. En reportant ces valeurs, on trouve par la relation mathématique ($3 \times 65,4 - 2 \times 51,8$) développée par Yurkowski et Brockerhoff [10] que la position externe du TAG est composée par seulement 92,6 % de A, au lieu du 100 % théorique. En d'autres termes, dans la mesure où le calcul amplifie plusieurs fois l'erreur analytique, si on essaie d'introduire 2 % d'erreur relative dans l'équation utilisant les $\alpha\beta$ -DAG, on conçoit que l'erreur sur la position α calculée soit alors majorée à hauteur de 6 %, alors que comparativement, une analyse directe de la position α à partir des α -MAG conserve l'erreur de détermination par GC sans la multiplier.

Un calcul semblable a été réalisé pour chaque valeur de la migration acyle comprise entre 0 et 5 %, l'objectif étant d'examiner les différentes combinaisons possibles pour déterminer la répartition en AG du TAG modèle. Dans ces conditions, la *figure 5* donne le pourcentage d'AG en position externe du TAG calculé à partir des $\alpha\beta$ -DAG et le compare au pourcentage estimé à partir des α -MAG. Chaque estimation (trait plein) est systématiquement encadrée par les deux bornes de l'incertitude (trait tirets). Il semble bien que l'on puisse étendre à ces résultats les observations faites précédemment, dans la mesure où l'estimation de la position α est la plus précise avec les α -MAG lorsque la migration acyle est inférieure ou égale à 2 %. Au-delà de ce pourcentage, l'estimation à partir des α -MAG devient imprécise, au contraire de l'estimation à partir des $\alpha\beta$ -DAG qui conserve la valeur vraie (100 %) dans son intervalle de confiance.

Limites de l'analyse de la distribution par les α -MAG

Jusqu'en 1991, il était généralement admis que les α - et β -MAG n'étaient pas représentatifs de la structure triglycéridique, notamment du fait d'une migration acyle importante. Il s'ensuivit que les $\alpha\beta$ -DAG, plus robustes vis-à-vis de l'isomérisation, ont été systématiquement utilisés pour le calcul de la répartition [7, 10, 12]. Dès lors que les conditions de déacylation ont été modifiées, la distribution en AG des TAG a été analysée directement par le biais des MAG [14, 16, 18]. Pour démontrer clairement les limites de la détermination par les α -MAG, on a considéré la dégradation d'un TAG racémique selon la méthode de référence qui utilise les $\alpha\beta$ -DAG [12], et selon une nouvelle méthode qui étudie les α -MAG [18]. Dans le *tableau 3* est donnée la composition en AG des glycérides partiels obtenus. On constate que, dans la méthode de référence, tous les MAG sont fortement contaminés par l'isomérisation, alors que le profil en AG des α -MAG obtenus par la nouvelle méthode est statistiquement représentatif de la structure triglycéridique. Ces différences traduisent simplement des niveaux différents de la migration acyle. On calcule en effet une valeur de la migration acyle nettement plus faible dans la nouvelle méthode ($2\% \pm 0,5\%$) que dans la méthode de référence ($4\% \pm 1,0\%$), ce qui concorde avec les conclusions de l'étude théorique. Pour diminuer la migration acyle tout en produisant des α -MAG en quantités suffisantes, les conditions de dégradation ont été changées. D'abord, la quantité de réactif d'attaque est de 50 mmoles/g de corps gras, soit quatre fois plus que dans la méthode de référence. Si l'on suppose que l'éthyl magnésium bromide forme environ quatre fois plus d' α -MAG que de β -MAG comme l'aurait observé un auteur [17], il est logique de penser que l'influence de la migration acyle sur les α -MAG serait moindre. Ensuite, la durée de la dégradation est réduite de 60 à 15 secondes. Enfin, tous les lavages aqueux sont réalisés avec des solutions d'acide borique, dont on sait qu'il prévient l'isomérisation des MAG [26].

Tableau 3. Distribution en AG des glycérides partiels formés en dégradant le *sn*-1,3-dipalmitoléoyl-*sn*-2-oléyl-glycérol par de l'éthyl magnésium bromide selon deux modes opératoires différents.

Méthode	Glycéride	Positions	Composition en AG		Migration acyle	
			(en moles %)		(en pourcentage)	
			16 :0	18 :1	$\alpha \rightarrow \beta$	$\beta \rightarrow \alpha$
Christie et Moore [12]	$\alpha\beta$ -DAG	α, β, α'	49,9	$50,1 \pm 0,4$		
	$\alpha\alpha'$ -DAG	α, α'	90,9	$9,1 \pm 2,4$	$4,2 \pm 1,0$	$3,8 \pm 0,9$
	β -MAG	β	10,4	$89,6 \pm 2,4$		
	α -MAG	α, α'	96,2	$3,8 \pm 1,5$		

	3xTAG-2xαβ-DAG	α, α'	100,3	- 0,3 ± 0,4		
Turon <i>et al.</i> [18]	αβ-DAG	α, β, α'	49,4	50,6 ± 0,1		
	αα'-DAG	α, α'	95,5	4,5 ± 1,2	2,2 ± 0,6	1,8 ± 0,4
	β-MAG	β	5,6	94,4 ± 3,5		
	α-MAG	α, α'	98,2	1,8 ± 0,4		
	3xTAG-2xαβ-DAG	α, α'	101,3	-1,3 ± 0,2		

Avantage des α-MAG dans l'analyse des huiles lauriques

Pour conclure, on ne peut que recommander l'analyse de la répartition des TAG par le biais des α-MAG, en particulier pour les corps gras possédant des AG à chaînes courtes. On sait, en effet, qu'il est très difficile de repérer et d'isoler en chromatographie planaire les corps gras avec un large spectre en AG, car il y a des problèmes de superposition de bandes. D'où les difficultés pour établir une analyse à partir des αβ-DAG ou des β-MAG formés par la déacylation classique de la matière grasse laitière ou des huiles lauriques [27, 28]. Dans le cas d'une analyse via les α-MAG, on s'affranchit de ce problème analytique parce que les glycérides récupérés pour l'analyse GC, qu'ils soient constitués d'AG courts ou longs, sont les composés dont les R_f sont les plus faibles, compte tenu de leur plus forte affinité (deux hydroxyles vicinaux) avec la phase fixe imprégnée d'acide borique. On isole et récupère ainsi très facilement l'ensemble des α-MAG, sans aucun risque de recouvrement et sans contamination avec d'autres catégories glycéridiques.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Lipotechnie du CIRAD, sous la direction des Docteurs Jean Graille et Michel Pina, avec le soutien financier de la société SEA OIL, et la collaboration très précieuse pour l'approche mathématique de Monsieur François Bonnot, du CIRAD-CP.

RÉFÉRENCES

1. Gunstone FD (1967). *An introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty Acids and Their Glycerides*. Science Paperbacks : London.
2. Luddy FE, Barford RA, Herb, SF, Magidman P, Riemenschneider RW (1964). Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semimicro technique. *J Am Oil Chem Soc*, 41 : 693-6.
3. Entressangles B, Sari H, Desnuelle P (1966). On the positional specificity of pancreatic lipase. *Biochim Biophys Acta*, 125 : 597-600.

4. AFNOR (2000). Corps gras d'origines animale et végétale – Détermination de la composition en acides gras en position 2 dans les triglycérides. In : *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés – Tome 1 : corps gras et produits dérivés*, ed. Paris : AFNOR, 189-203.
5. Entressangles B, Pasero L, Savary P, Sarda L, Desnuelle P (1961). Influence de la nature des chaînes sur la vitesse de leur hydrolyse par la lipase pancréatique. *Bull Soc Chim Biol*, 43 : 581-5.
6. Lawson LD, Hughes BG (1988). Triacylglycerol structure of plant and fungal oils containing γ -linolenic acid. *Lipids*, 23 : 313-7.
7. Brockerhoff H (1965). Stereospecific analysis of triglycerides : an analysis of human depot fat. *Arch Biochem Biophys*, 110 : 586-90.
8. Bottino NR, Vandenburg GA, Reiser R (1967). Resistance of certain long-chain polyunsaturated fatty acids of marine oils to pancreatic lipase hydrolysis. *Lipids*, 2 : 489-93.
9. Brockerhoff H, Ackman RG, Hoyle RJ (1963). Specific distribution of fatty acids in marine lipids. *Arch Biochem Biophys*, 100 : 9-12.
10. Yurkowski M, Brockerhoff H (1966). Fatty acid distribution of triglycerides determined by deacylation with methyl magnesium bromide. *Biochim Biophys Acta*, 125 : 55-9.
11. Brockerhoff H (1967). Stereospecific analysis of triglycerides : an alternative method. *J Lipid Res*, 8 : 167-9.
12. Christie WW, Moore JH (1969). A semimicro method for the stereospecific analysis of triglycerides. *Biochim Biophys Acta*, 176 : 445-52.
13. Brockerhoff H (1971). Stereospecific analysis of triglycerides. *Lipids*, 6 : 942-56.
14. Takagi T, Ando Y (1991). Stereospecific analysis of triacyl-*sn*-glycerols by chiral high-performance liquid chromatography. *Lipids*, 26 : 542-7.
15. Becker CC, Rosenquist A, Holmer G (1993). Regiospecific analysis of triacylglycerols using allyl magnesium bromide. *Lipids*, 28 : 147-9.
16. Ando Y, Takagi T (1999). Micro method for stereospecific analysis of triacyl-*sn*-glycerols by chiral-phase high performance liquid chromatography. *J Am Oil Chem Soc*, 70 : 1047-9.
17. Angers P, Arul J (1999). A simple method for regiospecific analysis of triacylglycerols by gas chromatography. *J Am Oil Chem Soc*, 76 : 481-4.
18. Turon F, Bachain P, Caro Y, Pina M, Graille J (2002). A direct method for regiospecific analysis of TAG using α -MAG. *Lipids*, 37 : 817-21.
19. Pina M, Ozenne C, Lamberet G, Montet T, Graille J (1995). Contribution of Grignard reagent in the analysis of short-chain fatty acids. In : *New trends in lipid and lipoprotein analysis*, ed. Champaign : AOCS Press, 242-9.
20. Turon F (2002). Amélioration de la qualité nutritionnelle d'une huile de thon : Biofaçonnement par une enzyme végétale naturellement supportée. *Thèse de doctorat*, Institut national

polytechnique de Toulouse, France.

- 21.** Muderhwa JM, Pina M, Graille J (1987). Problème du dosage des acides gras en positions internes et externes des triglycérides des huiles lauriques : approche de la spécificité des lipases vis à vis de la nature des acides gras. *Rev Fr Corps Gras*, 12 : 533-41.
- 22.** Constantin MJ, Pasero L, Desnuelle P (1960). Quelques remarques complémentaires sur l'hydrolyse des triglycérides par la lipase pancréatique. *Bioch Biophys Acta*, 43 : 103-9.
- 23.** Angers P, Arul J (2000). Determination of selectivity of Grignard reagents in partial deacylation reactions of triacylglycerols by gas chromatography. *Inform*, 11 : S58.
- 24.** Christie WW (1989). Gas chromatography of fatty acids. In : *Gas chromatography and lipids, a practical guide*, ed. Ayr : The Oily Press, 124-8.
- 25.** Craske JD (1993). Separation of instrumental and chemical errors in the analysis of oils by gas-chromatography – A collaborative evaluation. *J Am Oil Chem Soc*, 70 : 325-34.
- 26.** Thomas III AE, Scharoun JE, Ralston H (1965). Quantitative estimation of isomeric monoglycerides by thin layer chromatography. *J Am Oil Chem Soc*, 42 : 789-92.
- 27.** Litchfield C (1970). Taxonomic patterns in the fat content, fatty acid composition and triglycerides composition on *Palmae* seeds. *Chem Phys Lipids*, 4 : 96-103.
- 28.** Christie WW, Claperton JL (1982). Structures of the triglycerides of cows milk, fortified milks (including infant formulae), and human milk. *J Sc Dairy Technol*, 35 : 22-4.

Illustrations

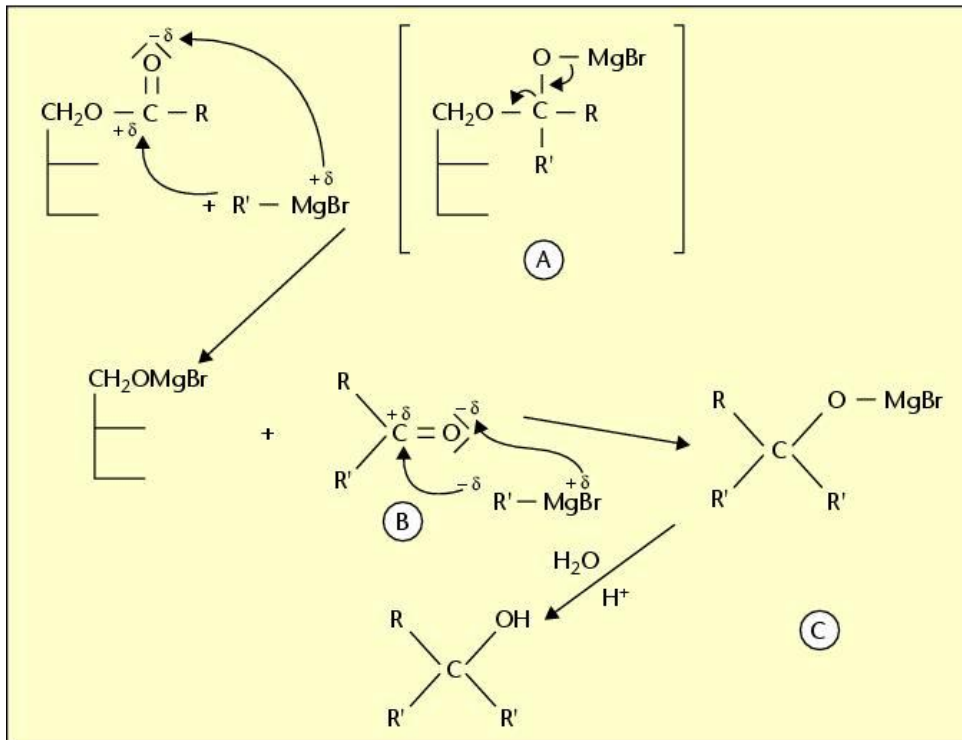


Figure 1. Mécanisme de la déacylation d'un TAG par un réactif de Grignard.

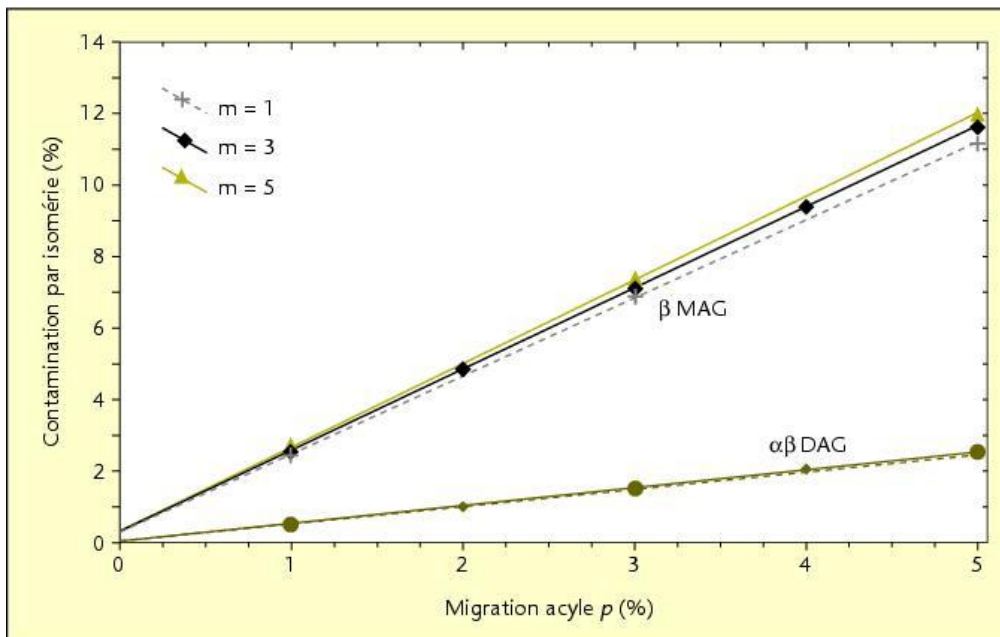


Figure 2. Influence de la migration acyle sur la contamination par isomérisation des $\alpha\beta$ -DAG et des β -MAG (m : pourcentage de la migration acyle de la position interne vers une position externe ; p : pourcentage de la migration acyle d'une position externe vers la position interne).

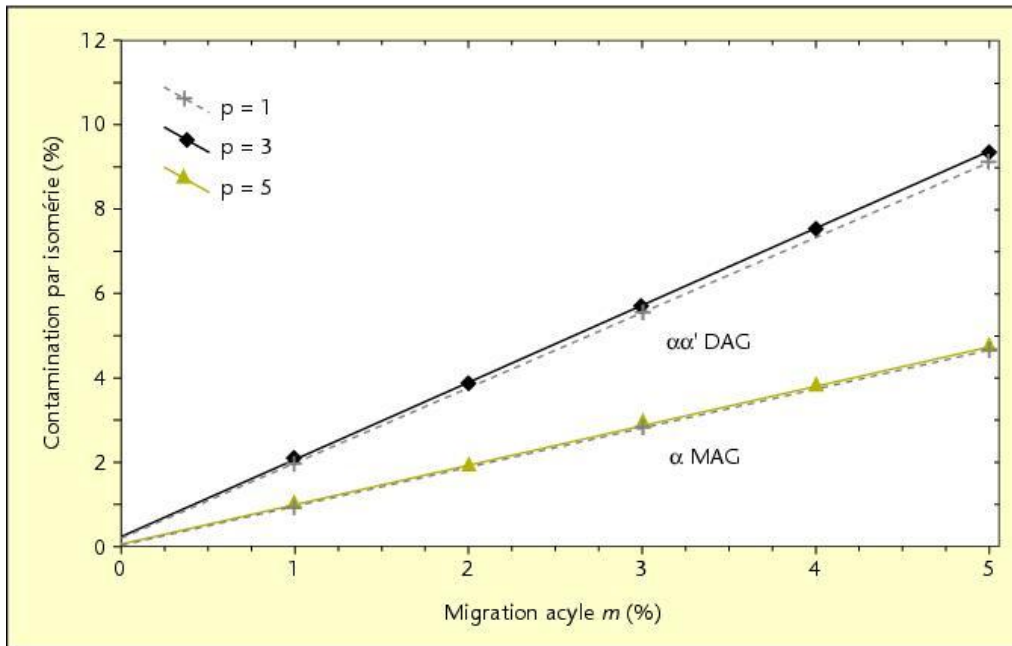


Figure 3. Influence de la migration acyle sur la contamination par isomérisation des $\alpha\alpha'$ -DAG et des α -MAG (m : pourcentage de la migration acyle de la position interne vers une position externe ; p : pourcentage de la migration acyle d'une position externe vers la position interne).

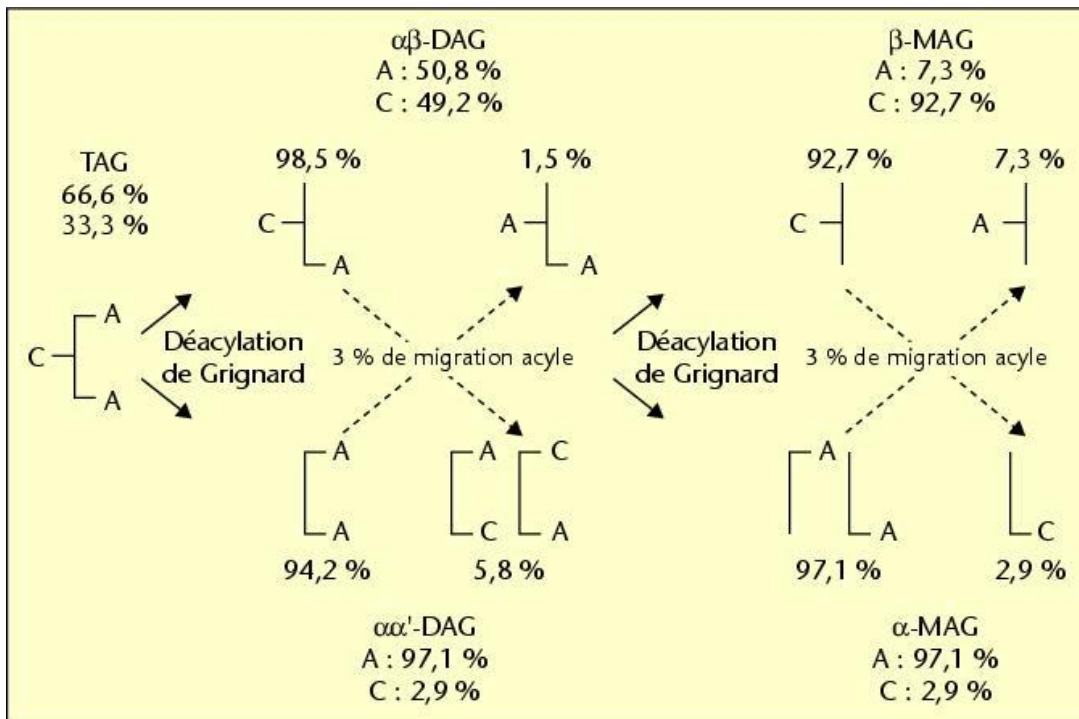


Figure 4. Exemple de la composition en AG (en pourcentage de leur total) des glycérides partiels issus de la dégradation d'un TAG modèle, calculée en considérant 3% comme valeur de la migration acyle.

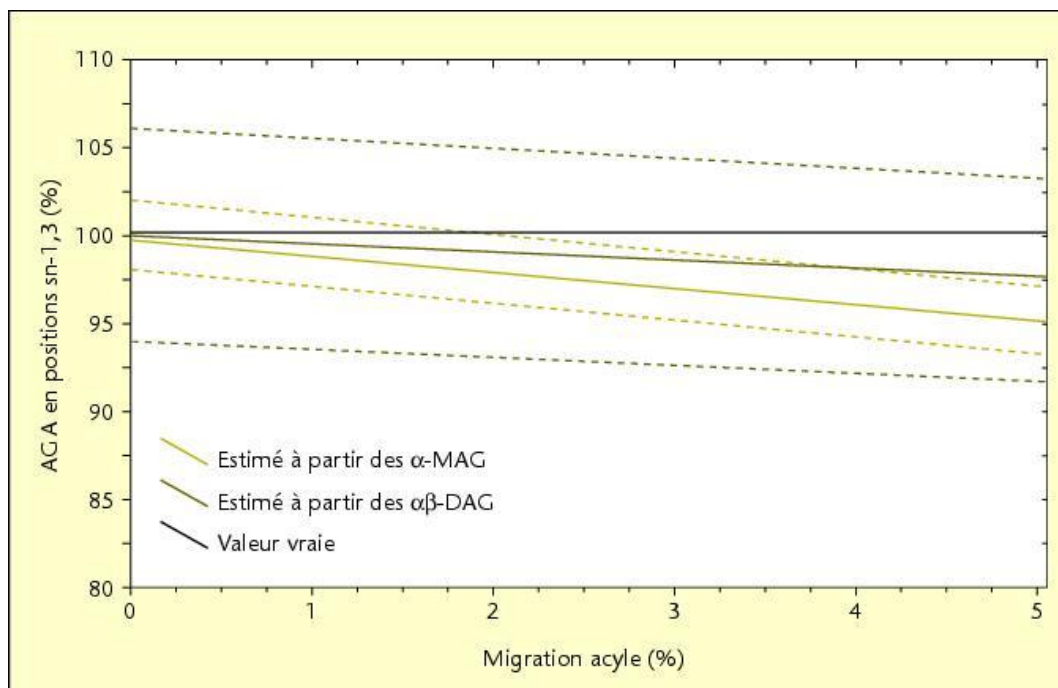


Figure 5. Influence de la migration acyle sur la composition en AG distribué en position externe d'un TAG modèle déterminée, comparativement, à partir des $\alpha\beta$ -DAG ou à partir des α -MAG. Chaque estimation (trait plein) est systématiquement encadrée par les deux bornes de l'incertitude (trait tirets).