



# THÈSE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 596

*Matière, Molécules, Matériaux et Géosciences*

Spécialité : « *Chimie Analytique* »

UNIVERSITE SAINT-JOSEPH DE BEYROUTH

ECOLE DOCTORALE EDSIT

*SCIENCES, INGÉNIERIE, TECHNOLOGIE*

Spécialité : « *Chimie Analytique* »

Par

**« Tania MHANNA »**

**« Biomarqueurs isotopomiques en  $^{13}\text{C}$  par RMN et GC-IRMS d'acides gras des produits laitiers : Elucidation de voies métaboliques et applications alimentaires. »**

Thèse en cotutelle internationale présentée et soutenue à « Nantes », le « 13 décembre 2024 »  
Unité de recherche : CEISAM UMR CNRS 6230 de l'Université de Nantes, France et LMFI UR-TVA de l'Université Saint-Joseph de Beyrouth, Liban

## Rapporteurs avant soutenance :

Isabelle BILLAULT Maitre de conférences des universités, Université Paris-Saclay  
Patrick HOHENER Professeur des universités, Aix-Marseille Université

## Composition du Jury :

Président :	Prénom Nom	Fonction et établissement d'exercice (8)(à préciser après la soutenance)
Examineurs :	Isabelle BILLAULT Patrick HOHENER Serge AKOKA Ghina HAJJARI	Maitre de conférences des universités, Université Paris-Saclay Professeur des universités, Aix-Marseille Université Professeur des universités, Nantes Université Chargé de recherche, IRT Bioaster Lyon
Dir. de thèse :	Gérald REMAUD Joseph BEJJANI	Professeur émérite, Nantes Université Professeur des universités, Université Saint-Joseph de Beyrouth

**Titre :** Biomarqueurs isotopomiques en  $^{13}\text{C}$  par RMN et GC-IRMS d'acides gras des produits laitiers : Elucidation de voies métaboliques et applications alimentaires.

**Mots clés :** Triacylglycérols, biomarqueurs métaboliques, GC-C-IRMS, acide gras, RMN  $^{13}\text{C}$  quantitative.

**Résumé :** Les triacylglycérols (TAG), principaux lipides de stockage énergétique, présentent une grande diversité structurale due à la variété des acides gras les composant. Cette diversité s'étend à la distribution des isotopes lourds au sein de ces molécules, influencée par les fractionnements isotopiques lors de leur biosynthèse. Bien que les profils d'acides gras soient couramment utilisés comme biomarqueurs métaboliques, la composition isotopique  $^{13}\text{C}$  composé-spécifique ou positionnelle des acides gras individuels reste peu explorée. Au cours de la thèse, une nouvelle méthode par GC-IRMS a permis de mesurer avec précision les rapports isotopiques du  $^{13}\text{C}$  dans les acides gras séparés et en particulier les acides gras à courte chaîne (C4 à C12), non observés jusqu'à présent. Une méthodologie utilisant la RMN  $^{13}\text{C}$  quantitative a été mise en place pour déterminer la composition intramoléculaire des acides gras. Cette analyse demande un travail de préparation important

concernant la séparation et purification des acides gras. Une nouvelle approche a été développée concernant l'expression des résultats de la composition isotopique sur une échelle « absolue » et non relative, en mettant en place le concept de référence isotopique intramoléculaire. À l'aide de ces méthodes analytiques avancées, l'étude a permis d'analyser systématiquement la composition isotopique des acides gras de divers produits laitiers particulièrement sur des laits bio/conventionnels grâce à la teneur en  $^{13}\text{C}$  des acides butyrique et caprylique. D'une manière générale, les données isotopiques obtenues ont été soumises à des analyses chimiométriques pour étudier les corrélations isotopiques et décrypter les mécanismes de biosynthèse des acides gras. En développant ces méthodes analytiques avancées, cette thèse vise à fournir des outils novateurs pour la science alimentaire et la santé.

**Title:**  $^{13}\text{C}$  isotopic biomarkers by NMR and GC-IRMS of fatty acids from dairy products: Elucidation of metabolic pathways and food applications.

**Keywords :** de 3 à 6 mots clefs

**Abstract:** Triacylglycerols (TAGs), the main energy storage lipids, exhibit a high structural diversity due to the variety of fatty acids composing them. This diversity extends to the distribution of heavy isotopes within these molecules, influenced by isotopic fractionations during their biosynthesis. Although fatty acid profiles are commonly used as metabolic biomarkers, the compound-specific or positional  $^{13}\text{C}$  isotopic composition of individual fatty acids remains poorly explored. During the thesis, a new GC-IRMS method allowed to accurately measure the  $^{13}\text{C}$  isotopic ratios in separated fatty acids and in particular short-chain fatty acids (C4 to C12), not observed until now. A methodology using quantitative  $^{13}\text{C}$  NMR was implemented to determine the intramolecular composition of fatty acids. This analysis requires significant preparation work concerning the separation and purification of

Fatty acids. A new approach was developed concerning the expression of the results of the isotopic composition on an "absolute" and not relative scale, by setting up the concept of intramolecular isotopic reference. Using these advanced analytical methods, the study allowed to systematically analyze the isotopic composition of fatty acids of various dairy products particularly on organic/conventional milks thanks to the  $^{13}\text{C}$  content of butyric and caprylic acids. In general, the isotopic data obtained were subjected to chemometric analyses to study the isotopic correlations and decipher the mechanisms of fatty acid biosynthesis. By developing these advanced analytical methods, this thesis aims to provide innovative tools for food science and health.