



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>  
Eprints ID : 4476

**To cite this version :**

PUAUT, Stéphanie. *Effets du chauffage des matières grasses sur la biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique : étude in vitro*.  
Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Toulouse 3, 2011, 70 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

---

# EFFETS DU CHAUFFAGE DES MATIERES GRASSES SUR LA BIOHYDROGENATION RUMINALE DE L'ACIDE LINOLEIQUE : ETUDE *IN VITRO*

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2010  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**PUAUT Stéphanie Catherine**  
Née, le 20 Décembre 1984 à BRESSUIRE (79)

---

**Directeur de thèse : Mme le Docteur Annabelle TROEGELER-MEYNADIER**

---

## JURY

PRESIDENT :  
M. Hugues Chap

Professeur à l'université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESEUR :  
M. Francis Enjalbert

Professeur à l'Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse



Ministère de l'Agriculture et de la Pêche  
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

**Directeur** : M. A. MILON

**Directeurs honoraires** : M. G. VAN HAVERBEKE.  
M. P. DESNOYERS

**Professeurs honoraires** :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	M. DORCHIES
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>o</sup> CLASSE**

M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*  
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*  
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*  
M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*  
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*  
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>o</sup> CLASSE**

Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*  
M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*  
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*  
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRE DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*  
M. **MAGNE Laurent**, *Urgences soins-intensifs*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

**MAITRE DE CONFERENCES ET AGENTS CONTRACTUELS**

- M. **IRUBETAGOYENA Iban**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. **SOUBIES Sébastien**, *Microbiologie et infectiologie*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*  
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

**A notre président de thèse,**

**Monsieur le professeur CHAP,**  
Professeur des universités Paul Sabatier de Toulouse,  
Biochimie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

Hommages respectueux.

**A notre jury de thèse,**

**Madame le maître de conférences TROEGELER-MEYNADIER**  
Maître de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
Alimentation

Qui nous a fait l'honneur de diriger cette thèse et nous a témoigné sa confiance. Pour sa disponibilité, sa patience et ses conseils tout au long de l'élaboration de ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre respectueuse considération.

**Monsieur le professeur ENJALBERT**  
Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Alimentation

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de nos sincères remerciements.



**A Yves Farizon et à toute l'équipe du laboratoire du service d'alimentation.**

Pour votre disponibilité, votre aide et votre bonne humeur.

Sincères remerciements.





**A mes parents,**

pour votre amour, votre soutien et vos conseils avisés. Pour m'avoir appris à donner le meilleur et à ne jamais renoncer. Je vous aime.

**A ma sœur,**

pour ton amour et ta présence inconditionnels. Pour toutes les soirées passées et à venir. Pour tous mes coup de blues que tu sais effacer délicatement. Pour ton soutien quels que fut mes actes. Je t'aime.

**A Maxime,**

pour ton amour et ta tendresse . Pour ta confiance et ta patience. Te rencontrer est sans doute la meilleure chose qui me soit arrivée. Je t'aime de tout mon cœur.

**A Laure,** mon amie depuis la seconde. Pour toutes les soirées passées en ta compagnie depuis 10 ans, pour les matchs de basket endiablés, pour les fêtes foraines pendant les cours d'allemand et toutes ces gentilles bêtises que nous avons faites ensemble. pour m'avoir choisi comme marraine de ton fils. Je t'adore.

**A Camille,** ma bdgn, pour cette amitié merveilleuse que tu m'as offerte, pour notre année de T1 et ton tabagisme passif, pour ta diplomatie envers mes essais culinaires, pour ton répondeur que tu pourrais changer de temps en temps. Je te kiffes aussi !

**A Emilie,** ma blondinette, pour ton amitié et ta bonne humeur quasi indestructible, pour toutes les folles soirées que nous avons passées, pour les trottoirs, le kébab magique et pour l'immortalité de Boubim.

**A Miloute,** pour avoir partagé les galères et le stress de la prépa, pour toutes les retrouvailles de fin de boom, pour la spi dauphine enchaînée avec les inter écoles, pour les discussions inter balcons, pour m'avoir accueilli chez toi pendant la panne de voiture, pour ta sextitude au réveil, et pour me tenir informée des mouvements de l'école.

A **Cyrielle**, pour ta gentillesse et ta bonne humeur, pour toutes tes péripéties, pour tes colères très rares mais inoubliables, pour le concert de Muse à Nîmes où je t'ai cassé les oreilles.

A **Zorba**, pour ta gentillesse et ta disponibilité, pour les TDLC pendant les inter écoles et les soirées passées en ta compagnie.

Aux potes de Limoges, **Phillipe** d'abord, puis tous les autres (**Pierre, Alex, Cyril, David, Ludo, Nico** ...). pour les nouveaux ans dans des maisons perdues, pour les anniversaires et toutes les soirées au Lady's night ou ailleurs. C'est toujours un plaisir de vous revoir même si je faillis désormais à ma réputation!!  
Adieu Renaud !

Pour **Clem** et **Sophie**, pour votre amitié, pour les pauses clopes, pour les « putain fais chier » et les « pipilipi » !

Pour **Bali**, pour le trio de limougeauds formé en prépa, pour tes blagues et évidemment pour ton flex !!

Pour **Marcho, Bubble** et **Shyk**, pour nos exposés d'anglais qui captivaient tant le prof et les nombreux rires qui en suivaient !

Pour **Rhymbow, Rominou, Aillain, Claire, Chloé, Jean Seb, Etienne** et tous les autres, pour les 5 années passées ensemble, toutes les soirées d'anthologie et tous ces souvenirs inoubliables !

A mes docteurs, **Le chef, KO, Base, Petruce, Amandine** et les autres, pour les brimades et toute l'année passée avec vous.

A **Mr Bourdenx, Pierre** et **Cédric**, pour m'avoir donné ma chance, pour votre patience et vos conseils.

A **Dominique, Stéphanie** et **Sylvie**, les trois meilleures secrétaires, pour votre bonne humeur et votre travail, pour les bons moments partagés entre les consultations.

---

## Table des matières

---

<b>Table des matières</b> .....	- 3 -
<b>Liste des figures</b> .....	- 5 -
<b>Liste des tableaux</b> .....	- 6 -
<b>Liste des abréviations</b> .....	- 7 -
<b>Introduction</b> .....	- 8 -
<b>1. Etude bibliographique</b> .....	- 9 -
<b>1. Intérêt des matières grasses du lait en alimentation humaine</b> .....	- 9 -
1-1. Les matières grasses du lait .....	- 9 -
1-2. Les Acides Linoléiques Conjugués .....	- 12 -
1-2-1. Généralités sur les Acides Linoléiques Conjugués.....	- 12 -
1-2-2. Techniques utilisées pour l'analyse des Acides Linoléiques Conjugués.....	- 13 -
1-2-3. Sources alimentaires des Acides Linoléiques Conjugués.....	- 13 -
1-3. Les effets biologiques des Acides Linoléiques Conjugués. ....	- 15 -
<b>2. Synthèse et effets des Acides Linoléiques Conjugués chez la vache laitière</b> ....	- 16 -
2-1. La biohydrogénation ruminale .....	- 16 -
2-1-1. Etape préliminaire : hydrolyse des lipides dans le rumen .....	- 16 -
2.1.1.1. Les sources de matières grasses dans l'alimentation des ruminants (tab 4)....	- 16 -
2.1.1.2. La lipolyse ruminale .....	- 17 -
2-1-2. Biohydrogénation des acides gras polyinsaturés .....	- 18 -
2-1-2-1. Première étape : l'isomérisation .....	- 18 -
2-1-2-2. Deuxième étape : première réduction.....	- 22 -
2-1-2-3. Troisième étape : deuxième réduction.....	- 22 -
2-2. Synthèse tissulaire : désaturation de l'acide vaccénique. ....	- 23 -
2-3. Conséquences sur la production laitière .....	- 24 -
<b>3. Facteurs de variation de la concentration en Acides Linoléiques Conjugués dans le lait</b> .....	- 25 -
3-1. Nature, forme de présentation et quantité des matières grasses de la ration.....	- 25 -
3-1-1. Nature des acides gras .....	- 25 -
3-1-2. Formes de présentation des matières grasses .....	- 25 -
3-1-3. Quantité de matières grasses.....	- 26 -
3-2. Traitement des matières grasses alimentaires .....	- 28 -
3-2-1. Le processus d'extrusion .....	- 28 -
3-2-2. Effet du traitement thermique des matières grasses sur la biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique. ....	- 29 -
3-3. Autres facteurs de variation .....	- 30 -
3-3-1. Le ratio fourrages-concentrés .....	- 30 -
3-3-2. Autres facteurs. ....	- 31 -
<b>2. Etude expérimentale</b> .....	- 33 -
<b>1. Matériels et méthodes</b> .....	- 33 -
1-1. Contexte et objectifs.....	- 33 -
1-2. Incubations <i>in vitro</i> .....	- 34 -
1-2-1. Préparation des huiles et des graines de soja. ....	- 34 -
1-2-2. Les substrats fermentaires .....	- 34 -
1-2-3. Le tampon .....	- 35 -
1-2-4. Le contenu ruminal. ....	- 35 -
1-2-4-1. L'animal donneur et son alimentation.....	- 35 -
1-2-4-2. Le prélèvement de contenu ruminal. ....	- 35 -

1-2-5. Mise en route des incubations .....	- 36 -
1-2-6 Les expérimentations annexes .....	- 37 -
1-3. Analyses chimiques.....	- 38 -
1-3-1. Composition chimique des matières premières de la ration et du substrat fermentaire. ....	- 38 -
1-3-2. Dosage des produits d'oxydation générés par le chauffage des matières grasses.- 38 -	
1-3-3. Dosage des acides gras. ....	- 38 -
1-4. Calculs réalisés.....	- 40 -
1-4-1. Production / disparition des acides gras.....	- 40 -
1-4-2. Calculs des efficacités et des vitesses des réactions de la biohydrogénation de l'acide linoléique. ....	- 41 -
1-5. Analyses statistiques .....	- 42 -
<b>2. Résultats</b> .....	- 43 -
2-1. Composition initiale en acides gras des milieux.....	- 43 -
2-2. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve, interaction.- 46 -	
2-2-1. Effets de la forme de présentation : huile vs. graines broyées.....	- 46 -
2-2-2. Effets de la durée de chauffage de la matière grasse : 0 vs. 0,5h vs. 6h.....	- 51 -
2-2-3. Interaction .....	- 51 -
2-3. Comparaison aux graines de soja extrudées. ....	- 51 -
2-4. Effets du chauffage du tourteau de soja. ....	- 53 -
2-5. Effets d'une conservation 3 mois à la ferme.....	- 53 -
<b>3. Discussion</b> .....	- 55 -
3-1. Effets de la forme de présentation des matières grasses .....	- 55 -
3-2. Effet de la durée de chauffage des matières grasses, interactions avec la forme de présentation. ....	- 56 -
3-3. Effet du type de chauffage appliqué aux matières grasses : extrusion vs. chauffage à sec.....	- 59 -
3-4- Effet du chauffage de la source de protéines (= tourteau de soja) .....	- 60 -
3-5- Effet d'une conservation de 3 mois à l'étable.....	- 60 -
<b>Conclusion</b> .....	- 62 -
<b>Bibliographie</b> .....	- 64 -

---

## Liste des figures

---

Figure 1. Configuration <i>cis</i> et <i>trans</i> des doubles liaisons des acides gras. ....	- 10 -
Figure 2. Doubles liaisons conjuguées et non conjuguées. ....	- 11 -
Figure 3. Structures de l'acide linoléique (C), et des isomères <i>c9t11</i> -CLA (B) et <i>t10c12</i> -CLA (A). ....	- 12 -
Figure 4. Profil chromatographique (CPG) des Acides Linoléiques Conjugués contenus dans le fromage de yak. ....	- 13 -
Figure 5. Hydrolyse ruminale d'un triglycéride. ....	- 17 -
Figure 6. Voie <i>t11</i> de la biohydrogénation de l'acide linoléique. ....	- 20 -
Figure 7. Voie <i>t10</i> de la biohydrogénation de l'acide linoléique. ....	- 21 -
Figure 8. Voie supposée principale de la biohydrogénation de l'acide alpha-linolénique..	- 23 -
Figure 9. Effets d'inhibition ( ) et de saturation ( ) des pH bas, de teneurs élevées en acide linoléique et en acide alpha-linolénique et de leurs intermédiaires de biohydrogénation sur la biohydrogénation de l'acide linoléique. ....	- 28 -
Figure 10. Extraction-méthylation des acides gras. ....	- 39 -

---

## Liste des tableaux

---

Tableau 1. Composition moyenne du lait de vache. ....	- 9 -
Tableau 2. Les principaux acides gras du lait de vache. ....	- 11 -
Tableau 3. Concentration en Acides Linoléiques Conjugués et proportion d'isomères <i>c9t11</i> -CLA dans la matière grasse de divers aliments.....	- 14 -
Tableau 4. Teneur en matière grasse des principaux aliments utilisés chez les ruminants. ....	- 17 -
Tableau 5. Bactéries impliquées dans la biohydrogénation de l'acide linoléique. ....	- 19 -
Tableau 6. Effet d'une supplémentation en matière grasse dans la ration des vaches laitières sur la teneur en Acides Linoléiques Conjugués de leur lait. ....	- 26 -
Tableau 7. Effets du pH et de la quantité initiale de l'acide linoléique sur la lipolyse ruminale des triglycérides de soja <i>in vitro</i> . ....	- 27 -
Tableau 8. Milieux d'incubation. ....	- 35 -
Tableau 9. Ration distribuée à la vache donneuse.....	- 36 -
Tableau 10. Composition initiale en acides gras des milieux d'incubation. ....	- 44 -
Tableau 11. Indice peroxydes (mEq/kg de MG) et quantités d'acides gras apportées par 100g de tourteau, d'huile ou de graines de soja. ....	- 45 -
Tableau 12. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras possédant 6 à 17 carbones (mg) après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées. ....	- 47 -
Tableau 13. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique, après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées. ....	- 48 -
Tableau 14. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur la production des isomères <i>t</i> -C18:1 et des Acides Linoléiques Conjugués (mg) après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées.....	- 49 -
Tableau 15. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur les vitesses (mg/l/h) et les efficacités des réactions composant la BH ruminale du <i>c9c12</i> -C18 :2 durant 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées.....	- 50 -
Tableau 16. Effets du chauffage du tourteau de soja sur la sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide et de l'huile de soja. ....	- 53 -
Tableau 17. Effets d'une conservation de 3 mois à la ferme des graines de soja extrudées sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide et de l'huile de.....	- 54 -

---

## Liste des abréviations

---

**AG** : Acide Gras  
**AGI** : Acide Gras Insaturé  
**AGMI** : Acide Gras Mono-Insaturé  
**AGPI** : Acide Gras Poly-Insaturé  
**BH** : Biohydrogénation  
**c** : configuration *cis* d'une double liaison carbone-carbone  
**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse  
**Ei** : Efficacité de la réaction d'isomérisation du *c9c12*-C18:2  
**Er1** : Efficacité de la réaction de réduction des CLA  
**Er2** : Efficacité de la réaction de réduction des *t*-C18:1  
**GL** : Glycolipides  
**IP** : Indice Peroxyde  
**MFD** : « Milk Fat Depression » : syndrome de la chute du taux butyreux du lait  
**MG** : Matière Grasse  
**PL** : Phospholipides  
**t** : configuration *trans* d'une double liaison carbone-carbone  
**TG** : Triglycérides  
**Vi** : Vitesse de la réaction d'isomérisation du *c9c12*-C18:2  
**Vr1** : Vitesse de la réaction de réduction des CLA  
**Vr2** : Vitesse de la réaction de réduction des *t*-C18:1

### **Abréviations utilisées pour la nomenclature des acides gras :**

**C18:0** : acide stéarique  
**c9-C18:1** : acide oléique  
**c9c12-C18:2** : acide linoléique  
**c9c12c15-C18:3** : acide alpha-linolénique  
**t-C18:1** : isomères *trans*-monoénoïques  
**t11-C18:1** : acide vaccénique  
**CLA** : acides linoléiques conjugués  
**c9t11-CLA** : acide ruménique  
**t10** : *t10c12*-CLA + *t10*-C18:1  
**t11** : *c9t11*-CLA + *t9t11*-CLA + *t11*-C18:1



---

## Introduction

---

Le lait et les produits laitiers sont des aliments importants en alimentation humaine. Ils participent notamment à la couverture des besoins en minéraux et vitamines du consommateur. Par ailleurs, d'autres composants, notamment de nature lipidique, possèderaient des propriétés intéressantes pour la santé humaine. C'est notamment le cas des acides linoléiques conjugués (CLA), isomères géométriques et positionnels de l'acide linoléique. Les aliments les plus riches en CLA sont les produits de ruminants.

Chez les ruminants, la synthèse de ces acides gras (AG) particuliers se fait au cours de la biohydrogénation (BH) ruminale des lipides alimentaires, et notamment de l'acide linoléique. Les intermédiaires de cette BH, dont font partie les acides linoléiques conjugués, peuvent être absorbés et se retrouver naturellement dans la viande et dans le lait. La glande mammaire est également capable de produire des CLA, et participe à augmenter leur concentration dans le lait.

De nombreuses études se sont penchées sur les effets des différents isomères produits au cours de celle-ci sur la santé humaine. Les isomères *trans* 11 (*t11*) seraient à privilégier pour leurs propriétés bénéfiques, et les isomères *trans* 10 (*t10*) à minimiser, à cause de leur effet délétère sur la teneur en matière grasse (MG) du lait et de leurs possibles effets néfastes sur la santé humaine. La maîtrise de la BH ruminale est donc un point essentiel pour maîtriser la qualité du lait. Plusieurs facteurs de variation existent, mais le plus efficace et le plus facile à mettre en œuvre est l'alimentation, notamment l'addition de MG insaturées dans la ration des vaches. Le soja est une matière première commune dans l'alimentation des ruminants, et présente l'avantage d'être riche en acide linoléique (*c9c12*-C18:2). Avant d'être distribuées aux animaux, les graines subissent en général un traitement thermique, notamment pour diminuer la dégradabilité ruminale des protéines et en améliorer la digestibilité (diminution des teneurs en substances antinutritionnelles). Mais le chauffage des graines de soja a un impact très variable sur la BH.

Ainsi cette thèse présente dans une première partie bibliographique les propriétés diététiques des CLA, la BH ruminale et les différents facteurs de variation de cette voie métabolique. Une seconde partie expérimentale exposera une étude *in vitro* des effets du chauffage du soja sous forme d'huile ou de graines sur la BH du *c9c12*-C18:2 par les bactéries ruminales. Trois paramètres seront principalement étudiés : l'effet forme de présentation de la MG, l'effet de la durée de chauffage et l'effet du type de chauffage (extrusion ou chauffage à l'étuve).

# 1. Etude bibliographique

## 1. Intérêt des matières grasses du lait en alimentation humaine

### 1-1. Les matières grasses du lait

Le lait et les produits laitiers sont quantitativement et qualitativement des aliments importants pour la santé humaine, en participant à la couverture des besoins alimentaires (tab 1). Les produits laitiers apportent en particulier 15 à 25% des MG consommées par l'homme (Chiliard *et al.*, 2004).

Le lait de vache contient en moyenne 40 g/l de lipides totaux (tab 1).

**Tableau 1. Composition moyenne du lait de vache.**

(Source : Haug *et al.*, 2007)

Composant	Concentration dans 1l de lait entier	% des AJR dans 0,5l de lait entier
<b>Matière grasse</b>	<b>40 g/l</b>	
acides gras saturés	19 g/l	
acide oléique	8 g/l	
acide laurique	0,8 g/l	
acide myristique	3,0 g/l	
acide palmitique	8 g/l	
acide linoléique	1,2 g/l	30 à 50
acide alpha-linolénique	0,75 g/l	20 à 30
<b>Protéines</b>	<b>32 g/l</b>	30 à 40
<b>Lactose</b>	<b>53 g/l</b>	
Calcium	1,1 g/l	40 à 50
Magnésium	100 mg/l	12 à 16
Zinc	4 mg/l	18 à 25
Sélénium	37 µg/l	30
Vitamine E	0,6 mg/l	2
Vitamine A	280 µg/l	15 à 20
Folates	50 µg/l	6
Riboflavine	1,83 mg/l	60 à 80
Vitamine B12	4,4 µg/l	90

AJR : apports journaliers recommandés

Cette fraction lipidique est composée à 95% de triglycérides (TG) (ou triacylglycérols) contenus dans des gouttelettes lipidiques émulsionnées dans la phase aqueuse du lait et constituées d'une membrane dérivant de la membrane plasmique de la cellule épithéliale mammaire, une partie du contenu cellulaire passe également dans les gouttelettes (Couvreur *et al.*, 2007).

Un TG est un triple ester d' AG et de glycérol. Les AG sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée, selon la présence ou non de doubles liaisons. Ils sont abrégés n:m, avec n le nombre d'atomes de carbone et m le nombre de double liaison. Si m vaut 1, alors il s'agit d'un acide gras monoinsaturé (AGMI), et si m est supérieur à 1, il s'agit d'un acide gras polyinsaturé (AGPI). La longueur de la chaîne carbonée permet une classification des AG en 4 catégories : les AG volatils (n = 2 à 5), les AG à courte chaîne (n = 6 à 12), les AG à moyenne chaîne (n = 13 à 17), et les AG à longue chaîne (n supérieur ou égal à 18).

Ensuite, il faut préciser la position du carbone portant la double liaison carbonée. Il existe deux nomenclatures :

- en comptant à partir du C de l'extrémité méthyle qui est numéroté 1, le numéro du carbone portant la double liaison est précédé de la lettre n ou oméga ( $\omega$ ).

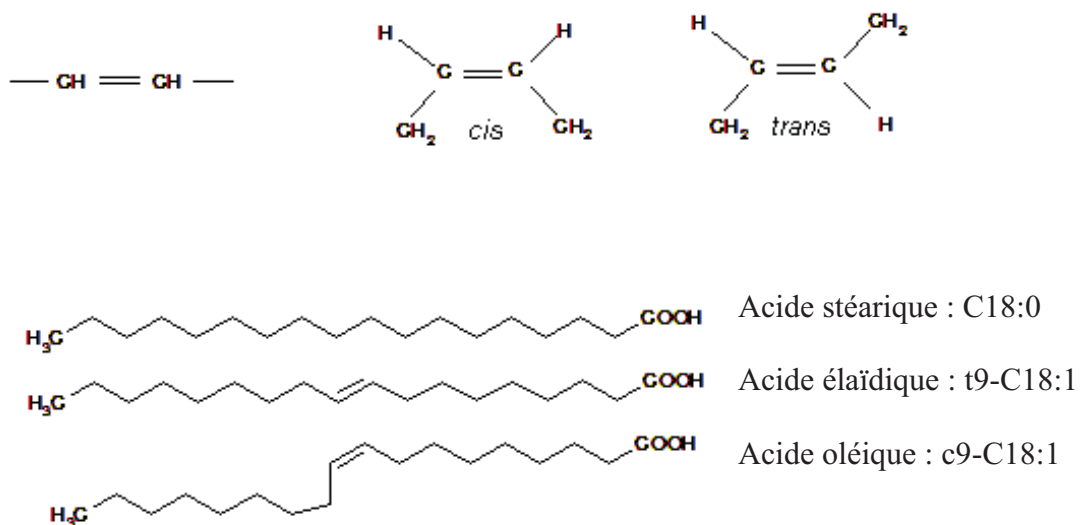
- en comptant à partir du C de l'extrémité carboxyle qui est numéroté 1, le numéro du carbone portant la double liaison est précédé de la lettre delta ( $\Delta$ ).

Ainsi, l'acide linoléique est abrégé C18:2  $\omega$ 6,9 ou C18:2  $\Delta$ 9,12.

Enfin, pour compléter cette nomenclature, la configuration des doubles liaisons doit être indiquée : elles peuvent être *cis* ou Z (avec angulation de la molécule au niveau de la double liaison), ou *trans* ou E (sans angulation de la molécule) (fig 1) (Cuvelier *et al.*, 2004). Dans cette étude, la nomenclature delta sera utilisée, la configuration *cis* sera abrégée « c » et la *trans* « t ».

**Figure 1. Configuration *cis* et *trans* des doubles liaisons des acides gras.**

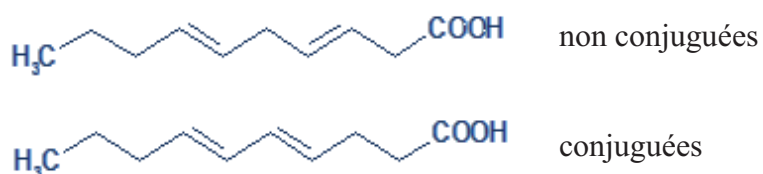
(Source : Université des Sciences et Technologies de Lille)



S'il existe au moins 2 doubles liaisons, elles peuvent être conjuguées (séparées par une seule simple liaison C-C) ou non conjuguées (séparées par plus d'une simple liaison C-C) (fig 2).

**Figure 2. Doubles liaisons conjuguées et non conjuguées.**

(Source : Université des Sciences et Technologies de Lille)



Par ailleurs, les AG font l'objet d'une nomenclature usuelle. Le nom ne s'applique qu'à un composé bien défini et majoritairement présent à l'état naturel (et non à ses éventuels isomères). Les principaux AG du lait de vache, avec leur nomenclature officielle et leur nom sont présentés dans le tableau 2.

**Tableau 2. Les principaux acides gras du lait de vache.**

Abréviation	Nom	% moyen dans les MG du lait
<b>C4:0</b>	Acide butyrique	4
<b>C10:0</b>	Acide caprique	3
<b>C12:0</b>	Acide laurique	3
<b>C14:0</b>	Acide myristique	10
<b>C16:0</b>	Acide palmitique	30
<b>C18:0</b>	Acide stéarique	12
<b>c9-C18:1</b>	Acide oléique	27
<b>t11-C18:1</b>	Acide vaccénique	3
<b>c9c12-C18:2</b>	Acide linoléique	2
<b>c9t11-CLA</b>	Acide ruménique	0,5
<b>c9c12c15-C18:3</b>	Acide $\alpha$ -linoléique	0,5

Cette nomenclature est extrêmement importante à considérer, car c'est la position et la configuration même des doubles liaisons qui donnent aux AG, en particulier aux CLA, leurs propriétés biologiques (Cuvelier *et al.*, 2004). Par exemple le *c9c12*-C18:2 favorise à fortes concentrations alimentaires la carcinogénèse sur les animaux de laboratoire, alors que les CLA sont plutôt connus pour leur capacité à l'inhiber, même à des concentrations alimentaires extrêmement basses. Or ces AG ne diffèrent que par la configuration et la position de leurs doubles liaisons (fig 3).

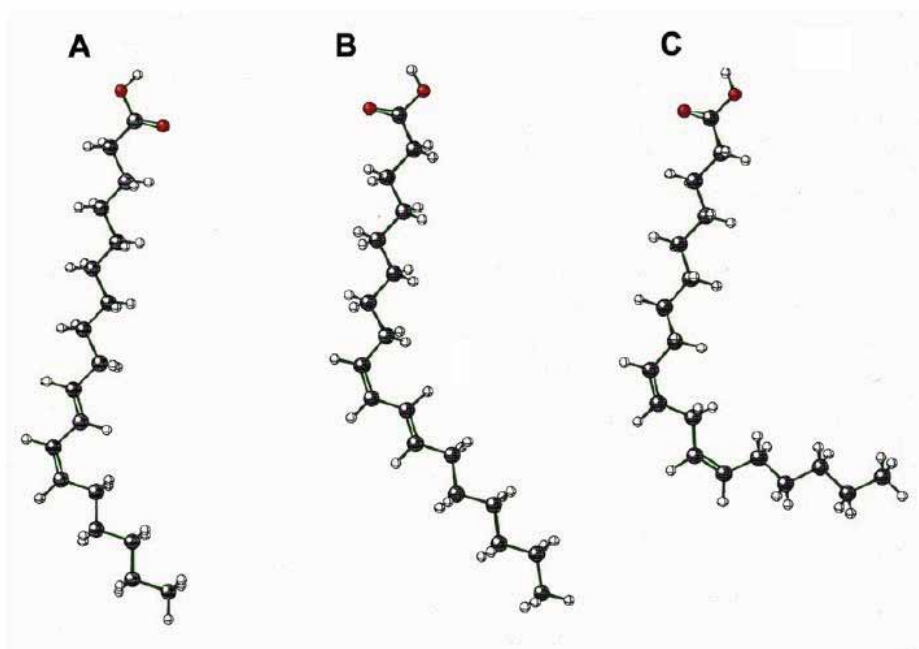
## 1-2. Les Acides Linoléiques Conjugués

### 1-2-1. Généralités sur les Acides Linoléiques Conjugués

Les CLA sont des isomères géométriques et positionnels du *c9c12*-C18:2. Leurs deux doubles liaisons conjuguées sont alors en position 9-11, 10-12 ou 11-13, et en configuration *c* ou *t* (Bauman *et al.*, 1999). Parmi ces isomères, l'acide ruménique ( *c9t11*-CLA ) et le *t10c12*-CLA sont majoritaires dans l'alimentation humaine, et seraient les isomères biologiquement actifs. La configuration et/ou la position des doubles liaisons joueraient un rôle important dans leurs effets biologiques (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005a).

**Figure 3. Structures de l'acide linoléique (C), et des isomères *c9t11*-CLA (B) et *t10c12*-CLA (A).**

(Source : Bauman *et al.*, 1999)



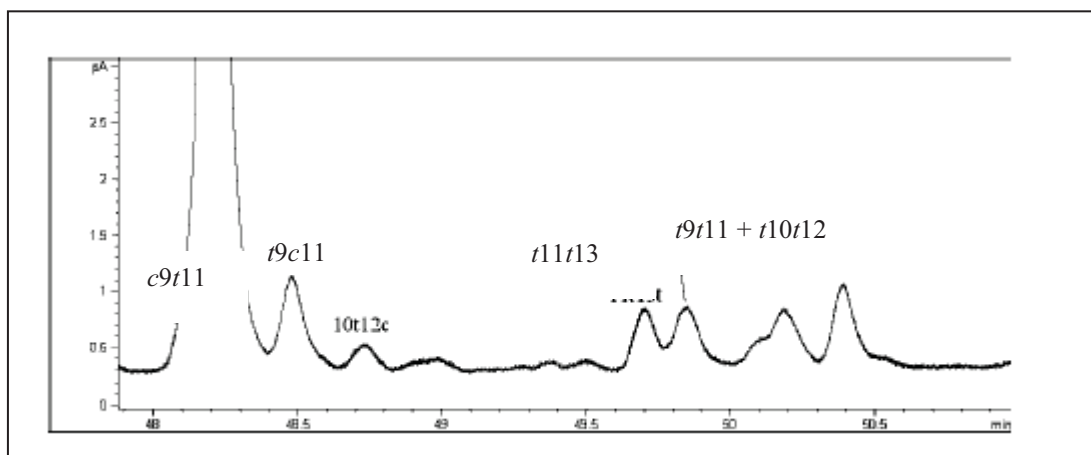
### 1-2-2. Techniques utilisées pour l'analyse des Acides Linoléiques Conjugués

L'analyse de la composition en AG d'une MG est une tâche peu facile, à cause du nombre d'isomères théoriquement possible pour une seule chaîne carbonée. Il existe de nombreuses techniques pour l'analyse des CLA. La chromatographie est la plus couramment utilisée (Sehat *et al.*, 1998).

Deux techniques sont associées afin d'obtenir les meilleurs résultats : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide. La CPG requiert une colonne capillaire de 100m pour obtenir une bonne séparation des isomères. Elle permet de mettre en évidence 10 pics. La chromatographie liquide est basée sur l'interaction sélective de solutés entre une phase solide stationnaire et une phase liquide mobile et met en évidence 16 pics (Buchgraber, 2004).

**Figure 4. Profil chromatographique (CPG) des Acides Linoléiques Conjugués contenus dans le fromage de yak.**

(Source : Or-Rashid *et al.*, 2008)



### 1-2-3. Sources alimentaires des Acides Linoléiques Conjugués

Le tableau 3 présente les teneurs en CLA dans les MG des aliments de consommation courante pour l'homme. La MG du lait de vache est la denrée la plus riche en CLA. Elle est suivie par les produits laitiers : fromage, crème, beurre, ghee (beurre de beurre utilisé en Inde) et yaourt. Les viandes contiennent également des CLA, avec une concentration trois fois plus importante pour la viande de ruminants (entre 0,29% et 0,43% de CLA dans la MG totale), que pour la viande de non ruminants, à l'exception du dindon (0,25% CLA dans la MG

totale). Chez ce dernier, des fermentations dans l'intestin postérieur permettent la formation relativement importante de CLA.

**Tableau 3. Concentration en Acides Linoléiques Conjugués et proportion d'isomères *c9t11*-CLA dans la matière grasse de divers aliments.**

(Source : Chin *et al.*, 1992)

Aliment	% de CLA/MG	% de <i>c9t11</i> -CLA /CLA
<b>Produits laitiers</b>		
Lait de vache	0,55	82
Lait concentré	0,7	82
Yaourts	0,17 – 0,48	82
Fromages	0,29 – 0,71	80 - 95
Crème	0,38	88
Beurre	0,47	88
Glace	0,36	86
Ghee	2,5 – 2,8	nd
<b>Viandes</b>		
Bœuf	0,29 – 0,43	85
Agneau	0,56	92
Veau	0,27	84
Porc	0,06	82
Poulet	0,09	84
Dindon	0,25	76
Œuf	0,06	82
Fruits de mer	0,05	nd
Poisson	0,01 – 0,07	nd
Huile végétale	0,26	43 (40% <i>c10t12</i> )
Suif de bœuf		84

Dans les denrées présentées dans le tableau 3, l'isomère le plus représenté est le *c9t11*-CLA (entre 76 et 95% des isomères). Notons que les huiles végétales, sources non négligeables de CLA (0,26% CLA / MG) contiennent 43% de *c9t11*-CLA et 40% de *c10t12*-CLA (Chin *et al.*, 1992).

### 1-3. Les effets biologiques des Acides Linoléiques Conjugués.

Les CLA possèdent de nombreuses propriétés intéressantes pour la santé humaine. L'isomère *c9t11*-CLA est le plus étudié, notamment pour sa faculté à intervenir dans les phénomènes de carcinogénèse. Sa capacité à prévenir la formation de cancers sur des modèles animaux de tumeurs chimio-induites a été démontrée par de nombreux chercheurs : tumeurs épidermiques par application locale de *c9t11*-CLA (Ha *et al.*, 1987), tumeurs gastriques lors d'administration par voie orale de CLA (Ha *et al.*, 1990), prévention du cancer du colon et de la tumorigénèse mammaire (Parodi, 1997 et 1999) chez la souris. De plus, le *c9t11*-CLA posséderait également des propriétés anti-métastatiques (Visonneau *et al.*, 1997), avec une efficacité atteignant presque celle d'un agent chimiothérapeutique puissant (Hubbard, 2000).

Son action sur les cancers de l'homme n'a pu être étudiée que par des expériences réalisées *in vitro* sur des cultures cellulaires. Le *c9t11*-CLA s'est montré efficace, en limitant la croissance de cellules cancéreuses humaines : cancer du sein, du colon, mélanome malin, adénocarcinome pulmonaire, leucémie... (Parodi *et al.*, 1997 ; Oshea *et al.*, 1998 ; Parodi *et al.*, 1999 ; Williams, 2000 ; Bauman *et al.*, 2006). D'autre part, plusieurs études épidémiologiques ont montré une diminution de la fréquence du cancer du sein chez les femmes consommant davantage de produits laitiers, notamment chez les indiennes utilisant beaucoup le ghee en cuisine (Parodi *et al.*, 1997).

Toutefois, bien que tous les isomères CLA soient potentiellement biologiquement actifs, ils n'ont pas tous les mêmes effets, par exemple le *t10c12*-CLA agit différemment du *c9t11*-CLA, et de récentes études ont même démontré un possible effet pro-carcinogène du *t10c12*-CLA chez la souris (Ip *et al.*, 2007 ; Meng *et al.*, 2008).

D'autres effets potentiels des CLA ont été reportés mais sont encore sujets à controverse. Les CLA seraient capables de modifier la composition corporelle des individus en augmentant le rapport masse maigre sur masse grasse (Williams, 2000 ; Troegeler et Enjalbert, 2005a ; Bauman *et al.*, 2006). Cet effet serait dû à l'isomère *t10c12*, par son action spécifique sur le métabolisme lipidique. Cependant, la dose de CLA efficace sur la masse grasseuse des animaux semble être très élevée et correspondrait pour l'homme à une consommation journalière d'une quantité très importante de MG, incompatible avec une ration alimentaire correcte.

Des effets antiathérosclérotiques et hypocholestérolémiants des CLA ont été montrés chez le lapin et le hamster (Kritchevsky, 2000) et seraient également dus à l'action de l'isomère



*t10c12*-CLA. Mais là encore des études plus récentes remettent en cause cet effet de l'isomère *t10c12*-CLA (Wilson *et al.*, 2006.)

De plus, les CLA pourraient stimuler le système immunitaire (Troegeler et Enjalbert, 2005a), le *t10c12*-CLA favorisant les lymphocytes B et le *c9t11*-CLA les lymphocytes T (Yamasaki *et al.*, 2003).

Enfin, des propriétés antidiabétogènes ont été avancées, mais sont encore très controversées, notamment en raison d'un risque de diabète lipoatrophique lors d'administration de *t10c12*-CLA (Clément *et al.*, 2002 ; Riserus *et al.*, 2002 ; Tsuboyama-Kasaoka *et al.*, 2003).

## **2. Synthèse et effets des Acides Linoléiques Conjugués chez la vache laitière**

Les CLA contenus dans le lait de vache ont deux origines : la première est la formation des CLA durant la BH ruminale du *c9c12*-C18:2 et la seconde est une synthèse de *c9t11*-CLA par le tissu mammaire à partir de l'acide vaccénique (*t11*-C18 :1), un autre intermédiaire de la BH ruminale des AGPI.

### **2-1. La biohydrogénation ruminale**

#### **2-1-1. Etape préliminaire : hydrolyse des lipides dans le rumen**

##### **2.1.1.1. Les sources de matières grasses dans l'alimentation des ruminants (tab 4)**

L'herbe et ses formes conservées sont essentiellement composées de glycolipides (GL) et de phospholipides (PL) et la majorité de leurs AG sont des AGPI, surtout l'acide alpha-linolénique (*c9c12c15*-C18:3) et du *c9c12*-C18:2. L'ensilage de maïs plante entière, tout comme les céréales, apporte du *c9c12*-C18:2. Bien que pauvres en MG, les fourrages peuvent apporter une quantité d'AGPI non négligeable car ils représentent une part importante des rations pour ruminants. Les graines oléagineuses sont les principales sources de MG dans l'alimentation des ruminants, et apportent surtout des TG dont les AG majoritaires sont le *c9c12*-C18:2 pour le soja, le *c9*-C18:1 pour le colza et le *c9c12c15*-C18:3 pour les graines de lin (tab 4). Des formes spécifiques de lipides comme les savons d'AG ou les AG libres sont présents dans certains produits commerciaux (Bauman *et al.*, 1999).

**Tableau 4. Teneur en matière grasse des principaux aliments utilisés chez les ruminants.**

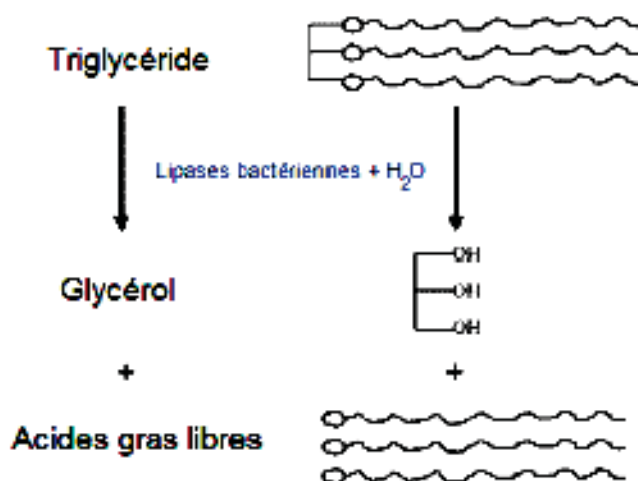
(Sources : INRA, 2002 ; Bauman *et al.*, 2003)

Aliments	%MG/MS	AG principaux (%AG totaux
Céréales	1 à 6%	<i>c9c12</i> -C18:2 (47%) ; <i>c9</i> -C18:1 (30%) ; C16:0 (16%)
Fourrages	3%	<i>c9c12c15</i> -C18:3 (55%) ; <i>c9c12</i> -C18:2 (15%)
Graines protéagineuses	1 à 10%	<i>c9c12c15</i> -C18:3; <i>c9c12</i> -C18:2 <i>c9</i> -C18:1 ; C16:0
Graines oléagineuses	15 à 50%	<i>c9c12c15</i> -C18:3 (lin) <i>c9c12</i> -C18:2 (soja, tournesol, coton) <i>c9</i> -C18:1 (colza, tournesol oléique)
Tourteau	1 à 10%	<i>c9c12c15</i> -C18:3 (lin) ; <i>c9c12</i> -C18:2 C18:1
Suif		<i>c9</i> -C18:1 (39%) ; C16:0 (25%) ; C18:0 (18%)

#### 2.1.1.2. La lipolyse ruminale

Après ingestion par l'animal, la première étape de transformation dans le rumen est l'hydrolyse des liaisons esters des lipides (fig 5).

**Figure 5. Hydrolyse ruminale d'un triglycéride.**



Cette étape est rapide (moins d'une heure), et presque complète pour les GL, PL et TG (Chilliard *et al.*, 2001). Cette hydrolyse est réalisée majoritairement par les lipases bactériennes d'*Anaerovibrio lipolytica* pour les TG et de *Butyrivibrio fibrisolvens* pour les PL

et les GL (Harfoot et Hazlewood, 1997). Les protozoaires et les champignons du rumen participent également à l'hydrolyse des lipides mais dans une moindre mesure que les bactéries (Bauman *et al.*, 2003). Cette étape est indispensable pour libérer les AG et permettre leur BH.

### 2-1-2. Biohydrogénation des acides gras polyinsaturés

La BH est une voie métabolique de défense mise en place par les bactéries contre les acides gras insaturés (AGI) qui « attaquent » leurs parois, du fait de leurs propriétés amphiphiles. La BH nécessite une anaérobiose stricte et concerne tous les AGI. Elle se décompose en trois étapes pour le  $c9c12$ -C18:2 : tout d'abord une isomérisation de  $c9c12$ -C18:2 en différents isomères CLA, qui subissent ensuite une première hydrogénation pour former différents isomères *trans*-monoénoïques ( $t$ -C18:1) et enfin une deuxième hydrogénation conduit à la formation de C18:0.

Les bactéries impliquées dans la BH sont classées en 2 groupes A et B (Kemp et Lander, 1984). Les deux groupes A et B peuvent réaliser les deux premières étapes de la BH, mais seules les bactéries du groupe B effectuent la dernière étape. Le tableau 5 reprend quelques bactéries supposées impliquées dans les différentes étapes de la BH. La plus connue est *Butyrivibrio fibrisolvens*, une bactérie fibrolytique classée dans le groupe A (Polan *et al.*, 1964).

#### 2-1-2-1. Première étape : l'isomérisation

L'isomérisation de la double liaison  $c9$  ou  $c12$  est la première étape de la BH du  $c9c12$ -C18:2. Elle transforme le  $c9c12$ -C18:2 en différents isomères CLA. Cette réaction est principalement réalisée par des bactéries ruminales fibrolytiques, et plusieurs isomères peuvent être produits en fonction des bactéries ruminales impliquées (tab 5). L'existence de différents isomères CLA s'explique donc par la réaction d'isomérisation du  $c9c12$ -C18:2 et/ou de ses isomères géométriques catalysée par de nombreuses isomérases spécifiques, associée à la possibilité de migration des doubles liaisons (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005b). Les deux isomères produits majoritairement sont le  $c9t11$ -CLA par la voie  $t11$  de la BH du  $c9c12$ -C18:2 (fig 6), et le  $t10c12$ -CLA, par la voie  $t10$  de la BH du  $c9c12$ -C18:2 (fig 7).

La  $\Delta 12$  isomérase, enzyme exprimée à la surface de l'enveloppe cellulaire de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler et Tove, 1967), isomérisse préférentiellement le  $c9c12$ -C18:2 en isomère

*c9t11*-CLA. Son pH optimal d'action se situe entre 7,0 et 7,2. Cette réaction est originale car elle ne requiert ni cofacteur ni activation préalable des AG, et n'agit que sur des AG présentant une double liaison *c9* et *c12* et un groupe carboxyle libre. La  $\Delta 12$  isomérisation est une réaction radicalaire, probablement initiée par la soustraction d'un hydrogène sur le carbone 11 (Wallace *et al.*, 2007). Elle est inhibée de manière générale par tous les AGPI, mais surtout par le *c9c12*-C18:2 dès 50  $\mu$ M et par le *c9c12c15*-C18:3 dès 100 $\mu$ M.

**Tableau 5. Bactéries impliquées dans la biohydrogénation de l'acide linoléique.**

Etape	Bactéries impliquées	Type bactérien	Isomères majoritaires	références
Isomérisation du <i>c9c12</i> -C18:2	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	fibrolytique	<i>c9t11</i> -CLA <i>t9t11</i> -CLA	Kepler et Tove, 1967
	<i>Butyrivibrio hungatei</i>	fibrolytique	<i>c9t11</i> -CLA <i>t9t11</i> -CLA	Van de Vossenberg et Joblin, 2003
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	fibrolytique	<i>c9t11</i> -CLA	Maia <i>et al.</i> , 2007
	<i>Selenomonas ruminantium</i>	lactolytique	<i>t9t11</i> -CLA	Loor et Herbein, 2003
	<i>Propionibacterium acnes</i>	lactolytique	<i>t10c12</i> -CLA <i>t10t12</i> -CLA	Wallace <i>et al.</i> , 2007
Hydrogénation des CLA	<i>Megasphera elsdenii</i>	lactolytique	<i>t10c12</i> -CLA	Kim <i>et al.</i> , 2002
	<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	fibrolytique	<i>t11</i> -C18:1	Maia <i>et al.</i> , 2007
	<i>Butyrivibrio hungatei</i>	fibrolytique	<i>t11</i> -C18:1	Maia <i>et al.</i> , 2007
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	fibrolytique	<i>t11</i> -C18:1	Maia <i>et al.</i> , 2007
Hydrogénation des <i>t</i> -C18 :1	<i>Butyrivibrio hungatei</i>	fibrolytique		Van de Vossenberg et Joblin, 2003
	<i>Butyrivibrio proteoclasticus</i>	fibrolytique		Wallace <i>et al.</i> , 2006

La  $\Delta 9$  isomérase a été peu étudiée, et la ou les bactéries exprimant cette enzyme ne sont pas encore connues. Deux souches de bactéries se sont révélées être productrices de *t10c12*-CLA en monoculture : *M. elsdenii* (Kim *et al.*, 2002) et *P. acnes* (Maia *et al.*, 2007), mais cette production n'est pas toujours observée, notamment Maia *et al.* (2007) n'ont pas noté de synthèse de *t10c12*-CLA par *M. elsdenii*. La  $\Delta 9$  isomérisation est peu connue mais les mécanismes réactionnels seraient différents de la  $\Delta 12$  isomérisation et ce ne serait donc pas une réaction radicalaire mais plutôt une réaction ionique ayant pour intermédiaire un carbocation (Wallace *et al.*, 2007).

**Figure 6. Voie  $\tau 11$  de la biohydrogénation de l'acide linoléique.**  
 (Source : Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005b)

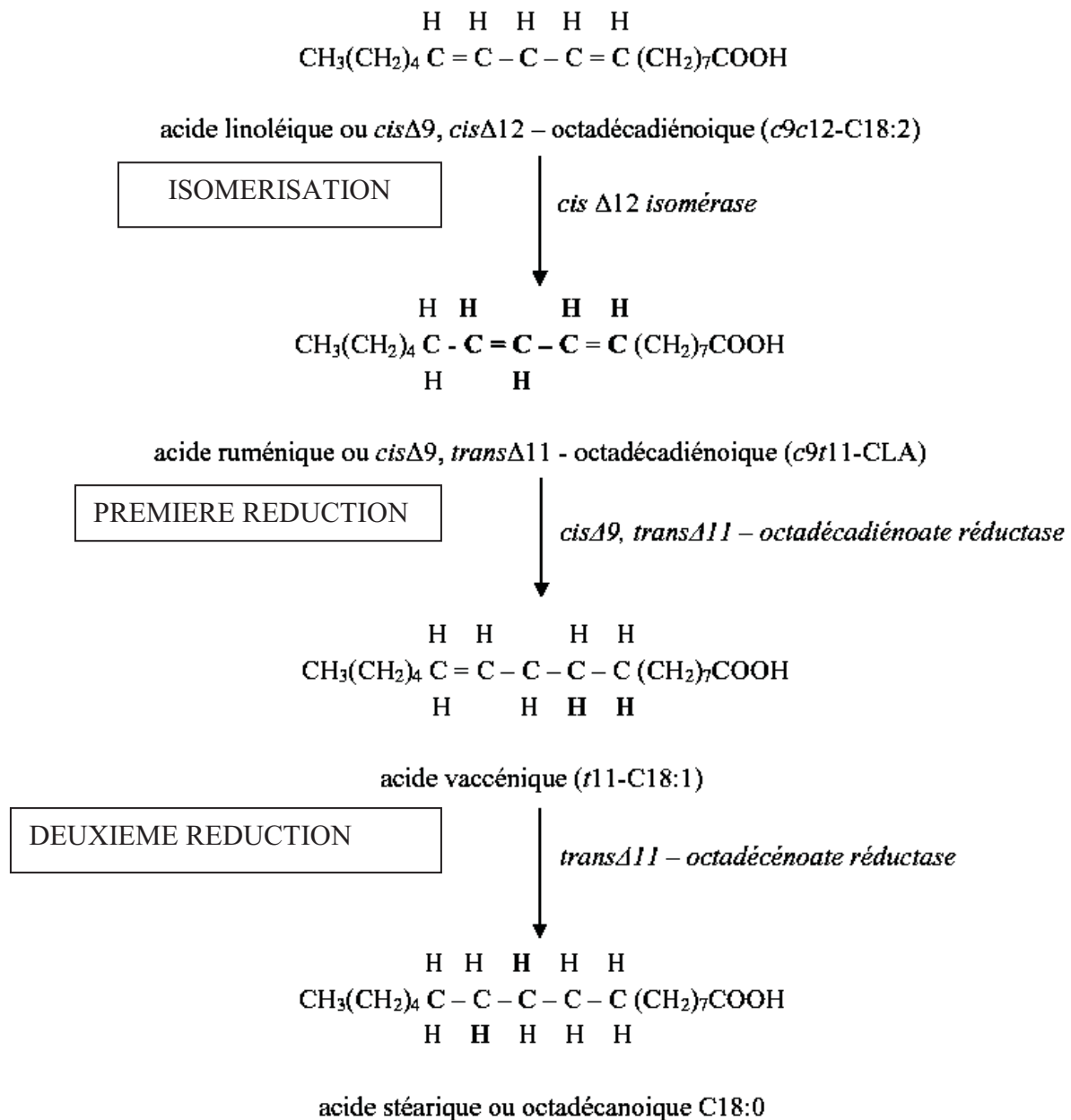
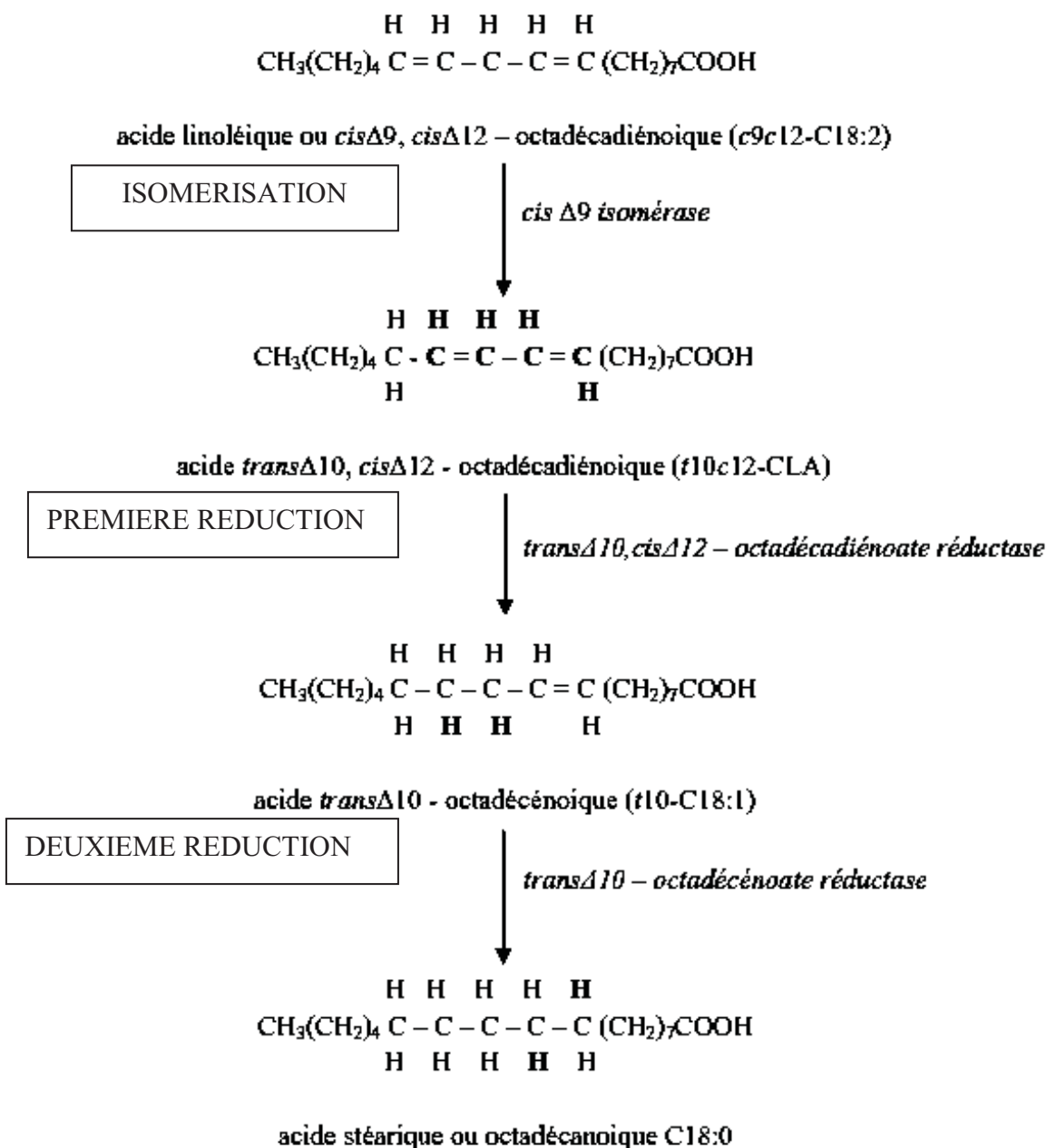


Figure 7. Voie  $\Delta 10$  de la biohydrogénation de l'acide linoléique.

(Source : Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005b).



### 2-1-2-2. Deuxième étape : première réduction

Lors de cette étape, les CLA sont hydrogénés en différents isomères *t*-C18:1 par des réductases microbiennes. Ainsi, le *c9t11*-CLA est principalement réduit en *t11*-C18:1, et le *t10c12*-CLA en *t10*-C18 :1 (fig 6 et 7).

La *cΔ9,tΔ11* réductase est une enzyme membranaire monomérique associée à une phosphatidyléthanolamine, à une flavoprotéine, à une ferrédoxine et admet la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) comme cofacteur. Son pH optimal est compris entre 7,2 et 8,2. La présence d'AG contenant 3 à 6 doubles liaisons, dont les sources principales sont le lin et les huiles de poisson, diminue l'efficacité de cette réductase par inhibition, conduisant à une augmentation de la teneur en CLA, notamment dans le muscle (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005*b*). C'est actuellement la seule réductase étudiée.

### 2-1-2-3. Troisième étape : deuxième réduction

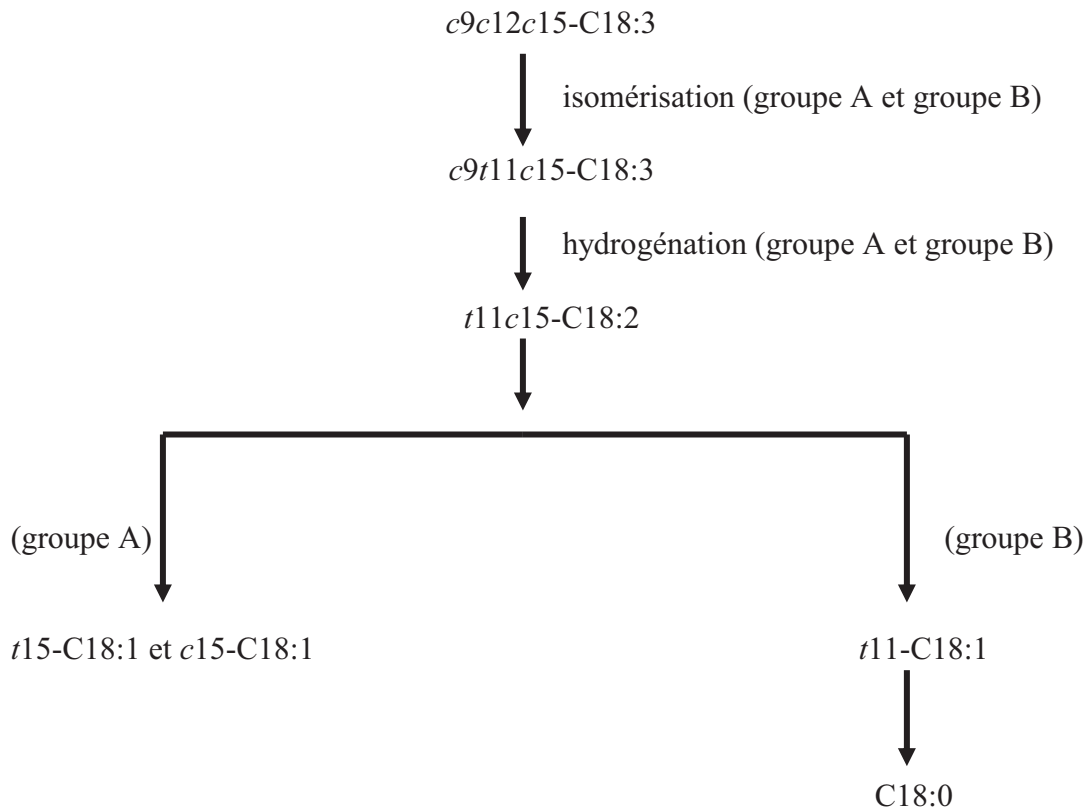
Il n'existe que très peu de données sur cette réaction et l'enzyme qui la réalise. Les *t*-C18 :1 sont hydrogénés en C18:0 (Harfoot *et* Hazlewood, 1997). Cette réaction est plus lente que les deux premières étapes rapidement effectuées, car seules les bactéries du groupe B effectuent cette réaction, expliquant ainsi la disparition rapide du CLA et l'accumulation des intermédiaires *t*-C18 :1. Elle n'est pas réalisée par *B. fibrisolvans*, qui est majoritairement responsable des deux premières réactions de la voie *t11*, ni par les deux bactéries supposées réaliser les deux premières réactions de la voie *t10*. Les deux seules bactéries identifiées à ce jour comme capables de réaliser cette étape sont *B. hungatei* et *B. proteoclasticus* (tab 5). Cette étape est donc l'étape limitante de la BH. Néanmoins il existe des différences entre les isomères *t*-C18:1 : les isomères *t8* à *t10* sont plus vite hydrogénés que les isomères *t5* à *t7* et *t11* à *t13* (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005*b*).

Quant à *c9c12c15*-C18:3, il suit une BH similaire avec une étape supplémentaire d'hydrogénation (fig 8), mais très peu de CLA sont synthétisés au cours de sa BH et ce sont uniquement des isomères dont les doubles liaisons sont en position 11 et 13 (Jouany *et al.*, 2007.) Le *t*-C18:1 majoritairement produit est aussi le *t11*-C18:1. La BH complète de *c9c12c15*-C18:3 en C18:0 implique deux groupes de bactéries : les groupes A et B, composés

de bactéries capables d'hydrogéner les AGPI en différents isomères C18:1 et le groupe B qui hydrogène le *t*11-C18:1 en C18:0 (Harfoot et Hazlewood, 1988).

**Figure 8. Voie supposée principale de la biohydrogénation de l'acide alpha-linolénique.**

(source : Harfoot et Hazlewood, 1988 )



## 2-2. Synthèse tissulaire : désaturation de l'acide vaccénique.

Lorsqu'il est absorbé, le *t*11-C18:1 est un précurseur pour la synthèse du CLA au niveau tissulaire, notamment au niveau de la mamelle. Différents auteurs ont étudiés la part du *c*9*t*11-CLA du lait provenant de la synthèse mammaire, et ont abouti à des valeurs différentes : de 64% pour Grinarii *et al.*, 2000 à 93% pour Kay *et al.*, 2004, mais démontrant toujours que la synthèse mammaire est la source principale de CLA dans le lait.

Cette synthèse est réalisée par la  $\Delta^9$  stéaroyl-CoA désaturase, qui transforme le *t*11-C18:1, formé lors de la BH des AGPI, en *c*9*t*11-CLA. Chez les vaches laitières, l'activité de la  $\Delta^9$  désaturase est décelée principalement dans les cellules épithéliales mammaires, mais il existe une faible activité dans les cellules du tissu adipeux et de l'intestin grêle (Bauman *et al.*, 1999). La réaction de désaturation se déroule dans les microsomes, où le complexe désaturase



inclut la NADH cytochrome b5 réductase, le cytochrome b5, l'acyl-CoA synthase et la  $\Delta^9$  stéaroyl-CoA désaturase (Bauman *et al.*, 1999).

### 2-3. Conséquences sur la production laitière

Une augmentation de la teneur en CLA ou en AGPI dans la ration alimentaire entraîne une augmentation de la concentration en CLA dans le lait, mais également une diminution de la production et de la teneur en MG du lait (Chouinard *et al.*, 1999). De nombreux régimes alimentaires, comme les régimes riches en concentrés et pauvres en fourrages, principalement lorsqu'ils sont associés à une addition de graines oléagineuses, entraînent une diminution de la quantité des MG dans le lait des vaches laitières. Ce phénomène est appelé « milk fat depression » (MFD). Après analyse des AG des laits pauvres en MG, il a été observé un lien entre la MFD et isomères *t10* de la BH (Griinari *et al.*, 1998). Après infusion séparée de *t10c12*-CLA et de *c9t11*-CLA, la MFD n'apparaît qu'en cas d'infusion de *t10c12*-CLA, et est associée à une augmentation de la teneur du lait en *t10*-C18:1, issu de la BH ruminale du *t10c12*-CLA (Bauman *et al.*, 2001, Peterson *et al.*, 2002).

Le *t10c12*-CLA serait ainsi à l'origine (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005b ; Bauman *et al.*, 2003 ; Griinari et Bauman, 2006) :

- d'une diminution de la synthèse *de novo* d'AG à courtes et moyennes chaînes dans la mamelle, par inhibition de l'AG synthétase et de l'acétyl-CoA carboxylase (Perfield *et al.*, 2002),
- d'une diminution de la sécrétion d'AG à longues chaînes dans le lait en freinant leur prélèvement sanguin par la mamelle, par inhibition de la lipoprotéine lipase (Perfield *et al.*, 2002),
- d'une diminution de la synthèse de TG dans les cellules mammaires (forme de sécrétion des AG dans le lait), par inhibition de la glycérol phosphate acyltransférase et de l'acylglycérol phosphate acyltransférase,
- d'une diminution de degré d'insaturation des MG du lait, par inhibition de la désaturation dans la mamelle du C18:0, C14:0, C16:0 et du *t11*-C18:1 (inhibition de la  $\Delta^9$  désaturase).

Les isomères *t10* sont produits *a priori* par des bactéries consommatrices de lactate (tab 5) qui sont favorisées par les pH acides, induits par des régimes alimentaires riches en concentrés acidogènes, et sont donc responsables, au moins en partie, de la MFD constatée avec des régimes riches en concentrés.

### 3. Facteurs de variation de la concentration en Acides Linoléiques Conjugués dans le lait

Il existe de nombreux facteurs capables d'influencer la BH ruminale des AGPI et donc les teneurs en CLA du lait : la saison, la génétique, l'alimentation.... Parmi ceux-ci, l'alimentation est le plus efficace et le plus aisé à maîtriser, c'est pourquoi nous nous limiterons à son étude.

Le principal facteur alimentaire influant sur la BH est la source et la quantité de MG additionnée à la ration. Les AG de la ration peuvent moduler la BH par leur nature, leur quantité, leur forme de présentation et leurs éventuels traitements. Le deuxième facteur alimentaire influant de manière importante sur la BH ruminal est le ratio fourrages / concentrés.

#### 3-1. Nature, forme de présentation et quantité des matières grasses de la ration

##### 3-1-1. Nature des acides gras

Avec la plupart des rations alimentaires non supplémentées en MG, la proportion de CLA dans les MG du lait se situe entre 0,4 et 0,8%. Cette teneur augmente avec l'apport de MG insaturées riches en  $c9c12$ -C18:2, comme celles de soja ou de tournesol. Ainsi, lorsque l'alimentation est enrichie en huiles insaturées, la proportion de CLA dans le lait atteint 2 à 3% de la MG du lait (tab 6). Par exemple, l'apport d'huile de soja, riche en  $c9c12$ -C18:2, est plus efficace pour augmenter la teneur en CLA du lait que l'huile de lin, cette dernière étant surtout riche en  $c9c12c15$ -C18:3 (Dhiman *et al.*, 2000).

##### 3-1-2. Formes de présentation des matières grasses

La concentration finale en CLA dans le lait dépend de la BH ruminale du  $c9c12$ -C18:2 alimentaire. Or, l'accessibilité des AG aux phénomènes de digestion ruminale dépend du type de présentation de la MG dans l'alimentation. La distribution de MG sous forme de graines plutôt que d'huile protégerait les AGPI de la BH ruminale, car les parois des cellules végétales limiteraient l'accessibilité des lipides aux bactéries. Par ailleurs, la digestion préalable des structures végétales par les microorganismes entraîne une libération progressive des AG dans le milieu ruminal. Ils subissent alors une BH complète, sans accumulation

d'intermédiaires CLA et  $t_{11}$ -C18:1. Ainsi l'apport de MG sous forme d'huile permet une augmentation plus importante des teneurs en CLA du lait qu'un apport sous forme de graines (tab 6).

Les formes « protégées », par exemple encapsulation des lipides par une coque de protéines tannées, ou savons calciques d'AG, sont peu efficaces pour augmenter les teneurs en CLA du lait.

**Tableau 6. Effet d'une supplémentation en matière grasse dans la ration des vaches laitières sur la teneur en Acides Linoléiques Conjugués de leur lait.**

Auteur et conditions expérimentales	Apport de lipides (% MS ingérée)	CLA (% MG du lait)
<i>Kelly et al.</i> , 1998		
huile d'arachide	5,3	1,33
huile de tournesol	5,3	2,44
huile de lin	5,3	1,67
<i>Dhiman et al.</i> , 2000		
témoin		0,4
graine de soja broyée	3,6	0,36
graine de soja grillée	3,6	0,77
huile de soja	0,5	0,71
huile de soja	1	0,85
huile de soja	2	1,75
huile de soja	2,2	2,04
huile de soja	4	2,13
huile de lin	1	0,71
huile de lin	2,2	1,59
huile de lin	4	1,69

### 3-1-3. Quantité de matières grasses

La production ruminale de CLA est conditionnée par la libération dans le milieu ruminal de  $c_{9c12}$ -C18:2 libre par hydrolyse des lipides alimentaires. L'augmentation de la quantité de MG dans le rumen provoque une légère diminution de l'efficacité (pourcentage libéré) de la

lipolyse (tab 7), mais celle-ci reste bien moins sensible aux fortes concentrations en *c9c12-C18:2* que la BH ruminale.

La concentration ruminale en *c9c12-C18:2* peut donc modifier directement la vitesse de sa propre BH ruminale, en modulant les activités enzymatiques (Polan *et al.*, 1964). *In vitro*, un excès de *c9c12-C18:2* provoque une diminution de l'efficacité des trois étapes de sa BH, entraînant alors l'accumulation des intermédiaires CLA et *t-C18:1* (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b). Ainsi, le *c9c12-C18:2*, à fortes concentrations, inhibe sa propre BH. Mais si une quantité élevée de *c9c12-C18:2* provoque une saturation de l'isomérisation, les deux réductions seraient plutôt inhibées et/ou saturées par les intermédiaires CLA et *t-C18:1* produits au cours de sa BH (fig 9).

**Tableau 7. Effets du pH et de la quantité initiale de l'acide linoléique sur la lipolyse ruminale des triglycérides de soja *in vitro*.**

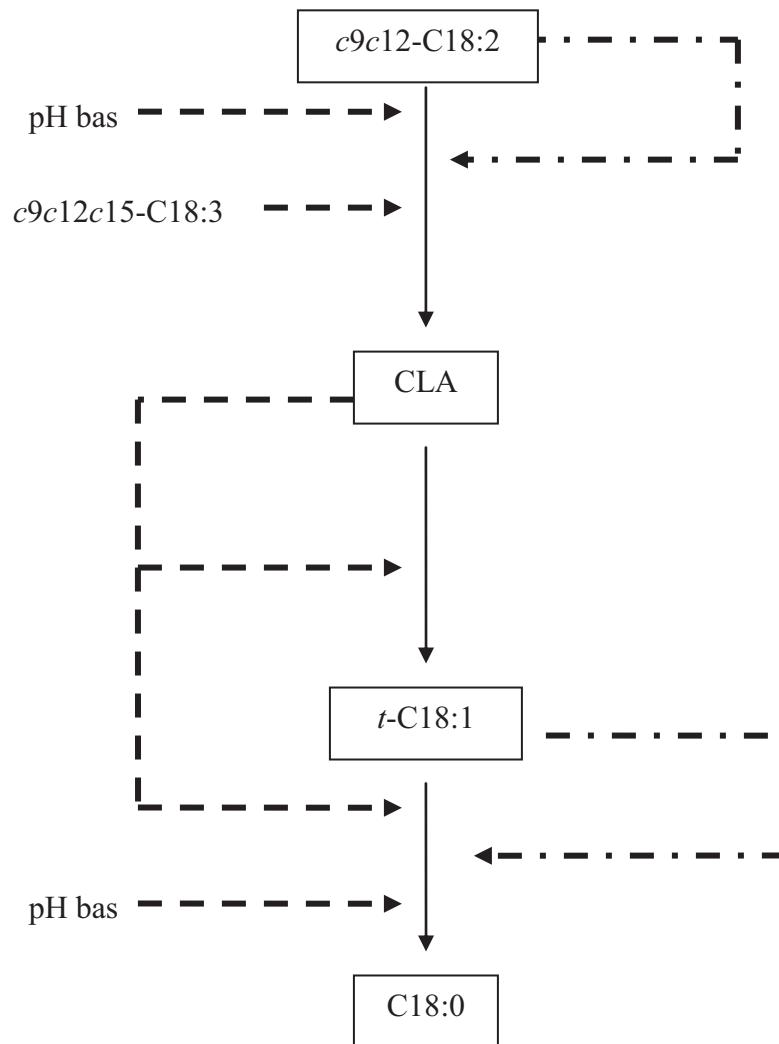
(Source : Van Nevel *et* Demeyer, 1996).

40 mg de C18:2			80 mg de C18:2		
pH	C18:2 libéré		pH	C18:2 libéré	
	en mg	en %		en mg	en %
6,78	16,53	41,3	6,78	30,77	38,5
6,34	15,97	39,9	6,29	30,84	38,6
5,98	15,16	37,9	5,92	20,16	25,2
5,56	9,61	24	5,53	15,3	19,1
5,22	4,36	10,9	5,25	6,1	7,6

La BH de *c9c12-C18:2* est également soumise à des interactions avec les concentrations en autres AGPI. Ainsi, le *c9c12c15-C18:3* peut diminuer la BH de *c9c12-C18:2* par inhibition compétitive au niveau de l'isomérisation (fig 9), puisque ces AG sont biohydrogénés par les mêmes bactéries (Kepler *et* Tove, 1967). Par contre, il agit en synergie avec *c9c12-C18:2* et permet d'accroître la production ruminale de *t11-C18:1*, puisque cet isomère fait partie des intermédiaires majoritaires de la BH de *c9c12c15-C18:3*. Les différents isomères *t-C18:1* produits au cours de la BH de ces AG induiraient une saturation de la seconde réductase (fig 9) et donc une accumulation ruminale de *t11-C18:1*, qui pourra être désaturé dans le tissu mammaire en *c9t11-CLA*.

**Figure 9. Effets d'inhibition ( - - ►) et de saturation ( — .►) des pH bas, de teneurs élevées en acide linoléique et en acide alpha-linolénique et de leurs intermédiaires de biohydrogénation sur la biohydrogénation de l'acide linoléique.**

(Source : Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b).



### 3-2. Traitement des matières grasses alimentaires

#### 3-2-1. Le processus d'extrusion

L'extrusion est une technique utilisée pour détruire des facteurs antinutritionnels (inhibiteurs trypsiques par exemple) et améliorer les qualités nutritionnelles des graines, en limitant la dégradabilité des protéines dans le rumen. Le procédé de fabrication consiste à appliquer au produit une forte pression grâce à une ou plusieurs vis d'Archimède, combinée à des températures élevées (120 à 150°C) pendant un temps très court (30 secondes), puis à le faire

sortir à travers un orifice de petite dimension, d'où un brusque retour à la pression atmosphérique (Berset, 1994). La chaleur et la pression appliquées pendant l'extrusion pourraient augmenter la vitesse de libération des MG dans le rumen, la cellule végétale étant détruite par ce traitement (Chouinard *et al.*, 2001), et ralentir les dernières étapes de la BH ruminale en entraînant une augmentation des CLA et *t*-C18:1 (Chouinard *et al.*, 2001 ; Abughazaleh *et al.*, 2002).

### 3-2-2. Effet du traitement thermique des matières grasses sur la biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique.

Les effets du traitement thermique des MG sur la BH ruminale ont principalement été étudiés en utilisant des graines oléagineuses chauffées à sec et/ou extrudées. L'utilisation de graines de soja chauffées entraîne une diminution de la BH du *c9c12*-C18:2 par rapport à l'utilisation de graines crues ; de plus l'utilisation de graines de soja extrudées augmente la production ruminale de *c9t11*-CLA et *t11*-C18:1 par rapport aux graines crues ou chauffées à sec, *in vivo* (Chouinard *et al.*, 2001) et *in sacco* (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006).

Ainsi, les graines chauffées présentent une certaine protection vis-à-vis de la BH, et le ralentissement de cette voie métabolique étant dépendant de la température de cuisson, il pourrait résulter de l'accumulation de peroxydes d'AGI (Reddy *et al.*, 1994). Par exemple, l'utilisation de graines extrudées à 120°C n'entraîne pas de protection des AGPI, pour le soja *in vivo* (Chouinard *et al.*, 1997 ; Neves *et al.*, 2007), le colza *in vitro* et *in situ* (Enjalbert *et al.*, 2003), le lin *in situ* et *in vitro* (Cliquart *et al.*, 1993 ; Akraim *et al.*, 2006). Par contre, pour une extrusion à 140°C, la BH des AGPI diminue, ceci avec des graines de colza *in vivo* (Chapoutot et Sauvant, 1997) et de soja *in vitro* (Reddy *et al.*, 1994) et *in situ* (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b). La production de *c9t11*-CLA et de *t11*-C18:1 dans le lait et le rumen est augmentée pour ces études, bien que les différences ne soient pas toujours significatives.

Une étude *in vitro* (Privé *et al.*, 2010) a démontré que la température et la durée de chauffage de l'huile de tournesol influaient sur la disparition du *c9c12*-C18:2 et la production ruminale de CLA et *t*-C18:1 dans des cultures de jus de rumen. En effet, l'augmentation de la durée et de la température de chauffage a diminué la production de *c9t11*-CLA et de *t11*-C18:1, ainsi que le pourcentage de *c9c12*-C18:2 disparu ; par contre seule une température de chauffage élevé a augmenté la teneur des milieux en *t10c12*-CLA et *t10*-C18:1. La température de chauffage a également affecté la structure de la communauté ruminale bactérienne.

Le chauffage des MG génère des produits qui pourraient moduler la BH :

- la durée provoquerait l'accumulation d'un produit agissant directement sur la  $\Delta 12$  isomérisation
- la température entraînerait également la formation d'un produit agissant sur les bactéries en diminuant les bactéries productrices d'isomères  $t11$  et en augmentant les bactéries productrices d'isomères  $t10$ .
- la protection des AGPI induite par le chauffage des MG serait fonction de la température et de la durée de celui-ci.

### 3-3. Autres facteurs de variation

#### 3-3-1. Le ratio fourrages-concentrés

Le ratio fourrages / concentrés de la ration affecte également la BH des AGPI, dont celle de  $c9c12$ -C18:2. En effet, *in vivo*, la production de CLA dans le lait augmente si le régime alimentaire est riche en fourrages, surtout en fourrage frais. Par opposition, si la teneur en fibres de la ration est diminuée de 42,8 à 19,5% (cellulose brute) et si le pourcentage d'amidon est augmenté de 12,2 à 35,7%, la lipolyse et la BH chutent d'environ 50% chacune. Ce phénomène serait dû à une acidification du pH induite par l'enrichissement du milieu en amidon. En fait, le pH module la vitesse de libération des AG depuis la matière première et la BH. La lipolyse et l'isomérisation de  $c9c12$ -C18:2 sont diminuées par les pH bas (tab 7, fig 9), plus particulièrement, la  $\Delta 12$  isomérase est significativement inhibée par des pH < 6,0 (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b). Ainsi les concentrés, par leur pouvoir acidogène, entraîneraient une réduction des activités lipase et isomérase des bactéries ruminales. Par contre, les pH bas favorisent l'action de la  $\Delta 9$  isomérase produisant du  $t10c12$ -CLA. Les pH acides inhiberaient aussi la dernière étape de la BH de  $c9c12$ -C18:2 (fig 9).

Ainsi, les fourrages peuvent agir de trois manières : apport d'AGPI par l'herbe fraîche, comportant 61 % de  $c9c12c15$ -C18:3 et 13 % de  $c9c12$ -C18:2 dans sa MG (5 % MG/MS), apport de fibres stimulant la microflore fibrolytique dont *Butyrivibrio fibrisolvens* et favorisant un pH ruminal proche de la neutralité, pH optimum des enzymes de la BH. Toutefois, les fourrages conservés sont bien moins efficaces : le foin n'entraîne qu'une faible

augmentation de la teneur en CLA dans le lait (Dhiman *et al.*, 1999, Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005c). Quant à l'ensilage de maïs, il n'a aucun effet (Chilliard *et al.*, 2001).

Le ratio fourrages / concentrés modifie également la vidange ruminale. La vitesse de vidange du rumen participe indirectement au contrôle de la BH. Si le rumen se vidange rapidement (régime riche en concentrés, faible taille des particules alimentaires), le temps de séjour des particules est plus faible et la BH est incomplète à la sortie du rumen, par rapport à un régime riche en fourrages (taille des particules plus importante).

Ainsi, une ration enrichie en *c9c12-C18:2* ou riche en fourrages permet d'augmenter la teneur en CLA dans le lait. Les deux ont été apportés conjointement en supplémentant des vaches au pâturage avec de l'huile de soja. Les auteurs ont noté des teneurs en CLA et *t11-C18:1* bien supérieures dans le lait de ces vaches comparé aux vaches au pâturage sans supplémentation, démontrant par là l'intérêt d'associer les deux (Agenäs *et al.*, 2002 ; Schroeder *et al.*, 2003). Néanmoins, une forte chute du taux butyreux a parallèlement été observée. Par ailleurs, lorsque des rations supplémentées en MG insaturées sont données à des vaches, l'augmentation des teneurs en CLA et *t11-C18:1* dans le lait et le contenu duodéal est plus importante chez les vaches recevant une ration riche en concentrés que chez celles recevant une ration riche en fourrage (Piperova *et al.*, 2002). Cette augmentation serait due à l'inhibition de la dernière étape de la BH de *c9c12-C18:2* par les pH bas (fig 9).

### 3-3-2. Autres facteurs.

D'autres facteurs alimentaires interviennent dans le contrôle de la BH et donc sur l'accumulation des intermédiaires (Troegeler-Meynadier et Enjalbert, 2005c).

Le cuivre en participant à la régulation de toutes les activités enzymatiques nécessaires à la BH, module de façon complexe la production de CLA. Un apport faible permet l'accumulation des isomères *t11*, CLA et *t-C18:1*, dans le rumen car la BH devient incomplète, et il y a donc augmentation de la teneur en CLA du lait (Sol-Morales *et al.*, 2000). Paradoxalement, une supplémentation en cuivre entraîne les mêmes effets, mais en inhibant à fortes concentrations l'activité des isomérase et de la première réductase ruminales (Engle *et al.*, 2000 et 2001). Cette influence éventuelle du cuivre sur la production de CLA dans le lait de vache est encore floue et probablement complexe.

De même, l'ajout de bicarbonate dans la ration favorise la formation des isomères *t11*, CLA et



*t*-C18:1, en favorisant probablement la neutralité du pH ruminal (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2007).

Par ailleurs, *in vivo*, l'addition d'antioxydants (vitamine E) dans la ration des vaches laitières a entraîné une augmentation de la teneur en isomères *t*11 et une diminution de la teneur en isomères *t*10 dans le plasma (Kay *et al.*, 2005) et dans le lait (Pottier *et al.*, 2006).

Enfin, un régime restreint semble induire une teneur plus élevée de CLA dans le lait qu'un régime *ad libitum*, mais les résultats sont très variables.

**Les CLA possèdent des effets bénéfiques pour la santé humaine, à condition d'être présents en quantité suffisante dans le lait. Leur synthèse est complexe, et de multiples facteurs peuvent l'influencer. Le moyen le plus facile à maîtriser et le plus efficace est l'alimentation des vaches. L'utilisation d'huiles ou de graines oléagineuses riches en AGPI augmentent la production ruminale des intermédiaires de BH dont les CLA. Les traitements thermiques des MG (comme l'extrusion) ont des effets sur la BH, mais ceux-ci varient entre les études et restent donc à préciser. Le but de cette étude est de comprendre l'influence de la forme de présentation de la MG, de la durée et de la forme de chauffage utilisée, avec une attention particulière sur l'extrusion. Le soja est la MG choisie, pour sa richesse en *c*9*c*12-C18:2.**

## 2. Etude expérimentale

### 1. Matériels et méthodes

#### 1-1. Contexte et objectifs

Les graines de soja chauffées diminuent la disparition de  $c9c12$ -C18:2 et augmentent la production ruminale de  $c9t11$ -CLA et de  $t11$ -C18:1 par rapport aux graines crues, mais les résultats sont très variables en fonction des études. Une étude *in vitro* (Privé *et al.*, 2010) a démontré l'importance de la durée et de la température de chauffage de l'huile sur sa BH ruminale. Si une température et une durée de chauffage élevées ont protégé le  $c9c12$ -C18:2 de la BH ruminale, elles ont également provoqué une diminution de la production d'isomères  $t11$ , et une température élevée de chauffage a permis d'augmenter la production d'isomères  $t10$ . Ces effets étaient liés à l'indice peroxydes. L'augmentation de la production d'isomères  $t11$ , CLA et de  $t$ -C18:1, observée dans les études avec les graines chauffées n'a donc pas été retrouvé et reste inexplicite, aussi d'autres facteurs pourraient intervenir :

- la forme des MG : huile ou graines oléagineuses,
- les procédés de chauffage : extrusion, chauffage à sec, ...
- la durée et les conditions de stockage après le chauffage : accumulation des produits terminaux d'oxydation (aldéhydes, cétones...).

Les objectifs de cette étude étaient de préciser les effets de la forme de la MG (huile *vs.* graines) et du type de chauffage (chauffage à sec à l'étuve *vs.* extrusion) sur la BH de  $c9c12$ -C18:2. Deux expérimentations annexes ont été également réalisées afin de préciser un éventuel effet du chauffage des protéines sur la BH et d'une conservation de 3 mois à la ferme de graines extrudées. Les expérimentations ont été réalisées *in vitro*, par mise en culture de contenu ruminal liquide en présence d'huiles, d'huiles chauffées, de graines de soja crues, extrudées ou chauffées dans une étuve, et de substrats fermentaires. Les effets ont été étudiés au niveau de la BH (calcul des vitesses et efficacités des 3 réactions composant la BH) et du profil isomérique des intermédiaires CLA et  $t$ -C18 :1.

## 1-2. Incubations *in vitro*.

### 1-2-1. Préparation des huiles et des graines de soja.

Les graines de soja utilisées dans cette expérience avaient la même origine, elles ont subies soit une extrusion, soit un chauffage à l'étuve. Les conditions d'extrusion étaient les suivantes :

- 1- Broyage (grille 6mm), vitesse 1500rpm
- 2- Maturation : 30 min, température d'entrée 95°C, de sortie 55°C
- 3- Extrusion : 30 à 60 secondes, température moyenne de 125°C
- 4- Refroidissement : 15-20min

Les graines de soja entières et extrudées ont été broyées à 1 mm (broyeur Retsch). L'huile de soja et les graines broyées ont été chauffées dans une étuve à la même température que l'extrusion (soit 125°C) et durant 30 minutes ou 6 heures (étalées sur une couche d'environ 1 cm dans un cristalliseur en verre de 9 cm de diamètre pour l'huile et dans un plateau en fer pour les graines broyées). Après chauffage, elles ont été laissées à refroidir 20 min à température ambiante dans leur récipient de chauffage, puis elles ont été recueillies dans des seringues de 5 ml pour les huiles et des pots remplis au maximum pour les graines. Une fois remplis, ils ont été placés immédiatement au congélateur à -80°C jusqu'à utilisation.

La préparation des milieux étant effectuée la veille des incubations, les seringues et pots nécessaires ont été décongelés le matin des pesées. Aussitôt après leur préparation, les milieux ont été placés au réfrigérateur jusqu'au lendemain, et les huiles et les graines restantes ont été replacées immédiatement au congélateur à -80°C pour analyse ultérieure des AG et des produits d'oxydation. Le tableau 8 présente ces différentes MG et leur traitement thermique, ainsi que les quantités ajoutées dans les milieux, pour obtenir les mêmes quantités initiales en *c9c12-C18:2*.

### 1-2-2. Les substrats fermentaires

Il consistait en 2g de foin de prairie permanente, broyé à 2mm, et 0,5g de grains de maïs, broyés à 1mm. Ce substrat permettait d'apporter aux bactéries ruminales les glucides nécessaires à leur culture *in vitro*. Les graines de soja apportaient les protéines nécessaires à l'activité bactérienne, et dans les milieux avec de l'huile, du tourteau de soja a été additionné à cet effet, et de façon à obtenir des substrats d'incubation ayant la même teneur en azote.

**Tableau 8. Milieux d'incubation.**

Forme MG	Traitement thermique	Température de chauffage	Durée de chauffage	Quantité de MG	Quantité de tourteau de soja	Substrats fermentaires	Nom des milieux
Huile	Ø		0	100mg	400mg		HT
Huile	étuve	125°C	30mn	100mg	400mg	2g de foin broyé à 2mm + 0,5g de maïs broyé à 1mm	H0,5
Huile	étuve	125°C	6h	100mg	400mg		H6
Graines	Ø		0	500mg	0		GT
Graines	étuve	125°C	30mn	500mg	0		G0,5
Graines	étuve	125°C	6h	500mg	0		G6
Graines	extrusion	55-125°C	~ 30min	500mg	0		GE

### 1-2-3. Le tampon

Pour les incubations le tampon utilisé était un tampon bicarbonate à pH 7 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$  : 19,5 g/l et  $\text{NaHCO}_3$  : 9,24 g/l), dans lequel étaient additionnés les minéraux nécessaires à la croissance bactérienne ( $\text{NaCl}$  : 0,705 g/L ;  $\text{KCl}$  : 0,675 g/L ;  $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$  : 0,108 g/L et  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  : 0,180 g/L). Ce tampon a été préparé la veille des incubations. Avant la mise en incubation, il a été chauffé à 39°C, température physiologique du rumen, et bullé avec du  $\text{CO}_2$  afin d'assurer son pouvoir tampon et l'anaérobiose.

### 1-2-4. Le contenu ruminal.

#### 1-2-4-1. L'animal donneur et son alimentation.

La vache prélevée était une vache tarie de race laitière Prim'Holstein équipée d'une canule ruminale, recevant 10 kg MS d'une ration riche en fibres (tab 9), distribuée en deux repas par jour, le matin à 9 h et le soir à 17 h. La vache avait également à sa disposition un bloc de sel à lécher.

#### 1-2-4-2. Le prélèvement de contenu ruminal.

Le prélèvement a été effectué *via* la canule ruminale, avant le repas du matin. Le contenu ruminal recueilli à l'aide d'une trompe à vide a ensuite été filtré avec un tamis en métal de maille 1,6 mm. Le transport du jus de rumen filtré au laboratoire durait environ une demi-heure, en respectant des conditions de chaleur (39°C) et d'anaérobiose.

**Tableau 9. Ration distribuée à la vache donneuse.**

<b>Ingrédients (% de la MS)</b>	
Ensilage de maïs	38,6
Tourteau de soja	6,8
Maïs broyé	34,8
Graines de soja extrudées	17,9
Minéraux et vitamines*	1,9
<b>Composition chimique</b>	
MS (% MB)	53,5
NDF (%MS)	25,7
ADF (% MS)	12,2
MAT (%MS)	17,1
Amidon (%MS)	33,8
Total FA (% MS)	5,0

\* pour 1kg : P: 40g, Ca: 260g, Mg: 50g, Na: 20g, Zn: 5g, Mn: 4g, Cu: 1g, I: 40 mg, Co: 20 mg, Se: 20mg, vitamine A: 450 000 IU, vitamine D<sub>3</sub>: 100 000 IU et vitamine E: 1 500 IU  
NDF = Neutral Detergent Fibre; ADF: = Acid Detergent Fibre; FA: fatty acids.

#### 1-2-5. Mise en route des incubations

Au laboratoire, dans des erlenmeyers de 250 ml contenant la MG (huiles ou graines broyées) et les substrats fermentaires ont été versés 80 ml de jus de rumen filtré et 80 ml de tampon bicarbonate. Six répétitions par traitement ont été réalisées, et en tout 3 manipulations *in vitro* auront été nécessaires pour obtenir ces 6 répétitions par type de MG. Deux blancs non incubés contenant uniquement du foin et du maïs ont été réalisés par manipulation et immédiatement congelés, afin de déterminer l'état initial des milieux.

Les cultures ainsi préparées ont été placées dans un bain marie rotatif (AQUATRON, Infors AG, Allemagne). Afin d'assurer l'anaérobiose indispensable au bon fonctionnement des bactéries ruminales, les erlenmeyers ont été saturés en CO<sub>2</sub> et fermés par des bouchons équipés d'un système de tubulures plongeant directement dans l'eau du bain-marie, ce qui permettait l'évacuation des gaz de fermentation sans laisser entrer d'air et surtout d'oxygène. Puis les cultures bactériennes ont été mises à incuber pendant 6 heures, à 39°C, agitées à une vitesse de 130 tours/min, dans des conditions d'anaérobiose et d'obscurité.

Après incubation, les erlenmeyers ont été placés immédiatement dans de la glace pilée afin de stopper les fermentations, le pH a été mesuré, et leur contenu a été transféré dans un pot taré pour être congelé et lyophilisé (Virtis Freezemobile 25, Virtis, USA). Les lyophilisats ont

ensuite été broyés et homogénéisés pendant deux minutes à l'aide d'un broyeur à bille (Dangoumau, Prolabo, France). Les échantillons ainsi préparés ont été conservés à -18°C jusqu'à analyse.

#### 1-2-6 Les expérimentations annexes .

Afin d'étudier l'effet de la dégradabilité des protéines sur la BH de *c9c12-C18:2*, qui pourrait en partie expliquer les différences entre huile et graine de soja, une manipulation *in vitro* a été réalisée comprenant trois types de traitements, avec 5 répétitions pour chaque :

- 100mg d'huile de soja + 400mg de tourteau de soja (broyé à 1mm)
- 100mg d'huile de soja + 400mg de tourteau de soja chauffé à 125°C pendant 30min à l'étuve
- 100mg d'huile de soja + 400mg de tourteau de soja chauffé à 125°C pendant 6h à l'étuve

La deuxième expérimentation annexe avait pour objectif d'étudier un éventuel effet d'une conservation à la ferme durant 3 mois des graines de soja extrudées maintenues dans le sac de livraison qui était constitué d'une couche plastique recouverte d'une couche de papier opaque (conditions normales de conservation). Les graines de soja extrudées étaient les mêmes que celles utilisées précédemment. Les deux traitements étaient les suivants :

- 500mg de graines de soja extrudées et conservées à -80°C pendant 3 mois. La congélation a été réalisée dès réception des graines soit moins d'une semaine après leur fabrication.
- 500mg de graines de soja extrudées conservées durant 3 mois à la ferme.

Les deux types de graines de soja extrudées ont été broyées à 1 mm (broyeur Retsch) avant réalisation des milieux d'incubation.

Les incubations ont été réalisées de la même manière que précédemment : substrat fermentaire (2g de foin + 0,5g de maïs broyés), 80ml de jus de rumen filtré à 1,6mm et 80ml de tampon bicarbonate, pour un temps d'incubation de 6h à 39°C dans le bain-marie rotatif. Par ailleurs, un blanc non incubé contenant uniquement du foin et du maïs a été réalisé pour chacune de ces expérimentations.

### 1-3. Analyses chimiques.

#### 1-3-1. Composition chimique des matières premières de la ration et du substrat fermentaire.

Les compositions chimiques des aliments distribués à la vache, des graines, du tourteau de soja, et des substrats fermentaires ont été déterminées par les méthodes officielles :

- NF V18-109 (AFNOR, 1981) pour la MS,
- NF V18-100 (AFNOR, 1997) pour les MAT;
- NF V18-121 (AFNOR, 1997) pour l'amidon,
- NF V03-040 (AFNOR, 1997) pour la CB,
- NF V18-122 (AFNOR, 1997) pour les teneurs en NDF/ADF/ADL (ce dosage a été effectué après action d'une amylase thermostable).

#### 1-3-2. Dosage des produits d'oxydation générés par le chauffage des matières grasses.

Une estimation globale de l'oxydation des MG a été réalisée par la méthode de l'indice peroxydes (IP) (NF ISO 3960, AFNOR, 2004) le jour même de chaque manipulation *in vitro*. La mesure de l'IP a donc été réalisée trois fois pour chaque type de MG, la moyenne de ces trois valeurs IP a été calculée et exprimée en mEq/kg de MG.

#### 1-3-3. Dosage des acides gras.

Une extraction-méthylation en une seule étape des AG a été effectuée sur les contenus incubés et les blancs lyophilisés, ainsi que les substrats, les aliments, et les MG chauffées ou non, pour un passage en CPG.

Cette opération a été réalisée selon la méthode de Park et Goins (1994), en remplaçant la solution de trifluorure de bore à 14% dans du méthanol par une solution de méthanolacétylchlorure (10:1), et après addition d'un étalon interne (C19:0) (fig 10). Cette méthode repose sur une double méthylation : une en milieu basique pour les acylglycérols et une en milieu acide pour les AG libres, les PL et les esters de cholestérol. Par ailleurs, cette méthode permet de minimiser l'isomérisation des CLA, inévitable lors de l'extraction-méthylation.

### Figure 10. Extraction-méthylation des acides gras.

- Peser 100 mg d'échantillon dans un tube en verre pyrex de 20 ml et fermer avec un bouchon téflon.
- Ajouter 200 µl de dichlorométhane, 200 µl d'étalon interne (acide nonadécanoïque C19:0 à 4 mg/ml dans du dichlorométhane) et 2 ml de soude méthanolique à 2 % préparée extemporanément.
- Bien mélanger au vortex (MS2 minishaker IKA, PAYS) 1min à 1400 tours/min.
- Chauffer le tube pendant 10 min à 90°C dans un bain thermostaté, puis refroidir 6 min sous l'eau froide.
- Ajouter 3 ml de solution d'acétylchlorure méthanolique préparée extemporanément et agiter au vortex 1min à 1400 tours/min.
- Chauffer le tube pendant 10 min à 80°C dans un bain thermostaté, puis refroidir 6 min sous l'eau froide.
- Ajouter 5 ml d'eau ultra-pure et 1,6 ml d'hexane, placer 5 min au culbuteur (Rotator Drive STR4, Stuart Scientific, OSI, France) puis centrifuger 10 min à 4000g (3K15 Sigma Laboratory centrifuges, Osterode am Harz, Allemagne).
- Récupérer la phase supérieure hexanoïque renfermant les méthyl esters dans des flacons de 2 ml à sertir. Cet extrait est ensuite analysé en CPG.

L'identification et la quantification des AG des échantillons extraits et méthylés a été réalisée par CPG (Agilent 6890N, Network GC System, USA, équipé d'un autoinjecteur 7693, Network GC System, USA, et d'une colonne capillaire en silice, CPSil88, 100 m x 0,25 mm ID, 0,20 µm d'épaisseur de film CPSil88, Chrompack-Varian, Netherlands). L'analyse CPG a été réalisée selon 2 méthodes permettant la séparation de 43 pics. La méthode 1 permettait la séparation de la majorité des AG et la quantification des AG totaux. Le détecteur à ionisation de flamme a été maintenu à une température de 260°C et l'injecteur à 255°C, le split ratio étant de 1:50. Le gaz porteur était l'hydrogène, utilisé à un débit constant de 1ml/min. Les AG extraits ont été récupérés dans 2 ml d'hexane, dont un volume de 1 µl a été injecté dans l'appareil.

Le four présentait une température initiale de 60°C, le programme de température était le suivant :

- 60°C maintenu 2 min, puis augmentation de 8°/min jusqu'à 150°C
- 150°C maintenu 12 min, puis augmentation de 2°C/min jusqu'à 175°C
- 175°C maintenu 20 min, puis augmentation de 5°C/min jusqu'à 225°C



- 225°C maintenu 10 min, puis augmentation de 5°C/min jusqu'à 240°C.
- 240°C maintenu 10 min.

Cette méthode permet de séparer le C19:0 du *c*15-C18:1. Par contre les *t*13+*t*14-C18:1 co-élue avec le *c*9-C18:1 et le *c*9*c*12*c*15-C18:3 avec le C20:1. La séparation de ces derniers AG a été faite grâce à une deuxième méthode. Pour cette méthode 2, le détecteur à ionisation de flamme était maintenu à une température de 260°C et l'injecteur à 255°C, le split ratio étant de 1:75. Le gaz porteur était l'hydrogène, utilisé à débit constant de 1 ml/min. Les AG extraits ont été récupérés dans 2 ml d'hexane, dont un volume de 0,5 µl a été injecté dans l'appareil. Le four présentait une température initiale de 60°C, le programme de température est le suivant :

- 60°C maintenu 3 min, puis augmentation de 8°/min jusqu'à 190°C
- 190°C maintenu 13 min, puis augmentation de 5°C/min jusqu'à 225°C
- 225°C maintenu 10 min, puis augmentation de 10°C/min jusqu'à 230°C
- 230°C maintenu 10 min.

#### 1-4. Calculs réalisés.

##### 1-4-1. Production / disparition des acides gras.

Les concentrations en AG obtenues par CPG ont été ramenées à des quantités en mg par erlenmeyer. Puis pour chaque AG ont été réalisés les calculs suivants :

- la quantité de chaque AG contenu initialement dans les substrats (foin + amidon) et le jus de rumen a été obtenue à partir du blanc non incubé. La quantité initiale de chaque AG dans les milieux incubés était donc égale à la quantité de cet AG dans le blanc non incubé correspondant plus celle contenue dans les 100 mg d'huile + 400 mg de tourteau ou dans les 500 mg de graines ajoutés.
- la disparition ou l'apparition de chaque AG a été calculée par la soustraction suivante : quantité finale dosée dans le pot incubé moins la quantité initiale ; les AG ayant disparu du milieu ont une valeur négative et les AG ayant été produits ont une valeur positive.
- le pourcentage de disparition a été calculé pour *c*9-C18:1, *c*9*c*12-C18:2 et *c*9*c*12*c*15-C18:3 :  
(quantité disparue / quantité initiale) × 100

- la quantité de CLA produits a été calculée pour chaque échantillon en additionnant les quantités produites des CLA dosées : *t10c12*-CLA, *c9c11*-CLA, *c9t11*-CLA et *t9t11*-CLA.

- la quantité de *t*-C18:1 produits a été calculée pour chaque échantillon en additionnant les quantités produites des *t*-C18 :1 dosés : *t4*-C18:1, *t5*-C18:1, *t6+t7+t8*-C18:1, *t9*-C18:1, *t10*-C18:1, *t11*-C18:1, *t12*-C18:1, *t13+t14*-C18:1, *t15*-C18:1 et *t16*-C18:1.

- la quantité d'isomères *t10* produite a été calculée pour chaque échantillon en additionnant les quantités produites de *t10*-C18:1 et de *t10c12*-CLA.

- la quantité d'isomères *t11* produite a été calculée pour chaque échantillon en additionnant les quantités produites de *t11*-C18:1, *c9t11*-CLA et *t9t11*-CLA.

#### 1-4-2. Calculs des efficacités et des vitesses des réactions de la biohydrogénation de l'acide linoléique.

Deux paramètres de l'activité enzymatique ont été retenus : la vitesse et l'efficacité de la réaction :

**Vitesse de réaction V** (mg/l/h) = quantité de substrat disparu ou de produit apparu (mg) / volume d'incubation (0,16 l) / durée d'incubation (6 h)

**Efficacité de la réaction E** = quantité de substrat disparu ou de produit apparu (mg) / quantité totale de substrat disponible pour l'enzyme au cours de l'incubation

Avec, selon Troegeler-Meynadier *et al.* (2006b) :

Pour l'isomérisation de *c9c12*-C18:2 :

$V_i$  = quantité de *c9c12*-C18:2 disparue /  $0,16 \times 6$

$E_i$  = quantité de *c9c12*-C18:2 disparue / quantité de *c9c12*-C18:2 initiale

Pour la réduction des CLA :

$V_{r1}$  = (quantité de *c9c12*-C18:2 disparue + quantité de CLA initiale – quantité de CLA finale) /  $0,16 \times 6$

$E_{r1}$  = (quantité de *c9c12*-C18:2 disparue + quantité de CLA initiale – quantité de CLA finale) / (quantité de *c9c12*-C18:2 disparue + quantité de CLA initiale)

Pour la réduction des *t*-C18:1, il fallait prendre en compte les isomères arrivant de la BH de *c9c12*-C18:2 et de *c9c12c15*-C18:3. Pour ce calcul l'isomérisation de *c9*-C18:1 en *t11*-

C18:1 a été négligée car seulement 3% est isomérisé en *t*-C18:1 (Mosley *et al.*, 2002) Il a été considéré que le *c9*-C18:1 disparu était complètement hydrogéné en C18:0.

$$Vr2 = (\text{quantité de } c9c12\text{-C18:2 disparue} + \text{quantité de } c9c12c15\text{-C18:3 disparue} + \text{quantité de CLnA initiale} - \text{quantité de CLnA finale} + \text{quantité de CLA initiale} - \text{quantité de CLA finale} + \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 initiale} - \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 finale} + \text{quantité de } t\text{-C18:1 initiale} - \text{quantité de } t\text{-C18:1 finale}) / 0,16 \times 6$$

$$Er2 = (\text{quantité de } c9c12\text{-C18:2 disparue} + \text{quantité de } c9c12c15\text{-C18:3 disparue} + \text{quantité de CLnA initiale} - \text{quantité de CLnA finale} + \text{quantité de CLA initiale} - \text{quantité de CLA finale} + \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 initiale} - \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 finale} + \text{quantité de } t\text{-C18:1 initiale} - \text{quantité de } t\text{-C18:1 finale}) / (\text{quantité de } c9c12\text{-C18:2 disparue} + \text{quantité de } c9c12c15\text{-C18:3 disparue} + \text{quantité de CLnA initiale} - \text{quantité de CLnA finale} + \text{quantité de CLA initiale} - \text{quantité de CLA finale} + \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 initiale} - \text{quantité de } t11c15\text{-C18:2 finale} + \text{quantité de } t\text{-C18:1 initiale})$$

#### 1-5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du modèle linéaire générale du logiciel SYSTAT (Version 9, SPSS Inc.,USA), selon le modèle suivant :

**Variable** = moyenne + effet « Jour d'incubation » + effet « Milieu d'incubation » +  $\varepsilon$ ,

avec 3 niveaux pour le jour d'incubation (J1, J2, J3) et 7 niveaux pour le milieu d'incubation (HT ; H0,5 ; H6 ; GT ; G0,5 ; G6 ; GE ; cf. tab 8). Ces analyses ont été suivies d'une comparaison par paire à l'aide d'un test de Tukey lorsque l'effet du milieu d'incubation était significatif.

Les effets de la forme de présentation (huile vs. graine) et de la durée du chauffage à l'étuve (0 vs. 30min vs. 6h), ainsi qu'une éventuelle interaction entre ces deux facteurs ont été recherchés par la méthode des contrastes.

Pour les deux expérimentations annexes les modèles suivants ont été utilisés :

- effet de la durée (0 vs. 30min vs. 6h) du chauffage du tourteau de soja :

**Variable** = moyenne + effet « Durée de chauffage » +  $\varepsilon$

- effet de la méthode (-80°C vs. température ambiante à la ferme) de conservation durant 3 mois des graines de soja extrudées :

**Variable** = moyenne + effet « Méthode de conservation » +  $\varepsilon$

Les différences ont été considérées comme significatives pour  $P \leq 0,05$ .

## 2. Résultats

Dans cette partie sont présentés les résultats de nos expérimentations, quant aux effets de la forme de présentation de la MG (huile *vs.* graines) et de la durée de chauffage de celle-ci à l'étuve (0, 0,5 ou 6h), ainsi que les effets du type de chauffage (étuve *vs.* extrusion), pour ce qui est de la principale expérimentation, des effets du chauffage des protéines et d'une conservation de 3 mois à la ferme de graines extrudées, pour ce qui est des expérimentations annexes. Les effets seront étudiés au niveau de la production / disparition des AG dans nos différents milieux incubés, avec une attention particulière pour les AG substrats et produits de la BH ruminale, ainsi qu'au niveau des vitesses et des efficacités des réactions composant la BH ruminale de  $c9c12-C18:2$ , AG majoritaire dans la MG de soja.

### 2-1. Composition initiale en acides gras des milieux.

La composition initiale des milieux est présentée dans le tableau 10, elle comprend les apports du substrat fermentaire et du jus de rumen, ainsi que les apports réalisés par 100mg d'huile + 400mg de tourteau ou par 500mg de graines. Les milieux avec l'huile contenaient initialement plus de  $c9-C18:1$ . La quantité initiale de  $c9c12-C18:2$  est plus faible dans les milieux avec les graines de soja extrudées et la quantité initiale de  $c9c12c15-C18:3$  est supérieure dans les milieux contenant les graines de soja crues et chauffées à l'étuve.

Le tableau 11 présente les teneurs en AG et l'IP (mEq/kg MG) des huiles, du tourteau et des graines de soja utilisés. Les graines de soja extrudées contiennent moins de  $c9c12-C18:2$  et de  $c9c12c15-C18:3$ . L'IP est faible pour les MG non chauffées, et reste  $< 10$  pour les MG chauffées 0,5h, par contre il est beaucoup plus élevé pour les MG chauffées 6h et les graines de soja extrudées. A traitement égal, les graines présentent un IP plus faible que les huiles.

**Tableau 10. Composition initiale en acides gras des milieux d'incubation.**

	Graines de soja extrudées		Huile		Graines de soja		
	GE	non chauffée	chauffée <sup>1</sup> 0,5h	chauffée <sup>1</sup> 6h	non chauffées	chauffées <sup>1</sup> 0,5h	chauffées <sup>1</sup> 6h
		HT	H0,5	H6	GT	G0,5	G6
Quantité d'AG par pot (mg)							
C6:0	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66	1,66
C7:0	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
C8:0	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
C9:0	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
C10:0	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
C11:0	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
C12:0	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
C13:0	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
C13:0ai	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
C13:0i	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
C14:0	1,39	1,38	1,38	1,38	1,43	1,43	1,43
C15:0	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
C15:0ai	1,24	1,24	1,24	1,24	1,24	1,24	1,24
C15:0i	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
C16:0	29,69	30,86	30,86	31,01	30,21	30,35	30,35
C16:1	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
C17:0	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
C17:0ai	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
C17:0i	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
C17:1	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
C18:0	73,05	74,53	74,58	74,64	72,26	72,31	72,31
C18:0i	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
c9-C18:1	19,18	23,19	23,18	23,44	18,33	18,53	18,33
c11-C18:1	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
c12-C18:1	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
c15-C18:1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
t4-C18:1	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
t5-C18:1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
t6t7t8-C18:1	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
t9-C18:1	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
t10-C18:1	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
t11-C18:1	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
t12-C18:1	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
t13t14-C18:1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
t15-C18:1	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
t16-C18:1	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
c9c12-C18:2	54,92	65,05	65,05	64,76	65,57	66,15	65,91
t10c12-CLA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
c9c11-CLA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
c9t11-CLA	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
t9t11-CLA	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
t11c15-C18:2	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
c9c12c15-C18:3	10,14	9,53	9,46	9,39	12,26	12,11	12,56
CLA totaux	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
t-C18:1 totaux	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97
t10 totaux	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
t11 totaux	3,98	3,98	3,98	3,98	3,98	3,98	3,98

<sup>1</sup> chauffage à l'étuve

**Tableau 11. Indice peroxydes (mEq/kg de MG) et quantités d'acides gras apportées par 100g de tourteau, d'huile ou de graines de soja.**

IP (mEq/kg MG)	Tourteau			Huile de Soja			Graines de Soja			
	de soja	non chauffée	chauffée 0,5h	non chauffée	chauffée 0,5h	chauffée 6h	non chauffées	chauffées 0,5h	chauffées 6h	extrudées
-	-	6,72	9,33	6,72	9,33	56,56	4,16	4,94	46,06	29,34
C14:0	0,00	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,02	0,02	0,02	0,02
C16:0	0,34	9,27	9,28	9,28	9,40	9,40	1,99	2,02	2,02	1,89
C18:0	0,07	4,67	4,72	4,72	4,77	4,77	0,53	0,54	0,54	0,69
c9-C18:1	0,28	17,98	17,98	17,98	18,19	18,19	2,84	2,88	2,84	3,01
c9c12-C18:2	1,07	51,87	51,90	51,90	51,48	51,48	11,32	11,44	11,39	9,19
c9c12c15-C18:3	0,13	7,73	7,66	7,66	7,57	7,57	2,19	2,16	2,25	1,77

## 2-2. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve, interaction.

### 2-2-1. Effets de la forme de présentation : huile vs. graines broyées

L'utilisation de graines de soja a entraîné une production significativement plus importante de certains AG impairs, C15:0, C15:0ai, C15:0i et C17:0ai (tab 12), que l'huile de soja. Si l'on somme les quantités produites de ces AG, les graines ont permis une production 1,4 fois plus importante que l'huile (i.e. 0,86 vs. 0,62 mg, respectivement). La production de C6:0 a également été augmentée lors d'utilisation de graines, et la disparition du C16:0 est moins importante.

La quantité et le pourcentage de *c9c12*-C18:2 et de *c9*-C18:1 disparus ont été significativement plus élevés avec l'huile qu'avec les graines de soja (tab 13). La quantité de *c9c12c15*-C18:3 disparue était plus importante avec les graines qu'avec l'huile, le pourcentage de disparition n'a pas été modifié par la forme de présentation.

La quantité de CLA totaux produits était 3,7 fois plus grande avec l'huile qu'avec les graines. Cette augmentation était liée principalement à l'augmentation significative de l'isomère majoritaire (tab 14), le *c9t11*-CLA, et secondairement aux augmentations moins importantes mais également significatives des autres isomères CLA de position 9,11 (*c9c11* et *t9t11*). Aucun effet n'a été mis en évidence sur l'isomère *t10c12*-CLA. La quantité de *t11c15*-C18:2 produite était également augmentée lors d'addition d'huile par rapport à l'addition de graines. Les quantités produites de *t*-C18:1 totaux (tab 13) et de tous les isomères *t*-C18:1 (excepté le *t4*-C18:1 ; tab 14) étaient supérieures avec l'huile par rapport aux graines. Le *t13t14*-C18:1 n'était pas produit dans les milieux avec addition de graines. La quantité de *t*-C18:1 totaux produits était multipliée par 1,2 avec l'huile par rapport aux graines, donc une production bien moins augmentée que celle des CLA. Par contre la quantité de *c11*-C18:1 produite est augmentée avec les graines (tab 13). Les quantités d'isomères *t10* et *t11* totaux produits ont significativement diminuées lors d'utilisation de graines comparativement à l'utilisation d'huile (tab 14).

La production de C18:0 est plus importante avec l'huile qu'avec les graines de soja (tab 13). L'utilisation de graines par rapport à l'huile a modifié faiblement mais significativement les vitesses et les efficacités des réactions composant la BH de *c9c12*-C18:2 (tab 15). En particulier, la première réaction (isomérisation de *c9c12*-C18:2) a été plus rapide et plus efficace avec l'huile, la troisième réaction (réduction des *t*-C18:1) a été plus rapide et plus efficace avec les graines.





**Tableau 13. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique, après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées.**

	Graines de soja												ECTM	Forme de présentation	P	Durée de chauffage <sup>1</sup>	P	Interaction
	Huile de soja						Graines de soja											
	non chauffée		chauffée		non chauffées		chauffées		0,5h		chauffées							
GE	HT	H0,5	H6	G0,5	G6	GT	G6	G0,5	G6	G0,5	G6	G0,5	G6					
Quantité d'AG produite ou disparue par pot incubé (mg)																		
C18:0	27,82	34,10	36,24	35,09	30,28	30,92	27,48	0,85	0,00	0,60	0,70							
C18:0i	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,00	0,65	0,96	1,00							
c9-C18:1	-12,64	-15,33*	-16,30*	-15,97*	-10,37*	-11,09	-9,80*	0,14	0,00	0,04	0,23							
c11-C18:1	0,36	0,44	0,35	0,42	0,49	0,48	0,54*	0,01	0,00	0,13	0,47							
c12-C18:1	0,07	0,08	0,09	0,09	0,07	0,09	0,07	0,00	0,02	0,06	0,05							
c15-C18:1	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03	0,04	0,03	0,00	0,14	0,16	0,68							
t-C18:1 totaux	9,20	9,76	10,30	9,39	7,51*	8,77	7,92	0,14	0,00	0,03	0,53							
CLA totaux	0,42	1,27*	1,19*	1,05*	0,22	0,38	0,35	0,03	0,00	0,48	0,05							
c9c12-C18 :2	-42,93	-50,81*	-53,35*	-51,53*	-49,16*	-51,77*	-46,95*	0,34	0,00	0,00	0,18							
t11c15-C18 :2	0,10	0,11	0,16*	0,08	0,00*	0,03*	0,02*	0,01	0,00	0,01	0,04							
c9c12c15-C18 :3																		
C18 :3	-7,94	-7,38	-7,63	-7,41	-9,67*	-9,72*	-9,51*	0,05	0,00	0,30	0,72							
Disparition (%)																		
c9-C18:1	63,47	64,16	68,06	66,00	54,47*	57,57	51,47*	0,62	0,00	0,04	0,30							
c9c12-C18:2	75,26	75,70	79,30	76,96	72,64	75,80	69,03*	0,50	0,00	0,00	0,15							
c9c12c15-C18:3	76,32	75,39	78,34	76,61	77,21	78,49	74,13	0,51	0,88	0,08	0,28							

<sup>1</sup> chauffage à l'étuve

\* significativement différent (P<0,05) de l'addition de graines de soja extrudées (Dunnnett's test)

**Tableau 14. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur la production des isomères *t*-C18:1 et des Acides Linoléiques Conjugués (mg) après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées.**

	Graines de soja extrudées	Forme de présentation										ECTM	P	Durée de chauffage <sup>1</sup>	P	Interaction
		Huile de soja			Graines de soja			ECTM	P	Durée de chauffage <sup>1</sup>	P					
		non chauffée	chauffée 0,5h	chauffée 6h	non chauffées	chauffées 0,5h	chauffées 6h									
HT	H0,5	H6	GT	G0,5	G6											
<b>Isomères <i>t</i>-C18:1 (mg)</b>																
<i>t4</i> -C18:1	0,06	0,07	0,08	0,07	0,06	0,06	0,08	0,06	0,00	0,18	0,23	0,45				
<i>t5</i> -C18:1	0,05	0,06	0,09	0,06	0,04	0,04	0,05	0,03	0,00	0,00	0,07	0,28				
<i>t6</i> / <i>t7</i> / <i>t8</i> -C18:1	0,40	0,42	0,48	0,44	0,35	0,35	0,40	0,32	0,01	0,00	0,02	0,48				
<i>t9</i> -C18:1	0,22	0,23	0,26	0,26	0,20	0,20	0,23	0,15	0,01	0,00	0,05	0,03				
<i>t10</i> -C18:1	0,29	0,30	0,37	0,40	0,31	0,31	0,37	0,21	0,01	0,01	0,03	0,00				
<i>t11</i> -C18:1	7,27	7,42	7,58	6,90	5,99*	5,99*	6,79	6,63	0,10	0,00	0,18	0,13				
<i>t12</i> -C18:1	0,40	0,48	0,52	0,48	0,32	0,32	0,37	0,27	0,01	0,00	0,10	0,57				
<i>t13</i> / <i>t14</i> -C18:1	-0,02	0,10	0,18*	0,10	-0,17	-0,17	-0,04	-0,16	0,01	0,00	0,01	0,83				
<i>t15</i> -C18:1	0,22	0,27	0,30	0,27	0,16	0,16	0,20	0,16	0,01	0,00	0,30	0,94				
<i>t16</i> -C18:1	0,31	0,39	0,44*	0,39	0,24	0,24	0,34	0,24	0,01	0,00	0,01	0,55				
<b>Isomères CLA (mg)</b>																
<i>t10c12</i> -CLA	0,01	0,06*	0,05*	0,04	0,02	0,02	0,05*	0,05*	0,00	0,28	0,32	0,02				
<i>c9c11</i> -CLA	0,06	0,09	0,07	0,08	0,04	0,04	0,06	0,04	0,00	0,00	0,67	0,09				
<i>c9t11</i> -CLA	0,30	0,98*	0,89*	0,83*	0,11	0,11	0,21	0,21	0,02	0,00	0,88	0,13				
<i>t9t11</i> -CLA	0,05	0,15*	0,17*	0,10	0,05	0,05	0,06	0,04	0,01	0,00	0,07	0,32				
<i>t10</i> totaux	0,30	0,36	0,43*	0,44*	0,34	0,34	0,42*	0,27	0,01	0,00	0,01	0,00				
<i>t11</i> totaux	7,63	8,54	8,64	7,83	6,15*	6,15*	7,06	6,88	0,12	0,00	0,21	0,09				

<sup>1</sup> chauffage à l'étuve

\* significativement différent (P<0,05) de l'addition de graines de soja extrudées (Dunnnett's test)

**Tableau 15. Effets de la forme de présentation et de la durée de chauffage à l'étuve des matières grasses de soja sur les vitesses (mg/l/h) et les efficacités des réactions composant la BH ruminale du c9c12-C18 :2 durant 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide, comparaison aux graines de soja extrudées.**

	Huile de soja						Graines de soja				ECTM	P Forme de présentation	P Durée de chauffage <sup>1</sup>	P Interaction
	non chauffée		chauffée <sup>1</sup>		non chauffées		chauffées <sup>1</sup>		6h	G6				
	HT	0,5h	H0,5	H6	GT	G0,5	G6							
<b>Isomérisation du c9c12-C18:2</b>														
Vi	44,71	52,93	55,57	53,68	51,21	53,92	48,91	0,36	0,00	0,00	0,00	0,18		
Ei	0,75	0,76	0,79	0,77	0,73	0,76	0,69	0,01	0,00	0,00	0,00	0,15		
<b>Réduction des CLA</b>														
Vr1	44,50	51,83	54,56	52,80	51,19	53,74	48,76	0,37	0,03	0,00	0,00	0,16		
Er1	0,99	0,97	0,98	0,98	1,00	0,99	0,99	0,00	0,00	0,00	0,78	0,05		
<b>Réduction des t-C18:1</b>														
Vr2	51,04	57,20	59,57	58,62	61,41	62,66	58,35	0,43	0,02	0,00	0,08	0,14		
Er2	0,84	0,85	0,85	0,86	0,89	0,87	0,88	0,00	0,00	0,00	0,42	0,22		

<sup>1</sup>chauffage à l'étuve

\* significativement différent (P<0,05) de l'addition de graines de soja extrudées (Dunnnett's test)

## 2-2-2. Effets de la durée de chauffage de la matière grasse : 0 vs. 0,5h vs. 6h

Aucun effet n'a été mis en évidence sur les quantités produites pour les AG possédant 6 à 17 carbones (tab 12). Les quantités de *c9c12-C18:2* et de *c9-C18:1* disparues étaient significativement plus grandes, et leur pourcentage de disparition tendait à être plus élevé lors d'un chauffage de 30 minutes par rapport aux autres traitements (tab 13).

Aucun effet de la durée de chauffage n'a été observé pour les CLA (tab 13 et 14). La production de *t-C18:1* totaux a été significativement supérieure pour un chauffage de courte durée (0,5h) par rapport à pas de chauffage ou un chauffage de longue durée (6h), mais cela ne concerne pas tous les isomères : seuls les isomères *t6t7t8*, *t9*, *t10*, *t13t14* et *t16-C18:1* ont été significativement affectés par la durée de chauffage (tab 13 et 14). La production d'isomères *t10* totaux suit la même évolution que le *t10-C18:1* et a été augmentée pour un chauffage de courte durée, mais aucun effet significatif n'a été observé pour les isomères *t11* totaux (tab 14).

Quant aux paramètres cinétiques, ils ont été peu modifiés par la durée de chauffage (tab 15). La vitesse et l'efficacité de la première réaction (isomérisation de *c9c12-C18:2*), ainsi que la vitesse de la deuxième réaction (réduction des CLA) sont augmentées lors d'utilisation de MG chauffées pendant 30min par rapport à celles non chauffées et à celles chauffées 6h.

## 2-2-3. Interaction

Il a été observé peu d'interactions significatives (tab 13 à 15), et lorsqu'elles existaient leur effet était minime. Seules les productions de *t9-C18:1* et de *t10-C18:1* ont montré une interaction significative entre nos deux facteurs amenant à une production significativement inférieure pour les graines de soja chauffées durant 6h par rapport aux autres traitements (tab 14). La production de *t10* totaux a suivi la même évolution que la production de *t10-C18:1*, cependant la valeur obtenue pour les graines chauffées n'était pas significativement mais tendait ( $0.05 < P < 0.10$ ) à être différentes de celles obtenues avec les autres traitements.

## 2-3. Comparaison aux graines de soja extrudées.

L'utilisation de graines de soja extrudées a entraîné une production/disparition des AG relativement voisines de celles obtenues avec l'huile de soja chauffée ou non, notamment

pour C15:0, C15:0ai, C15:0i, C16:0 et C17:0ai (tab 12). Mais les différences observées pour ces AG avec les graines broyées chauffées ou non à l'étuve, n'étaient significatives que pour le C15:0i et le C16:0.

La quantité de *c9*-C18:1 disparu (tab 13) avec les graines extrudées a été inférieure aux quantités disparues avec utilisation d'huile, chauffée ou non, et inférieure à celles obtenues avec les graines crues ou chauffées 6h à l'étuve. Le pourcentage de *c9*-C18:1 disparu avec les graines extrudées était proche de ceux obtenus avec l'huile chauffée ou non, et inférieure à ceux obtenus avec les graines crues ou chauffées 6h à l'étuve.

La quantité de *c9c12*-C18:2 disparu avec les graines extrudées a été plus faible qu'avec l'huile ou les graines crues ou chauffées à l'étuve, mais le pourcentage de *c9c12*-C18:2 disparu était proche de celui obtenu avec les autres formes de soja sauf les graines chauffées à l'étuve 6h, qui ont présenté une valeur inférieure.

La quantité de *c9c12c15*-C18:3 disparu était proche de celles obtenues avec l'huile, chauffée ou non, et inférieure à celles obtenues avec les graines crues ou chauffées à l'étuve, le pourcentage de disparition n'a pas été modifié par la forme de présentation.

La quantité de CLA totaux produits était proche de celle obtenue avec les graines crues et chauffées à l'étuve, et significativement inférieure aux valeurs obtenues avec l'huile, chauffée ou non (tab 13). Ceci était lié principalement aux *c9t11*-CLA et *t9t11*-CLA (tab 14), mais également au *t10c12*-CLA, pour lequel les graines extrudées et les graines crues permettaient la plus faible production. La quantité de *t11c15*-C18:2 produite était proche de celle obtenue avec addition d'huile et significativement supérieure à celles obtenues avec les graines crues ou chauffées à l'étuve.

La quantité de *t*-C18:1 totaux produits (tab 13) était proche de celles obtenues avec l'huile et les graines chauffées à l'étuve, et significativement supérieure à la valeur obtenue avec les graines crues. Ceci était principalement dû à l'isomère *t11*-C18:1 (tab 14). Avec les graines extrudées, il n'y avait pas de production de *t13t14*-C18:1, comme lors d'addition de graines crues ou chauffées à l'étuve.

La quantité d'isomères *t10* produits ont significativement diminué lors d'utilisation de graines extrudées comparativement à l'utilisation d'huile chauffée et de graines chauffées 0,5h à l'étuve (tab 14). La quantité d'isomères *t11* produits était proche de celles obtenues avec l'huile et les graines chauffées à l'étuve, et significativement supérieure à la valeur obtenues avec les graines crues.

La quantité de C18:0 produit avec les graines extrudées est faible, mais non significativement différentes des autres valeurs.

2-4. Effets du chauffage du tourteau de soja.

Le chauffage du tourteau de soja n'a eu aucun effet significatif sur la BH des AG (tab 16).

**Tableau 16. Effets du chauffage du tourteau de soja sur la sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide et de l'huile de soja.**

	Durée de chauffage <sup>1</sup> du tourteau de soja			ECTM	P
	0h	0,5h	6h		
Quantité d'AG produite ou disparue par pot incubé (mg)					
C18:0	35,97	23,69	32,24	2,42	0,15
C18:0i	0,02	0,01	0,00	0,01	0,35
c9-C18:1	-13,51	-13,33	-13,23	0,16	0,76
c11-C18:1	0,26	0,23	0,27	0,02	0,53
c12-C18:1	0,03	0,02	0,03	0,00	0,12
c15-C18:1	0,04	0,03	0,04	0,00	0,77
t-C18:1 totaux	8,09	7,18	7,56	0,36	0,59
CLA totaux	0,78	0,81	0,90	0,04	0,51
c9c12-C18:2	-43,09	-42,15	-42,24	0,38	0,55
t11c15-C18:2	0,11	0,10	0,11	0,01	0,59
c9c12c15-C18:3	-6,31	-6,20	-6,21	0,05	0,60
t10 totaux	0,73	0,51	0,65	0,07	0,45
t11 totaux	5,89	5,57	5,83	0,15	0,67
Disparition (%)					
c9-C18:1	68,47	67,40	66,65	0,81	0,66
c9c12-C18:2	79,99	78,03	78,17	0,71	0,47
c9c12c15-C18:3	80,31	78,70	78,82	0,61	0,50

<sup>1</sup>chauffage à l'étuve

2-5. Effets d'une conservation 3 mois à la ferme.

L'effet a été faible (tab 17). Les graines conservées à l'étable ont entraîné une augmentation de la quantité et du pourcentage d'AG insaturés disparus : soit globalement + 2,14mg d'AG insaturés disparus, et + 2,7 points de pourcentage de disparition.

**Tableau 17. Effets d'une conservation de 3 mois à la ferme des graines de soja extrudées sur la production (valeurs positives) ou la disparition (valeurs négatives) des acides gras à 18 carbones (mg), et les pourcentages de disparition des acides oléique, linoléique et alpha-linolénique après 6h d'incubation avec du contenu ruminal liquide et de l'huile de soja.**

	Conservation des graines de soja extrudées (3mois)		ECTM	P
	Congélateur -80°C	Etable température ambiante		
Quantité d'acide gras produite ou disparue par pot incubé (mg)				
C18:0	22,19	17,06	2,62	0,35
C18:0i	0,05	0,05	0,00	0,30
c9-C18:1	-9,76	-10,38	0,12	0,03
c11-C18:1	0,27	0,20	0,03	0,13
c12-C18:1	0,17	0,19	0,01	0,56
c15-C18:1	0,08	0,07	0,00	0,12
t-C18:1 totaux	16,28	15,69	0,37	0,45
CLA totaux	0,87	0,83	0,02	0,25
c9c12-C18:2	-36,91	-38,14	0,25	0,03
t11c15-C18:2	0,42	0,39	0,01	0,17
c9c12c15-C18:3	-9,51	-9,80	0,05	0,02
t10 totaux	0,62	0,55	0,05	0,52
t11 totaux	13,98	13,56	0,20	0,32
Disparition (%)				
c9-C18:1	47,61	50,80	0,60	0,02
c9c12-C18:2	64,77	67,35	0,42	0,01
c9c12c15-C18:3	66,52	68,79	0,37	0,01

### 3. Discussion

#### 3-1. Effets de la forme de présentation des matières grasses

Avec les graines, la quantité d'AG impairs produits a été plus importante qu'avec les huiles. Les AG impairs et ramifiés sont le reflet de l'activité bactérienne (Vlaeminck *et al.*, 2006). Ils sont synthétisés par des bactéries amylolytiques et fibrolytiques (Ifkovits et Ragheb, 1968). L'activité des bactéries est donc supérieure avec les graines qu'avec l'huile de soja. En fait, les AGPI ont un effet toxique sur les bactéries ruminales, principalement les bactéries fibrolytiques (Nagaraja *et al.*, 1997), et en particulier le *c9c12-C18:2* (Maia *et al.*, 2007). Ainsi, les effets sont plus marqués avec l'huile qu'avec les graines, car la MG des graines est intracellulaire et donc les micro-organismes doivent digérer les membranes cellulaires végétales pour libérer les AG. La libération des AG étant plus lente avec les graines qu'avec l'huile, la « détoxification » des AGPI, c'est-à-dire leur hydrogénation, se fait progressivement et donc il y a une moindre accumulation d'AGPI, c'est pourquoi l'effet toxique sur les bactéries est plus faible avec les graines qu'avec l'huile.

Les effets observés sur le *c9-C18:1* (quantité disparue plus importante avec l'huile) et sur le *c9c12c15-C18:3* (quantité disparue plus importante avec les graines), sont au moins en partie liés à une différence de quantité initiale entre l'huile et les graines de soja qui n'ont pas la même origine. Les graines étaient initialement plus riches en *c9c12c15-C18:3* et l'huile en *c9-C18:1* (tab 10). Par contre les graines et les huiles avaient la même quantité initiale en *c9c12-C18:2*. La quantité et le pourcentage de *c9c12-C18:2* disparu ont été supérieurs avec l'huile par rapport aux graines, donc la BH de *c9c12-C18:2* a été meilleure avec l'huile. En effet, dans les graines la MG est protégée par les membranes cellulaires végétales que les micro-organismes doivent préalablement digérer avant de libérer les acides gras. La lipolyse, préalable indispensable à la BH des AGPI, se fait donc progressivement et l'isomérisation est donc plus lente et moins efficace (sur 6h d'incubation) avec les graines qu'avec l'huile :  $V_i = 51$  vs.  $54$  mg/l/h et  $E_i = 73$  vs.  $77$  % (tab 15). Cette protection des AGPI par les structures végétales a déjà été rapportée (Chilliard *et al.*, 2000). Cependant ces différences sont faibles et l'isomérisation a été globalement bonne pour cette durée d'incubation, comparativement à de précédents résultats où  $E_i$  était en moyenne de 46% *in vitro* avec de l'huile (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b) et 43% *in sacco* des graines crues et chauffées (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006).



L'accumulation d'intermédiaires CLA et *t*-C18:1 a été plus importante avec l'huile qu'avec les graines de soja. Cette accumulation était observée pour tous les isomères *t*-C18:1 sauf le *t*4-C18:1, et pour les isomères CLA dont les doubles liaisons étaient en position 9 et 11 (tab 14). Cette meilleure production est liée au moins en partie à la plus grande quantité de *c*9*c*12-C18:2 isomérisé (étape indispensable aux réductions suivantes) avec l'huile. Néanmoins, une différence significative des vitesses et surtout des efficacités des deux réductions a été notée entre les deux formes de présentation (tab 15). Si les différences étaient significatives, elles étaient très faibles pour la première réaction, et l'efficacité était globalement excellente. Aussi il est difficile de conclure à une quelconque altération de cette réaction. L'accumulation des CLA n'était probablement que le fait d'une meilleure isomérisation. Par contre les différences étaient numériquement un peu plus importantes pour la seconde réduction : Vr2 = 58 vs. 61 mg/l/h et Er2 = 85 vs. 88 % pour l'huile et les graines respectivement. Les valeurs étant significativement plus faibles avec l'huile qu'avec les graines, soulignant une inhibition de la seconde réduction dans les cultures avec de l'huile. Cette inhibition a déjà été observée lors d'accumulation de CLA (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b). La quantité de C18:0 était toutefois plus importante avec l'huile, mais C18:0 est également le produit de la BH de *c*9-C18:1, dont la disparition était plus importante dans les pots avec de l'huile (tab 13). Les faibles différences numériques observées peuvent là encore être dues à des conditions exceptionnelles de BH conduisant à des réactions très efficaces, notamment pour la seconde réduction (étape limitante habituellement) comparativement à de précédents résultats où Er2 était en moyenne de 68% *in vitro* avec de l'huile (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006b) et ou 50% *in sacco* des graines crues et chauffées (Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006). La forme de présentation n'a pas eu d'influence sur le choix de la voie de BH. Les productions des isomères *t*10 et *t*11 ont été augmentées dans les mêmes proportions : × 1,21 vs. × 1,24, respectivement (tab 14).

### 3-2. Effet de la durée de chauffage des matières grasses, interactions avec la forme de présentation.

Un chauffage de faible durée (30min) a entraîné une augmentation de la disparition de *c*9*c*12-C18:2 et *c*9-C18:1 par rapport aux MG non chauffées et chauffées pendant 6h. En parallèle, seules les productions de *t*-C18:1 et de *t*11*c*15-C18:2 montrent une augmentation significative pour 30min de chauffage. Les différences observées étaient numériquement faibles car la BH a été très efficace dans nos milieux, et moins importantes que celles obtenues avec le facteur

« forme de présentation ». Cependant, un effet significatif de la durée de chauffage a été observé sur l'isomérisation qui présente une vitesse et une efficacité supérieures pour les MG chauffées 30min par rapport aux MG non chauffées et chauffées pendant 6h. Un effet significatif a également été noté pour la Vr1, mais Er1 étant la même pour tous les traitements de MG, l'augmentation de Vr1 avec les MG chauffées 30min résultait de l'augmentation de l'isomérisation apportant plus de substrat pour la réduction des CLA en *t*-C18:1. C'est pourquoi la production de *t*-C18:1 était plus importante dans les milieux avec les MG chauffées 30min par rapport aux MG non chauffées et chauffées pendant 6h, car en parallèle, la troisième réaction (réduction des *t*-C18:1 en C18:0) n'était pas modifiée par la durée de chauffage, donc les *t*-C18:1 se sont accumulés dans ces milieux.

L'augmentation de l'isomérisation pour les MG chauffées 30 min pourrait s'expliquer par une augmentation de l'hydrolyse spontanée des lipides (ou rancissement hydrolytique), induite par le chauffage des lipides. Les AG ainsi libérés étaient plus disponibles pour la BH. Ainsi un chauffage de 30 min pourrait être suffisant pour provoquer un rancissement hydrolytique mais n'aurait pas généré suffisamment de produits d'oxydation (tab 11) pour induire une altération de la BH.

Un chauffage de 30 min a donc permis d'augmenter l'isomérisation de *c9c12*-C18:2, et le chauffage de 6h n'a pas permis une protection efficace de cet AG contre la BH, et n'est légèrement visible que pour les graines chauffées 6h. Des études antérieures ont pourtant démontré un effet protecteur plus important du chauffage (Reddy *et al.*, 1994 ; Chouinard *et al.*, 1997 ; Troegeler-Meynadier *et al.*, 2006), mais leur température de chauffage oscillaient entre 140 et 160°C. Pour une température avoisinant les 120°C (température de notre extrusion et de notre chauffage), aucun effet protecteur n'avait été noté dans d'autres études (Akraim *et al.*, 2006 ; Neves *et al.*, 2007). Par ailleurs, une étude antérieure a montré une diminution significative de la production des isomères CLA et *t*-C18:1 avec une huile chauffée 6h à 150°C, liée à l'inhibition de la réaction d'isomérisation (Privé *et al.*, 2010), notamment comparée à un chauffage de 6h à 110°C.

Il est donc important de considérer le couple durée et température de chauffage :

- 30 min à 125°C : augmentation de l'isomérisation de *c9c12*-C18:2 avec accumulation des produits intermédiaires de la BH
- 6h à 150°C : diminution de l'isomérisation de *c9c12*-C18:2 avec diminution de la production des produits intermédiaires de BH

Néanmoins, la durée de chauffage n'a pas eu les mêmes effets sur tous les intermédiaires de la BH, et il existe une différence entre les isomères *t*-C18:1, notamment entre les isomères *t*10 et *t*11. Aucun effet de la durée de chauffage n'a été observé sur la production d'isomères *t*11, tandis que la production d'isomères *t*10 a été augmentée avec un chauffage de 30 min. En outre il existe une interaction significative entre la forme de présentation et la durée de chauffage pour les *t*10. Pour l'huile, le chauffage a induit une augmentation de la production de *t*10 quelque soit la durée de chauffage. Ce résultat est en accord avec l'étude de Privé *et al.* (2010), dans laquelle il a été démontré que l'augmentation de la production de *t*10 dépendait uniquement de la température de chauffage de l'huile et non de la durée de chauffage. Pour les graines, l'augmentation de la production de *t*10 n'est significativement augmentée qu'à 30min de chauffage, cette évolution étant principalement liée au *t*10-C18:1. Or la production de *t*-C18:1 est augmentée pour 30min de chauffage (cf. ci-dessus). Ainsi l'augmentation de la production de *t*10-C18:1, et donc d'isomères *t*10 pour les graines chauffées 30min est due à l'augmentation de la production de *t*-C18:1 totaux induite par l'augmentation de l'isomérisation : le *t*10-C18:1 représente 4,13 % des *t*-C18:1 pour les graines non chauffées et 4,22 % des graines chauffées 30min, et diminue à 2,65 % pour les graines chauffées 6h. Avec le chauffage des graines, il n'y pas eu d'augmentation spécifique des isomères *t*10 contrairement à ce qui se produit avec l'huile, cette production est même diminuée pour 6h de chauffage.

La production d'isomères *t*11 dépend de la teneur en produits d'oxydation générés par le chauffage, et une diminution de leur production se produit pour des valeurs élevées d'IP, soit des huiles oxydées à 238 mEq O<sub>2</sub>/kg MB pour Privé *et al.* (2010) et à 240 mEq O<sub>2</sub>/kg MB pour Vasquez-Anon *et al.* (2008). Or dans nos MG chauffées, les produits d'oxydation étaient présents en moins grandes quantités : IP < 10 mEq O<sub>2</sub>/kg MG pour les MG non chauffées ou chauffées 30min, autour de 50 mEq O<sub>2</sub>/kg MG pour les huiles chauffées 6h, et probablement en quantités insuffisantes pour provoquer une inhibition marquée de la production d'isomères *t*11. Cependant, l'évolution de la production d'isomères *t*11 tendait à être différente entre l'huile et les graines (P interaction = 0,09). Pour l'huile chauffée 6h, la plus oxydée, la production de *t*11 était diminuée notamment par rapport aux graines non chauffées, pour une disparition de *c*9*c*12-C18:2 à peu près similaire. Pour les graines chauffées 6h, la production de *t*11 était certes numériquement diminuée par rapport aux graines chauffées 30min, mais se maintenait supérieure à la production obtenue avec les graines non chauffées. Avec le chauffage des graines il n'y pas eu d'inhibition de la production d'isomères *t*11 contrairement à ce qui se produit avec l'huile. Ainsi avec l'huile la relation linéaire démontrée dans l'étude

de Privé *et al.* (2010) entre la production de  $t11$  et l'IP a été retrouvée dans cette étude : quantité de  $t11$  produits en mg / pot =  $-0,015 \text{ IP} + 8.143$  ( $R^2 = 0,868$  ;  $P = 0,025$ ), alors qu'avec les graines cette relation n'a pas été mise en évidence ( $P = 0,522$ ).

Les différences obtenues entre huiles chauffées et graines chauffées peuvent s'expliquer d'une part par la différence d'IP : les valeurs sont supérieures pour les huiles à traitement équivalent. Les MG des graines étaient mieux protégées contre l'oxydation. Par ailleurs, dans les graines, une fois formés, les produits d'oxydation, notamment les hydroperoxydes et les aldéhydes, peuvent se lier à d'autres composants, dont les protéines (Cillard et Cillard, 2006), ce qui pourrait les rendre inactifs sur la BH.

### 3-3. Effet du type de chauffage appliqué aux matières grasses : extrusion vs. chauffage à sec

Les quantités d'AGI disparues sont plus faibles avec les graines extrudées, mais cela était lié à des quantités initiales en AGI plus faibles, probablement car une perte d'AGI se produit pendant l'extrusion. Les pourcentages de disparition étaient identiques à ceux obtenus avec l'huile et les graines non chauffées et les graines chauffées 30min. La production de CLA était proche de celles obtenues avec les graines et inférieure à celles obtenues avec les huiles, la production de  $t\text{-C18:1}$  et d'isomères  $t11$  était comparable à celle obtenue avec les huiles et les graines chauffées 30min et supérieure à celle obtenue avec les graines non chauffées. Les effets des graines extrudées se rapprochaient donc plutôt des effets des graines chauffées 30min à 125°C, donc des graines ayant subies un traitement thermique non identique mais proche. En effet, le programme de température n'était pas le même et pourrait notamment expliquer que la production d'isomères  $t10$  dépendante de la température de chauffage (Privé *et al.*, 2010) soit restée faible avec les graines extrudées.

L'extrusion provoque une libération des MG contenues dans les graines, ce qui permet notamment d'expliquer les pertes en AG observées. Ces MG libres sont plus sensibles à l'oxydation, c'est pourquoi les graines extrudées présentaient un IP supérieur aux graines chauffées 30min (tab 11). Néanmoins, cet effet de l'extrusion sur les MG des graines reste insuffisant pour expliquer les effets de l'extrusion sur la BH, et ne permet pas d'expliquer les différences observées entre les études utilisant des graines extrudées, notamment en termes de protection des AGPI contre la BH. Mais les conditions d'extrusion sont très différentes entre ces études. Dans notre étude, les effets des graines extrudées étant proches des effets des graines chauffées 30min, leur action pourrait être la même et donc les effets des graines

extrudées seraient plutôt dus à une hydrolyse spontanée des TG induite par le chauffage qu'à une libération des MG contenus dans la graine. Par ailleurs, dans notre étude, les graines extrudées présentaient un IP de 29 mEq O<sub>2</sub>/kg MG, contre 5 mEq O<sub>2</sub>/kg MG pour les graines chauffées 30 min, mais probablement insuffisant pour perturber visiblement la BH. Pour des températures d'extrusion plus élevées générant une plus forte oxydation, nous ne pouvons écarter un effet différent des graines extrudées liées à la présence d'une plus grande quantité de produits d'oxydation par rapport aux graines chauffées.

Ainsi, il est important de prendre en considération la durée du traitement appliqué à la graine, c'est-à-dire la durée totale de l'extrusion, maturation comprise, et surtout la température de chauffage.

#### 3.4- Effet du chauffage de la source de protéines (= tourteau de soja)

Le chauffage du tourteau de soja donc des protéines de soja, indépendamment des MG, n'a pas eu d'effet sur la BH. Seules les protéines intrinsèques à l'aliment interviendraient, et donc lipides et protéines doivent être chauffés en même temps. En effet, l'action des produits d'oxydation (hydroperoxydes et aldéhydes) sur les protéines s'apparente à une réaction de Maillard (attaque du groupement NH<sub>2</sub> d'une LYS) (Cillard et Cillard, 2006).

#### 3.5- Effet d'une conservation de 3 mois à l'étable

La conservation des graines extrudées a augmenté les quantités et les pourcentages de disparition des AGI, sans autres conséquences sur la BH et en particulier sur la production d'intermédiaires. Dans des conditions de conservation correctes et de faible durée, il a pu se produire un rancissement hydrolytique, ou hydrolyse spontanée des lipides, rendant plus disponibles les AGI pour la BH.



---

## Conclusion

---

Chez la vache, l'apport de *c9c12-C18:2* permet la synthèse ruminale de CLA et *t11-C18:1*, converti ultérieurement en *c9t11-CLA* par la glande mammaire, le tout conduisant à une augmentation des quantités de CLA dans le lait. Toutefois les quantités produites au niveau ruminale varient en fonction de la forme de présentation de la MG et du traitement thermique qu'elle a pu préalablement subir. Notre thèse se proposait donc de préciser les effets de la forme de présentation de la MG, ainsi que du type et de la durée de chauffage des MG sur la BH ruminale. A cette fin, de l'huile et des graines de soja riches en *c9c12-C18:2* ont été utilisées.

La forme de présentation de la MG a influencé globalement la BH du *c9c12-C18:2*, et notamment les quantités d'intermédiaires de BH produits. En raison d'une accessibilité des MG plus faible avec les graines qu'avec l'huile, l'isomérisation du *c9c12-C18:2* était moins importante, induisant une moindre disponibilité en substrat pour les réactions suivantes, et donc une moindre production d'intermédiaires. Par ailleurs, ce paramètre n'a favorisé aucune voie de la BH du *c9c12-C18:2*, *t11* ou *t10*. L'effet durée de la durée de chauffage est dépendant de la température de chauffage : comparativement à une température et une durée élevées, un chauffage court et une température moins élevée (125°C) serait suffisant pour provoquer une lipolyse donc favoriser l'accessibilité des MG à la BH mais ne générerait pas assez de produits d'oxydation pour perturber la BH. Le chauffage de l'huile a favorisé la voie *t10* de la BH au détriment de la voie *t11*, mais cet effet n'a pas été observé avec l'utilisation de graines. L'extrusion a eu un effet positif sur la production des isomères *t11-C18:1* et *c9t11-CLA*, qui se rapprochait des conclusions observées pour un chauffage à sec pendant 30 minutes des graines. Cet effet serait donc plutôt lié à une lipolyse qu'à une libération des MG de la graine par altération des structures végétales lors de l'extrusion. Le couple température et durée de chauffage serait donc plus important à considérer que le type de chauffage. Ainsi pour l'extrusion il convient de prendre en considération la durée totale du traitement (maturation + extrusion) et la température maximale atteinte.

Les MG des graines sont moins sensibles au phénomène d'oxydation durant le chauffage, et ne favorise pas la voie *t10* de la BH au détriment de la voie *t11*, au contraire des huiles chauffées. Un chauffage modéré (125°C) et court ( $\leq 30$  minutes) de graines de soja riches en *c9c12-C18:2*, permet donc une augmentation de la production ruminale d'isomères *t11*, et en particulier de *t11-C18:1*, sans augmentation des isomères *t10*.

Direction de l'Enseignement et de la Pédagogie

**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**Mlle PUAUT Stéphanie, Catherine**  
a été admis(e) sur concours en : 2004  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 11 Juin 2009  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

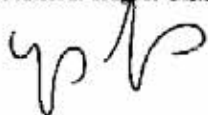
**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

Je soussignée, Annabelle TROGGLER-MEYNADIER, Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
autorise la soutenance de la thèse de :  
**Mlle PUAUT Stéphanie, Catherine**  
intitulée :  
« Effets du chauffage des matières grasses sur la biohydrogénation ruminale de l'acide linoléique : Etude *in vitro* »


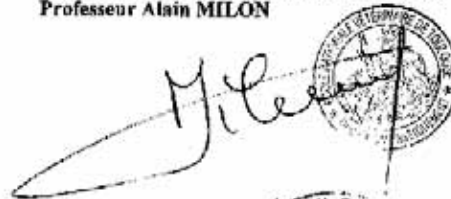
**Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Annabelle TROGGLER-MEYNADIER**



**Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Hugues CHAP**



**Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON**



**Vu le : 13 DEC. 2016  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier  
Professeur Gilles FOURANIER**





---

## Bibliographie

---

ABUGHAZALEH A.A., SCHINGOETHE D.J., HIPPEN A.R., KALSCHEUR K.F., WHITLOCK L.A. : Fatty acids profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2266-2276.

AGENAS S., HOLTENIUS K., GRIINARI M., BURSTED E. : Effects of turnout to pasture and dietary fat supplementation on milk fat composition and conjugated linoleic acid in dairy cows. *Acta Agric. Scand.*, 2002, **52**, 25-33.

AKRAIM F., NICOT M.C., WEILL P., ENJALBERT F. : Effects of preconditioning and extrusion of linseed on the ruminale biohydrogénation of fatty acids. 2. In vitro and in situ studies. *Anim. Res.*, 2006, **55**, 261-271.

BAUMAN D.E., BAUMGARD L.H., CORL B.A., GRIINARI J.M. : Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *In* : Proceedings of the American Society of Animal Science, Indianapolis, 1999, 1-15.

BAUMAN D.E., GRIINARI J.M. : Regulation and nutritional regulation of milk fat: Low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.*, 2001, **70**, 15-29.

BAUMAN D.E., PERFIELD II J.W., DE VETH M.J., LOCK A. : New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr. Conf.*, 2003, 175-189.

BAUMAN D.E., LOCK A.L., CORL B.A., IP C., SALTER A.M., PARODI P.W. : Milk fatty acids and human health: potential role of conjugated linoleic acid and trans fatty acids. *In*: K. SEJRSEN, T. HVELPLUND, M.O. NIELSEN (eds) : Ruminant physiology - Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress, Wageningen Academics Publishers, 2006, 529-561.

BERSET C. : Influence de la cuisson-extrusion sur les lipides et les pigments. *In* : P. COLONNA, G. DELLA VALLE (eds) : La cuisson-extrusion, Lavoisier, Paris, 1994, 142-164.

BUCHGRABER M., ULBERTH F., EMONS H., ANKLAM E. : Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004, **106**, 621-648.

CHAPOUTOT P., SAUVANT D. : Nutritive value of raw and extruded pea-rapeseed blends for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1997, **65**, 59-77.

CHILLIARD Y., FERLAY A., MANSBRIDGE R.M., DOREAU M. : Ruminant milk fat plasticity : nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.*, 2000, **49**, 181-205.

CHILLIARD Y., FERLAY A., 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, **14**, 323-335.

CHILLIARD Y., FERLAY A. : Dietary lipids and forage interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2004, **44**, 467-492.

CHIN S.F., LIU W., STORKON J.M., HA Y.L., PARIZA M.W. : Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Comp. Anal.*, 1992, **5**, 185-197.

CHOUINARD P.Y., LEVESQUE J., GIRARD V., BRISSON J. : Dietary soybeans extruded at different temperatures: milk composition and in situ fatty reactions. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 2913-2925.

CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., SAEBO A., BAUMAN D.E. : Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acid in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 2737-2745.

CHOUINARD P.Y., CORNEAU L., BUTLER W.R., CHILLIARD Y., DRACKLEY J.K., BAUMAN D.E. : Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 680-690.

CILLARD J., CILLARD P. : Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydants. *OCL*, 2006, **13**, 24-29.

CLEMENT L., POIRIER H., NIOT I., BOCHER V., GUERRE-MILLO M., KRIEF S., STAELS B., BESNARD P. : Dietary trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. *J. Lipid Res.*, 2002, **43**, 1400-1409.

CLINQUART A., ISTASSE L., VAN EENAEME C., DIEZ M., DUFRASNE I., BIENFAIT J.M. : Influence de l'extrusion de mélanges de graines de lin et d'orge, de graines de pois et de colza, et de fèves de soja, sur la dégradabilité dans le rumen de leurs fractions azotée et lipidique et sur leur composition en acides gras. *Ann. Zootech.*, 1993, **41**, 130-131.

COUVREUR S., HURTAUD C. : Le globule gras du lait: sécrétion, composition, fonctions et facteurs de variation. *INRA Prod. Anim.*, 2007, **20**(5), 369-382.

CUVELIER C., CABAREAUX J.F., DUFRASNE I., HORNICK J.L., ISTASSE L. : Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Med. Vet.*, 2004, **148**, 133-140.

DHIMAN T.R., HELMINK E.D., MCMAHON D.J., FIFE R.L., PARIZA M.W. : Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 412-419.

DHIMAN T.R., SATTER L.D., PARIZA M.W., GALLI M.P., ALBRIGHT K., TOLOSA M.X. : Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 1016-1027.

ENGLE T.E., SPEARS J.W. : Effects on soybean oil and dietary copper on ruminal and tissue lipid metabolism in finishing steers. *J. Anim. Sci.*, 2000, **78**, 2713-2721.

ENGLE T.E., FELLNER V., SPEARS J.W. : Copper status, serum cholesterol, and milk fatty acid profile in Holstein cows fed varying concentrations of copper. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2308-2313.

- ENJALBERT F., EYNARD P., NICOT M.C., TROEGELER-MEYNADIER A., BAYOURTHE C., MONCOULON R. : *In vitro* versus *in situ* ruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids from a raw or extruded mixture of ground canola seed/canola meal. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 351-359.
- GRIINARI, J.M., DWYER, D.A, MCGUIRE, M.A., BAUMAN, D. E., PALMQUIST, D. L., NURMELA, K.V.V. : Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1998, 81 : 1251-1261.
- GRIINARI J.M., CORL B.A., LACY S.H., CHOUINARD P.Y., NURMELA K.V.V., BAUMAN D.E. : Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by  $\Delta^9$ -Desaturase. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2285-2291.
- GRIINARI J.M., BAUMAN D.E. : Milk fat depression: concepts, mechanisms and management applications. *In*: K. SEJRSEN, T. HVELPLUND, M.O. NIELSEN (eds) : Ruminant physiology - Digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress, Wageningen Academic Publishers, 2006, 389-420.
- HA Y.L., GRIMM N.K., PARIZA M.W. : Anticarcinogens from fried ground beef : Heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis*. 1987, **8**, 1881-1887.
- HA, Y. L. , STORKSON, J., PARIZA, M. W. : Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer res.*, 1990, **50**,1097.
- HARFOOT C.G., HAZLEWOOD G.P. : Lipid metabolism in the rumen. *In* : HOBSON P.N. : The Rumen Microbiological Ecosystem. Elsevier Applied Sci. Publishers, London, 1988, 285-332.
- HARFOOT C.G., HAZLEWOOD G.P. : Lipid metabolism in the rumen. *In* : 2<sup>nd</sup> Edition HOBSON P.N., STEWART C.S. (eds) : The rumen microbiological ecosystem. Blackie Acad. Prof., London, 1997, 382-426.
- HAUG A., HØSTMARK A.T., HARSTAD O.M. : Bovine milk in human nutrition - a review. *Lipids in Health and Disease*, 2007, 6-25. (en ligne sur [<http://www.lipidworld.com/content/6/1/25>], page consultée le 05/05/2008).
- HUBBARD N.E., LIM D., SUMMERS L., ERICKSON K.L. : Reduction of murine mammary tumor metastasis by conjugated linoleic acid. *Cancer Lett.*, 2000, **150**, 93-100.
- IFKOVITS R.W., RAGHEB H.S. : Cellular fatty acid composition and identification of rumen bacteria. *Appl. Microbiol.*, 1968, **16**, 1406-1413
- INRA. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. D. SAUVANT, J.M. PEREZ, G. TRAN (eds). INRA Editions, 2002, 301p.
- IP M.M., McGEE S.O., MASSO-WELCH P.A., IP C., MENG X., OU L., SHOEMAKER S.F. : The t10,c12 isomer of conjugated linoleic acid stimulates mammary tumorigenesis in

transgenic mice over-expressing erbB2 in the mammary epithelium. *Carcinogenesis*, 2007, **28**(6), 1269- 1276.

JOUANY, J.P., Lassalas, B.; M. Doreau, M., and Glasser, F. : Dynamic features of the rumen metabolism of linoleic acid, linolenic acid and linseed oil measures in vitro. *Lipids.*, 2007, **42**, 351-360.

KAY J.K., MACKLE T.R., AULDIST M.J., THOMSON N.A., BAUMAN D.E. : Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy Sci.*, 2004, **87**, 369-378.

KAY J.K., ROCHE J.R., KOLVER E.S., THOMSON N.A., BAUMGARD L.H. : A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J. Dairy Res.*, 2005, **72**, 322-332.

KELLY M.L., BERRY J.R., DWYER D.A., GRIINARI J.M., CHOUNARD P.Y., VAN AMBURGH M.E., BAUMAN D.E. : Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.*, 1998, **128**, 881-885.

KEMP P., LANDER D.J. : Hydrogenation in vitro of  $\alpha$ -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J Gen. Microbiol.*, 1984, **130**, 527-533.

KEPLER C.R., TOVE S.B. : Biohydrogenation of unsaturated fatty acids: purification and properties of a linoleate  $\_12$  cis –  $\_11$  trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 1967, **242**, 5686-5692.

KIM, Y.J., LIU, R.H., RYCHLIK, J.L., RUSSELL, J.B., The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid., 2002, *J. Appl. Microbiol.*, **92**, 976 – 982.

KRITCHEVSKY D. : Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *Br. J. Nutr.*, 2000, **83**, 459-465.

LOOR, J.J., and HERBEIN, J.H., Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows., 2003, *Anim. Feed Sci. Technol.*, **103**, 63 – 83.

MAIA, M.R.G., CHAUDHARY, L.C., FIGUERES, L., WALLACE, R.J., Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2007, **91**:303-314.

MENG X., SHOEMAKER S.F., McGEE S.O., IP M.M. : t10c12-Conjugated linoleic acid stimulates mammary tumor progression in Her2/ErbB2 mice through activation of both proliferative and survival pathways. *Carcinogenesis*, 2008, **29**(5), 1013-1021.

NAGARAJA T.G., NEWBOLD C.J., VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I. : *In* : 2<sup>nd</sup> Edition Hobson P.N., STEWART C.S. : Rumen microbial ecosystem., Blackie Acad. Prof., London, 1997, 523-632.

NEVES C.A., SANTOS G.T., MATSUSHITA M., ALVES E.M., OLIVEIRA R.L., BRANCO A.F., SILVA D.C., FURLAN A.C., PETIT H.V. : Intake, whole tract digestibility, milk production, and milk composition of Holstein cows fed extruded soybeans treated with or without lignosulfate. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2007, **134**, 32-44.

OR-RASHID M.M., ODONGO N.E., SUBEDI B., KARKI P., MCBRIDE B.W. : Fatty acid composition of yak (*Bos grunniens*) cheese including conjugated linoleic acid and *trans*-18:1 fatty acids. *J. of Agri. and Food Chem.*, 2008, **56**, 1654-1660.

O'SHEA M., LAWLESS F., STANTON C., DEVERY R. : Conjugated linoleic acid in bovine milk fat: a food-based approach to cancer chemoprevention. *Trends in Food Science & Technology*, 1998, **9**, 192-196.

PARK P.W., GOINS R.E. : In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *J. Food Sci.*, 1994, **59**(6), 1262-1266.

PARODI P.W. : Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 1055-1060.

PARODI P.W. : Conjugated linoleic acid and other anti-carcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.*, 1999, **82**, 1339-1349.

PERFIELD J.W., BERNAL-SANTOS G., OVERTON T.R., BAUMAN D.E. : Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 2609-2617.

PETERSON D.G., BAUMGARD L.H., BAUMAN D.E. : Short communication: milk fat response to low doses of *trans*-10, *cis*-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 1764-1766.

PIPEROVA, LS., SAMPUGNA, J., TETER, BB., KALSHEUR, KF., YUCAWECZ, MP., KU, Y., MOREHOUSE, KM., ERDMAN, RA. : Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of *cis*-9 containing CLA in lactating dairy cows. *J Nutr.*, 2002, **132**, 1235 – 1241.

POLAN C.E., McNEILL J.J., TOVE S.B. : Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bact.*, 1964, **88**(4), 1056-1064.

POTTIER J., FOCANT M., DEBIER C., DE BUYSSER G., GOFFE C., MIGNOLET E., FROIDMONT E., LARONDELLE Y. : Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high fat diets. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**, 685--692.

PRIVE F., COMBES S., CAUQUIL L., FARIZON Y., ENJALBERT F., TROEGELER-MEYNADIER A. : Temperature and duration of heating of sunflower oil affect ruminal biohydrogenation of linoleic acid *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 2010, **93**, 711-722.

REDDY P.V., MORRILL J.L., NAGARAJA T.G. : Release of free fatty acids from raw or

processed soybeans and subsequent effects on fibre digestibilities. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3410-3416.

RISERUS U., ARNER P., BRISMAR K., VESSBY B. : Treatment with dietary *trans*10*cis*12 conjugated linoleic acid causes isomer-specific insulin resistance in obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 2002, **25**, 1516-1521.

SCHROEDER G.F., DELAHOY J.E., VIDAURRETA I., BARGO F., GAGLIOSTRO G.A., MULLER L.D. : Milk fatty acids composition of cows fed a total mixed ration or pasture plus concentrates replacing corn with fat. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**, 3237-3248.

SEHAT N., KRAMER J.K., MOSSOBA M.M., YURAWECZ M.P., ROACH J.A., EULITZ K., MOREHOUSE K.M., KU Y. : Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids*, 1998, **33**, 963-971.

SOL-MORALES M., PALMQUIST D.L., WEISS W.P. : Effects of fat source and copper on unsaturation of blood and milk triacylglycerol fatty acids in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, 2000, **83**, 2105-2111.

TROEGELER-MEYNADIER A., ENJALBERT F. : Les acides linoléiques conjugués : 1. Intérêts biologiques en nutrition. *Revue Méd. Vét.*, 2005a, **156**(4), 207-216.

TROEGELER-MEYNADIER A., ENJALBERT F. : Les acides linoléiques conjugués : 2. Origines et effets sur les productions animales. *Revue Méd. Vét.*, 2005b, **156**(5) 281-288.

TROEGELER-MEYNADIER A., ENJALBERT F. : Les acides linoléiques conjugués : 3. Facteurs de variation des teneurs dans le lait et les produits laitiers. *Revue Méd. Vét.*, 2005c, **156**(6), 323-331.

TROEGELER-MEYNADIER A., NICOT M.C., ENJALBERT F. : Effects of heating process of soybeans on ruminal production of conjugated linoleic acids and *trans*-octadecenoic acids *in situ*. *Revue Méd. Vét.*, 2006, **157**(10), 509-514.

TROEGELER-MEYNADIER A., BRET-BENNIS L., ENJALBERT F. : Rates and efficiencies of reactions of ruminal biohydrogenation of linoleic acid according to pH and polyunsaturated fatty acids concentrations. *Reprod. Nutr. Dev.*, 2006b, **46**, 713-724.

TROEGELER-MEYNADIER A., NICOT M.C., ENJALBERT F. : Effect of fat source and dietary sodium bicarbonate plus straw on the conjugated linoleic acid content of milk of dairy cows. *Arch. Anim. Nutr.*, 2007, **61**(5), 406-415.

TSUBOYAMA-KASAOKA N., MIYAZAKI H., KASAOKA S., EZAKI O. : Increasing the amount of fat in a conjugated linoleic acid-supplemented diet reduces lipodystrophy in mice. *J. Nutr.*, 2003, **133**, 1793-1799.

UNIVERSITE DE SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE. (Page consultée le 12 Septembre 2010). Propriétés fonctionnelles et nutritionnelles des molécules impliquées en industries agroalimentaires [en ligne]. Adresse URL : [Biochim-agro.univ.lille.fr](http://Biochim-agro.univ.lille.fr)

VAN DE VOSSENBERG, J.L.C.M., JOBLIN K.N. : Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2003, 37:424 – 428.

VAN NEVEL C.J., DEMEYER D.I. : Influence of pH on lipolysis and biohydrogénation of soybean oil by rumen contents *in vitro*. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1996, **36**, 53-63.

VASQUEZ-ANON M., NOCEK J., BOWMAN G., HAMPTON T., ATWELL C., VASQUEZ P., JENKINS T. : Effects of feeding a dietary antioxidant in diets with oxidized fat on lactation performance and antioxidant status of the cow. *J. Dairy Sci.*, 2008, **91**, 3165-3172.

VISONNEAU S., CESANO A., TEPPER S.A., SCIMECA J.A., SANTOLI D., KRITCHEVSKY D. : Conjugated linoleic acid suppresses the growth of human breast adenocarcinoma cells in SCID mice. *Anticancer Res.*, 1997, **17**, 969-973.

VLAEMINCK B., FIEVEZ V., DEMEYER D., DEWHURST R.J. : Effect of forage:concentrate ratio on fatty acid composition of rumen bacteria isolated from ruminal and duodenal digesta. *J. Dairy Sci.*, 2006, **89**, 2668-2678

WALLACE, R.J., CHAUDHARY, L.C., MCKAIN, N., MCEWAN, N., RICHARDSON, A.J., VERCOE, P.E., WALKER, N.D., PAILLARD, D. : *Clostridium proteoclasticum*: a ruminal bacterium that forms stearic acid from linoleic acid. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, 265:195 – 201.

WALLACE, R. J., McKain, N., Shingfield, K.J. and Devillard. E: Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *J. Lipid Res.*, 2007, 48:2247–2254..

WILLIAMS C. : Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 2000, **49**, 165-180.

WILSON T.A., NICOLOSI R.J., SAATI A., KOTYLA T., KRITCHEVSKY D. : Conjugated linoleic acid isomers reduce blood cholesterol levels but not aortic cholesterol accumulation in hypercholesterolemic hamsters. *Lipids*, 2006, **41**, 41-48.

YAMASAKI M., IKEDA A., OJI M., TANAKA Y., HIRAO A., KASAI M., IWATA T., TACHIBANA H., YAMADA K. : Modulation of body fat and serum leptin levels by dietary conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats fed various fat-level diets. *Nutrition*, 2003, **19**, 30-35.