

## CONDITIONS D'INCORPORATION DES ACIDES GRAS ÉLAÏDISÉS AUX TRIGLYCÉRIDES DE RÉSERVE DU RAT BLANC\*

J. RAULIN, CL. LORIETTE ET G. CLÉMENT

*Centre de Recherches sur la Nutrition du C.N.R.S., Bellevue (Seine et Oise)  
et Laboratoire de Physiologie Animale, Faculté des Sciences, Dijon (France)*

(Reçu le 27 juin, 1963)

### SUMMARY

*Incorporation of elaidinized fatty acids in the depot triglycerides of the white rat*

When peanut oil enriched with elaidinized fatty acids is given to rats, the *trans* unsaturated fatty acids are located in the molecule of the depot fat triglycerides in the  $\alpha$  position. This was observed with triglycerides from epididymal pads and from the whole body. The authors obtained these results using the selective lipolysis of triglycerides with pancreatic lipase and determining the concentration of *trans* fatty acids by means of infrared spectrophotometry.

### INTRODUCTION

Le présent travail a comme point de départ les recherches de RAULIN ET LORIETTE<sup>1-4</sup> sur le comportement nutritionnel des matières grasses renfermant des acides gras de forme *trans*. Les résultats précédemment acquis peuvent ainsi se résumer:

(a) Il existe une différence marquée d'efficacité nutritionnelle entre deux matières grasses de constitution géométrique différente: la trioléine (*cis*) et la triélaïdine (*trans*). Cette différence se traduit à la fois par un ralentissement très net de la vitesse de croissance chez les rats nourris à la triélaïdine et par des réactions digestives de l'organisme qui, dans ces conditions, élimine un taux élevé d'acides gras libres dans les féces.

(b) Il en va différemment si l'alimentation comporte, non plus des triglycérides homogènes qui sont assez rares dans la nature mais des triglycérides mixtes, en l'occurrence des huiles renfermant un pourcentage plus ou moins élevé d'acides gras de forme *trans*.

Dans le cas de l'huile d'arachide, le coefficient d'efficacité lipidique\*\* mesuré sur le rat en croissance est significativement plus élevé avec des huiles renfermant des acides gras élaïdisés par chauffage sous barbotage de  $\text{SO}_2$  qu'avec des huiles raffinées ne contenant que des acides gras de forme *cis*. Cependant chez le rat, la présence d'isomères *trans* déprime l'appétit et finalement, en valeur absolue, la vitesse de

\* Exécuté avec la collaboration technique de NGUYEN THI THÈ, M. T. MOINE ET D. SAGET.

\*\* Coefficient d'efficacité lipidique =  $\frac{\text{gain de poids (g)}}{\text{lipides ingérés (g)}} \times 100$ .

croissance est légèrement supérieure avec l'huile raffinée qu'avec l'huile isomérisée.

Ces formes "atypiques" d'acides gras s'incorporent aux lipides de réserve du rat, le taux d'incorporation augmentant avec le pourcentage d'acides gras élaïdisés de la ration mais non avec la durée de l'expérience. Le problème était donc de connaître les modalités selon lesquelles se fait cette incorporation et de savoir si elle est de nature à modifier la structure des triglycérides de réserve du rat.

Nous avons déjà étudié<sup>6</sup> l'influence prolongée de régimes contenant des lipides différemment saturés (huile de tournesol ou saindoux) sur la composition et la structure des triglycérides de réserve.

Dans ce travail, nous cherchons à savoir si l'incorporation de quantités élevées d'un même acide gras administré sous forme naturelle ou sous forme élaïdisée influence différemment l'édition des molécules triglycéridiques de réserve. Pour cela nous nous proposons d'évaluer par spectrophotométrie infrarouge le pourcentage d'acides gras de forme *trans* estérifiés par la fonction alcool primaire ou alcool secondaire du glycérol dans les dépôts périgénitaux du rat d'une part, les lipides de réserve de la carcasse de l'autre.

On a recours à la méthode enzymatique de SAVARY ET DESNUELLE<sup>6</sup> basée sur la spécificité de position de la lipase pancréatique qui hydrolyse préférentiellement la liaison ester formée sur l'hydroxyle primaire du glycérol ce qui permet de connaître la place qu'occupe tel ou tel acide gras dans la molécule des triglycérides. Nous avons vérifié<sup>7</sup> à l'aide de triglycérides interestérifiés—dont les acides gras sont donc répartis au hasard—que la lipase pancréatique ne montre pas d'affinité pour l'une ou l'autre des formes *cis* ou *trans* et que seule compte la spécificité de position.

#### CONDITIONS EXPÉRIMENTALES ET TECHNIQUES ANALYTIQUES

L'expérience porte sur cinq lots de rats mâles Wistar Wag pris au sevrage et soumis à un régime équilibré contenant 20 % d'huile d'arachide raffinée ou isomérisée. L'huile raffinée ne contient pratiquement que des acides gras de forme *cis*. L'huile isomérisée est préparée par chauffage de l'huile raffinée à 180° sous barbotage de SO<sub>2</sub> (pendant 24 h) suivi d'un nouveau raffinage pour éliminer le catalyseur d'isomérisation. Dans cette huile, le taux des acides gras de forme *trans* atteint approx. 60 %.

Les lots expérimentaux sont répartis de la manière suivante:

- Série I, 20 % d'huile isomérisée;
- Série II, 15 % d'huile isomérisée + 5 % d'huile raffinée;
- Série III, 10 % d'huile isomérisée + 10 % d'huile raffinée;
- Série IV, 5 % d'huile isomérisée + 15 % d'huile raffinée;
- Série V, 20 % d'huile raffinée.

Dans tous les cas, l'apport minimum d'acides gras indispensables est respecté (addition de linoléate de méthyle dans le régime de la Série I calculée pour correspondre à la teneur du régime de la Série II en acide linoléique).

L'expérience totale dure 7 mois au cours desquels des sacrifices sont faits à dates régulières. On prélève les graisses périgénitales puis on lyophilise la "carcasse", c'est-à-dire ce qui reste du corps après avoir enlevé le foie, les viscères et les pattes. Les lipides totaux sont extraits à froid soit par la méthode de BLIGH ET DYER<sup>8</sup>—dépôts périgénitaux, soit par la méthode de FOLCH<sup>9</sup>—carcasse. On isole les triglycérides des graisses périgénitales sur colonne d'acide silicique et ceux des carcasses par chromatographie préparative en couche épaisse de gel de silice selon la méthode de

DAUVILLIER<sup>10</sup>. Ces triglycérides sont alors soumis à la lipolyse par la pancréatine de porc (45 min à 37°) en milieu tamponné ( $\text{NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_4\text{OH}$ ) en présence de taurocholate de sodium et de chlorure de calcium. Puis on sépare les produits de la lipolyse comme il a été décrit précédemment<sup>5</sup>. On extrait les acides gras par saponification des triglycérides tissulaires, puis on prépare les esters méthyliques des différentes fractions. On analyse ces esters méthyliques par spectrophotométrie infrarouge (appareils Perkin-Elmer 21 et Unicam SP 100). On évalue quantitativement le pourcentage d'acides gras élaïdisés en mesurant l'absorption à 10.37  $\mu$  des solutions de lipides dans le sulfure de carbone.

#### RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Il n'y a pas de différence essentielle dans la composition des milieux de lipolyse des différents lots de triglycérides. Le taux des monoglycérides est voisin de 18 % et celui des acides gras libres varie de 23 à 40 % pour un taux de lipolyse allant de 75 à 90 %.

#### Triglycérides périgénitaux

Les analyses portent seulement sur les Séries I, III et V. Les acides gras provenant des différentes fractions de la lipolyse ne renferment pas d'acides gras élaïdisés dans la Série V (régime à base d'huile raffinée). Dans le Tableau I suivant se trouvent consignés les résultats relatifs aux Séries I et III.

TABLEAU I

POURCENTAGES D'ACIDES GRAS DE FORME *trans* DES PRODUITS DE LA LIPOLYSE  
DES TRIGLYCÉRIDES PÉRIGÉNITAUX (EXPRIMÉS EN ACIDE ÉLAIDIQUE)

	Durée de l'expérience	2 mois	3 mois	7 mois
Série I	Acides gras provenant des:			
Huile isomérisée 20 %	triglycérides avant lipolyse	40.6	38.5	36.0
	diglycérides*	35.7	29.5	31.4
	monoglycérides	7.0	16.2	6.2
	Acides gras libres	37.5	51.3	47.3
Série III	Acides gras provenant des:			
Huile isomérisée 10 %	triglycérides avant lipolyse	28.2	18.0	17.1
Huile raffinée 10 %	diglycérides*	19.0	16.7	14.1
	monoglycérides	7.0	5.3	5.0
	Acides gras libres	29.3	25.4	27.8

\* Les deux fractions de diglycérides isolées sur acide silicique nous ont donné les mêmes résultats à l'analyse spectrophotométrique.

#### Triglycérides de la carcasse

Les pourcentages d'acides gras élaïdisés des produits de la lipolyse des triglycérides de la carcasse se trouvent réunis dans le Tableau II. Ces déterminations concernent les cinq séries expérimentales, les animaux ayant été sacrifiés au bout de 40 jours d'expérience.

D'après les tableaux précédents on voit nettement que les acides gras de forme *trans* ne se trouvent dans les triglycérides de réserve que dans la mesure où le régime en contient.

On voit également que l'élaïdisation des triglycérides de réserve du rat affecte sélectivement les acides gras situés en position externe dans la molécule. Les acides

## TABLEAU II

POURCENTAGES D'ACIDES GRAS DE FORME *trans* DES PRODUITS DE LA LIPOLYSE  
DES TRIGLYCÉRIDES DE LA CARCASSE (EXPRIMÉS EN ACIDE ÉLAÏDIQUE)  
Durée de l'expérience 40 jours.

	Séries				
	I	II	III	IV	V
Acides gras provenant des:					
triglycérides avant lipolyse	38	29	13	9	<1
monoglycérides	6	6	2	2	<1
Acides gras libérés par la lipase	31	27	21	10	<1

gras isolés par la lipase renferment la quasi-totalité des formes *trans* alors que les monoglycérides sont constitués presqu'essentiellement d'acides gras de forme *cis*. Le taux très bas de cette dernière fraction varie peu d'ailleurs, quelles que soient les séries.

## DISCUSSION

Dans une étude précédente<sup>5</sup> nous avons pu constater que les acides oléique et linoléique occupent des positions sensiblement différentes dans la molécule des triglycérides de réserve du rat selon l'origine du lipide, leur taux d'incorporation, lui-même influencé par la nature des lipides alimentaires et la durée d'administration du régime.

Si la graisse ingérée (saindoux) apporte beaucoup d'acide oléique (37 %) et peu de linoléique (5 %) ces deux acides gras sont fixés préférentiellement en position interne de la molécule des triglycérides périgénitaux, quelque soit la durée expérimentale. Toutefois, l'acide oléique qui représente 50 % en moles des acides gras de ces triglycérides se trouve également en quantité importante sur les deux positions externes.

A l'inverse, si la ration comporte de l'huile de tournesol riche en acide linoléique (68%) et pauvre en oléique (20%) ce dernier acide gras n'occupe pas de position privilégiée dans la molécule des triglycérides de dépôt puisqu'on en trouve, dès la fin du premier mois d'expérience, des taux voisins dans les acides gras libérés par la lipase et dans les monoglycérides.

Il semblerait donc que la position de l'acide oléique dans les triglycérides varie en fonction du degré de saturation des autres acides gras et de leur taux d'incorporation:

(a) position interne, de préférence, lorsqu'il représente le plus fort pourcentage d'acides gras insaturés;

(b) positions interne et externe lorsqu'il est accompagné de quantités élevées d'acides gras plus insaturés que lui-même.

L'huile d'arachide que nous administrons cette fois-ci au rat renferme environ 60 % d'acide oléique et 20 % d'acide linoléique. Étant donné nos résultats antérieurs, il y avait de fortes présomptions pour que nous trouvions l'acide oléique réparti sur les deux positions ( $\alpha$  et  $\beta$ ) de la molécule triglycéridique avec éventuellement une préférence pour la position  $\beta$ .

Lorsque nos régimes renferment de l'huile d'arachide isomérisée, une partie de l'acide oléique de cette huile est remplacée par le l'acide élaïdique. Nous constatons alors que, dans les lipides des dépôts et dans la carcasse du rat, les acides gras à liaisons éthyléniques de forme *trans* se comportent différemment de ceux qui possèdent des doubles liaisons de forme *cis*. En effet la quasi-totalité de l'acide élaïdique des

triglycérides se retrouve dans les acides gras libérés pendant la lipolyse. Comme la lipase pancréatique semble n'effectuer aucun choix entre les formes *cis* et *trans*\* et montrer uniquement une spécificité de position à l'égard des acides gras de la molécule des triglycérides, on est autorisé à en déduire que les acides élaïdisés se situent préférentiellement en position externe de la molécule des triglycérides chez le rat.

Cette structure spéciale des triglycérides du tissu adipeux ne se modifie pas pendant toute la durée de l'expérience pas plus d'ailleurs qu'elle ne varie avec le taux d'administration des acides élaïdisés.

La position privilégiée des acides élaïdisés dans la molécule triglycéridique cadre bien avec les observations antérieures de SINCLAIR<sup>11, 12</sup> qui indiquent que l'élévation de la concentration en acides gras de forme *trans* se fait au détriment des acides saturés dans les phospholipides et les esters du cholestérol. D'autre part, elle est en accord avec ce que l'on sait de la structure et des propriétés physiques des triglycérides renfermant des acides gras élaïdisés<sup>13</sup>.

#### RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

On étudie la structure des triglycérides des dépôts périgénitaux et des lipides de la carcasse du rat soumis pendant 2, 3 ou 7 mois à un régime renfermant des teneurs différentes d'huile d'arachide élaïdisée. Après lipolyse enzymatique des triglycérides, les glycérides partiels et les acides gras isolés par la lipase pancréatique sont analysés en spectrophotométrie infrarouge.

Les résultats de cette étude confirment pleinement nos observations antérieures<sup>1, 2</sup>: à savoir—le taux d'incorporation des isomères *trans* dans les graisses de réserve ou dans la carcasse est fonction de l'apport alimentaire sans qu'il existe de proportionnalité rigoureuse entre apport et mise en réserve—it n'y a pas d'effet cumulatif avec le temps, tout se passant, chez le rat, comme s'il se produisait rapidement un équilibre entre le taux d'élaïdisation des matières grasses de la ration et la capacité de stockage des formes *trans* dans l'organisme.

On constate qu'au point de vue de leur localisation dans la molécule des triglycérides, les acides élaïdisés se comportent comme des acides gras saturés puisqu'ils en occupent de préférence et quasi-exclusivement les positions externes.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 CL. LORIETTE, G. CLÉMENT ET J. RAULIN, *Compt. Rend.*, 255 (1962) 2204.
- 2 CL. LORIETTE, J. P. CARREAU ET J. RAULIN, *Arch. Sci. Physiol.*, sous presse.
- 3 J. RAULIN, *Ann. Nutr. Aliment.*, 14 (1960) 201.
- 4 J. RAULIN ET CL. LORIETTE, *Compt. Rend.*, 254 (1962) 1152.
- 5 J. CLÉMENT, P. BOUCROT, CL. LORIETTE ET J. RAULIN, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 45 (1963) 1031.
- 6 P. SAVARY ET P. DESNUELLE, *Biochim. Biophys. Acta*, 21 (1956) 349.
- 7 G. CLÉMENT, J. DELVILLE, CL. LORIETTE ET J. RAULIN, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, sous presse.
- 8 E. G. BLIGH ET W. J. DYER, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 (1959) 911.
- 9 J. FOLCH, M. LEES ET G. H. SLOANE-STANLEY, *J. Biol. Chem.*, 22 (1957) 497.
- 10 P. DAUVILLIER, *J. Chromatog.*, 11 (1963) 405.
- 11 R. G. SINCLAIR, *J. Biol. Chem.*, 111 (1935) 515.
- 12 R. G. SINCLAIR, *J. Biol. Chem.*, 167 (1947) 773.
- 13 T. MALKIN, *Progress in Chemistry of Fats and Other Lipids*, Vol. 2, Pergamon Press, London, 1954.

\* Résultat de la lipolyse pancréatique de triglycérides interestérifiés "au hasard" à partir d'huile d'arachide et de triélaïdide.