

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية للبيطرة
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE
EL- HARRACH-ALGER

THESE

**En vue de l'obtention du diplôme de Magister
Es - Sciences Vétérinaires**

Option: Élevage et pathologies avicoles et cunicoles

Thème

*Effets pro et anti oxydant de la vitamine E
sur quelques paramètres structuraux et sanguins
Au cours de la lipotoxicité induite par l'ingestion d'huile de friture thermo oxydée chez des lapins
en croissance*

Présentée par : Nacéra TOUARIGT
Soutenue le : 08 Mai 2008

JURY :

Président	: Dr B. BENDEDOUCHE	M.C ENV Alger
Promoteur	: Dr R. KAIDI	Pr USD Blida
Co promoteur	: Mr A. BITAM	Chargé de cours USD Blida
Examineurs	: Mme D. HAMOUDI-TRIKI	M.C USTHB
	Dr D. KHELLEF	M.C ENV Alger
	Dr S. TEMIM-KESSACI	M.C ENV Alger

Invité d'honneur: Dr E. LEBRES- Directeur Général de L'Institut Pasteur
Année universitaire 2007 |2008

Remerciements

A monsieur GHEZLANE

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger Pour m'avoir accueillie au sein de son institution pour la concrétisation de ce travail Toute ma reconnaissance.

A monsieur le Dr LEBRES

Mon directeur Général à l'Institut Pasteur d'Algérie Pour avoir accepté d'honorer de sa présence cette soutenance et avoir mis à ma disposition tous les moyens pour réaliser ce travail. Mes hommages les plus respectueux.

A monsieur le Dr .B. BENDEDDOUCHE

Maître de conférence à l'école Nationale Vétérinaire d'Alger, Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury Hommages respectueux.

A monsieur le Dr. R. KAIDI,

Professeur à l'université Saïd Dahleb de Blida Qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail En témoignage de ma reconnaissance pour sa disponibilité et sa gentillesse,
Sincères remerciements.

A monsieur A. BITAM

Chargé de cours à l'université Saïd Dahleb de Blida Qui a été l'initiateur de ce projet et m'a beaucoup aidé dans ce travail, Pour ses nombreux enseignements, ses conseils, sa patience et sa gentillesse, Que ce travail reste un agréable souvenir Sincères remerciements.

A madame D. HAMOUDI - TRIKI

Maître de conférence à l'université Houari Boumediene – Bab Ezzouar Qui m'a fait l'honneur de juger ce travail et de faire partie de mon jury En témoignage de ma profonde reconnaissance.

A madame le Dr S. TEMIM-KESSACI

Maître de conférence à l'école Nationale Vétérinaire d'Alger Qui m'a fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury tous mes remerciements.

A monsieur le Dr .D. KHELLEF

Maître de conférence à l'école Nationale Vétérinaire d'Alger, Qui a accepté d'examiner ce travail et de faire partie de mon jury ; Qu'il en soit remercié.

A tout le personnel de mon service à l'institut Pasteur d'Algérie, du service rage production de l'IPA Kouba, du laboratoire de biologie de la clinique Rahmouni Djillali, du CRD Saïdal et de l'ITAF pour la collaboration et l'aide très précieuses qu'il m'ont accordé durant toute la réalisation de ce travail un grand merci.

Dédicaces

A la mémoire de mes chers parents qui nous ont inculqué dès le jeune âge l'amour du savoir
Qu'ils reposent en paix

A la mémoire de ma sœur aînée qui a été la première à suivre le chemin de l'université et qui a été pour moi le meilleur exemple à suivre
Que sa mémoire soit honorée.

A mes sœurs mes frères mes belles sœurs mes neveux et nièces

A tous mes collègues et confrères de l'Institut Pasteur d'Algérie et d'ailleurs

A tous mes amis

A tous les miens une tendre pensée

ABREVIATIONS

AFNOR	Agence Française de normalisation
AG	Acide Gras
AGE	Acides gras essentiels

AGMI	Acides Gras mono insaturés
AGPI	Acides Gras Poly insaturés
AGS	Acides Gras saturés
AGT	Acides Gras Trans
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DHA	Acide docosahéxaénoïque
ECN	Espèces chimiques nouvelles
EPA	Acide eicosapénaénoïque
ERO	Espèces radicalaires de l'oxygène
GR	Glutathion Réductase
G6PDH	Glucose-6 phosphate déshydrogénase
GPX	Glutathion peroxydase
HDLc	Lipoprotéines à densité élevée
HF	Huile fraîche
HOX	Huile oxydée
HPLC	Chromatographie liquide à haute pression
IDL	Lipoprotéine à densité intermédiaire
IHS	Indice hépatosomatique
LCAT	Lécithine cholestérol acyl transférase
LDLc	Lipoprotéine à faible densité
Lp (a)	Lipoprotéine a
LT	Leucotriène
MDA	Malonalaldéhyde
Meq	Milliéquivalents
PC	Phosphatidyl-choline
ROS	Espèce réactive à l'oxygène
SOD	Super oxyde dismutase
TG	Triglycérides
TGLH	Triglycéride lipase hépatique
TX A2	Thromboxane A2
UV	Ultraviolet
Vit E	Vitamine E
VLDC-c	Lipoprotéine à très faible densité

TABLEAUX

Pages /

Tableau 1

Apports nutritionnels conseillés en acides gras----- 09
(Martin , 2001)

Tableau 2 Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines Plasmatiques humaines (Lagrost 2005) -----	20
Tableau 3 Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apo lipoprotéines humaines.(Toussaint et <i>all</i> 2003) -----	22
Tableau 4 Nature des produits générés au cours de la lipopéroxydation----- (Combes 1996)	33
Tableau 5 Principaux types de produits d'oxydation primaire et secondaire, et méthodes d'analyse applicables (Aruoma et <i>all</i> .1997) -----	37
Tableau 6 Etats pathologiques ou situations physiologiques associés à une peroxydation accrue (Craсте de Paulet 1986)-----	39
Tableau 7 Apport nutritionnel recommandé (ANR) en vitamine E----- (Dietary Reference 2000)	55
Tableau 8 composition de l'aliment standard -----	65
Tableau 9 Composition des différents régimes alimentaires expérimentaux -----	66
Tableau 10 Variation de la couleur de l'huile au cours des cycles de friture -----	78
Tableau 11 Variation de la fluidité de l'huile au cours des cycles de friture -----	80
Tableau 12 détection de l'odeur de l'huile au cours des cycles de friture -----	81
Tableau 13 Valeurs de l'indice d'acide de l'huile au cours des cycles de friture -----	82
Tableau 14 Valeurs de l'indice de peroxyde de l'huile au cours des cycles de friture -----	83
Tableau 15 Valeurs de l'indice d'iode de l'huile au cours des cycles de friture-----	84

Mis
 Nev
 Poli
 :Gra
Mis
 Itali
 com
Mis
 Nev
 sou
 Auto
 com
Mis
 Nev
 Cou
 Auto
 com
Coc

Tableau 16	
Valeurs de la densité de l'huile au cours des cycles de friture -----	85
Tableau 17	
Valeur de l'indice de réfraction de l'huile au cours des cycles de friture -----	86
Tableau 18	
Valeur des composés primaires et secondaires de l'oxydation au cours Des cycles de friture -----	87
Tableau 19	
Moyennes hebdomadaires des poids corporels des différents lots expérimentaux-----	91
Tableau 20	
Gain de poids moyen des différents lots expérimentaux -----	93
Tableau 21	
Poids moyen du foie des différents lots expérimentaux -----	94
Tableau 22	
Valeur de l'indice Hépatosomatique des différents lots expérimentaux -----	94
Tableau 23	
Valeurs de la cholestérolémie au cours de l'expérimentation-----	96
Tableau 24	
Valeurs de la triglycéridémie au cours de l'expérimentation -----	98
Tableau 25	
Valeurs du LDLc au cours de l'expérimentation -----	100
Tableau 26	
Valeurs du HDLc au cours de l'expérimentation -----	103
Tableau 27	
Valeurs des VLDLc au cours de l'expérimentation -----	105
Tableau 28	
Valeurs de l'indice d'athérogénicité au cours de l'expérimentation -----	107
Tableau 29	
Valeurs des lipides totaux sériques au cours de l'expérimentation-----	110
Tableau 30	
Valeurs des protéines totales sériques au cours de l'expérimentation-----	112

Tableau 31	
Recommandations pour la composition des aliments complets pour lapins (Lebas et <i>al</i> et Lebas 2004) Annexe I -----	137
Tableau 32	
Valeurs biochimiques sanguines du lapin (Medirabbit 2004) Annexe I -----	138
Tableau 33	
Caractéristiques de l'huile de tournesol (journal canadien d'information juridique)Annexe II -----	139

FIGURES

	Pages /
Figure 1	
<u>Principales voies d'utilisation des graisses animales</u> <u>(Schmitz et Bresson 1989)</u> -----	4

Mis
déf
pt,
com
12 p
Mis
déf
pt,
:Tin
Gra

Figure 2	
Classification des lipides (Widmer et Beffa, 2000.)-----	5
Figure 3	
Structure chimique de quelques acides gras (Mauro. 2003) -----	8
Figure 4	
Structure chimique de l'isomère « Cis »et trans) de l'acide grasC18 :1 -----	8
(Mauro 2003)	
Figure 5	
Schéma général du transport du cholestérol -----	13
(Lagrost, Masson, Chapman 2005)	
Figure 6	
Principales composantes du métabolisme des lipoprotéines-----	14
(Vance et <i>al.</i> 1996)	
Figure 7	
Schéma général de l'oxydation des lipides -----	27
(German et Kinsella 1985)	
Figure 8	
Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par	
la lipoxygénation (German et Kinsella 1985)-----	28
Figure 9	
Schématisation de la cinétique d'oxydation des acides gras	
Insaturés (Genot 2002) -----	29
Figure 10	
Auto oxydation d'acides gras poly insaturés AGPI-----	30
(Entressangles 1986)	
Figure 11	
Cinétique des produits de l'oxydation en fonction du temps-----	37
(Leverve 2004)	
Figure 12	
Réactions en chaîne des différents mécanismes de défense spécifiques-----	46
Figure 13	
rôle des enzymes antioxydantes	
dans le processus d'activation de l'ion peroxyde (Pol 2006)-----	49
Figure 14	
Mécanisme de détoxification enzymatique des ERO (Espèces Radicalaires de l'Oxygène)	

(Huet 2006) ----- 50

Figure 15

Formules développées des tocophérols----- 52
(Carreras 2004)

Figure 16

Formule développée de l'acide L- Ascorbique----- 58
(Scalbert 2004)

Figure 17

Processus de réduction de l'oxygène----- 61
(Harman, (1983)

Figure 18

Protocole expérimental ----- 64

Figure 19

Variation de l'indice d'acide de l'huile au cours des cycles
de friture ----- 82

Figure 20

Variation de l'indice de peroxyde de l'huile au cours des cycles
de friture ----- 83

Figure 21

Variation de l'indice d'iode de l'huile au cours des cycles
de friture ----- 84

Figure 22

Variation de la densité de l'huile au cours des cycles
de friture ----- 85

Figure 23

Variation de l'indice de réfraction de l'huile au cours des cycles
de friture ----- 86

Figure 24

Cinétique des produits de l'oxydation au cours des cycles
de friture ----- 88

Figure 25

Evolution des produits de l'oxydation au cours des cycles
de friture ----- 88

Figure 26

Variation du poids corporel en fonction de la durée de

L'expérimentation -----	91
Figure 27 Gain de poids corporel en fonction de la durée de l'expérimentation -----	93
Figure 28 Variation de l'indice hépatosomatique en fonction de la durée De l'expérimentation -----	95
Figure 29 Variation de la cholestérolémie en fonction de la durée de l'expérimentation -----	96
Figure 30 Variation de la triglycéridémie en fonction de la durée de l'expérimentation -----	98
Figure 31 Variation des LDLc en fonction de la durée de l'expérimentation -----	100
Figure 32 Variation des HDLc en fonction de la durée de l'expérimentation -----	103
Figure 33 Variation des VLDLc en fonction de la durée de l'expérimentation durée de l'expérimentation -----	105
Figure 34 Variation de l'indice d'athérogénicité en fonction de la durée de l'expérimentation -----	107
Figure 35 Variation des lipides totaux sériques en fonction de la durée de l'expérimentation -----	110
Figure 36 Variation des protéines totales sériques en fonction de la durée de l'expérimentation -----	112

SOMMAIRE

	Pages/
INTRODUCTION -----	01

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

LES LIPIDES

I – Généralités sur les lipides	03
I-1- Définition.....	03
I-1-1 – Les Lipides Simples.....	03
I-1-2 – Les lipides complexes	03
II - Propriétés des lipides	03
III – Origine des lipides alimentaires	03
III - 1 – Les Lipides d’origine animale	03
III- 2 –Les lipides d’origine végétale	03
IV – Classification des lipides	06
IV-1- Les lipides de réserve	06
IV-2- Les lipides structuraux	06
IV-3- Les lipides Fonctionnels	06
V- Structure des lipides	07
V- 1- Fraction glycéridique	07
V-1-1-Les acides gras	
V-1-1-1-les acides gras saturés	07
V-1-1-2-les acides gras insaturés	07
V-1-1-3-recommandations nutritionnelles	09
V-1-2- Les triglycérides	10
V-1-3- Le cholestérol	10
V-2- Fraction non glycéridique	10
VI - Rôles des lipides	11
VI- 1-Role structural	11
VI- 2- Rôle énergétique	11

VI- 3-Role précurseur -----	11
VII –Métabolisme et transport des lipides -----	12
VII- 1- La digestion des lipides -----	12
VII- 2- L'absorption des lipides -----	12
VII- 3- le transport des lipides -----	12
VII- 4- le transport du cholestérol -----	13
VIII - Les lipoprotéines -----	14
VIII- 1- Généralités sur les lipoprotéines -----	14
VIII- 2- classification des lipoprotéines -----	15
VIII- 2-1- Le chylomicron -----	16
VIII- 2-2 – VLDL -----	16
VIII- 2- 3 – IDL -----	17
VIII- 2- 4 – LDL -----	17
VIII- 2- 5 – HDL -----	17
VIII- 3- Composition des lipoprotéines -----	18
VIII- 4- les apolipoproteines -----	18
VIII- 5- Métabolisme des lipoprotéines -----	20

OXYDATION DE L'HUILE

I - Les altérations thermo oxydatives des huiles Végétales -----	23
I-1-Définition des différents procédés utilisant le traitement thermique -----	23

I-1 -1- Le raffinage -----	23
I-1 -2- L'hydrogénation -----	23
I-1 -3- Les fritures -----	24
II- L'oxydation thermique des lipides -----	24
II-1-Définition -----	24
II-2- Mécanisme général de l'oxydation -----	25
II-2-1- Réactions d'initiation -----	26
II-2-2- Réactions de propagation -----	26
II-2-3- Réactions d'arrêt ou de terminaison -----	26
II-3- Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides -----	27
II-3-1- Initiation -----	27
II-3-2- propagation -----	28
II-3-3- terminaison -----	28
II-4- Photo oxydation -----	31
II-5-Voie enzymatique -----	31
III- Les produits de l'oxydation -----	32
IV- méthodes d'évaluation du niveau d'oxydation -----	33
IV- 1 – Les Méthodes indirectes -----	34
IV-1-1- Mesure de la perte d'acides gras poly insaturés -----	34
- mesure de l'acidité	
IV-1-2- Mesure de la consommation en oxygène -----	34
- mesure de l'indice de peroxyde	
IV -2 –Les Méthodes de mesure des produits primaires d'oxydation -----	34
IV-2-1- dosage des hydroperoxydes lipidiques -----	34
IV-2-1-1 - Le titrage iodométrique -----	34
IV-2-1-2 - les méthodes non iodométriques -----	35
IV-2-1-3 - Dosage par chimiluminescence -----	35
IV-3 – Les Méthodes de mesure des produits secondaires d'oxydation -----	35
IV-3-1- dosage des produits carbonylés (aldéhydes et cétones) -----	35

IV-3-2- dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA)	36
IV-4—Les Méthodes de mesure des produits terminaux d'oxydation	36
IV-4-1- détermination des substances fluorescentes	36
IV-4-2- dosage des produits volatils	36
V- Effets de l'ingestion des huiles thermo oxydées sur la santé	38
V-1-Effets physiopathologiques des produits de l'oxydation	38
V-1-1-Hypoxie /Hyperoxie	39
V-1-2- Vieillesse cellulaire	40
V-1-3- Athérogenèse	40
V-1-4- le cancer	40
V-1-5- Le diabète	41
V-2 - Digestion et absorption des produits de l'oxydation	41
V-3 - Absorption et toxicité des huiles oxydées	41
VI— Le stress Oxydatif	42
VI -1— Définition	42
VI -2— Les facteurs favorisant le stress oxydatif	43

PROTECTION CONTRE LA PEROXYDATION

I- Toxicité de l'oxygène	45
II- les antioxydants enzymatiques	46

II-1-Les Super Oxydes Dismutases (SOD)	46
II-2-La glutathion Peroxydase (GPX)	47
II-3- La Catalase	48
II-4- La glucose -6-Phosphate déshydrogénase (G6PDH)	49
II-5- Les glutathion transférases	49
III- les antioxydants non enzymatiques	50
III-1- La vitamine E	50
III-1-1-Généralités	50
III-1-2- Sources de Vitamine E	51
III-1-3 -Structure de la vitamine E	51
III-1-4- Métabolisme de la vitamine E	52
III-1-5- Rôle biologique de la vitamine E	53
III-1-5-1 - rôle du tocophérol membranaire	53
III-1-5-2 - vitamine E et athérosclérose	54
III-1-5-3- Vitamine E et cancer	54
III-1-6- Besoins en vitamine E	54
III-1-6-1- apport nutritionnel recommandé (ANR) en vitamineE	55
III-1-6-2- Les principaux facteurs de variations de l' α -tocophérolémie	55
III-1-6-3- les états de carence en vitamine E	56
III-1-7- effet pro oxydant de la vitamine E	56
III-2- La vitamine C	58
III-3 - Le Glutathion	59
III-4 - Autres anti oxydants	59
III-4 -1- les métaux de transition	59
III-4 -2- les poly phénols	60
III-4 -3- Les caroténoïdes	60

III-4 -4- Les plasmalogènes -----	60
ETUDE EXPERIMENTALE -----	62
PARTIE -I- MATERIEL ET METHODES -----	62
LIEU ET DUREE DE L'EXPERIMENTATION -----	62
ANIMAUX ET PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
I- Animaux -----	62
I-1 Echantillonnage -----	62
I-2 Présentation du lapin -----	63
II- Protocole expérimental -----	64
II-1 Choix et répartition des animaux -----	65
II-2 Logement des animaux -----	65
II-3 Conditions environnementales -----	65
II-4 Régimes alimentaires et abreuvement -----	65
II-5 Variations pondérales -----	67
II-5-1 - Courbe de croissance -----	67
II-5 -2 - Gain de poids final -----	67
II-5 -3 - Indice hépatosomatique -----	67
II-6 Prélèvements -----	67
II-6-1 Prélèvement de sang -----	67
II-6-2 Prélèvement d'organes -----	68

II-7 Traitement des Prélèvements -----	68
II-7-1 traitement du sang -----	68
II-7-2 traitement des organes -----	68

DOSAGES BIOCHIMIQUES SERIQUES

I- Dosage du cholestérol total -----	69
II-Dosage des triglycérides -----	69
III-Dosage des HDLc -----	70
IV-Calcul des LDLc -----	70
V- Calcul de l'indice d'athérogénicité -----	70
VI- Calcul des VLDLc -----	70
VII-Dosage des protéines sériques totales -----	70
VIII-Calcul des lipides totaux sériques -----	71

TRAITEMENT DE L'HUILE

I- Choix de l'huile -----	71
II- Mode opératoire -----	71

ANALYSE DE L'HUILE

I- Analyses physiques et organoleptiques -----	72
I-1 couleur -----	72
I-2 fluidité -----	72
I-3 Odeur -----	72
I-4 Formation de mousse -----	72
I-5 Viscosité -----	72

II- Analyses chimiques -----	73
II-1 Détermination de l'indice d'acide -----	73
II-2 Détermination de l'indice de peroxyde -----	73

II-3 Détermination de l'indice d'iode -----	74
II-4 Détermination de l'indice de réfraction -----	75
II-5 Détermination de la densité -----	76
II-6 Dosage des produits primaires et secondaires -----	77
ANALYSE DES RESULTATS -----	78
PARTIE – II- RESULTATS ET DISCUSSION-----	78
MODIFICATIONS PHYSICOCHEMIQUES DE L'HUILE	
I– Modifications Physiques et Organoleptiques -----	78
I-1– Couleur -----	78
I-2 Fluidité -----	80
I-3 Mousse -----	81
I-4 Odeur -----	81
II– Variation des Indices Physicochimiques -----	82
II-1 variation de l'indice d'acide -----	82
II-2 Variation de l'indice de peroxyde -----	83
II-3 Variation de l'indice d'iode -----	84
II-4 Variation de la densité -----	85
II-5 Variation de l'indice de réfraction -----	86
II-6 Dosage des produits primaires et secondaires de l'oxydation -----	87
 EXPERIMENTATION ANIMALE	
I– Effets de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydée sur les paramètres Corporels -----	91
I-1 Effets sur le poids corporel -----	91

I-2 gain de poids -----	93
I-3 indice hépatosomatique -----	94
II–Dosages biochimiques Lipidiques sériques -----	96
II-1 Cholestérol sérique total -----	96
II–2 triglycérides sériques -----	96
II–3 Lipoprotéines sériques -----	100
II-3- 1 LDL Cholestérol -----	100
II-3 -2 HDL Cholestérol -----	103
II-3 -3 VLDL Cholestérol -----	105
II -4 Indice d’athérogénicité -----	107
II-5 Lipides totaux -----	110
II- 6 Protéines totales -----	112
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES -----	115
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	119
ANNEXES -----	136

INTRODUCTION

Les principales sources de lipides sont les matières grasses d’origine animale et les matières grasses d’origine Végétale.

Les matières grasses d'origine végétale – notamment les huiles - sont beaucoup plus importantes dans le monde que celles d'origine animale ; et représentent une source bien plus importante dans l'alimentation humaine. **(FAO 2000)**

Au cours de ce siècle, la production de graisses animales a été multipliée par trois et celles des huiles végétales par plus de sept. Et bien que la production soit du même ordre dans les pays développés et en voie de développement, la consommation est beaucoup plus faible dans ces derniers alors qu'elle est parfois excessive dans les premiers. . **(FAO 2000)**

La consommation moyenne est de l'ordre de 11 kg par habitant et par an dans le monde ; elle est de 20 kg et plus en Amérique du nord et ne dépasse pas 9 kg en Asie et en Afrique **(FAO 2000)** En Algérie la consommation est de 11,6 kg par personne et par an durant l'année 1998 **(Luchetti 1999)**

Chez les américains la consommation d'huiles végétales augmente sensiblement d'année en année elle est passée de moins de 2 grammes par jour en 1909 à plus de 30 grammes par jour en 1993 soit 15 fois plus . **(FAO 2000)**

L'excès de consommation des huiles végétales est en particulier préjudiciable aux organes de la reproduction et aux poumons, deux organes qui sont particulièrement affectés par l'augmentation du cancer aux états unis, de même que cette consommation excessive est associée au développement des maladies cardiaques et de l'obésité **(Sanchez –Muniz et al 1998)**

Les huiles végétales sont encore plus toxiques quand on les chauffe. La méthode la plus courante de chauffage des huiles est la friture. **(Perkins 1976)**

Les procédés de fritures se traduisent par de nombreuses transformations chimiques. Celles-ci résultent de la destruction des liaisons insaturées, de l'addition de l'oxygène aux molécules, de la scission des triglycérides en acides gras libres ayant une plus courte longueur de chaîne **(perkins 1976)**

Des études sur des modèles animaux , dont celles de **Perkins (1976) , Potteauet et al (1977) , Causeret (1982) ,Hochgraf et al (1997) , Sanchez –Muniz et al (1998 et Rouaki (2000)** ont tenté de déterminer les éventuels effets physiopathologiques de ces huiles chauffées .

Les résultats de ces études sont très divergents, mais ils s'accordent tous sur le fait qu'il y a un retard de croissance, perturbation du métabolisme des lipides (digestion, absorption, synthèse et

transport) et hypertrophie du foie chez les animaux ayant consommé de l'huile chauffée comparativement à ceux ayant consommé de l'huile fraîche.

C'est dans cette optique que notre étude s'intéressera aux altérations de l'huile de tournesol après 20 cycles de friture, et se focalise sur l'étude des effets de l'ingestion de cette huile sur le poids de l'animal, l'évolution des paramètres lipidiques sériques en fonction du temps et des types de traitement ; et enfin rechercher l'effet antioxydant de la vitamine E et discuter l'hypothèse d'un effet pro oxydant de cette molécule.

Notre travail s'articule sur 04 volets à savoir :

- Rappel bibliographique
- Matériel et méthodes
- Résultats et discussion
- Conclusion et perspectives

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

LES LIPIDES

I- Généralités sur les lipides

I-1- Définition :

Les lipides sont les dérivés naturels des acides gras résultant de leur condensation avec des alcools ou des amines (Louisot, 1980).

Les lipides sont classés en :

I-1-1 les lipides simples : ce sont des esters d'acides gras et de divers alcools, on distingue : les graisses et les cires

I-1-2 les lipides complexes : ce sont des esters d'acides gras dont la molécule contient divers groupes en plus de l'acide gras et de l'alcool ; on distingue

Les phospholipides, les glycolipides et d'autres lipides complexes tels que les sulfolipides, les aminolipides et les lipoprotéines (Robert. et al.,1999)

II - Propriétés des lipides

Les lipides forment un groupe hétérogène de composés apparentés d'avantage par leurs propriétés physico-chimiques. Ils ont une propriété commune, celle d'être relativement insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants non polaires tels l'éther, le chloroforme et le benzène (Robert. et al.,1999)

III - Origines des lipides alimentaires :

On distingue deux grands groupes de lipides suivant leur origine:

III-1- les lipides d'origine animale:

- graisse et huile d'animaux terrestres tel que le saindoux, le suif de ruminants, beurre, etc.

- graisse d'animaux marins tel que les graisses de mammifères et huile de foie de poisson (Sciban, 1988)

III-2--les lipides d'origine végétale : les huiles et les graisses végétales sont le plus souvent extraites de graines de végétaux (arachide, tournesol...) celles qui sont extraites de la pulpe de fruits sont plus limitées (olive, palme...) (Sciban, 1988)

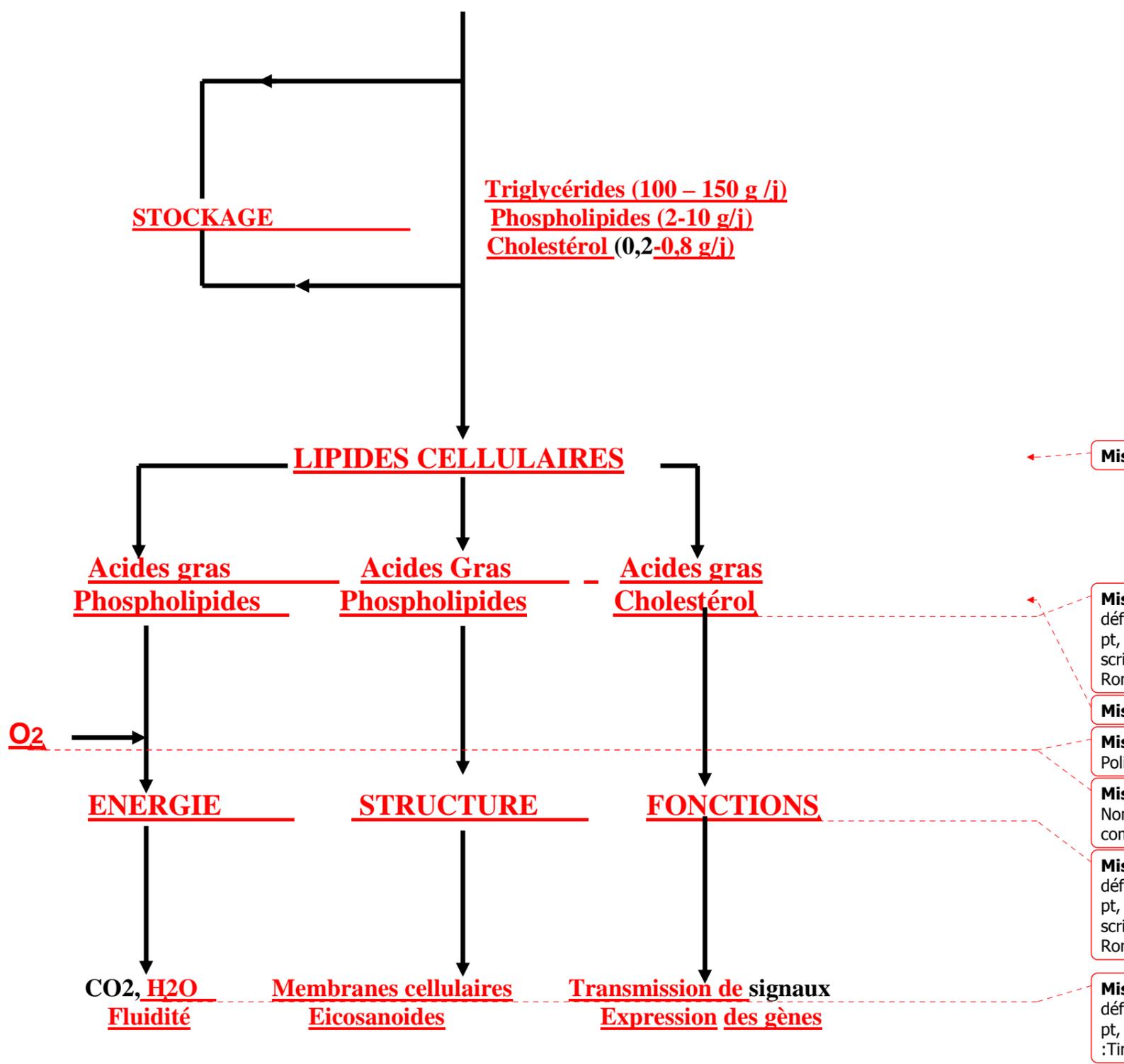


Figure 1- Principales voies d'utilisation des graisses animales (Schmitz et Bresson 1989)

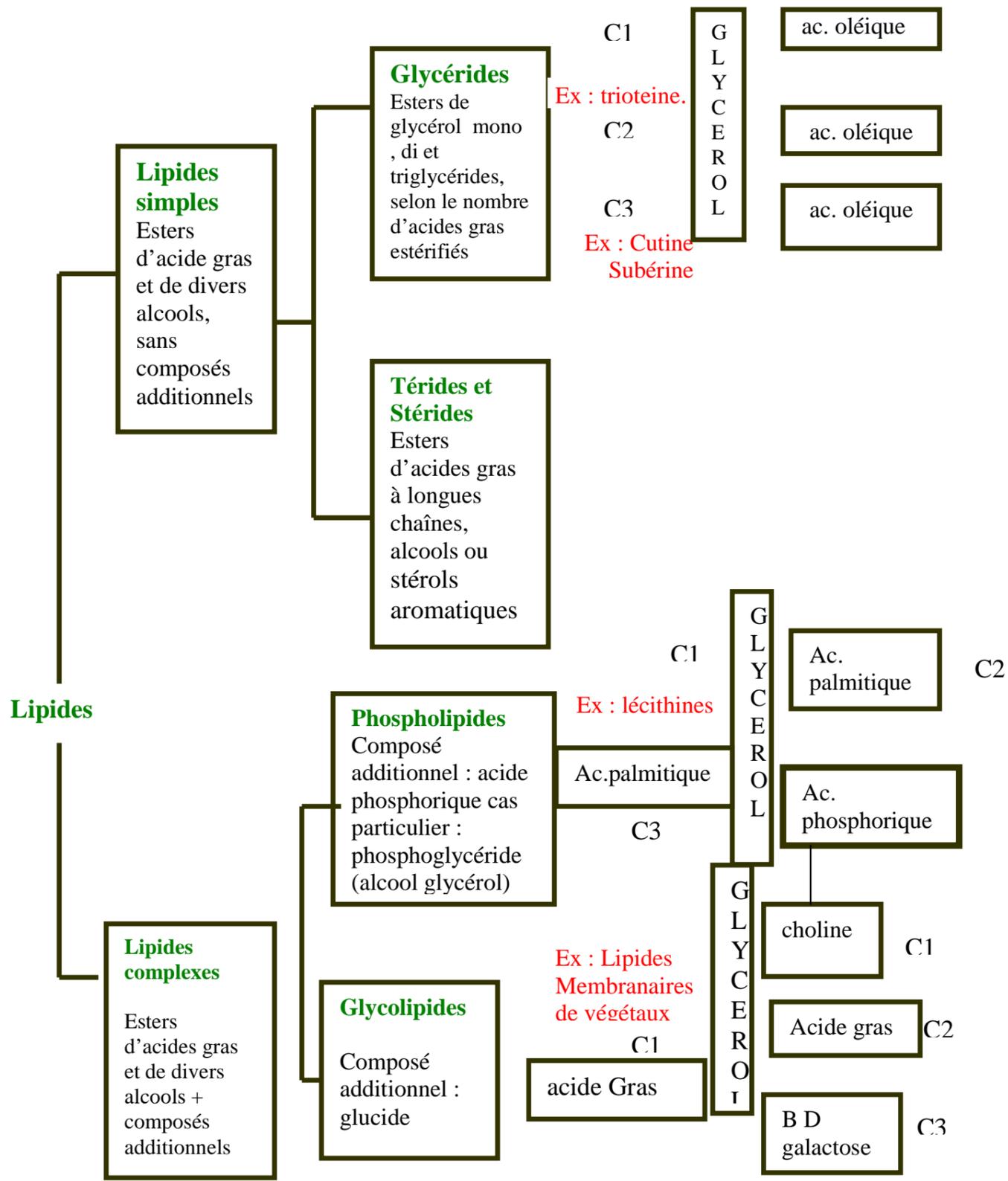


Figure -2-Classification des lipides (Widmer et Beffa, 2000.)

IV - Classification des lipides

Sup
1
1
1
1

Outre leur composition en acides gras, une autre classification des lipides est envisagée : elle est basée sur la physiologie et le devenir de ces lipides.

Les lipides sont des constituants de toutes les cellules, leur rôle physiologique est pour une grande part déterminé par leur structure et leurs propriétés physiologiques qui en découlent ; ainsi on peut les classer schématiquement en trois grands groupes de lipides : les lipides de réserve, les lipides structuraux et les lipides fonctionnels (**Craste de Paulet 1986**)

IV-1- Les lipides de réserve :

Ils sont formés de triglycérides accumulés dans le tissu adipeux, ce tissu représente une réserve d'énergie et joue le rôle d'un isolant thermique. (**Freinot et al 1997**)

IV- 2- Les lipides structuraux :

Phospholipides ,cholestérol libre et à un degré moindre certains glycolipides , sont les constituants fondamentaux et permanents des cellules ; généralement disposés en bicouche continue de 4 à 5 nm d'épaisseur , ils limitent et définissent la cellule animale et ses substructures (noyaux , mitochondries etc....) (**Akretche 2003**)

IV-3 –Les lipides Fonctionnels :

Constitués de deux types de lipides très différents par leur structure et leur rôle biologique, il s'agit des gangliosides et des médiateurs lipidiques.

Les gangliosides : Ce sont des constituants permanents de toutes les cellules, on leur accorde généralement un rôle dans la reconnaissance de signaux extracellulaires : l'un d'entre eux, le ganglioside GM1 est à lui seul le récepteur de la toxine cholérique et pourrait jouer un rôle dans le contrôle des réponses immunitaires. (**Akretche 2003**)

Les médiateurs cellulaires lipidiques : De nombreux événements cellulaires consécutifs à un stimulus externe impliquent la participation de molécules lipidiques produites *in situ* au sein même de la membrane plasmique, malgré leur très faible concentration (de l'ordre de 10^{-9} M) elles ont des effets extrêmement puissants sur la cellule qui les a produites, grâce à leur reconnaissance par des récepteurs membranaires spécifiques de haute affinité. (**Akretche 2003**)

Ces médiateurs, malgré leur diversité de structure, ont une particularité commune, leur production est une des composantes du métabolisme des phospholipides membranaires et la plupart d'entre eux sont formés à partir d'acides gras poly insaturés en C20 (ces derniers constituent pour cette raison le groupe des icosane ou eicosane) qui participent à la constitution de ces phospholipides (Craste de Paulet 1986)

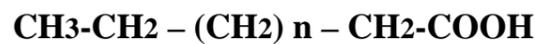
V- Structure des lipides :

Dans les aliments, la plus part des lipides se retrouvent sous forme de triglycérides qui sont composés d'acides gras. Les corps gras naturels d'origine végétale ou animale sont constitués de deux fractions, une fraction insaponifiable (non glycéridique) et une fraction glycéridique. (**Aidoud 2007**)

V-1-Fraction glycéridique :

Cette fraction qui représente environ 99% du poids total du corps gras est constituée d'un mélange de glycérides (mono, di, et triglycérides) d'acides gras et de phospholipides.

V-1-1 Les acides gras : Les acides gras répondent à la formule chimique suivante :



Ils sont caractérisés surtout par la longueur de leur chaîne carbonée et par leur degré d'insaturation. Le nombre d'atomes de carbone (n) varie généralement entre 4 et 24.

Les acides gras sont à chaîne courte lorsque $n \leq 6$, à chaîne moyenne lorsque $6 < n < 14$ et à chaîne longue lorsque $n \geq 14$ (**Boulanger et Polonovski 1969, Kruh 1983**) L'insaturation est définie par le nombre de doubles liaisons situées sur la chaîne carbonée.

Les acides gras sont subdivisés en :

V-1-1 -1 Acides gras saturés (AGS) : la chaîne carbonée ne renferme aucune double liaison Ils constituent près de 40% des acides gras des phospholipides des membranes cellulaires (**Aidoud 2007**)

V-1-1 -2-Acides gras insaturés (AGI) : les acides gras insaturés se distinguent des AGS par la présence dans leur chaîne carbonée d'une ou plusieurs doubles liaisons (**Boulanger , Polonovski 1969 , Kruh 1983**)

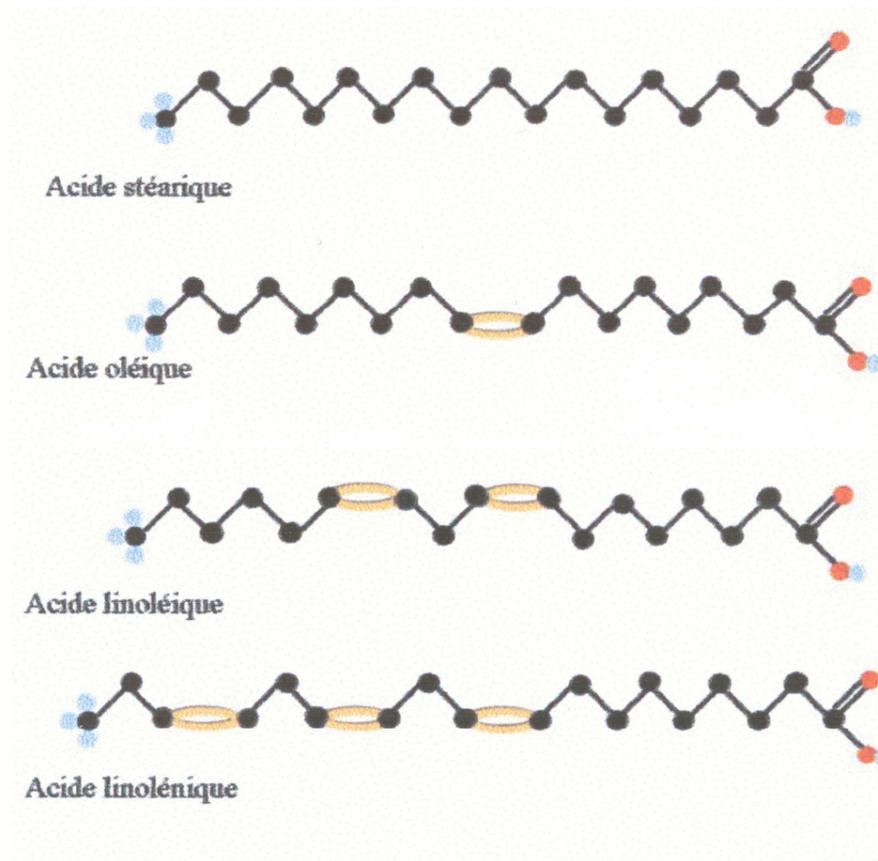


Figure -3- Structure chimique de quelques acides gras (Mauro. 2003)

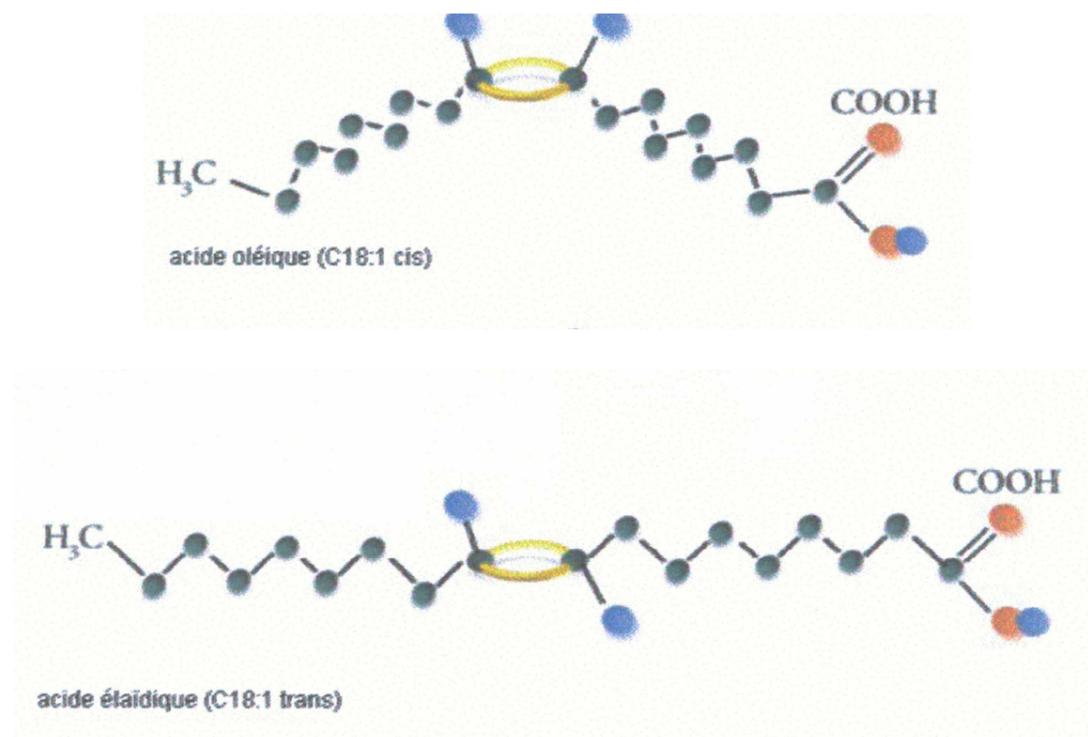


Figure -4- Structure chimique de l'isomère « Cis » et trans de l'acide gras C18 :1 (Mauro 2003)

On distingue deux types d'AGI : mono insaturés (AGMI) et poly insaturés (AGPI).

-- Acides gras mono insaturés : AGMI : caractérisés par la présence d'une seule double liaison . Ils sont surtout représentés par l'acide oléique et palmitoleique (**Aidoud 2007**)

-- Acides gras poly insaturés : (AGPI) ce sont des acides gras à chaîne supérieure à 16 atomes de carbone et possédant 2 ou plusieurs doubles liaisons :

Dans les AGPI on distingue les acides gras essentiels (AGE) que l'organisme animal ou humain ne peut pas synthétiser, ils doivent être apportés par l'alimentation ;

les AGE les plus importants sont l'acide linoléique (ω -6) et l'acide α -linoléique (ω -3)

V-1-1-3-Recommandations nutritionnelles : les nutritionnistes recommandent que 30% à 35 % de la ration énergétique globale soient apportés par les lipides, 10% à 14% par les protéines et 50% à 55% par les glucides ; les consommations observées diffèrent de ces recommandations : lipides 39% à 42%, protéines 16% à 19%, glucides 40% à 45% (**CREDOC 1999**)

Tableau – 1 - Apports nutritionnels conseillés en acides gras (Martin, 2001)

		HOMME ADULTE		FEMME ADULTE	
Apport énergétique total [AET] (Kcal/j)		2200		1800	
		g / j	% AET	g / j	% AET
Acides gras saturés (AGS)		19,5	8	16	8
Acides gras mono insaturés (AGMI)		49	20	40	20
A G P I	Ac linoléique (C18 :2n-6)	10	4	8	4
	AC linoléique (C18 :3n-3)	2	0,8	1,6	0,8
	AGPI –LC (Longue chaîne)	0,5	0,2	0,4	0,2
	DHA (C22 :6n-3),ac docosahexaenoique	0,12	0,05	0,1	0,05
APPORT LIPIDIQUE TOTAL		81	33	66	33

Plus globalement, ces recommandations peuvent s'exprimer comme suit :

AGS : 25% de l'apport total

AGMI : 60% de l'apport lipidique total

AGPI : 15% de l'apport lipidique total Avec un rapport optimal n-6 / n-3 de 5

V-1-2-Les triglycérides :

Les triglycérides sont composés d'une molécule de glycérol dont les trois fonctions alcool sont estérifiées par trois acides gras semblables ou différents.

V-1-3 - Le cholestérol :

Le cholestérol est constitué de 27 atomes de carbone avec un noyau perhydrocyclopentanophénanthrène, 2 groupements méthyles en C10 et C13, une chaîne latérale, une fonction hydroxyle en C3, lui conférant une certaine hydrophilie et une double liaison entre C5 et C6

Le cholestérol est le précurseur biochimique essentiel des acides biliaires, de la vitamine D et des Hormones surrénales et sexuelles. C'est aussi un constituant indispensable des membranes cellulaires. Il provient de l'alimentation, mais il est également synthétisé par la plus part des cellules de l'organisme, essentiellement au niveau de l'intestin et du foie.

(Mathe et Lutton 1984)

V-2 -Fraction non - glycéridique :

Elle représente environ 1% du poids total du corps gras. Elle est constituée d'un mélange de substances très diverses parmi lesquelles on peut citer : les vitamines liposolubles

(A, D E, K) Les stéroles, les polyphénols, les alcools tri terpéniques, les alcools aliphatiques les chlorophylles et les caroténoïdes.

VI- Rôles des lipides :

Trois rôles importants définissent les lipides ;

VI - 1- Rôle structurale :

Les lipides jouent un rôle structural et fonctionnel pour le maintien de l'intégrité cellulaire, parmi ces lipides on trouve principalement les phospholipides et en faible proportion les glycolipides et le cholestérol (**Lesieur, 1999**).

Les AGPI de la série n-6 et n-3 sont les constituants clé de tous les types de membrane extra et intracellulaires. En effet les AGPI, rentrent dans la composition des phospholipides qui modulent la fluidité des membranes. Plusieurs fonctions cellulaires telles que la sécrétion, le chimiotactisme, la transmission des signaux, et la susceptibilité à l'invasion par les microorganismes dépendent de la fluidité membranaire

(**Sardesai, 1992 ; Mendy, 1995**)

VI - 2- Rôle énergétique:

Les lipides sont des constituants fondamentaux du tissu adipeux; ce sont la principale source d'énergie de l'organisme sous forme de glycérides et en particulier les triglycérides

(**Louisot, 1980**). Des études ont montré que 1 g de lipides fourni 9 Kcal, soit l'équivalent de 37,7 KJ. Cet apport énergétique en lipides représente environ 38 à 45 % dans les pays industrialisés. Il excède de beaucoup les besoins réels (**Lemarchal 1992**)

VI - 3- Rôle précurseur :

Les lipides sont des précurseurs métaboliques de plusieurs composés biologiques actifs tels que les hormones et les vitamines

De même que les lipides servent de moyen de transport et d'absorption de certaines vitamines dites liposolubles (A, D, E, K). (**Kinsella 1998 ; Dupin 1992**).

Les lipides sont des constituants de toutes les cellules, leur rôle physiologique est pour une grande part, déterminé par leur structure et leurs propriétés physiologiques qui en découlent. Ces caractéristiques permettent un classement schématique.

VII –Métabolisme et transport des lipides

VII-1- la digestion des lipides :

Les lipides sont insolubles dans l'eau, or le milieu intestinal est un milieu aqueux ; les lipides ne peuvent donc être digérés que si une interface est créée entre eux et le milieu aqueux. C'est le rôle des sels biliaires qui s'interposent entre les graisses et l'eau, permettant la formation d'une émulsion grasseuse. La lipase pancréatique peut alors attaquer le corps gras et détacher les acides gras ; mais fait curieux, lorsque la graisse neutre a perdu deux acides gras et est devenue un mono glycéride, il se crée alors de nouvelles conditions de solubilité, entraînant la formation de gouttelettes grasseuse encore plus fines que celles de l'émulsion primitive ; les micelles, ou s'achève la digestion des lipides, toujours sous l'action de la lipase pancréatique.

La lipase n'agit qu'en présence d'une autre molécule produite aussi par le pancréas, la colipase (**Bernier 1988**) mais la digestion laisse les lipides sous forme de micelles composés d'acides gras, de mono glycérides et de sels biliaires ; les chylomicrons qui sont des gouttelettes grasseuses très fines, circulent dans la lymphe et non dans le sang.

L'absorption intestinale proprement dite commence par la pénétration des micelles entre les digitations des microvillosités de la muqueuse intestinale, qui est elle-même de structure lipidique. (**Abouem 2007**).

La digestion des lipides regroupe un ensemble d'hydrolyses catalysées par des enzymes spécifiques qui dans l'estomac et / ou dans l'intestin transforment les lipides non directement absorbables en molécules plus simples absorbables (**I.F.N, 1992**)

— VII- 2 - L'absorption des lipides :

Elle s'effectue au niveau du jéjunum, elle concerne les mono glycérides, lysophospholipides, le cholestérol, les vitamines liposolubles, la sphingomyeline et les glycolipides issus de la digestion. Ces composés hydrophobes nécessitent leur solubilisation dans les micelles de sels biliaires qui permettent leur passage à travers la bordure en brosse des entérocytes par contre les acides gras libres et le glycérol sont directement absorbés (**I.F.N, 1992**).

VII- 3- Transport des lipides :

Les graisses absorbées de la ration alimentaire ainsi que les lipides synthétisés par le foie doivent être transportés aux divers tissus et organes pour utilisation et emmagasinage. Ces lipides caractérisés par leur insolubilité dans l'eau sont véhiculés dans le milieu sanguin de l'organisme au sein de macromolécules désignées sous le nom de lipoprotéines (**Mayes 1989 Clavey et Fruchart 1992, Duriez et Fruchart 1994**)

VII- 4-Transport du cholestérol :

Grâce à sa structure spatiale, le cholestérol s'insère dans les membranes entre les molécules de phospholipides organisées en films ou en phase lamellaire et joue un rôle modulateur d'ailleurs complexe sur la fluidité des membranes ou de la couche superficielles des lipoprotéines (**Mansouri et al 2000**)

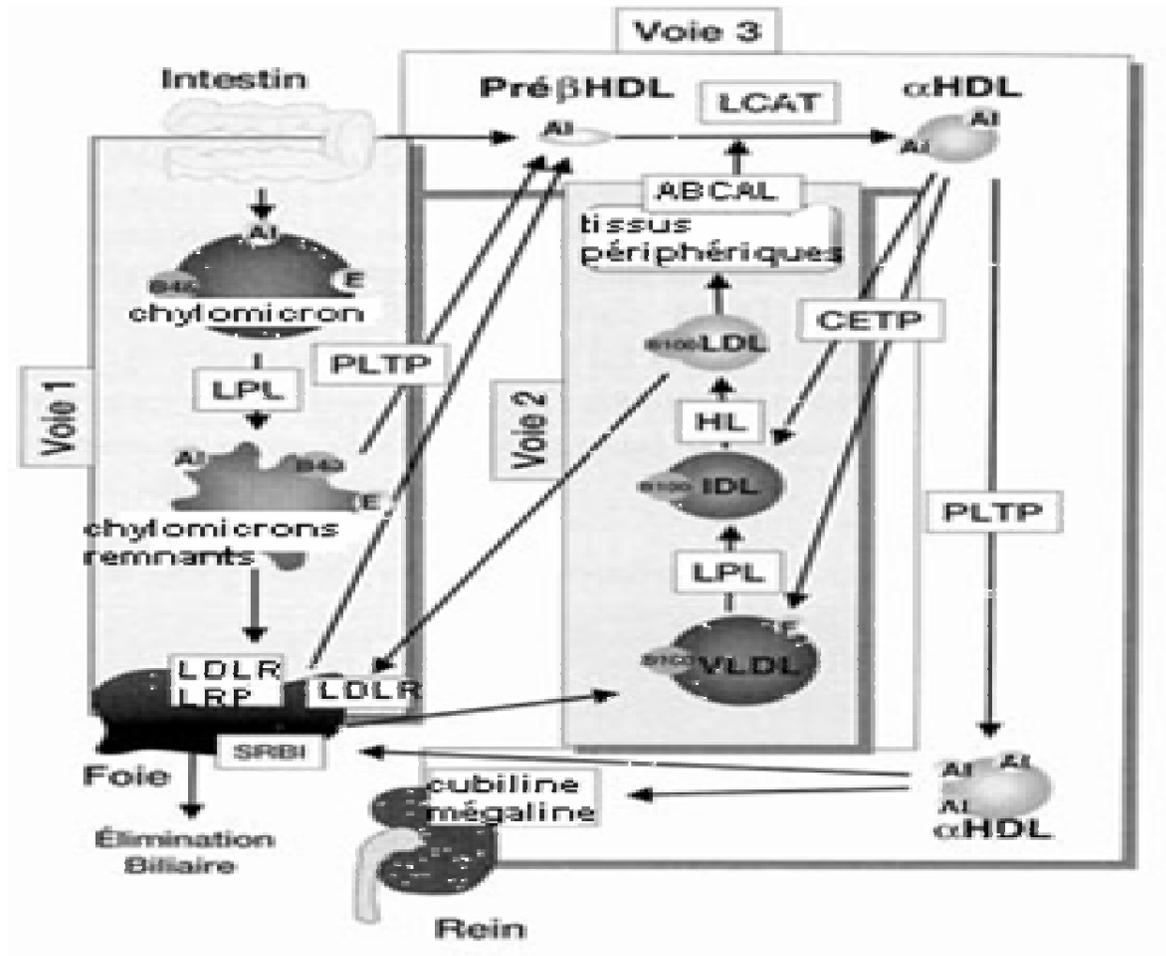


Figure – 5 - Schéma général du transport du cholestérol (Lagrost, Masson, Chapman2005)

- Voie 1 : voie entéro hépatique
- Voie 2 : Voie endogène
- Voie 3 : voie de retour (reverse transport).

Les lipides d'origine alimentaire sont intégrés dans les chylomicrons. Après captation hépatique des remnants, les VLDL sont synthétisés et sécrétés par le foie. Sous l'action de la LPL puis de la HL, elles forment les IDL, puis les LDL. Dans la voie du transport reverse, les pré HDL favorisent l'efflux du cholestérol périphérique pour le ramener au foie

Dans le plasma, le cholestérol des HDL est estérifié par la lécithine cholestérol Acétyl transférase (LCAT) qui permet la formation de particules à HDL sphériques.

La CETP (Cholesteryl Ester Transfer Protéine), en transférant du cholestérol des HDL vers les VLDL / IDL, peut soit offrir une voie alternative de retour du cholestérol au foie par le biais des IDL / VLDL, soit court-circuiter le transport reverse du cholestérol qui peut être ramené aux tissus périphériques par le biais des LDL. Les HDL plasmatiques peuvent également subir une étape de maturation sous l'influence de la PLTP (Phospholipid Transfer Protein) Finalement le cholestérol des différentes lipoprotéines peut être capté au niveau hépatique ou rénal par l'intermédiaire de récepteurs cellulaires spécifiques (SR-B1, récepteur des LDL, cubiline /mégaline) et ainsi être soit éliminé par voie biliaire, soit remis en circulation dans des VLDL nouvellement synthétisées

(Lagrost, Masson, Chapman2005).

VIII – Les lipoprotéines

VIII -1-Généralités sur les lipoprotéines

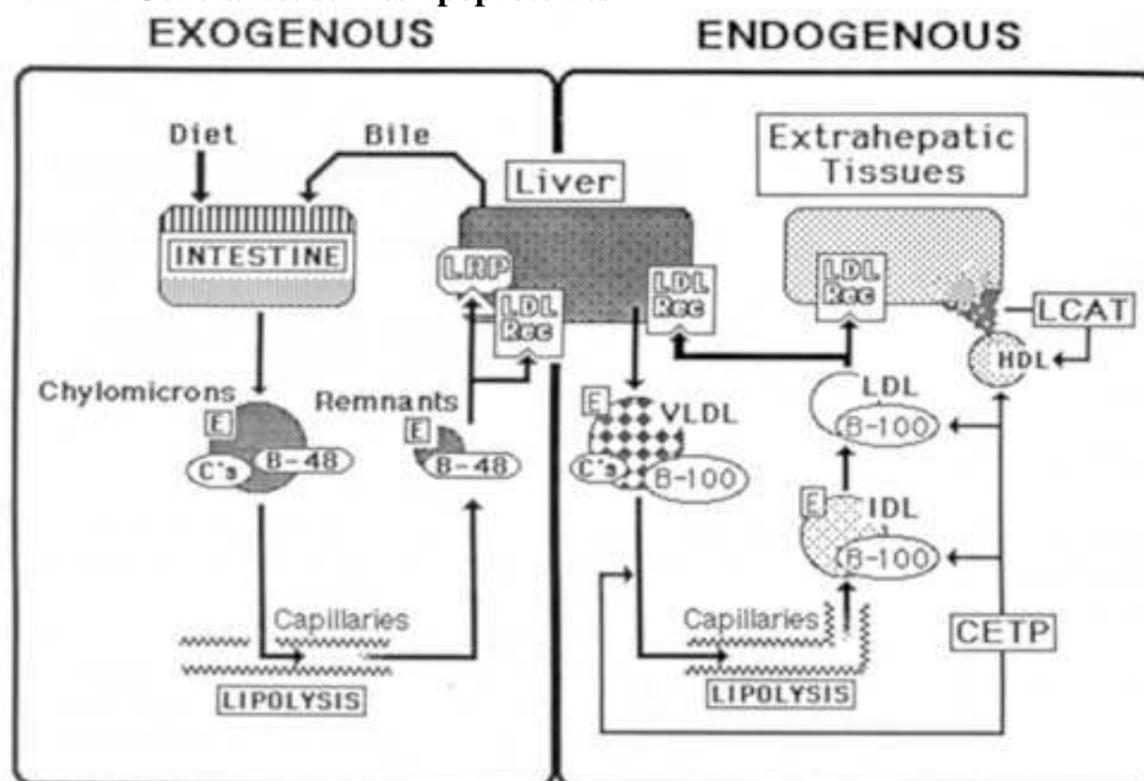


Figure –6- Principales composantes du métabolisme des lipoprotéines.(Vance et al. 1996)

La libération des Acides gras se fait à partir des lipoprotéines ; la lipoprotéine lipase catalyse une étape initiale majeure de la lipolyse, elle clive les liaisons ester des acides gras des lipoprotéines et libère des acides gras libres et des mono glycérides (**Berziat et Benlian,1999**).L'activité de la lipoprotéine lipase nécessite des phospholipides et l'apoprotéine C-II comme cofacteur (**David et al 1985**) ; la réaction des chylomicrons avec la Lipoprotéine lipase aboutit à la perte d'approximativement 90% des triglycérides . Les résidus de chylomicrons lipolysés sont captés par des récepteurs hépatiques (**Hennen, 1996**) Dans le plasma, les acides gras libres sont liés à l'albumine et atteignent ainsi les cibles suivantes : - La musculature et de nombreux organes : ou ils sont brûlés en tant que source d'énergie dans les mitochondries (**Laurent 1992**)- les adipocytes : ou les triglycérides sont de nouveau synthétisés et stockés sous forme de gouttelettes lipidiques ; En cas d'augmentation des besoins énergétiques ou de diminution de l'apport alimentaire , les triglycérides sont à nouveau hydrolysés dans l'adipocyte (**Lecerf 2000**) ,sous l'effet d'une enzyme cytoplasmique ; la lipase hormono-sensible . Les acides gras libérés quittent la cellule et sont transportés par voie sanguine là où ils sont nécessaires (**Gérard – Globa 1986**).

- le foie : ou les acides gras peuvent être soit métabolisés soit ré estérifiés en triglycérides et sécrétés à nouveau sous forme de VLDL (**Kamoun et al ; 1995**).

VIII - 2- Classification des lipoprotéines : Toutes les lipoprotéines ont une même structure de base. Il y a la couche externe, composée d'Apo lipoprotéines, de phospholipides et de cholestérol libre en proportions variables. Il y a également le noyau, composé de triglycérides et de cholestérol estérifié. Cette conformation utilise les lipides polaires et les protéines pour créer un espace clos, hermétique dans lequel les lipides hydrophobes peuvent être emmagasinés pour permettre le transport vers les organes, tissus et cellules qui en ont besoin. (**Lemieux, 2005**)

Il existe 5 grandes classes de lipoprotéines qui sont différenciées par leur taille et leur densité: le chylomicron, la lipoprotéine riche en triglycérides (very low density lipoprotein, VLDL), la lipoprotéine de densité intermédiaire (intermediary density lipoprotein, IDL), la lipoprotéine de faible densité (low density lipoprotein, LDL), et la lipoprotéine de haute densité (high density lipoprotein, HDL). Chacune de ces classes se distingue non seulement par sa taille et sa densité, mais également par son contenu en phospholipides, triglycérides et en cholestérol ainsi que par le nombre et le type d'Apo lipoprotéines qui la constituent. (**Lemieux, 2005**)La classification la plus utilisée est celle qui repose sur la densité des lipoprotéines hydratées : cette densité diminue quand la fraction lipidique augmente (**Cuvelier et al 1992**)

VIII - 2-1 chylomicron

La première molécule de transport qui est produite par le corps humain suite à l'ingestion d'un repas est le chylomicron. Celui-ci est le transporteur des lipides exogènes ingérés lors de la prise alimentaire. Lorsque les aliments entrent dans le système digestif, ils sont immédiatement mis en contact avec plusieurs enzymes dont certaines sont des lipases qui dégradent les lipides. Les sels biliaires sont également mis à contribution pour ainsi permettre aux lipides et cholestérol exogènes de traverser la membrane de l'entérocyte.

C'est exclusivement l'entérocyte qui synthétise le chylomicron. Celui-ci est composé principalement de triglycérides (85-92%) et de cholestérol estérifié (1-3%) composant son noyau, ainsi que de phospholipides (6-12%) et de protéines (1-2%) composant sa surface. Les protéines composant le chylomicron sont l'apoB-48, synthétisée dans l'entérocyte, et les apoA-I, apoA-II et Apo A-IV. Ensuite le chylomicron est transféré dans la lymphe puis dans le plasma où il acquiert des apoC-II, apoC-III et apoE à partir d'échanges avec les HDL. Suite à l'acquisition de l'apoC-II, cofacteur de la lipase lipoprotéine (LPL), le chylomicron peut maintenant être hydrolysé par celle-ci

- L'action de la LPL (lipase lipoprotéine) permet aux acides gras d'être libérés et d'être captés par les cellules avoisinantes. Le résidu de chylomicron transfère certaines composantes de surface en surplus (Apo A, Apo C, phospholipides et cholestérol) à la HDL pour garder son intégrité et sa forme. Le résidu est ensuite capté au niveau du foie par le récepteur apoB/E ainsi que par le récepteur LRP (LDL receptor-related protein),

Deux récepteurs reconnaissant les Apo lipoprotéines comme cofacteurs. Le résidu subit donc une endocytose et est entièrement dégradé par des enzymes lysosomales. **(Cuvelier et al 1992)**

VIII - 2-2- VLDL

Le transport endogène des lipides commence au niveau du foie. Les VLDL sont pratiquement toutes produites par le foie alors qu'une faible proportion provient de l'intestin, principalement à l'état de jeûne. Le foie synthétise des triglycérides qui sont assemblés avec une molécule d'apoB-100, synthétisée également par le foie. La VLDL contient également une faible proportion de cholestérol ainsi que des Apo lipoprotéines apoC-II, apoC-III et apoE. Comme pour le chylomicron, la VLDL est hydrolysée par la LPL des tissus périphériques pour en retirer les triglycérides. **(Cuvelier et al 1992)**

VIII - 2-3- IDL

La IDL (ou résidu de VLDL), molécule intermédiaire, se retrouve habituellement en faible concentration dans le plasma. Suite à l'hydrolyse de la VLDL, celle-ci devient une particule résiduelle appelée résidu ou IDL. La IDL peut être captée par le foie, par le récepteur apoB/E, ou subir l'action de la lipase hépatique (hydrolyse de triglycérides et de phospholipides) pour devenir une LDL

VIII - 2-4- LDL

La LDL est une lipoprotéine extrêmement documentée et étudiée de par sa caractéristique particulièrement athérogène suite aux nombreuses hydrolyses précédant sa formation. La LDL contient plus de 50% de cholestérol. La LDL contient encore la molécule d'apoB-100 de départ (VLDL) ainsi que des traces d'apoC-II, apoC-III et d'apoE. La LDL sera captée par endocytose par le récepteur des LDL dans les tissus périphériques ou dans le foie pour y être dégradée par les cellules qui nécessitent un apport en cholestérol. **(Cuvelier et all 1992)**

VIII - 2-5-HDL

La HDL, qui est la plus petite des lipoprotéines, est le dernier chaînon du métabolisme de transport des lipides. La HDL naissante ou immature, est de forme discoïdale et composée d'une structure bi lamellaire de cholestérol libre et de phospholipides ainsi que d'apoA-I et d'apoA-II. Cette HDL immature va par la suite se lier à la lécithine - cholestérol acyltransférase (LCAT), une enzyme qui estérifie le cholestérol libre. Elle va par la suite capter le cholestérol libre à la surface des cellules et sous l'action de la LCAT, Le cholestérol sera estérifié et migrera de la surface vers l'intérieur de la HDL. **(Cuvelier et all 1992)**

En accumulant le cholestérol, la HDL acquiert une forme plus sphérique et sera nommée HDL₃. Cette HDL₃ entre en contact avec les autres lipoprotéines (chylomicron, VLDL, IDL, LDL) et sous l'action de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP), la HDL va échanger du cholestérol estérifié contre des triglycérides. C'est également dans ces contacts avec les autres lipoprotéines que la HDL acquiert de nouvelles Apo lipoprotéines (apoC-II, apoC-III, apoE). La HDL₃ se transforme en HDL₂. La lipase hépatique hydrolyse les triglycérides et les phospholipides de la HDL₂ pour ainsi régénérer une HDL₃. La HDL₂ peut également transférer son cholestérol par un mécanisme de transfert sélectif. La HDL ainsi appauvrie en cholestérol retourne dans la circulation pour recommencer le cycle des HDL **(Cuvelier et all 1992)**

Cependant certains auteurs (**Apaulovic et Fruchart**) pensent que la séparation des lipoprotéines selon le gradient de densité en chylomicrons, VLDL, IDL, LDL, ou HDL, ne tient pas compte de la composition protéique.

L'utilisation d'anticorps antiapoprotéines permet d'identifier plus précisément cette composition. Les lipoprotéines ainsi caractérisées sont désignées par « particules » (Lp) ; on distingue 2 sortes de particules :

- les particules simples ; elles ne contiennent qu'une seule apolipoprotéine

Exemple (LpA I, LpB.....)

- les particules complexes ; elles contiennent au moins deux apolipoprotéines

Exemple (LpA I : AII, LpB : E, LpB : CIII,)

(**Duriez et Fruchart 1994 ; Turpin et all 1994**)

VIII - 3 - Composition des lipoprotéines :

Les lipoprotéines plasmatiques sont des particules solubles dans l'eau , de haut poids moléculaire , de structure généralement sphérique , dans lesquelles le noyau est constitué de lipides très hydrophobes (triglycérides , estères de cholestérol) et l'enveloppe est constituée de phospholipides , de cholestérol et d'apolipoprotéines ou apoprotéines .

VIII - 4 - Les apolipoprotéines :

Les apolipoprotéines représentent la fraction protéique des lipoprotéines. La nature de ces corps protéiques est très variée et a fait l'objet de nombreuses études. Par convention, ces apolipoprotéines sont identifiées par des lettres A, B, C, D et E.

La plupart des apolipoprotéines sont synthétisées dans le foie ou l'intestin, excepté l'Apo E qui semble être synthétisée dans toutes les cellules mis à part l'intestin (**Olson, 1998**).

Le rôle principal de ces apolipoprotéines est de former des complexes macromoléculaires et de servir de véhicule pour les lipides. Certaines ont de plus la propriété d'activer ou d'inhiber l'action de certains systèmes enzymatiques qui interviennent dans le métabolisme des lipides (**Cuvelier et all 1992 ; Perret et all 2000**).

- *Apolipoprotéine A I (Apo – AI) : la majorité de l'Apo AI est retrouvée dans les particules lipoprotéiques présentes dans les HDL. Certaines sont primaires et ne contiennent que l'Apo AI , tandis que d'autres sont secondaires et portent à la fois Apo AI , AII, F, D, E.

L'Apo –AI se trouve dans le plasma, dans l'intestin et le foie sous forme de préproapolipoprotéine AI. L'Apo –AI est le meilleur reflet de la sous fraction HDL2, son dosage apporte des renseignements supplémentaires (**Fruchart 1988**)

-* Apolipoprotéine B (Apo- B) les Apo B sont principalement des protéines structurales. Majeures dans les lipoprotéiques de basse densité (LDL), elles sont également présentes dans les Chylomicrons et les VLDL. On distingue deux formes :

-Apo – B 48 : Normalement absente du sérum des sujets à jeun, elle a sa localisation au niveau des chylomicrons et des remnants sa fonction principale est le transport des triglycérides hors de l'intestin.

- Apo – B 100 : son rôle est bien démontré dans les maladies cardiovasculaires ; elle est importante pour le transfert des triglycérides hépatiques dans la circulation, mais sa fonction principale réside dans la capture du cholestérol par le foie et les tissus extra hépatiques, par l'intermédiaire des récepteurs Apo B / E de Goldstein et Brown
(**Cuvelier et all 1992**)

**Tableau – 2 - Caractéristiques physiques et chimiques
Des lipoprotéines plasmatiques humaines: (Lagrost 2005)**

TYPE DE LIPO PROTÉINE	MOBILITÉ ÉLECTRO- PHORÉTIQUE	DENSITÉ (g/ml)	TAILLE (nm)	proportion EC/TG	PRINCIPALES APOLIPO- PROTÉINES (APO)
Chylomicrons	Pas de migration	0,93	1 200	1/19	B48, E, C
VLDL	Pré - β	0,93- 1,006	30-80	1/3,3	B100, E, C
LDL	β	1,019- 1,063	18-27	1/0,23	B100
HDL2	α	1,063- 1,125	9-12	1/0,22	AI, AII, C
HDL3	α	1,125- 1,210	7-9	1/0,19	AI, AII, C
Pré- β HDL	Pré- β	1,210- 1,250	<7 disques	non détectable	AI

VIII -5- Le métabolisme des lipoprotéines:

Le métabolisme des lipoprotéines suit trois voies essentielles :

- la voie entéro-hépatique, permettant le transport des lipides exogènes de l'intestin vers le foie,
- la voie d'apport que représente le transport centrifuge des lipides du foie vers les tissus périphériques
- la voie de retour, permettant le transport centripète du cholestérol des tissus périphériques vers le foie et son excrétion biliaire (Lagrost 2005).

Indépendamment de leurs propriétés physicochimiques, stabilisatrices de l'édifice lipoprotéine, ce sont leurs propriétés fonctionnelles, telle que l'assemblage et la sécrétion des lipoprotéines, leur interaction avec les récepteurs cellulaires spécifiques, ou encore l'activation ou l'inhibition d'enzymes impliquées dans leur métabolisme intra vasculaire, qui ont suscité un intérêt majeur au cours des trois dernières décennies.

Les études structurales et fonctionnelles ont permis de décrypter l'implication précise de chacune des particules lipoprotéines dans le transport intra vasculaire des lipides.

Lorsque l'on considère le métabolisme des lipoprotéines, il est classique de distinguer trois types de tissus : l'intestin, le foie et les tissus périphériques, (Lagroست 2005).

- L'intestin permet l'absorption des lipides alimentaires et leur intégration dans des lipoprotéines de grande taille, néo synthétisées au sein de l'anthérocyte et riches en triglycérides : les chylomicrons.

Ces chylomicrons vont contribuer au transport entéro-hépatique des lipides, voie métabolique au cours de laquelle leurs triglycérides seront hydrolysés et captés par les tissus périphériques pour y être stockés (tissu adipeux), ou dégradés à des fins énergétiques (muscle strié) (Vance, et al. 1996)

- Le foie constitue l'organe central de gestion du métabolisme et du transport des lipides dans l'organisme. Il prend en charge les lipides résiduels d'origine intestinale et les intègre dans de nouvelles lipoprotéines afin de les redistribuer aux tissus périphériques.

Cette voie centrifuge consiste en une cascade impliquant les VLDL, les IDL et les LDL.

-Enfin, les tissus périphériques captent des lipides (principalement cholestérol et acides gras libres non estérifiés) par le biais de l'endocytose et de l'hydrolyse des lipoprotéines d'origine hépatique ou intestinale.

Quant au cholestérol, la plupart des tissus périphériques ne peuvent pas le métaboliser et ont recours, via les HDL, à une voie de transport centripète vers le foie, seul organe capable de l'éliminer par voie biliaire (Vance et al. 1996)

OXYDATION DE L'HUILE :

I- Les altérations thermo oxydatives des huiles végétales

Au cours de leur obtention et leur utilisation, les huiles végétales alimentaires subissent certains types de traitements thermiques tels que : le raffinage, l'hydrogénation et les fritures .Ce genre de traitement engendre un ensemble de modifications physicochimiques qui conduisent dans certains cas à des altérations pouvant affecter la valeur nutritionnelle de ces huiles. (Mansouri 2000)

I-1-Définition des différents procédés utilisant le traitement thermique :

Lors de traitements thermiques modérés en présence d'air (170 – 190 °C), l'huile subit une dégradation essentiellement de type oxydatif, la formation de composés oxygénés étant importante :

Dans le cas du chauffage des huiles, les phénomènes oxydatifs mettent en jeu des réactions complexes qui associent une dégradation oxydative (auto oxydation) et une dégradation thermique.

Les mécanismes de peroxydation radicalaire prédominent à basse température, alors que les réactions non radicalaires thermiques deviennent majoritaires à haute température (Genot, Eymard, Viau 2004)

I-1-1 -le raffinage :

Les huiles et les graisses brutes contiennent un certain nombre de composés mineurs qu'il est nécessaire d'éliminer avant consommation.

Le raffinage a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques et la stabilité des corps gras alimentaires. (Trémolière et al 1980)

Selon Bretillon et al 1999, les huiles végétales doivent être raffinées au cours d'un processus dont la dernière étape, la désodorisation consiste en un chauffage à une température pouvant atteindre 270 °C pendant 1h 30mn à 3 heures, ce qui entraîne la formation d'isomères trans d'acides gras.

I-1-2 - l'hydrogénation :

Elle consiste à saturer tout ou une partie des doubles liaisons des acides gras insaturés au moyen d'hydrogène .elle s'applique aux huiles particulièrement sensibles à l'oxydation et à la chaleur. Le corps gras est chauffé à des températures de l'ordre de 150 à 180°C.

L'hydrogénation provoque une certaine isomérisation des acides gras insaturés, favorisant de ce fait la formation d'acides gras et d'isomères de position. . (Trémolière et al 1980)

Mis
défa
pt,
scrip
Ron

Mis
Retr
Inte

Mis
défa
pt,
scrip
Ron

Mis
1,5

Mis
défa
Poli
:Tin

Mis
1,5

Mis
défa
Poli
:Tin

Mis
défa
Poli
:Tin

Mis
Inte

Sup
¶

Mis

Mis

I-1-3- Les fritures :

La friture est la méthode de cuisson des aliments qui consiste à les plonger dans de la matière grasse chauffée (**Clément 1978**)

C'est un procédé de séchage très répandu à toutes les échelles de mise en œuvre (fritures domestiques, artisanales ou industrielles) et pour la transformation d'un grand nombre de produits (fruits, légumes, viandes et poissons). c'est pour ces applications comme système de cuisson traditionnel ou d'élaboration de produits tels que chips , frites ou beignets que la friture est la plus connue et répandue (**Raoul- Wack et al 1998**) .Les procédés de friture se traduisent par de nombreuses transformation chimiques . Celles-ci résultent de la destruction des liaisons insaturées, de l'addition de l'oxygène aux molécules, de la scission des triglycérides en acides gras libres ayant une plus courte longueur de chaîne (**Perkins 1976**)

II- L'oxydation thermique des lipides :

Pendant la friture, l'huile subit un ensemble complexe de réactions chimiques comme l'oxydation, la polymérisation, des hydrolyses, l'isomérisation cis/trans. et la cyclisation . Ces réactions ont des effets sur les caractéristiques fonctionnelles, nutritionnelles et organoleptiques de l'huile, et peuvent aboutir à la formation de composés qui ont des effets nocifs sur la santé. Le processus d'auto oxydation, par exemple, met en jeu une réaction en chaîne radicalaire qui entraîne l'oxydation des acides gras insaturés de l'huile. Cette oxydation conduit à une diminution de la valeur nutritionnelle de l'huile par dégradation des acides gras essentiels (ac linoléique). En outre, elle aboutit à la formation de divers produits de décomposition qui lui confère une odeur et un goût indésirable, voir vraisemblablement une certaine toxicité (**Chimi et all, 1990**).

La peroxydation lipidique peut être évaluée par la mesure de la disparition des acides gras poly insaturés, la consommation d'oxygène, l'augmentation des produits de dégradation des hydroperoxydes, et la détection des radicaux lipidiques. (**Genot, Eymard, et Viau 2004**)

II-1-Définition :

L'oxydation résulte de l'action de l'oxygène sur les doubles liaisons ; elle nécessite des quantités infimes d'oxygène pour se déclencher. Les premiers corps formés sont des hydroperoxydes qui donnent naissance à des molécules plus complexes (**Trémolière et al 1980**) L'oxydation des lipides alimentaires est connue depuis longtemps ; modification de l'odeur, de la sapidité et des qualités nutritives des aliments .

Les lipides des organismes vivants sont particulièrement sensibles à l'oxydation, surtout ceux formés d'acides gras poly insaturés dans les membranes cellulaires. Les huiles végétales (tournesol, maïs et soja) sont très susceptibles à l'altération oxydative en raison de leur composition en acides gras poly insaturés et du raffinage. D'une part, les chaînes grasses insaturées fixent l'oxygène en formant des peroxydes instables qui évoluent spontanément en des produits d'oxydation de dégradation et de polymérisation (**Richard 1992**) d'autre part ces huiles raffinées ont perdu leurs propres moyens de défense et par suite sont devenues instables (**Perrin 1992**) Les formes les plus réactives de l'oxygène peuvent initier directement la peroxydation lipidique. De nombreux produits sont générés lors de la peroxydation des lipides (diènes conjugués , peroxydes , aldéhydes , alcanes) dont la plupart sont cytotoxiques , athérogènes et mutagènes . La transmission en chaîne de la réaction de peroxydation lipidique est stoppée par la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidique des membranes. De nombreux facteurs sont susceptibles d'influer sur la réaction de peroxydation, soit en la prévenant, soit en la favorisant ; Il s'agit de facteurs tels que la structure des lipides, la présence de molécules pro oxydantes (hème, ions métalliques, enzymes) ou d'antioxydants (tocophérols, caroténoïdes, composés phénoliques,) Une augmentation du niveau d'oxydation est généralement le témoin d'un dysfonctionnement faisant suite à une rupture de l'équilibre entre facteurs pro et antioxydants (**Perrin 1992**)

II-2- Mécanisme général de l'oxydation :

Le processus d'oxydation commence par l'abstraction d'atomes d'hydrogène des acides gras poly insaturés et l'apparition de radicaux libres, il se poursuit avec l'addition d'oxygène et la formation d'hydroperoxydes lipidiques. Ces derniers sont instables ; ils se décomposent par la suite en aldéhydes saturés et insaturés, en cétones et alcools.

La grande réactivité de ces composés aboutit à l'apparition d'aldéhydes à chaîne plus courte, d'acides, d'alcools etc. qui constituent les produits terminaux (**Combe 1996**).

L'oxydation des lipides est une réaction auto catalytique ; il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes ; une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras « INITIATION », puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres « PROPAGATION » qui se combinent pour former des composés non radicalaires « TERMINAISON »

II-2-1 - Réactions d'initiation : elles conduisent à la formation de radicaux libres ou de peroxydes lipidiques. Elles ont une énergie d'activation élevée. Elles sont favorisées par les températures élevées, la lumière et certains métaux. Cette phase peut aussi être déclenchée par d'autres facteurs tels que les formes activées de l'oxygène, les enzymes (**Hsieh et Kinsella 1989, Hultin 1994, Frankel 1998**)

Initiation par les formes activées de l'oxygène

L'oxygène moléculaire est, dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes.

- Le premier correspond aux voies de l'autoxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique.
- Le second mécanisme est la formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photo oxydation.
- Le troisième est lié à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire

Initiation par les métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène. (**Love, 1980**). Au sein des tissus biologiques, les principaux métaux de transition présents sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques.

En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes produits par les enzymes, seraient décomposés pour former des composés volatils responsables des mauvaises odeurs. (**Frankel, 1998**)

II-2-2-Réactions de propagation : elles constituent l'étape d'oxydation des lipides insaturés par l'oxygène gazeux. L'énergie d'activation est très faible

II-2-3- Réactions d'arrêt ou terminaison : les radicaux libres s'associent pour donner des composés non radicalaires divers.

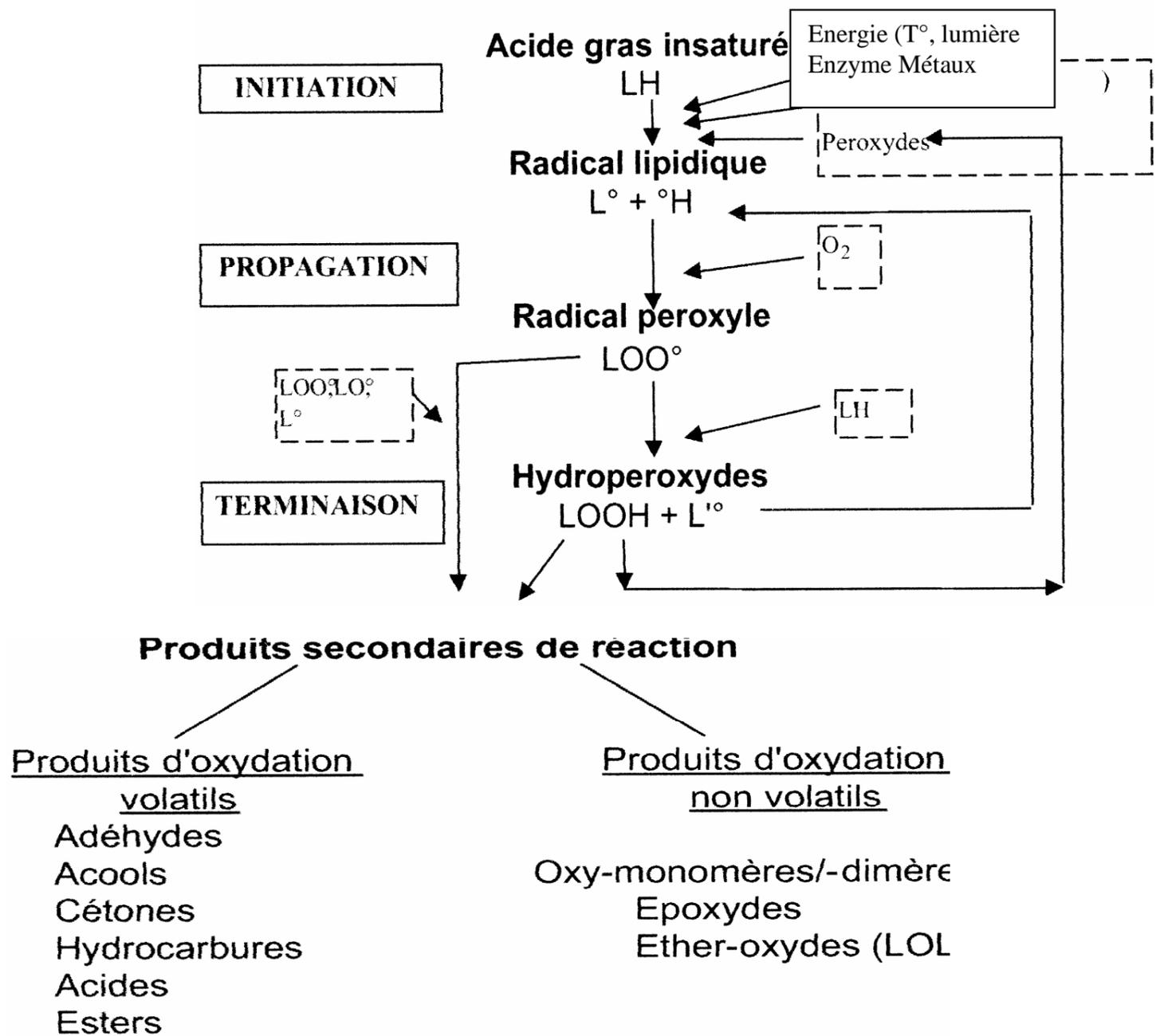


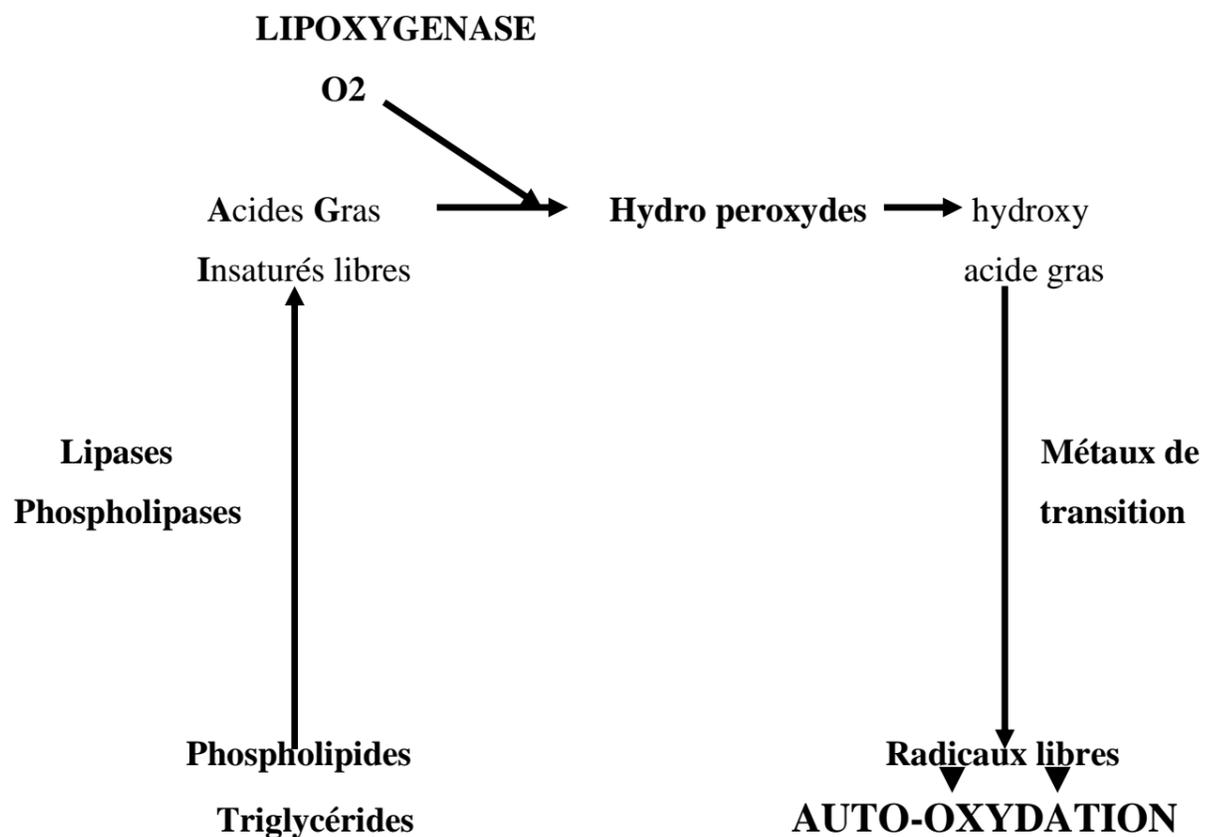
Figure-7- Schéma général de l'oxydation des lipides
(German et Kinsella 1985)

II -3- Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides :

II-3 – 1 Initiation : en présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) (radical lipoyle)



Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou des traces métalliques.

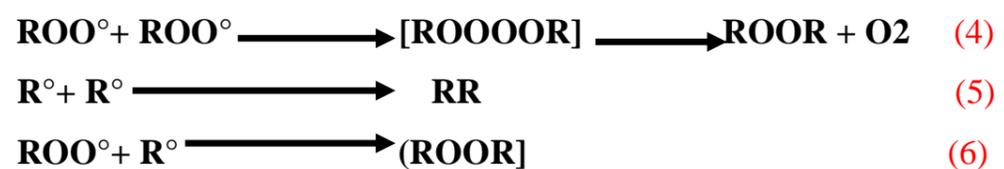


**Figure– 8 - Mécanisme d’initiation de la peroxydation
des lipides par la lipoxygénation
(German et Kinsella 1985)**

II-3-2-Propagation : les radicaux libres formés fixent l’oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d’acide gras pour former des hydroperoxydes (3)



II -3- 3 Terminaison : les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n’est pas un radical libre.



Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyl. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl.

Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyl ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes.

Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyl, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures.

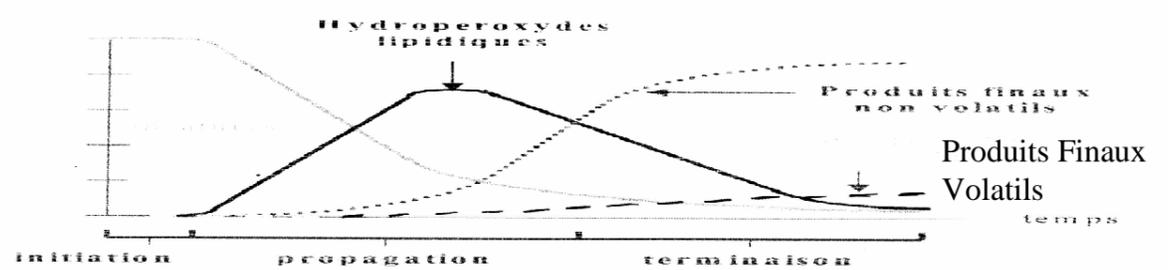


Figure-9- Schématisation de la cinétique d'oxydation des acides gras insaturés (Genot 2002)

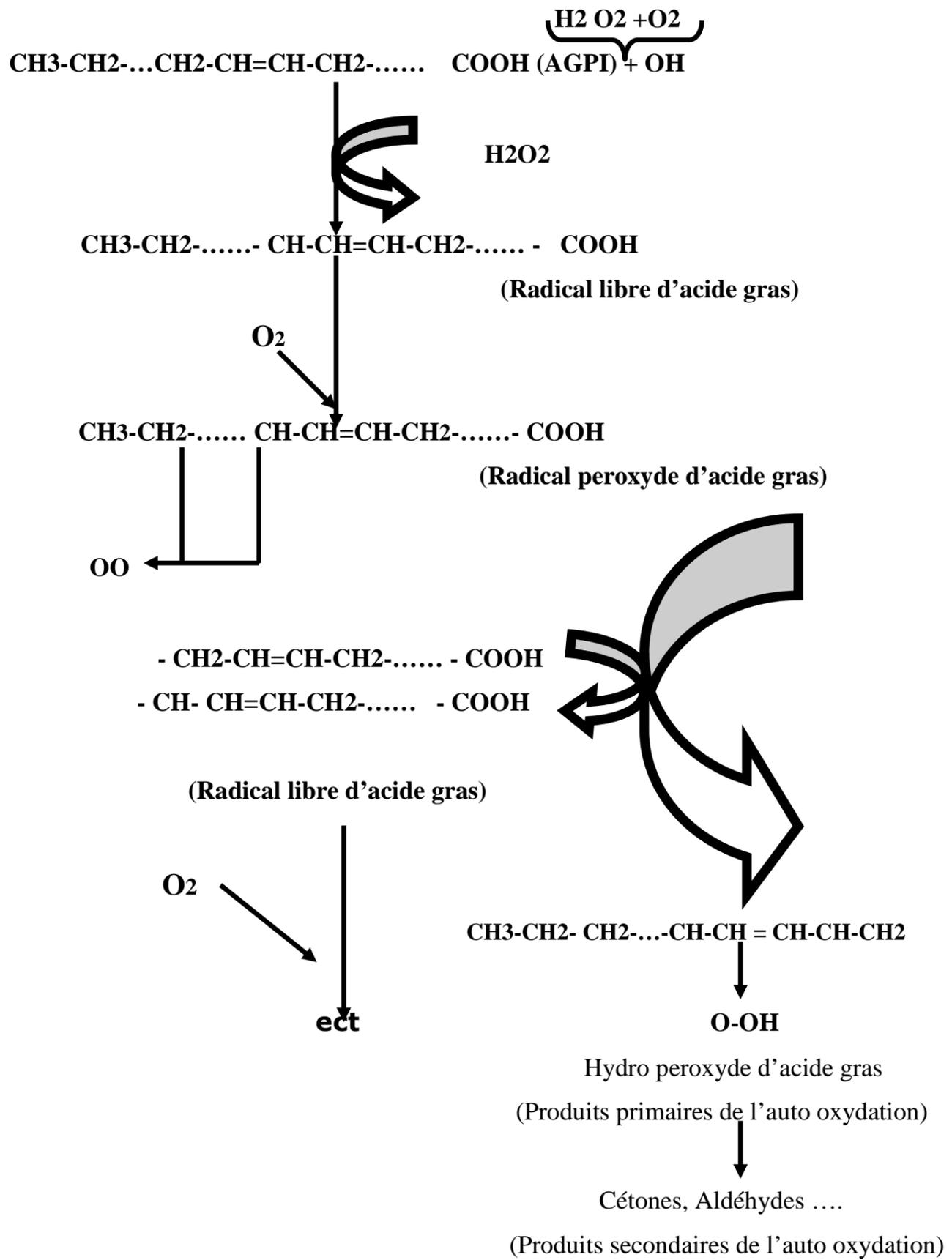


Figure – 10-Auto oxydation d'acides gras poly insaturés AGPI

(Entressangles 1986)

II - 4- Photo oxydation

La photo oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (**Hultin, 1992**). Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens³) (**Hultin, 1994**). Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (**Frankel, 1998**). Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (7).



Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens³) avec l'oxygène triplet (8) auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (O₂¹).



L'oxygène singulet ainsi formée est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxydes ROOH (9).



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par auto oxydation (**Frankel, 1998**).

II -5- Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (**Hultin, 1994**). La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. L'oxydation enzymatique se produit même à basse température.

III - Les produits de l'oxydation :

Au cours du processus de chauffage, l'huile subit des altérations oxydatives (formation de peroxydes) et hydrolytiques (formation d'acides libres) ce qui modifie sa qualité organoleptique et nutritionnelle.

Les hydro peroxydes et les peroxydes très instables se décomposent en de nombreux produits secondaires (**Lit Man et Numruch, 1978**) il en résulte un mélange complexe de produits d'altération, initialement décrits sous le terme d'espèces chimiques nouvelles ECN (**Perrin et al, 1985**), dont les proportions relatives sont très liées aux conditions expérimentales et dépendent également de la qualité et du passé oxydatif de l'huile ; Les acides gras de la famille des oméga 3 sont théoriquement plus sensibles à l'oxydation que les acides gras de la famille des oméga 6, du fait qu'ils présentent dans leur molécule une à deux liaisons supplémentaires.

A ce titre, ils seraient plus sujets à l'auto oxydation et à la photo oxydation qui conduisent, à travers des processus dynamiques complexes, à toute une série de produits intermédiaires et finaux.

Ces phénomènes sont influencés par la teneur en métaux (Fe, Cu), la concentration en acides gras et la nature de la matrice qui peut influencer sur l'accessibilité des molécules d'acide gras aux agents pro et anti oxydants. (**Genot, Eymard, Viau, 2004**) Ainsi la chaleur accélère le processus d'oxydation et à haute température une plus grande variété de produits secondaires est formée (**Entressangles, 1985**).

-Des aldéhydes et des cétones résultent de la scission de l'AG, qui subissent eux même une peroxydation, il apparaît ainsi une dégradation récurrente de la chaîne d'AG au niveau des différentes doubles liaisons de l'AG .

- Des esters cycliques apolaires et des produits oxydés polaires.

- Des dimères et des dérivés supérieurs résultant de la polymérisation des esters oxydés (**Perrin et al, 1985**)

Les produits de scission étant volatiles aux températures d'utilisation des huiles de fritures (180°C-200°C), leur importance est moindre. Les esters cycliques se forment à très haute température sans passer par l'intermédiaire d'hydro peroxyde, la probabilité de leur formation dans les conditions culinaires est donc faible (**Entressangles, 1986**)

Les produits secondaires les plus importants sont donc les esters oxydés et les polymères dérivés (**Grangirard et al, 1987**) Du fait de cet aspect dynamique et de la multiplicité des produits intermédiaires et finaux (on peut en dénombrer plus d'une centaine dans une huile profondément oxydée) on ne peut avoir de façon aisée qu'une approche grossière de l'état d'oxydation d'une huile contenant des acides gras poly insaturés, en particulier de type oméga 3.

Tableau – 4- Nature des produits générés au cours de la lipopéroxydation (Combes 1996)

Produits primaires	Produits secondaires	Produits terminaux
Hydropéroxydes conjugués	Aldéhydes ex malonyldialdhyde MDA Cétones Alcools	Aldéhydes volatils Hydrocarbones volatils Acides, alcools à chaîne courte, Co2 Produits fluorescents (lipofuschine)

IV- Méthodes d'évaluation du niveau d'oxydation :

Les produits initiaux d'oxydation tels que les peroxydes, sont considérés comme les précurseurs de molécules odorantes. Ils peuvent être estimés par la mesure de l'indice de peroxyde ou le niveau des diènes conjugués (Entressangles, 1985).

Les produits secondaires d'oxydation peuvent être mesurés par l'analyse des composés à groupe carbonyle ou des produits volatils par chromatographie gazeuse leur effet peut également être évalué par des tests sensoriels effectués par des groupes d'experts. Il est possible d'identifier par des moyens analytiques appropriés la nature des molécules qui ont été détectées par ces groupes d'experts. Il a été observé qu'il n'existe pas de corrélation étroite entre les odeurs de poisson et les paramètres traditionnels de mesure de l'oxydation que sont la mesure de l'indice de peroxydes et celle de l'indice d'anisidine : il n'existe pas non plus de corrélation avec les valeurs données par les nez électroniques. (Entressangles, 1985).

Généralement, les méthodes qui évaluent l'oxydation sont basées sur la mesure soit des produits d'oxydation primaire soit des produits secondaires de cette oxydation. Les produits d'oxydation primaire ne sont que les précurseurs des produits secondaires. Ce sont donc les produits issus de la peroxydation des acides gras poly insaturés, et non les acides gras poly insaturés eux-mêmes, qui confèrent des odeurs désagréables aux aliments. (Entressangles, 1985).

IV-1 –Les méthodes indirectes :

Elles consistent à suivre la disparition des substrats ; les acides gras poly insaturés ou l'oxygène.

IV-1-1-Mesure de la perte en acides gras poly insaturés :

Le dosage des acides gras poly insaturés avant et après peroxydation permet de quantifier la perte en acides gras poly insaturés liée au processus oxydatif étudié ; la technique est celle utilisée pour l'analyse des acides gras (extraction des lipides, saponification, estérification et chromatographie en phase gazeuse). In vitro elle fournit de bonnes informations sur la potentialité oxydative des acides gras poly insaturés (**Combes 1996**). Néanmoins en dépit de sa précision, cette technique n'apparaît pas suffisamment sensible pour évaluer l'intensité de la lipopéroxydation ; En particulier elle est adaptée aux études in vivo. L'acidité, est désignée par le pourcentage en acide oléique

IV-1-2- Mesure de la consommation en oxygène :

Elle permet de quantifier la peroxydation d'un échantillon maintenu à une pression constante en oxygène quand aucune autre réaction consommatrice d'oxygène n'est présente. C'est ainsi qu'on a été établies les vitesses relatives d'oxydation des acides gras linoléique et linoléique (**Loliger 1989**)

L'indice de peroxyde : nombre de micromoles d'oxygène actif contenues dans un gramme de corps gras susceptible d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. Ce critère permet d'apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative (**Karleskind 1992**).

IV-2- Les méthodes de mesure des produits primaires d'oxydation :**IV-2-1-Dosage des hydroperoxydes lipidiques :**

Les hydroperoxydes sont considérés comme les produits de lipopéroxydation qui fournissent les meilleures informations sur l'intensité de la lipopéroxydation ; on a le choix entre trois catégories de méthodes pour les doser.

IV-2-1-1- le titrage iodométrique : en milieu acide les hydroperoxydes sont réduits par l'ion iodure : $\text{ROOH} + 2\text{H}^+ + 2\text{I}^- \longrightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{I}_2$
L'iode formé est ensuite dosé par volumétrie ou spectrophotométrie.

Il faut souligner que le titrage iodométrique présente un certain nombre d'inconvénients : - surestimation ou sous estimation de l'indice de peroxyde (dus à la fixation de l'iode libérée sur les doubles liaisons des acides gras poly insaturés, la formation d'iode par oxydation des ions iodures en présence d'oxygène ,ainsi que l'influence de la température et du temps de réaction)

comme autre inconvénient on peut citer le seuil de sensibilité trop faible pour être applicable aux échantillons biologiques ainsi que l'interférence de tout agent oxydant. (**Combes 1996**)

IV-2-1-2-les méthodes non iodométriques : On en dénombre plusieurs :

- la plus courante : est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des hydroperoxydes à oxyder le complexe hexathiocyanate ferreux (jaune) en hexathiocyanate ferrique (rouge)
- un test de fluorescence basé sur l'oxydation par les hydroperoxydes de la dichlorofluoresceine en dichlorofluorescéine (**Cathcart, Schwiers, Ames 1978**)
- certaines méthodes enzymatiques (emploi de peroxydases et suivi de l'oxydation du NADPH par spectrométrie, elles sont hautement spécifiques mais longues (**Heath, Tappel 1976**))
- Une méthode semble allier simplicité, sensibilité, et spécificité. Son principe est basé sur la réaction d'un dérivé de bleu de leucométhylène avec les hydroperoxydes en présence de catalyseur hémique (hémoglobine) elle est applicable aussi bien aux matériels biologiques qu'au corps gras (**Ohishi, Ohkawa, Milk, Tatano, .Yagi 1985**)
- enfin les différentes méthodes de chromatographie liquide haute performance (HPLC) le principe est basé sur l'oxydation de triphénylphosphine en oxyde de triphénylphosphine par les hydroperoxydes de l'échantillon ; l'oxyde de triphénylphosphine est ensuite isolé par chromatographie liquide haute performance et dosé par détection UV (**Yamada, Terao, Matsushita, 1987**)

IV-2-1-3- Dosage par chimiluminescence :

La méthode utilise l'émission de luminescence générée par la décomposition radicalaire des hydroperoxydes, en présence de luminol (**Miazawa et al 1990**) Ce test est des plus fiable, il est très utilisé sur les corps gras, néanmoins son application au matériel biologique nécessite généralement l'extraction préalable des lipides.

IV-3-Les méthodes de mesure des produits secondaires d'oxydation :

IV-3-1-Dosage des produits carbonylés (aldéhydes et cétones)

Ce sont les produits les plus caractéristiques de la lipopéroxydation ; leur présence est facilement détectée par leur odeur déplaisante, quelquefois utilisés pour faire une évaluation de l'état d'oxydation ; on dose ces produits secondaires en utilisant la réactivité de la liaison carbonyle sur un groupement amine qui conduit à une base de Schiff :



- on peut citer une méthode simple et rapide développée récemment pour déterminer les aldéhydes dans les huiles oxydées ; l'analyse est basée sur la réaction de la N,N-diméthyl-p-Phénylenediamine (DPPD) avec les aldéhydes en présence d'acide acétique . (**Miyashita, Kanda, Takagi 1991**)

IV-3-2 Les substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA)

Le test TBA est certainement la plus classique des techniques pour mesurer la lipopéoxydation sur des milieux biologiques. Il doit sa popularité à sa simplicité et à sa sensibilité. En présence de composés d'oxydation, type malonalaldéhyde (MDA), l'acide thiobarbiturique réagit et forme en milieu acide un complexe chromogénique qui absorbe à 532 nm (**Buege, Aussi 1978**)

IV- 4–Les méthodes de mesure des produits terminaux d'oxydation :

IV- 4–1-Détermination des substances fluorescentes :

Ces substances s'accumulent avec l'âge dans les tissus et cellules, elles sont considérées comme des produits terminaux de la lipopéoxydation in vivo.

Cette méthode présente l'inconvénient de fournir des résultats en unités relatives. Elle est cependant très sensible et constitue un critère suffisamment spécifique pour l'étude comparative de la formation de ces substances, en fonction de diverses situations (âge, prise de médicaments, de drogues etc.) (**Combes 1996**).

IV- 4–2- Dosage des produits volatils :

Le dosage des hydrocarbures, des aldéhydes, des alcools et de cétones volatils est réalisé par chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec ou sans concentration préalable des produits. Cependant comme pour tout produit d'oxydation détecté in vivo les mesures peuvent être contestables car faussées par l'activité métabolique. On considère en général que les mesures de la lipopéoxydation in vivo ne traduisent pas l'intensité réelle du processus d'oxydation, mais la différence entre la formation des produits d'une part et leur décomposition et leur utilisation d'autre part ; c'est pour cela qu'il est recommandé d'associer à ces méthodes d'autres paramètres biologiques modifiés par le processus oxydatif comme par exemple le taux de vitamine E plasmatique. (**Aruoma et all.1997**)

Tableau – 5 - Principaux types de produits d'oxydation primaire et Secondaire, et méthodes d'analyse applicables (Aruoma et all.1997)

OXYDATION	PRODUITS/ PROCESSUS	ANALYSES
OXYDATION PRIMAIRE	Hydro peroxydes Absorption d'oxygène Migration de double liaison	Indice de Peroxydes Diènes conjugués
OXYDATION SECONDAIRE	Composés à groupe carbonyle Hydrocarbones, aldéhydes cétones	Indice TBA CPG des volatils Tests sensoriels

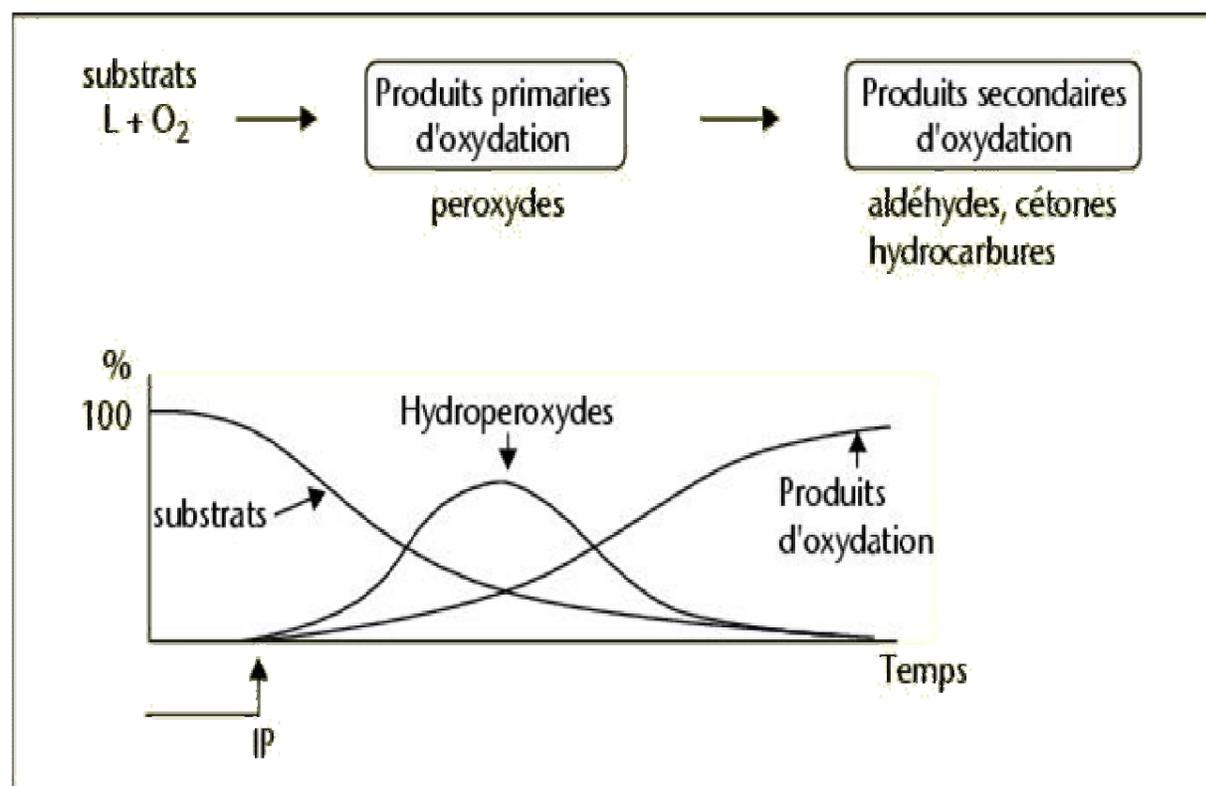


Figure –11- Cinétique des produits de l'oxydation en fonction du temps

(Leverve 2004)

V– Effets de l'ingestion des huiles thermo oxydées sur la santé

V-1- Effets physiopathologiques des produits de l'oxydation:

Les effets physiopathologiques et toxiques engendrés par l'ingestion d'huiles oxydées chez le rat sont divers.

- D'après **Ledoux et al. (1999)**, les acides gras comportant des doubles liaisons de configuration trans ont des propriétés défavorables dans le domaine cardio-vasculaire et dans le taux plasmatique de cholestérol, car selon **Bretillon et al. (1999)**, une liaison trans est reconnue par les acyl transférases comme une liaison saturée. On attribue également à ces acides gras trans de configuration conjuguée des propriétés dans la prévention de la cancérogenèse.

- Selon **Causeret (1982)**, la mortalité n'est constatée que lors de l'administration de la fraction de monomères cycliques, car elle est beaucoup plus toxique que la fraction polymère et c'est surtout l'acide linoléique qui est incriminé dans la formation de ces composés.

- Effets sur la croissance corporelle: tous les auteurs ayant travaillé sur les huiles chauffées ont constaté un retard de croissance chez les rats auxquels on a administré ce type d'huile.

- Effets sur la gestation et la lactation: l'administration d'huiles chauffées à des rates gestantes et allaitantes entraîne une forte mortalité chez les jeunes et les lipides tissulaires de ces derniers contiennent des monomères cycliques (**Potteau et al.1977**).

- Effets sur le foie: l'ingestion d'huile chauffée entraîne une augmentation de la taille du foie et des reins par rapport aux témoins recevant l'huile fraîche, ceci serait dû à l'implication de ces deux organes dans le mécanisme de détoxification (**Potteau et al.1977 et Causeret, 1982**).

**Tableau – 6 –
Etats pathologiques ou situations physiologiques
Associés à une peroxydation accrue
(Craсте de Paulet 1986)**

HYPOXIE /HYPEROXIE	CIRRHOSE ETHYLIQUE
ISCHEMIE CEREBRALE	DIABETE
RETINOPATHIE FIBROLENTALE	DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE
VIEILLESSEMENT CELLULAIRE	LIPOFUSCINOSE CEROIDE NEURONALE (Maladie de Batten)
CANCER	FIBROSE CYSTIQUE
ATHEROSCLEROSE	CERTAINES AFFECTIONS PANCREATIQUES
INFLAMATION, ALLERGIE	CERTAINES HEMOGLOBINOPATHIES (Sicklémie)
BRULURES	

Seuls cinq situations feront l'objet de commentaire vu leur importance socio- économique

V-1-1- Hypoxie / Hyperoxie :

On attribue la formation de peroxydes lipidiques à une hyper production d'icosanoides vasoconstricteurs et à des lésions d'ischémie (hypoxie) tissulaire -en particulier cérébrale- et une hyper oxygénation thérapeutique mal conduite. La fibroplasie rétro natale du nouveau né pourrait être le résultat d'une hyper oxygénation (Rouaki.2000).

Un état physiologique comparable est réalisé par le passage du fœtus à la vie aérienne : l'élévation brutale de P O₂ dans l'alvéole pulmonaire pourrait entraîner des désordres analogues. Des travaux sur le rat suggèrent que l'organisme se prémunirait de ce risque par l'élévation, peu avant la naissance de facteurs cellulaires de protection glutathion réduit, glutathion peroxydase, catalase (Craсте de Paulet 1986)

Mis
déf
pt,
:Tin

V-1-2- Vieillesse cellulaire :

L'élévation de la production de peroxydes lipidiques avec l'âge est indiquée par l'élévation progressive de malondialdéhyde (MDA) plasmatique et de la lipofuscine pigment lipido-protidique dans les cellules sénescentes (Craste de Paulet 1986)

La libération de substances biologiquement actives (MDA et 40 H nonenal), la répétition de l'agression cellulaire que constitue la création de pontage lipide –lipide ou lipide –protéine, finit par dépasser les possibilités de réparation cellulaire d'où vieillissement. Ces spéculations sont cependant renforcées par une constatation : il existe une relation directe entre activité SOD (Super Oxyde Dismutase) des tissus et la longévité moyenne de divers mammifères (la SOD étant une enzyme de protection contre les peroxydes ; elle agit en tant que régulateur au niveau primaire c'est-à-dire contre l'oxygène son action est complétée par la catalase) les espèces qui vivent le plus longtemps ont une forte activité SOD et chez l'homme même il a été rapporté que la SOD était particulièrement élevée chez les individus qui atteignent un âge avancé (Rouaki 2000)

V-1-3- Athérogenèse :

Le rôle des peroxydations lipidiques dans ce processus est de plus en plus suspecté ; il est en effet établi que le ralentissement de l'épuration des LDL entraîne une oxydation progressive de leurs lipides consécutifs. Cette oxydation pourrait résulter, entre autres mécanismes, d'un contact prolongé des LDL avec les cellules musculaires lisses et endothéliales : le MDA et ou le 4-OH Nonénil formés s'additionnent à certains amino acides (Lysine) de l'Apo B. Ceci empêche la reconnaissance et donc l'épuration de ces molécules de récepteurs qui auraient conservé leur intégrité structurale et fonctionnelle; d'où l'aggravation de L'hypercholestérolémie (Rouaki 2000).

Les dépôts de graisse qui se forment dans tous les vaisseaux sanguins apparaissent dans les artères et provoquent la formation d'une masse graisseuse ; en fixant des sels de calcium, cette masse peut se calcifier entraînant la perte de l'élasticité des vaisseaux et affectant ainsi la circulation sanguine et la tension artérielle. (Abouem 2007).

Les acides gras saturés ont tendance à augmenter le taux de cholestérol dans le sang alors que les acides gras insaturés le feraient diminuer. (Encyclopédie 2001)

V-1-4- Le cancer :

La formation d'espèces radicalaires est impliquée dans la cancérisation par des rayonnements ionisants, par certains agents chimiques (Hydrocarbures, amines cancérigènes etc. ...) et les AGPI peuvent être secondairement associés à ce processus (Craste de Paulet 1986, Saadation et al 1999)

Les résultats des travaux mettent en évidence que des réductions modestes de l'absorption des graisses auraient des effets majeurs sur l'incidence des cancers du sein.

Par ailleurs, il est recommandé, comme mesure de prudence de minimiser l'absorption d'aliments riches en graisses animales du fait de leur incidence sur le risque de cancers de la prostate et du colon. Alors que l'effet des AGPI est reconnu dans la prévention cardiovasculaire, peu de données permettent de dire qu'ils auraient un effet bénéfique sur la prévention du risque de cancer (**Bersuder et al 1998**)

V-1-5- Le diabète :

Plusieurs études ont montré des modifications concernant le métabolisme du GSH (Glutathion réduit) et l'activité GPx (glutathion peroxydase) chez les diabétiques. Leur taux de GSH plaquettaire est généralement plus faible que chez des sujets sains (**Mazzanti et Mutus 1997**).

V – 2 – Digestion et absorption des produits d'oxydation :

De nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des modifications chimiques subies par les corps gras au cours de leur utilisation et sur l'incidence de cette transformation sur leur valeur nutritionnelle et leurs propriétés physiques.

Celles-ci provoquent un rancissement donnant lieu à des odeurs qui rendent les aliments inacceptables, ensuite la formation de composés constituant un danger potentiel pour la santé de l'homme (**cappella 1989**)

V – 3 – Absorption et toxicité des huiles oxydées :

L'ingestion d'ECN, (Espèces Chimiques Nouvelles) présentes dans une huile chauffée (dans les Conditions de friture) s'accompagne d'un passage de ces composés dans la lymphe avec des Taux d'absorption suivant la nature de l'ECN considéré (**Combe et al, 1978**).

Selon **Kanasawa et al 1985**, les estères polymérisés de masse moléculaire élevée > 1000 ne sont pas absorbés. L'hydrolyse des triglycérides par la lipase pancréatique diminue avec le degré de polymérisation (**Entressangles 1986**).

La toxicité des estères cycliques est reconnue, ils sont réputés pour être cancérigènes.

Les dérivés peroxydés sont absorbés après transformation en produits plus stables dans l'intestin (**Bergan et Draper 1970**) le passage dans la lymphe varie avec la valeur des estères oxydés (**Combe et al 1978**)

La toxicité d'une huile thermo oxydée est liée principalement à la présence d'estères oxydés. Les composés oxydés, les composés polymères et les composés cycliques ont un taux de Passage dans la lymphe de l'ordre de 53%,14% et 96 respectivement (**Combe1978**).

Le même auteur rapporte aussi qu'une partie des ECN va être arrêtée par la muqueuse Intestinale, confirmant son rôle de barrière et sera éliminée avec les fèces. La molécule d'ADN constitue une cible cellulaire importante pour les attaques radicalaires. Ces attaques entraînant une coupure des brins provoquant des dénaturations qui peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. **(Combe 1978).**

VI – Le stress oxydatif :

VI- 1- Définition

En condition physiologique normale, les mitochondries de nos cellules sont capables de transformer une molécule d'oxygène en deux molécules d'eau. Ce phénomène, appelé réduction de l'oxygène, est indispensable à la vie de la cellule puisqu'il fournit l'énergie nécessaire à son fonctionnement. Cependant, un petit pourcentage de l'oxygène ne sera pas correctement converti en eau et donnera naissance à des espèces oxygénées activées (EOA) auxquelles appartiennent les radicaux libres: **(Rodriguez et coll. 2003)**

[Un **radical libre** est un atome ou une molécule possédant un ou plusieurs électrons libres rendant cette espèce chimique beaucoup plus réactive que l'atome ou la molécule dont il (elle) est issu(e). Ces espèces/radicaux s'attaquent aux composés vitaux des cellules.]

. Ces EOA sont particulièrement toxiques pour nos cellules et peuvent entraîner le cas échéant : mutation de l'ADN, destruction des protéines ou oxydation des lipides et du glucose. Pour s'en protéger, l'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production des EOA : les antioxydants. **(Rodriguez et coll. 2003)**

Le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre les antioxydants et les espèces oxydantes activées (EOA), en faveur de ces dernières.

Le stress oxydatif touche l'ensemble des tissus et des métabolismes. De ce fait, il est impliqué dans de nombreuses pathologies telles que le cancer, l'obésité, le diabète, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires... **(Rodriguez et coll. 2003)**

VI- 2-Les facteurs favorisant le stress oxydatif

Comme énoncé précédemment, les EOA sont naturellement produits par notre organisme. Cependant, de nombreux facteurs environnementaux peuvent influencer sur leur niveau. Nos défenses antioxydantes sont alors débordées, ce qui conduit à un stress oxydatif.

Quelques exemples de facteurs favorisant le stress oxydatif :

- exposition prolongée au soleil
- exposition aux radiations
- contacts avec des agents cancérogènes
- tabagisme (la fumée de cigarette contient 1019 EOA)
- prise de médicaments, pilule contraceptive
- vieillissement
- inflammation chronique
- mauvaise alimentation (alimentation déséquilibrée pauvre en antioxydants)
- pratique trop intense ou mal gérée d'un sport
- consommation excessive d'alcool
- stress intellectuel
- stress thermique
- ozonothérapie
- pollution atmosphérique
- agents infectieux **(Rodriguez et coll. 2003)**

Plusieurs observations cliniques et expérimentales ont permis d'associer l'existence d'un stress oxydatif accru à certaines pathologies tels l'hypertension artérielle, le diabète, et l'athérosclérose. Les radicaux libres issus de réactions métaboliques normales sont généralement rapidement inactivés par des mécanismes antioxydants endogènes puissants et efficaces. Une augmentation du stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production et l'inactivation des radicaux libres qui ont la propriété d'interagir avec les lipides, les protéines et les glucides en les oxydant. Plusieurs études ont rapporté la présence accrue de radicaux libres ou de leurs produits d'oxydation dans plusieurs pathologies du système cardiovasculaire ainsi que dans le diabète. **(Jacques de Champlain 2002)**

A la suite d'un traitement chronique avec une thérapie antioxydante, il a été observé que cette thérapie prévenait le développement de l'hypertension.

Il faut cependant noter que l'évaluation de l'efficacité des traitements antioxydants n'est pas aisée et qu'il est difficile de recommander une approche spécifique dans le traitement ou la prévention du stress oxydatif. En effet, l'utilisation isolée de la vitamine C ou de la vitamine E pourrait être délétère ou inefficace chez les patients présentant un stress oxydatif accru puisque ces vitamines ont la propriété de s'oxyder et d'être transformées elles-mêmes en espèces radicalaires cytotoxiques. (**de Champlain 2002**)

D'autres études sur animaux plus, ont prouvé que l'aspirine pouvait exercer un effet protecteur antioxydant particulièrement efficace qui peut expliquer, du moins en partie, les propriétés cardioprotectrices qui lui ont été reconnues dans de nombreuses études épidémiologiques chez l'homme. (**de Champlain 2002**)

En conclusion, les études réalisées jusqu'à ce jour supportent l'hypothèse d'une participation majeure du stress oxydatif dans le développement de l'hypertension artérielle. (**de Champlain 2002**)

PROTECTION CONTRE LA PEROXYDATION

I- Toxicité de l'oxygène

Partant de la constatation que l'oxygène est indispensable au bon fonctionnement de notre organisme, on pourrait penser que la toxicité de l'oxygène tient plus du mythe que de la réalité. Cependant, les particularités physico-chimiques de l'oxygène font que cet élément est tout à fait capable dans certaines circonstances d'engendrer des effets toxiques (**Huet 2006**)

L'oxygène moléculaire ou dioxygène (O_2) est un radical libre. Un radical libre est une espèce chimique neutre ou chargée qui possède un électron libre dit célibataire sur son orbite externe. Les radicaux libres participent à des réactions d'oxydo-réduction en capturant un électron. L'échange d'un électron peut alors soit arrêter la propagation de la réaction radicalaire, soit l'amplifier en formant des radicaux libres plus instables que le précédent. Les radicaux libres de l'oxygène jouent un rôle physiologique et sont formés en permanence dans l'organisme. (**Huet 2006**)

Comme pour toutes particules actives dans l'organisme, la formation d'espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) est étroitement contrôlée par des réactions de détoxification induites par les anti oxydants qui sont de 2 types selon leur mécanisme d'action

- les premiers : leur efficacité repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents
- les seconds préviennent la formation des radicaux libres

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange des deux types d'antioxydants : L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (**Frankel, 1998**). Les réactions de détoxification peuvent être enzymatiques ou non enzymatiques : Mais dans certaines circonstances physiopathologiques, la toxicité des ERO va devenir délétère.

Ces circonstances peuvent être liées soit à une diminution ou à une incompétence des défenses antioxydantes, soit à une exposition trop prolongée à des concentrations ou à des pressions élevées d'oxygène. (**Huet 2006**)

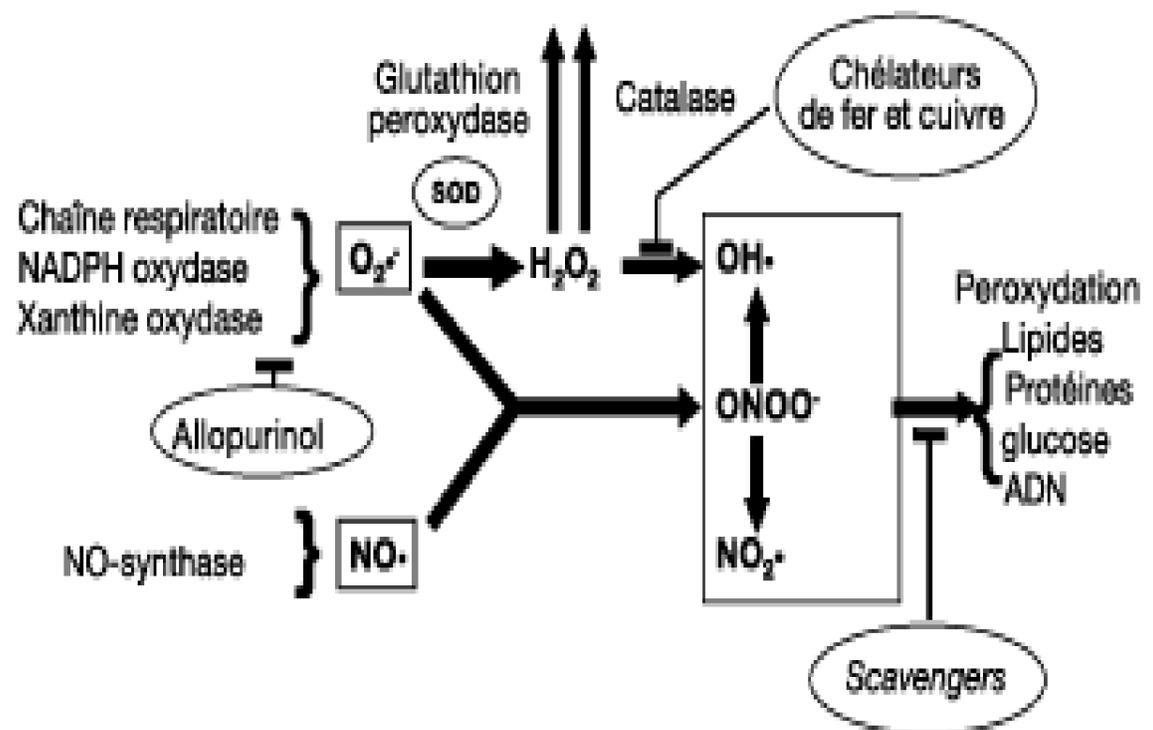


Figure –12- Réactions en chaîne des différents mécanismes de défense spécifiques (Leverve 2004)

II- Les anti oxydants enzymatiques

II-1-Les Super Oxydes Dismutases : SOD

Ces enzymes sont présentes chez tous les animaux avec de fortes concentrations notamment dans leurs globules rouges. Il en est de même chez les êtres humains où leur véritable fonction biologique a été découverte en 1969 par **Mc Cord et Fridovich** : Les niveaux de SOD et ceux d'autres enzymes antioxydantes déclinent avec le vieillissement, contribuant à l'apparition de maladies dégénératives (**Nutranews 2005**) Les investigations de Cutler à travers les espèces suggèrent fortement que la SOD est l'un des éléments déterminants les plus importants de la longévité des mammifères et qu'une augmentation de la production de SOD jouerait un rôle-clé dans l'ordre le plus élevé de l'évolution des mammifères, de la durée de vie la plus courte à la plus longue. (**Nutranews 2005**)

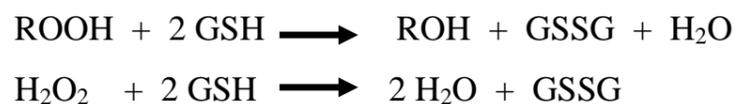
La super oxyde dismutase détruit l'anion super oxyde extrêmement rapidement. On dit qu'elle dismute l'ion super oxyde, c'est pourquoi on l'appelle la super oxyde dismutase.

Une dismutation est une réaction dans laquelle le même composé chimique est à la fois oxydant et réducteur. **(Desbordes 2006)**

L'augmentation isolée de la SOD est toxique et elle doit donc être couplée à l'action des catalases et des peroxydases traitant H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) **(Rault 2002)**

I I-2- la glutathion peroxydase (GPX)

Présentes dans les tissus de mammifères, les glutathion peroxydases sont des enzymes à sélénium catalysant la réduction du peroxyde d'hydrogène et de divers hydroperoxydes lipidiques selon les réactions suivantes :



GSH = Glutathion Réduit

GSSG = Glutathion disulfure

Plusieurs iso formes sont décrites dont deux intracellulaires, la **GPx 1** et la **GPx 4**

L'âge est un facteur important de régulation des activités GPx puisqu'elles diminuent au cours du processus de vieillissement **(Véricel et al., 1992; Rey et al., 1994)**.

Plusieurs auteurs ont décrit les propriétés biologiques des GPx1 et GPx4 **(Brigelius-Flohé, 1999; Arthur, 2000; Imai et Nakagawa, 2003)**.

La fonction essentielle de ces deux enzymes est celle de protection et de réparation cellulaire vis à vis des dégâts oxydatifs occasionnés par les radicaux, en métabolisant les hydroperoxydes formés lors de la peroxydation.

Dans la prévention de la peroxydation lipidique, la vitamine E semble agir en synergie avec la GPx 4 **(Maiorino et al., 1989)** mais de fortes doses de vitamine E ne remplacent pas la protection assurée par la GPx1 lors d'un stress oxydant important **(Cheng et al., 1999)**.

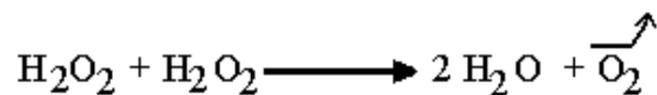
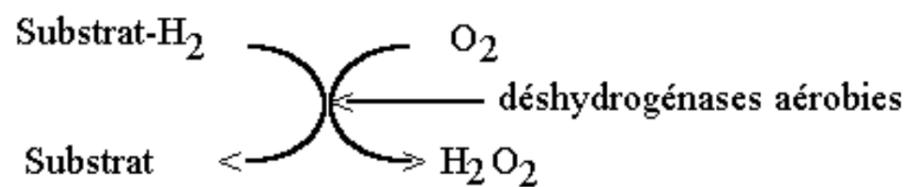
I I-3- la catalase

Elle est présente dans un grand nombre de tissus et plus particulièrement dans le foie et les globules rouges ; Localisée essentiellement dans les peroxysomes, la catalase (CAT) présente une activité peroxydase puissante lui permettant de décomposer très rapidement le peroxyde d'hydrogène (**Aebi 1984**) (**Crane et Masters 1983**) ;

la régulation du taux de H₂ O₂ est réalisée selon la réaction suivante



La catalase réduit le peroxyde d'hydrogène avec formation d'eau et de dioxygène, le donneur de protons et d'électrons étant H₂O₂ lui-même. (**Pol 2006**)



Dans ce cas une molécule de peroxyde est réduite, l'autre est oxydée.

La rapidité est l'une des caractéristiques de la catalase. Une seule molécule de cette enzyme peut convertir 40 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en une seule seconde ! (**Pol 2006**) Dans certaines conditions (excès de H₂ O₂) elle se comporte comme une peroxydase. (**Rouaki 2000**)

Elle participe, comme la peroxydase, à la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène. Elle agit pour des concentrations plus élevées en peroxyde que la peroxydase. (**Pol 2006**)

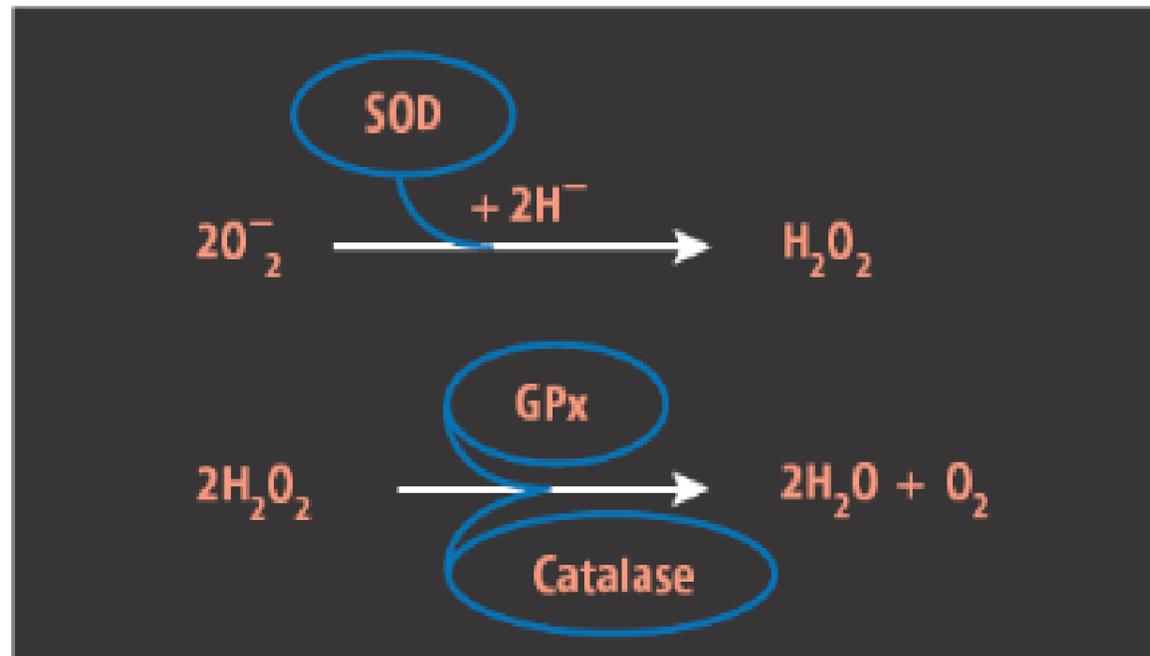
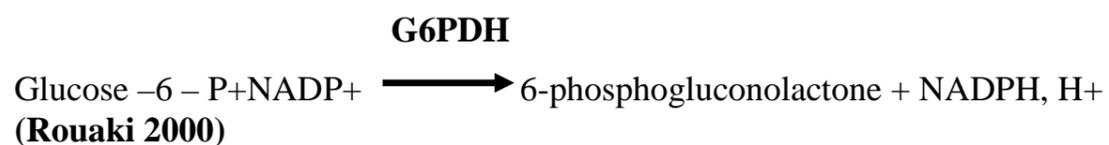


Fig -13- Role des enzymes anti oxydantes dans le processus d'activation de l'ion peroxyde (Pol 2006)

II-4- la glucose-6-phosphate déshydrogénase ; G6PDH

La concentration de la glucose – 6 – phosphate déshydrogénase (G6PDH) est faible au niveau du foie ; c'est la première enzyme de la voie des pentoses phosphates , elle a la propriété de produire du NADPH à partir du glucose -6-phosphate selon la réaction suivante :



I I-5- les glutathion transférases

Certains hydroperoxydes peuvent engendrer des époxydes et des hydroperoxydes qui ne sont pas des substrats pour la glutathion peroxydase. La première étape de détoxification de ces composés se fait par une glutathion – S- transférase (Gardner et al 1985)

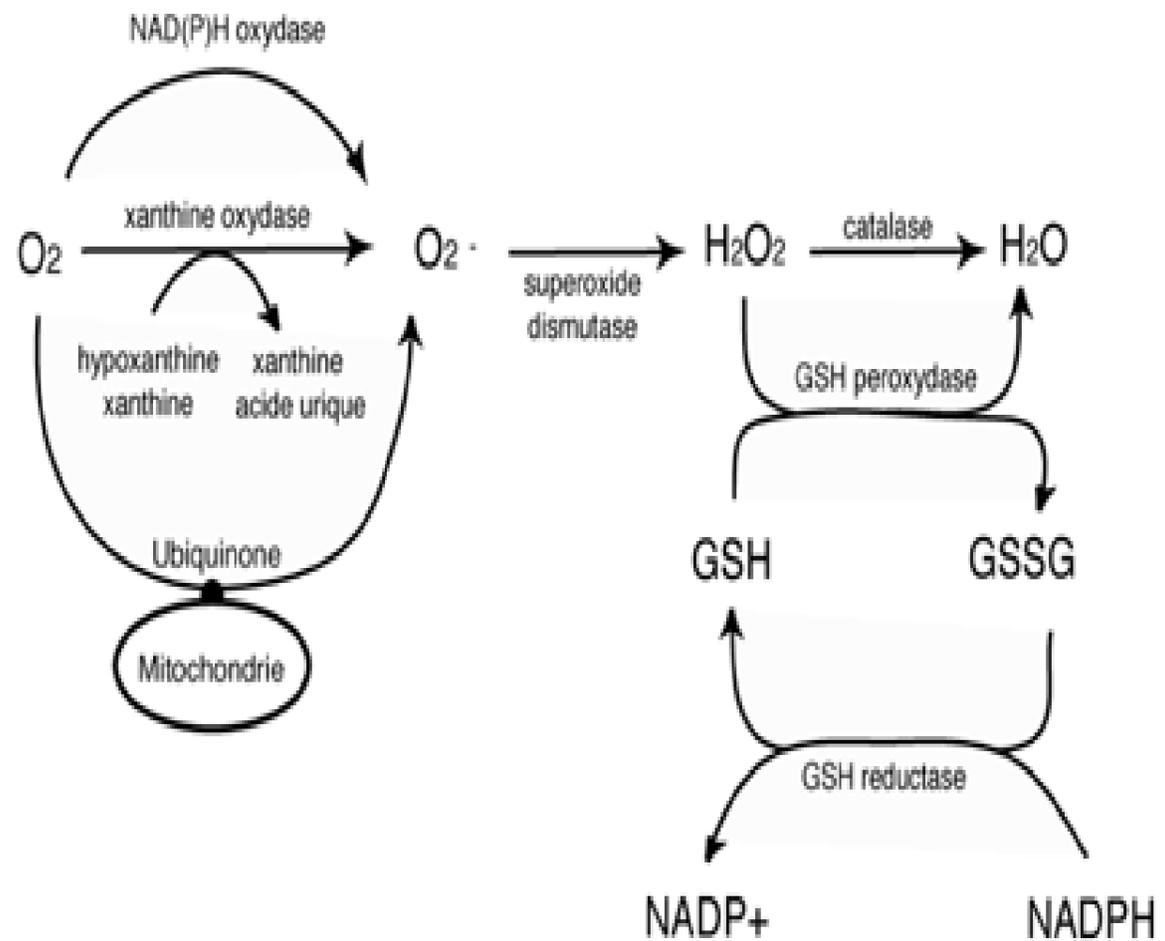


Figure –14- Mécanisme de détoxification enzymatique des ERO (Espèces Radicalaires de l'Oxygène) Huet 2006

III -Les antioxydants non enzymatiques

III-1-La vitamine E

III- 1-1- Généralités :

Sous le terme de vitamine E, on regroupe quatre formes de tocophérols et quatre autres de tocotriénols. Parmi les quatre tocophérols (α -tocophérol, β -tocophérol, δ -tocophérol et θ -tocophérol), l' α -tocophérol est la forme de vitamine E la plus présente dans l'organisme. Il est aussi l'unité de mesure pour les apports nutritionnels recommandés et la teneur en vitamine E des aliments. La plupart des suppléments sur le marché renferment de l' α -tocophérol. (Artur, Cals, Clerc, Covi, Crastes de Paulet, Cruz-Pastor et al. (1994)

Seuls les tocophérols sont absorbés de façon appréciable chez l'homme. Les différents tocophérols se distinguent les uns des autres par le nombre et la position des groupements méthyles sur le noyau chromanol.

L' α - tocophérol, composé présentant l'activité biologique la plus élevée, est la forme plasmatique la plus abondante (H 88 %), le β et le δ -tocophérol ne représentant respectivement qu'environ 2 et 10 % de la vitamine E plasmatique (**De Leenheer , Nelis , Lambert , Bauwens (1988)**)

Chez l'homme La Vitamine E se répartit dans les différentes lipoprotéines plasmatiques: 65% dans les LDL (*low-density lipoproteins*), 24% dans les HDL (*high-density lipoproteins*) et 8% dans les VLDL (*very low-density lipoproteins*). Plus de 50% de la vitamine E se trouvent dans les tissus adipeux à la concentration de 300 μ g/g de triglycérides. Sa concentration plasmatique varie de 8 à 13 μ g/ml et le muscle en contient de 10 à 20 μ g/g de tissu. Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein de la membrane biologique riche en acides gras poly insaturés (RH) où elle joue un rôle protecteur efficace en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par les espèces oxygénées activées (**Medi-Sphere 1998**).

Au cours de ces réactions, la vitamine E passe par un stade radicalaire en devenant le radical tocophéryle. Ce dernier est pris en charge par d'autres antioxydants, dont plus particulièrement la vitamine C qui le régénèrent en vitamine E

II I- 1-2 Sources de vitamine E

Les sources les plus riches en vitamine E sont les céréales, les germes de céréales, et la plus part des oléagineux, noix et leurs huiles. On trouve de la vitamine E aussi dans les légumes à feuilles (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage. (**Medi-Sphere 1998**).

III- 1-3 Structure de la vitamine E

La molécule de tocol constitue la structure de base des tocophérols.

Elle est constituée d'un noyau hydroxchromane. Les différents tocophérols se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau.

L' α tocophérol est celui que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature et celui qui présente l'activité biologique la plus élevée. (**Carreras 2004**)

De par sa structure, on la retrouve au sein des membranes lipidiques, lieux de production des peroxydes et hydro peroxydes lipidiques.

On rencontre également dans la nature des substances voisines, les tocotriénols qui se distinguent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur la chaîne latérale. (Carreras 2004)

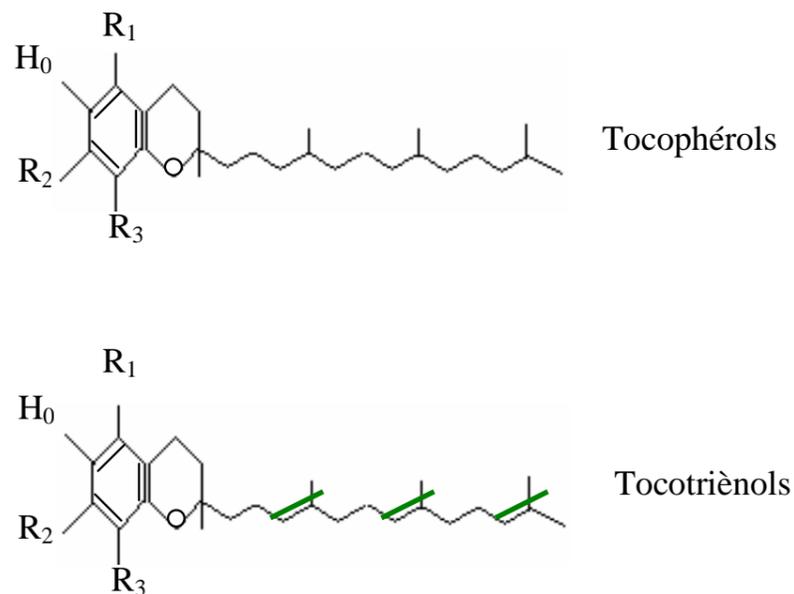


Figure -15-Formules développées des tocophérols

II I- 1-4 métabolisme de la vitamine E

Après hydrolyse intestinale et entérocytaire des esters, les tocophérols suivent les mêmes étapes de digestion et d'absorption que les triglycérides alimentaires. La vitamine E est transportée associée aux lipoprotéines, et suit le métabolisme de ces dernières. Après digestion, la vitamine E est sécrétée par voie lymphatique. Après action de la lipoprotéine lipase, les chylomicrons, et la vitamine E qu'ils contiennent, sont captés par les hépatocytes. Dans un second temps, l' α - tocophérol est sécrété par les hépatocytes, incorporé aux VLDL, et suit le métabolisme vasculaire de ces lipoprotéines. (Artur, Cals, Clerc, Covi, Crastes de Paulet, Cruz-Pastor et al. 1994) Il existe une corrélation entre les concentrations plasmatiques de vitamine E et de cholestérol total, d'une part, et de phospholipides, d'autre part. La répartition de la vitamine E entre les différentes classes de lipoprotéines est discutée (Cogny, Paul, Soni, Atger, Moatti (1994) Mais il semble qu'elle soit surtout présente dans les LDL et les HDL. Le taux de vitamine E est corrélé aux triglycérides dans les VLDL et aux phospholipides et au cholestérol libre dans les LDL et HDL. Dans les HDL, la concentration de la vitamine E serait également corrélée aux protéines (Artur, Cals, Clerc, Covi, Crastes de Paulet, Cruz-Pastor et al. 1994)

III- 1-5 rôle biologique de la vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur des structures lipidiques ; sa réactivité réside dans sa capacité à capter les radicaux peroxydes formés lors du phénomène de peroxydation lipidique et donc à interrompre la chaîne de propagation de ce processus. Elle arrête la chaîne de propagation en piégeant les radicaux peroxydes (LOO°) en transposant leur fonction radicalaire pour former un radical tocophéroxyle (α -T°) moins actif :



Le radical tocophéroxyle peut ensuite :

- réagir avec un autre radical tocophéroxyle et donner un dimère inactif.
- réagir avec un radical peroxyde pour donner une tocophérylquinone, produit

non radicalaire stable.

- être régénéré par la vitamine C, le glutathion, l'ubiquinol ou d'autres

Antioxydants (Vatassery *et al.* 1989; Chan *et al.* 1991; Chan, 1993).

La vitamine E peut être secondairement régénérée en présence de vitamine C ou d'autres réducteurs. La vitamine E joue un rôle essentiel dans la protection de la membrane de toutes les cellules de l'organisme. Elle est antioxydante, c'est-à-dire qu'elle contribue à la neutralisation des radicaux libres dans l'organisme; de plus, elle empêche ou réduit l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL). La vitamine E agit sur l'endothélium en diminuant la formation de LDL oxydées, mais aussi par des voies indépendantes des LDL oxydées. Cette oxydation des LDL est associée à l'apparition de l'athérosclérose et donc aux maladies cardiovasculaires. La vitamine E a aussi des propriétés anti-inflammatoires, antiplaquettaires et vasodilatatrices. Ces effets, qui ne sont pas reliés à son activité antioxydante, jouent également un rôle cardioprotecteur. (**Food and Nutrition Board, Institute of Medicine 2000**)

III- 1-5 -1-Rôle du tocophérol membranaire:

La vitamine E s'incorpore aux membranes par liaison hydrophobe avec les acides gras poly insaturés des phospholipides. Les tocophérols exercent une action stabilisatrice ; Ils interviennent en particulier par leurs effets antioxydants lipophiles capables de piéger les radicaux libres. La vitamine E prévient également l'activation des phospholipases par les peroxydes lipidiques.

III- 1-5 -2-Vitamine E et athérosclérose :

L'événement initial de l'athérosclérose est une lésion ou une stimulation de l'endothélium artériel. L'augmentation de la perméabilité endothéliale favorise la pénétration des LDL circulantes dans l'intima. A ce niveau, les LDL sont modifiées par peroxydation avec apparition de produits de peroxydation des lipides ; L'accumulation de lipides dans ces cellules entraîne leur dégénérescence en cellules dites spumeuses à l'origine de la plaque d'athérome. Ces dernières, par les médiateurs qu'elles produisent, vont initier des modifications de l'intima des vaisseaux et entretenir les processus précédents. La vitamine E des HDL et LDL prévient l'oxydation des lipoprotéines et s'oppose au développement de la plaque d'athérome par son effet inhibiteur de la production et de la libération de radicaux libres oxygénés par les macrophages et les polynucléaires activés, et par son action sur le métabolisme de l'acide arachidonique.

L'importance de **l' α -tocophérol**, est appuyée par l'existence d'une corrélation inverse entre vitamine E et mortalité par maladie coronarienne, et par la diminution du risque cardiovasculaire lors d'une supplémentation en cette vitamine (**Cogny A, Paul JL, Soni T, Atger V, Moatti N 1994**)

III- 1-5 -3- Vitamine E et cancer

Compte tenu du rôle pro carcinogène probable des peroxydes lipidiques, et des possibilités de mutations de l'ADN suite à la peroxydation des bases nucléiques , l'effet protecteur de la vitamine E semble non négligeable. (**Pré (1993)**)

III- 1-6-besoins en vitamine E

La vitamine E est une vitamine stable à la chaleur présente dans de nombreux aliments : margarines, huile de tournesol, maïs, olive, colza, arachide, germe de blé, oeufs, abats, lait. Les Apports Journaliers Recommandés (AJR) sont de l'ordre de 3 à 12 mg/j (**Guéant, Gastin, Vidailhet (1995)**)

Dans les pays développés, des déficiences vitaminiques ne sont pas rares chez des adultes en bonne santé apparente. Ces états de subcarences, qui n'ont qu'une très faible traduction clinique, reflètent un déséquilibre nutritionnel : les enquêtes épidémiologiques montrent une fréquence d'apports en vitamine E inférieurs aux AJR croissante avec l'âge (>40% dès l'âge de deux ans) alors qu'il existe souvent une augmentation des besoins (maladie, tabagisme par exemple).

III- 1-6-1- Apport nutritionnel recommandé (ANR) en vitamine E : (d- α -tocophérol, la forme naturelle)

Tableau – 7 - Apport nutritionnel recommandé (ANR) en vitamine E (Dietary Référence 2000)

Âge	Quantité (mg/UI*)
de 0 à 6 mois	4 mg/6 UI**
de 7 à 12 mois	5 mg/7,5 UI**
de 1 à 3 ans	6 mg/9 UI
de 4 à 8 ans	7 mg/10,5 UI
de 9 à 13 ans	11 mg/16,5 UI
14 ans et plus	15 mg/22,5 UI
Femmes enceintes	15 mg/22,5 UI
Femmes qui allaitent	19 mg/28,5 UI

Les apports nutritionnels recommandés sont désormais donnés en milligrammes. Cependant, la posologie de la vitamine E est souvent indiquée en unités internationales (UI), une mesure ancienne. Un milligramme d' α -tocophérol, (la forme naturelle de la vitamine E) équivaut à 1,5 UI.

III- 1-6-2- Les principaux facteurs de variations de l' α tocophérolémie :

La grossesse : augmentation de 30 à 70 %, L'âge : augmentation de plus de 50 % entre 20 et 70 ans

.Les xéno biotiques : le tabagisme induit une diminution de la vitamine E (**Guéant, Gastin, Vidailhet 1995**).

La tocophérolémie est diminuée suite à la consommation d'alcool et peut être effondrée chez les patients alcooliques. De plus, comme nous l'avons mentionné précédemment, la concentration de vitamine E est corrélée à celle du cholestérol total et des phospholipides.

III- 1-6-3-Les états de carence en vitamine E

Fixé à 15 mg d'α-tocophérol (soit la forme naturelle de la vitamine E), l'apport nutritionnel recommandé (ANR) en vitamine E ne serait pas toujours comblé par le régime alimentaire. Les carences sont observées dans différentes conditions pathologiques : anémie hémolytique chez le prématuré, syndromes de malabsorption, désordres neuromusculaires. Les étiologies de carence en tocophérol, outre la carence d'apport et les grandes malnutritions, sont, comme pour la vitamine A, les malabsorptions (cholestase, insuffisance pancréatique etc...). **(Lemoine, Bruhat, Chanay (1994) ; Le diagnostic para clinique de carence repose sur le dosage plasmatique de la vitamine E et des examens complémentaires notamment de la fonction neuromusculaire (Guéant , Gastin , (1995) Bouglé (1994)**

III- 1-7—Effet pro oxydant de la Vitamine E :Le pouvoir des antioxydants dépend de la stabilité relative des espèces présentes et de la vitesse relative des différentes réactions. **(De chily, Raynard, Lombard, Neil 2006)**A forte dose (400 à 2000 UI), la vitamine E pourrait avoir un effet pro oxydant et entraîner des actions délétères. En piégeant les radicaux libres, elle entraînerait la formation de nouveaux radicaux réactifs donc favoriser l'apparition d'un stress dommageable. **(Rault 2002)** donc selon sa concentration et selon la présence ou non d'oxygène, la vitamine E peut devenir pro oxydante. **(De chily, Raynard, Lombard, Neil 2006)** L'apport journalier recommandé (AJR) pour la vitamine E est de l'ordre de 15 mg par jour. chez l'homme ; à des méga doses (plusieurs grammes par jour), des effets indésirables (maux de tête, nausées, fatigue, vertiges, troubles de la vision) peuvent se manifester et sont attribués au fait que la vitamine E, à ces doses, s'oppose à l'action de la vitamine A. D'autres effets secondaires comme une perturbation du fonctionnement de la thyroïde ou une chute de l'hématocrite ont également été décrits. La vitamine E peut aussi interférer avec le métabolisme de la vitamine K, ce qui entraîne des anomalies au niveau de la prothrombine **(Pincemail, Defraigne, Meurisse, Limet 1998)**Les antioxydants agissent dans une synergie d'action particulièrement complexe ; une des raisons principales à cela est que certains antioxydants comme la vitamine C ou E deviennent eux-mêmes des molécules réactionnelles après avoir neutralisé certains dérivés toxiques de l'oxygène. En d'autres termes cela signifie que tout antioxydant pourra devenir à tout moment un agent pro oxydant s'il n'est pas régénéré rapidement sous sa forme initiale. **(Pincemail, Defraigne, Meurisse, Limet 1998)**

Par ailleurs cette synergie d'action implique qu'il existe des rapports de concentrations plasmatiques ou tissulaires bien définis entre les divers anti oxydants et que la prise exogène d'un anti oxydant à des doses inadéquates aura des répercussions négatives sur la concentration plasmatique d'autres anti oxydants . **(Pincemail, Defraigne, Meurisse, Limet 1998)**

De nombreux arguments supportent l'hypothèse d'une efficacité de la combinaison équilibrée de plusieurs anti oxydants. En effet il existe des interrelations métaboliques entre les différents nutriments anti oxydants, avec des effets complémentaires et synergiques pour certains d'entre eux. Ainsi l'alpha tocophérol (vitamine E) et l'acide ascorbique (Vitamine C) inhibent de façon synergique l'oxydation des LDL **(Hercberg 2003)**

Donc, pour être efficace, les antioxydants doivent être administrés en grande quantité, ce qui peut avoir comme conséquence un effet pro oxydant, c'est-à-dire un effet contraire à celui recherché. Par exemple, cet effet pro oxydant peut résulter de la réaction de l'anti-oxydant avec un radical libre, permettant ainsi à la nouvelle molécule de participer à des activités pro oxydantes. **(Badeau, 2006).**

Une supplémentation prolongée en vitamine E seule peut provoquer un stress oxydant ; elle devient elle-même radicalaire en exerçant son action anti oxydante donc après avoir neutralisé certains dérivés toxiques de l'oxygène. C'est la vitamine C qui la régénère. Cet élément est à prendre en compte lors de faibles apports en vitamine C car il sera insuffisant pour entièrement régénérer la vitamine E ; dans ce cas la vitamine E deviendra pro oxydante **(Groussard, Rannou Bekono, Zouhal, Faure, Viencent, Cillard 1987)**

La particularité de la vitamine C à forte dose est que après avoir jouer son rôle d'anti oxydant elle se transforme en pro oxydant à faible activité qui a l'avantage d'être facilement elle est éliminée dans les urines **(Pincemail, Defraigne, Meurisse, Limet 1998)** La peroxydation lipidique initiée par l' [\$\alpha\$ -tocophérol](#) est connue sous le nom de tocopherolmediated peroxidation (TMP) **(Khalil 2002)**

Pour expliquer l'action pro oxydante de [\$\alpha\$ -tocophérol](#), une hypothèse a été avancée elle implique le radical α -Toc formé suite à une attaque radicalaire dans l'induction de la peroxydation lipidique **(Browry et al 1992, Witting et al 1997)** selon cette hypothèse l'effet pro oxydant de la vitamine E deviendrait prédominant particulièrement dans des conditions de très faible flux radicalaire ; l'intensité de ce flux a été estimée par **(Browry et Stocker 1993)** à environ un radical formé toutes les 17 minutes.

III- 2-La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant majeur présent dans tous les organes. C'est une espèce chimique hydrosoluble, c'est-à-dire soluble dans l'eau. Il s'agit d'un antioxydant particulièrement efficace contre les dommages créés dans l'organisme par les radicaux libres. Même si la plupart des mammifères peuvent synthétiser cette vitamine, l'organisme humain en a perdu la capacité au cours de l'évolution. Il doit donc la puiser chaque jour dans les aliments tels que les fruits et légumes. (Scalbert 2004) ;Excellent donneur d'électrons, l'anion ascorbate AH^- piège les radicaux et donne un radical ascorbyle $A^{\circ-}$:



Ce radical est transformé en déhydroascorbate recyclé en acide ascorbique par une déhydroascorbate réductase avec utilisation de NADH. Par ce mécanisme, la vitamine C hydrosoluble régénère la vitamine E à l'interface membrane/cytosol.

La vitamine C peut aussi agir comme pro oxydant en réduisant le fer ferrique en fer ferreux. Fe^{++} réagit ensuite avec H_2O_2 pour donner le radical hydroxyle selon une réaction "Fenton-like" (Samuni et al. 1983)

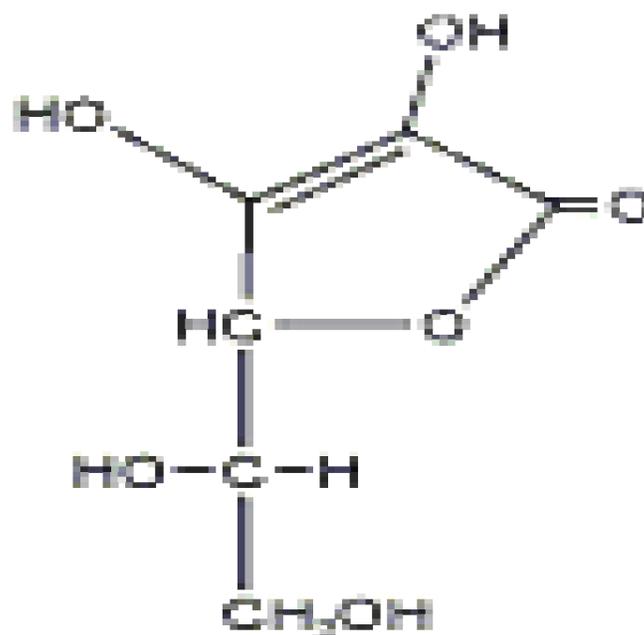


Figure 16- Formule développée de l'acide L-ascorbique

III-3- Le glutathion

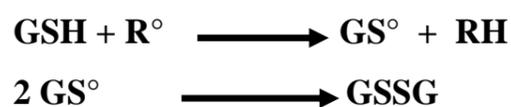
Le glutathion (GSH ou L- γ -glutamyl-L cystéinyglycine) est un tri peptide ubiquitaire possédant au niveau de la cystéine, un groupement thiol actif -SH qui lui confère des propriétés réductrices et nucléophiles importantes, il est synthétisé dans le foie (**Pastore *et al.*, 2003**).

Hydrosoluble, le glutathion réduit est abondant dans la plupart des cellules, à une concentration comprise entre 0,5 et 10 mM pour une concentration 1000 fois plus faible dans le plasma (0,5 à 10 μ M) (**Gérard Monnier et Chaudière, 1996**). Dans les plaquettes, 90 à 98 % du glutathion est sous forme réduite à un taux de l'ordre de 15 à 20 mmoles/ 10^9 plaquettes (**Calzada *et al.* 1991**).

Le GSH est l'antioxydant majeur de la cellule grâce à sa concentration élevée. Il agit en synergie avec la vitamine C, la vitamine E (**Chan, 1993**) et les super oxyde dismutases (**Winterbourn, 1993**). Son action antioxydante s'exerce :

- soit, directement en piégeant les radicaux libres R° pour former le disulfure

GSSG par oxydation:



- soit, en participant à la réduction des hydroperoxydes lipidiques ROOH

Comme cosubstrat des glutathion peroxydases (GPx).

Au cours de cette réaction, le GSH est oxydé en GSSG lui-même régénéré en GSH grâce à l'oxydation de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH) par la GSSG-réductase. Le NADPH est lui-même régénéré par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH). (**Carreras 2004**)

- Les carences en vit E et C et en GHS augmentent la sensibilité à l'hyperoxie

III—4 Les autres anti oxydants

III- 4-1-les métaux de transition :

Les métaux de transition peuvent aussi jouer un rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant comme composés essentiels des enzymes antioxydantes. Ainsi, le cuivre, le zinc et le manganèse entrent dans la composition du site actif des différents super oxydes dismutases (Cu / ZnSOD et MnSOD). Le sélénium est présent sous forme de résidus sélénocystéine dans les sélénoprotéines comme les glutathion peroxydases, la sélénoprotéine P, la thioredoxine réductase (**Arteel et Sies, 2001**).

III- 4-2- Les poly phénols : Les poly phénols tels que les flavonoïdes contenus dans les légumes, les fruits, le thé, le vin ont des effets protecteurs vis-à-vis du vieillissement, des maladies cardiovasculaires, et certains cancers. En tant qu'antioxydants, tous les poly phénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections, etc.) (**Scalbert 2004**) L'homme ingère avec ses aliments environ un gramme de poly phénols chaque jour, soit dix fois plus que de vitamine C et 100 fois plus que de caroténoïdes ou de vitamine E et l'on estime que les fruits et légumes contribuent pour moitié à ces apports. (**Scalbert 2004**) Leur consommation se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose

III- 4-3- les caroténoïdes :

Les caroténoïdes pigments naturels des végétaux (parmi eux, les α et β -carotènes, précurseurs de la vitamine A) sont des piègeurs efficaces de radicaux libres. Ce sont de longues molécules très hydrophobes et colorées (jaune à rouge) et possédant un système des liaisons doubles conjuguées. Dans les caroténoïdes, on distingue les carotènes des xanthophylles. Les carotènes sont constitués uniquement de carbone et d'hydrogène ; les xanthophylles contiennent en plus des atomes d'oxygène.

III- 4-4- les plasmalogènes :

Les plasmalogènes, phospholipides possédant une liaison éther vinylique en sn-1 auraient aussi un rôle antioxydant (**Zoeller et al. 1988**). En particulier, la sensibilité de cette liaison à l'oxydation retarderait le processus exponentiel de dégradation des AGPI (**Reiss et al. 1997**).

De nombreuses études épidémiologiques ont révélé les effets bénéfiques de l'apport nutritionnel des antioxydants non enzymatiques dans la prévention des maladies; leur action antioxydante s'exerçant non seulement de façon individuelle mais aussi synergique. Toutefois, à hautes doses et sous certaines conditions, ils présentent tous des effets pro oxydants et donc toxiques (**Halliwell, 2000; Rietjens et al. 2002**).

Il s'avère donc d'être prudent dans l'utilisation massive et exclusive de compléments vitaminiques et minéraux dont l'intérêt actuel est grandissant.

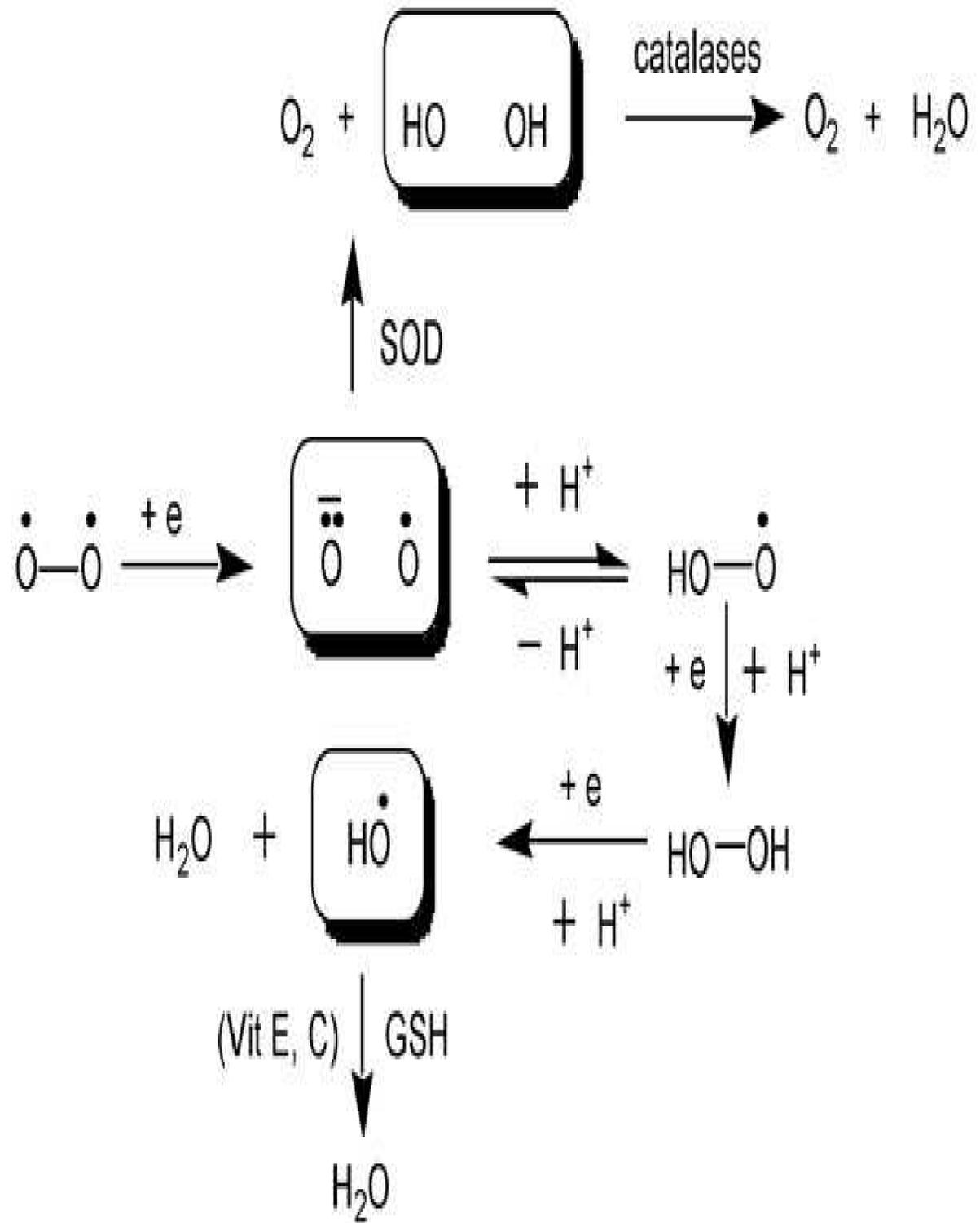


Figure – 17 - Processus de réduction de l'oxygène

(Harman, (1983)

ETUDE EXPERIMENTALE

PARTIE - I – MATERIEL ET METHODES

Le But de notre travail est de :

- Evaluer les éventuelles modifications qualitatives et quantitatives d'une huile de tournesol fortement oxydée par plusieurs cycles de friture
- Etudier l'impact de l'ingestion de cette huile sur la croissance des lapins au sevrage
- Etudier l'impact de cette huile sur les paramètres biochimiques lipidiques du sérum des lapins
- Mettre en évidence les effets correcteurs (anti oxydants) de la Vitamine E à des doses se rapprochant des doses normales recommandées
- Mettre en relief les effets délétères notés lors d'adjonction à des doses élevées de Vitamine E et émettre l'hypothèse d'un effet pro oxydant ou de l'inefficacité de cette vitamine en l'absence d'autres antioxydants

LIEU ET DUREE DE L'EXPERIMENTATION:

L'expérimentation a eu lieu sur dans les bâtiments d'élevage du service des Animaux de laboratoire au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) annexe de KOUBA pendant 45 jours sur des lapins Néo Zélandais Albinos males produits et élevés par l'IPA.

ANIMAUX ET PROTOCOLE EXPERIMENTAL :

I- Animaux :

I-1-échantillonnage

L'étude a porté sur vingt Cinq lapins Néo-zélandais Albinos (mieux connu des chercheurs sous le nom de NZW pour *New Zealand White*), de sexe male sevrés à 35 jours Leur poids moyen étant de $1,990\text{Kg} \pm 408,90\text{g}$.

I-2- présentation du lapin

Le Lapin est classé dans l'ordre des lagomorphes de la famille des léporidés

Depuis toujours, les chercheurs semblent s'intéresser aux lagomorphes.

En effet, ce modèle animal convient relativement bien, car il est phylogénétiquement plus proche de l'homme (**Houdebine, 1998**). Sa manipulation est aisée, et sa taille permet d'obtenir facilement des échantillons sanguins et de produire des antisérums.

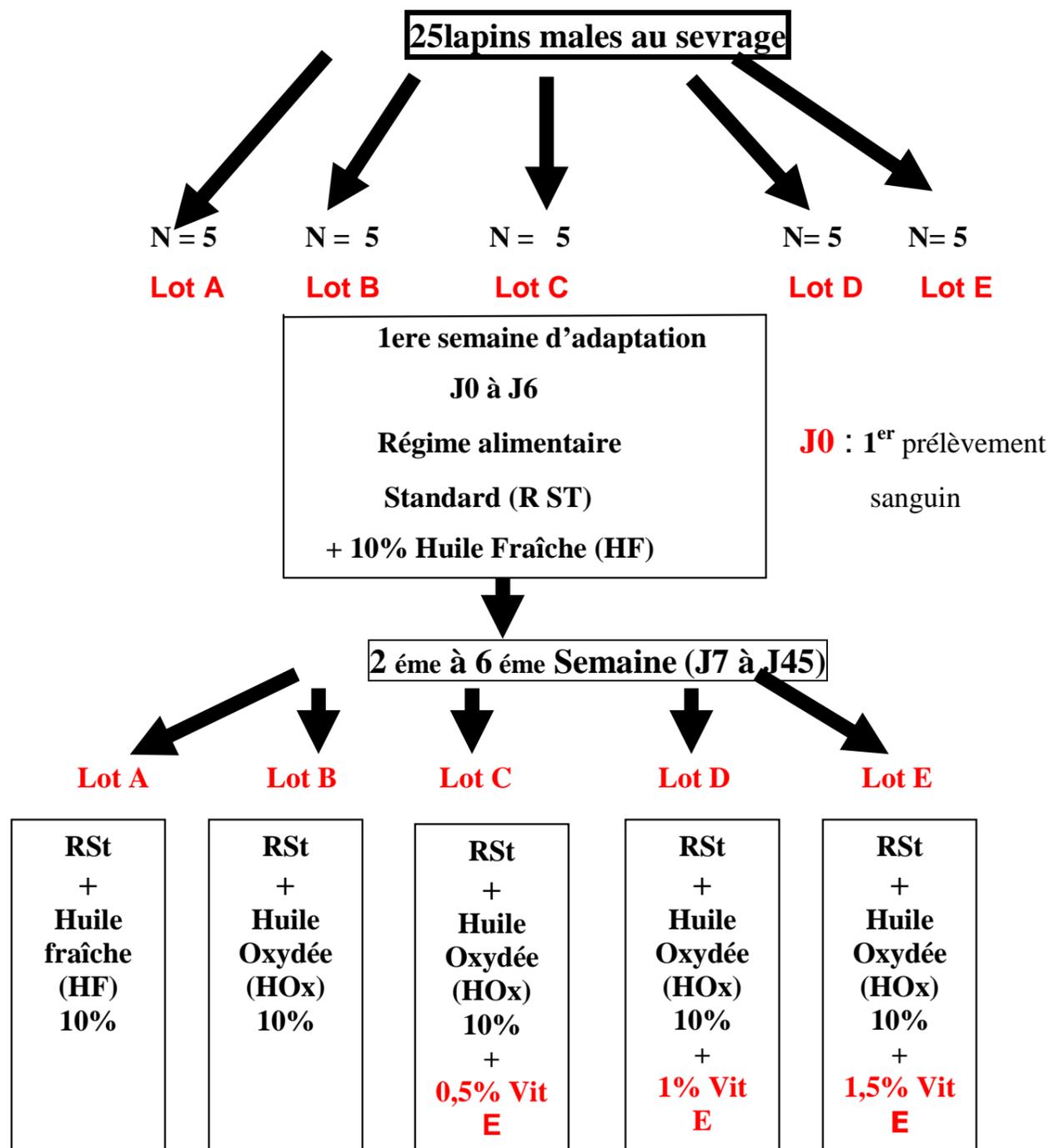
De plus, son taux de reproduction élevé et l'intervalle de génération relativement court, lui ajoute une qualité supplémentaire. La race « Néo-Zélandais albinos » est celle qui est la plus utilisée au laboratoire de par sa docilité et aussi la grandeur et l'absence de pigmentation de leurs oreilles qui facilitent la répétition d'interventions telles les prises de sang et les injections intraveineuses

Il aurait été utilisé pour les premières observations scientifiques en ophtalmologie au 17^e siècle (**Fox, 1984**) ; depuis lors, il est employé par de nombreuses disciplines appréciant ses qualités et tolérant ses défauts .

L'espérance de vie du lapin en laboratoire ou en élevage excède rarement quatre à cinq années alors que dans des conditions naturelles et particulièrement dans le cas des mâles, elle peut atteindre au moins deux fois cet âge

(Présentation détaillée en Annexe I)

II- Protocole expérimental



J 15 =2^{ème} prélèvement sanguin

J 30 = 3^{ème} prélèvement sanguin

J 45 =4^{ème} prélèvement sanguin (sacrifice et prélèvement d'organes)

PESEE REGULIERE DES LAPINS (tous les 2 jours)

Figure-18- Protocole expérimental

II-1 choix et répartition des animaux

Nous avons choisi 25 lapins Males d'un poids moyen de $1,990\text{Kg} \pm 408,90\text{g}$ (le choix des males se justifie par rapport aux éventuelles interférences des hormones sexuelles femelles sur les résultats obtenus) Les lapins sont répartis en 05 lots de 5 lapins chacun (n=5) (Lot A, Lot B, Lot C, Lot D, Lot E)

II-2 Logement des animaux

Les Lapins sont logés individuellement dans des cages de métal en acier inoxydable.

Ces cages sont réunies en batteries de 08 cages chacune ; les cages sont munies d'un plancher en grillage métallique sous lequel on retrouve un plateau servant à recueillir les excréments et les urines des animaux. Sur la façade externe des cages une mangeoire amovible et accessible de l'extérieur est accolée.

II-3 Conditions environnementales

Un cycle de 16h/08h d'alternance lumière/obscurité ainsi que des conditions de température et d'humidité respectivement à 20°C et 50% ont été maintenus

Un renouvellement de l'air ambiant est assuré par l'utilisation d'extracteurs à haut débit

II-4 Régime alimentaire et abreuvement

L'abreuvement est assuré par un dispositif automatique composé de pipettes et de tétine relié au réseau d'alimentation hydraulique de la ville, ce dispositif permet aux animaux de s'abreuver à volonté avec de l'eau propre et constamment renouvelée ; de ce fait l'abreuvement se fait ad libitum.

L'aliment standard utilisé est produit et fourni à l'IPA par un fabricant privé

Tableau –8-Composition de l'aliment standard (St) :

Farine de Luzerne	35%
Son	35%
Farine d'Orge	10%
Farine de Mais	10%
Farine de Viande	5%
Farine de poisson	3%
Complément Minéral	2%

Nous nous sommes assurés que cette formulation répond aux recommandations internationales et qu'elle couvre totalement les besoins du lapin

Les 25 lapins (répartis en 5 lots de 5 lapins chacun) sont maintenus en stabulation et nourris pendant 06 semaines soit 45 jours avec 05 régimes différents suivant les lots expérimentaux :

Régime d'adaptation: régime standard (St) additionné de 10% d'huile fraîche (HF) distribué à tous les lots pendant une semaine (J0 à J 6)

Lot A (Lot Témoin): régime standard (St) additionné de 10% d'huile fraîche distribué à tous les lapins du J0 au J45.

Lot B : régime standard additionné de 10% d'huile oxydée (H ox) distribué du J 7 au J 45

Lot C : régime standard additionné de 10% d'huile oxydée (H ox) et de 0.5 % de Vitamine E sous forme d'acétate de tocophérol (50mg par Kg d'aliment) distribué du J7 au J45

Lot D : régime standard additionné de 10% d'huile oxydée (H ox) et de 1 % de Vitamine E sous forme d'acétate de tocophérol (100mg par Kg d'aliment) distribué du J7 au J45

Lot E : régime standard additionné de 10% d'huile oxydée (H ox) et de 1.5 % de Vitamine E sous forme d'acétate de tocophérol (150mg par Kg d'aliment) distribué du J7 au J45

Nous avons utilisé de la vitamine E sous forme de solution d' α -tocophérol à 10%,

Celle-ci a été diluée dans la quantité d'huile oxydée nécessaire que nous avons fait absorber par la quantité d'aliment correspondant .L'aliment ainsi imbibé à été réparti en couches très fines dans des plateaux puis placé au repos pendant toute une nuit à température ambiante afin de permettre une bonne absorption .

Tableau – 9 - Composition des différents régimes alimentaires expérimentaux

COMPOSITION En %	REGIMES ALIMENTAIRES					
	Adaptation	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E
Farine de Luzerne	35	35	35	35	35	35
Son	35	35	35	35	35	35
Farine de Mais	10	10	10	10	10	10
Farine de Viande	5	5	5	5	5	5
Farine de Poisson	3	3	3	3	3	3
Complément minéral	2	2	2	2	2	2
Huile de tournesol fraîche	10	10	-	-	-	-
Huile de tournesol oxydée	-	-	10	10	10	10
Supplémentation en α -tocophérol (Vitamine E)%	-	-	-	0.5	1	1.5

II- 5- Variations pondérales

II-5-1-Courbe de croissance : elle est réalisée suivant la moyenne hebdomadaire des pesées effectuées sur tous les lapins régulièrement tous les 2 jours le matin à jeun pendant toute la durée de l'expérimentation soit 06 pesées .

II-5-2-Gain de poids Final : il est évalué par la différence entre le poids initial au J0 de l'expérimentation et le poids final J45 de l'expérimentation ; il permet d'apprécier l'évaluation de la croissance pondérale

II-5-3- Indice hépatosomatique (IHS) : il est calculé à partir du rapport entre le poids du foie et le poids final de l'animal multiplié par 100 ; cet indice nous renseigne sur l'état de l'hypertrophie du foie (**Lopez- varela et al 1995**)

$$\text{IHS} = \text{Poids du foie (g) / Poids du corps (g) X 100}$$

II-6- Prélèvements :

II-6-1- Prélèvements de sang : 04 prélèvements ont été effectués à 15 jours d'intervalle :

P1 = au **J0** prélèvement de sang témoin après une semaine d'adaptation

P2 = au **J 15**

P3 = au **J 30**

P4 = au **J 45**

Les prélèvements ont été réalisés par ponction au niveau de la veine marginale de l'oreille selon la technique suivante :

Après avoir placé les lapins dans des boîtes à contention afin de faciliter la manipulation, l'oreille est désinfectée, à l'aide d'alcool à 70°, par la suite, on comprime le retour veineux de la veine marginale à la base de l'oreille avec deux doigts de sorte qu'elle gonfle et devienne plus facile d'accès. Le bord de l'oreille est frotté avec un tampon imbibé de xylène ce qui a pour effet de causer une irritation locale et d'augmenter considérablement la circulation du sang dans la veine .la veine est ponctionnée à l'aide d'un dispositif de prélèvement classique, et le sang est récolté dans un tube placé en déclive.

Après la prise de sang ,la veine est comprimée au niveau du point de ponction afin de créer une hémostase et arrêter l'écoulement sanguin et l'oreille est nettoyée à l'aide d'alcool à 70°afin d'éliminer toute trace de xylène et de soulager l'irritation .

II-6-2- Prélèvements d'organes : en fin d'essai (au J 45) et après une dernière pesée les lapins sont sacrifiés sans mise à jeun préalable, le sacrifice est réalisé par décapitation ; Les carcasses sont dépouillées de leur peau puis disséquées, la cage thoracique à été ouverte afin de récupérer le cœur, de la cavité abdominale nous avons prélevé les reins et le foie, et de la boîte crânienne nous avons récolté le cerveau complet avec le bulbe rachidien.

II-7- Traitement des prélèvements:

II-7-1- traitement du sang : le sang est prélevé sur des tubes secs sans anticoagulants, les tubes sont entreposés à température ambiante pendant 24 h afin de permettre la coagulation ; le lendemain les tubes sont décantés et le sérum obtenu est centrifugé à 3500 tr/mn pendant 15 minutes (centrifugeuse Beckman, Modèle: TJ-6),

le surnageant est par la suite aspiré à l'aide d'une micropipette puis aliquoté dans des tubes en verre stériles hermétiquement fermés à raison de 2 tubes par prélèvement. Les tubes sont répartis en 2 lots ; le premier lot est conservé au réfrigérateur à + 4°C et le second lot est gardé au congélateur à – 20°C. Jusqu'au moment des dosages .

les paramètres recherchés sont : LDLc, HDLc, Cholestérol total, triglycérides, protéines totales

II-7-2-traitement des organes : les organes prélevés (foie, reins, cerveau et cœur) sont rincés à l'eau physiologique à 9 ‰ éponnés et débarrassés de leurs tissus conjonctifs ; ils sont alors pesés à l'aide d'une balance de précision les poids sont notés puis ils sont découpés en 2 parties pour chaque organe et rassemblés en 2 lots identiques (lot 1 et lot 2) dans des flacons en verre fermés hermétiquement ;

chaque lot est composé d'une moitié de chaque organe ; les moitiés d'organes du lot 1 sont déposés au congélateur à -70°C et les organes du lot 2 sont immergés dans de la liqueur de Bouin préparée extemporanément (cf Annexe)

DOSAGES BIOCHIMIQUES SÉRIQUES

Tous les dosages biochimiques ont été réalisés au sein du laboratoire de biologie de la clinique Rahmouni Djillali relevant du secteur sanitaire de Sidi M'hamed

I- Dosage du cholestérol total : le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation .l'indicateur quinonimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino-4-antipyrine en présence de phénol et de peroxydase.

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

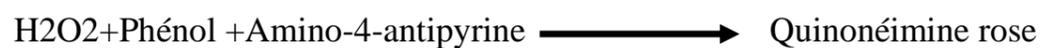
Cholestérol estérase



Cholesterol oxydase



Peroxydase



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

On prend 10µl de sérum sur lesquelles on ajoute 1000µl du réactif ; le mélange ainsi formé est incubé à 37°C pendant 5mn, puis la lecture des densités optiques est faite à l'aide d'un spectrophotomètre

(type BECKMAN model 42) à une longueur d'onde de 505 nm. **AFAQ iso9001 test enzymatique colorimétrique (Bio Maghreb)**

II- Dosage des triglycérides : les triglycérides sont déterminés par une méthode enzymatique selon les réactions suivantes :

Lipoprotéine lipase



Glycéro kinase, Mg⁺⁺



Glycérol-3-phosphate oxydase



Peroxydase



On prend 10µl de sérum sur lesquelles on ajoute 1000µl du réactif ; le mélange ainsi formé est incubé à 37°C pendant 5mn, puis la lecture des densités optiques est faite à l'aide d'un spectrophotomètre (type BECKMAN model 42) à une longueur d'onde de 505 nm. (**AFAQ iso9001 test enzymatique colorimétrique Bio Maghreb**)

III- Dosage des HDL Cholestérol (HDL-c) : les chylomicrons et les VLDL-c précipitent par addition d'acide phosphotungsténique et chlorure de magnésium.

Le mélange est déposé pendant 10mn à température ambiante ; puis il est centrifugé pendant 20mn à 4000 tr/mn le surnageant obtenu contient les HDL-c qui sont dosés par le réactif de cholestérol liquicolor. La mesure des HDL-c (extinction) est calculée à l'aide d'un spectrophotomètre colorimétrique à 505 nm

IV- Calcul des LDL Cholestérol (LDL-c) : la concentration des LDL-c est calculée selon la formule de **Freidewald et al 1972**

$$\text{LDL-c} = \text{Cholesterol Total} - \frac{\text{triglycerides}}{5} - \text{HDL-c (g/l)}$$

V- Calcul de l'indice d'athérogénicité :

$$\text{Indice d'athérogénicité} = (\text{LDLc} / \text{HDLc})$$

VI- Calcul des VLDL Cholestérol (VLDL-c) :

$$\text{VLDL-c} = \text{Cholesterol total} - (\text{HDL-c} + \text{LDL-c}) \text{ (g/l)}$$

VII- Dosage des protéines totales sériques :

Les protéines sériques son dosées par colorimétrie à une longueur d'onde de 545 nm selon une réaction de type Biuret (sels de cuivre en milieu alcalin) ; en milieu alcalin les protéines forment avec les ions cuivriques un complexe coloré dont l'intensité est proportionnelle à la concentration du milieu en proteines. La protéine présente dans l'échantillon réagit avec le rouge de pyrogallol et le molybdate en milieu acide pour former un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. (**Orsonneau et al, 1989**).

VIII- Calcul des lipides totaux sériques

$$\text{Lipides totaux} = \text{Cholestérol total} \times 2,5 + \text{TG (g/l)}$$

TRAITEMENT DE L'HUILE :

I- Choix de l'huile : l'huile de tournesol a été choisie en raison de son utilisation très fréquente dans les fritures dans les habitudes alimentaires en Algérie et elle présente en outre une aptitude intéressante à l'oxydation rapide de par sa teneur élevée en acide linoléique (oméga 6), de sa teneur très basse en acide linoléique (oméga 3) L'huile de tournesol est classée dans les huiles hautement poly insaturées :

Composition de l'huile de tournesol CEVITAL

- 12% d'acides gras saturés
- 21% d'acides gras mono insaturés dont 19,7% d'acide oléique
- 67% d'acides gras poly insaturés comprenant essentiellement l'acide linoléique précurseur de la famille des acides gras oméga 6 (CEVITAL – ALGERIE 2001)
- 55 à 85 mg de vitamine E pour 100g d'huile dont environ 61mg d'alpha tocophérol

II- Mode opératoire : le mode opératoire est inspiré de la méthode utilisée par **Abouem 2007** ; elle consiste en une friture profonde de pomme de terre (la pomme de terre à été choisie comme objet de friture de par son utilisation courante et de par sa participation très faible à l'altération de l'huile) la pomme de terre découpée en frites et bien égouttée est plongée dans le bain d'huile non renouvelé durant toute l'expérimentation.

- les fritures ont été réalisées dans une friteuse électrique d'une capacité de 04 litres munie d'un thermomètre intégré ,le bain de friture est constitué de 03 litres d'huile
- chaque friture concerne 600g de pomme de terre , - l'immersion de la pomme de terre est réalisée à 198°C on remarque une chute de la température autour de 140°C – 150°C au moment de l'immersion puis une élévation progressive de cette température pour atteindre 165°C au terme de la cuisson qui aura duré 15 mn .

Dans des conditions similaires , 20 fritures ont été réalisées à raison de quatre(04) fritures par jour et des prélèvements d'échantillons d'huile d'un volume de 5ml sont effectués toutes les 02 fritures.

- les échantillons prélevés dans des tubes en verre stériles sont ensuite enveloppés dans du papier aluminium pour les protéger de la lumière et conservés au réfrigérateur à + 4°C jusqu'au jour de l'analyse .

- en parallèle un échantillon témoin d'huile fraîche a été placé dans les mêmes conditions de conservation.

ANALYSE DE L'HUILE :

Toutes les analyses ont été réalisées au sein du laboratoire de contrôle de qualité de l'ITAF (Institut Technologique des Arbres Fruitiers et vignes) de Tessala el Merdja

I- Analyses physiques et organoleptiques : le prélèvement d'huile fraîche témoin et les dix échantillons d'huile de friture ont subi les analyses macroscopiques qui ont porté sur la couleur, la fluidité, l'odeur et la formation de mousse.

I-1-Couleur : afin de déterminer la couleur de l'huile des 10 échantillons expérimentaux , les tubes en verre sont portés vers une source lumineuse (le néon de la paillasse du laboratoire) la comparaison est faite à l'œil nu par rapport au tube témoin d'huile fraîche considérée comme référence .

I-2-Fluidité : la fluidité de l'huile de nos 10 échantillons est déterminée par la consistance de l'huile de friture observée lorsque celle-ci est versée lentement par comparaison avec celle de l'huile fraîche témoin .

I-3-odeur : une quantité d'huile de chaque échantillon d'huile de friture est versée dans une boîte de pétrie ; les boîtes sont présentées au personnel du laboratoire afin de détecter une éventuelle odeur de rancissement par rapport au prélèvement témoin d'huile fraîche.

I-4-formation de mousse : les tubes sont alignés à la verticale et après un certain temps de pose et près d'une source de lumière la surface du liquide est inspectée pour y détecter la présence ou l'absence de mousse qui nous renseignent sur l'altération de l'huile . Elle serait la conséquence d'un certain groupe de composés particuliers tels que les polymères de triglycérides et glycérides polaires (**Benakmoum 2002**)

I-5- viscosité : La viscosité augmente avec la température et varie exponentiellement avec le temps. La viscosité des acides gras et des triglycérides est liée à leur structure et en particulier à la longueur des chaînes et à leur insaturation ; l'augmentation du poids moléculaire entraîne une augmentation de la viscosité. La polymérisation et l'oxydation augmentent considérablement la viscosité. (**Wolf 1968**)

II- analyses chimiques :

II-1- détermination de l'indice d'acide :(AFNOR 1988)

***Définition :** L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un 1gramme de corps gras

***Principe :** mise en solution d'une prise d'essai dans l'éthanol chaud, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution étalonique d'hydroxyde de potassium 0.1N en présence de phénolphthaleine jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose persistante)

***expression des résultats :** l'indice d'acide répond à la formule suivante :

$$I^a = \frac{56.1 \times V \times C}{P} \text{ (mg de KOH/g d'huile)}$$

I^a : indice d'acide

56.1 : masse molaire exprimée en g/mol de l'hydroxyde de potassium

V : volume en millilitre de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée

C : concentration exacte, en moles par litre de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée (0.1 mol /l)

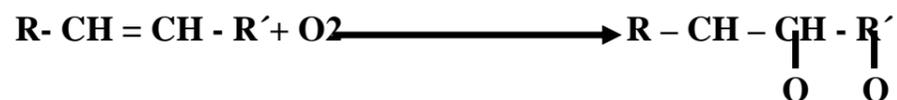
P : poids en gramme de la prise d'essai

Remarque : effectuer deux déterminations sur le même échantillon et prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations

II-2- détermination de l'indice de peroxyde :(AFNOR 1990)

***Définition :** on entend par indice de peroxyde d'un corps gras le nombre de milliéquivalents par kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. Cet indice est exprimé en milligrammes par gramme ou le plus souvent en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme. :Ip (µg /g) = 16 Ip (mol/kg) = 8 meq d'O2 /kg

L'altération chimique des corps gras insaturés par l'oxygène de l'air débute par la formation d'un peroxyde :



***Principe :** traitement du corps gras en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium.

Titrage de l'iodure libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium 0.01N.

***Mode opératoire :**

- prendre à 1mg près 2g d'échantillon dans une fiole.
- ajouter 10ml de chloroforme et dissoudre rapidement la prise d'essai en agitant.
- ajouter 15ml d'acide acétique puis 1ml de la solution d'iodure de potassium.
- boucher aussitôt le flacon, l'agiter durant 5 minutes exactement à l'abri de la lumière à une température comprise entre 15 et 25°C.
- ajouter 75ml d'eau distillée en agitant et en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur, titrer l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium 0.01N.

***expression des résultats :** l'indice de peroxyde exprimé en milligrammes d'oxygène actif par gramme d'échantillon est égal à :

$$IP = \frac{V - V_0}{P} \times 10 \quad \text{még O}_2 / \text{kg d'huile}$$

IP : indice de peroxyde

V : volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium 0.01N utilisée pour la détermination

V₀ : volume en millilitres de la solution de thiosulfate de sodium 0.01N utilisée pour l'essai à blanc

P : poids en gramme de la prise d'essai

Remarques :

- effectuer deux déterminations sur le même échantillon et prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.
- parallèlement à la détermination, effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions

II-3- détermination de Indice d'iode:

***Définition :**

L'indice d'iode correspond au nombre de gramme d'iode fixé sur les doubles liaisons de 100 g de matière grasse purifiée. Il indique le degré d'insaturation du corps gras.

***Principe :**

Au corps gras, en solution dans du tétrachlorure de carbone on additionne du mono chlorure d'iode en solution dans un mélange d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone.

Après un temps donné de réaction, l'excès d'halogène est déterminé par addition d'iodure de potassium et d'eau ; et l'iode libéré est titré par une solution titrée de thiosulfate de sodium 0.1N.

Quelque soit le réactif halogène utilisé, le principe est le même. Les liaisons éthyliques, en particulier celles des acides gras, fixent les halogènes.

Il est indispensable pour obtenir une réaction quantifiable d'utiliser un excès de réactif pendant un temps de contact suffisamment long, ou en présence de catalyseur et de titrer ensuite l'excès de réactif (iode non fixé par un réducteur

(Par exemple thiosulfates). On détermine ainsi la quantité d'iode fixé par le corps gras.

***Mode opératoire :**

- peser environ 0.13g de l'échantillon dans une fiole de 300ml muni d'un bouchon
- Ajouter 15 ml de chloroforme.
- Introduire exactement 25ml de réactif de Wijs.
- Agiter et placer la fiole dans un endroit sombre pendant 1 heure.
- Après addition de 20ml d'une solution d'iodure de potassium à 100g/l et de 150ml d'eau distillé, titrer avec une solution de thiosulfate de sodium 0.1N énergiquement en présence d'empois d'amidon comme indicateur jusqu'à disparition de la coloration bleue.

***Expression des résultats :**

$$I_i = 1,269 \times \frac{(V_1 - V)}{P} \times T \quad \text{g d'iode /100g de matière grasse}$$

1,269 : nombre de grammes d'iode correspondant à 1 ml de thiosulfate 0,1 N

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc, exprimé en millilitre.

V1 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'échantillon, exprimé en millilitre.

P: poids en gramme, de la prise d'essai.

T : Titre exact de la solution de sulfate de sodium utilisée.

II-4- détermination de l'Indice de Réfraction :

***Définition :**

Il permet de mesurer le pouvoir réfringent des huiles par rapport à la raie « D » du sodium (589,6 NM) l'indice de réfraction est déterminé par le rapport entre la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide est la vitesse de cette lumière à travers la substance (huile) à la même longueur d'onde (A.F.N.O.R ; NF T60-212,1988).

***Principe :**

L'indice de réfraction est déterminé dans un réfractomètre en utilisant la raie « D » du sodium à une température aussi proche que possible de la température de référence. La température est choisie de façon que le corps gras soit entièrement liquéfié et la température de référence est de 20°C pour les huiles.

***expression des résultats :**

La détermination de cet indice est donnée par lecture directe sur le réfractomètre à la température fixée à 20°C

II-5-Détermination de la densité :

***Définition :** c'est la masse volumique de l'huile ou bien le rapport de la masse d'huile sur son volume à une température donnée. Elle est exprimée en gramme par millilitre. La densité des huiles est fonction non seulement de l'insaturation mais aussi de l'état d'oxydation ou de polymérisation (**Wolf 1968**) ; la densité augmente avec la température et le temps de chauffage (degré de polymérisation). L'augmentation de la densité peut atteindre 5% de la valeur initiale (**Guillaumin 1969**). (NF ISO 6883)

***Principe :** il est basé sur la mesure de la masse, à une température ambiante d'un volume de corps gras contenu dans le pycnomètre préalablement étalonné à la même température

***expression des résultats :** la densité est donnée par la formule suivante :

$$D = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

D : Densité

M0 : la masse en gramme du pycnomètre vide

M1 : la masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau

M2 : la masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile

II-6-Dosage des produits primaires et secondaires par spectrophotométrie en rayonnement ultraviolet

(AFNOR 1978)

***Principe :** les produits d'oxydation des acides gras insaturés lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée (tel que l'hydroperoxyde linoléique) absorbent au environ de 232nm.

Si l'oxydation est plus poussée, il se forme des produits secondaires d'oxydation tel que les dicétones éthyliniques) qui absorbent au environ de 268 nm ;

L'extinction à 232 nm et à 268 nm d'un corps gras peut être considérée comme une image de son état d'oxydation.

► Plus l'extinction à 232 nm est forte, plus l'huile est peroxydée.

► Plus l'extinction à 268 nm est forte plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation.

***Mode opératoire :**

- dissoudre 100 mg d'huile dans 10 ml de cyclohexane (solvant inerte dans les UV)

- diluer 10 fois cette solution

- déterminer la densité optique DO de la solution à 0.1% à 232 nm (longueur d'onde minimale) et à 268 nm (longueur d'onde maximale)

***expression des résultats :**

- lire la densité optique DO sur l'écran du spectrophotomètre (PERKIN-ELMER)

- prendre la moyenne de 03 lectures successives pour chaque détermination.

ANALYSE DES RESULTATS :

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm écartype ; la méthode utilisée pour l'analyse statistique des résultats est le test de Student avec un seuil de signification

$p < 0,05$ (risque choisi à 0,05) pour cela nous avons utilisé le logiciel Excel 2003.

PARTIE –II- RESULTATS ET DISCUSSION

MODIFICATIONS PHYSICOCHIMIQUES DE L'HUILE

I- Modifications physiques et organoleptiques :

I-1 Couleur : les modifications de la couleur ont été appréciées macroscopiquement à l'œil nu.

Tableau – 10- Variation de la couleur de l'huile au cours des cycles de friture

ECHANTILLONS	COULEUR
Echantillon Témoin (Huile Fraîche)	-
Echantillon 1 (2 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 2 (4 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 3 (6 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 4 (8 ^{em} Cycle de friture)	++
Echantillon 5 (10 ^{em} Cycle de friture)	++
Echantillon 6 (12 ^{em} Cycle de friture)	+++
Echantillon 7 (14 ^{em} Cycle de friture)	+++
Echantillon 8 (16 ^{em} Cycle de friture)	++++
Echantillon 9 (18 ^{em} Cycle de friture)	++++
Echantillon 10 (20 ^{em} Cycle de friture)	+++++

- jaune claire , + Jaune , ++ Jaune peu foncé , +++ jaune foncé
++++ jaune très foncé , +++++ jaune cuivré

Dans les résultats obtenus et résumés dans le tableau 15 nous constatons que la couleur de l'huile a subi des variations notables par rapport à celle de l'échantillon témoin :

Dans les échantillons 1,2 et 3 : une légère modification par rapport au témoin

Dans les échantillons 4 et 5 : une coloration légèrement plus foncée que celle des échantillons 1, 2, et 3

Dans les échantillons 6 et 7 : une coloration plus foncée que celle des échantillons 4 et 5

Dans les échantillons 8 et 9 : une coloration plus foncée que celle des échantillons 6 et 7

Dans l'échantillon 10 : une coloration très foncée.

En résumé nous constatons que la couleur de l'huile s'intensifie avec le nombre de cycles de friture par rapport à celle de l'échantillon témoin d'huile fraîche.

Selon **Weil (1979)** cette variation sensible de la couleur de l'huile au cours des fritures s'explique par la présence de produits secondaires d'oxydation susceptibles d'apporter une variation de teinte.

En général la coloration de l'huile s'accroît avec l'élévation du nombre de fritures ; sous l'influence de la température, les pigments qui déterminent la couleur de l'huile (caroténoïdes principalement) se dégradent indiquant par là une altération à caractère organoleptique de l'huile.

I-2 Fluidité : les modifications de la fluidité ont été appréciées macroscopiquement à l'œil nu.

Tableau – 11- Variation de la fluidité de l'huile au cours des cycles de friture

ECHANTILLONS	FLUIDITE
Echantillon Témoin (Huile Fraîche)	-
Echantillon 1 (2 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 2 (4 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 3 (6 ^{em} Cycle de friture)	+
Echantillon 4 (8 ^{em} Cycle de friture)	++
Echantillon 5 (10 ^{em} Cycle de friture)	++
Echantillon 6 (12 ^{em} Cycle de friture)	+++
Echantillon 7 (14 ^{em} Cycle de friture)	+++
Echantillon 8 (16 ^{em} Cycle de friture)	++++
Echantillon 9 (18 ^{em} Cycle de friture)	++++
Echantillon 10 (20 ^{em} Cycle de friture)	+++++

- fluidité maximale de l'huile +++++ consistance sirupeuse de l'huile
+ Fluidité à un degré moindre

Les résultats obtenus et consignés dans le tableau 11 indiquent que :

- dans les échantillons 1 ,2 et 3 : l'huile est moins fluide que celle de l'échantillon témoin
- dans les échantillons 4 et 5 : l'huile est moins fluide que celle des l'échantillons 1,2 et 3
- dans les échantillons 6 et 7 : l'huile est encore moins fluide que celle des l'échantillons 4et 5 ; Le constat est le même pour ce qui est des échantillons 8 ,9 et 10

D’après **Vila (1994)**, au cours des fritures, la consistance de l’huile devient plus importante, ceci s’explique par la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires d’oxydation (alcool, cétones, aldéhydes) ainsi que par la formation de composés à poids moléculaires élevés, élaborés au cours du chauffage : l’huile de tournesol serait probablement altérée avec formation de dimères dont le poids moléculaire est largement supérieur à celui de ces constituants. ; Lors de l’oxydation, la fluidité diminue de façon notable et donne aux corps gras une consistance sirupeuse ; selon **Perkins (1976)** cet accroissement de la couleur et cette diminution de la fluidité de l’huile est due à la formation de produits d’oxydation non volatils de haut poids moléculaire ; les polymères de triglycérides modifient de façon assez nette l’huile et accroissent la consistance des huiles chauffées.

I-3 formation de mousse stable : au 10^{ème} cycle de friture nous avons constaté une mousse stable à la surface de l’huile.

Blanc-Gondarmary et al (1989) ont obtenu une mousse stable et persistante après oxydation d’une huile de tournesol à 100°C pendant 30 heures **Perin et al (1985)** ont rapporté que la chauffage continue à 175°C d’une huile avec insufflation d’air, s’accompagne d’une mousse fine et persistante liée à l’apparition de glycérides polaires à raison de 28% et de polymères de glycérides polaires à raison de 18% Ils concluent que c’est un signe d’altération de l’huile.

I-4 Odeur : l’odeur détectée au niveau de chacun des 10 échantillons correspondant aux cycles de friture a été comparée à l’odeur de l’huile fraîche de l’échantillon témoin.

Tableau – 12-

Détection d’une odeur de l’huile au cours des cycles de friture

Echantillons	Témoin HF	1 frit 2	2 frit 4	3 frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Odeur	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

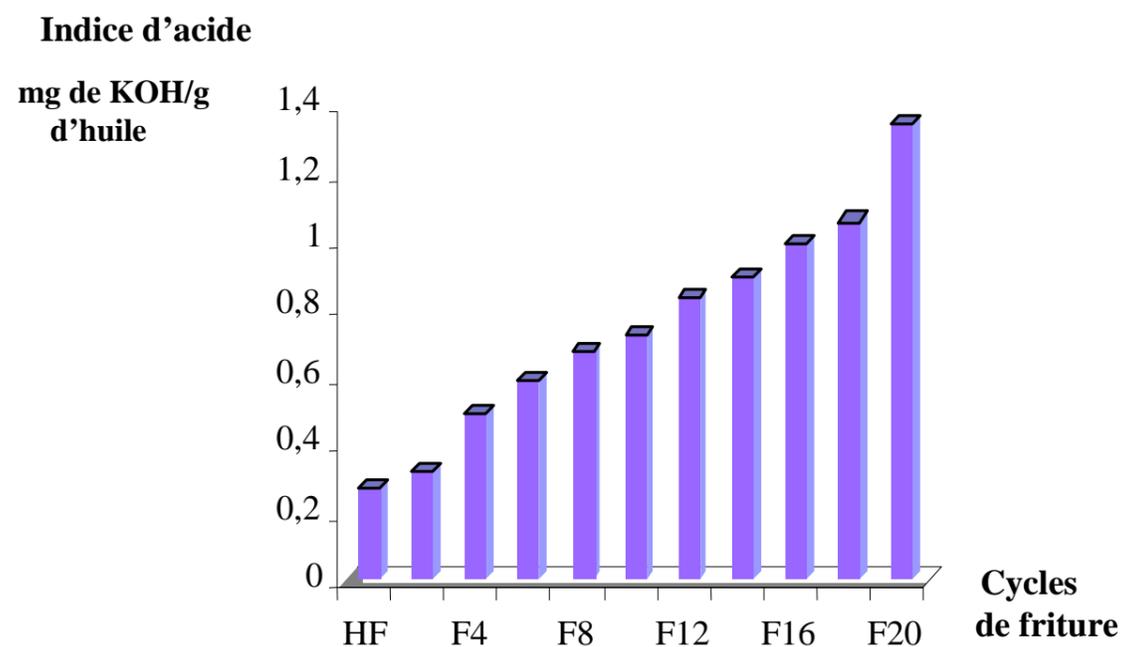
- absence d’odeur + Présence d’odeur

Les résultats de l’analyse de l’odeur consignés dans le tableau 12 , montrent qu’une odeur est détectée dans les 10 échantillons d’huile de friture (dés le deuxième cycle de friture) par rapport au témoin d’huile fraîche ou aucune odeur n’a été décelée.

D’après **capella (1989)** la réaction de l’oxygène avec les lipides insaturés provoque un rancissement donnant lieu à des odeurs qui rendent les aliments innapétents

II- Variation des indices physicochimiques :**II-1 variation de l'indice d'acide****Tableau – 13-Valeurs de l'indice d'acide au cours des cycles de friture**

Echantillons	T HF	1 frit 2	2 frit 4	3 frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Indice D'acide	0,271	0,29	0,49	0,64	0,68	0,72	0,83	0,83	0,87	1,06	1,35

**Figure -19-Variation de l'indice d'acide au cours des cycles de friture**

Les résultats consignés dans le tableau 13 et dans la figure 19 montrent que dans les 10 échantillons d'huile ayant subis plusieurs cycles de friture l'acidité augmente progressivement jusqu'à une valeur maximale de 1,35mg de KOH par g d'huile au bout de la 20ème friture.

Adrian et Potus (1998) définissent l'acidité comme étant la mesure des acides gras libres qui nous renseigne principalement sur l'altération des triglycérides lorsqu'ils se trouvent dans des conditions adéquates.

Selon **Pokorny (1973)** l'évolution de l'acidité est favorisée par l'action combinée de la température et de l'humidité. Les triglycérides constituant l'huile sont décomposés par l'eau libérée par la pomme de terre, cela aboutit à l'acidification de l'huile. De plus l'accroissement de l'acidité peut être expliqué par une perte importante en tocophérols lors des opérations de friture. En outre, la température affecte l'activité antioxydante. En effet une forte teneur en tocophérols peut bloquer l'hydrolyse des triglycérides.

II-2 variation de l'indice de peroxyde

Tableau – 14-

Valeurs de l'indice de peroxyde au cours des cycles de friture

Echantillons	T HF	1 frit 2	2 frit 4	3 frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Indice De peroxyde	4,3	9,32	13,09	14,46	15,99	18,26	18,66	15,54	13,79	12,59	11,81

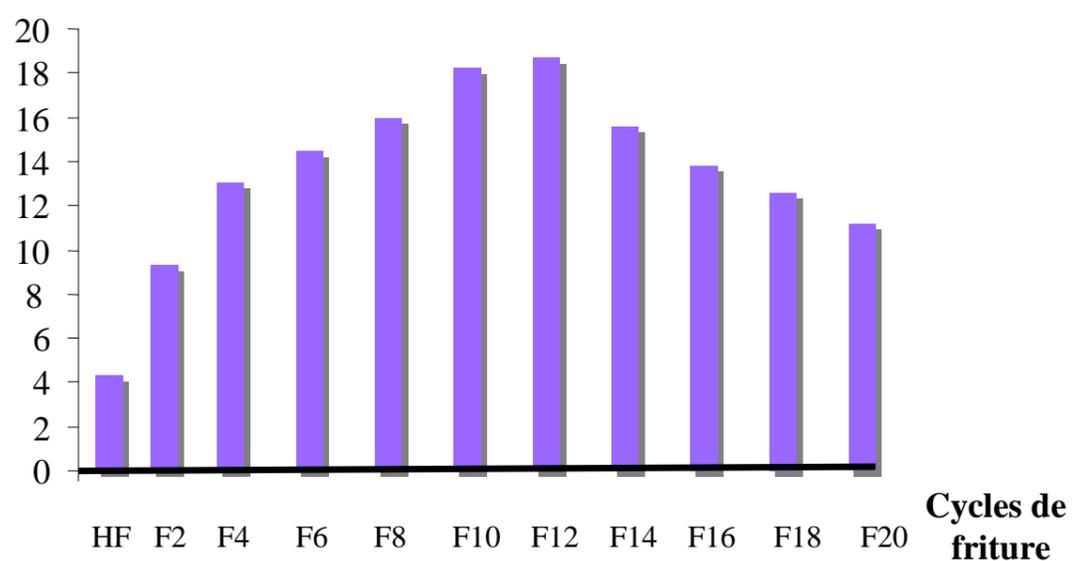
Indice de peroxyde (meq d'O₂ /kg)

Figure -20-Variation de l'indice de peroxyde au cours des cycles de friture

Les résultats obtenus pour l'ensemble des échantillons analysés consignés dans le tableau 14 et la figure 20, montrent une augmentation progressive de l'indice de peroxyde au cours des fritures pour atteindre sa valeur maximale qui est de 18.66 meq de O₂ /kg au cours de la 12^{ème} friture pour rechuter progressivement entre la 14^{ème} et la 20^{ème} friture ou il atteint une valeur finale de 11.81 meq de O₂ /kg ; l'étude menée par **Abouem (2007)** utilisant la friture comme mode d'oxydation de l'huile de tournesol à montré un indice de peroxyde maximal de 11.17 meq de O₂ /kg après 10 cycles de friture puis une diminution progressive de cet indice jusqu'à la fin des fritures .

Cette cinétique peut s'expliquer par la disparition des produits primaires (les peroxydes) et la formation de produits secondaires.

Selon **Adrian et Potus (1998)** l'indice de peroxyde représente l'état d'oxydation de l'huile ; c'est un critère utile pour apprécier les premières étapes de détérioration oxydative.

Les premiers composés qui se forment au cours de la réaction d'oxydation sont les hydroperoxydes d'où l'augmentation de l'indice de peroxyde,

Ces hydroperoxydes évoluent ultérieurement lorsqu'ils reçoivent suffisamment d'énergie sous forme de chaleur ou bien s'ils sont en présence de catalyseurs métalliques.

Il y a alors formation de composés volatils ou non présentant très souvent des fonctions oxygénées, ce qui correspond à la diminution de l'indice de peroxyde (**Cappella 1989**)

Selon **Dobarganes (1988)** la variation de l'indice de peroxyde est sans relation avec la dégradation produite, car dans le cas de l'altération thermo oxydative, les hydroperoxydes se décomposent plus vite qu'ils ne se forment.

En réalité, lors du déroulement de ce processus d'auto oxydation, la formation des hydroperoxydes et leur destruction sont en fait étroitement reliées l'une à l'autre souvent même elles se déroulent simultanément.

II-3 variation de l'indice d'iode

Tableau –15-Valeurs de l'indice d'iode au cours des cycles de friture

Echantil lons	T HF	1 frit 2	2 Frit 4	3 Frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Indice D'iode	128,0 2	119,5 3	117, 65	114, 23	112, 38	111, 78	110, 12	107,9 6	105, 01	103, 32	98, 05

Indice d'iode

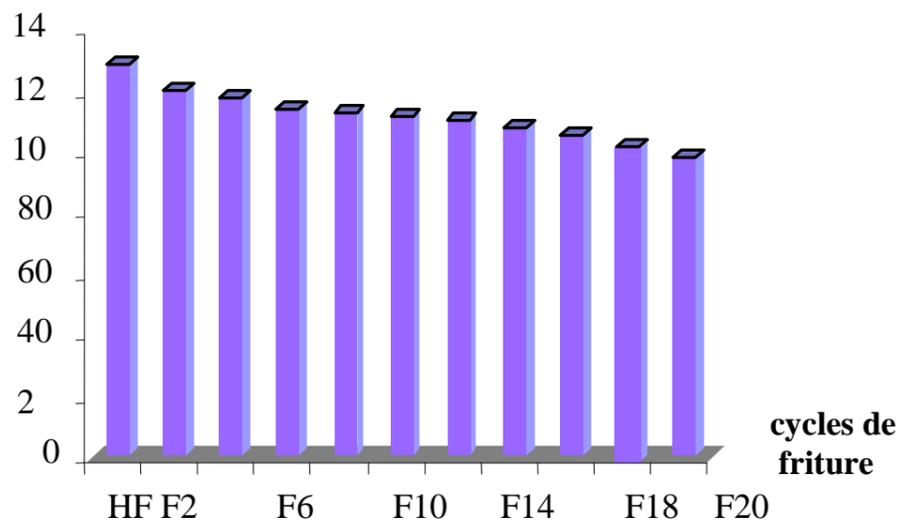


Figure – 21- Variation de l'indice d'iode au cours des cycles de friture

La détermination de l'indice d'iode des 10 échantillons à été réalisée selon la méthode titrimétrique, Les AGI peuvent être l'objet des réactions d'addition et ainsi fixer de nouveaux corps. La quantité d'iode captée par une matière grasse permet de connaître le nombre de doubles liaisons présentes dans les acides gras, donc la proportion d'AGI qu'elle contient (Lavoisier, 2003) Selon (Ollé, 2002), l'indice d'iode d'une huile fraîche de tournesol varie de 120 à 134.

L'indice de notre témoin (huile fraîche) étant de 128,02 il se situe dans cet intervalle, la valeur élevée de l'indice d'iode de l'huile de tournesol indique sa richesse en AGI (acide linoléique).

Les résultats obtenus pour l'ensemble des échantillons analysés consignés dans le tableau 15 et la figure 21, indiquent une diminution progressive de l'indice d'iode de l'échantillon témoin à l'échantillon 10(F20) ; ce qui peut être expliqué par le degré d'oxydation avancée, qui est en accord avec les résultats obtenus lors de la détermination de l'indice d'acidité indiquant une forte oxydation de ces échantillons.

Selon (Terrien et Fourier., 1998), plus l'indice d'iode, est faible plus le degrés d'insaturation est faible ce qui est important du point de vue diététique.

II-4 variation de la densité

Tableau –16-

Valeurs de la densité de l'huile au cours des cycles de friture

Echantil lons	T HF	1 frit 2	2 frit 4	3 frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Densité	0,035	0,06	0,07	0,09	0,12	0,16	0,19	0,25	0,31	0,41	0,52

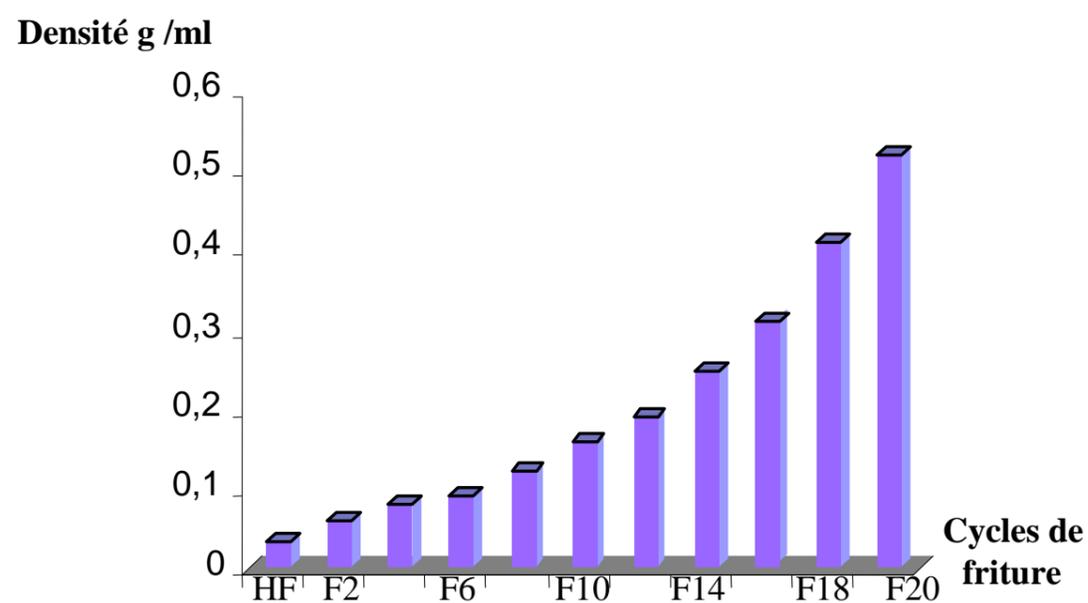


Figure-22-Variation de la densité de l'huile au cours des cycles de friture

La densité des huiles est fonction non seulement de l'insaturation mais aussi de l'état d'oxydation ou de polymérisation (Wolf 1968)

Les densités les plus élevées indiquent la présence d'un plus grand nombre de composés primaires et secondaires de l'altération oxydative de ces échantillons d'huile, comparés aux autres échantillons. Selon (Pantzaris., 1989), même une très faible quantité d'acide linoléique augmente de manière sensible le taux d'oxydation.

Nos résultats consignés dans le tableau 16 figure 22, indiquent une augmentation progressive de la densité de l'huile au cours des cycles de friture de 0,03 g/ml pour le témoin huile fraîche pour atteindre un maximum au 20ème cycle de friture de 0,52 g/ml

I-5 Variation de l'indice de réfraction

Tableau –17-

Valeurs de l'indice de réfraction de l'huile au cours des cycles de friture

Echantillons	T HF	1 frit 2	2 Frit 4	3 frit 6	4 frit 8	5 frit 10	6 frit 12	7 frit 14	8 frit 16	9 frit 18	10 frit 20
Indice de réfraction	1,458	1,4589	1,4592	1,4599	1,4622	1,4629	1,4634	1,4650	1,4695	1,4712	1,4722

Indice de refraction

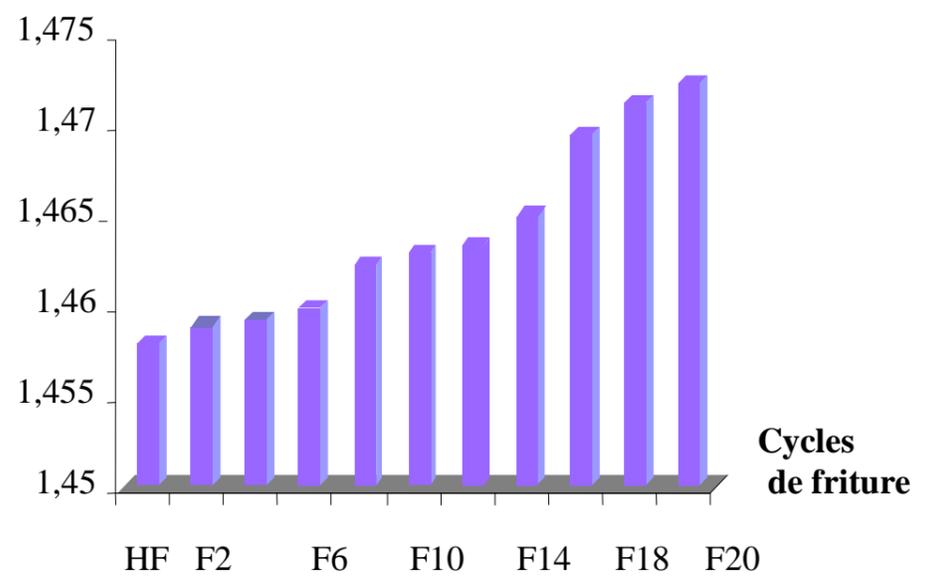


Figure -23- variation de l'indice de réfraction au cours des cycles de friture

Les indices physiques entre autre l'indice de réfraction (résultats consignés dans le tableau 17 et la Figure 23) augmentent proportionnellement avec le nombre de friture. Selon (**Guillaumin., 1969, El-Shami et al. 1992**), Cette évolution serait due à la formation de composés de hauts poids moléculaires (polymères)

II-6 Dosage des produits primaires et secondaires de l'oxydation

Tableau – 18-Valeurs des composés primaires et secondaires de l'oxydation Au cours des cycles de friture

FRITURES	Produits Primaires (diènes conjugués) DO à 232 nm	Produits secondaires (dicétones éthyliniques) DO à 268 nm
FRITURE 2	0.089	0.086
FRITURE 4	0.132	0.089
FRITURE 6	0.360	0.092
FRITURE 8	0.480	0.119
FRITURE 10	0.560	0.132
FRITURE 12	0.520	0.201
FRITURE 14	0.450	0.530
FRITURE 16	0.225	0.790
FRITURE 18	0.130	0.895
FRITURE 20	0.103	0.932

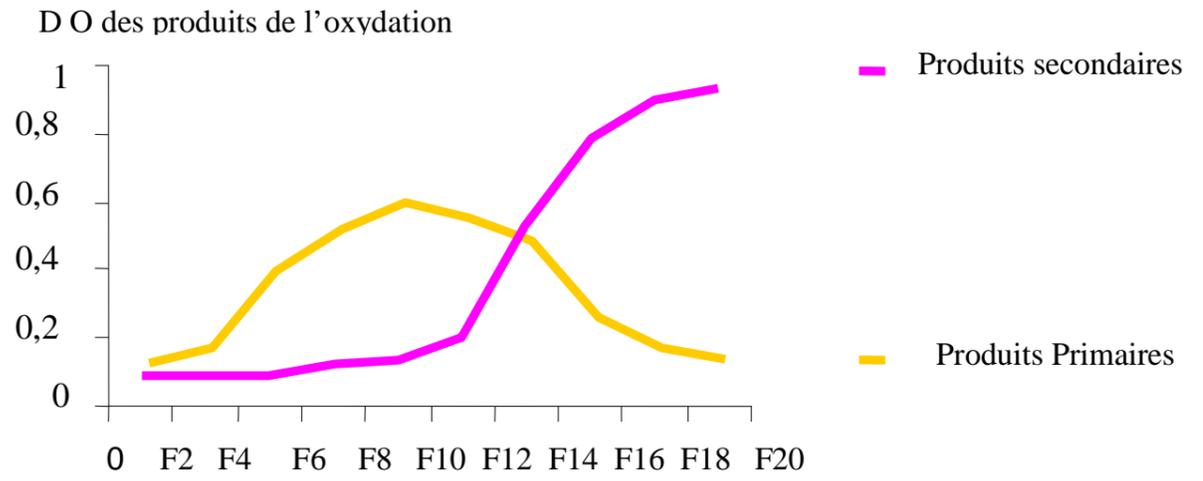


Figure -24-Cinétique des produits de l'oxydation au cours des cycles de friture

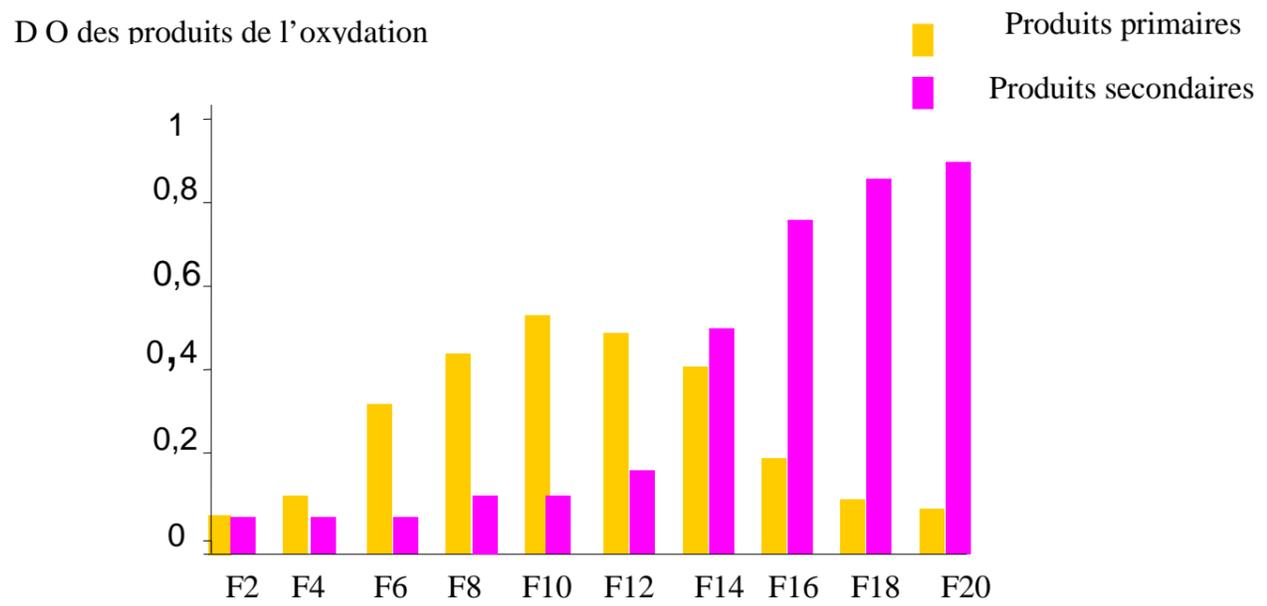


Figure -25-Evolution des produits de l'oxydation au cours des cycles de friture

Selon **Wolf (1954)** les hydroperoxydes linoléiques absorbent à 232nm ;

La formation d'hydroperoxydes s'accompagne d'une migration de la double liaison qui conduit à la formation d'un système diénique conjugué ;

leurs produits de décomposition non volatils qui constituent une large partie des acides gras oxydés sont ou des diènes conjugués qui absorbent à 232nm comme les peroxydes ou des cétones insaturés absorbant à 268 nm ;

Les diènes conjugués formés à partir de l'oxydation des acides gras poly insaturés absorbent le rayonnement ultraviolet avec un maximum d'absorbance situé à 232 nm (**Haliwell et Chirico 1993** **Gutteridge et Haliwell 1999**)

La mesure des diènes conjugués à 232 nm est utilisée comme indice de peroxydation lipidique (**Haliwell et Gutteridge 1999, Bonnefont –rousset 2003**)

Cette mesure est surtout intéressante pour l'évaluation précoce des peroxydations lipidiques (**Haliwell et Chirico 1993**) La mesure de l'extinction à 232nm et 268 nm renseigne sur l'état d'oxydation des corps gras (**Guillaumin 1969**)

Analyse des résultats : Les analyses physicochimiques de l'huile thermo oxydée par 20 cycles de friture révèlent :

- **au niveau de la couleur** : la couleur de l'huile devient de plus en plus foncée pour prendre une teinte jaune cuivrée au 20^{ème} cycle de friture.

- **au niveau de la fluidité** : l'huile devient de plus en plus consistante jusqu'au 20^{ème} cycle de friture ou elle prend une consistance sirupeuse.

- **au niveau de l'odeur** : l'odeur rance de l'huile augmente jusqu'au 20^{ème} cycle de friture ou elle la plus décelable.

- **au niveau de l'indice d'acide** : l'indice d'acide augmente de façon exponentielle du 1^{er} au 20^{ème} cycle de friture

- **au niveau de l'indice de peroxyde** : l'indice de peroxyde augmente au fur et à mesure des cycles de friture pour atteindre son maximum au 12^{ème} cycle pour ensuite aborder une diminution progressive.

- **au niveau de l'indice d'iode** : cet indice diminue progressivement et régulièrement du 1^{er} au 20^{ème} cycle de friture.

- **au niveau de la densité** : la densité de l'huile de friture progresse rapidement de la 1^{ere} à la 20^{ème} friture

- **au niveau de l'indice de réfraction** ; la réfraction suit la même cinétique que la majorité des autres indices physiques (mis à part l'indice d'iode) à savoir une augmentation progressive.

- **au niveau des produits de l'oxydation** :

en début d'expérimentation les produits primaires sont légèrement plus importants que les produits secondaires l'évolution des 2 sortes de produits se fait en sens inverse : diminution des produits primaires et augmentation des produits secondaires. Au 20^{ème} cycle de friture, la concentration des produits secondaires est à son maximum alors qu'il ne reste que des traces des produits primaires.

EXPERIMENTATION ANIMALE

I - Effets de l’ingestion de l’huile de tournesol oxydée sur les différents lots expérimentaux

I- 1 Effets sur le poids corporel

Le tableau 19 indique les moyennes hebdomadaires des pesées de chaque lot effectuées tous les 02 jours tout au long de l’expérimentation du J7 au J 45 ; La Figure 26 indique les variations des poids corporels en fonction du temps et des différents régimes alimentaires.

Tableau -19- Moyennes hebdomadaires des poids corporels des différents lots expérimentaux

POIDS VIF (Kg)					
Semaines	Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E
1	1,697±0,10	2,090±0,10	1,547±0,07	1,750±0,05	1,580±0,03
2	1,950±0,14	2,405±0,08	1,770±0,07	1,800±0,61	1,700±0,56
4	2,110±0,09	2,612±0,07	1,960±0,05	2,040±0,70	1,890±0,64
6	2,468±0,05	2, 630±0,06	2,140±0,05	2,298±0,64	1,998±0,59

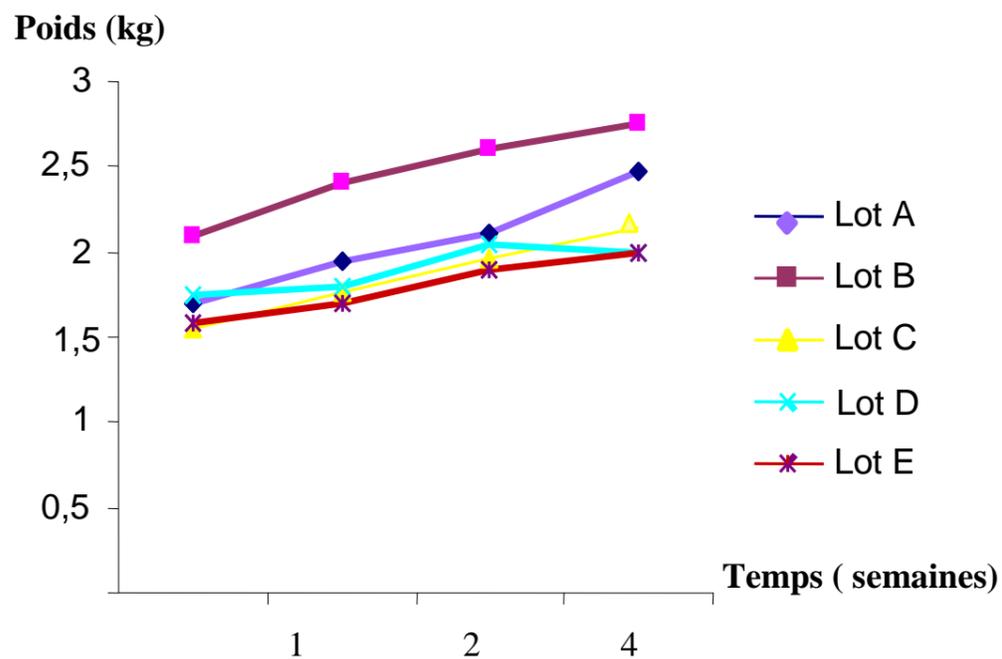


Figure- 26- Variation du poids corporel en fonction du temps et des différents types de régimes alimentaires

Dés la 2^{ème} semaine de traitement, la progression des poids est statistiquement différente chez les 5 lots de lapins respectivement de :

- 1,950 ± 0,14 kg pour les Lapins du lot A (Témoin ayant consommé le Régime standard additionné de 10% d'huile fraîche).
- 2,405 ± 0,08 Kg pour les lapins du lot B ayant Consommé le régime Standard additionné de 10% d'huile de friture thermo oxydée.
- 1,770 ± 0,07 Kg pour les lapins du lot C (ayant consommé le régime Standard additionné de 10% d'huile de friture thermo oxydée et supplémenté de 0,5 % de vitamine E sous forme d'Acétate d' [α-tocophérol](#)).
- 1,800 ± 0,61 Kg pour les lapins du lot D (ayant consommé le régime Standard additionné de 10% d'huile de friture thermo oxydée et supplémenté de 1 % de vitamine E sous forme d'Acétate d' [α-tocophérol](#)
- 1,700 ± 0,56 kg pour les lapins du lot E (ayant consommé le régime Standard additionné de 10% d'huile de friture thermo oxydée et supplémenté de 1,5 % de vitamine E sous forme d'Acétate d' [α-tocophérol](#)

Après **6 semaines** de traitement (**J45**) on note :

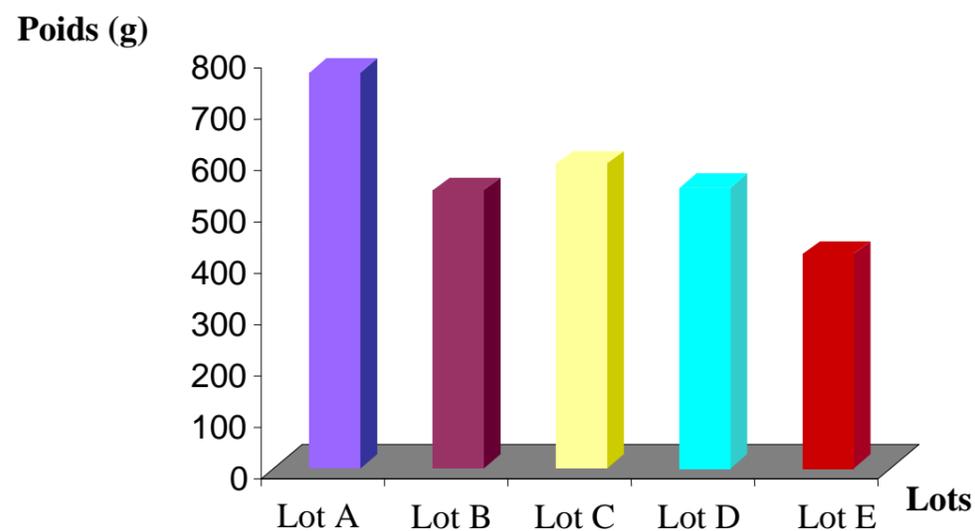
- Une différence significative ($P < 0.05$) de la prise de poids entre le lot A (Témoin) et le lot B (10% Hox) et entre le Lot A et le lot C (10% Hox +0,5% Vit E) mais pas entre le lot B et le Lot C .
- Une différence non significative ($p < 0.05$) est aussi notée entre le lot A (Témoin) et le lot D (10% Hox +1% Vit E) et entre le lot D et le lot E (10% Hox +1,5% Vit E)

La réduction de la croissance observée après ingestion d'une huile de tournesol oxydée résulterait d'une toxicité induite par la présence de dérivés oxygénés et d'un apport lipidique moindre du fait de la dégradation de l'acide linoléique au cours de l'oxydation de l'huile (**Vilas et al 1976, Lopez –Varela et al 1995**) mais aussi lors d'une carence en acides gras essentiels (**Raphael et al 1984**)

Par ailleurs, **Nielson et al. 1984** rapportent que la plupart des acides aminés réagissent avec les produits de dégradation primaires et secondaires des lipides oxydés ce qui diminue l'utilisation digestive des protéines, des acides aminés et des graisses induisant alors une baisse de la croissance.

I-2) Gain de poids**Tableau -20- Gain de poids moyen des différents lots expérimentaux entre J7 et J45****(Valeur Moyenne de 5 lapins par lot)**

GAIN DE POIDS (g)				
Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E
771	540	593	548	418

**Figure -27- gain de poids corporel des différents lots au cours de l'expérimentation**

A la fin de l'expérimentation, les résultats obtenus consignés dans le tableau 20 et la figure 27 nous révèlent un gain de poids conséquent chez les lapins du lot A (témoin ; régime standard + 10% HF) de 771g et chez les lapins du lot C (Hox 10% + 0,5% Vit E) de 593 g

Par contre on enregistre un retard de croissance chez les lapins du lot B (Hox 10%) de 30% par rapport au lot A et de 45,79% pour le lot E (Hox 10% + 1,5% vit E)

Selon **Lopez –Varela et al 1995** et **Sanchez –Muniz et al 1998**, le retard de croissance observé chez les animaux ayant ingéré de l'huile oxydée est attribué à plusieurs facteurs :

- la mauvaise odeur de l'huile oxydée qui diminuerait la prise alimentaire
- la diminution de l'apport en acides gras essentiels (18 :2 ω6 et 18 :3 ω3) suite à leur oxydation ainsi que la diminution de leur absorption intestinale ; or ces acides gras sont indispensables à la croissance.

- diminution de la disponibilité en acides aminés tels que la lysine et le Tryptophane considérés comme indispensables à la croissance ; **Henrik et al 1992** rapportent que la valeur biologique, la digestibilité ainsi que la disponibilité en acides aminés diminuent suite à la complexation des acides aminés avec les produits d'oxydation.

Les lapins du lot C enregistrent un gain de poids appréciable comparativement au lot B ceci serait probablement dû à l'effet positif de l'action de la vitamine E à la dose de 0,5%

Par contre, les lapins du lot E accusent un retard de croissance très net. Ces résultats laissent supposer une éventuelle reprise du phénomène oxydatif dont le catalyseur serait la Vitamine E à forte dose

Des études antérieures ayant porté sur l'ingestion d'huile oxydée (7%) mais carencée en vitamine E, n'ont pas rapporté de variations de poids corporel par rapport aux témoins après 8 semaines de traitement (**Vilas et al 1976**)

La déficience en vitamine E n'a aucun effet apparent sur le poids des lapins ni sur leur état physiologique avant 4 mois **Minakata et al 1987**

I-3 Indice hépatosomatique : IHS

Il est calculé sur la base du poids du foie prélevé en fin d'expérimentation au J45 (après le sacrifice)

Tableau -21-Poids moyen du foie des différents lots expérimentaux

POIDS DU FOIE (g)				
Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E
106,894	153,684	99,572	102,992	107,564

Tableau -22- Valeurs de l'indice hépatosomatique des différents lots expérimentaux

INDICE HEPATOSOMATIQUE : IHS %				
Lot A	Lot B	Lot C	Lot D	Lot E
4,33	5,56	4,65	4,48	5,22

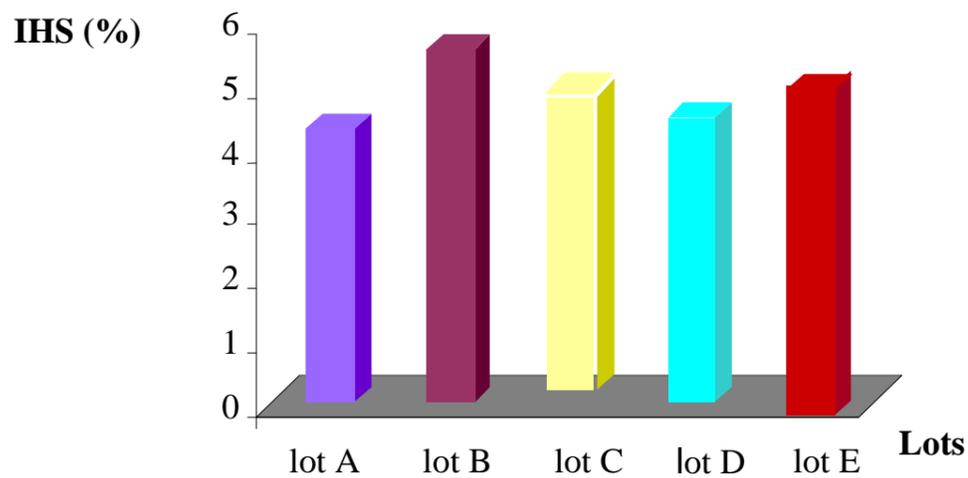


Figure -28- Variation de l'indice hépatosomatique en fonction des différents régimes alimentaires

Les indices hépatosomatiques (résultats consignés dans le tableau 21 et la figure 28) diffèrent de manière très significative entre les différents lots expérimentaux.

Cette différence est plus accentuée entre le lot A (4,33 %) et le lot B (5,56%), le lot A (4,33 %) et le lot E (5,22%) Nous notons une similitude entre l'IHS du lot B (5,56%), et celui du lot E (5,22%) Et des valeurs très proches pour les lots A (4,33 %) C (4,65%) et D (4,48%).

La valeur élevée de l'IHS des lapins issus des lots B et E témoigne d'une hypertrophie du foie ; comme par ailleurs ce phénomène est constaté par de nombreux auteurs (**Potteau et al 1971, Causeret 1982, Sanchez – Muniz et al 1998**).

Varela-Lopez et al 1995 ont observé une augmentation de la taille du foie chez des rats ayant consommé des régimes supplémentés à hauteur de 15% d'huile de tournesol thermooxydée par des fritures répétées pendant 27 jours ; Ce phénomène s'explique par une augmentation de la taille des hépatocytes qui s'enrichissent en vacuoles ; les dommages causés sont souvent irréversibles ce qui constituerait un risque potentiel pour l'organisme.

L'augmentation de l'indice Hépatosomatique chez le lot E témoignant d'une hypertrophie du foie pourrait s'expliquer soit par une progression des effets délétères de l'ingestion de l'huile thermo oxydée (innéficacité de la vitamine E à forte dose et son incapacité à freiner les phénomènes liés à l'oxydation) soit par une recrudescence de ces effets (effet pro oxydant de la vitamine E à forte dose) ;

Par contre les valeurs de l'indice Hépatosomatique du lot C (0,5% de vit E) et du lot D (1% de vit E) témoignent d'une efficacité plus ou moins correcte de la vitamine E.

II – Dosages biochimiques lipidiques sériques

III- 1 Dosage du Cholestérol sérique Total :

Tableau -23- Valeurs de la cholestérolémie au cours de l'expérimentation : g/l

	J0	J15	J ₃₀	J45
Lot A	3,68±0,09	3,88±0,29	4,30±0,59	4,20±0,11
Lot B	3,26±0,23	3,39±0,39	3,41±0,26	3,29±0,12
Lot C	3,31±0,19	3,42±0,41	3,65±0,37	3,60±0,11
Lot D	3,30±0,10	3,45±0,26	3,62±0,12	3,58±0,21
Lot E	3,17±0,03	3,28±0,10	3,42±0,05	3,31±0,06

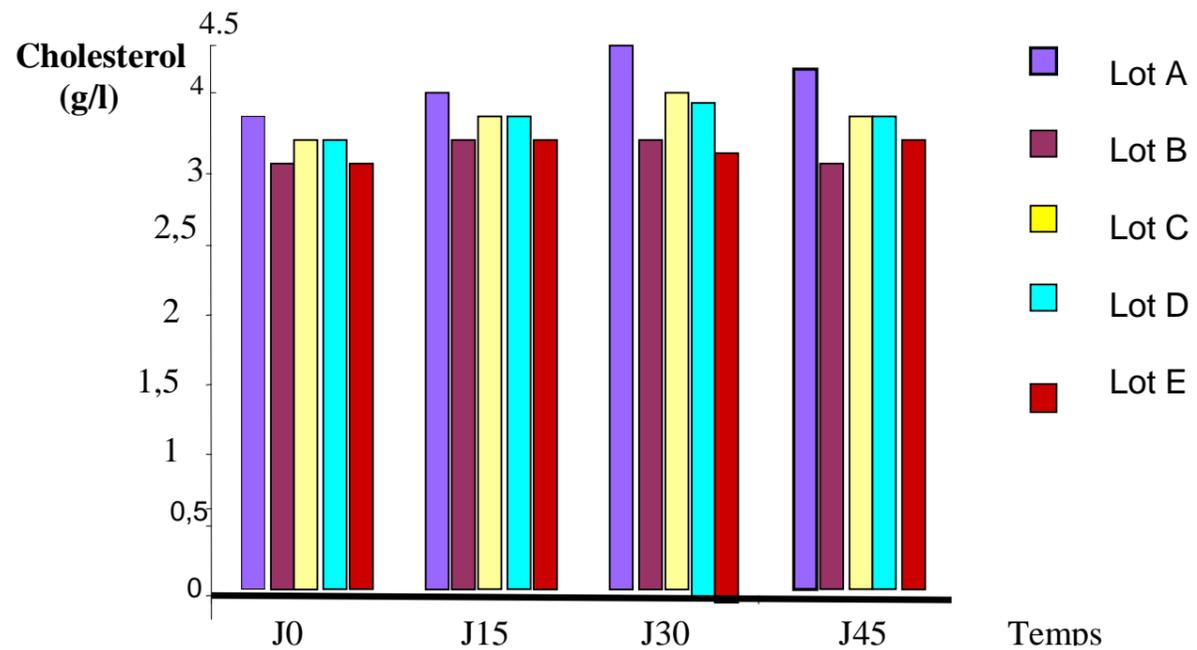


Figure -29- Variation de la cholestérolémie en fonction de la durée de l'expérimentation

D'après les résultats obtenus et consignés dans le tableau 23 figure 29 nous constatons :

Au J30, une différence significative ($p < 0.05$) entre les lots expérimentaux A ($4,30 \pm 0,59$ g/l) et B ($3,41 \pm 0,26$ g/l), et une différence non significative ($p < 0.05$) entre les lots B ($3,41 \pm 0,26$ g/l) et C ($3,65 \pm 0,37$ g/l). Une différence significative ($p < 0.05$) a aussi été observée entre les lots A ($4,30 \pm 0,59$) g/l et D ($3,62 \pm 0,12$) g/l, et entre les lots A ($4,30 \pm 0,59$) g/l et E ($3,42 \pm 0,05$ g/l) ($p < 0.05$). Mais, aucune différence significative ($p < 0.05$) n'a été observée entre le lot D ($3,62 \pm 0,12$ g/l) et le Lot C ($3,65 \pm 0,37$ g/l). Le même constat est à noter entre le Lot B ($3,41 \pm 0,26$ g/l) et le Lot E ($3,42 \pm 0,05$ g/l). (pas de différence significative $p < 0.05$)

Au J30, nous avons observé une augmentation de la cholestérolémie pour tous les lots par rapport au J15

Au J45, en fin d'expérimentation, nous avons aussi observé une similitude entre la cholestérolémie des animaux du lot B ($3,41 \pm 0,26$ g/l) et ceux du lot E ($3,42 \pm 0,05$ g/l) (pas de différence significative entre les 2 Lots $p < 0,05$)

Au J45 : diminution de la cholestérolémie pour tous les lots par rapport au J30.

Selon **Medirabbit 2004**, la valeur normale de la cholestérolémie du lapin adulte est d'environ 3,5 g/l (cf. annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte sevrés à 38 jours au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) nous constatons que les valeurs de la cholestérolémie enregistrées au J45 pour les Lots C($3,60 \pm 0,11$ g/l) et D($3,58 \pm 0,21$ g/l) sont très proches des normes (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0,05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée ; confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quant à la valeur de la cholestérolémie enregistrée au J45 pour le lot E ($3,42 \pm 0,05$ g/l) elle est légèrement éloignée des normes et proche de celle du lot B ($3,41 \pm 0,26$ g/l)(pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0,05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5% .

L'augmentation importante de la cholestérolémie du Lot A ($4,20 \pm 0,11$ g/l) par rapport à la norme citée par **Vaisser 1972** (3,5 g/l) est corrélée au régime alimentaire enrichi à raison de 10% d'huile fraîche.

Chiericato et Rizzi (1999) ont étudié l'évolution de la cholestérolémie chez le lapin entre 37 et 120 jour d'âge et on constaté que jusqu'au 60ème jour la cholestérolémie est stabilisée à environ 2 mmoles /litre puis du 60ème au 75 ème jour d'âge la concentration sérique en cholestérol aborde une diminution importante jusqu'à 1,5 mmoles /litre pour se stabiliser à cette valeur jusqu'au 105ème jour pour ensuite diminuer encore mais très légèrement.

Selon **Sanchez –Miuniz et al. 1996** , la diminution de la concentration en cholestérol lors de l'ingestion d'huile thermo oxydée serait due à une réduction de l'activité de la lécithine cholesterol acyl transférase (LCAT), elle même due à une réduction de la biosynthèse des VLDL au niveau hépatique

Cuesta et al 1988 constatent une baisse de la cholestérolémie après administration aux rats d'une huile d'olive utilisée en fritures

D'autre part **Holloway et Rivers 1981** expliquent que la baisse du cholestérol n'est le fait que de l'activation de la 7- α -Hydroxylase ; enzyme responsable de la transformation du cholestérol en acides biliaires qui est induite par la teneur en vitamine C .

III- 2 Dosage des triglycérides :

Tableau -24- Valeurs de la triglycéridémie au cours de l'expérimentation (g/l)

	J0	J15	J30	J45
Lot A	10,1±0,10	13,4±0,68	13,9±0,46	12,5±0,73
Lot B	9,8±0,12	8,2±0,04	6,9±0,10	5,2±0,33
Lot C	9,7±0,12	11,9±0,35	12,2±0,19	11,8±0,71
Lot D	10,2±0,13	12,4±0,15	12,8 ±0,11	11,6±0,18
Lot E	10,1±0,21	8,5±1,35	7,2±0,071	5,5±0,09

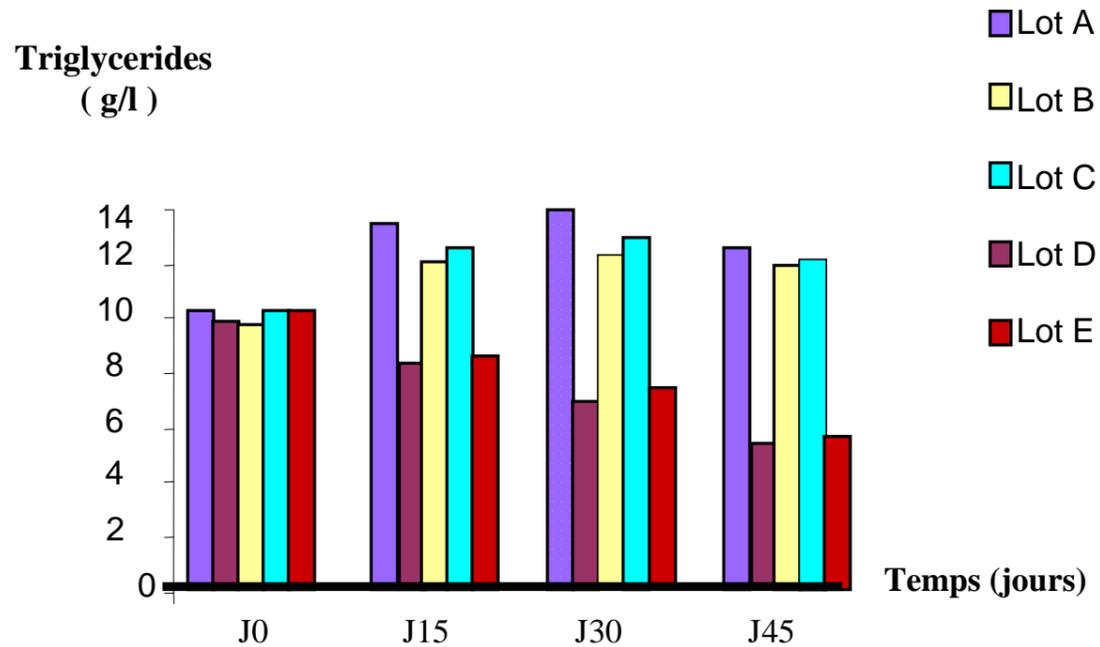


Figure -30- Variation de la triglycéridémie en fonction de la durée de l'expérimentation

Les résultats consignés dans le tableau 24 et la figure 30 révèlent ;

Au J 15 Des variations de concentrations entre les lots qui commencent à apparaître dès le J0 et se poursuivent jusqu'à la fin de l'expérimentation (j45) nous notons :

Au J 30, une augmentation de la concentration moyenne des triglycérides dans les lots A (13,9±0,46 g/l), C (12,2±0,19 g/l) et D (12,8 ±0,11 g/l) par rapport au J₁₅ respectivement, 13,4±0,68 g/l , (11,9±0,26) g/l) et (12,4±0,15 g/l) pour les lots A,C et D.

Au J30, on note une diminution de la triglycéridémie pour les lots B (de 8,2±0,04 g/l au J15 à 6,9±0,10 g/l au J30) et le lot E (de 8,5±1,35 g/l au J15 à 7,2 ± 0,07 g/l au J30) .

Au J 45, En fin d'expérimentation, nous notons une diminution pour les tous lots par rapport au J 30 diminution significative ($p < 0.05$) pour les lots B et E.

Une diminution progressive de la triglycéridémie du début à la fin de l'expérimentation pour les lots B (de $9,8 \pm 0,12$ g/l au J0 à $5,2 \pm 0,33$ g/l au J45) et le lot E (de $10,1 \pm 0,21$ g/l au J0 et $5,5 \pm 0,09$ g/l au J45); cette similitude conforte l'hypothèse de réaction semblable chez les 2 lots (Hypothèse d'une pro oxydation de la vitamine ajoutée à raison de 1,5% dans le lot E).

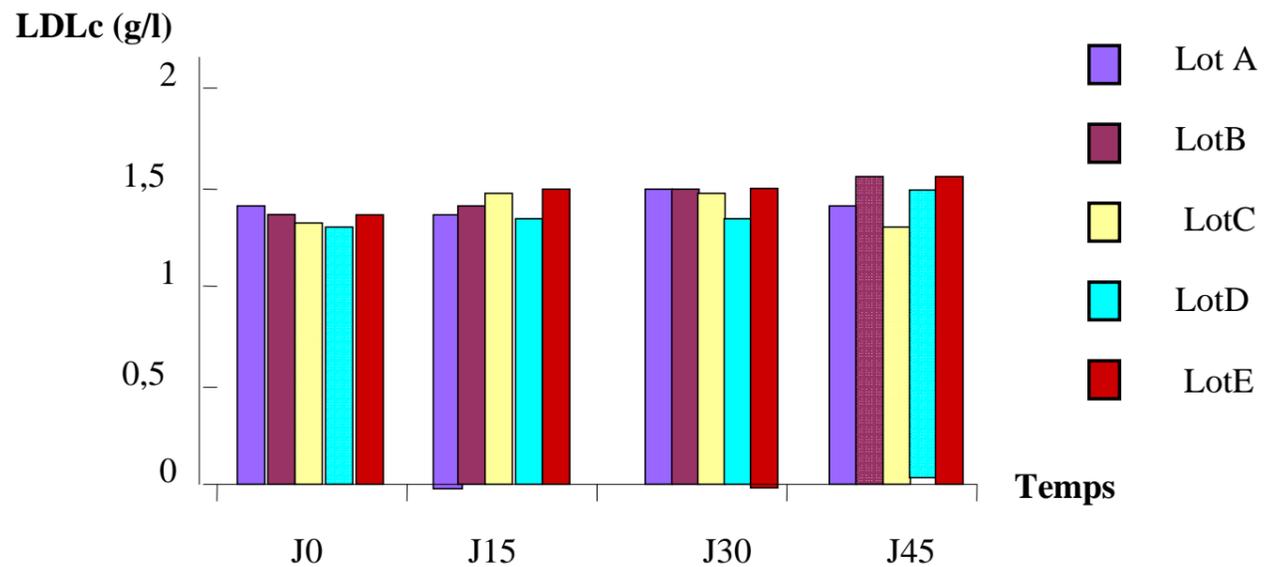
La baisse de la teneur en triglycérides a aussi été rapportée par **Blanc-Gondarmary et al. 1989** qui après administration pendant 4 semaines d'une huile de tournesol oxydée ont observé une diminution du taux des triglycérides par rapport aux témoins.

Par ailleurs **Liu et Lee 1998** ont obtenu après administration à un taux de 15% pendant 4 semaines d'huile de soja oxydée pendant 4 cycles de friture ayant une durée chacune de 6 heures à une température de 250°C une diminution de la teneur en triglycérides et en cholestérol. ; Selon **Medirabbit 2004** la valeur normale de la triglycéridémie du lapin adulte est d'environ 11,57 g/l (cf. annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte sevrés à 38 jours au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) nous constatons que les valeurs de la triglycéridémie enregistrées au J45 pour les Lots C($11,8 \pm 0,71$) g/l et D($11,6 \pm 0,18$) g/l sont très proches de la norme (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quand à la valeur de la triglycéridémie enregistrée au J45 pour le lot E ($5,5 \pm 0,09$ g/l) elle est bien éloignée de la valeur normale et proche de celle du lot B ($5,2 \pm 0,33$ g/l) (pas de différence significative entre les 2 Lots ($p < 0.05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5%

III-3) Dosage des Lipoprotéines sériques**III- 3-1) Dosage des LDLcholesterol****Tableau -25- Valeurs du LDLc au cours de l'expérimentation (g/l)**

	J0	J15	J30	J45
Lot A	1,41±0,14	1,38±0,28	1,48±0,2	1,40±0,14
Lot B	1,39±0,28	1,40±0,71	1,49±0,34	1,56±0,28
Lot C	1,32±0,23	1,46±0,38	1,47±0,59	1,29±0,06
Lot D	1,29±0,12	1,33±0,29	1,35±0,21	1,32±0,18
Lot E	1,39±0,21	1,49±1,35	1,52±0,071	1,55±0,09

**Figure -31- Variation des LDLc en fonction de la durée de l'expérimentation**

L'analyse des résultats consignés dans le tableau 25 figure 31 nous révèle

Au J0, des valeurs similaires des concentrations en LDLc ont été relevées avec une moyenne de $1,354 \pm 0,049$ g/l.

Au J30, les concentrations en LDLc accusent une élévation différente suivant les lots:

Lot A (temoin 10% HF) : de $1,38 \pm 0,28$ g/l au J15 à $1,48 \pm 0,2$ g/l au J30

Lot B (10% Hox) : de $1,40 \pm 0,71$ g/l au J15 à $1,49 \pm 0,34$ g/l au J30

Lot C (10%Hox +0,5% vit E) : de $1,46 \pm 0,38$ g/l au J15 à $1,47 \pm 0,59$ g/l au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) : de $1,33 \pm 0,29$ g/l au J15 à $1,35 \pm 0,21$ g/l au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) : de $1,49 \pm 1,35$ g/l au J15 à $1,52 \pm 0,071$ g/l au J30

Au J45, nous n'observons pas de différence significative ($P < 0.05$) entre les concentrations des lots B ($1,56 \pm 0,28$ g/l) et E ($1,55 \pm 0,09$ g/l) et entre les lots C ($1,29 \pm 0,06$ g/l) et D ($1,32 \pm 0,18$ g/l). Une différence significative ($P < 0.05$) existe entre le lot B et C et entre le Lot C et Lot E.

En fin d'expérimentation, les concentrations des lots B et E accusent une augmentation très importante par rapport aux autres lots.

Pour **Medirabbit 2004** la valeur de la concentration sérique des LDLc du lapin adulte est $\leq 1,3$ g/l (cf. annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte (sevrés à 38 jours, au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg). Nous constatons que les valeurs de la concentration en LDLc enregistrées au J45 pour les Lots C ($1,29 \pm 0,06$ g/l) et D ($1,32 \pm 0,18$ g/l) sont très proches de la norme (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0,05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1% ;

Quand à la valeur de la concentration en HDLc enregistrée au J45 pour le lot E ($1,55 \pm 0,09$ g/l) elle est bien éloignée de la valeur normale et proche de celle du lot B ($1,56 \pm 0,28$ g/l) (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0,05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5% ; Lors d'une étude menée par **Benakmoum 2002** sur des rats ayant ingéré de l'huile de tournesol oxydée à des doses de 5 et 10% associée ou non avec de la vitamine E le même phénomène a été signalé à la différence qu'il enregistre un rétablissement du taux des LDLc après 9 semaines de traitement. Une autre étude menée par **Bitam 2004** sur des rats a révélé des résultats parfaitement similaires aux nôtres.

La consommation de graisses de cuisson usées diminue la protection des LDLc contre l'oxydation ; A la suite d'un régime trop riche en cholestérol et/ou graisses -saturées, les LDLc ne sont plus normalement catabolisés par la voie normale des récepteurs des apolipoprotéines B/E (voie de Brown et Goldstein), ils séjournent plus longtemps dans le plasma puisque leur durée de demi-vie est augmentée. Ils sont alors modifiés, surtout oxydés par les radicaux libres, Une fois le LDLc suffisamment oxydé, celui-ci devient toxique pour les cellules endothéliales
(**Perret Fabre, Genoux, Malaval, Radojkovic, Tercé, Collet et Martinez 2007**)

Le rôle oxydo protecteur de la vitamine E vis-à-vis des LDLc a été abondamment étudié depuis la découverte du pouvoir pro-athérogène de la forme oxydée des LDLc (**Léger 2000**) Les LDLc enrichis en Vitamine E sont significativement plus difficiles à oxyder.

Cette oxydation des LDLc risque de se produire en cas d'abaissement des défenses antioxydantes – particulièrement s'il y a réduction du taux d'alpha tocophérol – ou alors lorsqu'il y a augmentation des produits de l'oxydation due à une recrudescence des phénomènes pro oxydants. (**Bélangier 2007**)

Plusieurs études ont montré qu'un supplément en vitamine E entraîne une augmentation des taux d'alpha tocophérol aussi bien dans le plasma que dans les particules de LDLc. Le niveau de résistance des LDLc est étroitement corrélé à la dose de vitamine reçue. . (**Bélangier 2007**)

Chez l'homme statistiquement une prise journalière de 200mg de vitamine E augmente de 80% la teneur plasmatique en vitamine E, de 60% la teneur des LDLc et d'environ 15% la résistance à l'oxydation. un apport de 50mg/j représente approximativement le seuil en deçà duquel la résistance à l'oxydation des LDLc n'est pas sensiblement augmentée alors que la teneur en vitamine E des LDLc est augmentée de 20% (**Léger 2000**) Pourtant **Princen et al 1992** ont fait état d'un effet sur l'oxydabilité des LDLc avec une supplémentation en acétate de alpha-tocophérol de 25mg/ j .

Des travaux récents permettent de compléter ces données ; au terme de la supplémentation effectuée de 182mg/j d'alpha tocophérol pendant 2 mois ; **Porkkala-Sarataho et al 1999**) observent une augmentation respectivement de 88 et 90% de la teneur en vitamine E plasmatique et de la somme VLDLc + LDLc et une augmentation de 34% de la protection contre l'oxydation.

Donc la corrélation entre Vitamine E et résistance à l'oxydation n'apparaît qu'en cas de supplémentation en vitamine E ; Le niveau d'apport en vitamine E est lié à la protection anti oxydante des LDLc, mais un effet de saturation des LDLc aux apports les plus élevés en vitamine E peut être observé puisque au-delà d'une supplémentation de 600 à 800mg/j la courbe d'enrichissement s'infléchit pour atteindre un plateau (**Léger 2000**) L'inhibition de la production de l'oxygène « célibataire » O_2^- (lors du phénomène d'oxydation) par la vitamine E est directement fonction de la teneur en vitamine E des LDL. En conclusion nous pouvons dire que les LDLc enrichis en vitamine E mais restant dans des teneurs compatibles avec des apports alimentaires en vitamine E renforcent la protection des LDLc contre l'oxydation.

III-3-2) Dosage des HDLc :

Tableau -26-Valeurs du HDLc au cours de l'expérimentation (g/l)

	J0	J15	J30	J45
Lot A	0,38 ±0,07	0.35±0,05	0.45±0,05	0.35±0,02
Lot B	0.10±0,06	0.11±0,20	0.20±0,07	0.27±0,02
Lot C	0.42±0,16	0.56±0,20	0.57±0,07	0.38±0,06
Lot D	0.33±0,02	0.37±0,05	0.39±0,04	0.36±0,18
Lot E	0.10±0,21	0.20±1,35	0.23±0,07	0.26±0,09

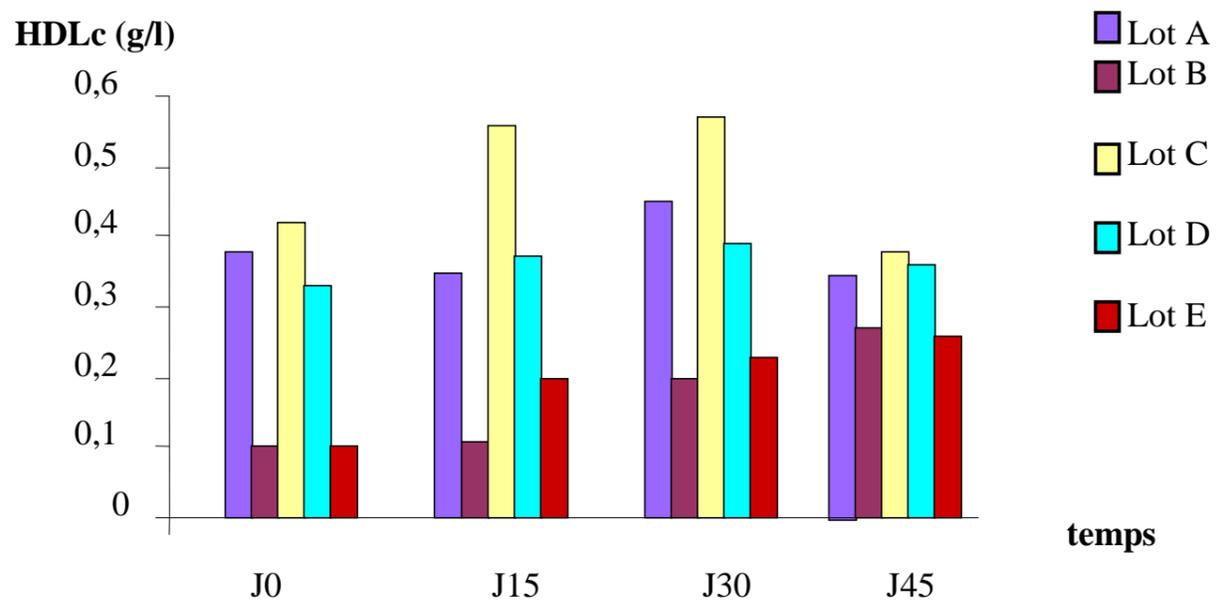


Figure -32-Variation des HDLc en fonction de la durée de l'expérimentation

Les résultats obtenus et consignés dans le tableau 26 et la figure 32 nous révèlent

Au J0 Les concentrations en HDLc sont relativement proches avec une moyenne de $0.266 \pm 0,154$.

Au J30 les concentrations en HDLc varient suivant les différents lots de façon notable

Lot A (témoin 10% HF) : augmentation de $0,35 \pm 0,05$ g/l au J15 à $0,45 \pm 0,05$ g/l au J30

Lot B (10% Hox) : augmentation de $0,11 \pm 0,20$ g/l au J15 à $0,20 \pm 0,07$ g/l au J30

Lot C (10%Hox +0,5% vit E) l augmentation de $0,56 \pm 0,20$ g/l au J15 à $0,57 \pm 0,07$ g/l au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) l augmentation de $0,37 \pm 0,05$ g/l au J15 à $0,39 \pm 0,04$ g/l au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) augmentation de $0,20 \pm 1,35$ g/l au J15 à $0,23 \pm 0,07$ g/l au J30

Au J45 nous observons une différence non significative ($p < 0.05$) entre les concentrations des lots B ($0,27 \pm 0,02$ g/l) et E ($0,26 \pm 0,09$ g/l) et entre les lots C ($0,38 \pm 0,06$ g/l) et D ($0,36 \pm 0,18$ g/l) et une différence significative ($p < 0.05$) entre les lot C ($0,38 \pm 0,02$ g/l) et B ($0,27 \pm 0,02$ g/l) et entre les lots C ($0,38 \pm 0,02$ g/l) et E ($0,26 \pm 0,09$ g/l).

Pour **Medirabbit 2004**, la valeur de la concentration sérique des HDLc du lapin adulte est >0.35 g/l (cf annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte sevrés à 38 jours, au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) Nous constatons que les valeurs de la concentration en HDLc enregistrées au J45 pour les Lots C ($0,38 \pm 0,06$ g/l) et D ($0,36 \pm 0,18$ g/l) sont très proches de la norme (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quant à la valeur de la concentration en HDLc enregistrée au J45 pour le lot E ($0,26 \pm 0,09$ g/l), elle est bien éloignée de la valeur normale et proche de celle du lot B ($0,27 \pm 0,02$) g/l (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5%

Il a été démontré que certaines composantes des HDL de même que des enzymes qui leur sont reliées ont un fort pouvoir antioxydant pouvant prévenir chacune des étapes de la formation des LDL oxydées. Parmi ces enzymes nous pouvons citer la CETP La *Cholesteryl Ester Transfer Protein* qui assure l'échange et le transfert des lipides neutres (esters de cholestérol et triglycérides) entre les lipoprotéines. Elle joue un rôle important en participant d'une part, au remaniement des lipoprotéines et, d'autre part, au retour du cholestérol des tissus périphériques vers la foie. pour certains auteurs, la CETP constitue un facteur anti-athérogène, en régénérant les pré HDL, accepteurs initiaux du cholestérol excédentaire **Perret Fabre, Genoux, Malaval, Radojkovic, Tercé, Collet et Martinez 2007**

Selon **Fruchart (2000)**, les hypertriglycéridémies induisent une diminution des HDL-c avec des altérations quantitatives et qualitatives.

III-3-3) Dosage des VLDLc

Tableau -27- Valeurs des VLDLc au cours de l'expérimentation (g/l)

	J0	J15	J30	J45
Lot A	1,89±0,15	2.15±0,07	2.37±0,09	2.45±0,05
Lot B	1.77±0,17	1.88±0,18	1.72±0,05	1.46±0,09
Lot C	1.57±0,16	1.40±0,22	1.61±0,01	1.73±0,09
Lot D	1.68±0,12	1.75±0,16	1.86±0,19	1.90±0,10
Lot E	1.68±0,19	1.59±0,09	1.67±0,14	1.50±0,08

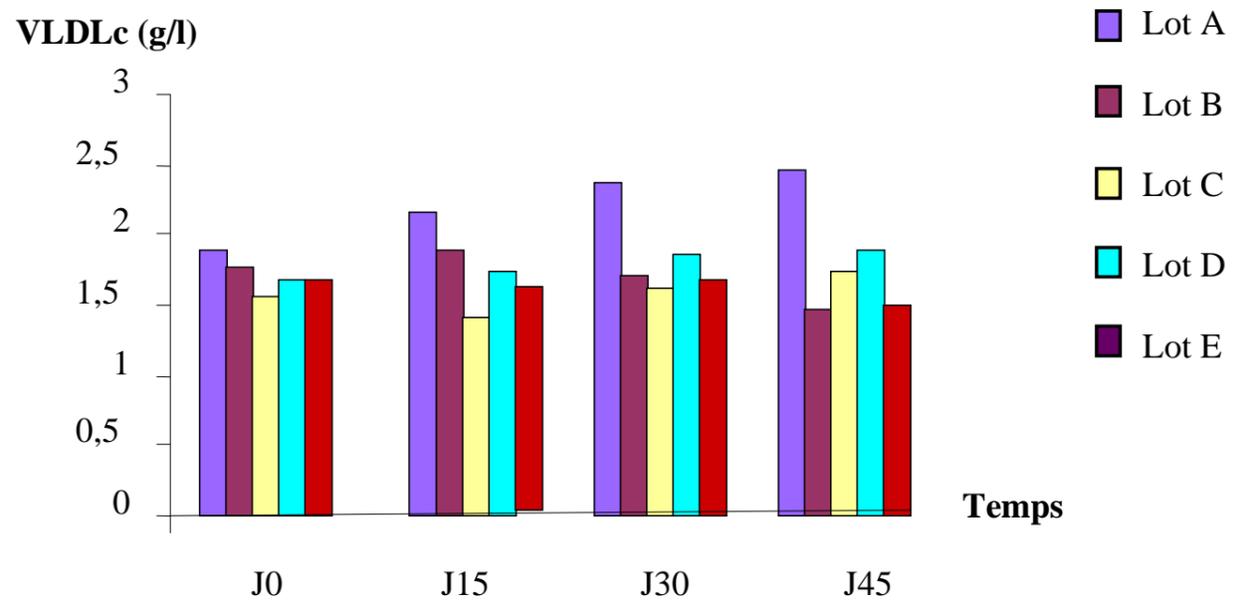


Figure -33-

Variation des VLDLc en fonction de la durée de l'expérimentation

L'analyse des résultats obtenus (tableau 27 figure 33) nous révèle :

Au J0 Les concentrations en VLDLc relativement proches avec une moyenne de $1.718 \pm 0,119$ g/l;

Au J30 les concentrations en VLDLc varient suivant les différents lots de façon notable

Lot A (témoin 10% HF) : augmentation de $2,15 \pm 0,07$ g/l au J15 à $2,37 \pm 0,059$ g/l au J30

Lot B (10% Hox) : diminution de $1,88 \pm 0,18$ /l au J15 à $1,72 \pm 0,05$ g/l au J30

Lot C (10%Hox +0,5% vit E) augmentation de $1,40 \pm 0,22$ g/l au J15 à $1,61 \pm 0,01$ g/l au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) augmentation de $1,75 \pm 0,16$ g/l au J15 à $1,86 \pm 0,19$ g/l au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) augmentation de $1,59 \pm 0,09$ g/l au J15 à $1,67 \pm 0,014$ g/l au J30

Au J45 nous n’observons pas de différence significative ($p < 0.05$) entre les concentrations des lots B ($1.46 \pm 0,09$ g/l) et E ($1.50 \pm 0,08$ g/l).

Mais, il existe une différence significative ($p < 0.05$) entre les lot A ($2,45 \pm 0,05$ g/l) et B ($1.46 \pm 0,09$ g/l) et entre le lot A ($2,45 \pm 0,05$ g/l) et E ($1.50 \pm 0,08$ g/l) .

En fin d’expérimentation (J 45) les concentrations accusent une diminution par rapport au J0 pour les lots B et E et une augmentation par rapport au J0 pour les lots C et D ainsi qu’une augmentation relativement importante pour le lot A au J45 par rapport au J0;

La synthèse des VLDL-c est réalisée de façon continue par les cellules hépatiques permettant la sécrétion permanente des triglycérides de synthèse endogène ; naturellement cette synthèse augmente considérablement après les repas pour revenir à un état basal à jeun. (**Léoni .2001**)

En période post prandiale le métabolisme des lipides d’origine alimentaire –donc les chylomicrons – monopolise l’essentiel de l’activité de lipoprotéine Lipase (LPL) au détriment du métabolisme des VLDL dont le temps de séjour dans le plasma s’allonge (**Léoni .2001**)

(**Bruckert., 1994**), note que l’augmentation des VLDL-c résulte le plus souvent d’une association d’un défaut de catabolisme et d’une hyper synthèse hépatique.

Blanc-Gondarmy et al. 1989 après administration pendant 4 semaines d’une huile de tournesol oxydée ont émis l’hypothèse que l’ingestion de ce type d’huile peut causer une réduction des VLDL consécutive probablement à une inhibition de la formation des différents constituants ; triglycérides, phospholipides etc ... soit à un défaut de sécrétion de VLDL par l’hépatocyte ;

III-4) calcul de l'indice d'athérogénicité

Tableau -30-

Valeurs de l'indice d'athérogénicité au cours de l'expérimentation

	J0	J15	J30	J45
Lot A	3.7±0,11	3.9±0,16	3.2±0,12	4±0,20
Lot B	13.9±0,17	12±0,45	7.45±0,20	6.2±0,15
Lot C	3.1±0,19	2.6±0,29	2.5±0,33	3.3±0,06
Lot D	3.9±0,07	3.6±0,17	4.5±0,12	3.6±0,18
Lot E	13.6±0,21	7.45±1,35	6.6±0,07	5.9 ±0,09

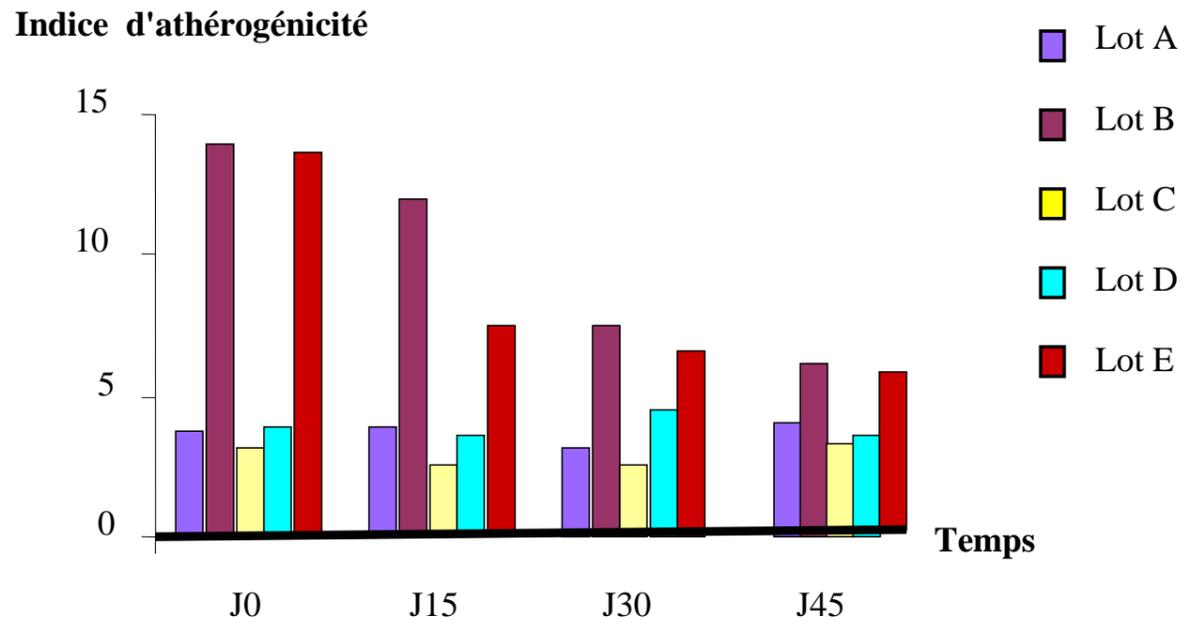


Figure -34-Variation de l'indice d'athérogénicité en fonction de la durée de l'expérimentation

Au J30 l'indice d'athérogénicité varie suivant les différents lots de façon notable

Lot A (témoin 10% HF) : Légère diminution de 3.9±0,16 au J15 à 3.2±0,12 au J30

Lot B (10% Hox) diminution importante de 12±0,45 au J15 à 7.45±0,20 au J30

Lot C (10%Hox +0,5% vit E) stabilisation de l'indice de 2.6±0,23 au J15 et 2.5±0,13 au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) augmentation de 3.6±0,17 au J15 à 4.5±0,12 au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) diminution de 7.45±1,35 au J15 à 6.6±0,07 au J30

Au J45 nous n'observons pas de différence significative ($p < 0.05$) entre l'indice d'athérogénicité du lot B ($6.2 \pm 0,15$) et celui du lot E ($5.9 \pm 0,09$) et entre l'indice du lot D ($3.6 \pm 0,18$) et celui du lot C ($3.3 \pm 0,06$); mais une différence significative ($p < 0.05$) des indices est à noter entre les lots C ($3.3 \pm 0,06$) et B ($6.2 \pm 0,15$) et entre les lots C ($3.3 \pm 0,06$) et E. ($5.9 \pm 0,09$)

Pour **Medirabbit 2004** la valeur du rapport LDLc/HDLc (indice d'athérogénicité) du lapin adulte doit être < 3.5 (cf. annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte sevrés à 38 jours, au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) nous constatons que les valeurs de l'indice d'athérogénicité enregistrées au J45 pour les Lots C ($3.3 \pm 0,06$) et D ($3.6 \pm 0,18$) sont très proches de la valeur normale (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quand à la valeur de l'indice d'athérogénicité enregistrée au J45 pour le lot E ($5.9 \pm 0,09$) est éloignée de la valeur normale mais proche de celle du lot B ($6.2 \pm 0,15$) (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5%

Le rôle crucial de l'hypercholestérolémie dans le développement de l'athérosclérose, particulièrement coronarienne, a été établi par des études épidémiologiques et des études de régression.

Les études *épidémiologiques* tout d'abord montrent que le risque de mortalité par cardiopathie ischémique s'élève parallèlement à l'élévation de la cholestérolémie.

Les études de *régression* montrent que la réduction de la cholestérolémie ralentit la progression et induit même la régression des plaques d'athérome visualisées par angiographie coronarienne et par la réduction des accidents coronariens et la genèse de l'athérosclérose lors d'administration de traitements hypocholestérolémiants **Thissen 1999**

C'est en fait la fraction de cholestérol présente dans la circulation sanguine sous la forme de LDL-c qui exerce une action athérogène. Ce sont surtout les LDL-c oxydées qui semblent faire preuve d'un pouvoir athérogène élevé.

Contrairement au LDL-c, des taux élevés de HDL-c sont associés à une réduction de mortalité cardio-vasculaire

Le rapport entre le LDL-C et le HDL-C -indice d'athérogénicité- représente un excellent facteur prédictif de risque cardio-vasculaire.

En effet, l'élévation de ce rapport LDL-C/ HDL-C (> 4 chez l'homme) fera suspecter, outre l'élévation du LDL-C et l'abaissement du HDL-C une augmentation du risque athérogène au prorata de cette élévation.

Une augmentation de 1% du HDL est associée à une réduction de 3% du risque vasculaire. **Thissen 1999**

La friture provoque une hydrogénation de l'huile et donc une production accrue d'acides gras trans AGT, De façon générale, le profil en AGT des lipides plasmatiques présente de fortes similitudes avec celui de l'alimentation. En effet, la comparaison de la composition en AGT des lipides plasmatiques avec celle des lipides du tissu adipeux (qui reflète la composition en AGT de l'alimentation) montre que, dans le tissu adipeux comme dans le plasma, ce sont les isomères 18:1*trans* qui prédominent.

Les AGT se comportent vis-à-vis du taux de cholestérol circulant de la même façon que les AGS (acides gras saturés), à savoir que, en fonction de leur apport alimentaire donc de leur taux plasmatique, ils entraînent une augmentation du taux de LDL-c, considérées comme néfastes et à diminuer les HDL considérées comme bénéfiques favorisant ainsi le risque d'athérosclérose. Boue, Combe, Entressangles, 2000

III-5) Calcul des lipides totaux sériques

Tableau -29-Valeurs des lipides totaux sériques au cours de l'expérimentation (g/l)

	J0	J15	J30	J45
Lot A	19,7±0,15	23.1±0,07	28.65±0,09	23±0,05
Lot B	17.95±0,17	16.67±0,18	15.42±0,05	13.32±0,09
Lot C	17.97±0,16	20.45±0,22	21.32±0,01	20.8±0,09
Lot D	18.45±0,12	21.02±0,16	21.85±0,19	20.55±0,10
Lot E	18.02±0,19	16.17±0,09	15.75±0,14	13.77±0,08

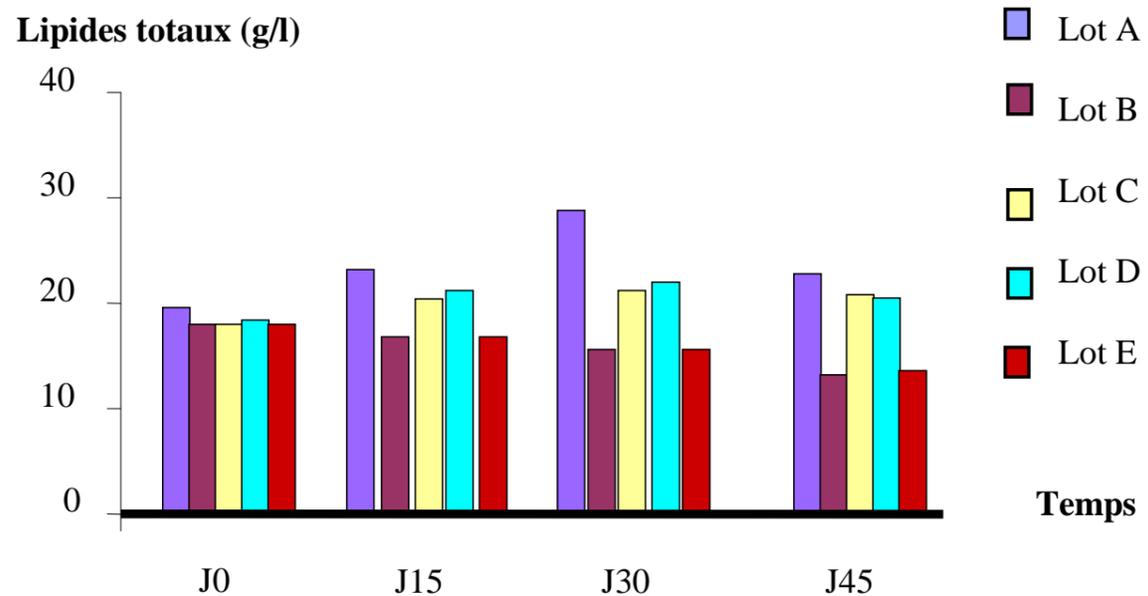


Figure -35-Variation des lipides totaux en fonction de la durée de l'expérimentation

L'analyse des résultats obtenus et consignés dans le tableau 28 figure 35 nous révèlent

Au J0 Les concentrations en lipides totaux sont à peu près au même niveau pour tous les lots avec une moyenne de 18,41±0,74 g/l

Au J30 les concentrations en lipides totaux varient suivant les différents lots de façon notable

Lot A (témoin 10% HF) : augmentation de 23,01±0,07 g/l au J15 à 28,65±0,09g/l au J30

Lot B (10% Hox) augmentation de 16,67± 0,18 g /l au J15 à 15,42±0,05 g/l au J30

Lot C(10%Hox +0,5% vit E) augmentation de 20,45±0,22g/l au J15 à 21,32±0,01g/l au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) augmentation de 21,02±0,16g/l au J15 à 21,85±0,19g/l au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) diminution de 16,17±0,09g/l au J15 à 15,75±0,014g/l au J30

Au J45 En fin d'expérimentation (J 45) par rapport au J0 nous notons une :

- une augmentation pour les lots A (de $19,7 \pm 0,15$ g/l au J0 à $23 \pm 0,05$ g/l au J45) le lot C (de $17,97 \pm 0,16$ g/l au J0 à $20,8 \pm 0,09$ g/l au J45) ainsi que pour le lot D (de $18,45 \pm 0,12$ g/l au J0 à $20,55 \pm 0,10$ g/l au J45)

- une diminution pour les lots B (de $17,95 \pm 0,17$ g/l au J0 à $13,32 \pm 0,09$ g/l au J45) et pour le Lot E (de $18,02 \pm 0,19$ g/l au J0 à $13,77 \pm 0,08$ g/l au J45)

Nous ne notons pas de différence significative ($p < 0.05$) entre la concentration en lipides du lot B ($13,32 \pm 0,09$ g/l) et celle du lot E ($13,77 \pm 0,08$ g/l) mais une différence significative entre le lot C ($20,08 \pm 0,09$ g/l) et le lot B ($13,32 \pm 0,09$ g/l) et entre le lot C ($20,08 \pm 0,09$ g/l) et le lot E ($13,77 \pm 0,08$ g/l).

Pour **Medirabbit 2004** la valeur de la concentration sérique des lipides totaux du lapin adulte est comprise entre 15 et 40 g/l (cf annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'âge adulte sevrés à 38 jours, au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) nous constatons que les valeurs de la concentration en lipides totaux enregistrées au J45 pour les Lots C ($20,8 \pm 0,09$) g/l et D ($20,55 \pm 0,10$) g/l sont comprises dans l'intervalle des valeurs normales (pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0.05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quand à la valeur de la concentration en lipides totaux enregistrée au J45 pour le lot E ($13,77 \pm 0,08$ g/l) est située en dessous de la limite inférieure des valeurs normales mais très proche de celle du lot B ($13,32 \pm 0,09$) g/l (pas de différence significative entre les 2 lots ($p < 0.05$)) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5%

III-6) dosage des protéines totales sériques

Tableau -30-Valeurs des protéines totales sériques au cours de l'expérimentation (g/l)

	J0	J15	J30	J45
Lot A	56±0,12	41,4±0,27	45,4±0,16	52,2±0,26
Lot B	56,8±0,14	39,2±0,23	41,8±0,13	46,6±0,27
Lot C	57,6±0,11	42±0,23	44,6±0,13	52,01±0,28
Lot D	55,4±0,16	43,8±0,20	44,8±0,20	53,4±0,55
Lot E	56,6±0,28	40,1±0,14	41,2±0,23	47,2±0,50

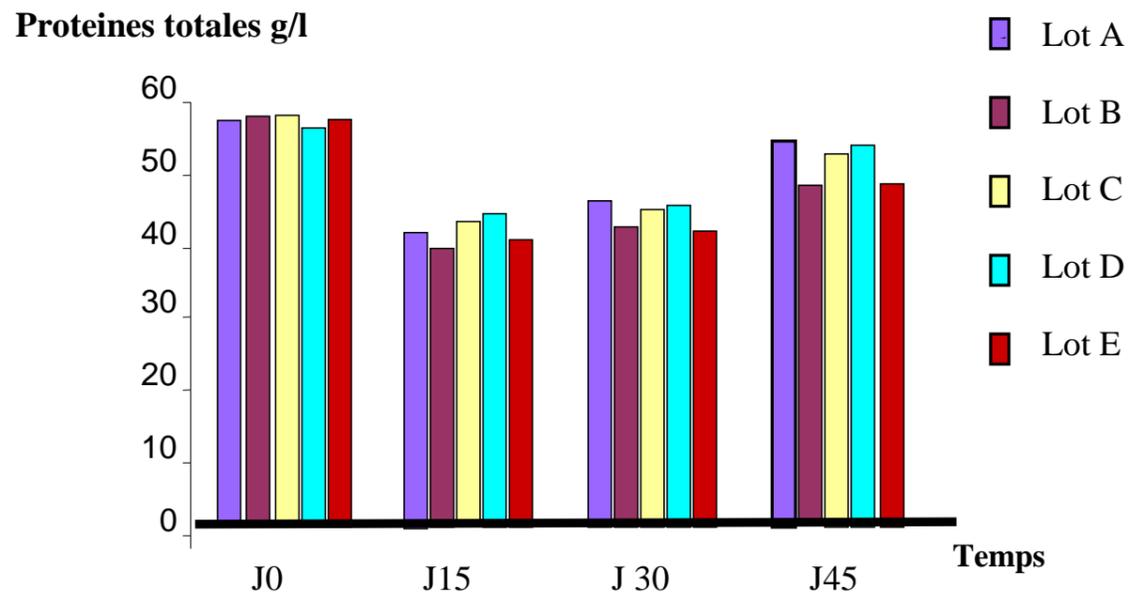


Figure -36-

Variation des protéines totales en fonction de la durée de l'expérimentation

L'analyse des résultats obtenus et consignés dans le tableau 29 figure 36 nous révèle

Au J0 Les concentrations en protéines totales sont à peu près au même niveau avec une moyenne de $56,48 \pm 0,083$ g/l

Au J30 les concentrations en protéines totales varient suivant les différents lots de façon notable

Lot A (témoin 10% HF) : augmentation de $41,4 \pm 0,27$ g/l au J15 à $45,4 \pm 0,16$ g/l au J30

Lot B (10% Hox) augmentation de $39,2 \pm 0,23$ /l au J15 à $41,8 \pm 0,13$ g/l au J30

Lot C (10%Hox +0,5% vit E) augmentation de $42 \pm 0,23$ g/l au J15 à $44,6 \pm 0,13$ g/l au J30

Lot D (10%Hox +1% vit E) augmentation de $43,8 \pm 0,20$ g/l au J15 à $44,8 \pm 0,20$ g/l au J30

Lot E (10%Hox +1,5% vit E) augmentation de $40,1 \pm 0,14$ g/l au J15 à $41,2 \pm 0,023$ g/l au J30

Au J45 En fin d'expérimentation (J 45) les concentrations accusent une diminution par rapport au J0 pour tous les lots avec une régression plus importante pour les lots B (de $56,8 \pm 0,14$ g/l au J0 à $48,6 \pm 0,27$ g/l au J45) et le lot E (de $56,6 \pm 0,28$ g/l au J0 à $48,2 \pm 0,50$ g/l au J45) ; nous n'observons pas de différence significative ($p < 0,05$) entre les concentrations des lots B ($48,6 \pm 0,27$ g/l) et E($48,2 \pm 0,50$ g/l) et entre les lots A ($52,2 \pm 0,26$ g/l) et C ($52 \pm 0,28$ g/l) mais une différence significative ($p < 0,05$) entre les lot A ($52,2 \pm 0,26$ g/l) et B($48,6 \pm 0,27$ g/l) et entre le lot A($52,2 \pm 0,26$ g/l) et E($48,2 \pm 0,50$ g/l) . Mais nous notons une baisse de la concentration en protéines totales au J45 par rapport au J30 pour tous les lots.

Pour **Medirabbit 2004** la valeur de la concentration sérique des protéines totales du lapin adulte est comprise entre 50 et 75 g/l (cf annexe 1) et si nous considérons qu'au J 45 nos animaux ont atteint l'age adulte sevrés à 38 jours, au J45 ils sont âgés d'environ 83 jours avec un poids moyen de $2,332 \pm 0,296$ kg) nous constatons que les valeurs de la concentration sérique en protéines totales enregistrées au J45 pour les Lots C($52,01 \pm 0,28$) g/l et D($53,4 \pm 0,55$) g/l sont très proches de la valeur normale(pas de différence significative entre les 2 lots $p < 0,05$) prouvant ainsi une absence des effets délétères de l'huile oxydée ingérée confirmant donc l'effet correcteur de la Vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 0,5% et 1%

Quand à la valeur de la concentration sérique en protéines totales enregistrée au J45 pour le lot E ($47,2 \pm 0,50$) g/l elle est éloignée de la valeur normale mais proche de celle du lot B ($46,6 \pm 0,27$) g/l (pas de différence significative pour les 2 lots $p < 0,05$) ce qui confirme une réinstallation des effets délétères dus à l'oxydation et donc conforte l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E ajoutée au régime alimentaire à raison de 1,5%

Environ une centaine de protéines sont présentes dans le plasma, la plupart sont fabriquées par le foie elles interviennent dans le transport de différentes substances dans le sang dont les lipides (acides gras) ; Leur dosage est utilisé pour diverses raisons entre autres l'état nutritionnel et le fonctionnement du foie

La dysprotéinémie est la perturbation quantitative des protéines plasmatiques, soit augmentation soit diminution des concentrations plasmatiques des protéines ou de groupes protéiques ;

Les variations quantitatives des protéines plasmatiques apportent des informations précieuses sur les organes qui les synthétisent ; le foie pour les protéines de mobilité plus rapides que les gamma globulines et les tissus lymphoïdes pour les protéines de l'immunité **Maurice-Estépa L, Vassault A, Bienvenu J (1986)**

Les hypo protéinémies sont dues soit à une carence d'apport en protéines (mal nutrition ou dénutrition), soit à un défaut de synthèse lors d'une insuffisance hépatique sévère, soit à une fuite anormale des protéines au niveau cutané, tissulaire ou rénal. Ces fuites sont le signe d'une insuffisance hépatocellulaire consécutive soit d'une cirrhose du foie, ou d'une hépatite aigue.

Les hyper protéinémies sont dues à des phénomènes d'hémoconcentration (ex en cas de diarrhées ou de vomissements) et surtout à des hypergammaglobulinémies (myélomes).

L'albumine plasmatique est la protéine la plus abondante dans le plasma et sa synthèse est exclusivement hépatocytaire (il n'existe pas de réserve d'albumine).

Même si elle est en plus grande quantité dans les liquides interstitiels, sa concentration est supérieure dans le plasma car le volume des liquides interstitiels est bien supérieur à celui du plasma. **Emile (2002)**

L'albumine constitue une réserve d'acides aminés, c'est pour cela que son catabolisme est dépendant des besoins en acides aminés de l'organisme (le catabolisme s'accélère quand les acides aminés manquent et sa synthèse est ralentie).**Emile (2002)**

CONCLUSION GENERALE

Notre conclusion portera sur 2 parties :

Dans la première partie nous avons analysé les résultats obtenus au niveau de l'huile de tournesol après son exposition à 20 cycles de friture ;

Nous avons observé :

Des modifications physiques et organoleptiques :

- une modification de la couleur qui s'intensifie tout au long des cycles de friture qui est due à une dégradation des pigments notamment les caroténoïdes sous l'influence de la température et qui signe une altération de l'huile
- une diminution de la fluidité qui s'explique par la formation de produits d'oxydation non volatils de haut poids moléculaire qui accroissent la consistance des huiles chauffées. Signant ainsi une thermo oxydation de l'huile
- une formation de mousse liée à l'apparition de glycérides polaires dont la présence confirme l'altération de l'huile.
- le développement d'une odeur rance provoquée par la réaction de l'oxygène avec les lipides insaturés signe d'une dégradation (rancissement de l'huile)

Des modifications des indices physicochimiques

- Variation de l'acidité une augmentation régulière de l'acidité au cours des cycles de friture a été observée, probablement due à une dégradation hydrolytique des triglycérides de l'huile et une libération des acides gras occasionnée au cours du procédé de friture (température élevée et présence d'eau dans les aliments). Ce paramètre a donc une influence significative sur la détermination de l'altération oxydative de l'huile ; sa valeur dans nos échantillons concorde avec une dégradation de l'huile.
- une fluctuation de l'indice de peroxyde qui nous renseigne sur l'état d'oxydation de l'huile par la présence de produits de l'oxydation, il aborde en premier lieu une phase ascendante (qui correspond au développement des produits primaires de l'oxydation notamment les hydroperoxydes) puis une phase descendante (qui correspond à la disparition des produits primaires et à l'apparition des produits secondaires de l'oxydation qui sont volatils) donc présence d'un processus oxydatif
- une diminution régulière de l'indice d'iode du 2ème au 20ème cycles de friture Les AGI peut être l'objet des réactions d'addition et ainsi fixer de nouveaux corps.

La quantité d'iode captée par l'huile permet de connaître la proportion d'AGI qu'elle contient ; la valeur élevée de l'indice d'iode de l'huile de tournesol indique sa richesse en AGI (acide linoléique). l'indice d'iode de notre témoin (huile fraîche) étant de 128,02 il est estimé à 98,5 au 20ème cycle de friture ce qui nous renseigne sur la disparition progressive des acides gras insaturés à la faveur des acides gras saturés qui sont les acides gras trans (aussi appelés TFA, "Trans Fatty Acids") Des études ont montré que les TFA entraînent une augmentation du taux de "mauvais" cholestérol (LDL) et une diminution du taux de "bon" cholestérol (HDL) dans le sang. Cette cinétique de l'indice d'iode confirme l'altération de l'huile

- variation de la densité ; La densité des huiles est fonction non seulement de l'insaturation mais aussi de l'état d'oxydation ou de polymérisation

La densité de l'huile des nos échantillons augmente de façon régulière au cours des cycles de friture pour atteindre une valeur maximale au 20ème cycle de friture Cette densité élevée indique la présence d'un plus grand nombre de composés primaires et secondaires de l'altération oxydative de ces échantillons d'huile, comparés aux autres échantillons.

- Variation de l'indice de réfraction : l'indice de réfraction augmente proportionnellement avec le nombre de fritures ; Cette évolution serait due à la formation de composés de haut poids moléculaire (polymères) qui sont des produits de la peroxydation de l'huile

- dosage des produits primaires et secondaires : l'évolution des 2 sortes de produits se fait en sens inverse : diminution des produits primaires et augmentation des produits secondaires. Au 20 ème cycle de friture, la concentration des produits secondaires est à son maximum alors qu'il ne reste que des traces des produits primaires. La mesure des produits de l'oxydation est utilisée comme indice pour l'évaluation des peroxydations lipidiques

A la lumière des résultats obtenus nous pouvons conclure que la friture est un traitement thermique qui provoque des altérations oxydatives de l'huile avec apparition de composés chimiques indésirables potentiellement toxiques.

La dangerosité potentielle des huiles est essentiellement liée à leur dégradation suite à leur exposition à des températures élevées pendant un temps plus ou moins long (ex utilisation du même bain d'huile pour des fritures profondes d'aliments répétées sur plusieurs cycles)

Dans la deuxième partie : nous nous sommes intéressés aux effets d'un régime alimentaire additionné de 10% d'huile thermooxydée (lot B), d'un régime alimentaire additionné de 10% d'huile thermooxydée et de 0,5% de vitamine E, d'un régime alimentaire additionné de 10% d'huile thermooxydée et de 1% de vitamine E et d'un régime alimentaire additionné de 10% d'huile thermooxydée et de 1,5% de vitamine E, sur des paramètres structuraux et sanguins et nous avons établie une comparaison avec les normes citées dans la littérature

Au niveau du poids corporel ; l'ingestion d'huile thermo oxydée provoque un retard de croissance assez important , la supplémentation en Vitamine E à 0.5% réduit de façon assez notable ce retard , et la supplémentation en Vitamine E à 1.5% maintient ce retard de croissance

Au niveau de l'indice Hépatosomatique IHS ; une augmentation de l'IHS est notée lors d'ingestion d'huile thermo oxydée (signant une hépatomégalie induite par une toxicité des produits de l'oxydation) cette augmentation est maintenue lors d'adjonction de Vitamine E à raison de 1,5% et elle est inexistante lors d'adjonction de Vitamine E à raison de 0.5%

Au niveau des paramètres lipidiques sériques ; toutes les valeurs des paramètres sanguins enregistrées chez les animaux des lots ayant ingéré de l'huile thermo oxydée seule ou supplémentée de 1.5% de vitamine sont très éloignées des valeurs normales cités dans la littérature et proches des valeurs notées lors d'une lipopéroxydation ou d'un stress oxydatif. Et le paramètre le plus significatif est l'augmentation consécutive de l'indice d'athérogénicité

(LDLc / HDLc) ce qui démontre le risque accru de maladie cardiovasculaire (athérosclérose)

Pour les valeurs des paramètres sanguins enregistrées chez les animaux des lots ayant ingéré de l'huile thermo oxydée additionnée de 0.5% de vitamine E et de 1% de vitamine E , celles-ci sont très proches des normes citées dans la littérature et notamment la valeur très basse de l'indice d'athérogénicité qui démontre les effets préventifs et curatifs de la vitamine E à des doses se rapprochant des doses normales recommandées dans les maladies cardiovasculaires et plus précisément l'athérosclérose

A la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que :

- l'ingestion d'huile de friture thermooxydée a des répercussion néfastes sur la santé .
- l'adjonction de la vitamine E dans un régime alimentaire à des doses se rapprochant des doses recommandées à un effet correcteur sur les effets délétères induits par l'ingestion de cette huile ; cette vitamine pourrait réduire la sensibilité à l'oxydation et assurer un supplément de protection contre le stress oxydatif (Effet anti oxydant).

La vitamine E inhiberait l'oxydation des LDL et réduirait le risque d'athérosclérose. Donc à ces doses elle aurait un effet bénéfique sur la santé.

- la vitamine E utilisée à fortes doses , provoque le maintient voir même la recrudescence des manifestations délétères de la lipopéroxydation ; ce qui conforterait l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E qui à été rapporté par certains auteurs.

Contrairement aux apports nutritionnels qui semblent avoir un effet protecteur au niveau cellulaire, de fortes doses d'antioxydants pourraient avoir des effets délétères sur les mécanismes de défense cellulaire, favorisant dans diverses circonstances, le développement de processus cellulaires aboutissant à des pathologies telles que le cancer. (**Hercberg 2003**) il a également été démontré que des fortes doses d'antioxydants pouvaient avoir un effet pro oxydant et entraîner des actions délétères .

En piégeant les radicaux libres, les antioxydants entraînent la formation de nouveaux radicaux réactifs. Aujourd'hui, de nombreux arguments supportent l'hypothèse d'une efficacité de la combinaison équilibrée de plusieurs antioxydants. En effet, il existe des interrelations métaboliques entre les différents nutriments antioxydants, avec des effets complémentaires et synergiques pour certains d'entre eux. Ainsi l'alpha-tocophérol et l'acide ascorbique inhibent de façon synergique l'oxydation des LDL : La supplémentation de sujets avec de la vitamine C seule diminue l'oxydation in vitro des LDL de 15 %. Avec de la vitamine E seule, cette réduction de l'oxydation est de 50 %. Elle est de 78 % lorsqu'une combinaison de ces deux vitamines est utilisée. (**Hercberg 2003**)

De plus la vitamine E après son action anti oxydante devient elle même radicalaire (pro oxydante) cette fonction est abolie en présence de Vitamine C qui a pour rôle de régénérer la vitamine E pour qu'elle reprenne sa fonction anti oxydante ;

Tous ces arguments, associés à nos résultats confirment l'effet correcteur de la vitamine E à des doses proches des doses recommandées vis-à-vis des conséquences délétères de la lipopéroxydation , et confortent l'hypothèse d'un effet pro oxydant de la vitamine E administrée à des doses plus fortes largement supérieures aux doses recommandées et /ou administrée seule sans être associée à un autre anti oxydant qui pourrait avoir une réaction synergique avec cette vitamine E (principalement la vitamine C)

PERSPECTIVES

Au niveau de l'oxydation de l'huile

Déterminer le cycle de friture au quel correspond une oxydation maximale de l'huile pouvant provoquer des signes de lipotoxicité

Réaliser le profil en acides gras de l'huile au cours des cycles de friture afin de déterminer l'évolution de la teneur en acides gras saturés par rapport aux acides gras insaturés ainsi que la proportion des acides gras trans dont le taux est corrélé avec le degré d'oxydation de l'huile

Étudier la possibilité de soumettre l'huile à des températures plus élevées et pendant un temps plus long .

Au niveau de L'expérimentation Animale :

Augmenter le taux d'incorporation des huiles à des concentrations supérieures à 10% .

Prolonger la durée de l'expérimentation et relever l'effet de la longévité et de l'âge.

Au niveau de La Vitamine E

Utiliser des différentes concentrations de vitamine E (α -tocophérol) afin de déterminer la dose la plus appropriée qui préserve l'organisme des effets toxiques de l'huile oxydée sans provoquer un effet pro oxydant.

Utiliser la vitamine E à des doses pro oxydantes associée à un autre anti oxydant (ex Vitamine C) afin de confirmer l'a théorie d'un effet synergique entre les anti oxydants se traduisant par une régénération de la vitamine E aboutissant à un blocage de son effet radicalaire (pro oxydant).

Examens anatomopathologiques des organes

Pratiquer des coupes histologiques au niveau des organes et plus précisément au niveau du foie afin de vérifier l'état d'altération des hépatocytes lors de la lipotoxicité et les modifications induites par la vitamine E à différentes doses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abouem JB (2007)** « *Influence du nombre de cycles de chauffage sur la qualité de l'huile de tournesol utilisée en friture* » Mémoire fin d'étude université de Blida
- Adrian J et Potus J (1998):** *Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires.* Lavoisier : Tec et Doc; p: 254.
- Aebie H (1984)** *Catalase in method of enzymatic analysis* Vol 2 Bregmeyer HU ed pp 673-684
- A.F.N.O.R (1988):** Association française de normalisation *Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés.* Ed. A.F.N.O.R, Paris, 632p.
- Aidoud A(2007)** *Effets de l'ingestion de l'huile d'Argania Spinosa sur quelques paramètres fonctionnels et structuraux chez le rat* Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER
- Ait-Hadad H ,J.C.Blum et al...(2003)..** *Antibody Therapy for Chronic Lymphocytic Leukaemia.* IN: *Therapeutic Strategies in Lymphoid Malignancies: An Immunotherapeutic Approach.* Hillmen P, Witzig TE (Ed.), Clinical Publishing, Oxford,
- Akretche . S (2003)** *effet de l'ingestion des huiles thermooxydées sur la composition en acides gras de certains organes (foie , coeur , cerveau , reins chez le rat)*Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER
- Anonyme.** *Société Française des Antioxydants.* (/2004). <http://www.isanh.com/sfa/index.php>
- Anonyme.** *Des polyphénols antioxydants dans les aliments.* (17 / 4 /2004).
- Alaupovic P, Fruchart J.C. (1987)** *Molecular analysis of lipoproteins. Clinical applications.*In : *Lipoproteins and Atherosclerosis,* Plenum Press, Eds. C. L. Malmendier , 225-231.
- Arteel G. A. and Sies H. (2001)** – *The biochemistry of selenium and the glutathione system.* *Environ. Toxicol. Pharmacol,* 10 : 153-158
- Artur Y, Cals MJ, Clerc M, Covi G, Crastes de Paulet A, Cruz-Pastor et al. (1994.)** *Actualisation des données relatives aux tocophérols en biologie clinique.*Ann Biol Clin52, 9-31
- Aruoma O I, Cupet S L (1997)** *antioxidant methodology , in vivo and in vitro concepts* AOCS press Champain Illinois 228-229
- Azerad R, Vilkas M (1974)** *Biochimie* ed Flammarion Paris PP64-83
- Bacot S. (2004) :** *caractérisation d'un nouvel aldéhyde d'origine plaquettaire et formation d'adduits de Michael avec les phospholipides à ethanolamine* thèse doctorat spécialité biochimie – institut national des sciences appliquées LYON – France

Badeau M (2006) *Effets d'un antioxydant, le tempol, sur les actions métaboliques et vasculaires de l'insuline chez le rat insulino-résistant avec un surplus de poids. Effets de l'insuline sur le transport du glucose dans le muscle squelettique, la réactivité vasculaire, l'expression des protéines eNOS, le stress oxydatif et les effets hémodynamiques régionaux* Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

BarboriaK JJ, Ghatit A Z, Shetty KR, Kalbfleish JH,(1982) *Vitamin E suppléments and plasma high density lipoprotein cholesterol* Am Clin Pathol ; 77 :371-2

Bélangier M.C (2007) *Effets d'une alimentation traditionnelle riche en acides gras omega-3 et en sélénium, mais contaminée par du mercure et des biphényles polychlorés* thèse Doctorat Faculté de médecine université Laval Québec

Benakmoum. A (2002) :*incidences nutritionnelles d'une huile thermooxydée sur les fractions lipidiques sériques chez le rat en croissance* Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER

Bergan JG, Dreper HH (1970) *absorption and métabolism of14-Cmethyl linoléate hydroperoxyde in lipids* N°5, pp: 975-982

Bernier J J (1988) *les aliments dans le tube digestif* Ed Doin Paris

Bersuder P, et all (1998) *Antioxydants from a heated histidine –glucose model system* Journ Am Oil Chem Soc B°75 pp 181-187

Berziat G, Belian P (1999) *lipides : leur exploration chez l'homme* Med Chir (Elseiver, Paris) endocrinologie, Nutrition pp 8-10

Bitam A, Benakmoum A et Ammouche A, (2004): *Incidences nutritionnelles de l'ingestion de l'huile thermooxydée sur les fractions lipidiques sériques et sur l'α-tocophérol chez le rat en croissance*, Sci .Aliments, vol 24, pp: 323-335.

Bitam .A (2005) *effets nutritionnels des huiles thermo oxydées sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance* Thèse Doctorat en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER

Blanc –Gondarmary, Renol A, Pacheco H (1989); *chronical ingestion of oxidized oil in young rat; effect on lipid composition and cytidyl transferase activity in membranes* Membranes ET Nutrition colloque INSERM Paris (France) Ed INSERM vol 195 pp481

Borg.J, Reeber .A (2004) *Biochimie métabolique* Les cours du PCEM Reeber. - Paris : Ellipses.

Boscobinik D, Tasindo a, Bartoli GM, Maroni P, AZZI A (1991) *d-alpha tocophérol inhibition of vascular sooyh muscle cell prolifération occurs at physiological concentrations correlates with protein kinase C inhibition, and his independent of its antioxydants proprties* Porc Natl Acad Sci USA V92: 12190-012194

Bouard A. (1988) *Etude des mécanismes de protection contre la peroxydation au niveau du micro Vaisseaux cérébraux de rats au cours du développement* DEA toxicologie Appliquée et fondamentale

Boue C, Combe N, Entressangles B, 2000 *Research on a sample in Aquitaine of the effect of Trans fatty acids in food on plasmatic fats and the profile of lipoproteins* Oléagineux corps gras lipides Volume 7, Number 1, 35-9, Janvier - Février 2000

Bouglé D (1994) Carences en oligoéléments et en vitamines de l'enfant. Nutr Clin Métabol 8 suppl, 74-75

Brenes, M., Garcia, A., Dobarganes, C., Velasco, J. et Romero, C. (2002). Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the Polyphenol

Bretillon L, Sebedio J.L Chardigny J.M1999 *revue sur le devenir métabolique des acides gras trans poly insaturés* OCL Vol 6N°2pp188-194

Briege J (1978)*Effects of inhibitors of fatty acid oxidation on renal function* J. Biol. Chem. 272, 18779-18789.

Brigelius-Flohe R (1999). *Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases.* Free Radicals Biol Med ; 27 : 951-65.

Brisson .G (1982) *lipides et nutrition humaine* Edition Masson Paris pp192

Browry, V. W, Stocker, R. (1993) *Tocopherol-mediated peroxidation. The pro-oxidant effect of vitamin E on the radical-initiated oxidation of human low-density lipoprotein.* J Am Chem Soc 115: 6029-6040

Bowry, V. W., Stanley, K. K. and Stocker, R. (1992) *High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 10316-10320

Bruckert (1994) *la nourriture et nous* Edition Armand Colin Paris P280

Calzada C., Vericel E. and Lagarde M. (1991) – *Decrease in platelet reduced glutathione increases lipoxxygenase activity and decreases vitamin E.* Lipids, 26 : 696-699.

Capella.P (1989): *Les produits de l'évolution des hydroperoxydes.* R.F.C.G N° 7-8, p:313- 323.

Carreras M (2004) *Etat pro/antioxydant en relation avec le métabolisme lipidique dans les plaquettes sanguines lors du diabete* Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'école pratique des hautes études "sciences de la vie et de la terre" lyon France

Caste de Paulet A.1988 *oxygène et lipides ; in biologie des lipides chez l'homme de la physiologie à la physiopathologie* Doust-Blazy L Mendi F CNRS –CNERMA Technique et documentation Lavoisier 338P

Cathcart R, Schwieters , Ames B N (1978) *detection of picomole levels of lipids hydroperoxid using a fluorescent dichlorofluorescein assay* Anal Biochem 134 , 111-6

Causeret J. (1982): *Chauffage des corps gras et risques de toxicité,* Cah. Nutri. Diet., vol. 17, pp. 19-33.

Cerf.M. (1986): *Les matières grasses alimentaires dans l'organisme: digestion, transport et métabolisme des matières grasses alimentaires* In: lipide et santé. Quelles vérités. Information aux médecins. Boulogne, lessieur, pp.38-47.

Cevital – Algerie 2001 Site Internet page dossier santé

Chan A. C,Tran K, Raynor T, Ganz P R, et Chow C.K (1991) *Regeneration of vitamin E in human platelets* J. Biol Chem 266 ; 17290-17295

Chan A. C (1993) *Partners in defense , vitamin E and Vitamin C* Can J Physiol –Pharmacol 71 ; 725-731

Cheng JO, Lee JL, Ahn DU (1999) *Lipid oxidation volatiles and colors changes of irradiated pork patties as affected by antioxidant* Journal Food Sciences Vol 64 pp 16-19

Chiericato G.M., Rizzi C (1999) *Étude de l'évolution du profil métabolique, enzymatique et minéral de la lapine du sevrage à 120 jours d'âge,* archives journées de la recherche cunicole

Chimi H,Cillard J, Gillard P et Rahmani M (1990) *Evolution of phenolic compounds* In virgin olive oil during storage ; Journal of Américan oil chemistry society 74 pp 1259-1264

Cillard J (1987) *Radicaux libres et vitamine E* cahiers de nutrition et de diététique 22n°1pp66-76.9

Cillard .J and Cillard P (1980) *Prooxidant effect of alpha tocopherol on essential fatty acids in aqueous media* Ann Nutr aliment 34; 579; 591

Clément JM. (1978): *Dictionnaire des industries alimentaires.* Ed. Masson, Paris, 348p.

- Combes N, (1996):** *Les techniques d'analyse de l'oxydation lipidique*. O.C.L., N°3, pp. 200-204.
- Combes N, Constantin MJ , Entressangles B (1977) ;** *Etude sur les huiles chauffées et absorption intestinale des espèces chimiques nouvelles formées lors du chauffage des huiles* In Revue française des corps gras N°1 pp27-28
- Cogny A, Paul JL, Soni T, Atger V, Moatti N (1994)** *Vitamine E : métabolisme et rôle dans l'athérosclérose*. Ann Biol Clin 52, 515-522)
- Crane, D.; Holmes, R.; Masters, C. 1983** *On the synthesis and incorporation of catalase and urate oxidase into the peroxisomes of mouse liver*. Int J Biochem, 15, 1429-37.
- CREDOC (1999)** *comité de recherché pour l'étude et l'observation des conditions de vie*
- Custa C, Sanchez-Muniz F.J et Varela G, (1988):** , *Nutritive value of frying fats*. In Varela G, Bender A.E ET Morton ID; *Frying of food*. Ed. Ellis Harwood Ltd. Chrichester (England), pp: 112-128.
- Cuvelier I, Ulrich G, Huguet C,(1992)** *Quel bilan lipidique en 1992 ? option /bio*. Vol88ppVIII
- David W, Martin J.R, Peter A, Mayes P(1985)** *Précis de biochimie* Paris , Québec pp VIII
- Debbou B (2003)** *Extraction et caractérisation biochimique de l'huile d'argan (Argania spinosa L. Skeels)* Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER)
- Dechamplin J (2002)** *le stress oxydatif cause ou conséquence des maladies cardiovasculaires ?*10ém colloque de médecine ambulatoire multidisciplinaire de l'association des médecins de langue française au canada (AMLFC) Shanghai 27 septembre 2002
- De chily – Charlier P, Raynard M .Lombard, C Neil (2006)** *antioxidants based on anacardia ceae species , methods for obtaining same and uses there of* word intellectual property organization publication
- Delattre, J., Bonnefont-Rousselot, D., Khalil, A., Lepage, S., Gardes-Albert, M., et Ferradini, C. 1993.** *Peroxidation of human high density lipoproteins by oxygen-derived free radicals*. Bull. Acad. Natl. Med. (Paris), 177: 1251–1260.
- De Leenheer AP, Nelis HJ, Lambert WE, Bauwens RM (1988)** *Chromatography of fat-soluble vitamins in clinical chemistry*. J Chromatogr 429, 3-58
- Desbordes. F (2006)** Comprendre les superoxydes dismutase (SOD) Web site ,[http://Bionov .fr](http://Bionov.fr)
- Dobarganes M.C. ET Perez-Comino M.C. (1988):** *Fatty acid composition: A useful tool for the determination of alteration level in heated fats*. R.F.C.G N°2, p: 67-69.
- Dobarganes, C. (1998).** *Formation and analysis of high molecular-weight Compounds in frying fats and oils*. OCL. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 5, pp. 41-47.

- Duriez P, Fruchart J.C (1994)** *Dosage des lipoprotéines définies selon leur composition en apolipoprotéines en vue de la prédiction du risque cardiovasculaire* Ann.Clin Vol 52 pp179-183
- Eder K, Suelzle A, Skufca P, Brandsch C, and Hirche F (2003)** *Effects of Dietary Thermoxidized Fats on Expression and Activities Of Hepatic Lipogenic Enzymes in Rats* *Lipids*, Vol. 38, no. 1
- El-Shami S.M, Zaki Selim I, El Anwar I.M. ET El Mallah M.H, (1992):** *Dielectric properties for monitoring the quality of heated oils.* J.A.O.C.S.Vol, 69, N°9, pp: 872-875.
- Emile C (2002)** *analyses et examens de santé : dosage des protéines totales* guide santé. Be rubrique 842
- Eymard S. (2003) :** *mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard : choix des procédés* Thèse Doctorat Ecole Polytechnique de Nantes
- Evrard J (2003)** *Valorisation, Qualité et Sécurité Sanitaire alimentaire* 2003
- FAO (2000)** Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (2000)** *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids,*
- Fox R.R (1984).** *The rabbit as a research subject.* *Physiologist*, 1984, **27**, 393- 402.
- Frankel E.N (1998)** *Lipids oxidation oil press dundee* J. Nutr.130, 101-112
- Freinot M, Vierling E (1997)** *biochimie des aliments diététiques du sujet bien portant* Edition Doin 1997
- Friedwald C.1972:** Dosage des LDL par la méthode enzymatique Clin Chem Vol 18- 499P
- Frostegard, J., Nilsson, J., Haegerstrand, A., Hamsten, A., Wigzell, H., ET Gidlund, M. 1990.** *Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell Line U937.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **87**:904–908.
- Fruchart J C.1988** *structure et métabolisme des apolipoprotéines* in biologie des lipides chez l'homme de la physiologie à la physiopathologie Doust-Blazy L Mendi F CNRS –CNERMA Technique et documentation Lavoisier 338P

Fruchart JC. (1989) *Lipoprotéines modifiées et athérogénèse* La presse médicale Vol 18 N°14 pp701-702

Fruchart J C (2000) *rôle anti athérogène des HDL* In liste des travaux Lipoprotéines et Athérosclérose 20p

Gardner H, Plattner R, Weisleder D (1985) *hepoxy allylic radical from ahomolysis and rearrangement of methyl linoleate hydroperoxyde combines with thiyl radical of N acetyl cysteine* biochimie biophysique Acta 834 pp 65-72

Genot C, Eymard S, Viau M (2004) *comment protéger les acides gras poly insaturés à longues chaines oméga 3(AGPI –LC ε3) vis à vis de l'oxydation* Oléagineux , corps gras , lipides Volume 11 N°2 pp 133-141

Gerard –globa (1986) *lipides et santé ; quelles vérités ?* Informations aux médecins. Boulogne Billancourt revue vol N°2 pp 48-57

Gerard –Monier D, Chaudière J (1996) *Métabolisme et fonction antioxydante du Glutathion = Metabolism and antioxidant function of glutathione*Revue / (Pathol. biol.) ISSN 0369-8114 vol. 44, n° 1, pp.7 6-85

German J. B, Kinsella J. E. (1985) *Lipid oxidation in fish tissue. Enzymatic initiatio Via lipoxygenase*Journal of agricultural and food chemistry (J. agric. food chem.) ISSN 0021- 8561 CODEN JAFCAU vol. 33, n°4, pp. 680-683

Gertz, C., Klostermann, S. et Kochhar, P. (2000).*Testing and comparing Oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature.* European Journal of Lipids Science Technology, 102, pp. 543-551.

Guéant JL, Gastin I, Vidaillet M (1995) *Méthodes biologiques de diagnostic positif et etiologiques des carences vitaminiques* Nutr.Clin –Metab. Vol 9 pp 29-42

Guillaumin R, (1969): *Composés non volatils formés lors des fritures.* R.F.C.G. vol, 16, N°3, pp.189-204.

Graille .J 1998 *Réactions chimiques induites par la friture* OCL Vol 5 N°1pp36-40

Grangirard A, Julliard F,(1987) *Influences de divers paramètres sur la dégradation d'huiles,température et durée du chauffage* Revue française des corps gras N°4pp : 213-220

Groussard C, Rannou –Bekono F, Zouhal H, Viencent S , Cillard J (1987)

Radicaux libres et vitamine E. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 22, n°. 1, pp. 66-76. 9.

Groussard.C, Rannou Bekono .F, Zouhal H, Faure H, Viencent S , Guéant JL, Gastin I, Vidailhet M (1995) *Méthodes biologiques de diagnostic positif et étiologique des carences vitaminiques.* Nutr Clin Métabol 9, 29-42 -

Hadorn, H. et Zürcher, K. (1966): *Über Unstimmigkeiten und Fehlerquellen bei der Bestimmung der Peroxidzahl und der Oxidationsbereitschaft.* Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 57, 127–141 (1966).

Halladj. F (2002) *effet de différentes huiles alimentaires sur la cholestérolémie chez le rat en croissance* Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach Alger

Halliwell B (200) *oxidants in human diseas some new concepts* FASEB Vol 1

Harmann D (1983) *the ageing process ?* Proceed Natl Acad Sci USA N°78 pp 7124-7128

Heath R L, Tappel AL (1976) *a new sensitive assay for the measurement of hydroperoxides* Anal Biochem, 75 : 184-8

Hercberg S (2003) *Intérêt des antioxydants, à doses nutritionnelles, dans la prévention primaire des cancers et des maladies cardiovasculaires* In VS/ISTNA-CNAM Aprifel

Hennen G (1996) *Biochimie Humaine* De boeck et Lancier S Paris pp 371-377

Hochgraf E, Mokady S, et Cogan U., (1997): *Dietary oxidised linoleic acid modifies lipid composition of rat liver microsomes and increases their fluidity.* J.Nutr. vol, 127, pp: 681-686.

Hochgraf E, Mokady S, ET Cogan U., (2000): *Dietary oxidized linoleic acid enhances liver cholesterol biosynthesis and secretion in rats.* J.Nutr. biochem. vol. 11, pp. 176-180.

Hollaway D.E, Rivers J.M; (1981): *Influence of chronic ingestion ascorbic acid deficiency and excessive ascorbic acid intake on bile acid metabolism and bile composition in the guinea pigs.* J.Nutr. vol.112, pp: 416-425.

Houdebine L.-M (1998). *Les animaux transgéniques permettent-ils de faire progresser la recherche médicale.* [En ligne] (1998) Adresse URL : <http://www.inra.fr/actualites/Dossier/houd.htm>

- Hsieh R J, Kinsella JE, (1989)** *oxidation of pyunsaturated fatty acids ; mechamisms ,products nand inhibitor with emphasis on fish* Adv Food Nutri Res Vol 33 pp 233-241
- Huet .O (2006)** *Toxicité de l'oxygène : mythe ou réalité* p. 207-215.
- Hultin, H.O. (1992)** *Lipid Oxidation in Fish Muscle*. In Advances in seafood biochemistry: Composition and quality Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomics Publishing Compagny Inc, Lancaster; 99-122.
- Hultin, H.O. (1994)** *Oxidation of lipids in seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality* . Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic &Professional, New York; 49-74.
- I.F.N, (1992):** *Les lipides : dossier N° 1*. Ed.Tec et Doc-Lavoisier, Paris, 125p.
- Institut Canadien d'information Juridique 2007** (Can L II) règlement sur les aliments et drogues, Partie B ; aliments, Titre 9 Graisses et Huiles
- Imai H, and Nakagawa Y. (2003)** – Suppression of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, **273** : 1990-1997.
- Jones RT. (1975.)** *Normal values for some biochemical constituents in rabbits*. P143 147- Apr. 1975.
- Kamoun P, Duval D, Lebrun F, Mowszowiez I, Lehninger A L, Nelson D L, Cox M M (1995)** *Principe de Biochimie* Flammarion Ed Paris pp 243-365
- Kanasawa K, Kanasawa E, Natake M (1985)** *Uptak of secondary antioxidation products of linoleic acid by the rat* In Lipid N°12 pp, 412-419
- Karlinskind A (1992)** *Manuel des corps gras* Tome 1 Lavoisier, tec et doc p 787
- Khalil A (2002)** *mécanisme moléculaire de l'effet protecteur de la vitamine E dans l'athérosclérose* canadian journal Physiologie and pharmacologie 80,662-669
- Kinsella J.E (1998)** *food lipids and fatty acids importance in food quality , nutrition and health* Food technology pp 124-140
- Lagrost. L. D. Masson, J. Chapman, (2005):** *Lipoprotéines et métabolisme lipidique*.
- Laurent A (1992)** *Atlas de poche de de physiologie* 2éme Edition Française Flamarion ed Paris pp 218-220
- Lecerf JM (2000)** *Acides gras essentiels* Encycl Med Chir 2000 ; 10-542-F-10 : 1-9
- Ledoux M, LalouxJ, Adrian J.(1999)** *Les isomères trans d'acides gras conséquences métaboliques et biologiques* Med Nutr , Vol 4 ,PP 127-133

Lemieux C (2005) *Effets et mécanismes d'action d'un modulateur sélectif des récepteurs des oestrogènes sur le métabolisme des lipides* Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie Université Laval Faculté de médecine (Québec)

Léger C.-L. (2000), *La vitamine E et la prévention cardiovasculaire* Annales de Biologie Clinique. Volume 58, Numéro 5, 527-40, Septembre - Octobre 2000,

Lemoine A, Bruhat C, Chanay H (1994) *Carences en vitamines chez l'adulte, aspects chroniques.* Nutr Clin Métabol 8 suppl, 63-65

Léoni J, Daubrosse E. (2001) *physiopathologie de l'athérosclérose –mécanisme et prévention de l'athérombose* thèse de pharmacie Université de Franche comté –Besançon –France

Lessieur Alimentaire (1999) *Rôles nutritionnels des lipides, connaissance des corps gras (Weil)* pp-108-138

Leverve .X (2004) *Stress oxydant en réanimation : quelle place pour les antioxydants ?* Conférences d'actualisation Elsevier SAS. p. 295-302.

Litman I, Numrych S,(1978) *The role lipids play in the positive and negative flavors of foods , in lipids as a source flavor supraned , New york .am Chem .sos .Symposium Series PP:1-17*

Liu.JF et Lee Y.W, (1998): *Vitamin C supplementation restores the impaired vitamin E status of guinea pigs fed oxidised frying oil.* J. Nutr.128, 116-122

Loliger J (1989) *Méthodes instrumentales pour l'analyse de l'état d'oxydation de produits alimentaires* Revue Française des corps gras 36 ; 301-8

Lopez-Varelas.S,Sanchez-Muniz.F.J,et Custa.C(1995) *Decreased food efficiency ratio,growth retardationand changes in fatty acid composition in rats consuming thermaly oxidised and polymerised oil used for frying food .Chem Toxic , Vol 33 , N°3 PP :181-189*

Louisot.P., (1980): *Biochimie générale et médicale, structurale, métabolique et sémeiologique.* Ed, Simep.

Love, R.M. (1980) *The Chemical Biology of Fishes.* Vol.2. Academic Press London; 1968-1977.Lowry, R.R. and Tinsley, I.J.

Luchetti.F, (1999) : *Importance de l'huile d'olive dans le monde .O.C.L.vol.6, N°1, pp.41-45.*

Maiorino M., Coassin M., Roveri A. and Ursini F. (1989) – *Microsomal lipid peroxidation : effect of vitamin E and its functional interaction with phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase.* Lipids, 24 : 721-726.

Mansouri A, Ourahmoun F2000 *effets de l'huile thermooxydée sur le foie et les lipides sériques chez le rat en croissance* mémoire d'ingénieur en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER

Marchal N. Bourdon S, Bimet .F.(1988) *données caractéristiques du lapin de laboratoire* Bactériologie médicale techniques de base sécurité nouvelle édition Doin.-paris

Martin A (2001) *Structure des lipides* Les lipides Dossier Scient ; IFN ; pp 20-35

Mathé D , Lutton C,(1984) *le cholestérol aspects dynamiques et métaboliques* J physiol Paris ; 79 , 41-97

Maurice-Estépa L, Vassault A, Bienvenu J (1986). *Proposition d'une technique de validation pour le dosage des protéines totales sériques et plasmatiques.* Inf. Sci. Biol. 12, 6, 443-450

Mauro A, (2003) *Chemical-Physical characteristics of olive oils, Technical course for Olive oil testers.* Organizzazione Nazionale Assaggiatori Olio di Oliva (2003), 1-26.

Mazzanti L, Mutus B (1997) *diabetes –induced alteration in platelet metabolism* Clin Biochem Vol 30 pp 509-515

Mc Ord J, Fridovich I (1969) *Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erythrocyte Hemocuprein* J. Biol. Chem. 244, 6049–6055)

Mc Cay .P.B (1985) *Vitamin E interaction with free radicals and ascorbate* Ann. Rev. Nutr. 1985.5:323-40

Medirabbit .com (2004) *Valeurs de référence de biochimie sanguine du lapin* **site internet**

Mendy F(1995) *acides gras poly insaturés et premières années ; mise en place de possibilités d'adaptation métabolique à des apports différents , limites , modes , régulations , conséquences de ces adaptations chez l'homme* O.C.L N)2 pp 36-44

Minakata K, Suzuki O, Saito S, Harada N (1987). *Ascorbate radical levels in human sera and rat plasma intoxicated with paraquat and diquat.* Arch Toxicol.;67(2):126–130.

Moussard.C., (2002): *Biochimie structurale et métabolique..*

- Munoz J G, Sara Bastida S and Sanchez-Muniz F J 1998** *Short-Term in Vivo Digestibility of Triglyceride Polymers, Dimers, and Monomers of Thermoxidized Palm Olein Used in Deep-Frying* J. Agric. Food Chem., Vol. 46, No. 12,
- Murray M 1991** *in vitro and in vivo studies of effect of Vitamin E on microsomal cytochrome P450 in rat liver* Biochemicol Phmmocobgy, Vol. 42, No. 11. pp. 2107-2114,
- Myashita K, Kanda Y, Takagi T (1991)** *a simple and quick determination of aldhéhydes in autoxidized vegetable and fish oils* J ; Am oil Chem Soc 68 ; 748-52
- Myazawa I, Suzuki T, Tajimoto Y (1990)** *age dependent accumulation phosphatidylcholine hydroperoxide in the brain and liver of the rat* Lipids 26 ; 789-93
- Nacka F, M. Cansell, B. Entressangles (2000)** *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 7, Numéro 1, 108, Janvier - Février 2000,
- Nielsen, F. Å., Christensen, MS, Madsen, KH, Lund, TE, and Hansen, LK (1984).**
Engineering in Medicine and Biology Magazine, 25(2):112-119
- Nutranews (2005)** *Un super oxyde dismutase capable de limiter au quotidien les lésions oxydatives* Novembre 2005
- Ohishi N, Ohkawa H , Milk A , Tatano T , Yagi K(1985)** *a new assay method for lipid peroxides using a methylene blue denvative* Biochem int 10-205
- Ollé.M. (2002):** *Analyse des corps gras, technique de l'ingénieur*, p:3325.15p.
- Orsonneau.JL et al., (1989):** *An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protien.* Clin Chem 1989, 35:2233-2236.
- Othmani-Mecif.k, Benazzoug .y : (2005)** *caractérisation de certains paramètres biochimiques plasmatiques et histologiques (tractus génital femelle) chez la population locale de lapin (oryctolagus cuniculus) non gestantes et au cours de la gestation*
Thèse magister université Mentouri Constantine –sciences et technologie C-N) 23 pp 91-96
- Pantzaris (1989):** *Utilisation de l'huile de palme.* Oléagineux vol, 44, N°6,1989.
- Pastore A, Tozzi G, Gaeta LM, Giannotti A, Bertini E, Federici G, Digilio MC, Piemonte F(2003)** *Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in children with Down syndrome* J Pediatr 142 (5): 583-5 (2003 May)
- Perkins.E.G, (1976):** *Chemical, nutritional and metabolic studies of heated fats.* R.F.C.G., N°5, pp. 257-270

Perret B, AC Fabre, A Genoux, C Malaval, C. Radojkovic, F Tercé, X Collet et LO Martinez (2007) HDL : mécanismes des effets athéroprotecteurs et cibles pharmacologiques d'avenir La Lettre de la NSFA, n°29, INSERM U 563, Equipe Lipoprotéines, et CCBLA-nSFA, CHU-Toulouse

Perrin .J, Perfetty P, et Naudet M (1985) Etude analytique approfondie d'huiles chauffées et étude comparative de corps gras à des altérations comparables . In revue Française des corps gras N°5 PP - 209- 213

Pharmeuropa juillet 2000 vol 12 n°3

Pincemail J, JO Defraigne, M Meurisse, R Limet *Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires* Médisphère prévention décembre 1998

Pokorny.J, (1973): Lipides et corps gras alimentaires. Paris: Lavoisier, 2003: p 52-53.

Porkkala-Sarataho 1999 Vitamin E and heart disease: A case study.
J Clin Nutr. ; 69 (suppl): 1322S-1329S

Potteau B., Grangaird A., Lhuissier. M. et Causeret J. (1977) : Recherches récentes sur les effets physiopathologiques d'huiles végétales chauffées. *Biblhca Nutr. Dieta.*, vol. 25, pp. 122-133.

Pré J. (1993) : Radicaux libres et peroxydation lipidique. II Aspects physiopathologiques. Sem Hôp Paris 69, 29-39

Princen et al (1992): Effects of Vitamin E, 0-Carotene, and Smoking on LDL Oxidation. 555.

Rafael J, Patzelt Schafer H, El-medfaa I (1984) The effect of essential fatty acids deficiency on basal respiration and function of liver mitochondria in rats J. Nutr N°114 pp 255-262

Raoult Wack et A.L. Bricas N. (1998): Vers une évolution des démarches de recherche et développement dans le secteur agro-alimentaire. Le cas de la friture. O.C.L., vol.5, N°1, pp.47-51.

Rault P. (2002) Adrénaline112 juin 2002 J.Nutr. Vol, 127

Reiss D., Beyer K. and Engelmann B. (1997) – Delayed oxidative degradation of polyunsaturated diacyl phospholipids in the presence of plasmalogen phospholipids in vitro. *Biochem. J.*, 323 : 807-814.

Rey C, Vericel E, Nemoz G, Chen W , Chapuy P , Lagarde M(1994) purification and characterization of glucathione peroxidase from human blood platelets age related changes in the enzyme *Biochim Biophys Acta* 1994 Vol 1226 pp 219-224

Richard, F. (1992). Anti oxygènes dans « Manuel des corps gras ». Karleskind, A. TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 2, pp. 1228-1240.

Richard N. (2006) : effet du taux et de la nature des lipides alimentaires sur les mécanismes intervenant dans la constitution des dépôts lipidique (transport, captage, synthèse)

Rietjens I. M. C. M., Boersma M. G., De haan L., Spenklink B., Awad H. M., Cnubben N. H. P., Van zanden J. J., Van der Woude H., Alink G. M. and Koeman J. H. (2002) – *The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids.* Environ. Toxicol. Pharmacol., 11 : 321-333.

Robert.K et al., (1999): *Biochimie*, Ed, McGraw-Hill, pp, 146-157.

Rodriguez MC, Tarnopolski MA et coll (2003). *Free Radic Biol Med.* 2003 May 1; 34 (9):1217-20.

Rouaki. F 2000 *effets des huiles oxydées sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance* Thèse Magister en sciences alimentaires Institut National agronomique El Harrach ALGER

Ruiz-Sanz, J.I., Navarro, R., Martinez, R., Martin, C., Lacort, M.,Matorras, R., et Ruiz-Larrea, M.B. 2001. *17beta-estradiol affects in vivo the low density lipoprotein composition, particle size, and oxidizability.* Free Radicl Biol. Med. **31**: 391–397.

Shapiro, S.D., Campbell, E.J., Welgus, H.G., ET Senior, R.M. 1991.

Saadation M, Goudabe J ,Riboli E (1999) *lipides et cancers* O.C.L Vol 6 pp 155-165

Sabatier H. (1971) *le lapin et son élevage professionnel* ed Dunod paris -pp:56 à59.)

Samuni A, Aranovitch J, Godinger D, Chevion M, and Czapski G (1983)*on the cytotoxicity of vitamin C and metals ions , a site –specific fenton mecamism* Eur ,J. Biochem 137: 119-124

Sanchez-Muniz et al (1996): *Olive oil-fried sardines in the prevention of dietary hypercholesterolemia in rats. Effects on some lipids and cell damage marker enzymes.* Nutr.Res.Vol, 16, N°1, pp: 111-121.

Sanchez-Muniz et al. (1998): *Deitary effect on grwth, liver peroxides and serum and lipoprotin lipids in rats fed a thermoxidised and polymerised sunflower oil.* J.Sci food Agric., Vol, 76, pp: 364-372.

Sardesai V. M. (1992) *nutritional role of polyunsaturated fatty acids* J Nutr Bioch N°3 pp 154-162

Scalbert A. (2004) *Polyphenols and cardiovascular diseases.* Curr Opin Lipidol, vol 12- pp125-28

Schmitz, J. Bresson J L(1989).Masson Ed, Paris,

Scriban.R, (1988): *Les industries agricoles et alimentaires* .Ed. Tec et doc-lavoisier, Paris, 382p.

Singh. U, Devaraj .S, and Jialal .I (2005) *Vitamin E, oxydative stress and inflammation* Annu. Rev. Nutr. 2005. 25:151–74

Toussaint J.F, Jacob MP, Lagrost L , Chapman J (2003) *L'athérosclérose ,physiopathologie ,diagnostics et thérapeutiques* Ed Masson- Amazone - Paris

Terrien M. et Fourrier J., (1998): *Chimie du petit déjeuner.* Paris: collection formation, 1998 p:304.

- Tremoliere J., Serville Y., Jacquot R. et Dupin H. (1980):** *Manuel d'alimentation humaine*. Tome1, tome2, Ed. E.S.F., Paris, 553p.
- Thissen J.-P. 1999** *Les normes du cholestérol* Louvain Med . **118**: S139-S144, 1999.
- Vaissaire J .P (1972) :** *les animaux de laboratoire* ed Vigot 1972
- Vance D E, Zhaoyu L, Jacob RL (1996)** *Hepatic Phosphatidylethanolamine N-Methyltransferase, Unexpected Roles in Animal Biochemistry and Physiology*
- Varela L.S, Sanchez-M.F.J. et Cuesta C., (1995):** *Decreased food efficiency ratio, growth retardation and changes in liver fatty acid composition in rat consuming thermally oxidized and polymerized sunflower oil used for frying.* *Fd. Chem. Toxic*, vol. 33, N°3, pp.181-189.
- Vatassery G. T., Smith W. E. and Quach H. T. (1989) –** *Ascorbic acid, glutathione and synthetic antioxidants prevent the oxidation of vitamin E in platelets.* *Lipids*, 24 : 1043-1047.
- Vericel E, Rey C, Calzada C Haond P, Chapuy PH et Lagarde M (1992)** *age related changes in arachidonic acid peroxidation and glutathione –peroxidase activity in human patelets* *Prostaglandins* 43 (1) ; 75-85
- Vila.J(1994)** *contribution à l'étude des composés volatils obtenus au cours de l'oxydation thermique des matières grasses* .R. F. C. G. N°6 ; P 181
- Vilas N., Bell. R, et Draper .G (1976)** *influence of didietary peroxydees selenium and Vitamin E on Glutathion peroxydase of de gastrointestinal tract* *Journal .Nutr* ;N°106,PP ;589-596
- Weil J-H., (1979):** *Biochimie générale*.3ème éd, paris
- Widmer F, Beffa R, (2000)** *aide mémoire de biochimie et biologie moléculaire*,2ème Editon pp 107-
- Winterbourn C. C. (1993) –** *Superoxide as intracellular radical sink.* *Free Radic. Biol. Med.*, 14 : 85-90.
- Witting, P, et al (1997).***Dissociation of atherogenesis from aortic accumulation of lipid hydroperoxides in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits* *J Clin Invest.* **104**:213-220 10411551
- Wolf. (1954):** R.F.C.G N°1, P:215.
- Wolff J.P. (1968):** *Manuel d'analyses des corps gras*. Ed. Azoulay, Paris, 552p.
- Yamada K, Terao J, Matsushita S (1987)** *Electrochemical detection of phospholipid hydroperoxides in reverse phase high performance liquide chromatography* ; *Lipids* 22 ;125-8
- Zoeller R. A., Morand O. H. and RaetzA C. R. (1988) –** *A possible rôle for plasmalogens in protecting animal cells against photosensitized killing.* *J. Biol. Chem.*, 263 : 11590-11596.

ANNEXE I - PRESENTATION DU LAPIN

Données générales

Nombre de chromosome : 4

Mode de vie : en société

Durée de vie : 6 à 7 ans jusqu'à 10 ans

Poids corporelle : 2 à 3 kg

Température corporelle : 39.6 à 40.1°C

Age d'utilisation 5 -6 mois

Gestation : 30 jours

Portées moyennes : 5 à 6

Données caractéristiques du lapin selon **Marchal et al (1988)**

Formule dentaire

La formule dentaire du lapin est la suivante: incisives 2/1, canines 0/0, prémolaires 3/2 et molaires 3/3. Une particularité des dents de lapin qu'il faut signaler est qu'elles croissent continuellement et que la croissance des incisives peut atteindre 12 centimètres par année. La température corporelle moyenne se situe à 39,5°C avec des variations de 38,5° à 40°C) Les lagomorphes sont herbivores : La coprophagie (ingestion de fèces) est une activité normale, importante et essentielle chez le lapin parce qu'elle favorise le maintien d'une nutrition adéquate et de la physiologie intestinale normale

Besoins en eau

Nourris avec des aliments secs (foin, granulé ou farine), les jeunes en croissance boivent 1,5 à 2 plus que la quantité d'aliment sec qu'ils mangent tandis que la lapine allaitante boit 2 à 2,5 fois plus d'eau qu'elle ne mange d'aliment ;Prévoir en moyenne par jour :

- 0,2 à 0,3 litres d'eau par lapin en croissance
- 0,6 à 0,7 litres d'eau pour une lapine allaitante

Besoins en énergie

Le besoin quotidien en énergie du lapin varie en fonction du type de production mais aussi avec la température ambiante. Ce besoin en énergie du lapin en croissance ou en reproduction (gestation, lactation) peut être couvert par des aliments distribués à volonté contenant de 2200 à 2700 kcal d'énergie digestible par kg.

Besoins en lipides

Le besoin en lipides (ou graisses) est couvert avec une ration contenant 2,5 à 3% de lipides. C'est la teneur spontanée de la majorité des aliments naturels entrant dans la ration.

Besoins en cellulose (fibres)

Le lapin est un pseudo ruminant sinon un faux ruminant. Son tube digestif a besoin de lest pour bien fonctionner et celui-ci est fourni par les végétaux qu'il mange. Ses besoins sont donc plus importants que d'autres espèces d'élevage.

Pour les lapins en engraissement, le taux de cellulose brute d'un aliment complet devra être de l'ordre de 14 à 16% c'est-à-dire un taux nettement plus élevés que celui des aliments pour volailles. Les lapines reproductrices pourront se satisfaire d'un aliment ne contenant que 12 à 13% de cellulose brute.

Besoins en protéines

Chez la lapine reproductrice, le taux optimal de protéines brutes est d'environ 17 à 18%. Et de 16 - 17% pour les lapins à l'engraissement.

Besoins en minéraux et en vitamines

Les besoins en sels minéraux sont couverts en général par l'aliment commercial. Toutefois, les apports peuvent être améliorés par les compléments minéraux commerciaux.

Les vitamines se trouvent dans les divers aliments qui sont distribués aux lapins. La provende apporte généralement les composés Vitaminiques correspondant aux besoins des lapins. Les vitamines liposolubles (A, D, E et K) doivent être apportées par l'alimentation (vit E= 30mg/kg). Par contre les vitamines hydrosolubles (C et toutes celles du groupe B) sont fournies par la flore digestive et en particulier par l'ingestion des caecotrophes

Tableau – 31 - Recommandations pour la composition des aliments complets pour lapins (Lebas et al. 1996 et Lebas, 2004)

Composants d'un aliment à 89% de matière sèche	Jeune en croissance (4-12 semaines)
Protéines brutes %	16
Protéines digestibles %	12
Lipides %	2,5
Amidon %	14
Calcium	0,7
Phosphore	0,4
Potassium	0,7
Sodium	0,22
Magnésium	0,3
Vit. A en UI/kg	6 000
Vit. D en UI/kg	1 000
Vit. E en ppm	30
Vit. K en ppm	1
Vit. B1 en ppm	2
Vit. B2 en ppm	6
Vit. B6 en ppm	2
Vit. B12 en ppm	0,01
Acide folique en ppm	5

La température corporelle

La température corporelle moyenne se situe à 39,5°C (avec des variations de 38,5° à 40°C)

Paramètres sanguins

Chez le lapin, le volume sanguin total est relativement stable et représente 55 à 57 ml par kg de poids vif, quelques auteurs donnant des valeurs un peu différentes (de 35 à 70 ml/kg). Cette proportion est indépendante de l'âge de l'animal, dans la mesure où Cantier et al. ont démontré en 1969 que la croissance de la masse sanguine est isométrique à celle du corps entier.

**Tableau – 32- valeurs biochimiques sanguines du lapin
(Médirabbit 2004)**

Paramètres analysés	abréviation	Valeur	Unités
pH sanguin	pH	7.2 – 7.5	
Globules rouges, or Erythrocyte	RBC	3.8 – 7.9 * 10 ⁶	/mm ³
Hématocrite	PCV	33 – 50	%
Hémoglobine	Hb	9.4 – 17.4	g/dl
Globules blancs ou leucocytes		5 – 13 * 10 ⁹	m/l
Temps de coagulation (in vivo)		2 – 8	min
Protéines – totales		5.4 – 7.5 50-75	g/dl g/l
Cholestérol		0.1 – 2.00 3,5 -4,5	mmol/l g/l
Créatinine		53 – 124 0.5 – 2.6	μmol/l mg/dl
Glucose	Glc	4.2 – 8.9 75 – 140	mmol/l mg/dl
Phospholipides		40 – 140	mg/dl
Lipides du sérum sanguin		15 – 40	g/l
Triglycérides		1.4 – 1.76 11,57	mmol/l g/l
Urée		9.1 – 25.5	mmol/l
Vitamine E	Vit E	> 1	μg/ml
HDL		33.5-129 ≥ 0,35	UI / l g/l
LDL		≤ 1,3	g/l
Rapport LDL /HDL Indice d'athérogénicité		< 3,5	

ANNEXE II

Tableau-33
CARACTERISTIQUES DE L'HUILE DE TOURNESOL

CARACTERE	VALEUR
Densité relative	$D \leq 0,423$
Indice de réfraction	$< 1,469$
Indice d'iode	$110 \leq I_i < 143$
Indice de saponification	$188 \leq I_s \leq 194$
Indice d'acidité	$\leq 0,6$
Indice de peroxyde	$I_p \leq 10 \text{ méq}$
Teneur en substances insaponifiables	$\text{Sub Ins} \leq 15 \text{ g/kg}$

Institut Canadien d'information juridique 2007

ANNEXE III - REACTIFS

- Alcool chirurgical
- Ethanol 95%.
- Hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée C (KOH) = 0,1mol/l .
- Phénophtaléine, solution à 10g/l dans l'éthanol à 95% (V/V).
- Acide acétique glacial.
- Chloroforme.
- Réactifs de wijs.
- Iodure de potassium.
- Thiosulfate de sodium 0,1M.
- Thiosulfate de sodium, solution titrée 0,01N.
- Vitamine E acétate d'alpha tocophérol
- Xylène

Liqueur de BouinDosage :

- acide picrique ----- 8.40 g
- Acide acétique----- 50 ml
- Formol----- 200 ml
- Eau distillée Q S P ----- 1000 ml

Mode opératoire :

Dissoudre l'acide picrique dans l'eau distillée puis incorporer l'acide acétique et le formol Agiter et filtrer

ANNEXE IV - VERRERIE

- Fioles coniques à bouchon rodé de capacité d'environ 250ml.
- Fioles jaugées de 5, 10 et 50ml.
- Burette de 50 ml graduée en 0,1ml.
- Pipettes de 1, 10, 20 et 25 ml.
- Pipettes Pasteur
- Poire de pipetage
- Cuve en quartz de 1cm d'épaisseur.
- Tubes à essai .en verre
- Tubes coniques
- Flacons en verre.
- Becher.
- Boite de pétri

ANNEXE V - APPAREILLAGE

- Balance analytique .de précision
- Boite à contention
- Bain mari à 100°C.
- Agitateur.
- Vortex.
- Plaque chauffante.
- Spectrophotomètre visible et UV.
- Centrifugeuse
- Dispositifs de prélèvement

RESUME

Deux objectifs caractérisent notre travail à savoir :

- Confirmer l'effet anti oxydant de la vitamine E sur les fractions lipidiques sériques et sur quelques paramètres structuraux chez le lapin néo-zélandais albinos lors d'une supplémentation à des doses peu élevées (se rapprochant des doses recommandées) dans des régimes alimentaires standards additionnés d'huile thermo oxydée (huile de friture)

- Conforter l'effet pro oxydant de cette vitamine E lors de son d'adjonction à des doses plus élevées (supérieurs aux doses recommandées) dans ces mêmes régimes alimentaires

Pour atteindre nos objectifs nous avons procédé suivant un protocole expérimental comprenant plusieurs étapes

1ere étape ; consiste à mettre en évidence l'état d'altération (oxydation) de l'huile de tournesol utilisée en friture profonde à 198°C pendant 15 mn durant 20 cycles de friture

A la fin de cette opération l'huile présente une couleur cuivrée, une consistance sirupeuse , une odeur rance , un indice d'acide de 1,35 mg de KOH /g d'huile, un indice de peroxyde de 11,81 milliéquivalents d'O₂ /kg d'huile , un indice d'iode de 98,05, une densité de 0,52 g /ml d'huile, un indice de réfraction de 1,47, une présence de produits secondaires de l'oxydation (d'une valeur de 0,932) et de produits primaires (d'une valeur de 0,130)

La 2ème étape consiste à déterminer l'impact de cette huile thermo oxydée additionnée aux régimes alimentaires standards à raison de 10% (lot B) , sur la croissance des lapins et sur certains paramètres biochimiques lipidiques sériques ainsi que les changements observés lors d'un enrichissement de ces régimes en vitamine E à raison de 0,5%(Lot C) , 1% (lot D) et 1,5%(Lot E) et procéder à une comparaison avec un lot Témoin ayant ingéré un régime alimentaire standard supplémenté de 10% d'huile fraîche (Lot A) ; une comparaison à aussi été établie avec les normes biochimiques sanguines du lapin ;

L'expérimentation a duré 45 jours , et chaque lot était constitué de 05 lapins néo-zélandais albinos âgés de 35 jours

Les résultats obtenus montrent

- un retard de croissance , une hypertrophie du foie et un indice hépatosomatique élevé chez les lapins ayant consommé l'huile oxydée seule (lot B) et chez ceux ayant consommé l'huile oxydée plus de la vitamine E à 1,5%(Lot E)

-Un gain de poids conséquent est noté chez les lapins ayant ingéré de l'huile fraîche à 10% (Lot A). L'indice hépatosomatique des lots ayant ingéré 0,5% de vitamine E (Lot C) et 1% de vitamine E (Lot D) sont très proches .

- Au niveau des fractions lipidiques sanguines nous notons une fluctuation de la cholestérolémie et de la triglycéridémie durant toute l'expérimentation et à la fin au J45 nous remarquons une baisse significative de la cholestérolémie et de la triglycéridémie pour les lapins ayant consommé de l'huile oxydée seule (Lot B) et pour ceux ayant consommé de l'huile oxydée additionnée de 1,5% de vitamine E (Lot E) ; la diminution des triglycérides et du cholestérol pour les lots ayant ingéré de l'huile oxydée supplémentée de 0,5% de vitamine E (Lot C) et 1% (Lot D) n'est pas significative et les valeurs sont très proches des valeurs normales du lapin . ; le même constat est établie pour les concentrations en HDLc , en VLDLc , en lipides totaux et en protéines totales à savoir diminution significative pour les lots ayant ingéré de l'huile oxydée seule (Lot B) et de l'huile oxydée supplémentée de 1,5% de Vitamine E(Lot E) et une diminution non significative pour les autres lots.

Pour ce qui est des LDLc nous constatons une augmentation significative des LDLc pour les lapins ayant ingéré de l'huile oxydée seule (Lot B) et pour ceux ayant ingéré de l'huile oxydée supplémentée de 1,5% de Vitamine E (Lot E), pour les autres lots les valeurs sont basses et très proches des valeurs normales.

L'indice d'athérogénicité calculé pour les lapins ayant ingéré de l'huile oxydée seule (Lot B) et ceux ayant ingéré de l'huile oxydée supplémentée de 1,5% de vitamine E (Lot E) sont très élevés et largement supérieurs à la valeur normale, alors que la valeur de cet indice d'athérogénicité chez les lapins des lots ayant ingéré de l'huile oxydée supplémentée de 0,5% de vitamine E (Lot C) et 1% de vitamine E (Lot D) est située en dessous de la valeur normale.

En résumé nous pouvons conclure que l'adjonction de vitamine E à des doses de 0,5% et 1% provoque un rétablissement des paramètres étudiés et leur tendance vers les valeurs normales (effet anti oxydant).

Alors que l'ingestion de la vitamine E à une concentration de 1,5% provoque un éloignement des valeurs des paramètres étudiés des valeurs normales signifiant une recrudescence des manifestations de lipotoxicité (effet pro oxydant).

Mots clés :

Huile oxydée, Lapin, croissance, lipides sériques, Vitamine E, anti oxydant, pro oxydant

ABSTRACT

Two objectives characterize our work :

- Confirm the effect oxidizing anti of the vitamin E on the lipid sériques fractions and on some structural parameters to the albinos New Zealand rabbit during a supplémentation in little raised doses (getting closer to recommended doses) in standard diets added by oil oxidized thermo (oil of frying) –
- Consolidate the effect oxidizing pro of this vitamin E during sound of addition in higher doses (superior to the recommended doses) in these same diets

To reach our objectives we proceeded according to an experimental protocol including several stages

1st stage; the state of change (oxidation) of the sunflower oil used in deep frying in 198°C during 15 mn hard consists in bringing to light during 20 cycles of frying

At the end of this operation the oil presents a copper-colloured color, a syrupy consistency, a smell rance, an indication of acid of 1,35 mg of KOH / g of oil, an indication of peroxide of 11,81 milliéquivalents of O₂ / kg of oil, an indication of iodine of 98,05, a density of 0,52 g / ml of oil, an indication of refraction of 1,47, a presence of secondary products of the oxidation (at 0,932) and of products to Primary products (at 0,130)

The 2^{ème} stage consists in determining the impact of this thermo oxidized oil added to the standard diets at the rate of 10 % (lot B), on the growth of rabbits and on the certain lipid biochemical parameters sériques as well as the changes observed during an enrichment of these regimes in vitamin E at the rate of 0,5 % (the Lot C), 1 % (lot D) and 1,5 % the (Lot E) And proceed to a comparison with a (lot) Witness having ingested a standard diet supplemented by 10 % of fresh oil (the Lot A); a comparison in also established with the blood biochemical standards of the rabbit.

The experiment in lasted 45 days, and every (lot) was constituted by 05 old albino New Zealand rabbits of 35 days

The obtained results show

- a delay of growth, a hypertrophy of the liver and a hépatosomatique indication raised to rabbits having consumed the oil oxidized only (lot B) and to those having consumed the oxidized oil more vitamin E in 1,5 % (the Lot E) - an gains of consequent weight are noted at rabbits having ingested some fresh oil in 10 % (the Lot A). The indication hépatosomatique (lots) having ingested 0,5 % of vitamin E (the Lot C) and 1 % of vitamin E (the Lot D) are very close

- At the level of the blood lipid fractions we note a fluctuation in the cholesterol level and in the triglycéridémie during all the experiment and at the end in J45 we notice a significant decline of the cholesterol level and the triglycéridémie by rabbits having consumed some oxidized oil only (the Lot B) and by those having consumed some oxidized oil added by 1,5 % of vitamin E (the Lot E); The decrease of triglycerides and cholesterol for (lots) having ingested some oxidized oil supplemented by 0,5 % of vitamin E (the Lot C) and 1 % the Lot D) is not significant and the values are very close to normal values of the rabbit.;

The same report is established for the concentrations in HDLc, in VLDLc, in total lipids and in total proteins to know significant decrease for (lots) having ingested some oil oxidized only (The Lot B) and the oxidized oil supplemented by 1,5 % of vitamin E (the Lot E) and a not significant decrease for the other prizes(lots).

As for the LDLc we notice a significant increase of the LDLc for rabbits having ingested some oxidized oil only (the Lot B) and for those having ingested some oxidized oil supplemented by 1,5 % of vitamin E (the Lot E), for the other (lots) the values are low and very close to normal values

The indication of athérogénicité calculated for rabbits having ingested some oxidized oil only (the Lot B) and those having ingested some oxidized oil supplemented by 1,5 % of vitamin E (the Lot E) are very high and widely superior to the normal value, while the value of this indication of athérogénicité to the rabbits of (lots) having ingested some oxidized oil supplemented by 0,5 % of vitamin E (the Lot C) and 1 % of vitamin E (the Lot D) is situated below the normal value

In summary we can conclude that the addition of vitamin E in doses of 0,5 % and 1 % provokes a restoring of the studied parameters and their tendency towards the normal values (effect oxidizing anti) While the ingestion of the vitamin E in a 1,5 % concentration provokes an estrangement of the values of the parameters studied by the normal values meaning an outbreak of demonstrations of lipotoxicité (effect oxidizing pro)

Keywords:

Oxidized oil, Rabbit, growth, lipids sériques, Vitamin E, anti oxidizer, oxidizing pro

ملخص

هدفين يميزين عملنا:

تأكيد الأثر ضد المؤكسد للفيتامين E على الدسم الدموية و على بعض الميزات البنيوية عند الأرنب النيوزيلندي الأبيض عندما نضيف جرعات نوعا ما فوق العادية (تقارب الجرعات المتفق عليها) في وجبات الغذاء العادية مضاف إليها زيت مؤكسدة بالحرارة (زيت القلي).

مناقشة الأثر المحفز للأوكسدة للفيتامين E عند إضافة جرعات اكبر من العادية (اكبر من الجرعات المعترف بها) في نفس الوجبات الغذائية.

للوصول إلى أهدافنا قمنا باتباع المخطط التجريبي الذي يتضمن المراحل التالية:

المرحلة الأولى : تهدف إلى تبيان حالة تلف و فساد (الأوكسدة) زيت عباد الشمس المستعملة في القلي عند درجة حرارة 198°م لمدة 15 دقيقة و 20 دورة من القلي. في نهاية هذه العملية الزيت يظهر لون نحاسي, ملمس ثقيل, رائحة حامضة, دليل حموضة 1.35 مغ من OKH / غ من الزيت , درجة أكسدة 11.81 ميلي إيك من O₂ / كغ من الزيت , دليل اليود 98.05 , كثافة 0.52 غ/مل من الزيت , درجة ترسب 1.47 , وجود مواد الأوكسدة الأولية (بقيمة 0.13) و المواد الثانوية للأوكسدة (بقيمة 0.932).

المرحلة الثانية : تهدف إلى تبيان اثر هذه الزيت المؤكسدة بالحرارة الممزوجة في الوجبات الغذائية العادية بنسبة 10% للمجموعة B على نمو الأرنب و بعض الدسم الدموية و أيضا التغيرات الملاحظة في الوجبات الغنية بالفيتامين E بنسبة 0.5% للمجموعة C, 1% للمجموعة D و 1.5% للمجموعة E بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة ذات نضام غذائي عادي ممزوج مع 10% من الزيت الطازجة (المجموعة A). أجريت مقارنة أيضا مع القيم البيوكيميائية العادية للأرنب .

التجربة دامت 45 يوم مع العلم أن كل مجموعة تتكون من 5 أرناب من نوع نيوزيلندي البيض ذات السن 35 يوم .

النتائج المحصل عليها تظهر في :

- تأخر في نمو, تضخم الكبد, كما أن دليل التضخم مرتفع عند الأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة فقط (المجموعة B) و عند الأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة الممزوجة مع الفيتامين E بنسبة 1.5% (المجموعة E)

- إكتساب وزن ناتج عند الأرناب التي تناولت الزيت الطازجة بنسبة 10% (المجموعة A), دليل تضخم الكبد عند الأرناب التي تناولت 0.5% (المجموعة C) و 1% من الفيتامين E (المجموعة D) تتقارب جدا.

- فيما يخص الدهون الدموية نلاحظ تغير في الكولستروليميا و التريغليسيديميا بالنسبة للأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة فقط و المجموعة التي تناولت الزيت المؤكسدة الممزوجة مع الفيتامين E بنسبة 1.5%. الانخفاض في نسبة تركيز الكولسترول و التريغليسيريدي بالنسبة للمجموعة التي تناولت الزيت المؤكسدة الممزوجة مع الفيتامين E بنسبة 0.5% و 1% ليست معتبرة و القيم تتقارب جدا مع القيم العادية للأرنب. نفس الملاحظة أجريت بالنسبة لتركيز LDLV, LDH, الدسم الإجمالية و البروتينات الإجمالية حيث لوحظ انخفاض معتبر عند أرناب المجموعة التي تناولت الزيت المؤكسدة فقط و المجموعة التي تناولت الزيت المؤكسدة الممزوجة مع 1.5% من الفيتامين E و انخفاض غير معتبر في التراكيذ المذكورة سابقا عند المجموعات الأخرى. - بالنسبة لتركيز LDL نلاحظ ارتفاع معتبر عند الأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة فقط و التي مزجت مع 1.5% من الفيتامين E, أما بالنسبة للمجموعات الأخرى كانت القيم منخفضة و تتقارب جدا مع القيم العادية.

- دليل تشحم الشرايين للأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة فقط و الممزوجة مع 1.5% من الفيتامين E جد مرتفع و كبير على القيم العادية, غير أن هذا الدليل عند الأرناب التي تناولت الزيت المؤكسدة الممزوجة مع الفيتامين E بنسبة 0.5% و 1% كان أقل من القيم العادية.

لتلخيص نستطيع الاستنتاج أن إضافة الفيتامين E بجرعة 0.5% و 1% يحدث تصليح بالنسبة للميزات المدروسة و ميلها إلى القيم العادية (اثر ضد مؤكسد).

غير أن تناول الفيتامين E بجرعة 1.5% يحدث تباعد في قيم الميزات المدروسة مقارنة مع القيم العادية و الذي يظهر ازدياد في خطر التسمم عن طريق الدسم (اثر محفز للأوكسدة).

الكلمات المفتاح:

أرنب , دسم دموية , زيت مؤكسدة بالقلي , ضد مؤكسد , فيتامين E , محفز أكسدة و نمو.

Page 42: [1] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :11 pt, Police de script complexe :11 pt, Gras		
Page 42: [2] Mis en forme	client	02/01/2001 07:45:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [3] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [4] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [5] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [6] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [7] Mis en forme	client	02/01/2001 07:46:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [8] Mis en forme	client	02/01/2001 07:47:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [9] Mis en forme	client	02/01/2001 07:47:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [10] Mis en forme	client	02/01/2001 07:48:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [11] Mis en forme	client	02/01/2001 07:48:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [12] Mis en forme	client	02/01/2001 07:48:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [13] Mis en forme	client	02/01/2001 07:48:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [14] Mis en forme	client	02/01/2001 07:48:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [15] Mis en forme	client	02/01/2001 07:51:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 42: [16] Mis en forme	client	02/01/2001 07:56:00
Police :10 pt, Police de script complexe :10 pt, Gras		
Page 43: [17] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman		
Page 43: [18] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman		
Page 43: [19] Mis en forme	client	02/01/2001 08:03:00
Police :(Par défaut) Times New Roman, Gras, Police de script complexe :Times New Roman, Gras		
Page 43: [20] Mis en forme	client	02/01/2001 08:03:00
Police :(Par défaut) Times New Roman, Gras, Couleur de police : Automatique, Police de script complexe :Times New Roman, Gras		
Page 43: [21] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Non Gras, Non souligné, Police de script complexe :Times New Roman, 12 pt, Gras		
Page 43: [22] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [23] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [24] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [25] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, 12 pt, Non Gras, Non souligné, Police de script complexe :Times New Roman, 12 pt, Gras

Page 43: [26] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [27] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [28] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman

Page 43: [29] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Gras, Police de script complexe :Times New Roman, Gras

Page 43: [30] Supprimé	client	02/01/2001 08:01:00
-------------------------------	---------------	----------------------------

Page 43: [31] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Gras, Police de script complexe :Times New Roman, Gras

Page 43: [32] Mis en forme	client	02/01/2001 08:00:00
-----------------------------------	---------------	----------------------------

Police :(Par défaut) Times New Roman, Police de script complexe :Times New Roman