

Titre :

Application du plan d'expérience de Box-Behnken et de la méthodologie des surfaces de réponses pour optimiser une méthode de quantification de phyto-œstrogènes dans les fourrages

Auteur(s) :

Frédéric Daems, Georges Lognay, Jean-Michel Romnee & Éric Froidmont.

Résumé :

Dans le cadre d'un projet de valorisation des prairies, intitulé « *PhytoHealth* », une méthode d'analyse quantitative constituée d'une étape d'extraction à l'aide d'un bain à ultrasons, suivi d'une hydrolyse enzymatique et d'une analyse par UPLC®-MS/MS a été développée pour assurer le dosage de phyto-œstrogènes dans les fourrages. Pour alléger l'optimisation de la préparation des échantillons, la méthodologie des surfaces de réponses a été utilisée. Un plan d'expérience de Box-Behnken a été appliqué aux étapes d'extraction et d'hydrolyse. Parmi les différents facteurs pris en compte, les impacts de la nature du solvant utilisé lors de l'extraction ainsi que la température et le pH lors de l'hydrolyse, ont clairement pu être mis en évidence. L'ensemble des données générées a également permis de définir des conditions optimales d'extraction et d'hydrolyse pour chacun des composés. Ces conditions n'étant pas identiques pour chacun d'entre eux, un compromis a été trouvé afin de pouvoir analyser l'ensemble de ces composés simultanément. L'ensemble de la méthode a ensuite été validée selon les recommandations de l'EMA/CVMP/VICH/463202/2009, pour confirmer sa fiabilité et robustesse. Cette dernière, combinée au model d'ensilage en sacs sous vide, a permis pour la première fois de suivre la cinétique d'évolution de 4 phyto-œstrogènes (daidzéine, génistéine, formononetine et biochanin A) durant une période d'ensilage.

