HAL open science

Influence de la nature du régime alimentaire distribué aux poules sur la composition des stérols du jaune d'œuf

J. C. Lhuguenot, B. Colas, B. Sauveur, D. Bertheau

To cite this version:

J. C. Lhuguenot, B. Colas, B. Sauveur, D. Bertheau. Influence de la nature du régime alimentaire distribué aux poules sur la composition des stérols du jaune d'œuf. Annales de zootechnie, 1980, 29 (4), pp.409-420. hal-00888002

HAL Id: hal-00888002

https://hal.science/hal-00888002

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Ann. Zootech., 1980, **29** (4), 409-420.

Influence de la nature du régime alimentaire distribué aux poules sur la composition des stérols du jaune d'œuf

J. C. LHUGUENOT, B. COLAS, B. SAUVEUR (*) et D. BERTHEAU

École Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation (ENS. BANA)
Campus Universitaire, 21100 Dijon (France)

(*) Station de Recherches Avicoles, I.N.R.A., Tours, Nouzilly, 37380 Monnaie (France)

Résumé

Deux expériences ont été conduites dans le but d'étudier l'influence de l'incorporation de 10 p. 100 de tourteau de colza ou de 6 p. 100 de protéines de luzerne dans la ration de poules pondeuses WARREN ISA et STARCROSS SHAVER sur la composition de la fraction stérolique des jaunes d'œufs.

L'analyse des stérols des régimes et des jaunes d'œufs a été effectuée par CCM — CGL précédée d'une extraction par solvants.

Les résultats montrent que :

— pour les niveaux d'incorporation pratiqués, la composition en stérols du tourteau de colza et des protéines de luzerne influence peu celle des régimes;
— il existe des variations dans l'œuf pour le cholestérol (expérimentation colza) et le β-sitostérol (expérimentation luzerne);
— le principal facteur de variation est l'origine génétique de la poule pondeuse : les œufs de WARREN sont plus riches en stérols que ceux de SHAVER (sauf en cholestérol) et sont également plus sujets à variations.

Introduction

Depuis une dizaine d'années, de nombreux travaux ont été consacrés à la recherche de nouvelles sources de protéines pouvant se substituer partiellement ou en totalité au tourteau de soja dans l'alimentation des poules pondeuses.

Dans une récente revue bibliographique, SAUVEUR (1980) présente les effets de différentes protéines : protéines végétales (légumineuses, protéines d'herbes, tourteau de colza), sous-produits industriels (solubles de distillerie, drêches de brasserie), farines animales et protéines d'organismes unicellulaires, sur les prin-

cipaux paramètres qualitatifs de l'œuf. De telles substitutions peuvent entraîner des variations au niveau des oligo-constituants de l'œuf (NABER, 1979).

Le présent travail a été consacré à la répercussion de l'incorporation de tourteau de colza ou de protéines de luzerne dans le régime sur la composition de la fraction stérolique des lipides du jaune d'œuf. Nous nous sommes attachés à définir au mieux la fraction stérolique de ces deux matières premières ainsi que celle des rations expérimentales par rapport à la ration « soja témoin ». Nous avons ensuite analysé la fraction stérolique des œufs pondus lors de ces expérimentations dans le but de répondre à deux interrogations :

— Quelle est l'influence du régime alimentaire de la pondeuse sur le taux de cholestérol du jaune? CLARENBURG *et al.* (1971) ont en effet montré qu'il existe une relation entre la teneur en β-sitostérol de la ration et le taux de cholestérol du jaune. Un dosage précis du cholestérol était donc rendu nécessaire et celui-ci devait tenir compte des interférences éventuelles avec d'autres stérols. Pour cette raison, la méthode classique de LIEBERMANN-BURCHARD a été rejetée au profit de la méthode par chromatographie gaz-liquide après dérivatisation des stérols.

— Une modification du régime peut-elle entraîner l'apparition ou la disparition d'un ou de plusieurs stérols dans le jaune? La démarche adoptée a alors consisté à suivre le profil chromatographique de la fraction stérolique et appliquer des méthodes fines d'identification, en l'occurrence le couplage chromatographie gaz-liquide — spectrométrie de masse, dans le cas de distorsions au niveau d'un ou de plusieurs stérols. TU *et al.* donnent, en 1970 une identification très complète des stérols du jaune; on y trouve, en dehors d'une grande quantité de cholestérol, des teneurs importantes en desmostérol, cholestanol, ergostérol, β-sitostérol, Δ^7-cholesténol, lanostérol, Δ^7-méthosténol, 7-24-cholestadiène-4-4-diméthyl 3β-ol, dihydrolanostérol, 8-24-cholestadiène-4α méthyl-3β-ol et 7-24-cholestadiène-4α-méthyl-3β-ol.

Matériel et méthodes

Animaux, conditions d'élevage et collecte des œufs

Ces étapes ont été conduites à la Station de Recherches Avicoles (I.N.R.A., Nouzilly).

Pour l'expérimentation « colza », les animaux étaient des poules de souches WARREN ISA (productrices d'œufs colorés) et STARCROSS SHAVER (productrices d'œufs blancs), âgées de 60 semaines en début d'expérience, et recevaient *ad libitum* soit un régime témoin à base de tourteau de soja, soit un régime expérimental contenant 10 p. 100 de tourteau de colza.

Pour l'expérimentation « protéines de luzerne », les animaux étaient des poules de souches WARREN ISA, âgées de 60 semaines en début d'expérience, et recevaient *ad libitum* soit un régime témoin à base de tourteau de soja, soit un régime expérimental contenant 6 p. 100 de protéines de luzerne PX1.

La composition des régimes est donnée dans le tableau 1.

Pour l'expérimentation colza, les œufs ont été prélevés au jour 0 de la distribution du régime contenant 10 p. 100 de tourteau de colza et après 2, 3, 4 et 5 semaines d'adaptation. Pour l'expérimentation luzerne, les œufs ont été prélevés après 2,3 et 4 semaines d'adaptation au régime.

TABLEAU I

Composition des régimes utilisés (p. 100) (B. SAUVEUR *et* J. C. BLUM, *Station de Recherches Avicoles, I.N.R.A., Nouzilly*)

Ingredients of diets (*p. 100*)

	Expérimentation Colza (*Rapeseed experiment*)		Expérimentation Prot. de luzerne (*Lucerne protein expériment*)	
	Témoin *Control*	Colza 10 p. 100	Témoin	Luzerne 6 p. 100
Maïs (*Maize*)	39,8	34,5	20,0	20,0
Blé (*Wheat*)	28,0	26,0	48,0	48,0
Huile de maïs (*Maize oil*)	—	2,5	1,0	1,0
Tourteau de soja 50 (*Soybean meal*)	17,5	12,0	17,0	11,0
Farine de luzerne (*Lucerne meal*)	4,0	4,0	—	—
Tourteau de colza (1) (*Rapeseed meal*)	—	10,0	—	—
Protéines de luzerne PX1 (2) (*Lucerne protein*)	—	—	—	6,0
Cellulose (*Crude fibre*)	—	0,4	4,0	4,0
Minéraux, oligoéléments et vitamines (*Minerals*)	10,7	10,6	10,0	10,0

(1) Colza 0 acide érucique.
(2) France Luzerne, 11 rue de Madrid, 75005 Paris.

Analyse qualitative et quantitative des fractions stéroliques

Ces analyses ont porté sur les régimes « témoins », « colza » et « protéines de luzerne PX1 », ainsi que sur leurs composants : blé, maïs, tourteau de soja, farine de luzerne, tourteau de colza et protéines de luzerne PX1.

Les fractions stéroliques des farines et des jaunes d'œufs sont obtenues grâce à une technique d'extraction par solvants (chloroforme/méthanol 2/1 pour les farines, méthylal/méthanol 4/1 pour les jaunes) suivie d'une saponification (CHAVERON, 1966). L'insaponifiable est ensuite fractionné par chromatographie sur couche mince (PROST *et al.*, 1974) et les stérols sont analysés par chromatographie gazeuse. Cette association CCM — CGL a été proposée par THORPE *et al.* (1969) pour l'analyse du cholestérol dans les huiles et les graisses.

En 1970, THORPE compare différentes techniques de séparation des stérols par chromatographie gazeuse. On y relève les travaux de VAN DEN HEUVEL *et al.* (1960), VAN DEN HEUVEL & HORNING (1962), BLOOMFIELD (1962), LA CROIX (1969) et GRUNWALD (1969) dans lesquels l'analyse en CGL se fait sur des stérols libres. Par contre, dès 1965, ETTINGER *et al.* (1965) proposent une dérivatisation préalable de ces composés sous forme d'acétate. Enfin, TATTRIE (1972) décrit une méthode

d'extraction et de dosage du cholestérol dans le jaune d'œuf sous forme d'éther de triméthylsilyle.

Dans la présente étude, l'analyse des stérols par chromatographie gazeuse a été effectuée à l'aide de leurs dérivés triméthylsilylés (LUUKKAINEN *et al.*, 1961; VAN DEN HEUVEL & COURT, 1968).

L'appareil est un chromatographe PACKARD 409 équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme. Les conditions expérimentales étaient les suivantes :

— colonnes en verre, de diamètre 3 mm et de longueur 4 m, silanisées, remplies d'OV-1 ou d'OV-17 à 1 p. 100 sur Chromosorb W AW-DMCS 100-120 mesh (Spiral, rue des Roses, 21000 Dijon);
— température des colonnes : programmation de 0,8 °C/mn à partir de 230 °C;
— température des injecteurs : 240 °C;
— température des détecteurs : 290 °C;
— gaz vecteur : azote dont la pression d'entrée est de 1,75 kg/cm² à 230 °C;
— débit d'hydrogène : 25 ml/mn;
— intégrateur Hewlett-Packard 3380 A.

L'analyse quantitative a été réalisée par la méthode de l'étalon interne (épicoprostanol) qui a été ajouté à l'échantillon en début d'extraction. Les rendements d'extraction et de dérivatisation sont considérés comme identiques pour les différents stérols étudiés et l'épicoprostanol (PROST, MAUME et PADIEU, 1974).

Résultats et discussion

Fraction stérolique des régimes et de leurs composants

Le tableau 2 donne la composition en stérols des matières premières utilisées et des régimes. Les résultats sont exprimés en µg/g et correspondent à la phase OV-17 qui a donné la meilleure séparation. Un exemple de profil chromatographique est donné figure 1. Certains pics séparés ont pu être identifiés grâce à leur indice de méthylène comparé à celui des stérols de référence. Dans tous les échantillons analysés ont été trouvés les stérols suivants : cholestérol, campestérol, stigmastérol et β-sitostérol. Les autres pics séparés (appelés A, B, C, D et E) ont été analysés en spectrométrie de masse. Le pic A, présent uniquement dans le tourteau de colza et le régime colza correspond au brassicastérol.

Les fractions stéroliques du blé, du maïs et du tourteau de soja sont qualitativement identiques, la richesse en stérols allant croissant dans l'ordre : tourteau de soja, maïs, blé. On peut noter la présence en quantité importante du brassicastérol dans le tourteau de colza, ce stérol se retrouvant en quantité moindre dans le régime correspondant du fait que la teneur en colza n'y est que de 10 p. 100. Les composants farine et protéines de luzerne présentent un caractère important : une diminution très nette de la teneur en β-sitostérol. Les composés B, C et E représentent alors la majeure partie de la fraction stérolique. Il semble donc y avoir dans ce cas un équilibre différent au niveau des phytostérols. Ce caractère important s'estompe en partie dans le régime « protéines de luzerne PX1 » du fait de l'apport des autres constituants.

Plus généralement, les variations observées dans les matières premières sont peu visibles au niveau des régimes, qualitativement et quantitativement. Le

TABLEAU 2

Composition (en µg/g) de la fraction stérolique des matières premières et des régimes
Steroids of ingredients used in diets and of control and experimental diets (in µg/g)

	Cholestérol	A brassicastérol	B	Campestérol	Stigmastérol	β-sitostérol	C	D	E
Indice de méthylène (OV-17) *Methylene index*	32,57	32,95	33,29	33,68	34,00	34,53	34,69	34,86	35,16
Blé (*Wheat*)	11	—	1	123	14	489	—	17	28
Maïs (*Maize*)	5	—	3	73	19	352	—	32	40
Tourteau de soja (*Soybean meal*)	2	—	7	21	13	144	—	4	9
Farine de luzerne (*Lucerne meal*)	6	—	59	13	5	52	103	—	195
Protéines de luzerne (*Lucerne protein*)	9	—	166	30	17	(*)	705	—	455
Tourteau de colza (*Rapeseed meal*)	5	91	6	180	5	478	—	34	14
Régimes témoins (*Control diets*)	4	—	6	96	20	412	—	27	25
Régime colza (*Rapeseed diet*)	3	11	12	150	32	598	—	48	22
Régime luzerne (*Lucerne diet*)	2	—	32	101	19	469	(*)	27	53

(*) Résultat non chiffrable (pic mal séparé).

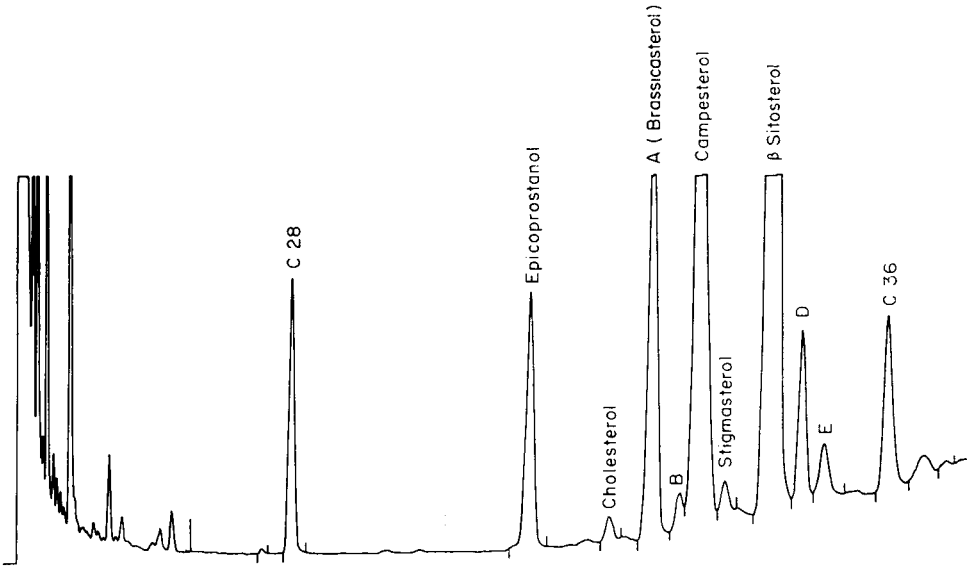

FIG. 1. — *Profil en chromatographie gaz-liquide de la fraction stérolique du tourteau de colza (phase OV 17 — atténuation 3,2.10⁹ A)*

Chromatographic profile of the sterol fraction extracted from rapeseed meal

fait que le tourteau de colza et les protéines de luzerne n'entrent respectivement que pour 10 p. 100 et 6 p. 100 dans les régimes explique un tel résultat. Ces taux d'incorporation peuvent sembler faibles; ils entraînent pourtant des altérations de la qualité des œufs : apparition de flaveurs désagréables avec le tourteau de colza, discoloration du jaune avec les protéines de luzerne.

Fraction stérolique des œufs

Un exemple de profil chromatographique est donné figure 2. Cette étude nous a amené à séparer 11 pics (repérés *a* à *k*) dont 2 correspondent au cholestérol et au β-sitostérol.

Les résultats des compositions en stérols des œufs sont donnés dans les tableaux 3 (régimes témoins), 4 (expérimentation colza) et 5 (expérimentation luzerne). Trois stérols (*d*, *h* et *k*) n'ont pu être quantifiés car mal séparés ou en trop faible quantité. Les teneurs sont exprimées en μg/g de poids frais.

Les teneurs en cholestérol sont comparables à celles trouvées dans la littérature (MARTIN, TATTRIE et COOK, 1963; RANGACHAR, SETTY et HEDGE, 1970; TURK et BARNETT, 1971; FEELEY, CRINER et WATT, 1972; TATTRIE, 1972; CUNNINGHAM *et al.*, 1974; NIX *et al.*, 1974; WASHBURN et NIX, 1974).

Pour les régimes témoins (tabl. 3) la teneur en cholestérol des œufs de WARREN ne diffère pas de celle des œufs de SHAVER. En dépit d'écarts-types élevés, ce qui semble traduire de fortes variations individuelles au niveau des animaux d'un même lot et au cours du temps, des différences significatives sont observées

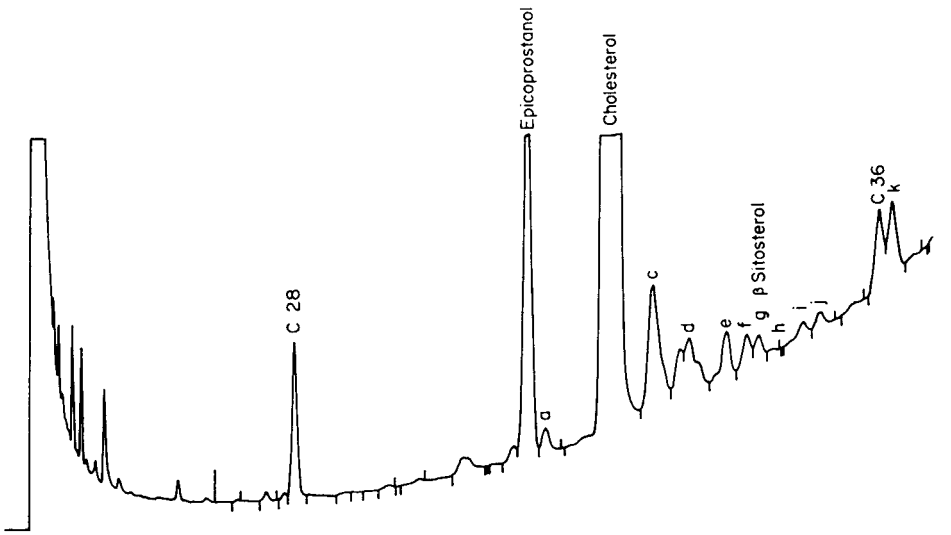

FIG. 2. — *Profil chromatographique de la fraction stérolique du jaune d'œuf obtenu avec le régime colza (souche Warren — 34e j) (phase OV 17 — atténuation 8.10⁻¹⁰ A) Chromatographic profile of the sterol fraction (Warren egg yolk obtained after 34 days of rapeseed meal diet).*

pour les stérols *a*, *c*, *e* et *f*. Ces différences sont toujours dans le sens d'une plus faible teneur dans les œufs de poules SHAVER.

Dans l'expérimentation colza (tabl. 4), les profils chromatographiques obtenus montrent que le brassicastérol présent dans le régime n'est pas retrouvé dans les œufs. Par ailleurs, les différences observées en fonction de la durée d'adaptation au régime varient selon le type génétique de la poule :

— pour la souche WARREN, le taux de cholestérol diminue à partir de quatre semaines d'adaptation et les teneurs en stérols *a*, *i* et *j* sont élevées après 4 semaines mais ne diffèrent pas de celles des témoins après 5 semaines;

— pour la souche SHAVER, aucune évolution du taux de cholestérol n'est observée et des différences sont mises en évidence pour les stérols *e* et *f* sans qu'il soit possible de conclure à une évolution. Plus généralement, les variations observées pour cette souche sont moins nombreuses que pour la souche WARREN et les plus faibles teneurs en stérols *a*, *c*, *e* et *f*, mises en évidence pour les régimes témoins (tabl. 3) sont conservées.

Dans l'expérimentation luzerne (tabl. 5), la seule variation observée concerne une augmentation de la teneur en β-sitostérol après quatre semaines d'adaptation. Cette augmentation ne peut être expliquée par la composition du régime luzerne qui, pour ce stérol, ne diffère pas de celle du régime témoin (tabl. 2).

L'ensemble de ces résultats montre que, pour les niveaux d'incorporation pratiqués, la composition en stérols du tourteau de colza et des protéines de luzerne influence peu celle des régimes. Il en résulte de faibles variations qualitatives et quantitatives des fractions stéroliques des jaunes produits : seules les teneurs en β-sitostérol (dans le cas du régime luzerne) et en cholestérol (dans le cas du régime colza) présentent une évolution; encore faut-il préciser que la diminution de teneur

TABLEAU 3

Teneur en stérols (en μg/g) des œufs produits par les poules alimentées avec les régimes témoins (1).
Concentration of different steroids in egg-yolk produced by hens fed control diets (in μg/g)

Expérimentation	Souche *Strain*	Stérols							
		a	b (cholestérol)	c	e	f	g (β-sitostérol)	i	j
		31,74 (2)	32,57	33,14	34,11	34,36	34,53	35,05	35,29
Colza (*Rapeseed*)	WARREN	65 (26)	15 873 (1 509)	328 (83)	106 (47)	59 (34)	34 (9)	21 (9)	18 (9)
	SHAVER	11(*) (11)	16 078 (2 124)	174(*) (57)	23(*) (12)	10(*) (5)	48 (11)	11 (5)	12 (7)
Luzerne (*Lucerne*) . . .	WARREN	55 (17)	14 333 (2 306)	301 (51)	111 (13)	40 (6)	32 (6)	35 (13)	29 (22)

(1) Valeurs de $\bar{x}(s)$, moyennes de 4 analyses (3 pour l'expérimentation luzerne). $\bar{x}(s)$ *values, means of 4 analyses (3 for the lucerne experiment).*
(2) Indice de méthylène sur phase OV-17.
(*) Teneur significativement différente de celle obtenue pour les poules WARREN dans la même expérimentation colza ($P \leqslant 0,05$) (*Concentration significantly different from that obtained with Warren hens in the same rapeseed experiment).*

TABLEAU 4

Expérimentation Colza — teneur en stérols (en µg/g) des œufs produits par les poules alimentées avec un régime contenant 10 p. 100 de tourteau de colza

Rapeseed-meal experiment — Concentration of different steroids in egg-yolk produced by hens fed 10 p. 100 rapeseed-meal diet (in µg/g)

Souche *Strain*	Durée d'adaptation au régime (sem.) *Adaptation duration to the diet (weeks)*	Stérols							
		a	b (cholestérol)	c	e	f	g (β-sitostérol)	i	j
WARREN	0	16[a] (1)	16 820[bc]	195	44	35	33	8[a]	2[a]
	2	28[a]	17 520[c]	241	60	39	38	21[a]	22[a]
	3	13[a]	17 370[c]	172	47	52	43	4[a]	11[a]
	4	92[b]	13 710[ab]	356	132	59	31	70[b]	91[b]
	5	34[ab]	12 280[a]	238	72	31	28	14[a]	11[a]
SHAVER	0	19	13 260	115	61[b]	23[b]	45	16	2
	2	19	16 320	216	44[a]	28[b]	53	14	12
	3	4	16 850	152	25[a]	10[a]	55	9	8
	4	20	15 680	208	53[b]	27[b]	59	1	5
	5	10	15 720	180	18[a]	10[a]	61	9	3

(1) Les valeurs affectées d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($P \leqslant 0{,}05$) *Values followed by the same letter are not significantly different*).

TABLEAU 5

Expérimentation Luzerne — teneur en stérols (en µg/g) des œufs produits par des poules WARREN *alimentées avec un régime contenant 6 p. 100 de protéines de luzerne*

Lucerne-meal experiment — Concentration of different steroids in egg-yolk produced by WARREN *hens fed 6 p. 100 lucerne-meal diet (in µg/g)*

Durée d'adaptation au régime (sem.) *Adaptation duration to the diet (weeks)*	Stérols							
	a	b (cholestérol)	c	e	f	g (β-sitostérol)	i	j
2	16	14 470	175	40	20	31 [a] (1)	6	6
3	11	14 620	135	9	12	47 [a]	6	2
4	25	19 220	254	53	20	71 [b]	26	17

(1) Voir tableau 4 (*See table 4*).

en cholestérol ne concerne que les œufs de poules WARREN. Cette souche apparaît d'ailleurs globalement plus dépendante de la composition des régimes et les œufs produits sont plus riches en stérols autres que le cholestérol que ceux produits par la souche SHAVER.

Accepté pour publication en décembre 1980.

Summary

Effect of the dietary protein fraction on the profile of some egg yolk steroids

Experiments were made to study the influence of incorporating rapeseed meal (10 p. 100) or lucerne proteins (6 p. 100) to laying hen diets on the profile of the sterol fraction of egg yolk lipids. WARREN ISA and STARCROSS SHAVER hens laying brown or white-shelled eggs, respectively were used.

The sterol fraction of control (containing 17 p. 100 soybean meal) and experimental diets were analysed by thin-layer and gas liquid chromatography after liquid partition.

The results indicate:

— a slight difference in the phytosterol profile of experimental and control diets (Tabl. 2);

— a variation in the egg yolk level of cholesterol (rapeseed experiment — tabl. 4) and β-sitosterol (lucerne experiment — tabl. 5);

— that the most important variation factor inducing a sterol profil difference is a genetic factor (WARREN eggs have a higher sterol content than SHAVER eggs, except for cholesterol).

Remerciements

Les travaux rapportés ont été réalisés avec l'aide financière de la D.G.R.S.T., Action Concertée Technologie Alimentaire et Agricole, décision n° 78.7.0455.

Références bibliographiques

BLOOMFIELD D. K., 1962. Quantitative analysis of complex mixtures of steroids and bile acids. *Anal. Chem.*, **34**, 737-745.

CHAVERON H., 1966. Détermination de la composition stérolique du beurre de cacao. *Chocolaterie, Confiserie de France*, **218**, 13-22.

CLARENBURG R., KIM CHUNG I. A., WAKEFIELD L. M., 1971. Reducing the egg cholesterol level by including emulsified sitosterol in standard chick diet. *J. Nutr.*, **101**, 289-297.

CUNNINGHAM D. L., KREUGER W. F., FANGUY R. C., BRADLEY J. W., 1974. Preliminary results of bidirectional selection for yolk cholesterol level in laying hens. *Poult. Sci.*, **53**, 384-392.

ETTINGER C. L., MALONOSKI A. J., KIRSCHENBAUM H., 1965. Detection and estimation of animal fats in vegetable oils by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **48**, 1186-1192.

FEELEY R., CRINER P. E., WATT B. K., 1972. Cholesterol content of foods. *J. Am. Diet. Assoc.*, **61**, 134-139.

GRUNWALD C., 1969. Analysis of free phytosterols by gas chromatography using liquid phase OV-101. *J. Chromatog.*, **44**, 173-178.

LA CROIX D., 1969. Extraction of plant sterols from adulterated butter oil using a digitonin-impregnated celite colum. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **52**, 600-608.

LUUKKAINEN T., VAN DEN HEUVEL W. J. A., HAAHTI E. O. A., HORNING E. C., 1961. Gas chromatographic behaviour of trimethylsilyl esters of steroids. *Biochem. Biophys. Acta*, **52**, 599-614.

MARTIN W. G., TATTRIE N. H., COOK W. H., 1963. Lipid extraction and distribution studies of egg yolk lipoproteins. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **41**, 157-170.

NABER E. C., 1979. The effect of nutrition on the composition of eggs. *Poult. Sci.*, **58**, 518-528.

NIX D. F., THORNTON E. J., WASHBURN K. W., MARKS H. L., 1974. The influence of moulting on yolk cholesterol level. *Poult. Sci.*, **53**, 412-416.

PROST M., MAUME B. F., PADIEU P., 1974. Identification de phytostérols, d'oxo- et d'hydroxycholesterols par chromatographie gaz-liquide couplée à la spectrométrie de masse. *Biochem. Biophys. Acta*, **360**, 230-241.

RANGACHAR T. R. S., SETTY S. V. S., HEDGE R., 1970. Cholesterol content in eggs of chicken and duck. *Mysore J. Agric. Sci.*, **4**, 146-152.

SAUVEUR B., 1980. Matières premières protéiques et qualités de l'œuf. In « *Matières premières et Alimentation des volailles* », St. de Rech. Avicoles Edit., Nouzilly, 173-191.

TATTRIE N. H., 1972. Isolation and identification of egg yolk cholesterol esters. *Can. J. Biochem.*, **50**, 1414-1423.

THORPE C. W., POHLAND L., FIRESTONE D., 1969. Thin-layer and gas-liquid chromatography of cholesterol in fats and oils. 1. Development of method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **52**, 774-780.

THORPE C. W., 1970. Comparison of separation procedures for identification of oils by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **53**, 623-631.

TU C., POWRIE W. D., FENNEMA O., 1970. Steroids in egg yolk. *J. Food. Sci.*, **35**, 601-606.

TURK D. E., BARNETT B. D., 1971. Cholesterol content of market eggs. *Poult. Sci.*, **50**, 1303-1307.

VAN DEN HEUVEL W. J. A., SWEELEY C. C., HORNING E. C., 1960. Separation of steroids by gas chromatography. *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3481-3486.

VAN DEN HEUVEL W. J. A., HORNING E. C., 1962. A study of retention time relationships in gas chromatography in terms of the structure of steroids. *Biochem. Biophys. Acta*, **64**, 416-423.

VAN DEN HEUVEL W. J. A., COURT A. S., 1968. Reference high-efficiency nonpolar packed columns for the gas-liquid chromatography of nanogram amounts of steroids. *J. Chromatog.*, **38**, 439-448.

WASHBURN K. W., NIX D. F., 1974. Genetic basis of yolk cholesterol content. *Poult. Sci.*, **53**, 109-120.