



**ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES
ECOLOGIQUES, VETERINAIRES,
AGRONOMIQUES ET BIOINGENIERIES**

THESE

Présentée pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

Spécialité

SCIENCE AGRONOMIQUE : PRODUCTIONS ANIMALES

Par

Fowad AKRAIM

**EFFET DU TRAITEMENT THERMIQUE DES GRAINES DE LIN SUR
LA BIOHYDROGENATION RUMINALE DES ACIDES GRAS
POLYINSATURES ET LA QUALITE DE LA MATIERE GRASSE DU
LAIT DE VACHE**

Soutenu publiquement le 06 octobre 2005 devant la commission d'examen :

Examineurs :

Madame C. Bayourthe
Monsieur F. Enjalbert
Monsieur P. Weill

Rapporteurs :

Monsieur J. P. Braun
Monsieur M. Doreau
Monsieur P. Schmidely

Salmah

*A toi seule je dédie ce travail,
dors en paix à Raswana,
ton souhait s'est accompli.*

REMERCIEMENTS

A notre jury de thèse,

Madame C. Bayourthe,

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.

Monsieur F. Enjalbert,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et avoir dirigé ma thèse. Son soutien, l'énergie, l'enthousiasme et l'intuition scientifique qui le caractérisent, m'ont permis d'accomplir ce travail.

Monsieur M. Doreau,

Directeur de Recherche à l'Institut National de Recherche Agronomique,

Monsieur J. P. Braun,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

Monsieur P. Schmidely,

Professeur à l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon,

qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'être rapporteurs de cette thèse.

Monsieur P. Weill,

Directeur scientifique de la société Valorex, qui a aidé à la réalisation de ce travail et a accepté de participer à ce jury.

Mes premiers remerciements iront à mon pays pour la bourse de thèse dont j'ai bénéficié.

Ce travail n'aurait pas pu aboutir sans Marie-Claude Nicot, qui a mis au point les méthodes d'analyses, et qui a pris le temps de me guider et de me conseiller tout au long mon travail au laboratoire. Qu'elle trouve ici ma sincère gratitude.

Je remercie aussi Pierre Juaneda de l'Unité FLAVIC de l'INRA de Dijon pour son aide à l'identification d'acides gras.

Mes remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire d'Alimentation de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour le climat d'amitié que nous avons partagé tout au long mes études à Toulouse, avec des remerciements particuliers à Trogeler-Meynadier Annabelle pour ses conseils précieux qui m'ont beaucoup aidé à la rédaction de cette thèse.

Je tiens à remercier vivement les personnels de la ferme de Borret de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse et plus particulièrement M. Dufresne pour son aide et l'entretien des animaux. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je dois une grande reconnaissance à ma femme Nadya pour le soutien sans limite qu'elle m'a accordé, malgré la rupture familial que nous avons vécue pendant plus de trois ans et malgré ses lourdes charges. Elle essaye toujours de rendre notre vie quotidienne plus agréable.

Je n'oublierai pas d'adresser ma grande gratitude à mon père et ma mère pour m'avoir déchargé de toute responsabilité familiale et donc m'avoir laissé me consacrer à plein temps à mes études ; sans leur aide cette thèse n'aurait pas pu être réalisée. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

SOMMAIRE

Introduction Générale	10
Etude bibliographique	12
1. Sources de lipides en alimentation animale et impact des matières grasses d'origine animale sur la santé humaine	13
1.1. Rappels biochimiques	13
1.2. Sources de lipides dans la ration des ruminants	14
<u>1.2.1. Sources non spécifiques</u>	14
<u>1.2.2. Sources spécifiques</u>	15
1.2.2.1. <i>Les sources spécifiques de lipides animaux</i>	15
1.2.2.2. <i>Les sources spécifiques de lipides végétaux</i>	15
1.3. Nature des matières grasses et qualité diététique des produits pour l'homme	15
<u>1.3.1. Effets des acides gras sur la santé humaine</u>	16
<u>1.3.2. Application aux produits laitiers</u>	19
2. Utilisation digestive et métabolique des matières grasses chez les ruminants	20
2.1. Digestion ruminale des lipides alimentaires	20
<u>2.1.1. Hydrolyse des triglycérides et des glycolipides</u>	20
<u>2.1.2. Biohydrogénation des acides gras insaturés</u>	20
2.1.2.1. <i>Voies biochimiques</i>	20
2.1.2.2. <i>Importance</i>	23
2.1.2.3. <i>Facteurs affectant la biohydrogénation</i>	24
<u>2.1.3. Conséquences d'adjonction de la matière grasse insaturée sur la digestion ruminale</u>	26
2.1.3.1. <i>Sur la population microbienne</i>	28
2.1.3.2. <i>Sur la digestion des glucides</i>	28
2.1.3.3. <i>Nature de la matière grasse</i>	28
2.1.3.4. <i>Effet régime</i>	29
2.1.3.5. <i>Effet espèce</i>	29
<u>2.1.4. Traitements des matières grasses modifiant la digestion ruminale</u>	30
2.1.4.1. <i>Protection chimique</i>	30
2.1.4.2. <i>Protection physique</i>	31

2.2. Digestion post ruminale des lipides alimentaires	33
2.3. Le transport de lipides dans le sang	35
2.4. Le métabolisme mammaire des AG	36
3. Conséquences de l'addition de lipides à la ration des vaches en lactation	38
3.1. Intérêts des suppléments lipidiques	38
<u>3.1.1. Source d'énergie</u>	38
<u>3.1.2. Amélioration des performances de reproduction</u>	39
<u>3.1.3. Amélioration de la tolérance à la chaleur</u>	39
3.2. Conséquence sur la production et la composition chimique du lait	40
<u>3.2.1. Sur la production de lait</u>	40
<u>3.2.2. Sur les taux butyreux et protéique du lait</u>	41
<u>3.2.3. Sur le profil des AG du lait</u>	42
Etude expérimentale	46
1. Matériels et méthodes généraux	47
1.1. Sources de matière grasse	47
1.2. Animaux	47
1.3. Analyses chimiques	47
<u>1.3.1. Analyses chimiques générales</u>	48
<u>1.3.2. Dosage des acides gras</u>	48
<i>1.3.2.1. Chromatographie sur couche mince</i>	49
<i>1.3.2.2. Chromatographie phase gazeuse</i>	50
<u>1.3.3. Dosage des AGV et de l'ammoniac</u>	53
<u>1.3.4. Détermination des taux butyreux et protéique</u>	54
1.4. Calculs et analyses statistiques	54
2. Partie I. Effets du conditionnement et de l'extrusion de graines de lin sur la biohydrogénation in vitro	56
2.1. Matériels et méthodes spécifiques	56
<u>2.1.1. Source de matière grasse et milieu d'incubation</u>	56
<u>2.1.2. Protocole</u>	57
<u>2.1.3. Planning des incubations</u>	58
2.2. Résultats	59

<u>2.2.1. Effet du conditionnement et de l'extrusion de graines de lin sur la cinétique de disparition des acides gras polyinsaturés : vitesse de biohydrogénation et temps de latence</u>	59
<u>2.2.2. Effet des traitements du lin sur les proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3</u>	62
<u>2.2.3. Effet des traitements du lin sur les intermédiaires de biohydrogénation</u>	64
2.3. Discussion	65
<u>2.3.1. Vitesse de biohydrogénation</u>	65
<u>2.3.2. Intermédiaires de biohydrogénation</u>	66
3. Partie II. Effets du conditionnement et de l'extrusion de graines de lin sur la fermentation ruminale et la biohydrogénation ruminale des acides gras polyinsaturés : études sur des vaches fistulées	69
3.1. Matériels et méthodes spécifiques	69
<u>3.1.1. Protocole expérimental</u>	69
<u>3.1.2. Les régimes</u>	69
<u>3.1.3. Prélèvements de l'expérience <i>in vivo</i></u>	70
<u>3.1.4. Protocole de l'expérience <i>in situ</i></u>	71
3.2. Effet des traitements du lin sur la fermentation ruminale	72
<u>3.2.1. Résultats</u>	71
<u>3.2.2. Discussion</u>	77
3.3. Effet des traitements du lin sur la biohydrogénation ruminale	78
<u>3.3.1. Résultats</u>	78
3.3.1.1. <i>In situ : vitesse de biohydrogénation et temps de latence</i>	78
3.3.1.2. <i>In situ : proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2, C18:3 et biohydrogénation des acides gras insaturés</i>	80
3.3.1.3. <i>In situ : intermédiaires de biohydrogénation</i>	80
3.3.1.4. <i>Contenu ruminal : proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3</i>	82
3.3.1.5. <i>Contenu ruminal : proportions des intermédiaires de biohydrogénation</i>	83
3.3.1.6. <i>Contenu duodéal : proportions des AG C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3</i>	85
3.3.1.7. <i>Contenu duodéal : proportions des intermédiaires de biohydrogénation</i>	85

<u>3.3.2. Discussion</u>	87
3.2.2.1 <i>Effet des traitements du lin sur la cinétique de disparition des AGPI in situ : vitesse de biohydrogénation et temps de latence</i>	87
3.3.2.2. <i>Effet des traitements du lin sur la biohydrogénation des AGI et les proportions des AG C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans les sachets et les contenus ruminal et duodéal</i>	88
3.3.2.3. <i>Effet des traitements du lin sur les proportions des intermédiaires de biohydrogénation in situ et dans les contenus ruminal et duodéal</i>	89
3.4. Comparaison des méthodes in vitro, in situ et in vivo pour l'étude des effets des traitements du lin sur la biohydrogénation	92
<u>3.4.1. Effet propre de la méthode d'étude</u>	92
<u>3.4.2. Interaction entre méthode d'étude et traitement des graines de lin</u>	94
4. Partie III. Effets d'un régime alimentaire supplémenté avec des graines de lin crues ou extrudées sur la composition du plasma en acide gras et la production et la composition du lait	96
4.1. Matériels et méthodes spécifiques	96
<u>4.1.1. Protocole expérimental et ration</u>	96
<u>4.1.2. Mesures et prélèvements</u>	98
4.2. Résultats	98
<u>4.2.1. Production et composition du lait</u>	98
<u>4.2.2. Plasma</u>	99
4.2.2.1. <i>Profil des AG (autres que les trans-C18:1)</i>	99
4.2.2.2. <i>Profil des AG trans-C18:1</i>	100
<u>4.2.3. Lait</u>	101
4.2.3.1. <i>Profil des AG (autres que des AG trans-C18:1)</i>	101
4.2.3.2. <i>Profil des AG trans-C18:1</i>	103
4.3. Discussion	103
<u>4.3.1. Production et composition du lait</u>	103
<u>4.3.2. Profil des AG du plasma et du lait</u>	104
<u>4.3.3. Les AG trans-C18:1 dans le plasma et dans le lait</u>	107
Discussion générale, conclusion et perspectives	110
Références bibliographiques	115

LISTE DES PUBLICATIONS

- 1- Akraim, F., M.C. Nicot, P. Weill et F. Enjalbert.** 2005. Effects of preconditioning and extrusion of linseed on the ruminal biohydrogenation of fatty acids. 1. In vivo studies, Anim. Res. (accepté).
- 2- Akraim, F., M.C. Nicot, P. Weill et F. Enjalbert.** 2005. Effects of preconditioning and extrusion of linseed on the ruminal biohydrogenation of fatty acids. 2. In vitro and in situ studies, Anim. Res. (accepté).
- 3- Akraim, F., M. C. Nicot, P. Juaneda et F. Enjalbert.** 2005. Conjugated linolenic acid (CLnA), conjugated linoleic acid (CLA), and other biohydrogenation intermediates in plasma and milk of cows fed raw or extruded linseed. J. Dairy Sci. (soumis).

INTRODUCTION GENERALE

Nos connaissances au sujet de l'impact des lipides alimentaires sur la santé humaine ont considérablement évolué ces dernières années. Il est généralement recommandé de privilégier un régime pauvre en matière grasse saturée et en cholestérol. En effet, les aliments riches en acides gras saturés (AGS) et en acide gras *trans*-octadécénoïque (*trans*-C18:1) favorisent les maladies cardiovasculaires par leurs effets athérogènes (William, 2000 ; Semma, 2002), alors que des travaux expérimentaux et épidémiologiques suggèrent que la consommation régulière d'acides gras polyinsaturés (AGPI) de la famille des oméga-3 (α -linoléique C18:3, éicosapentaénoïque EPA, docosahexaénoïque DHA) serait associée à des effets cardiovasculaires bénéfiques.

Parmi les denrées alimentaires, le lait et les produits laitiers jouent un rôle fondamental dans l'alimentation humaine. La matière grasse du lait a longtemps souffert d'une mauvaise image, parce qu'elle contient beaucoup d'AGS, et parce qu'elle est généralement pauvre en AGPI, avec moins de 1% de C18:3 (Kennelly, 1996). Elle a donc été assimilée à une matière grasse saturée néfaste pour l'organisme. Or, le profil des acides gras (AG) du lait peut être modifié par l'alimentation des animaux. Ainsi, l'utilisation de graines de lin (riche en C18:3) dans l'alimentation animale augmente modérément la teneur du lait en C18:3 mais abaisse aussi la proportion des AGS (Petit et al., 2004).

La biohydrogénation ruminale des AGPI est le principal obstacle à l'enrichissement du lait en AGPI. Or des traitements thermiques, dont l'extrusion, semblent protéger les graines oléagineuses de l'action des micro-organismes ruminants (Chouinard et al., 1997a).

Cette étude a pour objectif d'essayer d'améliorer les qualités diététiques de la matière grasse du lait de vache, en tentant d'augmenter la proportion de C18:3, chef de file de la famille des oméga-3, et de réduire la part des AGS dans la matière grasse du lait, par l'utilisation de graines de lin dans la ration des vaches. Les graines de lin ont été retenues comme source de matière grasse car elles sont riches en C18:3. Cette étude a également pour but d'approfondir nos connaissances sur la biohydrogénation de C18:3 et de ses intermédiaires réactionnels, et de déterminer l'effet du traitement thermique des graines de lin sur ces variables. A cette fin, les proportions des différents AG et isomères *trans*-C18:1 ont été déterminées dans les contenus digestifs, dans le plasma et dans le lait de vache.

Cette étude se divise en deux parties, une partie bibliographique et une partie expérimentale. Nous avons résumé dans la première partie les travaux concernant les propriétés diététiques

des AG en général et de C18:3 plus spécifiquement, la biohydrogénation ruminale de C18:3 et ses intermédiaires, les traitements des graines oléagineuses permettant de limiter l'hydrogénation ruminale des AGPI, la digestion post ruminale et le métabolisme mammaire des AG.

La partie expérimentale commence par une présentation détaillée des matériels et des méthodes utilisés dans nos expériences, le facteur étudié étant le traitement thermique des graines de lin : conditionnement ou extrusion en comparaison avec des graines de lin crues. La première partie présente une expérience *in vitro* réalisée afin d'avoir une première idée sur l'effet des traitements des graines de lin avant de les tester *in vivo*. Dans la deuxième partie, les résultats obtenus *in vitro* ont été vérifiés *in situ* et *in vivo* (dans les contenus ruminal et duodénal) sur des vaches tarées porteuses de fistules ruminale et duodénale (ultérieurement qualifiées de vaches fistulées pour simplifier). Dans la dernière partie, nous avons retenu le traitement par extrusion pour comparer les graines extrudées avec des graines de lin crues dans un essai en lot sur des vaches en lactation, afin de vérifier l'effet réel de ce traitement sur la teneur en C18:3 et ses principaux intermédiaires de biohydrogénation dans le lait.

Etude bibliographique

1. SOURCES DE LIPIDES EN ALIMENTATION ANIMALE ET IMPACT DES MATIERES GRASSES D'ORIGINE ANIMALE SUR LA SANTE HUMAINE

1.1. Rappels biochimiques

Les AG se composent d'une chaîne hydrogénocarbonée terminée d'un côté par un groupement méthyl (CH_3) et de l'autre par un groupement carboxylate COO^- . Les AG sont nommés d'après le nombre total d'atomes de carbones qu'ils possèdent (Clarenburg, 1992). Les AG sont saturés ou insaturés. Les acides gras insaturés (AGI) contiennent une (AG mono-insaturés AGMI) ou plusieurs (AGPI) doubles liaisons puis peuvent avoir une configuration *cis* ou *trans*. Avec une configuration *cis* les deux atomes d'hydrogène sont du même côté de la double liaison, au contraire de la configuration *trans* où les deux atomes d'hydrogène sont sur des côtés opposés (Semma, 2002). Selon la commission internationale de nomenclature biochimique, la position de la première double liaison est déterminée en partant de l'extrémité carboxylique (nomenclature delta) (Cuvelier et al., 2004). Il existe une deuxième nomenclature, nomenclature oméga, fondée sur la position de la première double liaison à partir de l'extrémité méthyle ; cette nomenclature est la plus utilisée en biologie (Cuvelier et al., 2004). Ainsi, l'acide linoléique (C18:2) ayant une première double liaison sur le carbone 6 en partant de l'extrémité méthyle, appartient à la famille oméga-6, et C18:3 l'ayant sur le carbone 3, appartient à la famille oméga-3. La nomenclature oméga spécifie la famille biologique de l'AG.

Les enzymes de mammifères ne peuvent pas désaturer les AG entre l'extrémité méthyle et le carbone 9. Par conséquent, les AGPI (C18:2 et C18:3), qui jouent des rôles physiologiques importants dans l'organisme proviennent forcément de la ration (Clarenburg, 1992). Une fois absorbés, C18:2 et C18:3 peuvent être métabolisés par des réactions de désaturations et d'élongations successives, en dérivés actifs plus longs et plus insaturés (Figure 1). Les principaux AGPI longs ainsi formés sont l'acide arachidonique (AA) pour la famille oméga-6, et EPA et DHA pour la famille oméga-3 (William, 2002).

Compte tenu du rôle important de EPA et DHA dans l'organisme des mammifères, la transformation de C18:3 en ces AG a été étudiée. En général, la conversion de C18:3 en EPA et DHA est lente (William, 2000 ; Deaville et al., 2004), et peut être déprimée lorsque le repas

contient une quantité élevée de C18:2, car ces deux AG sont en compétition pour la Δ -6 désaturase (William, 2000).

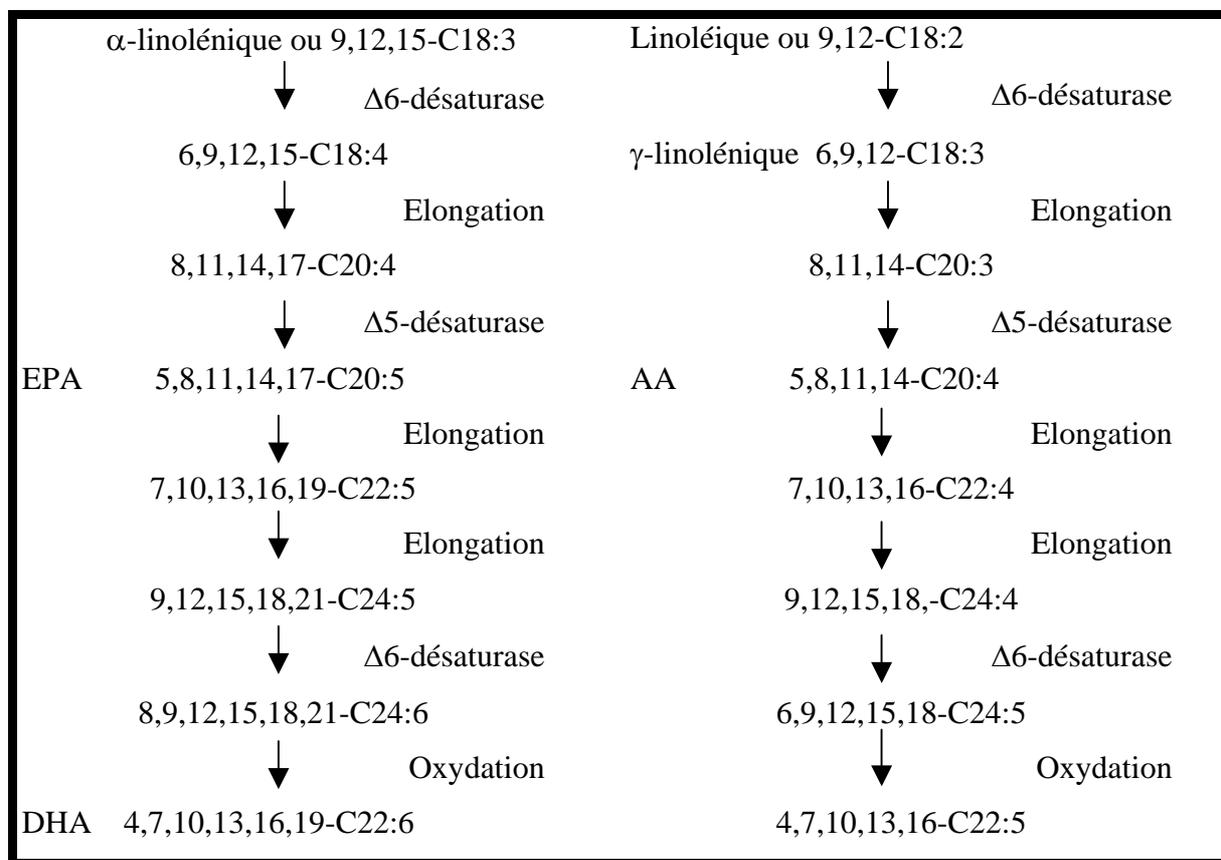


Figure 1. Conversion des AG C18:2 et C18:3 en AGPI à longue chaîne (Williams, 2000).

1.2. Sources de lipides dans la ration des ruminants

1.2.1. Sources non spécifiques

Les aliments riches en lipides ne font pas partie du régime habituel des ruminants. Une ration pour vaches en lactation contient en moyenne 3% de matière grasse, majoritairement sous forme de glycolipides et des phospholipides, ceux-ci constituant environ 95% des lipides des feuilles. L'acide gras dominant est C18:3 qui représente entre 55 et 65% des AG de l'herbe (Bauchart et al., 1985 ; Harfoot et Hazlewood, 1988).

L'ensilage d'herbe a généralement la même quantité d'AG totaux et de C18:3 que l'herbe fraîche mais le foin a une teneur plus faible en AG totaux (1%) et en C18:3 (17% des AG) (Doreau et Poncet, 2000).

Des sources spécifiques de lipides d'origine animale ou végétale peuvent être ajoutées à la ration.

1.2.2. Sources spécifiques

1.2.2.1. Les sources spécifiques de lipides animaux

Les matières grasses provenant d'animaux terrestres sont sous forme de graisse, par exemple le suif et le saindoux, et elles contiennent surtout des AGS et des AGMI à 16 et 18 carbones. Les lipides d'animaux aquatiques sont sous forme d'huiles et sont riches en AGPI longs (Chilliard, 1993).

1.2.2.2. Les sources spécifiques de lipides végétaux

Les graines oléagineuses et les huiles végétales ont des proportions élevées d'AGMI et d'AGPI, et les graisses (coprah, palmiste) issues des fruits de palmiers sont riches en AGS. Dans les céréales, les graines oléoprotéagineuses et les tourteaux, les triglycérides représentent environ 98% des lipides totaux et ils sont composés à 95% d'AG (Bauchart et al., 1985). Les céréales et les graines protéagineuses ont des teneurs en matière grasse généralement faibles excepté le maïs qui en contient 4,5% et les lupins 8%. Leurs compositions en AG sont voisines et caractérisées par un pourcentage élevé de C18:2, 50% au moins, et un pourcentage faible d'AGS, 20% au plus, principalement de l'acide palmitique (C16:0) (Bauchart et al., 1985 ; Morand-Fehr et Tran, 2001).

Les graines oléagineuses contiennent surtout du C18:2 et de l'acide oléique (*cis*-9C18:1), leur composition en AG est caractéristique de l'espèce végétale (Morand-Fehr et Tran, 2001). Par exemple: les graines de colza sont riches en *cis*-9C18:1, et celles de soja en C18:2. Les graines de lin contiennent majoritairement du C18:3, qui représente environ 57% des AG totaux (Palmquist et Jenkins, 1980 ; Morand-Fehr et Tran, 2001).

Les graines oléagineuses peuvent être ajoutées à la ration des animaux, sous forme crue ou après traitement thermique, cet aspect sera détaillé dans le texte (2.1.4.2).

1.3. Nature des matières grasses et qualité diététique des produits pour l'homme

Intégrer des lipides dans une ration pour vaches laitières peut modifier le profil des AG du lait, comme il sera détaillée dans un paragraphe suivant (3.2.3). Les connaissances accumulées au

cours de la deuxième moitié du siècle dernier au propos des effets potentiels de la matière grasse sur la santé humaine (effets négatifs ou positifs) ont permis de classer les aliments en mauvais ou bons pour la santé, selon la nature de la matière grasse qu'ils contiennent. Les produits laitiers et la viande sont dans ce cadre plutôt de mauvais aliments. Mais l'alimentation des animaux peut modifier la teneur et la composition de la matière grasse de ces produits, notamment en augmentant leur teneur en certains AG ayant des propriétés spécifiques positives sur la santé humaine. Elle peut être aussi utilisée pour améliorer ces produits et changer leur image auprès des consommateurs.

1.3.1. Effets des AG sur la santé humaine

Certains AG pourraient posséder des propriétés négatives ou positives sur la santé. Dans ce texte nous aborderons succinctement les effets des principaux AG du lait, et plus spécifiquement ceux des AG oméga-3.

L'acide butyrique (C4:0), uniquement présent dans le lait de ruminants, a des propriétés anticarcinogéniques intéressantes. Cet acide est un inducteur efficace de la différenciation des cellules leucémiques dont il ralentit la prolifération, et il induit des changements morphologiques des cellules de carcinomes du sein chez la femme (Abe et Kufe, 1984). Chez le rat, l'acide butyrique empêche le développement de carcinome mammaire (revue dans Parodi, 1999).

Les AG qui augmentent les concentrations plasmatiques en cholestérol total et en LDL-cholestérol ou « mauvais » cholestérol (les LDL sont des lipoprotéines impliquées dans le transport du cholestérol d'origine exogène et endogène vers les tissus extra-hépatiques) sont les acides laurique (C12:0), myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) ; ils sont donc des facteurs favorisant le risque de maladies cardiovasculaires (revue dans Williams, 2000). En revanche, l'acide stéarique semble être efficace en abaissant la concentration du cholestérol plasmatique quand il remplace l'acide palmitique dans le régime (Bonanome et Grundy, 1988). L'acide oléique (*cis*-9C18:1) diminue la cholestérolémie, mais cet effet reste inférieur à l'effet des AGPI. Le remplacement des AGS par du *cis*-9C18:1 dans l'alimentation réduit la cholestérolémie chez l'homme (Williams et al., 1999). Au contraire, les *trans*-C18:1 semblent plutôt favoriser les maladies cardiovasculaires (Semma, 2002). Ces acides gras n'augmentent pas seulement le LDL cholestérol mais aussi diminuent le HDL cholestérol (Mensink et Katan, 1990). Homler (1998) a passé en revue des études sur le métabolisme des *trans*-C18:1, dont la

plupart comparaient le *cis*-9C18:1 aux *trans*-C18:1. Dans ces études le *trans*-C18:1 étudié a en général été le *trans*-9C18:1, et les résultats obtenus ont été extrapolés à l'ensemble des *trans*-C18:1. Cependant, la position de la double liaison est très importante en ce qui concerne l'effet biologique de ces isomères, et donc les effets générés par le *trans*-9C18:1 ne peuvent pas forcément être extrapolés à tous les *trans*-C18:1 (Bauman, 2004). Dans les produits des ruminants l'acide *trans*-vaccénique (*trans*-11C18:1) est l'isomère principal des *trans*-C18:1 (Precht et Molkentin, 1996). Hodgson et al. (1996) ont montré que l'ingestion de *trans*-10C18:1 et *trans*-9C18:1 (mais pas de *trans*-11C18:1) est positivement liée avec les maladies cardiovasculaires.

Le C18:2 (chef de file de la famille oméga-6) est indispensable à la synthèse de AA (Figure 1), présent principalement dans les phospholipides des membranes cellulaires et précurseur des eicosanoïdes (Klarenburg, 1992). L'isomère conjugué de C18:2, ou CLA (Acide Linoléique Conjugué, *cis*-9,*trans*-11C18:2) a largement attiré l'attention ces dernières années par sa propriété anti-cancérogène, mais aussi anti-athérogène, anti-lipogénique et immunomodulatrice (Parodi, 1999).

Le C18:3 (chef de file de la famille oméga-3) a également des effets bénéfiques sur la santé humaine. Les études épidémiologiques et les expériences avec intervention nutritionnelle suggèrent que C18:3 est un agent cardio-protecteur majeur (De Lorgeril et Salen, 2004). L'étude de Lyon, qui a évalué le bénéfice d'un régime méditerranéen riche en C18:3 chez des patients coronariens, a montré que la morbidité et la mortalité cardiovasculaires ont été abaissées suite à l'administration de produits enrichis en C18:3 (De Lorgeril et al., 1999). Elle a été confirmée par l'étude de Singh et al. (2002). L'apport nutritionnel bénéfique de C18:3 semble être d'environ 2 g/j (De Lorgeril et Salen, 2004). La recommandation d'apport a été fixée à 2 g/j chez l'homme adulte et 1,6 g/j chez la femme adulte (AFSSA, 2003).

Klein et al. (2000) ont étudié la relation entre le cancer du sein et le profil des AG dans le tissu adipeux du sein. Ils ont trouvé une relation inverse entre la concentration en C18:3 dans le tissu adipeux du sein et la présence de tumeurs cancéreuses. Par contre, ils n'ont trouvé aucune association entre les autres AG (AGS, AGMI, ou AGPI) et cette maladie. Toutefois, le *cis*-9,*trans*-11C18:2 n'était pas considéré dans cette étude. En outre, C18:3 est capable de soigner le diabète induit chimiquement chez l'animal (Suresh et Das, 2003).

Un effet important des isomères conjugués de C18:3, ou CLN (Acides Linoléiques Conjugués), a été démontré contre la leucémie (Suzuki et al., 2001) et contre le cancer du côlon (Kohno et al., 2004), mais avec des isomères présents naturellement dans les graines de certaines plantes (Kohno-Murase et al., 2004), et n'incluant pas les isomères *cis*-

9,*trans*11,*cis*15C18:3 et *trans*-9,*trans*-11,*cis*15C18:3 connus pour être présents dans le lait (Plourde, 2005). Un mélange de CLN obtenu par traitement chimique de C18:3 a montré des effets cytotoxiques contre les cellules de cancers (colorectal, hépatique, des poumons, sein et estomac) humains, les effets étaient plus importants que ceux de l'acide linoléique conjugué (Igarashi et Miyazawa, 2000). D'autre part, la masse grasse corporelle chez les femelles des rats a été significativement diminuée lorsque le régime contenait du *cis*-9, *trans*-11,*cis*-15C18:3 et du *cis*-9, *trans*-13,*cis*-15C18:3, cet effet était plus important que celui obtenu avec l'acide *cis*-9,*trans*-11C18:2 (Plourde, 2005).

De même, AA, EPA et DHA participent à de nombreuses fonctions au sein de l'organisme : fluidité membranaire, activités enzymatiques des membranes et synthèse des eicosanoïdes. Ainsi, la consommation d'un lait enrichi en EPA et DHA (par addition dans le lait) a significativement abaissé les concentrations sanguines en cholestérol total et en LDL-cholestérol, ayant ainsi un effet protecteur contre le risque de maladies cardiovasculaires (Baro et al., 2003). Par ailleurs, certaines maladies neurodégénératives, telles que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer, s'accompagnent d'une perte d'AGPI au niveau des membranes cellulaires des cellules cérébrales. Ainsi, un régime apportant une quantité suffisante d'AG omega-3 sans excès d'AG oméga-6, qui peuvent limiter la transformation de C18:3 en EPA et DHA, pourrait retarder l'apparition de ces maladies, voire engendrer une régression des symptômes cérébraux observés (Youdim et al., 2000). L'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) a fixé la limite maximale d'apport en EPA et DHA à environ 2 g/jour. Cette valeur n'est pas considérée comme une limite de sécurité pour les EPA et DHA, au-delà de laquelle il y aurait un risque, mais illustre le fait qu'il n'existe pas d'intérêt nutritionnel démontré à préconiser un apport quotidien supérieur à cette valeur (AFSSA, 2003). Aucune limite maximale d'apport en C18:3 n'a par contre été proposée.

Les êtres humains ont évolué avec un régime alimentaire composé de viande maigre, de poisson, des végétaux verts et de fruits dans lequel le rapport oméga-6/oméga-3 était environ égal à 1, tandis que dans les pays occidentaux le rapport est maintenant de 15/1 à 16,7/1 (Simopoulos, 2002). Or les eicosanoïdes issus de AA ont des propriétés opposées à celles des eicosanoïdes issus de EPA. Cette augmentation de l'ingestion d'AG oméga-6 par rapport à celle d'AG oméga-3, perturbe l'équilibre physiologique et conduit à un état prothrombotique et proinflammatoire. Le rapport optimal oméga-6/oméga-3 se situe entre 1/1 et 4/1 (Simopoulos, 2002). Dans le cadre du régime alimentaire global, il est recommandé que les apports en C18:2 soient équivalents à environ 5 fois ceux en C18:3; ce ratio s'applique aux précurseurs des AG

des deux familles et non aux dérivés à longue chaîne (EPA et DHA), en raison de l'incertitude sur les apports conseillés en EPA lorsque l'apport en ALA est optimal (AFSSA, 2003).

1.3.2. Application aux produits laitiers

La matière grasse du lait de vache contient environ 5% d'AGPI, 70% d'AGS, et 25% d'AGMI. Or, une matière grasse pour l'alimentation humaine devrait contenir 10% d'AGPI, 8% d'AGS et 82% d'AGMI (Grummer, 1991). Mais ces proportions sont impossibles à obtenir en pratique.

La consommation de lait et de beurre a été associée à un risque plus élevé de maladies cardiovasculaires dans différents pays, ceci étant lié à un effet hypercholestérolémiant de la matière grasse des produits laitiers (Noakes et al., 1996). Mais la consommation de produits laitiers à teneur réduite en AGS et à teneur élevée en AGPI permet de réduire la teneur plasmatique en cholestérol de 4,3 % par rapport à celle obtenue avec des produits laitiers classiques, et la quasi-totalité de la diminution porte sur le LDL-cholestérol (Noakes et al., 1996).

L'une des sources principales d'oméga-3 en alimentation animale est la graine de lin, riche en C18:3. La consommation de produits (lait, viande et œufs) issus d'animaux consommant des graines de lin extrudées fait augmenter la proportion de C18:3 dans le plasma de 0,44 à 0,93% des AG totaux et diminue le rapport oméga-6/oméga-3 (Weill et al., 2002). Or, l'augmentation de la concentration de C18:3 dans le plasma et dans le tissu adipeux des consommateurs, a un effet bénéfique sur leur santé (Klein et al., 2000 ; Suresh et Das, 2003).

2. UTILISATION DIGESTIVE ET METABOLIQUE DES MATIERES GRASSES CHEZ LES RUMINANTS

2.1. Digestion ruminale des lipides alimentaires

Les lipides consommés par les ruminants sont en général sous forme estérifiée, soit sous forme de triglycérides dans les aliments concentrés, soit sous forme de glycolipides et de phospholipides dans les fourrages verts, soit sous une forme spécifique comme les savons d'AG dans certains produits commerciaux.

Deux processus majeurs ont lieu dans le rumen, qui ont des conséquences majeures sur les composants lipidiques ingérés, leur composition et leur distribution dans le contenu duodécal et leur métabolisme ultérieur dans l'intestin. Ces deux processus sont la lipolyse des lipides alimentaires et la biohydrogénation de leurs AG insaturés.

2.1.1. Hydrolyse des triglycérides et des glycolipides

L'hydrolyse des triglycérides, des galactolipides et des phospholipides alimentaires est effectuée par les microbes dans le rumen. Cette hydrolyse est rapide, car les fractions lipidiques dominantes dans le duodénum sont des AG libres (Hawke et Silcock, 1970 ; Dawson et al., 1974). L'hydrolyse de lipides peut changer considérablement avec la quantité et la source des lipides ajoutés à la ration. Beam et al. (2000) ont trouvé *in vitro* que la vitesse de lipolyse de l'huile de soja baissait de 41,4%/h à 22,6%/h quand la quantité d'huile ajoutée augmentait de 2% à 10%. D'autre part la vitesse de lipolyse obtenue avec 10% d'huile de soja était plus élevée que celle obtenue avec 10% de suif (Beam et al., 2000).

2.1.2. Biohydrogénation des AG insaturés

2.1.2.1. Voies biochimiques

Après avoir été libérés, les AGI subissent dans le rumen un processus de biohydrogénation. Les bactéries sont les principales responsables de la biohydrogénation des AGI (Harfoot et Hazlewood, 1988), réalisée dans le rumen et à un moindre degré dans l'intestin (Ward et al.,

1964 ; Harfoot et Hazlewood, 1988). En effet, la biohydrogénation de C18:2 est négligeable quand il est incubé avec des holotriches seules (Girard et Hawke, 1978).

La biohydrogénation est rapide à condition que le pH soit supérieur à 6 (Van Nevel et Demeyer, 1996).

La voie décrite par Harfoot et Hazlewood (1988) pour la biohydrogénation de C18:3 (Figure 2), implique le changement de position de la double liaison de $\Delta 12$ en $\Delta 11$, formant le *cis-9,trans-11,cis-15* octadécatriénoïque. L'isomère triène conjugué est ensuite hydrogéné en isomère diène non conjugué *trans-11,cis-15*C18:2, à son tour être hydrogéné en *trans-11*C18:1, *cis-15*C18:1 ou *trans-15*C18:1. Seul le *trans-11*C18:1 sera hydrogéné en C18:0. La biohydrogénation complète de C18:3 en C18:0 implique deux groupes de bactéries : le groupe A, composé de bactéries capables d'hydrogéner les AGPI en *trans-11*C18:1 et le groupe B qui hydrogène le *trans-11*C18:1 en C18:0 ; la plupart des bactéries isolées du rumen des cinq différents moutons appartiennent au groupe A (Kemp et Lander, 1984). Harfoot et Hazlewood (1988) ont suggéré que la biohydrogénation complète de C18:3 en C18:0 nécessitait la présence de bactéries appartenant à ces deux groupes. Malgré qu'il reste principale, plusieurs constatations ont évoqué des améliorations sur la voie présenté sur le figure 2.

La souche *Butyrivibrio hungatie* Su6, hydrogène C18:3 jusqu'au C18:0 (Van de Vossenberg et Joblin, 2003). Or, *Butyrivibrio* est classés dans le groupe A, incapable d'hydrogéner complètement C18:3 en C18:0 d'après Harfoot et Hazlewood (1988). Ces derniers travaux remettent donc en question la classification en groupes A et B.

Les travaux expérimentaux menés *in vivo*, ont démontré que plusieurs isomères C18:3 sont produits au cours de la biohydrogénation. Dans une ration supplémentée avec de l'huile de lin, le *cis-9,cis-12,cis-15*C18:3 était le seul isomère C18:3 présent dans la ration, alors que dans le contenu duodéal les isomères non conjugués *cis-9,trans-12,cis-15*C18:3, *cis-9,trans-12,trans-15*C18:3 et *trans-9,trans-12,trans-15*C18:3 ont été trouvés (Lor et al., 2004). Kishino et al. (2003) ont signalé la formation de deux isomères C18:3 conjugués (*cis-9,trans11,cis-15*C18:3 et *trans-9,trans-11,cis-15*C18:3) lors d'incubations *in vitro* de C18:3 avec des *Lactobacillus plantarum*. Certes, *Lactobacillus plantarum* est une bactérie lactique existant dans l'ensilage, mais elle peut survivre dans le jus de rumen *in vitro* (Weinberg et al., 2003), et pourrait donc avoir des caractéristiques communes avec les bactéries ruminales.

L'acide *trans-11,cis-15*C18:2 est le diène intermédiaire principal dans la biohydrogénation de C18:3 (Body, 1976). Mais d'autres isomères ont été décrits : *trans-10,cis-15*C18:2 lors d'incubations *in vitro* de C18:3 avec des *Lactobacillus plantarum* (Kishino et al., 2003),

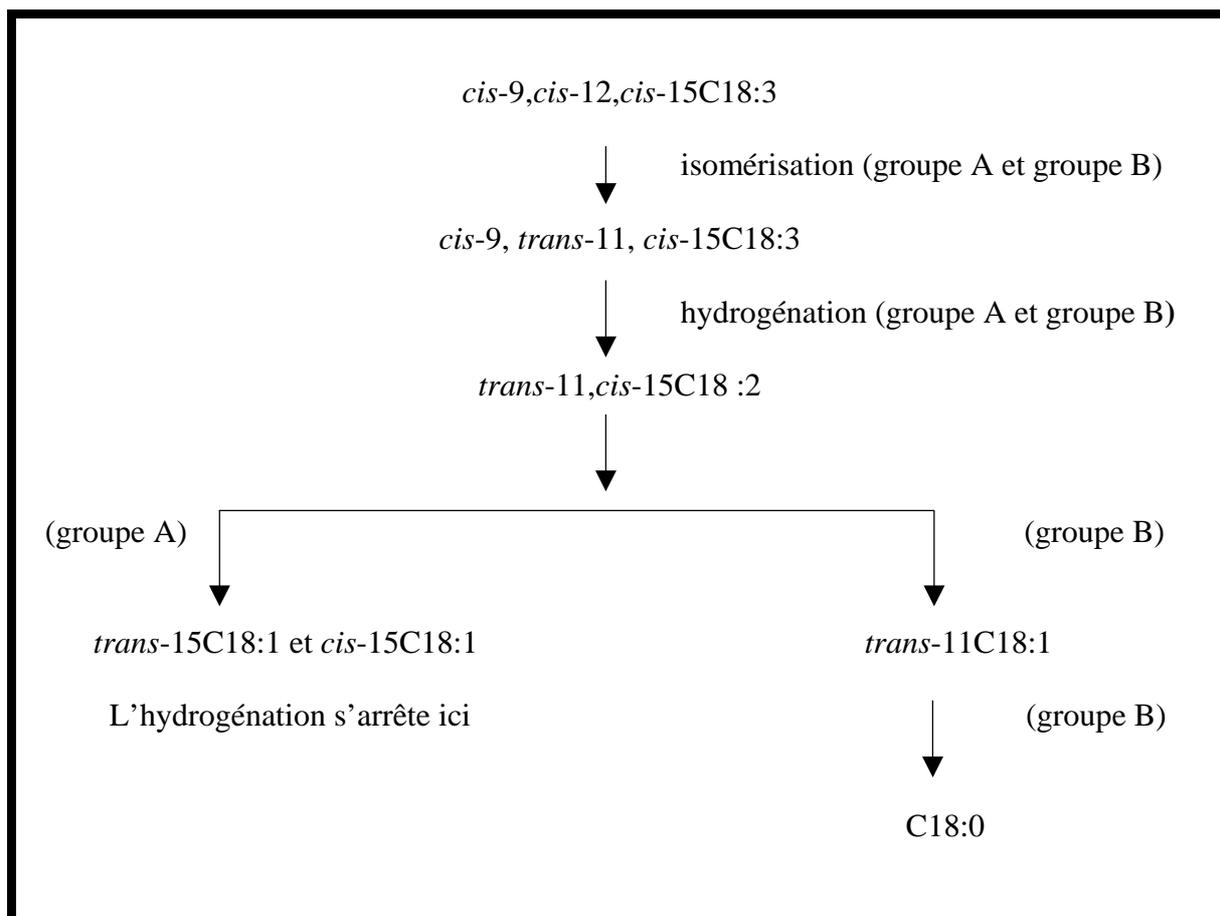


Figure 2. Biohydrogénation de C18:3 par les bactéries du rumen (d'après Harfoot et Hazlewood, 1988).

cis-9,trans-13C18:2 et *trans-11,cis-13C18:2* dans le contenu duodénal de vaches consommant une ration supplémentée avec de l'huile de lin (Loor et al., 2004 ; Loor et al., 2005). Ces diènes sont rapidement hydrogénés en acides octadécénoïques (C18:1) (Harfoot et Hazlewood, 1988).

La transformation finale des isomères C18:1, résultant de l'hydrogénation des AGPI, en C18:0 est lente (Kellens et al., 1986), et de ce fait, ils s'accumulent dans le rumen au détriment de C18:0 (Gerson et al., 1985). Les trois quarts des C18:1 ruminiaux sont des *trans*-C18:1, parmi lesquels le *trans-11C18:1* est majoritaire (Katz et Keeney, 1966). Ce résultat a été confirmé plus tard par Bickerstaffe et al. (1972) : *cis-9C18:1* est l'isomère principale de C18:1 dans la ration, alors que la configuration majeure (80-85%) des isomères C18:1 atteignant le duodénum est *trans*, le *trans-11C18:1* étant majoritaire. Ward et al. (1964) ont montré *in vitro* que le *trans-13C18:1* et le *trans-14C18:1* sont les isomères C18:1 principaux de la biohydrogénation de C18:3 par les bactéries ruminales. Des résultats *in vivo* récents

confirment que les isomères *trans*-13C18:1 et *trans*-14C18:1 sont des intermédiaires importants dans la biohydrogénation de C18:3 (Loor et al., 2004).

La biohydrogénation de C18:2 commence par une isomérisation en *cis*-9,*trans*-11C18:2, qui est ensuite hydrogénée en *trans*-11C18:1 et finalement en C18:0 (Harfoot et Hazlewood, 1988). Cependant, les rations riches en concentrés et en C18:2 (addition d'huile végétale) favorisent une accumulation de *trans*-10C18:1 (Griinari et al., 1998). Ces constatations ont permis à Griinari et Bauman (1999) de proposer une autre voie possible de biohydrogénation de C18:2: sous certaines conditions, C18:2 est isomérisé en *trans*-10,*cis*-12C18:2, l'hydrogénation de cet isomère donnant le *trans*-10C18:1, lui-même transformé finalement en C18:0. Kim et al. (2002) ont isolé une souche de *Megasphaera elsdenii* du jus de rumen d'une vache consommant une ration très riche en concentrés. Cette bactérie est capable *in vitro* d'isomériser le C18:2 pur en *trans*-10,*cis*-12C18:2.

Par ailleurs, une formation de *trans*-13C18:1, *trans*-14C18:1, *trans*-15C18:1, et *trans*-16C18:1 au cours de la biohydrogénation de C18:2 a été évoquée (Loor et al. 2002b). Ces isomères pourraient donc être communs aux voies de biohydrogénation de C18:3 et C18:2.

Des isomérisations de C18:1 sont également possibles dans le rumen. La formation de différents isomères C18:1, allant du *trans*-6C18:1 au *trans*-16C18:1 a été observée au cours de la biohydrogénation de *cis*-9C18:1 (Mosley et al., 2002). De même, la biohydrogénation de *cis*-11C18:1 par une souche de *Butyrivibrio hungatie* Su6 a conduit à un mélange de *trans*-11C18:1, *trans*-10C18:1, *trans*-9C18:1, *trans*-8C18:1, *trans*-7C18:1 et C18:0 (Van de Vossenberg et Joblin, 2003). En outre, la biohydrogénation ruminale ne transforme pas les *trans*-C18:1 directement en C18:0. L'acide *trans*-9C18:1 par exemple est isomérisé en différents *trans*-C18:1, de *trans*-6C18:1 à *trans*-16C18:1, mais également en *cis*-9C18:1 et *cis*-11C18:1 (Proell et al., 2002).

2.1.2.2. Importance

La biohydrogénation de *cis*-9C18:1 est moins complète que celle des AGPI *in vivo* (Kucuk et al., 2001 ; Scollan et al., 2001). La biohydrogénation de C18:2 est comprise entre 60 et 95%, et celle de C18:3 est très élevée et presque complète (Doreau et Ferlay, 1994). Ainsi Goosen et Mulder (1971) ont ajouté 300g d'huile de lin par jour à la ration de vaches, et ils ont constaté une transformation rapide de C18:3 en C18:0.

Malgré la biohydrogénation intense qui a lieu normalement dans le réticulo-rumen, il est évident que la composition en AGPI de la ration a une certaine influence sur la composition en

AGPI des lipides du plasma chez les moutons (Moore et al., 1968) ou chez les vaches (Goosen et Mulder, 1971). Cela peut seulement s'expliquer par une biohydrogénation ruminale incomplète des AGPI (Goosen et Mulder, 1971) : une partie des AGPI échappe à la biohydrogénation et peut alors être absorbée dans l'intestin (Moore et al., 1968 ; Doreau et Ferlay, 1994).

2.1.2.3. Facteurs affectant la biohydrogénation

Le pH ruminal, la composition de la ration et les teneurs en AGPI dans la ration affectent la biohydrogénation (tableau 1). L'effet de ces facteurs est complexe car il dépend de la nature de l'AG, et de sa teneur dans la ration, ainsi que des interactions éventuelles de cet AG avec les autres composants de la ration y compris les autres AG.

Selon Kepler et Tove (1967) l'isomérisation est optimale pour un pH compris entre 7 et 7,2. Cependant, la biohydrogénation de C18:3 n'est pas affectée par la diminution de pH : à pH 5,2 le C18:3 libre est complètement hydrogéné, tandis que l'hydrogénation de C18:2 est partiellement inhibée (Van Nevel et Demeyer, 1996). Ainsi, la biohydrogénation *in vitro* de C18:2 a été diminuée de 44 % avec un pH compris entre 5,4 et 6,2 par rapport à un pH compris entre 6,4 et 6,9 (Troegeler-Meynadier et al., 2003).

La biohydrogénation de C18:3 n'est généralement pas affectée par l'apport d'un supplément de matières grasses : elle est de 94,6% avec un régime supplémenté en matière grasse (9,9 g d'AG/100 g MS), mais ne contenant pas de C18:3, contre 92,6 % avec un régime témoin (1,91 g AG/100 g MS) (Bauchart et al., 1987).

Les composants de la ration autres que la matière grasse, influent également sur l'ampleur de la lipolyse et de la biohydrogénation. La biohydrogénation de C18:2 et C18:3 diminue avec l'augmentation de l'apport de concentrés et la diminution de l'apport de fourrages dans l'alimentation des vaches (Kalscheur et al., 1997). Par exemple, avec un régime contenant plus de 70% concentrés, la biohydrogénation est respectivement de 50% et 65% pour C18:2 et C18:3 (Chilliard et al., 2000). Cette diminution est liée à la diminution de pH induite par l'apport important de concentrés dans la ration (Kalscheur et al., 1997). Cette explication est cependant contestée par Loor et al. (2004), qui dans leur expérience utilisant des rations supplémentées en huile de lin et avec un rapport fourrages / concentrés faible (35/65) ou fort (65/35), constatèrent les mêmes effets que Kalscheur et al. (1997) sur la biohydrogénation des

Tableau 1. Biohydrogénation ruminale des AGPI lors d'un apport de lin (huile ou graines).

Référence	Espèce et stade physiologique	% de ration ¹	F : C ²	Biohydr. (%)		<i>trans</i> -C18:1 ^{3,4}	<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2 ⁴	<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2 ⁴	CLN ^{4,5}
				C18:2	C18:3				
Huile									
(Sinclair et al., 2005)	<i>In vitro</i> (à 24h d'incubation)	312 mg d'huile de lin / 200 ml	-	79,50	90,28	18,52	2,63	16,19	8,86
(Loor et al., 2004)	Vaches en lactation	3% huile de lin	65 : 35	88,80	97,10	17,19	0,06	1,13	-
(Loor et al., 2004)	Vaches en lactation	3% huile de lin	35 : 65	82,00	93,20	28,90	0,08	6,09	-
Graine									
(Chikunya et al., 2004)	Moutons	8,50% graines de lin traitées au formol (% de matière brute)	74 : 26	89,00	92,70	16,15	-	-	-
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines de lin crues	55,5 : 44,5	91,40	93,80	7,25	-	-	-
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines de lin micronisées	55,5 : 44,5	90,90	92,90	7,35	-	-	-
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines de lin extrudées	55,5 : 44,5	93,10	96,60	10,05	-	-	-
(Scollan et al., 2001)	Bœufs	21,30% graines de lin crues (% de matière brute)	60 : 40	91,00	94,80	21,37	-	-	-
(Sinclair et al., 2005)	<i>In vitro</i> (à 24h d'incubation)	826 mg de graines de lin broyées/ 200 ml	-	78,50	86,60	16,23	1,88	10,63	7,33
(Wang et al., 2002)	<i>In vitro</i> (à 24h d'incubation)	4,03 g de MG (graines de lin + Concentrés) /1200 ml	-	75	87	17,35% C18	5,02% C18	-	-
(Wang et al., 2002)	<i>In vitro</i> (à 24h d'incubation)	5,00 g de MG (graines de lin + Concentrés) /1200 ml	-	58,40	76,00	12,31% C18	2,35% C18	-	-

¹ % de la matière sèche de la ration sauf indication contraire ; ² Pourcentages de fourrages : concentrés ; ³ *trans*-C18:1 totaux ; ⁴ % des AG totaux sauf indication contraire ; ⁵ *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15C18:3

AGPI mais sans variation du pH ruminal qui était de $6,38 \pm 0,12$. Loor et al. (2004) ont alors suggéré que l'effet d'une ration riche en concentrés pouvait ne pas être liée au pH ruminal, et que la biohydrogénation ruminale serait plutôt sensible à la teneur de la ration en amidon. En effet, Gerson et al. (1985) ont montré que la lipolyse des triglycérides et la biohydrogénation de C18:2 sont diminuées lorsque la proportion de fibres diminue au profit de la proportion d'amidon, bien que ce changement dans les proportions de fibres et d'amidon n'ait pas été accompagné d'un changement significatif de pH ruminal.

La teneur en AG de la ration peut également influencer la biohydrogénation des AG. Par exemple, Troegeler-Meynadier et al. (2003) ont constaté *in vitro* que l'addition de C18:3 inhibe l'isomérisation du C18:2 en *cis-9,trans-11*C18:2. De même, la concentration initiale en un AG donné affecte sa propre biohydrogénation. Avec une concentration initiale élevée en C18:3, seulement 10,2% de la quantité initiale était convertie en C18:0 après 24 heures d'incubation dans du jus de rumen. Les produits majeurs de biohydrogénation étaient des C18:1, parmi lesquels le *cis-15*C18:1 était majoritaire, le ratio *trans / cis* était de 63 / 37. Avec une concentration initiale plus pauvre en C18:3, 63% de la quantité initiale était convertie en C18:0, et 29% en C18:1, avec un ratio *trans / cis* de 81/19 (Body, 1976). Des résultats comparables ont été trouvés *in vitro* avec C18:2 (Polan, 1964 ; Harfoot et al., 1973).

2.1.3. Conséquences de l'adjonction de matières grasses insaturées sur la digestion ruminale

Les suppléments lipidiques réduisent souvent l'intensité des fermentations ruminales et la digestion des parois cellulaires dans le rumen (tableau 2), par un effet toxique sur les micro-organismes ruminiaux. Les AG et plus particulièrement les AGPI inhibent la croissance des micro-organismes du rumen, mais cette inhibition peut être diminuée par l'addition de fibres ou d'ions calcium (Palmquist et Jenkins, 1980).

Devendra et Lewis (1974) ont proposé quatre hypothèses permettant d'expliquer cette action inhibitrice : 1) les AG enrobent les fibres alimentaires et empêchent l'adhésion des bactéries, 2) ils modifient la population microbienne par une toxicité spécifique, 3) ils inhibent l'activité microbienne par des effets sur les membranes bactériennes, 4) ils diminuent la disponibilité des cations pour les bactéries par formation de savons dans le rumen.

Tableau 2. Effet d'un apport de lin (huile ou graines) sur la fermentation et la digestion ruminale.

Référence	Espèce	(huile ou graines) % de ration ¹	F : C ²	pH	N-NH ₃ mg/l	AGV mmol/l	C2 %	C3 %	Digestibilité de NDF et ADF (%) ³
Huile									
(Ikwuegbu et Sutton, 1982)	Moutons	0%	33,33 : 66,67	6,62	284,40	64,50	64,00	18,20	ADF 44
(Ikwuegbu et Sutton, 1982)	Moutons	13 ml / j	33,33 : 66,67	6,35	158,48	62,70	60,80	26,10	ADF 28
(Ikwuegbu et Sutton, 1982)	Moutons	40 ml / j	33,33 : 66,67	6,48	105,59	65,30	52,80	36,70	ADF 18
(Ueda et al., 2003)	Vaches en lactation	0%	65,00 : 35,00	6,34	79,50	95,70	66,00	20,10	NDF 42,70 ; ADF 39,00
(Ueda et al., 2003)	Vaches en lactation	3%	65,00 : 35,00	6,44	109,30	94,80	65,80	20,70	NDF 58,20 ; ADF 57,20
(Ueda et al., 2003)	Vaches en lactation	3%	35,00 : 65,00	6,44	67,20	91,30	59,80	24,70	NDF 34,20 ; ADF 24,60
Graines									
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	0%	55,50 : 44,50	6,27	91,00	81,10	65,00	20,70	NDF 64,92 ; ADF 66,93
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines de lin crues	55,50 : 44,50	6,19	86,00	78,90	62,10	24,10	NDF 65,98 ; ADF 65,04
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines micronisées	55,50 : 44,50	6,21	85,00	78,90	62,20	24,00	NDF 63,96 ; ADF 60,03
(Gonthier et al., 2004)	Vaches en lactation	12,60% graines extrudées	55,50 : 44,50	6,29	96,00	72,90	61,00	24,20	NDF 67,71 ; ADF 66,20
(Scollan et al., 2001)	Bœufs	21,30% graines crues (% de matière brute de ration)	60,00 : 40,00	6,60	92,30	98,30	60,20	21,50	-
(Petit et al., 2003)	Vaches en lactation	13,30% graines crues	51,00 : 49,00	-	-	-	-	-	NDF 38,50 ; ADF 31,00 (digestibilité dans le tube digestif entier)
(Petit et al., 2003)	Vaches en lactation	11,40% graines traité au formol	51,00 : 49,00	-	-	-	-	-	NDF 46,50 ; ADF 41,50 (digestibilité dans le tube digestif entier)

¹ % de la matière sèche de la ration sauf indiqué ; ² pourcentages fourrage : concentrés ; ³ digestion ruminale sauf indication contraire

2.1.3.1. Conséquences sur la population microbienne

L'effet négatif des lipides sur la population microbienne se traduit par une modification des proportions des AG volatils (AGV), reflétant une modification de la flore ruminale, et une diminution de la prise alimentaire qui dépend de la nature et la quantité de matières grasses ajoutées.

Wachira et al. (2000) ont constaté que toutes les sources lipidiques contenant des AGPI oméga-3, entraînaient une baisse de l'efficacité de la synthèse microbienne des protéines.

Néanmoins, les effets négatifs des AG sur les bactéries du rumen ne sont pas systématiquement observés, et dépendraient en fait de la composition de la ration de base utilisée. Par exemple, Bauchart et al. (1985) ont montré que l'addition d'huile de colza ou de suif à raison de 10% de la MS de la ration, augmente de 16 à 25% le nombre de bactéries présentes dans la phase solide. La capacité d'attachement des bactéries n'avait donc pas été affectée. Par contre, les protozoaires sont très sensibles à l'addition de matière grasse à la ration : leur nombre diminue fortement, voire ils disparaissent totalement, suite à l'apport de 5 ou 10% d'huile de colza, ou de 10% de suif (par rapport à la MS) dans la ration de vaches en lactation (Bauchart et al., 1986), suite à l'apport de 90 g d'huile de lin par jour (Czerkawski et al., 1975), ou de 40 ml d'huile de lin par jour à des moutons (Ikwuegbu et Sutton, 1982). Récemment, Ueda et al. (2003) ont trouvé qu'avec l'addition d'huile de lin à des rations pour vaches laitières, le nombre total de protozoaires ne diminuait que si la ration était riche en concentrés, ce phénomène n'étant pas observé avec une ration riche en fourrages.

2.1.3.2. Conséquences sur la digestion des glucides

Une supplémentation en matière grasse, surtout si elle est riche en AGPI, a un effet dépresseur sur la digestion des glucides pariétaux des plantes dans le rumen (Palmquist et Jenkins, 1980 ; Coppock et Wilk, 1991). Avec les régimes habituels, l'acide acétique représente 60 à 70% des AGV contre 15 à 20% pour l'acide propionique et 10 à 15% pour l'acide butyrique. Le rapport acide acétique/acide propionique varie avec les régimes alimentaires et notamment il diminue lors d'apport de matière grasse insaturée (Bauchart et al., 1985).

2.1.3.3. Influence de la nature de la matière grasse

La nature du supplément lipidique (composition en AG et forme de présentation) peut avoir un

effet important sur la population microbienne du rumen et par conséquent la digestion ruminale. Ainsi, l'acide *cis*-9C18:1 a un effet dépresseur plus marqué contre les bactéries cellulolytiques que le *trans*-11C18:1 ou le C18:0 (Maczulak et al., 1981). C18:2 a des effets toxiques plus forts contre *Butyrivibrio fibrosolvans* que le *cis*-9C18:1, et C18 :3 est encore plus toxique que C18 :2. En fait, ces deux AG induisent des perturbations importantes de la membrane cellulaire des bactéries (Maia et al., 2004).

Comparativement aux graines de colza, les graines de lin ont permis une légère augmentation des concentrations en AGV *in vitro* (Wang et al., 2002). Les concentrations totales en azote ammoniacal (N-NH₃) et en AGV ont été augmentées avec les graines de lin par rapport au Megalac, aliment du commerce constitué de savons calciques d'AG de palme (Scollan et al., 2001).

2.1.3.4. Effet du régime

L'effet négatif d'un supplément lipidique dépend en partie de la composition de la ration de base. Ainsi l'addition d'huile de colza à raison de 7% de la MS ne modifie pas la digestion ruminale quand le fourrage de la ration est du foin. Ce niveau d'incorporation doit être réduit lors de l'utilisation d'ensilage de maïs (Ben Salem et al., 1993).

2.1.3.5. Effet espèce

L'addition de 90 ml/jour (huile de lin) à la ration de moutons a diminué la concentration totale en AGV dans le rumen (Czerkawski et al., 1975). Dans une autre étude (Ikwuegbu et al., 1982), l'apport d'huile de lin (13,26 ou 40 ml/jour) chez des moutons, n'a pas affecté la concentration totale en AGV mais elle a entraîné une diminution de la proportion d'acide acétique et de la digestibilité de l'ADF, et une augmentation de la proportion d'acide propionique . L'effet négatif de l'huile de lin serait moins fort chez les bovins que chez les ovins. Ueda et al. (2003) ont récemment mentionné qu'un supplément d'huile de lin à raison de 3% de la MS de la ration de vaches laitières n'a pas d'effet négatif important sur la digestion ruminale. Cependant ils ont constaté une baisse des proportions molaires des acides propionique et butyrique, induite par cet apport d'huile.

De même, le suif partiellement hydrogéné, à raison de 6% de la MS dans la ration, n'a pas eu d'effets négatifs sur la prise alimentaire, sur la digestibilité apparente de la matière sèche (MS), du neutral detergent fiber (NDF), de l'acid detergent fiber (ADF), et de la matière organique, sur le pH ruminal, et sur la concentration et le pourcentage des AGV chez des

bovins (Drackley et Elliott, 1993). Au contraire, Ilian et al. (1988) ont trouvé que l'apport de 5% ou 10% de suif dans la ration des moutons entraînait une diminution de la concentration des AGV et une augmentation de pH, proportionnelles à la teneur en suif dans la ration. Dans ces deux expériences, le supplément lipidique utilisé était presque identique, aussi les différences de résultat pourraient être liées à l'espèce, bovine et ovine respectivement.

2.1.4. Traitements des matières grasses modifiant la digestion ruminale

Les effets négatifs des lipides sur la population microbienne du rumen et la digestion ruminale ont mis en évidence l'intérêt de trouver une protection efficace de la matière grasse ajoutée contre la digestion ruminale afin de :

- 1) Protéger la population microbienne du rumen contre les effets nocifs des AG alimentaires afin de maintenir une digestion efficace de la ration.
- 2) Augmenter le contenu duodéal en AG insaturés dont il est intéressant d'augmenter les teneurs dans les productions d'origine animale (lait et viande).

L'utilisation de graines oléagineuses entières permet à une partie de la matière grasse d'échapper à la biohydrogénation, car elle est protégée par la structure même des graines (Kennelly, 1996). Néanmoins, cette protection reste faible. D'ailleurs, plusieurs études n'ont pas réussi à montrer une protection efficace contre la biohydrogénation ruminale lors de l'utilisation de graines entières : l'inclusion de graines de lin entières (Scollan et al., 2001) ou de graines de tournesol entières (White et al., 1987) dans la ration de bœufs n'a pas protégé les AGPI contre la biohydrogénation ruminale. De même, Petit et al. (2004) n'ont pas constaté d'augmentation de la teneur en C18:3 dans le lait après addition de graines de lin entières dans la ration de vaches laitières. En fait, la mastication endommage la structure de la graine et surtout ses enveloppes, facilitant ainsi la libération de la matière grasse et donc la biohydrogénation des AGI par les microbes du rumen (Jenkins, 1993).

La sensibilité des matières premières brutes face à la digestion ruminale a conduit à la proposition de plusieurs méthodes de protection :

2.1.4.1. Protection chimique

Plusieurs méthodes chimiques ont été essayées : l'enrobage des lipides par des protéines tannées au formaldéhyde (Cook et al., 1970), les savons calciques d'AG (Grummer, 1988)

ou les amides d'AG, dans lesquels le groupement carboxyle des AG est lié avec la fonction amine d'un acide aminé (Fotouhi et Jenkins, 1992), d'où leur résistance à la biohydrogénation. L'enrobage par des protéines tannées résiste à la digestion ruminale, et il est digéré à pH acide dans la caillette, ce qui permet aux AG d'être absorbés dans l'intestin grêle. L'enrobage reste le moyen le plus efficace pour permettre à une grande quantité d'AGPI d'échapper à la biohydrogénation ruminale (Gulati et al., 1997). La protection de l'huile de soja par enrobage avec des protéines tannées au formaldéhyde a permis à 60% des C18:2 et C18:3 d'échapper à la biohydrogénation ruminale, contre 4% seulement sans protection (Clapperton, 1978). Malgré l'intérêt de ce traitement, sa mise en pratique a été freinée par le coût de fabrication, et l'utilisation de formaldéhyde qui pose des problèmes de protection des manipulateurs et peut avoir un impact négatif sur l'image des produits laitiers (Chilliard et al., 2001).

Bien que les AG sous forme de savons calciques n'affectent pas les micro-organismes du rumen, ils sont hydrogénés, et ce d'autant plus qu'ils sont très insaturés et que le pH ruminal est bas. Chouinard et al. (1998) n'ont pas réussi à protéger les AG du lin par l'utilisation de savons calciques, puisque C18:3 ne représentait que 0,30% des AG totaux du lait de vache. Ils attribuèrent l'inefficacité de la protection à la dissociation des savons d'AG dans le rumen. En général, l'utilisation de savons calciques d'AGPI n'a pas permis d'augmenter au-dessus de 5% des AG totaux la teneur en C18:2 du lait (Demeyer et Doreau, 1999).

Dans une étude récente Lundi et al. (2004) ont montré que la formation d'amides d'AG est efficace pour maintenir dans le contenu omasal des AGI chez des vaches en lactation, les amides d'AG étaient plus efficaces que les sels de calcium. Cependant, les mêmes arguments contre la préparation des amides d'AG que contre le formaldéhyde peuvent être retenus (Demeyer et Doreau, 1999).

2.1.4.2. Protection physique

La cristallisation des graisses se réalise à partir d'AG saturés et traités de façon à obtenir des très petites particules, inertes vis-à-vis les micro-organismes du rumen (Grummer, 1988 ; Jenkins et Jenny, 1992). Mais cette neutralité résulte plus probablement de la présence majoritaire d'AGS qui sont moins inhibiteurs que les AGPI, que de la technique elle-même (Jenkins et Jenny, 1992).

Les traitements thermiques ont été utilisés dans un premier temps pour détruire ou inactiver les facteurs toxiques ou antinutritionnels thermolabiles contenus dans les graines oléagineuses. En outre, le traitement par la chaleur permet d'accroître la résistance des protéines à la

dégradation microbienne dans le rumen et déplace la digestion des protéines alimentaires vers l'intestin (Michalet-Doreau et al., 1985). L'exposition à la chaleur des graines oléagineuses permet aussi de protéger la matière grasse insaturée de la biohydrogénation ruminale, car le globule lipidique est alors entouré d'un enrobage de protéines dénaturées sous l'effet de la chaleur, ce qui augmente le flux des AGPI vers l'intestin grêle (Kennelly, 1996).

Parmi les méthodes de traitement thermique, l'extrusion des graines oléagineuses est celle qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études.

L'extrusion est souvent utilisée pour détruire des facteurs anti-nutritionnels et améliorer les qualités nutritionnelles des graines. La valeur alimentaire des graines est préservée par ce type de traitement utilisant des températures élevées pendant un temps court (Mercier, 1994 ; Ferlay et al., 1992). L'extrusion consiste à faire subir à un produit une température élevée pendant quelques secondes, avec une forte augmentation de la pression et des forces de cisaillement, puis à le faire sortir par un orifice de petite dimension, d'où un brusque retour à la pression atmosphérique à la sortie de la filière (Mercier, 1994 ; Doreau et Michalet-Doreau, 1987).

L'extrusion réalisée dans des conditions satisfaisantes ne modifie généralement pas la composition de la matière grasse de la graine (Morand-Fehr et Tran, 2001), mais elle peut favoriser le rancissement des AG, notamment leur oxydation, au cours du stockage des produits (Berset, 1994 ; Doreau et Michalet-Doreau, 1987).

Le conditionnement est utilisée dans l'industrie alimentaire comme traitement thermique et aide à la mise en forme (Vandewalle et al., 1997). Par exemple, l'addition de vapeur d'eau améliore la cohésion des granulés et augmente ainsi la capacité de production de la chaîne de fabrication de l'aliment (Skoch et al., 1981). Ce traitement précède souvent l'extrusion et a alors pour but d'humidifier et préchauffer les produits à extruder (Bouvier, 1996).

Les effets du conditionnement de lin sur la digestion ruminale et la qualité des productions animales, n'ont à notre connaissance pas encore été étudiés. D'autre part, peu d'études ont comparé des graines de lin extrudées avec des graines de lin crues chez la vache laitière (Mustafa et al., 2003a ; Gonthier et al., 2004b ; Gonthier et al., 2005).

Les données bibliographiques sont en grande partie en accord avec l'absence d'un effet de l'extrusion sur la biohydrogénation. Ceci a été montré sur des graines de soja (Michalet-Doreau et al., 1985), et Clinquart et al. (1993), Focant et al. (1998) et Gonthier et al. (2004b) ont démontré que l'extrusion de graines de lin ne protégeait pas la matière grasse contre la biohydrogénation ruminale. Cependant, l'ingestion d'un mélange de colza-pois extrudé a augmenté les proportions des AG C18:1, C18:2 et C18:3 dans le lait chez les chèvres, en

comparaison avec un mélange cru (Chapoutot et Sauvant, 1997). Mais, dans cette expérience l'augmentation des AG C18:2 et C18:3 était faible (respectivement 0,5% et 0,2%).

In vitro, l'utilisation de graines extrudées de colza augmente la biohydrogénation des AGPI (Enjalbert et al., 2003). La chaleur et la pression appliquées pendant l'extrusion pourraient augmenter la vitesse de libération des AG dans le rumen (Chouinard et al., 2001).

Cependant l'extrusion des graines oléagineuses ralentit les dernières étapes de la biohydrogénation, entraînant surtout une augmentation des intermédiaires *trans* (Chouinard et al., 1997a ; Bayourthe et al., 2000 ; Abughazaleh et al., 2002 ; Enjalbert et al., 2003). Cette augmentation des intermédiaires suite à l'extrusion a été observée *in vitro* et *in situ* avec le colza (Enjalbert et al., 2003).

Le processus d'extrusion rompt les membranes cellulaires et libère l'huile de la graine, l'huile peut alors adhérer à la surface des particules extrudées. Une telle quantité d'huile libre à la surface des particules pourrait empêcher l'action des micro-organismes responsables des dernières étapes de la biohydrogénation (Rueggsegger et Schultz, 1985 ; Chouinard *et al.*, 1997a). En résumé, l'utilisation de graines oléagineuses extrudées apparaît 1) ne pas protéger les AGPI de la biohydrogénation, 2) inhiber les derniers étapes de la biohydrogénation, et 3) augmenter les proportions des intermédiaires de la biohydrogénation.

2.2. Digestion post ruminale des lipides alimentaires

A leur entrée dans la caillette, les lipides sont en majeure partie (70 à 90%) des AG non estérifiés d'origine alimentaire ou microbienne. La faible quantité qui se trouve sous forme estérifiée est pour moitié sous forme de phospholipides, l'autre moitié étant constituée principalement de glycolipides d'origine microbienne et secondairement de triglycérides et d'esters de cholestérol. Les AGS et AGMI sont prédominants quelle que soit le degré d'insaturation des matières grasses ingérées sauf si celles-ci sont protégées (Bauchart et al., 1985 ; Toullec et Lallès, 1995).

Les lipides subissent peu de transformation dans la caillette. Toutefois les savons de calcium formés dans le rumen ou apportés par l'alimentation sont dissociés dans la caillette par l'acidité (Toullec et Lallès, 1995).

A l'entrée de l'intestin, les lipides se trouvent dans deux phases : une phase insoluble dans laquelle les AG sont adsorbés sur les particules alimentaires, et une phase micellaire soluble. La digestion intestinale consiste en un transfert des AG de la phase insoluble à la phase

micellaire soluble, car seuls les AG de la phase soluble peuvent être absorbés par la muqueuse intestinale (Bauchart et al., 1985). La sécrétion biliaire dans le duodénum permet la mise en émulsion des AG en phase aqueuse, tout d'abord sous la forme d'une phase liquide cristallisée qui, avec l'augmentation de pH et l'aide des sels biliaires devient une solution micellaire. La solution micellaire facilite le passage des AG vers la couche aqueuse recouvrant les microvillosités de l'intestin grêle, et donc leur absorption par les cellules de la muqueuse intestinale (Bauchart, 1993). Les AG sont principalement absorbés dans le jéjunum et les sels biliaires sont réabsorbés dans l'iléon (Doreau et Ferlay, 1994 ; Bauchart, 1993).

Par la suite, dans les enterocytes, une partie du C18:0 est transformée en *cis*-9C18:1 par la désaturase intestinale dans l'épithélium de l'intestin grêle, comme le montre l'apparition de *cis*-9C18:1 marqué au C¹⁴ dans la lymphe après administration par une canule duodénale (administration qui sera ultérieurement qualifiée d'infusion pour simplifier) de C18:0 marqué au C¹⁴ dans le duodénum (Bickerstaffe et al., 1972). Dans les cellules de la muqueuse intestinale, les AG libres absorbés sont réestérifiés en triglycérides et en phospholipides (Noble, 1981).

L'efficacité d'absorption des AG est plus élevée chez les ruminants que chez les monogastriques (Noble, 1981). La digestibilité des AG semble augmenter avec la quantité de lipides ingérés. Gonthier et al. (2004b) ont noté une augmentation de la digestibilité post-ruminale de C18:3 de 65,30% avec une ration témoin sans matière grasse ajouté à 85,40% avec un supplément de graines de lin. Néanmoins, Doreau et Ferlay (1994) ont constaté, en compilant plusieurs études bibliographiques, que la digestibilité des AG variait de 70 à 90 % et qu'elle n'était pas liée à la quantité d'AG ingérés. En outre, ces mêmes auteurs n'ont pas observé de variation dans la digestibilité de la matière grasse en fonction de son traitement : protégée ou non par un enrobage avec une coque de protéines traitées au formaldéhyde.

La digestibilité des AG augmente avec leur degré d'insaturation (Doreau et Ferlay, 1994). Lors d'une supplémentation en graines de lin crues chez des vaches laitière, la digestibilité post-ruminale de C18:3 s'est avérée plus élevée que celle de C16:0 et de C18:0 (Gonthier et al., 2004b). Des résultats contradictoires ont été rapportés par Scollan et al. (2001) : les coefficients d'utilisation digestive de *cis*-9C18:1, C18:2, C18:3 et C18:0 chez des bouvillons recevant quatre sources différentes de matière grasse, étaient respectivement de 89%, 73%, 72% et 95%. La quantité, le degré d'insaturation, la nature de la matière grasse ingérée, la fréquence de distribution de l'aliment et le pourcentage de fourrages dans la ration sont autant de facteurs de variation de la digestibilité des AG (Gonthier et al., 2004b). Cette multiplicité de facteurs de variation peut expliquer les différences observées entre les expériences. Par

exemple, la digestibilité des AG de l'huile n'est pas comparable à celle des AG des graines oléagineuses car la structure des graines peut diminuer la digestion et donc l'absorption des AG (Loor et al., 2004).

La digestibilité des AG est diminuée par les cations divalents de la ration, notamment par le calcium, la formation de savon de calcium insoluble avec les AGS à l'entrée du duodénum réduisant leur absorption (Devendra et Lewis, 1974).

2.3. Transport de lipides dans le sang

Les lipides absorbés sont incorporés dans des chylomicrons et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et transportés par voie lymphatique, jusqu'au compartiment sanguin (Noble, 1981). Les lipoprotéines sont des complexes moléculaires hydrosolubles constituées d'un noyau hydrophobe riche en lipides apolaires (triglycérides, esters de cholestérol) et d'une enveloppe hydrophile constituée d'une monocouche de protéines spécifiques aux lipoprotéines. Les lipoprotéines comprennent cinq familles : VLDL, les lipoprotéines de faible densité (LDL), les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) et les lipoprotéines de haute densité (HDL). Les chylomicrons, les VLDL et les HDL sont sécrétés par l'intestin ou le foie, et les LDL et les IDL résultent de la dégradation des VLDL (Bauchart, 1993).

La sécrétion intestinale de chylomicrons augmente avec la teneur en AGPI dans le contenu duodéal, alors que les AG saturés privilégient la sécrétion des VLDL (Bauchart, 1993). Après 24 heures d'infusion continue dans le duodénum de 2g/h d'huile de maïs (52,6% de C18:2) chez des moutons, 38,5% des lipides de la lymphe étaient contenus dans les VLDL et 61,6% dans les chylomicrons, alors que chez les témoins 72,6% des lipides de la lymphe étaient transportés par les VLDL (Harrison et al., 1974). Moore et al. (1969) ont suggéré qu'après leur absorption, C18 :2 et C18:3 sont transportés de l'intestin au foie sous forme de triglycérides qui y subissent une hydrolyse partielle ou complète, les AG libres étant utilisés pour la synthèse d'esters de cholestérol et de phospholipides mais pas pour des resynthèses de triglycérides. Ainsi les AGPI à 18 carbones semblent être préférentiellement inclus dans les esters de cholestérol et les phospholipides dans le plasma (Duncan et Garton, 1962). L'infusion de C18:2 et C18:3 dans le rumen augmente la concentration de ces AG dans les esters de cholestérol et des phospholipides (Moore et al., 1968). Les esters de cholestérol et les phospholipides représentent 95% de lipides du plasma (Moore et Christie, 1981), tandis que dans la lymphe les triglycérides sont majoritaires (Noble, 1981). Cela peut expliquer une proportion élevée d'AGPI dans le plasma malgré la biohydrogénation ruminale, et alors que

leurs proportions restent faibles dans le lait (Tableau 3), puisque, comme il sera détaillé dans le paragraphe suivant, les AG longs du lait sont principalement issus des triglycérides sanguins.

Tableau 3. Comparaison des proportions de C18:2 et C18:3 (en % des AG totaux) dans le plasma et le lait de vaches ayant reçu des graines de lin ou des graines de soja dans la ration.

Nature des graines	% (MS de ration)	C18:2		C18:3		Références
		plasma	lait	plasma	Lait	
Graines de lin extrudées	2,6	32,40	3,10	13,60	0,70	(Gonthier et al., 2005)
Graines de lin entières	9,7	50,10	2,40	11,10	1,10	(Petit et al., 2004)
Graines de lin entières	13,3	38,70	1,74	15,70	1,08	(Petit, 2003)
Graines de soja crues	23,7	60,03	7,65	3,13	1,01	(Chouinard et al., 1997b)

2.4. Métabolisme mammaire des AG

Les AG du lait ont deux origines : 1) le prélèvement dans la circulation sanguine, 2) la synthèse *de novo* dans la mamelle. Les AG prélevés ou synthétisés peuvent en outre être désaturés.

La mamelle prélève dans le sang les AG des triglycérides, voire les AG non estérifiés, mais les phospholipides et les esters de cholestérol ne sont pas précurseurs des AG du lait (Moore et Christie, 1981). Le prélèvement des AG des triglycérides par la mamelle dépend de l'activité de la lipoprotéine lipase. L'activité de cette enzyme est très élevée chez les ruminants en lactation (Chilliard et al., 2000).

Les AG prélevés dans le sang comprennent une partie des C14:0 et C16:0 du lait et tous les AG à 18 carbones. Gagliostro et al. (1991) ont démontré que le taux de prélèvement des AG des triglycérides par la glande mammaire des vaches, augmente avec leur concentration dans le plasma. Bickerstaffe et al. (1972) ont démontré chez la chèvre que le taux de prélèvement des différents isomères de *trans*-C18:1 est le même que le taux de prélèvement des AGPI. Cependant, chez la vache laitière, le taux de prélèvement des AG à 18 carbones est certes plus élevé que celui de C14:0 et C16:0, mais le prélèvement des AG à 18 carbones diminue avec le degré d'insaturation (Thompson et Christie 1991). D'autre part, Enjalbert et al. (1998) ont constaté que le taux de prélèvement des AG *trans*-C18:1 était particulièrement élevé.

Les AG de C4 à C12 et une partie des AG C14:0 et C16:0 sont synthétisés par les cellules mammaires à partir de l'acétate (Annison et al., 1967 ; Bickerstaffe et al., 1972), avec environ 15% de carbones provenant du 3-hydroxybutyrate (Chilliard et al., 2000). Au contraire des monogastriques, les ruminants n'utilisent pas le glucose pour la synthèse endogène des AG du lait. Néanmoins, le glucose est nécessaire à la synthèse de NADPH (via la voie des pentoses) et de glycérol-3-phosphate, indispensables à la synthèse des AG et des triglycérides du lait (Moore et Christie, 1981).

L'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (enzyme clé dans la synthèse endogène des AG), suite à l'augmentation du prélèvement sanguin des AG à longue chaîne, aboutit à une diminution de la synthèse *de novo* d'AG par la glande mammaire (Moore et Christie, 1981). Selon Clapperton et Banks (1985), 80% de l'inhibition de la synthèse *de novo* des AG suite à l'addition d'un supplément lipidique à la ration, est dû à un effet spécifique et direct de l'augmentation des AG à longue chaîne dans les rations, et 20% de l'inhibition est lié à la baisse de production ruminale d'AGV (acétate et butyrate). L'inhibition directe est probablement générée par un rétrocontrôle négatif de l'acétyl-CoA carboxylase par l'augmentation de concentration intra-acini en acyl-CoA issus des AG à longue chaîne captés par la mamelle (Palmquist et Jenkins, 1980).

La désaturation mammaire des AGS ou des AGMI se révèle être une source importante des AGI dans le lait. Environ 52% du C18:0 prélevé dans le sang est désaturé en *cis*-9C18:1 dans les cellules mammaires sous l'action de la Δ -9 désaturase (Enjalbert et al., 1998). Ce phénomène est aussi à l'origine de 64% du *cis*-9,*trans*-11C18:2 du lait, par désaturation du *trans*-11C18:1 (Griinari et al., 2000).

3. CONSEQUENCES DE L'ADDITION DE LIPIDES A LA RATION DES VACHES EN LACTATION

3.1. Intérêts de la supplémentation lipidique

Le potentiel laitier des vaches a été accru ces dernières années, et la couverture des besoins énergétiques surtout au début de lactation, devient de plus en plus problématique. Typiquement un supplément lipidique est ajouté à la ration pour augmenter sa densité énergétique. Néanmoins, l'ajout de matières grasses à la ration peut avoir d'autres avantages, comme l'amélioration des performances de reproduction et de la résistance à la chaleur.

Parallèlement, les connaissances relatives à l'impact des AG sur la santé humaine ont considérablement évolué, ce qui renforce l'intérêt de l'utilisation des lipides dans la ration des vaches laitières, non seulement comme source importante d'énergie, mais aussi comme l'un des principaux moyens de modulation de la composition en AG du lait.

3.1.1. Source d'énergie

Les matières grasses ont tout d'abord été ajoutées à la ration des vaches laitières afin d'en augmenter la densité énergétique. Dans une ration pour vaches laitières en début de lactation elle permet de réduire le déficit énergétique de l'organisme, limitant ainsi la perte de poids et augmentant la production de lait.

Théoriquement, un kilogramme de matières grasses fournit 6,2 à 6,6 Mcal d'énergie nette de lactation. Mais en réalité, l'apport est moindre puisque l'addition de matière grasse diminue la digestibilité globale de la ration quand elle n'est pas protégée (Chilliard, 1993).

Par ailleurs, la valeur énergétique nette de la matière grasse est en grande partie fonction de sa propre digestibilité intestinale. L'absorption des AGS est inférieure à celle des AGI (Wu et al., 1991) et donc la biohydrogénation ruminale diminue la digestibilité de la matière grasse et par conséquent sa valeur énergétique nette (Zinn et al., 2000). Les matières grasses restent cependant intéressantes car elles présentent une densité énergétique plus grande que les autres aliments. Par exemple, des savons calciques d'huile de palme renferment trois fois plus d'énergie nette de lactation que le maïs (Coppock et Wilks, 1991).

3.1.2. Amélioration des performances de reproduction

Plusieurs effets positifs sur les performances de reproduction ont été attribués à l'addition de lipides dans la ration des vaches laitières : augmentation de la taille du follicule dominant et du nombre de follicules, augmentation de la concentration plasmatique en progestérone, réduction de la sécrétion de prostaglandines, allongement de la durée de vie du corps jaune, et augmentation de la fécondité (Staples et al., 1998).

Toutefois, l'effet positif des matières grasses sur la reproduction semble être fonction du profil en AG du supplément lipidique. Staples et al. (2000) ont démontré que le follicule dominant est plus grand chez des vaches consommant des savons calciques de C18:2 ou des AG d'huile de poisson qu'avec des savons calciques de *cis*-9C18:1. Plus récemment, Petit et al. (2001 ; 2002) ont trouvé que l'apport de C18:3 (sous forme de graines de lin) dans la ration réduit la sécrétion de prostaglandine F2 α , et augmente la taille du corps jaune et le taux de conception. Cependant, ces effets positifs ne sont pas retrouvés dans toutes les expérimentations. L'addition de lipides cristallisés (Carroll et al., 1994), de savons calciques d'AGPI (Scott et al., 1995) ou de graines oléagineuses (Schingoethe et Casper, 1991) n'a pas eu d'effet sur les performances de reproduction des vaches laitières. L'addition de savons calciques d'AGPI dans la ration, a même baissé la fécondité des vaches dans l'expérience réalisée par Sklan et al. (1994).

Il a été suggéré que l'amélioration des indices de reproduction suite à l'addition de lipides dans la ration, puisse ne pas être liée à la matière grasse elle-même, mais plutôt à l'amélioration du bilan énergétique de la vache (Schingoethe et Casper, 1991). Cependant, dans les travaux de Petit et al. (2001, 2002) les rations étaient isoénergétiques, et donc l'amélioration des indices de reproduction ne pouvait pas être attribuée à l'amélioration du statut énergétique de la vache.

3.1.3. Amélioration de la tolérance à la chaleur

La chaleur induit une diminution de la prise alimentaire et de la production laitière, car l'animal réduit sa consommation afin de limiter sa production d'extra-chaleur, provenant notamment des fermentations ruminales (Morand-Fehr et Doreau, 2001). La principale stratégie utilisée pour réduire au minimum les effets de la chaleur est de modifier l'environnement dans lequel l'animal vit. Cependant la nature de la ration peut également

influer sur la production d'extra-chaueur. La densité énergétique plus grande des matières grasses et donc la possibilité de réduire la production d'extra-chaueur post-prandiale pourraient s'avérer particulièrement intéressantes pour l'alimentation des ruminants soumis à un stress thermique (West, 1998). Cependant, les résultats concernant l'avantage d'ajouter des matières grasses à la ration des ruminants soumis à un stress thermique sont limités et controversés.

Ainsi, il n'y avait pas de différence de production de lait entre des vaches recevant ou non un supplément lipidique (suif cristallisé) pendant la saison froide, mais pendant la saison chaude la production de lait était supérieure chez les vaches recevant un supplément lipidique (Skaar et al., 1989). Au contraire, Drackley et al. (2003) ont observé qu'un supplément lipidique (suif) ne présentait aucun avantage pour la production de lait pendant l'été comparé à l'utilisation de concentrés à base d'amidon. Enfin, certains auteurs (Knapp et Grummer, 1990) n'ont noté aucun effet positif sur la production laitière, suite à l'addition de matières grasses (suif ou AG longs cristallisés) dans la ration de ruminants soumis à de fortes chaleurs.

Tirer des conclusions de ces résultats s'avère difficile. Dans ces expériences la source de matières grasses utilisée était principalement le suif, mais les protocoles expérimentaux, les températures ambiantes et la composition des rations étaient différents.

3.2. Conséquence sur la production et la composition chimique du lait

L'apport de matières grasses dans la ration des vaches affecte la production et la composition du lait. Quantitativement, la production de lait augmente en général avec un supplément lipidique sous forme de graines oléagineuses (Schingoethe et Casper, 1991). Qualitativement, la composition du lait en AG peut être modifiée par l'ajout de matières grasses à la ration, malgré la biohydrogénation dans le rumen (Palmquist et Jenkins, 1980). Cependant, la réponse des vaches laitières à une supplémentation lipidique dépend de nombreux facteurs, comme le numéro de lactation, la composition de la ration, la quantité et la nature des matières grasses utilisées.

3.2.1. Production de lait

La production de lait augmente (Petit, 2002 ; Petit et al., 2004), n'est pas affectée (Dhiman et al., 2000 ; Mustafa et al., 2003b ; Soita et al., 2003) ou baisse (Gonthier et al., 2005) suite à l'addition de graines de lin ou d'huile de lin à la ration. L'examen des conditions expérimentales révèle des différences pouvant expliquer les divergences dans les réponses

observées. L'utilisation de vaches primipares par Dihman et al. (2000) pourrait expliquer l'absence d'effet positif du supplément lipidique sur la production de lait, l'importance de la réponse en terme de production laitière à la supplémentation lipidique étant généralement inférieure chez les vaches primipares par rapport aux vaches multipares (Dihman et al., 2000). Petit et al. (2004) ont utilisé des graines de lin à raison de 12,5% de la MS, mais Mustafa et al. (2003b) et Soita et al. (2003) les ont utilisées à raison de 7% et 1% de la MS de la ration respectivement. Dans l'expérience de Gonthier et al. (2005), la différence de production de lait n'était pas significative entre les vaches consommant les graines de lin crues, micronisées ou extrudées et celles consommant la ration témoin. Petit (2002) a constaté une hausse de production de lait avec un supplément de graines de lin en comparaison avec un supplément de Megalac, ces résultats étant opposés à ceux d'une précédente étude (Petit et al., 2001), durant laquelle un apport de graines de lin protégées par du formol n'avait pas augmenté la production de lait en comparaison avec le Megalac. Ils ont attribué cette hausse de production de lait à la teneur en matières grasses, plus élevée dans la ration avec les graines de lin que dans celle avec le Megalac.

Une conclusion intéressante peut cependant être tirée des résultats précédents : la plupart de ces expériences ne montre pas d'effet négatif des graines de lin de la ration sur la production de lait. Ce résultat est important à considérer car les graines de lin sont en général ajoutées à la ration pour modifier le profil en AG du lait (Kennelly, 1996), mais en maintenant la production laitière.

3.2.2. Taux butyreux et protéique du lait

Un supplément lipidique dans la ration diminue en général le taux butyreux (TB) et le taux protéique (TP) du lait (Palmquist et Jenkins, 1980 ; Wu et Huber, 1994). Cet effet dépresseur est lié à la nature du supplément lipidique : l'effet est plus important avec les AGPI qu'avec les AGS, et avec les huiles qu'avec les graines oléagineuses (Palmquist et al., 1993 ; Dhiman et al., 2000). Cependant, un apport de matières grasses sous forme de graines a maintenu voire augmenté dans plusieurs cas le TB du lait (Kennelly, 1996 ; Dhiman et al., 2000 ; Petit et al., 2004).

L'addition de lipides à la ration a un effet négatif sur la synthèse mammaire des AG et par conséquent sur la teneur en matière grasse du lait. La synthèse *de novo* des AG diminue parallèlement à l'augmentation du supplément lipidique (Grummer, 1991). Plusieurs facteurs

peuvent intervenir. Palmquist et al. (1993) ont cité la quantité et le degré d'insaturation de la matière grasse ajoutée, le pourcentage de fourrages dans la ration et l'équilibre entre l'augmentation de la quantité des AG à longue chaîne prélevés par la mamelle et la réduction de la synthèse *de novo*, comme facteurs principaux affectant le TB. L'addition d'huile de poisson abaisse le TB dans la plupart des cas (Offer et al., 1999, Petit et al., 2002) mais l'addition d'huile de lin n'a pas d'effet sur la matière grasse du lait (Offer et al., 1999 ; Looor et al., 2005) en comparaison avec une ration témoin sans matière grasse ajoutée. De même, l'infusion d'huile de lin dans le duodénum de vaches à raison de 500 g/j n'a pas d'effet sur le TB en comparaison avec un apport de graines de lin entières (Petit et al., 2002). L'effet négatif d'un supplément lipidique sur le TB est aussi lié au rapport fourrages/concentrés dans la ration. Grinari et al. (1998) ont trouvé qu'un régime pauvre en fibres supplémenté avec une matière grasse insaturée abaisse le TB du lait de 30% par rapport à un régime riche en fibres supplémenté avec une matière grasse saturée.

L'autre effet négatif d'un supplément lipidique est une baisse du taux protéique du lait, que ce soit un apport sous formes de graines oléagineuses entières, extrudées ou broyées ou de sels calciques d'AG (Bayourthe et al., 2000). Wu et Huber, (1994) ont calculé d'après plusieurs expériences utilisant différentes suppléments lipidiques que l'augmentation de la teneur en matières grasses dans la ration de 2,5 à 8% conduit à une diminution de 3,8% du taux protéique du lait. Selon Wu et Huber, (1994), la quantité d'acides aminés disponibles pour la synthèse des protéines du lait dans la glande mammaire est insuffisante pour faire face à l'augmentation de la production de lait induite par l'apport de lipides, d'où la baisse de la concentration en protéines du lait. Cependant, la diminution conjointe de TP et de production du lait quand l'apport des graines de lin augmente de 7,8 à 20,9% de MS de la ration (Deville et al., 2004) ne peut pas être expliquée par l'hypothèse précédente. En général, cet effet négatif n'est pas systématiquement constaté lors d'une supplémentation lipidique sous forme de graines : des additions de graines de lin à 10 (Kennelly, 1996), 14,3 (Wilkinson et al., 2000), ou 9,7% de la MS ingérée (Petit et al., 2004), n'ont pas diminué le TP.

3.2.3. Profil des AG du lait

Le lait de vache est relativement pauvre en AGPI, mais en revanche il contient des concentrations importantes de C14:0 et C16:0 (Grummer, 1991). Malgré une biohydrogénation intensive dans le rumen, la modification des AG du lait par l'apport de

graines oléagineuses dans la ration est possible (Kennelly, 1996). Le tableau 4 présente les principaux résultats déjà obtenus avec de l'huile ou des graines de lin.

La modification du profil des AG du lait dépend du type de graines oléagineuses utilisées. Parmi les graines oléagineuses, les graines de lin contiennent une grande quantité de C18:3 (Petit et al., 2002). Les proportions des AG de C10:0 à C16:0 dans la matière grasse du lait de vaches ingérant des rations supplémentées avec des graines de lin par rapport à une ration témoin sont systématiquement diminuées (Petit et al., 2004 ; Gonthier et al., 2005). Mais la proportion de C18:3 dans le lait lors de l'utilisation de graines de lin (Petit et al., 2004 ; Gonthier et al., 2005) ou d'huile de lin (Offer et al., 1999 ; Dhiman et al., 2000 ; Chilliard et al., 2003 ; Looor et al., 2005) reste relativement faible.

Une biohydrogénation intense peut expliquer le faible transfert de cet AG de la ration vers la matière grasse du lait. Avec un supplément lipidique (graines de lin traitées au xylose) représentant 20,9% de la MS de la ration, soit l'équivalent de 1,1 kg d'huile de lin ou de 630 g de C18:3 par vache et par jour, C18:3 ne représente que 2% des AG du lait (Deaville et al., 2004).

Les méthodes de protection testées n'ont pas réussi à protéger C18:3 contre la biohydrogénation ruminale. Ainsi, l'infusion duodénale d'huile de lin conduit à une proportion de C18:3 dans le lait de 13,9% contre seulement 2% lors d'addition dans la ration des vaches de graines de lin traitées par du formol (Petit et al., 2002), ce qui démontre que la faible teneur en C18:3 du lait lors de l'apport de lin dans la ration est due à l'hydrogénation ruminale et non à une faible capacité d'incorporation de cet AG par la mamelle.

Bien que la structure des graines puisse permettre à une partie des lipides d'échapper à la biohydrogénation (Kennelly, 1996), les chèvres consommant de l'huile de lin à raison de 3,40% de la MS de la ration ont une proportion plus élevée de C18:3 dans le lait que les chèvres consommant une ration supplémentée avec la même quantité de graines de lin concassées (Chilliard et al., 2003). L'huile, présentant des triglycérides libres facilement hydrolysables, pourrait perturber le métabolisme ruminal et inhiber la biohydrogénation de ses propres AG, et par conséquent permettre un transfert accru des AGPI vers le lait (Chilliard et al., 2003).

Les données bibliographiques sur la teneur du lait en 9,11,15C18:3 (CLN majoritaires du lait) sont rares, et les variations de leur teneur dans le lait suite à l'apport d'un supplément lipidique n'ont pas été étudiées à notre connaissance. Banni et al., (1996) ont mesuré la concentration en CLN dans le lait de brebis et de vaches issues de différents troupeaux et dans plusieurs produits laitiers (les régimes alimentaires des vaches n'étaient pas mentionnés). Du CLN a été

déTECTÉ mais en petites quantités, comprises entre 0,016 et 0,21% de la matière grasse du lait, soit des teneurs plus faibles que celles de *cis-9,trans-11C18:2* (CLA majoritaire dans le lait). Cette quantité était plus élevée dans le lait d'hiver que dans le lait d'été.

Loor et al., (2005) ont mesuré la teneur en *trans-11,cis-15C18:2* dans le lait de vaches recevant une ration riche ou pauvre en fourrages et supplémentée ou non avec de l'huile de lin à raison de 3% de la MS de la ration. Sans supplémentation lipidique, la quantité de *trans-11,cis-15C18:2* était de 38 mg/l de lait, l'addition d'huile augmentait cette quantité à 375 mg/l de lait.

L'utilisation de graines oléagineuses extrudées (graines de lin ou de soja) n'a pas permis d'augmenter les proportions des AGPI (Chouinard et al., 1998 ; Gonthier et al., 2005), mais elle a augmenté celles des intermédiaires *trans* dans le lait de vaches (Chouinard et al., 1997a ; Abughazaleh et al., 2002). L'addition de graines de soja extrudées à la ration de vaches a augmenté la concentration de *trans-11C18:1* de 2,72 % à 11,44 % (Chouinard et al., 1997b) et celle de *cis-9,trans-11C18:2* de 0,42% à 1,99% (Chouinard et al., 2001) dans la matière grasse du lait.

La chaleur et la pression appliquées pendant l'extrusion peuvent favoriser la rupture des membranes des cellules végétales et donc la libération des AG dans le rumen, diminuant ainsi la part des AGI susceptibles d'échapper à la biohydrogénation, ce qui ralentirait la biohydrogénation, d'où une accumulation d'intermédiaires *trans* (Chouinard et al., 2001).

La biohydrogénation de C18:3 ou des AG de graines lin a été largement étudiée, la voie proposée par Harfoot et Hazlewood (1988), qui ont fait la synthèse des études sur le sujet, semblant loin d'être complète. Plusieurs isomères (conjugués et non conjugués de C18:3 et C18:2), et de C18:1, ont été décrits dans des études menés *in vitro* et *in vivo* (dans le contenu digestif ou dans le lait). Compte tenu de l'impact (positif ou négatif) de certaines isomères sur la santé humaine, et donc sur l'image de produits laitiers, l'approfondissement de notre connaissance sur la biohydrogénation ruminale des AGPI de graines de lin s'avère nécessaire. Les graines oléagineuses sont souvent traitées par la chaleur (extrudées, micronisées, etc...) pour détruire les substances toxiques et antinutritionnelles. Ces traitements ne semblent pas protéger les AGPI de la biohydrogénation ruminale, bien qu'une protection partielle des AGPI ait cependant été observée dans certaines études. Au-delà de la protection des AGPI, l'impact du traitement thermique des graines de lin sur les intermédiaires de la biohydrogénation ruminale mérite aussi une étude plus approfondie.

Tableau 4. Effet d'un apport lin (huile ou graines) sur la production et la composition du lait ¹.

Référence	Espèce	Source de MG et % de MS de ration	Lait (kg)	TB %	TP %	C10 au C16	C18:0	trans-C18:1	cis-9,t-11C18:2	C18:3
Huile										
(Kelly et al., 1998)	Vache	5,30% huile de lin vs 5,30 % huile de tournesol.	non	non	-	C12 et C14 non C16 -	11,44 vs 12,39 %		1,67 vs 2,44 %	0,44 vs 0,19 %
(Chouinard et al., 1998)	Vache	4% savon des acides gras d'huile de lin vs témoin.	non	-	non	-	14,99 vs 11,37 %	10,42 vs 1,54 %		0,31 vs 0,24 %
(Offer et al., 1999)	Vache	250 g huile de lin par jour vs témoin.	non	non	-	-	15,63 vs 12,31 %	2,12 vs 1,09 %	0,28 vs 0,16 %	0,72 vs 0,84 %
(Dhiman et al., 2000)	Vache	4,40 % huile de lin vs témoin.	non	-	non	-	+		+	+
(Loor et al., 2005)	Vache	3 % huile de lin vs témoin (ration riche en fourrage).	non	non	non	-	110 vs 45,30 g/j	77,10 vs 18,20 g/j	11,30 vs 4,39 g/j	5,53 vs 8,42 g/j
(Chilliard et al., 2003)	Chèvre	3,40 % huile de lin vs témoin.	non	+	+	-	13,80 vs 9 %		1,40 vs 0,60 %	1,70 vs 0,40 %
Graines²										
(Kennelly, 1996)	Vache	15 % graines entières vs témoin.	non	non	-	-	28,43 vs 19,09 %			1,24 vs 0,83 %
(Kennelly, 1996)	Vache	10 % graines entières vs témoin.	-	non	non	-	13,75 vs 9,12 %			0,77 vs 0,47 %
(Petit, 2002)	Vache	10,70 % de graines entières vs 17,70 % de graines de soja micronisées.	non	+	non	non	non			0,90 vs 1,04 %
(Petit et al., 2002)	Vache	6,70 % de graines entières traitées au formol vs infusion de 500 g d'huile du lin au duodénum.	non	non	non	C10 et C12 non C14 et C16 +				2 vs 13,90 %
(Petit, 2003)	Vache	11,40 % graines protégées par le formol vs 13,30 % non protégées.	-	non	non	non	19,70 vs 19,9 %			1,08 vs 0,93 %
(Petit et al., 2004)	Vache	9,70 % graines entières vs témoin.	+	non	non	-	13,70 vs 8,40 %			1,10 vs 0,60 %
(Deaville et al., 2004)	Vache	20,90 vs 7,80 % graines traitées au xylose.	-	non	-	-			16,20 vs 8,60 %	1,86 vs 1,37%
(Gonthier et al., 2005)	Vache	12,60 % graines vs témoin.	non	non	non	-	18,23 vs 11,40 %	4,30 vs 2,30 %	1,57 vs 0,90 %	1,3 vs 0,4 %
(Wilkinson et al., 2000)	Brebis	14,30 % graines protégées au formol vs graines protégées.	non	non	non	non	non			4,60 vs 2,70 %
(Chilliard et al., 2003)	Chèvre	3,40 % graines crues vs témoin.	non	+	+	-	+	non	Non	1,20 vs 0,40 %

¹ - : diminution, + : augmentation, Non : non affecté par le traitement, blanc : non déterminé. ² graines : graines de lin si origine non précisée.

Etude expérimentale

1. MATERIELS ET METHODES GENERAUX

L'objectif principal de ces expériences était d'étudier l'importance et les intermédiaires de la biohydrogénation de C18:3, en s'intéressant plus particulièrement aux intermédiaires spécifiques (CLN et *trans*-11,*cis*-15C18:2) et aux différents isomères *trans*-C18:1 produits. Les facteurs de variation étudiés étaient deux traitements de la graine de lin : conditionnement et extrusion. Enfin, ces études ont permis de quantifier l'effet d'une addition de graines de lin et de leur extrusion sur la composition du lait en AG.

Cette partie présente les méthodes expérimentales, les analyses chimiques et statistiques et les modalités générales des expériences. Des protocoles et des méthodes spécifiques à chaque expérimentation seront abordés dans les parties suivantes.

1.1. Sources de matière grasse

Nous avons choisi le lin (*Linum usitatissimum L.*), parce qu'il contient majoritairement du C18:3, objet de notre étude. La source de matières grasses que nous avons utilisée était en réalité un mélange composé de 70 % de graines de lin et de 30 % de son de blé, les mots graines de lin désigneront ce mélange dans nos expériences. En effet, à cause de leur teneur élevée en huile, les graines de lin sont difficiles à extruder et le son de blé permet d'éviter les pertes d'huile. Ce mélange était utilisé cru (LC), sans autre traitement qu'un broyage à l'aide d'une grille de 3 mm, ou après avoir subi deux traitements technologiques différents :

- broyage à la grille de 6 mm et conditionnement à 35 °C (LM). Le conditionnement est également appelée maturation dans l'industrie alimentaire
- broyage à la grille de 3 mm, conditionnement à 50 °C et extrusion à 120 °C (LE).

1.2. Animaux

Les animaux utilisés pendant toutes les expérimentations étaient des vaches laitières taries ou en lactation, de race Prim'Holstein.

1.3. Analyses chimiques

Ces analyses ont été effectuées sur les matières premières : graines de lin (mélange graines de lin-son) crues, conditionnées et extrudées et les autres composants des rations, et sur les

prélèvements (contenus digestifs, cultures *in vitro* et contenus des sachets *in situ*, lait et plasma). Avant d'être analysés, les prélèvements congelés de contenus digestifs, de cultures *in vitro*, de contenus des sachets *in situ*, et du lait étaient transférés au lyophilisateur (Vitris Freezemobile 25, Vitris Gardiner, New-York, Etats-Unis). Les lyophilisats étaient broyés à l'aide d'un broyeur à billes (Dangoumeau Prolabo, Nogent-sur-Marne, France).

1.3.1. Analyses chimiques générales

La détermination de la MS a été effectuée pour tous les échantillons. La MS de l'ensilage de maïs a été déterminée par séchage à 60 C° durant 72 h, et pour les autres échantillons par séchage à 103 C° durant 24 h, à l'étuve. La matière azotée totale (MAT) a été dosée par la méthode de KJELDHAL. Le NDF et l'ADF ont été analysés comme décrit par Van Soest et al. (1991).

1.3.2. Dosage des AG dans les matières premières, les lyophilisats et le plasma

Avant la méthylation, les échantillons de plasma ont été soumis à une extraction des lipides totaux selon la méthode de Folch et al. (1957) en appliquant les étapes suivantes :

- Ajouter à 1 ml de plasma, 5 ml de mélange chloroforme-méthanol (2-1), puis mélanger rapidement et agiter durant 15 min.
- Ajouter 1,2 ml de solution de NaCl à 0,9 %, mélanger 30 s au Vortex.
- Ajouter 50 µl d'étalon interne (C19:0, 2 mg/ml de chloroforme).
- Centrifuger à 1125 g pendant 10 min, enlever la phase supérieure à l'aide d'une pompe à vide et récupérer la phase inférieure.
- Réextraire le disque interfacial en suivant les mêmes étapes sauf l'addition d'étalon interne.
- Mélanger les deux phases chloroformiques obtenues et évaporer sous azote à 50 °C.

La matière grasse du plasma ainsi extraite, les matières premières de la ration et les lyophilisats ont été soumis à une extraction-méthylation, comme décrit par Park et Goins (1994), permettant d'obtenir des esters méthyliques. Selon cette méthode, la méthylation des AG se fait en deux étapes : une méthylation basique suivie par une méthylation acide. Cette méthode, n'entraîne pas d'isomérisation de *cis-9,trans-11C18:2* (Duckett et al., 2002).

Le traitement des échantillons selon cette méthode a suivi la procédure suivante :

- Selon la nature de l'échantillon, peser dans un tube 150 mg de digesta ou de matière première, 50 mg de lait ou 1 ml d'extrait lipidique de plasma.
- Ajouter à chaque tube (sauf les échantillons de plasma) 200 µL d'étalon interne (C19:0, 4 mg /ml de dichlorométhane) et 2 ml de solution méthanolique de NaOH à 0,5N (préparée préalablement en dissolvant 20 g de NaOH dans 1000 ml de méthanol).
- Fermer et agiter des tubes pendant 1 min au vortex à une vitesse lente, puis chauffer au bain-marie à 90°C pendant 10 min.
- Refroidir rapidement sous un courant d'eau froide, puis ajouter 2 ml de triborone floride (BF₃) à 14%, agiter pendant 1 min au Vortex à une vitesse lente, puis chauffer pendant 10 min à 90°C, et laisser refroidir les tubes à température ambiante.
- Ajouter 2 ml d'hexane et 4 ml d'eau distillée puis mélanger pendant 5 min à l'aide d'un culbuteur, à vitesse moyenne.
- Centrifuger à 2880 g pendant 10 min.
- Prélever de la phase supérieure au moyen d'une pipette et transférer dans un autre tube.

1.3.2.1. Chromatographie sur couche mince

Les extraits des esters méthyliques obtenus à partir des différents échantillons (sauf les matières premières) ont été analysés par chromatographie sur couche mince imprégnée de nitrate d'argent (CCM-Ag), pour séparer les différents isomères *trans*-C18:1 selon la méthode décrite par LeDoux et al. (2002).

Les étapes sont :

- Préparer des plaques : les plaques de verre utilisées (plates 20 x 20 cm, Silica gel 60, Merk KGaA, Germany) étaient déjà enduites avec une couche de silice.
- Immerger la plaque dans une solution de nitrate d'argent (préparée préalablement en dissolvant 10 g de nitrate d'argent dans 100 ml d'acétonitrile) pendant 30 min, puis la laisser sécher 10 à 15 min à l'air.
- Conditionner les plaques à 120°C pendant 20 min.
- Evaporer sous azote à 50°C 1,5 ml de solution hexanoïque contenant les méthyl esters des échantillons à analyser, puis ajouter 100 µl de n-hexane, et déposer sur la plaque conditionnée une bande de 6 cm de longueur.
- Ajouter de nouveau 50 µl d'hexane afin de récupérer la totalité de l'échantillon et le déposer sur la même bande. On peut déposer deux échantillons par plaque.

- Mettre la plaque dans une cuve saturée par le mélange 9:1 (v/v) de n-hexane et d'éther éthylique.
- Laisser migrer jusqu'à ce que le front de solvant soit à 1 cm du bord supérieur de la plaque. Sortir la plaque et laisser sécher puis la révéler par pulvérisation d'une solution de 2'-7'-dichlorofluorescéine et l'examiner sous UV.
- Gratter la zone correspondant aux isomères *trans*-C18:1 et la récupérer dans un tube à centrifuger, auquel on ajoute successivement 1,5 ml de méthanol, 2 ml d'hexane, et 1,5 ml de solution de NaCl à 5 %.
- Agiter puis centrifuger les tubes à 200 g pendant 5 min.
- Récupérer les phases supérieures hexanoïques et réextraire les phases inférieures avec 2 ml d'hexane.
- Réunir les deux phases hexanoïques et évaporer sous azote. Les esters méthyliques de *trans*-C18:1 ainsi obtenus sont récupérés dans 200 µl d'hexane et transférés dans des flacons d'échantillonnage pour être analysés en CPG.

1.3.2.2. Chromatographie phase gazeuse

Les profils des AG totaux des matières premières, du plasma, des lyophilisats et des isomères *trans*-C18:1 ont été déterminés par CPG (Agilent 6890N, équipé avec un auto injecteur modèle 7683, Network GC System, Palo Alto, California, USA). Une colonne capillaire en silice fondue a été utilisée (CPSil88, 100 m x 0.25 mm ID, Chrompack-Varian, middleburg, Bays Bas). La température du détecteur à flamme ionisé était maintenue à 260°C et celle de l'injecteur à 255°C avec un split ratio de 1:50 sauf dans le cas des échantillons de plasma où l'injection était splitless. Le gaz porteur était l'hélium avec une pression constante de 24,6 psi. Le volume d'échantillon injecté était de 0,5 µl. La température initiale du four était de 70°C, maintenue pendant 1 min, puis augmentée de 5°C/min jusqu'à 100°C, maintenue à 100°C pendant 2 min, augmentée de 10°C/min jusqu'à 175°C, maintenue à 175°C pendant 40 min, augmentée de 5°C/min jusqu'à 225°C et maintenue à 225°C pendant 15 min, comme décrit par Loor et al. (2002b). Avec cette méthode, les pics *trans*-6, *trans*-7 et *trans*-8C18:1 coéluent, et seront donc considérés ensemble (*trans*-6+7+8C18:1), de même pour les pics *trans*-13C18:1 et *trans*-14C18:1 qui seront également considérés ensemble (*trans*-13+14C18:1). D'autre part, l'utilisation de cette méthode ne permet pas la séparation complète des pics de *trans*-10C18:1 et de *trans*-11C18:1. On les désignera donc dans cette étude par l'abréviation *trans*-10+11C18:1. La proportion totale de ces deux isomères était utilisée comme référence pour

calculer les proportions des isomères *trans*-C18:1 séparés sur plaques par CCM-Ag. Comme *cis*-9C18:1 coélue dans cette méthode avec *trans*-13C18:1, *trans*-14C18:1 et *trans*-15C18:1, la proportion de *cis*-9C18:1 était corrigée par soustraction des proportions de ces AG déterminées par CCM-Ag/CPG (Precht et Molkentin, 1999).

Avec l'utilisation de cette méthode l'étalon interne C19:0 coélue avec le *cis*-15C18:1 (Loor et al., 2004), qui est un intermédiaire de la biohydrogénation de C18:3 (Figure 2). Les échantillons de lait ont donc été réanalysés avec la méthode suivante, permettant une séparation complète du C19:0 et *cis*-15C18:1 : la température du détecteur de flamme ionisé était maintenue à 260°C et celle de l'injecteur à 255°C avec un split ratio de 1:50. Le gaz porteur était l'hydrogène, avec une pression constante de 24,6 psi. Le volume d'échantillon injecté était de 0,1 µl. La température initiale du four était de 60°C, maintenue pendant 1 min, puis augmentée de 20°C/min jusqu'à 150°C, maintenue à 150°C pendant 10 min, augmentée de 2°C/min jusqu'à 175°C, maintenue à 175°C pendant 20 min, augmentée de 10°C/min jusqu'à la température finale de 225°C et maintenue à 225°C pendant 10 min.

L'identification et la quantification des pics ont été faites à l'aide de standards commerciaux (Sigma, St. Louis, USA). En l'absence de standards commerciaux, l'identification de *trans*-4 au *trans*-8 et de *trans*-12 au *trans*-16C18:1 ainsi que de *trans*-11, *cis*-15C18:2 a été faite par comparaison avec des chromatogrammes publiés (Precht et Molkentin, 1999), et la quantification des *trans*-C18:1 a été effectuée en leur appliquant le même ratio quantité/aire du pic que celui du *trans*-11C18:1, pour lequel un standard commercial est disponible.

Le CLN a été identifié par CPG couplée à un spectrophotomètre de masse, par l'Unité INRA FLAVIC de Dijon. Les esters méthyliques d'acides gras ont été transformés en dérivés 2-alkenyl-4,4-diméthylloxazoline (DMOX) selon la méthode décrite par Yurawecz et al (1994) : 100 µl de 2-amino-méthyl-1-propanol étaient ajoutés aux méthyl-esters d'AG, le mélange a été maintenu à 170°C pendant 8h sous atmosphère d'azote. L'analyse des dérivés DMOX a été réalisée sur un chromatographie phase gazeuse couplé à un spectrophotomètre de masse (GC-2010 et QP-2010, Shimadzu, Champs sur Marne, France), et équipé d'une colonne CPSil88, décrite ci-dessus. Le gaz porteur était l'hélium, avec une vitesse constante de 24,3 cm/s. La température du four montait de 60°C à 210°C à raison de 20°C/min, et la température de 210°C était maintenue 50 min. L'injecteur, en mode splitless, était maintenu à 250°C. Les spectres de masse d'impact d'électron étaient enregistrés à 70eV entre 100 et 450 amu. Cette identification a permis de mettre en évidence 4 pics de 9,11,15C18:3, correspondant probablement à 4 combinaisons de configurations stériques. Seul le pic le plus important a été quantifié dans les analyses CPG des échantillons, et qualifié de CLN.

Des exemples de chromatogrammes des AG C18 d'un échantillon complet déterminé par chromatographie en phase gazeuse sans séparation préalable par CCM-Ag et le chromatogramme des isomères *trans*-C18:1 séparés préalablement sur plaques par CCM-Ag de même échantillon font l'objet respectivement de figures 3 et 4.

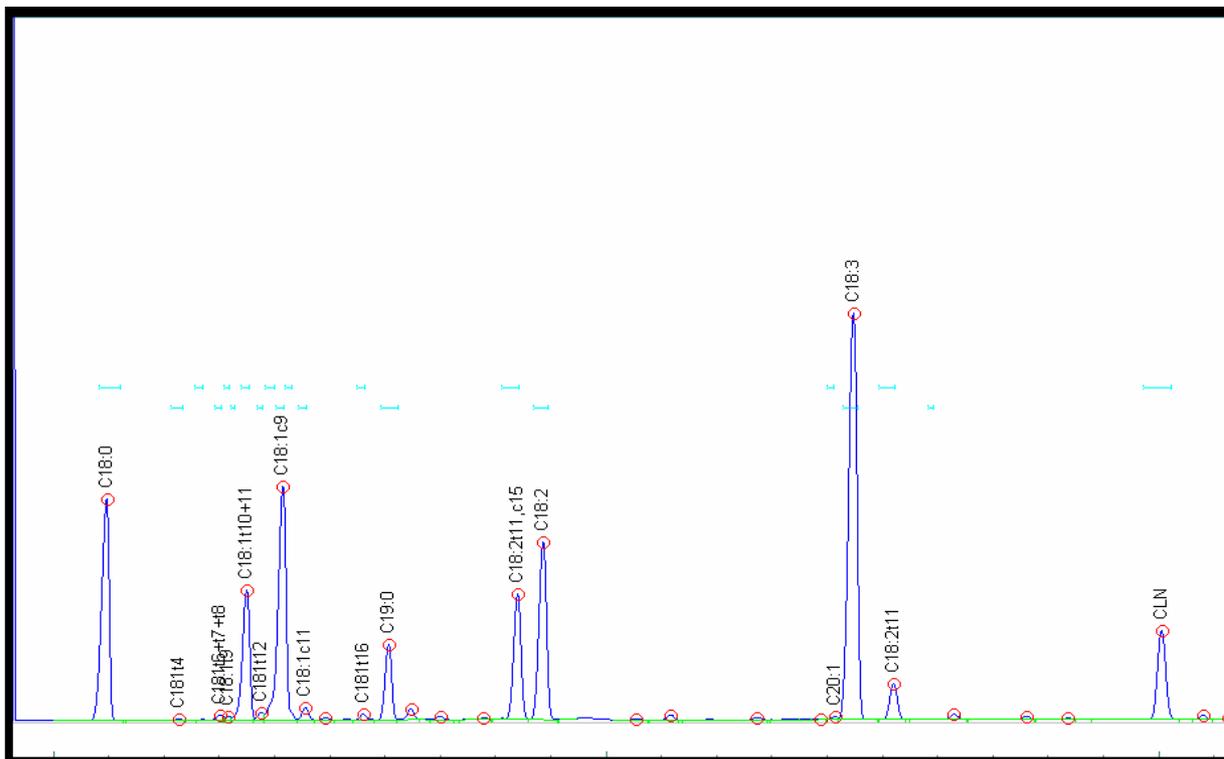


Figure 3. Exemple de chromatogramme des acides gras C18 d'un échantillon complet.

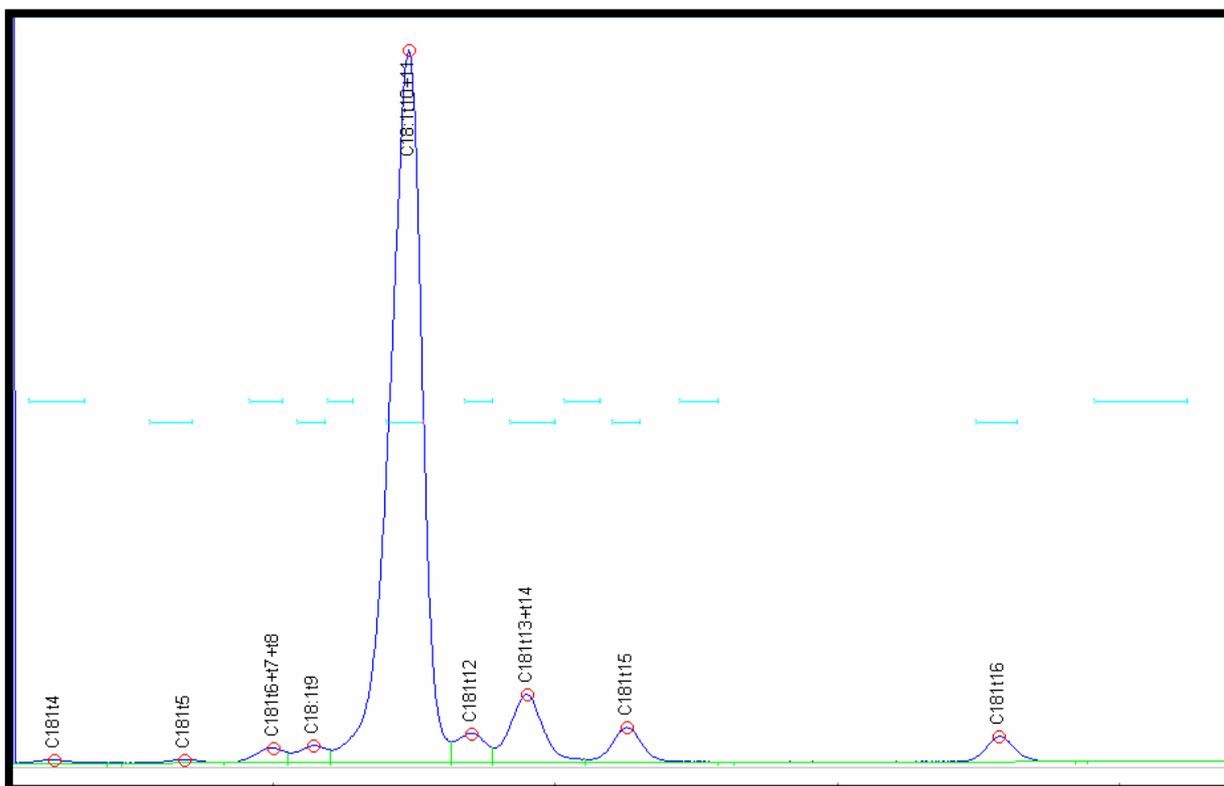


Figure 4. Exemple de chromatogramme des isomères *trans*-C18:1 séparés sur plaques par CCM-Ag.

1.3.3. Dosage des AGV et de l'ammoniac

Les AGV ont été analysés selon la méthode de Jouany (1982) en appliquant les étapes suivantes :

- Centrifuger du jus de rumen pendant 10 min à 4000 g.
- Prendre 750 µl de surnageant + 150 µl d'acide métaphosphorique, laisser agir pendant 30 min, puis centrifuger 10 min à 20000 g.
- Reprendre 600 µl de surnageant + 100 µl d'étalon interne (acide 4-méthyl-valérique).

1 µl de chaque échantillon était ensuite injecté manuellement dans le CPG à l'aide d'une seringue de 10 µl (Exmire microsyringe, ITO corporation, Fuji, Japon). Les AGV étaient déterminés et quantifiés à l'aide de standards commerciaux.

Le dosage de l'azote ammoniacal a été fait selon la méthode de Nessler adaptée par Hach et al., (1985, 1987) et les échantillons ont été préparés comme suit :

- Préparer une solution mère de NH_4Cl à 297,2 mg/l correspondant à 100 mg/l de NH_4^+ .
- Etablir une gamme étalon de 0 à 20 mg/l de NH_4^+ .

- Centrifuger le jus de rumen à 20000 g pendant 15 min.
- Prendre 0,5 ml de surnageant et compléter par de l'eau distillée à 10 ml.
- Ajouter à chaque tube 3 gouttes de réactif azote ammoniacal 1, puis 400 µl de réactif Nessler (HACH Europe, Düsseldorf, Allemagne).
- Agiter puis laisser reposer 10 min.
- Lire sur spectrophotomètre à 420 nm.

1.3.4. Détermination des taux butyreux et protéique

Les prélèvements de lait ont été envoyés au laboratoire interprofessionnel d'analyses laitières du Sud-Ouest pour la détermination du TB et du TP.

1.4. Calculs et analyses statistiques

La biohydrogénation des AGI *in vitro*, *in situ*, dans le contenu duodénal, ou le contenu ruminal a été calculée par différence entre les proportions de chaque AGI dans le prélèvement et ses proportions dans la ration (contenu digestifs) ou le substrat (*in vitro* et *in situ*), selon la formule (Wu et al., 1991) :

$$100-100*(AGI / C18 \text{ dans le rumen ou le duodénum}) / (AGI / C18 \text{ dans la ration}),$$

C18 désignant l'ensemble des AG à 18 carbones.

L'estimation des paramètres de cinétique de biohydrogénation *in vitro* et *in situ* a été fondée sur l'équation de dégradation des protéines décrite par Orskov et McDonald (1979), avec l'utilisation du modèle suivant :

$$P = P_0 * e^{-(cc \cdot D_c + cm \cdot D_m + ce \cdot D_e) \cdot (t - (lc \cdot D_c + lm \cdot D_m + le \cdot D_e))}$$

dans lequel, P₀ est la proportion initiale de l'AGPI, cc, cm et ce, les vitesses respectives de biohydrogénation du lin cru, conditionné et extrudé, lc, lm et le, les temps respectifs de latence avant biohydrogénation du lin cru, conditionné et extrudé, et t, la durée d'incubation (heures). D_c est codé 1 pour LC et 0 pour les autres formes de lin, D_m est codé 1 pour LM et 0 pour les autres formes de lin, D_e est codé 1 pour LE et 0 pour les autres formes de lin. Les paramètres de l'équation et les différences de vitesses ou de temps de latence de biohydrogénation ont été calculés avec le modèle de régression non linéaire de SYSTAT.

L'effet du traitement du lin sur la vitesse de biohydrogénation ou sur le temps de latence a été déclaré significatif lorsque l'intervalle de la différence (95%) correspondante ne contenait pas 0.

Les proportions des AG à chaque temps d'incubation *in vitro* étaient comparées entre les traitements de graines de lin par l'utilisation du modèle linéaire général de SYSTAT (Version 9 ; SPSS Inc., 1998 Chicago IL, Etas-Unis) :

$$\text{Proportion d'acide gras} = \text{moyenne générale} + \text{effet traitement} + \text{effet série} + \varepsilon.$$

Les expériences *in vivo* et *in situ* avec des vaches fistulées, ainsi que les expériences *in vivo* avec des vaches en lots ont été réalisées en carré latin 3x3. Les proportions des AG, la production et la composition du lait et les proportions des AG à chaque temps d'incubation *in situ* ont été comparées entre les traitements de graines de lin par l'utilisation du modèle linéaire général de SYSTAT :

$$Y = \text{moyenne générale} + \text{effet traitement des graines} + \text{effet période} + \text{effet vache} + \varepsilon.$$

Le test de Tuckey a été utilisé pour comparer les effets de traitements deux à deux lorsqu'un effet significatif était détecté. La différence entre traitements était déclarée significative à $P < 0,05$.

Les paramètres fermentaires du rumen ont été analysés en mesures répétées, le régime étant un facteur à étudier et le temps étant un facteur de répétition.

2. PARTIE I. EFFETS DU CONDITIONNEMENT ET DE L'EXTRUSION DE GRAINES DE LIN SUR LA BIOHYDROGENATION DES AGPI *IN VITRO*

L'objectif de cette expérience *in vitro* était de préciser quels sont les intermédiaires de biohydrogénation des AGPI des graines de lin, et d'étudier les effets du conditionnement et de l'extrusion des graines de lin sur la biohydrogénation ruminale et sur l'équilibre des intermédiaires de cette biohydrogénation. En effet, les études concernant l'effet des traitements thermiques des graines de lin sur la biohydrogénation de C18:3 sont relativement limitées (Soita et al., 2003 ; Gonthier et al., 2004b).

2.1. Matériels et méthodes spécifiques

2.1.1. Source de matière grasse et milieu d'incubation

La source de matière grasse était un mélange de 70 % de graines de lin et de 30 % de son de blé sous trois formes : LC, LM et LE. Toutes les formes étaient broyées à la grille de 0,5 mm, et 0,4 g étaient incubés dans chaque erlenmeyer. La composition chimique des graines de lin est présentée dans le tableau 5.

Le milieu d'incubation utilisé pour cette expérience se composait pour chaque erlenmeyer de :

- 60 ml du jus de rumen fraîchement prélevé et filtré.
- 60 ml de tampon bicarbonaté et phosphaté.
- 1,2 g de pois broyé à la grille de 3 mm.
- 2,5 g de paille ayant séjournés 12 h dans un sachet nylon (45µm de porosité) dans le rumen d'une vache fistulée.

Le prélèvement de jus de rumen était effectué le matin à l'aide d'une pompe à vide, sur des vaches Prim'Holstein taries, équipées d'une canule ruminale, et recevant une ration constituée d'ensilage de maïs et de concentrés. Le jus était immédiatement filtré. Le trajet entre la ferme et le laboratoire prenait 30 min, pendant lesquelles le jus était conservé dans une bouteille pleine et fermée, à 39 C°.

Le tampon utilisé (Enjalbert et al., 2003) se composait de (g/l):

- NaHCO₃ : 9,24g
- Na₂HPO₄.2H₂O : 19,5g
- NaCl : 0,705g
- KCl : 0,675g

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,108g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,180g

Tableau 5. Composition chimique des graines de lin

Graines de lin	LC	LE	LM
MS, % de la matière brute	92,28	93,62	89,36
% de MS			
MG	26,27	31,07	28,35
NDF	28,45	30,33	29,53
ADF	13,34	12,36	12,19
MAT	19,17	19,61	19,36
Cendres Brutes	4,27	4,34	4,44
Profil des AG (g d'AG /100 g de C18 ²)			
C18:0	3,49	3,55	3,32
<i>cis</i> -9C18:1	17,97	18,07	16,55
C18:2	19,12	19,21	19,78
C18:3	58,14	57,85	59,08

¹ LC : graines de lin crues, LM : graines de lin conditionnées, LE : graines de lin extrudées.

² AG à 18 carbones.

Le pois était utilisé comme source d'azote et d'amidon pour les micro-organismes pendant la durée d'incubation. Presque la moitié de la population des bactéries du rumen se trouve attachée aux particules alimentaires, et la biohydrogénation se déroule plus rapidement en présence des particules alimentaires (Agazzi et al., 2004). Nous avons donc incubé des sachets de Nylon contenant 2,5 g de paille broyée à la grille de 3 mm dans le rumen pendant la nuit précédant le prélèvement. Le matin, ils ont été retirés juste avant le prélèvement du jus.

2.1.2. Protocole

Un bain-marie rotatif (Aquatron, Infors AG, Bottmingen, Allemagne) de capacité 15 flacons, a été utilisé pour les incubations. Les flacons utilisés étaient des erlenmeyers de 250 ml, bien fermés par des bouchons. De manière à laisser s'échapper les gaz de fermentation au fur et à

mesure de leur production sans que de l'air ne puisse rentrer, chaque bouchon était traversé par une aiguille connectée à un tube dont l'extrémité plongeait dans l'eau du bain-marie. Avant d'introduire la solution tampon dans les erlenmeyers, elle était préchauffée à 39°C et saturée en CO₂, conduisant à un pH neutre.

Le milieu d'incubation et le substrat ont été introduits dans les flacons, puis on a complété l'espace restant par du CO₂ pour assurer un environnement en anaérobiose. L'incubateur était réglé à 39°C, son mouvement circulaire dans un plan horizontal était de 130 tours/min et une couverture plastique noire était mise sur l'Aquatron pendant toute la période de l'incubation pour mettre les flacons à l'abri de la lumière.

Aux horaires souhaités, l'Aquatron était arrêté, les erlenmeyers étaient rapidement placés dans de l'eau glacée afin d'arrêter la biohydrogénation ruminale, le pH était mesuré et le contenu des erlenmeyers était transféré dans des pots tarés, pour congélation. Les pots congelés étaient transférés au lyophilisateur (Vitris Freezemobile 25, Vitris Gardiner, New-York, Etats-Unis). Après la lyophilisation, le poids de chaque pot était mesuré. Les lyophilisats étaient broyés à l'aide d'un broyeur à billes (Danguomeau Prolabo, Nogent-sur-Marne, France). Le contenu des pots était ensuite transféré dans des petits flacons en plastique et congelé en attendant l'analyse.

2.1.3. Planning des incubations

Les incubations ont été effectuées par séries, chaque série comprenant 4 erlenmeyers : un blanc sans source de matière grasse ajoutée (pour éliminer les AG qui ne provenaient pas du produit testé, en soustrayant des AG présents dans l'erlenmeyer contenant le produit à tester les AG du blanc incubé dans la même série et pendant la même durée), et trois erlenmeyers contenant LC, LM, LE. Deux séries étaient traitées à la fois. Les durées d'incubations étaient de 2, 4, 8, 16 et 24 h, et pour chaque durée d'incubation cinq répétitions ont été faites.

Les mises en incubation étaient faites à 9h00 pour les durées d'incubation de 2, 4 et 8 h, à 16h30 pour les durées d'incubation de 16 et 24 h.

2.2. Résultats

2.2.1. Effet des traitements du lin sur la cinétique de disparition des AGPI : vitesse de biohydrogénation et temps de latence

Le pH du milieu était supérieur à 6 pendant toute la durée d'incubation (Figure 5).

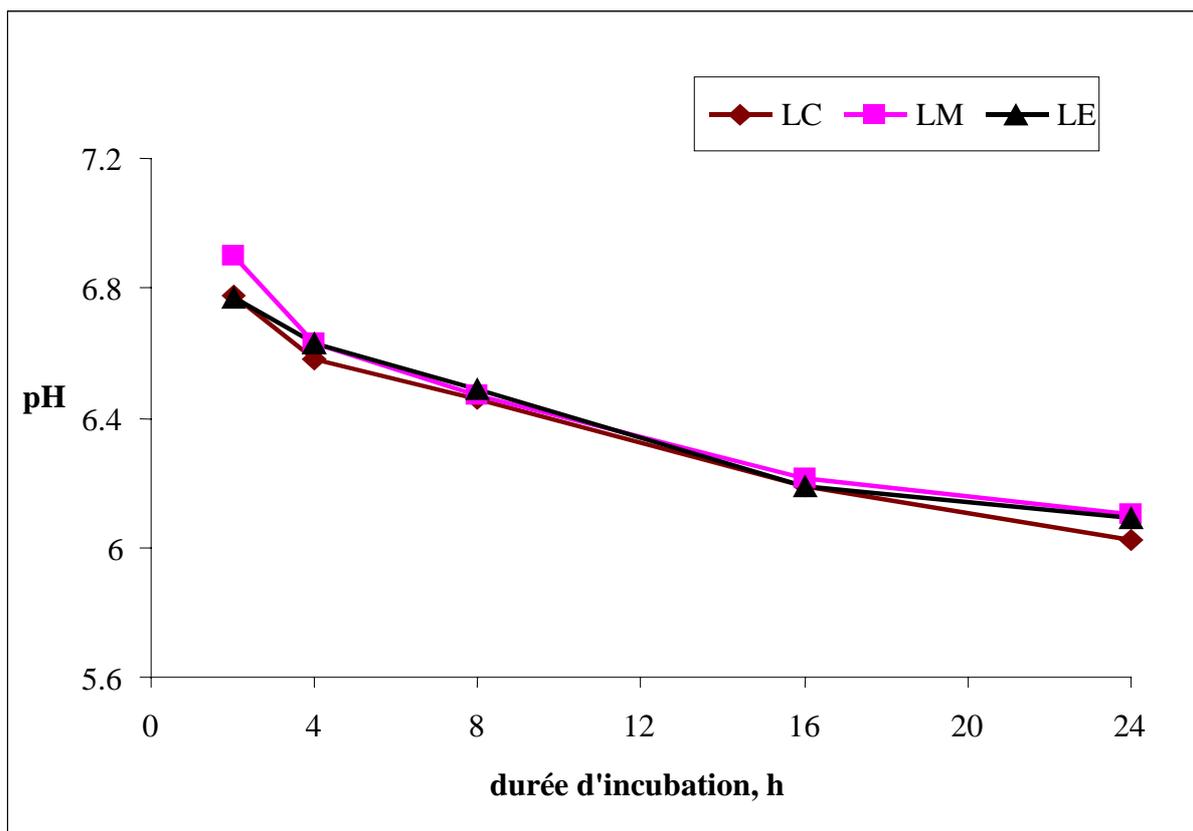


Figure 5: Evolution du pH en fonction de la durée d'incubation *in vitro* de graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE).

Les cinétiques de disparition de C18:2 et de C18:3 figurent sur le tableau 6.

Le temps de latence pour la biohydrogénation de C18:2 était voisin de 1 h avec LC et LE, mais ne différait pas significativement de zéro avec LM. Ce temps de latence pour C18:3 n'a pas été affecté par les traitements des graines de lin, et il ne différait pas significativement de zéro avec les trois formes de graines de lin.

Les vitesses de biohydrogénation de C18:2 et de C18 :3 étaient significativement plus faibles avec LM qu'avec LC, et ceux obtenus avec LE ne différaient pas significativement de ceux obtenus avec LE et LM.

Tableau 6. Effet des traitements du lin sur le temps de latence et la vitesse de biohydrogénation des AGPI incubés *in vitro* (moyenne \pm ECTM).

Traitement ¹	LC	LM	LE
C18:2			
Temps de latence, h	1,0 ^c \pm 0,3	0,4 \pm 0,5	0,8 ^c \pm 0,4
Vitesse de biohydrogénation, %/h	23,8 ^a \pm 3,3	13,7 ^b \pm 1,7	18,2 ^{ab} \pm 2,4
r ²		0,89	
C18:3			
Temps de latence, h	0,4 \pm 0,5	0,3 \pm 0,5	0,3 \pm 0,5
Vitesse de biohydrogénation, %/h	23,2 ^a \pm 3,8	13,0 ^b \pm 1,6	18,2 ^{ab} \pm 2,7
r ²		0,87	

¹LC: cru, LM: conditionné, EL: extrudé.

^{a,b} les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une même ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

^c Le temps de latence diffère significativement de zéro.

La disparition des AGPI des graines de lin était rapide pendant les 8 premières heures d'incubation, mais entre 8 h et 24 h d'incubation la disparition était lente (Figures 6 et 7). Après 8 h d'incubation, environ 82 % du C18:3 initial avait disparu, alors que de 8 h à 24 h d'incubation 8 % seulement du C18:3 initial ont disparu.

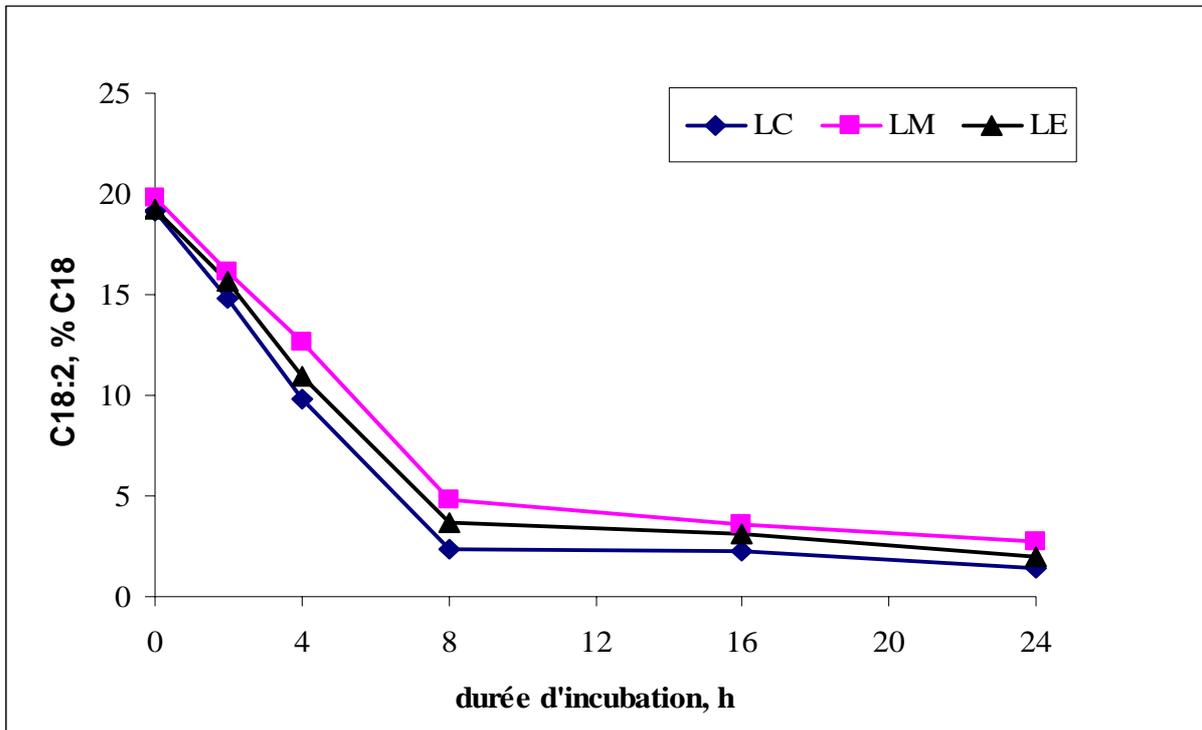


Figure 6 : Pourcentage de C18:2 (% des AG C18 totaux) avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in vitro*.

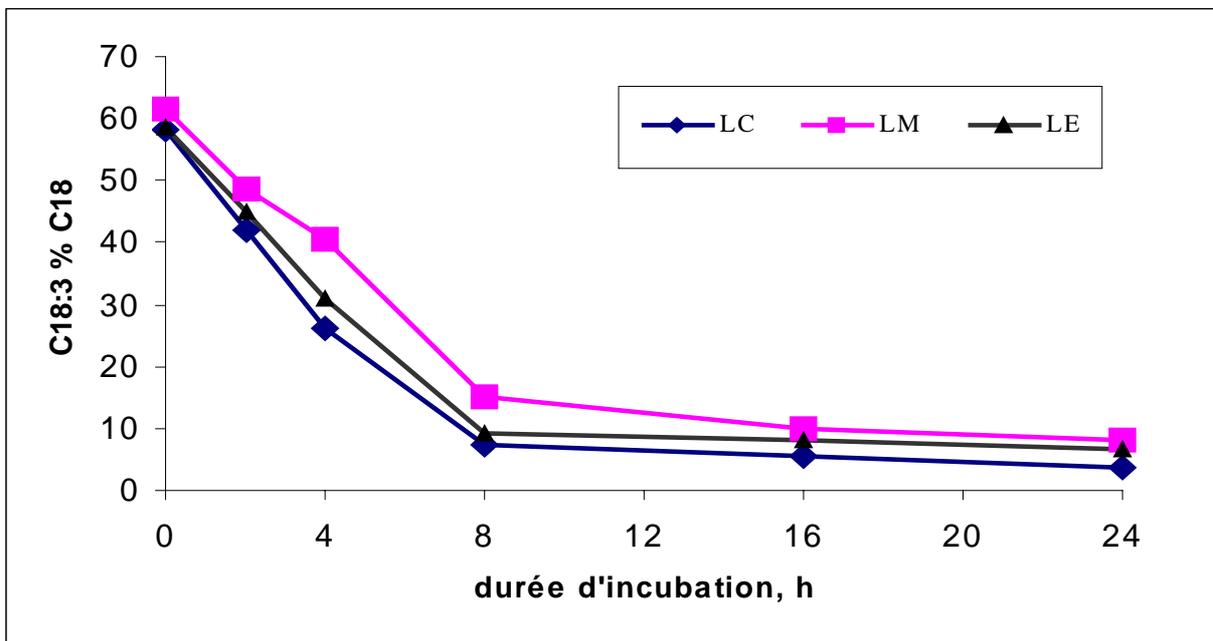


Figure 7 : Pourcentage de C18:3 (% des AG 18 totaux) avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in vitro*.

2.2.2. Effet des traitements du lin sur les proportions de C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3

La proportion de C18:0 était plus élevée avec LC qu'avec LM ou LE pour toutes les durées d'incubation (tableau 7). A 8 h d'incubation, la proportion de C18:0 était significativement plus élevée avec LC qu'avec LM et de 16 h à 24 h était significativement supérieure avec LC par rapport à LE, mais il n'y avait par contre aucune différence significative entre LM et LE.

De 4 à 24 h d'incubation, la proportion de *cis*-9C18:1 était plus élevée avec LE : la différence était significative de 8 h à 24 h avec LC, mais il n'y avait pas de différence significative par rapport à LM. Hormis à 4 h d'incubation, la proportion de C18:2 était significativement plus élevée avec LM qu'avec LC pour toutes les autres durées d'incubation. De même, la proportion de C18:2 était plus élevée avec LE qu'avec LC à 8 h et 16 h d'incubation. A 8 h d'incubation la proportion de C8:2 était significativement plus élevée avec LM qu'avec LE.

Parallèlement, de 2 h à 16 h la proportion de C18:3 était plus élevée avec LM qu'avec LC ou LE. A 24 h, les deux types de traitements des graines de lin ont conduit à une proportion significativement plus élevée de C18:3 que LC.

Ainsi, globalement, les proportions des AGPI étaient dans l'ordre suivant : LM > LE > LC, et à partir de 4h d'incubation la proportion de *cis*-9C18:1 était dans l'ordre suivant : LE > LM > LC (Tableau 7).

Tableau 7. Effet des traitements du lin sur les proportions des AG et des intermédiaires de biohydrogénation incubés *in vitro* (en % C18).

durée d'incubation, h	2				4				8				16				24			
	LC	LM	LE	ET ²	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET
C18:0	12,57	12,16	11,52	1,20	26,48	15,18	19,57	2,82	54,34 ^a	43,68 ^b	45,19 ^{ab}	1,64	62,23 ^a	55,40 ^{ab}	52,52 ^b	1,60	68,54 ^a	62,15 ^{ab}	59,30 ^b	1,10
<i>cis</i> -9C18:1	17,15 ^a	15,30 ^b	18,62 ^a	0,41	14,33	15,38	16,41	1,12	6,57 ^b	9,08 ^a	10,7 ^a	0,59	6,08 ^b	7,15 ^{ab}	8,53 ^a	0,4	5,10 ^b	5,83 ^{ab}	7,08 ^a	0,31
<i>trans</i> -C18:1 totaux	7,24 ^a	4,77 ^b	5,88 ^{ab}	0,40	12,61 ^a	8,35 ^b	11,77 ^a	0,41	18,22	17,42	19,68	0,60	15,45 ^b	14,67 ^b	17,67 ^a	0,47	13,36 ^b	13,33 ^b	16,24 ^a	0,70
<i>trans</i> -4C18:1	0,25	0,14	0,24	0,06	0,25 ^a	0,10 ^b	0,20 ^{ab}	0,03	0,34	0,30	0,39	0,03	0,44	0,15	0,24	0,09	0,27	0,30	0,18	0,03
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,35 ^a	0,21 ^b	0,30 ^b	0,02	0,67 ^a	0,30 ^b	0,49 ^a	0,05	0,89	0,75	0,76	0,05	0,76 ^a	0,63 ^b	0,71 ^{ab}	0,03	0,59	0,48	0,61	0,04
<i>trans</i> -9C18:1	0,30 ^a	0,14 ^b	0,28 ^a	0,03	0,47 ^a	0,19 ^b	0,40 ^{ab}	0,05	0,48	0,42	0,40	0,03	0,48	0,43	0,51	0,02	0,54	0,31	0,58	0,07
<i>trans</i> -10+11C18:1	4,15 ^a	2,88 ^b	3,53 ^{ab}	0,21	6,87 ^a	5,20 ^b	7,32 ^a	0,19	10,53 ^b	11,16 ^{ab}	12,84 ^a	0,53	8,77 ^b	8,87 ^b	11,03 ^a	0,32	7,56 ^b	7,81 ^b	10,23 ^a	0,43
<i>trans</i> -12C18:1	0,38	0,23	0,20	0,05	0,64 ^a	0,34 ^b	0,55 ^{ab}	0,04	0,65	0,69	0,48	0,13	0,58	0,65	0,76	0,08	0,24	0,59	0,48	0,12
<i>trans</i> -13+14C18:1	1,01 ^a	0,66 ^b	0,72 ^{ab}	0,06	2,06 ^a	1,05 ^c	1,56 ^b	0,12	2,48 ^a	2,14 ^b	2,35 ^{ab}	0,07	2,22	1,96	2,24	0,07	2,02	1,92	2,04	0,09
<i>trans</i> -15C18:1	0,39	0,24	0,20	0,07	0,68 ^a	0,43 ^b	0,55 ^{ab}	0,07	1,26 ^a	1,01 ^b	1,11 ^{ab}	0,06	1,01	0,89	1,00	0,04	1,00	0,91	0,94	0,05
<i>trans</i> -16C18:1	0,41	0,25	0,30	0,05	0,95 ^a	0,49 ^c	0,70 ^b	0,05	1,41	0,97	1,36	0,15	1,19	1,10	1,18	0,04	1,15	1,12	1,08	0,05
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,41	0,19	0,33	0,07	1,06	0,96	1,29	0,09	0,85 ^b	1,12 ^{ab}	1,47 ^a	0,09	0,99 ^b	1,29 ^{ab}	1,62 ^a	0,09	0,95 ^b	1,13 ^{ab}	1,40 ^a	0,09
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	2,83	1,40	2,39	0,38	3,43	3,13	4,13	0,27	2,50 ^b	3,18 ^a	3,69 ^a	0,15	2,11 ^b	2,56 ^{ab}	3,19 ^a	0,18	1,91 ^b	2,11 ^{ab}	2,90 ^a	0,20
C18:2	14,79 ^b	16,15 ^a	15,66 ^{ab}	0,27	9,84	12,67	10,92	0,80	2,38 ^c	4,82 ^a	3,68 ^b	0,26	2,30 ^b	3,62 ^a	3,07 ^a	0,17	1,39 ^b	2,76 ^a	1,99 ^{ab}	0,23
CLN	0,62	0,23	0,43	0,11	1,49	1,51	1,73	0,13	0,81 ^a	1,35 ^{ab}	1,82 ^b	0,17	1,14 ^a	1,76 ^{ab}	2,09 ^b	0,16	1,42	1,58	1,87	0,21
C18:3	39,99 ^b	46,76 ^a	42,26 ^b	1,02	26,04 ^b	40,67 ^a	30,80 ^b	1,60	7,53 ^b	15,11 ^a	9,34 ^b	0,79	5,41 ^b	10,08 ^a	8,05 ^b	0,52	3,72 ^b	8,12 ^a	6,56 ^a	0,54

¹ LC: mélange cru contenant 70% graines de lin + 30% son de blé, LM : mélange conditionné contenant 70% graines de lin + 30% son de blé, LE: mélange extrudé contenant 70% graines de lin + 30% son de blé.

² ET : écart-type de la moyenne.

^{a-c} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne et pour une même durée d'incubation diffèrent significativement (P < 0,05).

2.2.3. Effet des traitements du lin sur les intermédiaires de biohydrogénation

A 16 h et 24 h d'incubation, la proportion de CLN était significativement plus élevée avec LE qu'avec LC, mais il n'y avait pas de différence significative entre LM et LE.

Dès 8 h d'incubation, les proportions de *cis-9,trans-11C18:2* et *trans-11,cis-15C18:2* étaient significativement plus élevées avec LE qu'avec LC. LM conduisait à des proportions intermédiaires mais il ne différait pas significativement de LC.

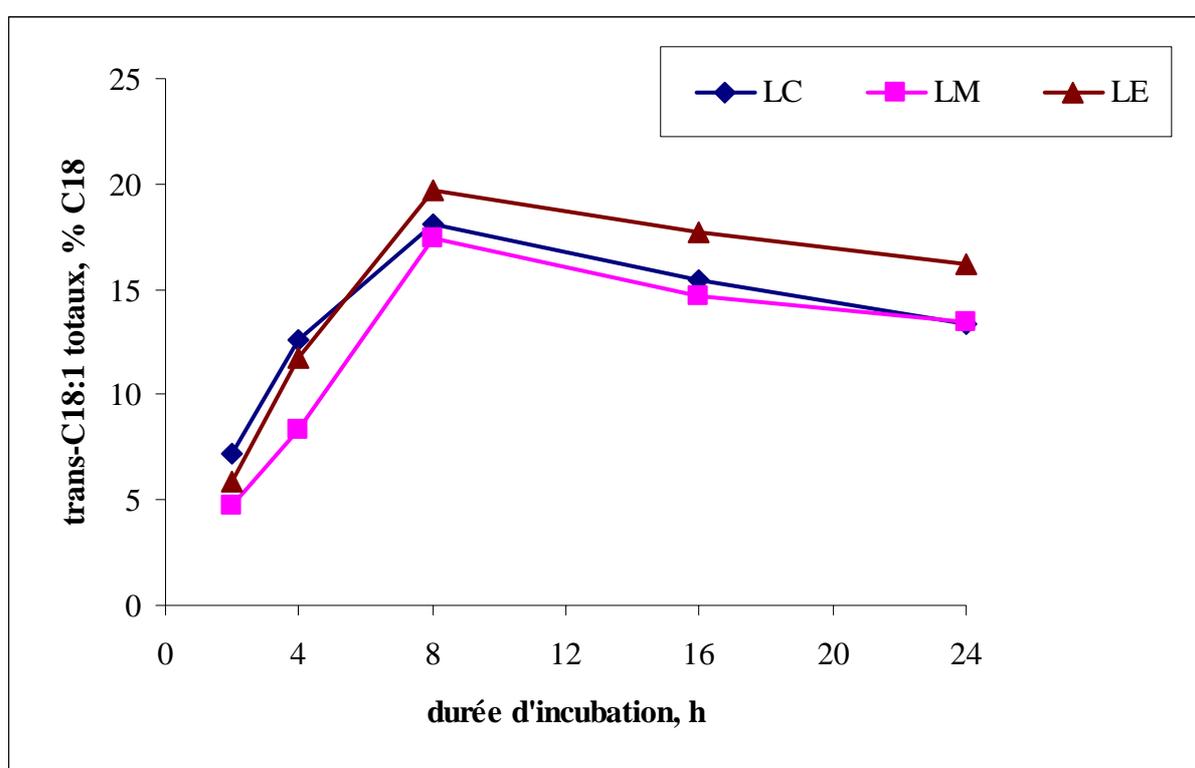


Figure 8 : Evolution de la proportion de *trans-C18:1* totaux (% des AG C18) au cours de l'incubation *in vitro* de graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE).

La proportion de *trans-C18:1* totaux a été affectée par les traitements des graines de lin en fonction de la durée d'incubation (Tableau 7 et figure 8) : à 2 h et à 4 h d'incubation, la proportion de *trans-C18:1* totaux était significativement plus élevée avec LC qu'avec LM. A 16 h et à 24 h d'incubation la proportion de *trans-C18:1* totaux était supérieure avec LE par rapport à LM ou LC.

A 4 h d'incubation, les proportions de tous les *trans*-C18:1 étaient significativement plus élevées avec LC qu'avec LM. Parmi les *trans*-C18:1, *trans*-10+11C18:1 avaient la proportion la plus élevée pour toutes les formes de graines de lin et pour toutes les durées d'incubation. Leurs proportions étaient significativement plus élevées avec LE qu'avec LC à 8 h, 16 h et 24 h d'incubation. La proportion de *trans*-13+14C18:1 était la plus élevée après celle de *trans*-10+11C18:1, et ce pour toutes les formes de graines de lin. A 4 h et 8 h d'incubation les proportions de *trans*-13+14C18:1 et de *trans*-15C18:1 étaient significativement plus élevées avec LC qu'avec LM, les différences entre LE et LC n'étaient pas significatives. A partir de 8 h d'incubation, les traitements des graines de lin n'avaient pas d'effet sur les proportions des *trans*-C18:1 de *trans*-4 à *trans*-9, de *trans*-12C18:1 et de *trans*-16C18:1. Le *trans*-5C18:1 n'a pu être dosé car sa teneur dans l'échantillon était inférieure au seuil de détection de l'analyse chromatographique.

2.3. Discussion

2.3.1. Vitesse de biohydrogénation

Dans cette expérience, le vitesse de biohydrogénation de C18:2 et de C18:3 dans le lin cru était similaire à celui observé avec le colza cru par Enjalbert et al. (2003), mais supérieur à celui trouvé par Reddy et al. (1994) pour le C18:2 des graines de soja crues. Reddy et al. (1994) ont trouvé que 79,8 % du C18:2 contenus dans des graines de soja crues était hydrogéné après 24 h d'incubation *in vitro*, alors que dans notre étude *in vitro*, avec du lin cru, la biohydrogénation de C18:2 après 8 h d'incubation atteignait déjà 86,5%. Dans notre expérience et celle d'Enjalbert et al. (2003), des sachets contenant de la paille broyée et incubés dans le rumen pendant la nuit précédant les incubations étaient ajoutés au milieu d'incubation. Cela peut expliquer le taux plus élevé de biohydrogénation dans notre expérience par rapport à celui trouvé par Reddy et al. (1994). En effet, la biohydrogénation se déroule beaucoup plus rapidement en présence de particules alimentaires (Harfoot et al., 1973 ; Agazzi et al., 2004).

Dans notre expérience, le conditionnement a ralenti la biohydrogénation en comparaison avec le lin cru, alors que l'extrusion conduisait à des résultats intermédiaires, et qui ne différaient significativement ni du lin cru, ni du lin conditionné. L'exposition à la chaleur des graines oléagineuses peut protéger la matière grasse insaturée de la biohydrogénation ruminale par

l'enrobage du globule de lipide avec des protéines dénaturées par la chaleur, ce qui peut augmenter la teneur d'AGPI dans l'intestin grêle (Kennelly, 1996).

Reddy et al. (1994) ont ainsi trouvé que la biohydrogénation des AGI de graines de soja extrudées était significativement inférieure à celle des AGI de graines de soja crues (67 % contre 77 %) après 24 h d'incubation *in vitro*. Au contraire, Enjalbert et al. (2003) avec du colza et Chow et al. (2003) avec du lin ont trouvé que la biohydrogénation et la lipolyse des AGPI *in vitro* étaient plus rapides après l'extrusion de graines. La vitesse de biohydrogénation (%heure) des AGPI de graines de colza extrudées trouvée par Enjalbert et al. (2003) était 2 fois plus élevée que celle observée avec le lin extrudé dans notre expérience. *In vivo*, Gonthier et al. (2004b), et Focant et al. (1998) ont montré que l'extrusion des graines de lin ne protégeait pas la matière grasse contre la biohydrogénation ruminale.

Le conditionnement du lin a dans notre expérience significativement ralenti la biohydrogénation. Aucune étude des effets uniquement dus au conditionnement des graines de lin sur la digestion des AG n'a, à notre connaissance, été faite auparavant. Le conditionnement est couramment utilisé dans l'industrie alimentaire comme traitement thermique et comme aide à la mise en forme (Vandewalle et al., 1997). Ce traitement lorsqu'il précède l'extrusion a pour but d'humidifier et de chauffer les produits à extruder (Bouvier, 1996). Les AGPI des graines de tournesol humidifiées et chauffées échappent à la biohydrogénation ruminale, l'effet de l'humidification étant expliqué par l'effet de la chaleur associée (Mustafa et al., 2003c). Dans notre expérience, en raison de la basse température utilisée (le lin était conditionné à 35°C), l'effet protecteur partiel des AGPI ne pouvait pas être attribué à la chaleur. En outre, nous avons éliminé l'effet de la taille des particules en broyant toutes les formes de lin à l'aide d'une grille de 0,5 mm avant l'incubation. La connaissance de l'origine de l'effet protecteur du conditionnement nécessiterait des essais complémentaires avec des températures différentes de conditionnement.

2.3.2. Intermédiaires de biohydrogénation

Le CLN dosé dans notre expérience correspondait aux isomères 9,11,15C18:3. Harfoot et Hazlewood (1988) ont décrit le *cis-9,trans-11,cis-15C18:3* comme étant le principal isomère conjugué dans la biohydrogénation ruminale de C18:3. La quantité de *cis-9,trans-11,cis-15C18:3* augmente avec le temps d'incubation des graines de lin crues *in vitro* (Sinclair et al., 2005). Dans leur expérience, Sinclair et al. (2005) ont trouvé 2 % de *cis-9,trans-11,cis-*

15C18:3 (en % des C18 sélectionnés) après 6 heures d'incubation. Cette proportion augmentait à 10 % après 24 h d'incubation. Dans notre expérience, la proportion maximale de CLN avec le lin cru (1,49 % des AG C18 totaux) a été observée après 4 h d'incubation.

La proportion de *trans*-11,*cis*-15C18:2 était beaucoup plus importante que celle de *cis*-9,*trans*-11C18:2 avec toutes les formes de graines de lin. Le *trans*-11,*cis*-15C18:2 est connu pour être un intermédiaire important de la biohydrogénation de C18:3 (Body, 1976 ; Loor et al., 2004). Au contraire, le *cis*-9,*trans*-11C18:2 n'est pas un intermédiaire de la biohydrogénation de C18:3 (Harfoot et Hazlewood, 1988), si bien que Troegeler-Meynadier et al. (2003) ont noté que l'ajout de C18:3 à un milieu d'incubation contenant du C18:2 en quantité constante, n'affecte pas la quantité de *cis*-9,*trans*-11C18:2 après 6 heures d'incubation *in vitro*. La matière grasse des graines de lin, dans notre expérience, contenait 19% de C18:2, ce C18:2 est donc probablement à l'origine du *cis*-9,*trans*-11C18:2 dosé.

Huit isomères ou groupes d'isomères de *trans*-C18:1 ont été séparés dans notre expérience *in vitro*, leur distribution globale observée a été comparable à celle trouvée par différents auteurs (Bickerstaffe et al., 1972 ; Loor et al., 2002b). En accord avec les résultats obtenus *in vivo* par Loor et al. (2004), l'incubation de graines de lin *in vitro* a permis d'augmenter principalement les proportions de *trans*-10+11C18:1, *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1. Selon Harfoot et Hazlewood (1988) le *trans*-15C18:1 est un intermédiaire important dans la biohydrogénation de C18:3. Cependant, indépendamment de la forme du lin, la proportion de *trans*-15C18:1 dans notre expérience *in vitro*, représentait moins de 50% de celles des *trans*-13+14C18:1 à 16 h et 24 h d'incubation. Les résultats obtenus *in vitro* par Ward et al. (1964) sur la biohydrogénation de C18:3, ont souligné l'importance des *trans*-13C18:1 et *trans*-14C18:1 comme intermédiaires de la biohydrogénation de C18:3.

Dans notre expérience, l'extrusion du lin a permis d'augmenter la proportion de tous les intermédiaires de la biohydrogénation : CLN, *trans*-11,*cis*-15C18:2, *cis*-9,*trans*-11C18:2, *trans*-C18:1 totaux et *trans*-10+11C18:1. L'extrusion des graines oléagineuses est réputée ralentir les dernières étapes de la biohydrogénation, en augmentant surtout les intermédiaires *trans* (Chouinard et al., 1997a ; Bayourthe et al., 2000 ; Abughazaleh et al., 2002). Cette augmentation des intermédiaires suite à l'extrusion est aussi observée *in vitro* et *in situ* avec du colza (Enjalbert et al., 2003). De même, l'extrusion de graines de soja augmente la proportion de *trans*-11C18:1 de 2,72 % à 11,44 % (Chouinard et al., 1997b) et celle de *cis*-9,*trans*-11C18:2 de 0,42 % à 1,99 % (Chouinard et al., 2001) dans la matière grasse du lait.

Le processus d'extrusion rompt les membranes des cellules végétales, et libère ainsi l'huile de la graine, ce qui permet à l'huile d'adhérer à la surface des particules extrudées, et cette huile

« libre » pourrait ainsi empêcher l'activité des micro-organismes qui sont responsables des dernières étapes de la biohydrogénation (Rueggsegger et Schultz, 1985 ; Chouinard et al., 1997a).

Au contraire, une proportion de *trans*-C18:1 plus faible avec LM qu'avec LE et LC (significatif à 4 h d'incubation) a été observée, elle pourrait être liée à la lenteur de la biohydrogénation observée avec LM (Tableau 7).

Le conditionnement du lin a ralenti la biohydrogénation des AGPI et a eu comme conséquence une faible proportion de *trans*-C18:1. Une protection par la chaleur n'est pas envisageable à cause de la faible température de conditionnement. L'extrusion du lin n'a pas significativement affecté la vitesse de biohydrogénation de C18 :2 et de C18:3 mais a conduit à une augmentation des proportions des intermédiaires octadécatriénoïques, octadécadiénoïques et octadécénoïques de biohydrogénation, en accord avec les données bibliographiques sur l'extrusion. Ce travail confirme en outre la formation de CLN, *trans*-11, *cis*-15C18:1, *trans*-11C18:1, *trans*-13C18:1, *trans*-14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 lors de la biohydrogénation ruminale des AG de graines de lin.

3. PARTIE II. EFFET DU CONDITIONNEMENT ET DE L'EXTRUSION DES GRAINES DE LIN SUR LA BIOHYDROGENATION *IN SITU ET IN VIVO*

L'objectif de cette partie était de vérifier l'effet des traitements thermiques des graines de lin, préalablement testés *in vitro*, sur la biohydrogénation des AGPI dans le rumen et les paramètres fermentaires ruminiaux, dans des conditions *in situ* et *in vivo*. L'expérience *in situ* a été réalisée parce que l'évolution de la biohydrogénation et des intermédiaires y est étudiée dans un milieu physiologique (le rumen). Cependant, la méthode *in situ* n'étant pas totalement validée pour la mesure de la biohydrogénation des AG. Une comparaison des résultats obtenus *in situ* avec ceux obtenus *in vitro* et *in vivo* a permis de vérifier les avantages et les inconvénients de cette méthode dans le cadre de l'étude des matières grasses. Les objectifs étaient donc à la fois méthodologiques et cognitifs.

3.1. Matériels et méthodes spécifiques

3.1.1. Protocole expérimental

L'étude a été réalisée selon un plan expérimental en carré latin, utilisant trois vaches taries munies de canules ruminale et duodénale, et trois régimes sur trois périodes. La durée de chaque période était de 21 jours, comprenant 18 jours d'adaptation et trois jours de prélèvements.

3.1.2. Les régimes

Les sources de matières grasses étaient identiques à celles utilisées dans l'expérience *in vitro*. La forme des graines de lin était la seule différence entre les trois régimes. La ration était à base de foin de prairie composé de *Dactylis glomerata* et *Festuca arundinacea*. Les ingrédients et la composition chimique de la ration sont présentés dans le tableau 8.

Les animaux étaient nourris deux fois par jour, à 8h00 et à 18h00, de l'eau était disponible à volonté.

Tableau 8 : Ingrédients et composition chimique des régimes.

Régime ¹	LC	LM	LE
Quantité de MS (kg/j)			
Foin ²	9,20	9,20	9,20
Tourteau de soja	0,89	0,89	0,89
Lin cru	2,77	-	-
Lin conditionné	-	2,68	-
Lin extrudé	-	-	2,80
AMV ³	0,09	0,09	0,09
Composition chimique (% de MS)			
MAT	13,80	13,94	13,86
NDF	54,45	55,09	54,75
ADF	28,36	28,28	28,05
C18	6,28	5,97	6,48
AG (% C18) ⁴			
C18:0	3,55	3,41	3,60
<i>cis</i> -9C18:1	17,12	15,86	17,24
C18:2	20,40	20,92	20,33
C18:3	57,79	57,95	56,98

¹ LC : ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE : ration contenant des graines de lin extrudées.

² Foin : foin de prairie composé de (*Dactylis glomerata*) et (*Festuca arundinacea*).

³ Aliment minéral et vitaminé contenant : 7% P, 21% Ca, 6% Mg, 1% Na, 4,5 g Zn/kg, 3,5 g Mn/kg, 0,8 g Cu/kg, 0,07 g I/kg, 300000 UI de vitamine A/kg, 60000 UI de vitamine D₃/kg, 0,7 g de vitamine E/kg.

⁴ acides gras à 18 caebones.

3.1.3. Prélèvements

Au cours des 3 derniers jours de chaque période, des échantillons de contenu ruminal et de contenu duodéal ont été prélevés. Les échantillons étaient prélevés toutes les 6 heures à 8h00, 14h00, 20h00 et 2h00 le premier jour, puis les horaires de prélèvement étaient décalés de 2 h le second jour puis encore de 2 h le troisième jour, de manière à avoir l'équivalent d'un prélèvement toutes les deux heures sur 24 heures.

Un litre de contenu ruminal était recueilli à l'aide d'une pompe à vide, le pH était mesuré immédiatement et le contenu était filtré à l'aide d'un tamis de maille 0,25 mm, le résidu

restant dans le tamis représentait la phase solide et le filtrat représentait la phase liquide. 50 ml de contenu duodéal étaient prélevés en même temps que le contenu ruminal. Les échantillons étaient immédiatement congelés. Une fois congelés, les échantillons étaient lyophilisés puis broyés et conservés à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à l'analyse. Avant analyse, les prélèvements effectués durant les trois jours pour une période et une vache donnée étaient mélangés afin d'obtenir un échantillon représentatif du nycthémère.

En outre, le 19^{ème} jour de chaque période, six prélèvements de contenu ruminal étaient effectués, le premier était fait avant le repas, les prélèvements suivants étaient faits à raison d'un prélèvement toutes les 2 h entre les deux repas de la journée. Deux échantillons de 10 ml de phase liquide étaient récupérés, un conservateur (HgCl_2) était ajouté, puis les échantillons étaient congelés. Ces échantillons étaient destinés à doser les AGV et l'ammoniac (N-NH_3).

3.1.4. Protocole de l'expérience *in situ*

Cette expérience était effectuée sur des vaches fistulées parallèlement à l'expérience *in vivo*. Nous avons étudié la biohydrogénation ruminale par l'incubation de sachets contenant des graines de lin crues, conditionnées ou extrudées dans le rumen, en se fondant sur la méthode proposée par Michalet-Doreau (1985) pour les matières azotées. Les sachets ont été fabriqués avec du Nylon, leur taille était de 11 x 6 cm et leur porosité de 45 μm (Blutex, Tissage tissus techniques, Combles, France). Chaque sachet contenait 1,5 g de matière à tester + 1,5 g de foin. Le foin était ajouté aux graines de lin dans les sachets, principalement pour faciliter l'adhésion des bactéries et des AG aux particules fibreuses (Agazzi et al., 2004). Les graines de lin et le foin étaient broyés à l'aide d'une grille de 0,5 mm. Au cours des 3 derniers jours de chaque période, les sachets contenant la forme de lin consommée par l'animal, étaient incubés dans chacune des trois vaches pendant 2, 4, 6, 8, 16, 24, et 48 h. Deux sachets par durée d'incubation étaient attachés à un plomb pour rester dans le sac ventral du rumen. Le premier jour, à 08h00 juste avant le repas, les sachets à incuber pendant 16, 24 et 48 h étaient introduits dans le rumen, à 00h00 les sachets incubés 16 h étaient récupérés et les sachets à incuber 8 h étaient introduits. Le deuxième jour à 08h00 juste avant le repas, les sachets à incuber 8 h et 24 h étaient récupérés et les sachets à incuber 2 h et 4 h étaient introduits, puis récupérés à 10h00 et 12h00 respectivement. Le troisième jour à 08h00 juste avant le repas les sachets à incuber 48 h étaient récupérés. Après la sortie du rumen les sachets étaient rincés sous un robinet à l'eau froide, jusqu'à ce que l'eau devienne claire, puis les sachets étaient congelés, et

lyophilisés. Ensuite leur contenu était broyé et homogénéisé à l'aide d'un broyeur à billes (Dangoumau, distribué par Prolabo, Nogent-sur-Marne, France), et conservé à -18°C jusqu'à l'analyse.

Deux sachets de chaque forme de graines de lin et préparés de la même manière que précédemment, mais incubés une heure dans de l'eau à 39°C , ont été traités de même façon et conservés avec les autres échantillons. Ces sachets ont été utilisés pour déterminer la proportion initiale des AG.

3.2. Effet des traitements du lin sur les fermentations ruminales

3.2.1. Résultats

Les valeurs des paramètres fermentaires du contenu ruminal sont présentées dans les tableaux 9 à 13. Avec les trois rations, le pH du contenu ruminal était compris entre 6,32 et 7,17 (tableau 9), et n'a pas été significativement modifié par les traitements du lin. Cependant, le pH avait tendance à être légèrement inférieur avec LC qu'avec LM et LE entre 2 h et 8 h après le repas. Avec les trois régimes le pH avait tendance à descendre juste après le repas puis à remonter 6 h après le repas.

Tableau 9 : Evolution du pH dans le rumen après le repas.

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
pH ruminal				
0 h	6,95	7,00	6,77	0,30
2 h	6,44	6,76	6,64	0,06
4 h	6,32	6,64	6,67	0,06
6 h	6,35	6,95	7,17	0,10
8 h	6,44	6,79	7,04	0,08
10 h	6,59	6,89	6,84	0,10
Effet régime : P = 0,08				
Effet temps : P = 0,08				
Interaction régime x temps : P = 0,27				

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM: ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

Les traitements du lin n'ont pas eu d'incidence significative sur la concentration totale en AGV (Tableau 10). Cependant, on remarque mais de façon non significative, une baisse de la concentration totale en AGV entre 4 et 8 h après le repas avec l'ingestion de LE ou LM.

Tableau 10 : Evolution de la concentration totale en AGV dans le rumen après le repas.

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
AGV (mmol/l)				
0 h	73,86	66,56	69,08	11,24
2 h	83,14	70,60	80,15	9,96
4 h	95,21	75,15	78,17	6,20
6 h	89,04	66,98	71,05	5,88
8 h	79,46	70,76	67,63	3,74
10 h	73,50	72,30	73,45	1,41
Effet régime : P = 0,13				
Effet temps : P = 0,40				
Interaction régime x temps P =0,91				

¹LC : ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE : ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

Les traitements du lin n'ont pas modifié de façon significative les proportions des acides acétique, propionique, et valérique (Tableau 11). On remarque cependant, que la proportion d'acide acétique était légèrement supérieure (P= 0,10) et la proportion d'acide propionique avait tendance à être inférieure (P= 0,06) avec l'ingestion de LM par rapport à celle de LC ou LE. Le rapport acétique/propionique et la proportion d'acide butyrique étaient significativement modifiés par le conditionnement du lin : l'ingestion de LM a augmenté le rapport acétique/propionique et baissé la proportion d'acide butyrique en comparaison avec LC et LE.

Tableau 11 : Evolution des proportions des acides gras volatils dans le rumen après le repas.

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
Acide acétique (moles / 100 moles d'AGV)				
0 h	71,47	71,62	69,44	0,49
2 h	67,67	68,94	65,11	0,78
4 h	65,92	70,73	64,45	1,21
6 h	67,25	70,10	65,98	0,48
8 h	68,43	71,52	66,84	1,79
10 h	69,78	72,11	69,42	1,48
Effet régime : P = 0,10				
Effet temps : P = 0,004				
Interaction régime x temps : P = 0,55				
Acide propionique (moles / 100 moles d'AGV)				
0 h	18,91	17,74	19,88	0,32
2 h	21,75	20,61	23,00	0,29
4 h	22,78	19,59	23,44	0,65
6 h	21,86	19,73	22,53	0,56
8 h	21,08	18,76	21,83	1,09
10 h	20,41	18,47	20,65	1,03
Effet régime : P = 0,06				
Effet temps : P = 0,002				
Interaction régime x temps : P = 0,92				
Acide butyrique (moles / 100 moles d'AGV)				
0 h	5,91	6,08	6,26	0,12
2 h	7,35	6,70	8,34	0,40
4 h	8,27	6,64	8,62	0,29
6 h	8,37	6,74	8,26	0,09
8 h	7,97	6,46	8,07	0,43
10 h	7,61	6,25	7,44	0,34
Effet régime : P = 0,04				
Effet temps : P = 0,000				
Interaction régime x temps : P = 0,13				

Tableau 11 : Suite

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
Acide valérique (moles / 100 moles d'AGV)				
0 h	0,80	0,95	1,18	0,08
2 h	1,06	1,17	1,42	0,09
4 h	1,19	1,14	1,51	0,11
6 h	1,13	1,13	1,43	0,11
8 h	1,08	1,07	1,44	0,18
10 h	0,98	0,99	1,20	0,02
Effet régime : P = 0,20				
Effet temps : P = 0,002				
Interaction régime x temps P = 0,81				
Rapport : acide acétique / acide propionique				
0 h	3,84	4,03	3,57	0,09
2 h	3,16	3,36	2,89	0,08
4 h	2,98	3,63	2,84	0,15
6 h	3,21	3,56	3,00	0,07
8 h	3,38	3,83	3,11	0,24
10 h	3,57	3,92	3,42	0,23
Effet régime : P = 0,048				
Effet temps : P = 0,002				
Interaction régime x temps : P = 0,95				

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM: ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

Les traitements du lin n'ont pas modifié de façon significative les proportions des AGV ramifiés (Tableau 12).

L'évolution de la teneur en N-NH₃ dans le contenu ruminal après le repas figure dans le tableau 13. La teneur en N-NH₃ dans le jus de rumen tendait à être modifiée par les traitements du lin (P = 0,055). L'ingestion de LC a conduit à une concentration plus élevée en N-NH₃ que celles de LE et LM. D'autre part, l'évolution de la concentration en N-NH₃ dans le jus de rumen a été différente au cours du temps entre les formes du lin (interaction significative temps x régime), les valeurs les plus faibles étant observées 6 heures après repas avec LM, 10 heures après repas avec LC et LE.

Tableau 12 : Evolution des proportions des acides gras volatils ramifiés (iso-butyrique + iso-valérique) dans le rumen après le repas.

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
(moles / 100 moles d'AGV)				
0 h	2,92	3,97	3,23	0,51
2 h	2,18	2,59	2,25	0,22
4 h	1,84	1,97	1,96	0,27
6 h	1,61	2,31	1,80	0,15
8 h	1,51	2,19	1,95	0,24
10 h	1,58	2,18	1,61	0,07
Effet régime : P = 0,36				
Effet temps : P = 0,000				
Interaction régime x temps : P = 0,50				

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM: ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

Tableau 13 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal dans le contenu ruminal après le repas.

Régime ¹	LC	LM	LE	ECTM
(mg/l)				
0 h	275,45	151,57	123,81	19,76
2 h	396,45	193,52	272,29	29,56
4 h	292,44 ^a	131,07 ^b	127,98 ^b	13,28
6 h	237,94 ^a	47,47 ^b	167,27 ^{ab}	21,85
8 h	183,16	104,63	92,84	13,84
10 h	149,14	133,41	56,50	41,42
Effet régime : P = 0,055				
Effet temps : P = 0,000				
Interaction régime x temps : P = 0,01				

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM: ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

^{a,b} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

3.2.2. Discussion

Le profil des AGV dans le rumen avec les trois rations était caractéristique d'une ration à forte proportion de fourrages, l'acide acétique représentant de 60 à 70% des AGV totaux (Jouany et al., 1995).

Le remplacement des graines de lin crues par des graines extrudées ou conditionnées n'a pas eu d'effet significatif sur la concentration totale en AGV du contenu ruminal. De même, Gonthier et al. (2004a) avec des graines de lin extrudées, Shabi et al. (1999) avec des grains de maïs extrudés, Illg et al. (1994) avec des graines de soja extrudées, n'ont pas observé de changement significatif de la concentration totale en AGV par rapport à la même matière première crue.

Dans notre expérience, l'ingestion de graines de lin traitées n'a pas eu d'effet significatif sur les proportions molaires des divers AGV par rapport à la consommation de graines crues. Il existait cependant une tendance à la différence entre les trois formes du lin. La tendance à l'augmentation de la proportion de l'acide acétique et à la baisse de la proportion de l'acide propionique avec l'ingestion du lin conditionné dans cette expérience suggère que :

- le conditionnement du lin peut favoriser les bactéries cellulolytiques.
- le lin cru ou extrudé peut entraîner de légères modifications dans l'orientation des fermentations, avec un rapport acétique/propionique plus faibles et une proportion élevée d'acide butyrique.

Seul un essai avec des graines de lin de taille différente et conditionnées à des températures différentes permettrait d'expliquer l'effet de ce traitement sur la fermentation ruminale.

La concentration ruminale en N-NH₃ dépend d'un grand nombre de facteurs : l'ammoniac provient de la dégradation des protéines, du recyclage de l'urée et de la lyse bactérienne, et disparaît du rumen suite à la synthèse protéique microbienne, à l'absorption par la paroi du rumen et au passage par l'orifice réticulo-omasal (Doreau et al., 2000). La matière grasse peut avoir un effet propre puisque l'addition d'huile de lin à raison de 3% de la MS de la ration chez des vaches laitières, a augmentée la concentration de N-NH₃ dans le rumen (Ueda et al., 2003). Cependant, dans notre expérimentation, l'absence de témoin sans lin ajouté ne permet pas de conclure sur ce point.

La baisse de la concentration de N-NH₃ ruminal avec l'ingestion de graines de lin traitées en comparaison avec des graines crues dans notre expérience est en accord avec les résultats de Tagari et al. (1986) et Pena et al. (1986) avec des graines de coton chauffées ou extrudées.

La diminution de la concentration ruminale de N-NH3 indique une baisse de la dégradabilité des protéines dans le rumen (Mielke et Schingoethe, 1981).

Contrairement à ce que nous avons observé, aucun changement dans la concentration en N-NH3 n'a été trouvé lorsque du lin extrudé a été remplacé par du lin cru dans l'étude de Gonthier et al., (2004a). La différence des températures d'extrusion, 120°C dans notre expérience contre 155°C dans celle de Gonthier et al. (2004a) explique difficilement cette différence de résultats, dans la mesure où la protection des matières azotées contre la dégradation ruminale est d'autant plus efficace que la température du traitement est élevée.

3.3. Effet des traitements du lin sur la biohydrogénation ruminale

3.3.1. Résultats

3.3.1.1. *In situ* : vitesse de biohydrogénation et temps de latence

Les cinétiques de disparition de C18:2 et de C18:3 figurent dans le tableau 14. La cinétique de biohydrogénation des AGPI *in situ* s'est caractérisée par une vitesse de biohydrogénation lente. La vitesse de biohydrogénation n'a pas été affectée par les traitements du lin. Néanmoins, la vitesse de biohydrogénation avait tendance à être plus élevée avec LE qu'avec LC (P = 0.06 et P = 0.11 pour C18:2 et C18:3 respectivement). Le temps de latence de biohydrogénation des AGPI était significativement différent de zéro, et significativement plus élevé avec LE qu'avec LC ou LM.

Tableau 14 : Effet des traitements du lin sur le temps de latence et la vitesse de biohydrogénation des AGPI incubés *in situ* (moyenne ± ECTM).

Traitement ¹	LC	LM	LE
C18:2			
Temps de latence, h	1,80 ^{b,c} ± 0,70	1,70 ^{b,c} ± 0,60	3,60 ^{a,c} ± 0,60
Vitesse de biohydrogénation, %/h	5,90 ± 0,60	6,30 ± 0,70	7,90 ± 0,90
r ²		0,89	
C18:3			
Temps de latence, h	0,90 ^{b,c} ± 0,70	1,10 ^{b,c} ± 0,60	3,40 ^{a,c} ± 0,60
Vitesse de biohydrogénation, %/h	6,80 ± 0,70	7,60 ± 0,80	8,60 ± 0,90
r ²		0,90	

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE : ration contenant des graines de lin extrudées.

^{a,b} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

^c Le temps de latence diffère significativement de zéro.

Après 8 h d'incubation, les proportions de C18:2 et de C18:3 avaient diminué d'environ 25% dans les sachets contenant du lin cru (Figures 9 et 10).

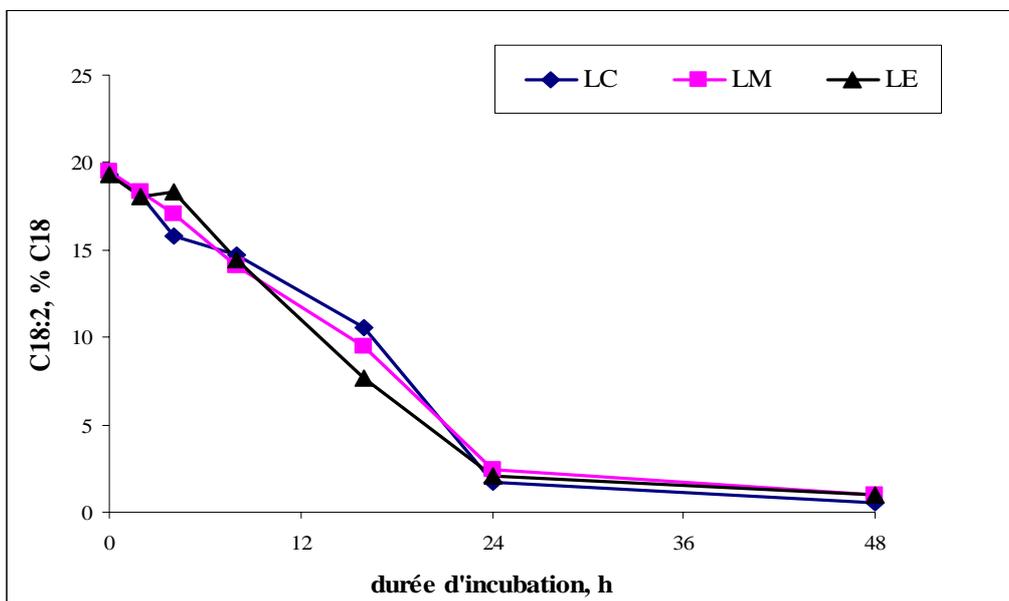


Figure 9 : Pourcentage de C18:2 (% des AG C18 totaux) dans les sachets avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in situ*.

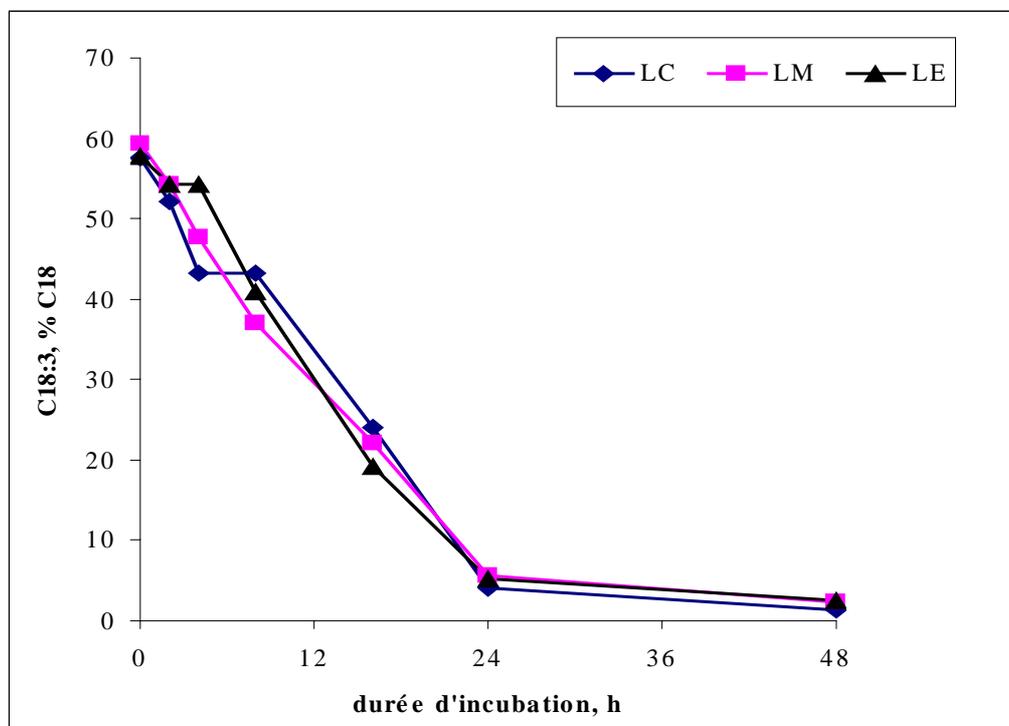


Figure 10 : Pourcentage de C18:3 (% des AG 18 totaux) dans les sachets avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in situ*.

3.3.1.2. *In situ* : proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2, C18:3 et biohydrogénation des AGI

Les traitements du lin n'ont pas eu d'effet significatif sur la proportion de C18:0 excepté à 4 h d'incubation où il y avait significativement moins de C18:0 avec LE qu'avec LC (Tableau 15). Les traitements du lin ont augmenté la biohydrogénation de *cis*-9C18:1, puisque la proportion de *cis*-9C18:1 était significativement inférieure avec LE et LM qu'avec LC à 8 h et 16 h d'incubation.

L'effet des traitements du lin sur les proportions des AGPI avait des tendances différentes selon les durées d'incubations. A 4 h et à 48 h d'incubation, les proportions de C18:2 et de C18:3 étaient significativement plus élevées avec LE qu'avec LC. Cependant, sur un plan global, les proportions des AGPI étaient comparables entre les trois formes de lin.

3.3.1.3. *In situ* : intermédiaires de biohydrogénation

Les proportions de CLN et *cis*-9,*trans*-11C18:2 étaient significativement plus élevées avec LM qu'avec LC (respectivement de 2h à 16h et de 4h à 16h d'incubation), et il n'y avait pas de différence significative entre LE et LC.

Excepté à 4 h d'incubation, les traitements du lin n'ont pas eu d'effet significatif sur le *trans*-11,*cis*-15C18:2, et globalement, ils n'ont pas modifié de façon significative la proportion de *trans*-C18:1 totaux par rapport à LC (tableau 15). Les *trans*-11+10C18:1 étaient les principaux isomères de *trans*-C18:1 pour toutes les durées d'incubation et avec toutes les formes de lin, suivis par les *trans*-13+14C18:1.

A 16 h d'incubation, la proportion de *trans*-C18:1 dans les sachets contenant LE était significativement supérieure à celle trouvée dans les sachets contenant LM et, de façon non significative, supérieure à celle trouvée dans les sachets contenant LC. Ceci était dû à une proportion de *trans*-11+10C18:1 supérieure avec LE qu'avec LM ou LC.

Les traitements du lin n'ont pas eu d'effet significatif sur les proportions des acides *trans*-4C18:1 à *trans*-9C18:1. A 4 h d'incubation les proportions de *trans*-12C18:1, de *trans*-13+14C18:1, de *trans*-16C18:1 et à 8 h d'incubation la proportion de *trans*-15C18:1 dans les sachets contenant LC, étaient significativement supérieures à celles trouvées dans les sachets contenant LM.

Tableau 15 : Effet des traitements du lin sur les proportions des AG et les intermédiaires de biohydrogénation (% C18) *in situ*.

Durée d'incubation, h	2				4				8				16				24				48			
Traitement ¹	LC	LM	LE	ET ³	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET	LC	LM	LE	ET
C18:0	5,55	5,78	5,76	0,22	9,15 ^a	7,31 ^{ab}	5,45 ^b	0,6	9,13	11,24	10,83	0,67	16,73	16,57	18,04	1,70	33,86	33,99	33,95	2,96	50,63	62,41	55,99	4,79
<i>cis</i> -9C18:1	18,57 ^a	15,73 ^c	17,23 ^b	0,12	17,90 ^a	15,62 ^b	17,34 ^a	0,16	18,43 ^a	15,04 ^b	15,89 ^b	0,23	16,68 ^a	13,27 ^b	12,79 ^b	0,81	7,09 ^a	6,23 ^{ab}	4,47 ^b	0,66	3,09	2,25	2,55	0,50
<i>trans</i> -C18:1 totaux	1,62	0,82	1,17	0,23	5,11 ^a	1,78 ^b	1,22 ^b	1,01	4,41	3,96	5,66	0,55	11,79 ^{ab}	8,85 ^b	14,81 ^a	1,47	23,85	22,36	26,35	1,43	28,88	21,06	26,45	2,53
<i>trans</i> -4C18:1	0,05	0,03	0,03	0,02	0,06	0,08	0,02	0,04	0,08	0,05	0,04	0,03	0,05	0,05	0,04	0,01	0,08 ^{ab}	0,10 ^a	0,07 ^b	0,01	0,13	0,13	0,12	0,02
<i>trans</i> -5C18:1	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,05	0,05	0,03	0,01	0,06	0,08	0,05	0,01	0,1	0,03	0,07	0,06
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,04	0,02	0,01	0,01	0,10	0,04	0,00	0,03	0,12	0,06	0,10	0,04	0,26	0,19	0,26	0,06	0,67	0,57	0,38	0,09	0,88	0,55	0,76	0,29
<i>trans</i> -9C18:1	0,02	0,00	0,00	0,01	0,06	0,00	0,01	0,03	0,07	0,04	0,06	0,03	0,22	0,13	0,20	0,04	0,41	0,31	0,44	0,08	0,54	0,36	0,64	0,13
<i>trans</i> -10+11C18:1	1,05	0,48	0,85	0,16	3,69	1,11	0,85	0,80	4,02	2,90	4,28	0,71	8,60 ^b	6,23 ^b	11,39 ^a	1,24	17,48	16,91	19,64	1,77	19,31	13,50	15,78	2,44
<i>trans</i> -12C18:1	0,07	0,04	0,02	0,02	0,20 ^a	0,07 ^b	0,00 ^b	0,03	0,18	0,11	0,15	0,04	0,44	0,28	0,54	0,09	0,79	0,64	0,46	0,15	1,13	0,83	1,24	0,13
<i>trans</i> -13+14C18:1	0,21	0,10	0,13	0,03	0,59 ^a	0,21 ^b	0,10 ^b	0,63	0,63	0,42	0,57	0,09	1,28	0,91	1,50	0,16	2,55	2,18	3,05	0,29	3,88 ^a	3,02 ^b	4,16 ^a	0,21
<i>trans</i> -15C18:1	0,13	0,09	0,08	0,02	0,23	0,15	0,14	0,05	0,33 ^a	0,18 ^b	0,29 ^{ab}	0,04	0,51	0,67	0,50	0,17	1,02	0,86	1,34	0,20	1,65 ^{ab}	1,40 ^b	2,06 ^a	0,15
<i>trans</i> -16C18:1	0,05	0,06	0,05	0,01	0,19 ^a	0,10 ^b	0,06 ^b	0,02	0,22	0,20	0,18	0,04	0,37	0,34	0,35	0,05	0,79	0,71	0,90	0,14	1,28	1,29	1,60	0,13
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,18	0,49	0,46	0,03	0,36 ^b	1,34 ^a	0,27 ^b	0,19	0,45 ^b	2,76 ^a	1,36 ^{ab}	0,34	1,50 ^b	5,02 ^a	3,30 ^{ab}	0,60	2,69 ^{ab}	4,04 ^a	1,49 ^b	0,46	0,30	0,38	0,60	0,13
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	1,26	0,74	0,77	0,19	4,51 ^a	2,05 ^{ab}	0,92 ^b	0,87	4,22	4,46	5,06	0,51	10,34 ^{ab}	8,65 ^b	13,35 ^a	1,06	15,72	12,39	16,20	1,67	9,25	4,49	5,80	1,94
C18:2	18,18	18,30	18,01	0,16	15,83 ^b	17,03 ^{ab}	18,35 ^a	0,63	16,24 ^a	14,09 ^b	14,41 ^b	0,89	10,6	9,46	7,68	1,03	1,72	2,40	2,09	0,22	0,57 ^b	0,97 ^a	0,99 ^a	0,08
CLN	1,00 ^b	2,21 ^a	0,87 ^b	0,28	1,61 ^b	5,20 ^a	0,72 ^b	0,86	3,11 ^b	8,53 ^a	3,22 ^b	1,10	4,13 ^b	11,70 ^a	6,42 ^b	1,21	3,33 ^{ab}	5,74 ^a	2,42 ^b	0,70	0,24 ^b	0,54 ^{ab}	0,80 ^a	0,11
C18:3	52,10 ^b	54,37 ^a	54,31 ^a	0,56	43,30 ^b	47,74 ^{ab}	54,20 ^a	2,23	43,16	36,96	40,95	1,88	24,08	22,01	19,23	3,61	4,00	5,61	5,27	0,64	1,40 ^b	2,37 ^a	2,49 ^a	0,23

¹ LC : lin cru, LM : lin conditionné, LE : lin extrudé.

² *trans*-C18:1 : la proportion totale des *trans*-C18:1

³ ET : Ecart type de la moyenne.

^{a,c} les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne et pour une même durée d'incubation diffèrent significativement ($p < 0,05$).

3.3.1.4. Contenu ruminal : proportions de C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3

Les proportions des AG C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3, et la biohydrogénation de *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans les phases liquide et solide du contenu ruminal, sont présentées dans le tableau 16. C18:0 représentait environ 50% des AG à 18 carbones dans la phase solide et 60% dans la phase liquide du contenu ruminal. Les traitements du lin n'ont pas eu d'effet significatif sur la proportion de C18:0.

Tableau 16 : Proportions de C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3, et pourcentages de biohydrogénation de *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans les phases solide et liquide du contenu ruminal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.

Traitement ¹	LC	LM	LE	ECTM ²	P
Phase solide (% de C18 ³)					
C18:0	54,86	44,08	52,86	3,80	0,31
<i>cis</i> -9C18:1	5,58	8,51	5,41	1,35	0,36
C18:2	4,77	7,87	4,66	0,72	0,13
C18:3	12,85 ^a	24,40 ^b	12,90 ^a	1,46	0,04
Biohydrogénation (%) ⁴					
<i>cis</i> -9C18:1	67,50	46,69	68,75	8,09	0,30
C18:2	76,57	62,63	77,14	3,50	0,15
C18:3	77,61 ^a	58,20 ^b	77,80 ^a	2,54	0,048
Phase liquide (% de C18 ³)					
C18:0	59,24	69,92	63,03	6,80	0,61
<i>cis</i> -9C18:1	2,23	1,96	2,07	0,30	0,89
C18:2	1,73	1,63	1,52	0,26	0,86
C18:3	3,63	3,66	3,09	0,53	0,73
Biohydrogénation (%) ⁴					
<i>cis</i> -9C18:9	87,04	87,74	88,02	2,22	0,95
C18:2	91,53	92,29	92,50	1,24	0,84
C18:3	93,62	93,74	94,61	0,92	0,76

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées. ²ECTM : écart-type de la moyenne. ³AG à 18 carbones. ⁴Calculés selon l'équation de Wu et al. (1991). ^{a,b} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

L'ingestion de LM a entraîné une diminution significative de la biohydrogénation de C18:3 et donc a augmenté sa proportion par rapport à LE et LC, dans la phase solide du rumen. La même tendance était observée pour *cis*-9C18:1 et C18:2, mais de façon non significative. Dans la phase liquide du contenu ruminal, les traitements du lin n'avaient aucun effet sur les proportions des AGI.

3.3.1.5. Contenu ruminal : proportions des intermédiaires de biohydrogénation

Les proportions des intermédiaires de la biohydrogénation dans les phases liquide et solide du contenu ruminal sont présentées dans le tableau 17. Les proportions de *cis*-9,*trans*11C18:2, de *trans*-11,*cis*15C18:2 et de CLN n'étaient pas modifiées de façon significative par les traitements du lin. On remarque toutefois, mais de façon non significative, que l'ingestion de lin extrudé a augmenté les proportions de ces intermédiaires dans la phase solide comme dans la phase liquide du contenu ruminal.

Dans les phases solide et liquide du contenu ruminal, et avec toutes les formes de lin, *trans*-11+10C18:1 étaient les principaux *trans*-C18:1, suivis par *trans*13+14C18:1. Les proportions des AG *trans*-18:1 dans les phases liquide et solide du contenu ruminal n'ont pas présenté de différence significative entre les trois régimes. Globalement, la proportion totale des AG *trans*-18:1 avait tendance à diminuer de façon non significative avec l'ingestion de LM (Figure 11). Plus spécifiquement, l'ingestion de LM avait tendance à diminuer les proportions de *trans*-13+14C18:1 et *trans*-15C18:1 dans la phase liquide du rumen, par rapport à l'ingestion de LC et LE (Tableau 17).

Tableau 17 : Proportions des intermédiaires de la biohydrogénation dans les phases solide et liquide du contenu ruminal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.

Traitement ¹	LC	LM	LE	ECTM ²	P
Phase solide (% de C18 ³)					
<i>trans</i> -C18:1 totaux	13,59	9,53	13,48	1,90	0,40
<i>trans</i> -4C18:1	0,09	0,08	0,13	0,02	0,25
<i>trans</i> -5C18:1	0,05	0,04	0,04	0,01	0,66
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,38	0,09	0,37	0,07	0,15
<i>trans</i> -9C18:1	0,33	0,16	0,28	0,09	0,53
<i>trans</i> -10+11C18:1	6,67	4,94	6,64	1,84	0,78
<i>trans</i> -12C18:1	0,78	0,53	0,75	0,07	0,20
<i>trans</i> -13+14C18:1	2,76	1,83	2,64	0,25	0,19
<i>trans</i> -15C18:1	1,36	0,91	1,39	0,18	0,31
<i>trans</i> -16C18:1	1,18	0,94	1,24	0,20	0,59
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,46	0,60	1,24	0,20	0,19
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	2,52	1,49	3,30	0,50	0,23
CLN	0,86	1,19	2,14	0,48	0,34
Phase liquide (% de C18 ³)					
<i>trans</i> -C18:1 totaux	20,34	15,74	20,38	2,96	0,55
<i>trans</i> -4C18:1	0,11	0,13	0,08	0,02	0,40
<i>trans</i> -5C18:1	0,06	0,06	0,04	0,01	0,17
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,38	0,27	0,49	0,06	0,21
<i>trans</i> -9C18:1	0,40	0,34	0,42	0,03	0,41
<i>trans</i> -10+11C18:1	10,50	7,52	10,04	3,18	0,80
<i>trans</i> -12C18:1	1,10	0,95	1,12	0,06	0,30
<i>trans</i> -13+14C18:1	4,09	3,26	4,17	0,12	0,11
<i>trans</i> -15C18:1	2,02	1,60	2,19	0,08	0,06
<i>trans</i> -16C18:1	1,68	1,60	1,84	0,21	0,74
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,24	0,19	0,50	0,11	0,31
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	4,24	2,34	4,36	1,03	0,46
CLN	0,27	0,26	1,08	0,44	0,47

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

³AG à 18 carbones.

3.3.1.6. Contenu duodéal : proportions des AG C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3

Les proportions des AG C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans le contenu duodéal sont présentées dans le tableau 18. C18:0 représentait 66% des AG à 18 carbones dans le contenu duodéal avec les trois régimes.

Les proportions de *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 n'ont pas été significativement modifiées par les traitements du lin. Cependant, on remarque des différences numériques importantes : LM a entraîné une tendance vers une diminution de biohydrogénation des AGI et a donc augmenté leurs proportions dans le contenu duodéal par rapport à LE ou LC. Une variabilité importante a été observée entre les vaches et les périodes, induisant un grand écart-type de la moyenne et expliquant que des différences importantes n'aient pas été significatives.

Tableau 18 : Proportions de C18:0, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3, et pourcentages de biohydrogénation de *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 mesurés dans le contenu duodéal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.

Traitement ¹	LC	LM	LE	ECTM ²	P
(% de C18 ³)					
C18:0	67,10	66,04	67,74	5,49	0,98
<i>cis</i> -9C18:1	2,51	4,51	2,63	0,41	0,12
C18 :2	1,99	3,69	2,03	0,57	0,26
C18 :3	4,29	10,22	4,71	1,95	0,26
Biohydrogénation (% ⁴)					
<i>cis</i> -9C18:1	85,39	71,71	84,78	2,57	0,10
C18:2	90,22	82,43	90,07	2,80	0,28
C18:3	92,59	82,22	91,78	3,48	0,27

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

³ AG à 18 carbones.

⁴ calculés selon l'équation de Wu et al. (1991).

3.3.1.7. Contenu duodéal : proportions des intermédiaires de biohydrogénation

Les proportions des intermédiaires de biohydrogénation dans le contenu duodéal sont présentées dans le tableau 19.

Les proportions de *cis*-9,*trans*-11C18:2, de *trans*-11,*cis*-15C18:2 et de CLN n'étaient pas significativement modifiées par les traitements du lin. Dans le contenu duodéal et avec toutes

les formes de lin, *trans*-11+10C18:1 étaient les principaux isomères *trans*-C18:1, suivis par *trans*-13+14C18:1. Les proportions des *trans*-18:1 n'ont pas présenté de différence significative entre les trois régimes. La proportion de *trans*-18:1 totaux a diminué de façon non significative avec l'ingestion de LM (Figure 11). L'ingestion de LM a diminué de façon non significative les proportions de *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 dans le contenu duodéal, par rapport à l'ingestion de LC et LE (Tableau 19).

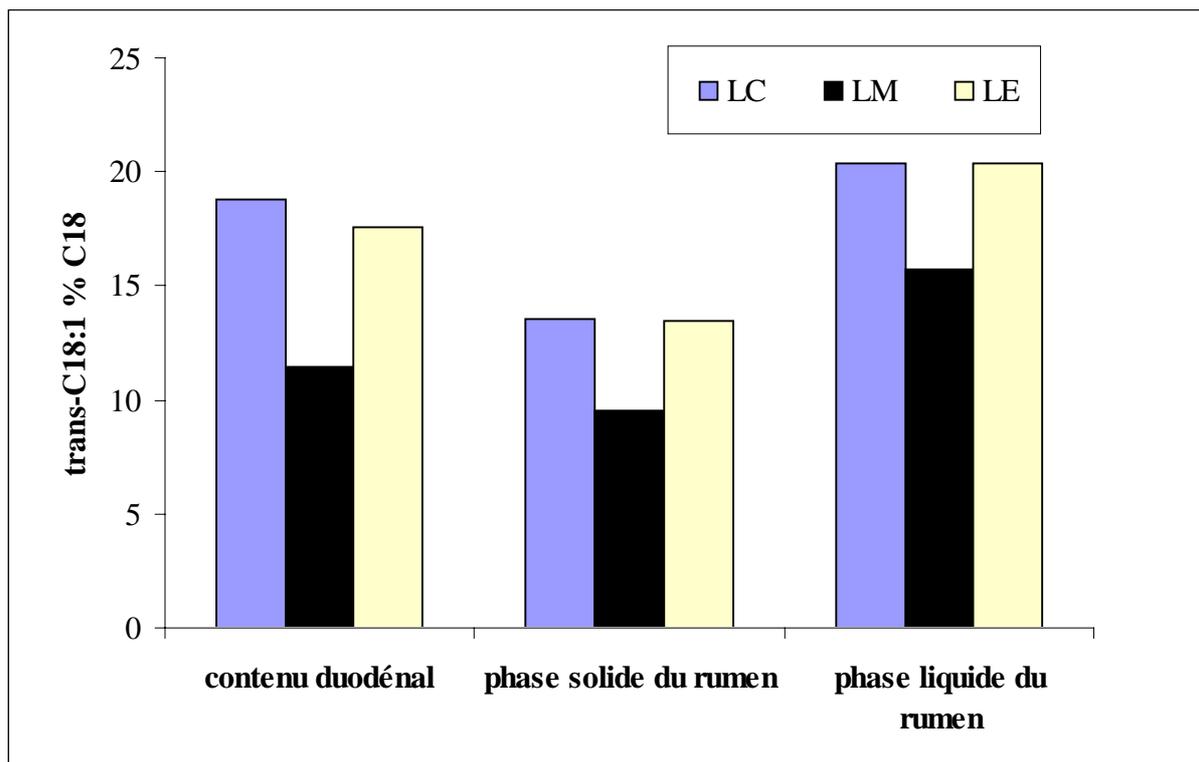


Figure 11 : Proportions de *trans*-C18:1 totaux dans les phases solide et liquide du contenu ruminal et dans le contenu duodéal des vaches fistulées recevant une ration contenant des graines de lin crues (LC), des graines de lin conditionnées (LM), ou des graines de lin extrudées (LE).

Tableau 19. Proportions des intermédiaires de biohydrogénation dans le contenu duodéal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.

Traitement ¹	LC	LM	LE	ECTM ²	P
(% de C18) ³					
<i>trans</i> -C18:1 totaux	18,77	11,47	17,54	3,94	0,50
<i>trans</i> -4C18:1	0,09	0,08	0,03	0,01	0,10
<i>trans</i> -5C18:1	0,16	0,15	0,17	0,02	0,73
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,71	0,46	0,59	0,16	0,63
<i>trans</i> -9C18:1	0,40	0,25	0,35	0,11	0,68
<i>trans</i> -10+11C18:1	8,96	5,27	8,13	3,11	0,72
<i>trans</i> -12C18:1	1,10	0,64	0,92	0,14	0,36
<i>trans</i> -13+14C18:1	3,71	2,07	3,55	0,39	0,16
<i>trans</i> -15C18:1	1,95	1,19	2,00	0,11	0,06
<i>trans</i> -16C18:1	1,79	1,36	1,82	0,06	0,05
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,21	0,24	0,20	0,03	0,76
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	2,11	1,29	2,49	0,58	0,47
CLN	0,19	0,18	0,12	0,06	0,70

¹LC: ration contenant des graines de lin crues, LM : ration contenant des graines de lin conditionnées, LE: ration contenant des graines de lin extrudées.

²ECTM : écart-type de la moyenne.

³AG à 18 carbones.

3.3.2. Discussion

3.3.2.1. Cinétique de disparition des AGPI in situ : vitesse de biohydrogénation et temps de latence

Les vitesses de biohydrogénation de C18:2 et de C18:3, 5,9% h⁻¹ et 6,8% h⁻¹ respectivement, obtenus dans cette expérience avec les graines de lin crues sont comparables à ceux trouvés par Enjalbert et al. (2003) *in situ* avec des graines de colza crues (soit respectivement 4,8% h⁻¹ et 4,9% h⁻¹). Perrier et al. (1992) ont trouvé un vitesse de biohydrogénation de 6,1% h⁻¹ pour C18:2 et C18:3 avec des graines de soja crues broyées. Un temps de latence de 1 à 2 h a été observé pour la biohydrogénation des AGPI de colza (Enjalbert et al., 2003). Dans notre expérience le temps de latence était également de 1 à 2 h pour C18:2 et C18:3 avec les graines

de lin crues. Le temps de latence enregistré *in situ* peut être attribué à la pénétration lente des bactéries dans les sachets à cause de l'hydrophobicité de la matière grasse (Enjalbert et al., 2003). D'autre part, l'accumulation de gaz dans les sachets (Marinucci et al., 1992) et la teneur en matière sèche plus élevée dans les sachets en comparaison avec le contenu ruminal, pourraient limiter l'accessibilité de différents constituants des cellules aux enzymes microbiennes (Michalet-Doreau et Nozière, 1999) et donc diminuer la vitesse de la biohydrogénation de la matière grasse incubée *in situ*.

3.3.2.2. Importance de la biohydrogénation des AGI et proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3 in situ et dans les contenus ruminal et duodéal

Les valeurs de la biohydrogénation mesurées dans le contenu duodéal et la phase liquide du rumen avec LC étaient élevées pour C18:3, et un peu moins pour C18:2. Des résultats semblables ont été obtenus *in vivo* avec du lin cru par Scollan et al. (2001). Kucuk et al. (2001) ont trouvé une augmentation de la biohydrogénation des AGI lorsque la proportion de fourrages est augmentée dans la ration. Dans notre expérience, la proportion de fourrages était élevée (72,67% de la MS de la ration). La biohydrogénation de cis-9C18:1 était inférieure à celle des AGPI, en accord avec Kucuk et al. (2001) et Looor et al. (2002b).

L'absence de protection des AGPI par l'extrusion contre la biohydrogénation ruminale, observée dans notre expérience *in situ* est conforme aux résultats de Clinquart et al. (1993), après incubation de lin extrudé *in situ* pendant 8 heures. De même, l'extrusion des graines de lin n'a pas modifié de façon significative la biohydrogénation des AGPI dans le contenu ruminal ou dans le contenu duodéal. Plusieurs auteurs ont trouvé que l'extrusion ne protège pas les AGI de la biohydrogénation ruminale, que ce soit avec des graines de colza *in vitro* (Enjalbert et al., 2003), des graines de colza *in situ* (Enjalbert et al., 2003), ou *in vivo* avec des graines de lin (Gonthier et al., 2004b) ou des graines de soja (Chouinard et al., 1997). Cependant, l'extrusion de graines de soja à 143°C a diminué la biohydrogénation des AGI (cis-9C18:1 + C18:2 + C18:3) de 8,5% (Reddy et al., 1994). Dans notre expérimentation, les graines de lin ont été extrudées à 120°C, l'absence de protection pourrait être liée à la faible température utilisée (Bayourthe et al., 2000).

Malgré l'absence d'effet significatif, nous remarquons une augmentation des proportions d'AGI dans le contenu duodéal avec les graines de lin conditionnées, qui ont d'autre part eu un effet significatif sur la biohydrogénation de C18:3 dans la phase solide du contenu ruminal. La température de conditionnement des graines de lin dans cette expérience était très faible, et

donc une protection par l'effet de la chaleur n'est pas envisageable. La taille des particules était plus élevée avec les graines de lin conditionnées (grille de 6mm) qu'avec les graines de lin crues ou extrudées (grille de 3 mm). Ceci pourrait, malgré l'action de la mastication, expliquer la diminution de biohydrogénation constatée *in vivo*. Au contraire, dans notre expérience *in situ*, toutes les formes de lin subissaient un broyage préalable à la grille de 0,5 mm avant incubation, et on n'a plus observé de différence entre les formes de lin. Cependant, la diminution de vitesse de biohydrogénation après conditionnement avait aussi été observée *in vitro* (Tableau 6), alors que toutes les formes de lin avaient aussi subi un deuxième broyage avec une grille de 0,5 mm avant incubation : la taille des particules ne peut donc expliquer seule l'ensemble des effets du conditionnement.

3.3.2.3. Effet des traitements du lin sur les proportions des intermédiaires de biohydrogénation in situ et dans les contenus ruminal et duodéal

Une accumulation importante de CLN ainsi que des isomères *trans*-11,*cis*-15C18:2 et *cis*-9,*trans*-11C18:2 a été observée *in situ*. Avec LC, après 16 h d'incubation, CLN représentait 11,70% des AG à 18 carbones, et après 24 h d'incubation les proportions de *trans*-11,*cis*-15C18:2 et *cis*-9,*trans*-11C18:2 représentaient respectivement 15,72% et 2,69% des AG à 18 carbones.

La proportion de CLN était beaucoup moins importante dans les contenus ruminal et duodéal, et sa proportion était plus élevée dans la phase solide du rumen. A notre connaissance, c'est la première fois que cet intermédiaire était mesuré *in situ* et *in vivo* chez des vaches consommant des graines de lin.

La proportion de *trans*-11,*cis*-15C18:2 était beaucoup plus élevée que la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2 *in situ* et dans les contenus ruminal et duodéal. Loo et al. (2004) ont également trouvé que le contenu duodéal de *cis*-9,*trans*-11C18:2 augmentait peu chez des vaches consommant une ration supplémentée par de l'huile de lin. Lors d'addition de lin à la ration, le *cis*-9,*trans*-11C18:2 provient très probablement de l'isomérisation du C18:2 présent initialement dans la ration (19% des AG à 18 carbones dans le lin et le foin dans notre essai), car cet isomère conjugué n'est pas un intermédiaire de la biohydrogénation de C18:3 (Harfoot et Hazlewood, 1988).

Nos résultats confirment donc :

- la présence de CLN dans le contenu ruminal et duodéal suite à l'ingestion de graines de lin.

- la présence de *trans*-11,*cis*-15C18:2 en quantité importante par rapport au *cis*-9, *trans*-11C18:2, ce qui confirme qu'il est un intermédiaire principal dans la biohydrogénation de C18:3 (AG principal de la ration), comme l'avaient déjà montré Body (1976) et Loor et al. (2004).

Les traitements du lin n'ont pas affecté de façon significative les proportions de CLN, *cis*-9,*trans*-11C18:2 et *trans*-11,*cis*-15C18:2 dans les contenus ruminal et duodéal. Cependant, l'extrusion du lin a numériquement conduit à une augmentation de *cis*-9,*trans*-11C18:2, *trans*-11,*cis*-15C18:2 et CLN dans le contenu ruminal. Plusieurs auteurs ont constaté une augmentation significative de *cis*-9,*trans*-11C18:2 avec les graines oléagineuses extrudées : après 8 h d'incubation *in situ* de graines de colza crues ou extrudées, *cis*-9,*trans*-11C18:2 représentait respectivement 0,91 et 2,74% des AG à 18 carbones (Enjalbert et al., 2003). De même, après consommation d'une ration contenant 17,5% de graines de soja crues ou extrudées, la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2 dans le lait était respectivement de 0,42 et 1,99% des AG totaux (Chouinard et al., 2001). Dans notre expérience, l'absence d'un effet significatif de l'extrusion sur la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2 peut être expliquée par la faible température d'extrusion en comparaison à celle utilisée dans ces expériences, ou par une inhibition de l'isomérisation de C18:2 par la concentration élevée de C18:3 dans la ration, comme l'ont montré *in vitro* Troegeler-Meynadier et al. (2003).

In situ, les proportions de *cis*-9,*trans*-11C18:2 et CLN sont considérablement augmentées avec le conditionnement du lin alors que l'extrusion n'a pas augmenté la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2. Cette différence entre les résultats *in situ* et *in vivo* sera discutée plus loin (3.4.1.).-

La proportion de *trans*-C18:1 totaux était plus importante dans le contenu duodéal et la phase liquide du rumen que dans la phase ruminale solide, en liaison avec la faible biohydrogénation observée dans la phase solide.

La distribution générale des *trans*-C18:1 *in situ* et dans les contenus ruminal et duodéal a été similaire à celle observée lors d'un apport d'huile de lin (Loor et al., 2004) : dominance de *trans*-11C18:1, avec des proportions importantes de *trans*-12C18:1, *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1.

Selon Harfoot et Hazlewood (1988) le *trans*-15C18:1 est un produit important dans la biohydrogénation de C18:3. Cependant, la proportion de *trans*-15C18:1 *in situ*, dans les phases solide et liquide du contenu ruminal ainsi que dans le contenu duodéal a été en moyenne très proche de celles des *trans*-13+14C18:1 et *trans*-16C18:1. Cela indique que les isomères *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 sont tous des intermédiaires importants dans la biohydrogénation de C18:3.

L'extrusion du lin n'a pas modifié les proportions des *trans*-C18:1 dans le contenu ruminal ou duodéal, mais elle a significativement augmenté la proportion de *trans*-10+11C18:1 à 16 h d'incubation *in situ*. L'extrusion des graines oléagineuses augmente souvent les intermédiaires de biohydrogénation (Chouinard et al., 1997a ; Abughazaleh et al., 2002 ; Enjalbert et al., 2003). Dans la première des trois périodes de notre expérience, une proportion élevée de *trans*-10+11C18:1 a été observée dans le contenu digestif de la vache consommant le lin cru, ce qui peut avoir masqué l'effet de l'extrusion dans les contenus ruminal et duodéal. Comme la biohydrogénation de C18:3 était faible avec l'ingestion de LM (effet significatif dans la phase solide du rumen), les proportions des intermédiaires de la biohydrogénation de cet AG (*trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1) avaient aussi tendance à diminuer avec l'ingestion de LM.

L'ingestion de lin conditionné a augmenté le rapport C2/C3 en comparaison avec l'ingestion de lin cru ou extrudé, en favorisant peut-être l'action des souches cellulolytiques. La taille des particules, plus élevée avec LM, pourrait expliquer, au moins en partie, cette différence. La biohydrogénation *in situ* a été lente avec toutes les formes du lin, et a conduit à une accumulation importante des isomères octadécatriénoïques, octadécadiénoïques et octadécénoïques. Des conditions défavorables aux microorganismes dans les sachets (hydrophobicité des MG, ou accumulation de gaz ?) sont probablement responsables de ce phénomène. Le conditionnement et l'extrusion du lin n'ont pas eu d'effet sur la cinétique de biohydrogénation des AGPI *in situ*. Le conditionnement du lin a augmenté les proportions d'isomères conjugués de C18:2 et C18:3 sans augmenter les *trans*-C18:1, ce qui suggère un ralentissement de la biohydrogénation au-delà de la première étape. L'extrusion du lin a augmenté les isomères *trans*-10+11C18:1 *in situ*, en accord avec les données bibliographiques.

De manière générale, le conditionnement ou l'extrusion du lin n'ont pas eu d'effet majeur sur l'importance de la biohydrogénation ruminale et les proportions des intermédiaires mesurées dans les contenus ruminiaux et duodéal. Cependant, la biohydrogénation des AGPI et la proportion de *trans*-C18:1 étaient faibles avec l'ingestion de lin conditionné.

La biohydrogénation des AG des graines de lin conduit à des proportions importantes de CLN, *trans*-11, *cis*-15C18:2, *trans*-10+11C18:1, *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 en accord avec les données obtenues *in vitro* dans l'expérimentation précédente.

3.4. Comparaison des méthodes *in vitro*, *in situ* et *in vivo* pour l'étude des effets des traitements du lin sur la biohydrogénation

3.4.1. Effet propre de la méthode d'étude

Nous avons fait une comparaison entre les résultats obtenus par les méthodes *in vitro*, *in situ* ou dans la phase liquide ou solide du rumen en utilisant comme référence les résultats obtenus dans le contenu duodéal. Cette comparaison a pour but de valider ces méthodes dans le cas de la matière grasse afin de réduire le coût lié aux expériences *in vivo* ou le minimiser, par exemple en utilisant des animaux équipés d'une seule canule (rumen) à la place de deux canules, une pour le rumen et une pour le duodénum.

Tableau 20 : Effet de la méthode d'investigation et des traitements du lin sur la biohydrogénation des AGI et les proportions de leurs intermédiaires.

	Méthode d'investigation ¹					Traitement ²			Interaction ³
	DUO	RS	RL	IV16	IS24	LC	LM	LE	
Profil des AG (% de C18)									
<i>trans</i> -C18:1 ⁴	15,93 ^{bc}	12,20 ^c	18,82 ^{ab}	15,96 ^{bc}	24,17 ^a	18,41 ^a	14,75 ^b	19,08 ^a	<i>P</i> = 0,93
<i>cis</i> -9C18:1	3,22 ^c	6,51 ^a	2,09 ^c	7,25 ^a	5,92 ^a	4,7	5,67	4,62	<i>P</i> = 0,001
<i>c9,t11</i> C18:2	0,22 ^c	0,77 ^{bc}	0,31 ^c	1,31 ^b	2,74 ^a	1,01	1,27	0,92	<i>P</i> = 0,001
<i>t11,c15</i> C18:2	1,96 ^b	2,44 ^b	3,65 ^b	2,62 ^b	14,73 ^a	5,21 ^a	4,02 ^b	5,91 ^a	<i>P</i> = 0,65
C18:2	2,57 ^{bc}	5,77 ^a	1,63 ^d	2,99 ^b	1,96 ^{cd}	2,50 ^b	3,84 ^a	2,60 ^b	<i>P</i> = 0,001
CLN	0,17 ^c	1,41 ^{bc}	0,54 ^{bc}	1,66 ^b	3,83 ^a	1,83	1,16	1,57	<i>P</i> = 0,036
C18:3	6,41 ^{bc}	16,65 ^a	3,46 ^d	7,85 ^b	4,89 ^{cd}	6,04 ^b	10,7 ^a	6,72 ^b	<i>P</i> = 0,001
Biohydrogénation (%) ⁵									
<i>cis</i> -9C18:1	80,62 ^a	60,98 ^b	87,60 ^a	58,59 ^b	66,10 ^b	73,44 ^a	64,9 ^b	73,90 ^a	<i>P</i> = 0,006
C18:2	87,57 ^{bc}	72,11 ^d	92,11 ^a	85,97 ^c	89,57 ^{ab}	87,86 ^a	81,60 ^b	86,95 ^a	<i>P</i> = 0,002
C18:3	88,86 ^b	71,20 ^c	94,01 ^a	88,69 ^b	91,15 ^{ab}	89,59 ^a	82,17 ^b	88,59 ^a	<i>P</i> = 0,001

¹DUO : contenu duodéal, RS : phase solide du rumen, RL : phase liquide du rumen, IV16 : 16 h d'incubation *in vitro*, IS24 : 24 h d'incubation *in situ*.

²LC : lin cru, LM : lin conditionné, LE : lin extrudé.

³ Interaction : méthode x traitement.

⁴ AG *trans*C18:1 totaux.

⁵ La biohydrogénation des AG était calculée selon l'équation de Wu et al. (1991).

^{a,d} les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne différent significativement (*P* < 0,05).

Dans nos expériences, les proportions de C18:2 et C18:3 après 16 h d'incubation *in vitro* ou après 24 h *in situ* ne différaient pas significativement des proportions observées dans le contenu duodéal. Cette comparaison entre méthodes était possible puisque la matière grasse du lin représentait dans toutes nos expériences plus de 85% de la matière grasse totale. Les résultats de ces comparaisons font l'objet du tableau 20.

Les différentes méthodes d'investigation ont conduit à des pourcentages de biohydrogénation et des proportions d'intermédiaires différents. Bien que toujours inférieure à celle de C18:2 et C18:3, la biohydrogénation de *cis*-9C18:1 était très faible *in vitro* et *in situ* par rapport à celle mesurée dans le contenu duodéal. Le choix des durées d'incubation *in vitro* et *in situ* ayant été fait sur la base de biohydrogénation de C18:2 et C18:3 voisines de celles observées par l'étude du contenu duodéal, les différences de biohydrogénation de ces AG entre l'étude du contenu duodéal et les méthodes *in vitro* et *in situ* ne sont pas interprétables. Par contre, la biohydrogénation des AGPI était plus importante dans la phase liquide du contenu ruminal, et moins importante dans la phase solide, que dans le duodénum.

La méthode *in situ* a conduit à une proportion plus élevée de *trans*-C18:1 que l'étude du contenu duodéal, ce qui peut masquer la biohydrogénation réelle de *cis*-9C18:1, car une isomérisation de *trans*-9C18:1 vers *cis*-9C18:1 a été observée *in vitro* par Proell et al. (2002) ; ces auteurs ont calculé que 17,6% du *cis*-9C18:1 provenait du *trans*-9C18:1 après 48 h de culture *in vitro*.

Il n'y avait pas de différences significatives dans les proportions des intermédiaires de biohydrogénation entre le contenu ruminal (phases solide et liquide) et le contenu duodéal. Par contre, la phase solide du rumen contient plus et la phase liquide contient moins d'AGPI que le contenu duodéal. Cela suggère qu'un échantillon représentatif de phases liquide et solide du contenu ruminal est nécessaire pour étudier la biohydrogénation. La proportion élevée des AGI dans la phase solide du rumen peut s'expliquer par l'adsorption des AGI aux fibres alimentaires (revue dans Harfoot, 1981), et la présence de particules alimentaires qui n'ont pas encore été digérées (Ward et al., 1964) surtout quand le prélèvement a lieu peu de temps après le repas.

En comparaison avec le contenu duodéal, la méthode *in vitro* a surestimé les proportions de *cis*-9,*trans*-11C18:2 et de CLN mais elle a permis une bonne estimation des proportions des autres intermédiaires de biohydrogénation ; en revanche, la méthode *in situ* a surestimé tous les intermédiaires de biohydrogénation. L'accumulation de gaz dans les sachets (Marinucci et al., 1992) et la teneur en eau plus faible dans les sachets que dans le milieu *in vitro* et le contenu ruminal, pourraient limiter l'accessibilité de différents constituants de cellules aux

enzymes microbiennes et donc diminuer la vitesse de biohydrogénation de la matière grasse incubée *in situ* (Michalet-Doreau et Nozière, 1999). Les mêmes auteurs (Nozière et Michalet-Doreau, 1996) ont constaté une différence d'activité microbienne entre le rumen et le contenu des sachets, et ils ont suggéré que cela reflétait la présence d'un écosystème microbien différent et/ou une modification de l'activité enzymatique de la population microbienne entre le rumen et le contenu des sachets.

Le manque de cohérence entre les résultats obtenus *in vitro* ou *in situ* et les résultats obtenus *in vivo* a déjà été évoqué : une dégradation plus élevée des grains de maïs extrudés en comparaison avec des grains de maïs broyés a été trouvée *in situ*, mais n'était pas observée *in vivo* (Shabi et al., 1999). D'autre part, Gosselink et al. (2004) n'ont pas trouvé de cohérence entre les résultats obtenus *in vitro* ou *in situ*, et les résultats obtenus *in vivo*, au cours de leurs études sur la dégradation ruminale de l'azote alimentaire.

3.4.2. Interaction entre la méthode d'étude et le traitement des graines de lin

Globalement, LM a conduit à des proportions plus élevées d'AGPI et des proportions inférieures des *trans*-C18:1 qu'avec LC ou LE. Une interaction significative (traitement x méthode) a été observée pour *cis*-9,*trans*-11C18:2, *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3, montrant que l'effet du traitement sur les intermédiaires de biohydrogénation n'a pas été le même pour toutes les méthodes d'investigation. Dans le contenu duodéal, toutes les formes de graines de lin ont conduit à la même proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2, mais la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2 était plus élevée avec LE *in vitro*, et plus faible *in situ* à 24 h, qu'avec LC ou LM. L'extrusion rompt les membranes des cellules en libérant de l'huile (Reddy et al., 1994), et la concentration élevée d'huile « libre » avec LE incubé *in situ* peut inhiber l'isomérisation de C18:2 en diminuant la proportion de *cis*-9,*trans*-11C18:2. Même lorsque les effets du traitement du lin allaient dans le même sens avec les différentes méthodes d'investigation, l'intensité des effets du traitement pouvait différer (effet du conditionnement du lin sur la biohydrogénation des AGPI *in vitro* et dans le contenu duodéal), ce qui a également eu comme conséquence des interactions. De la même manière, Jenkins et Adams (2002) ont comparé la biohydrogénation de C18:2 sous forme de linoleamide *in vitro* et *in vivo* : quand le supplément lipidique représentait 5% de la MS de la ration, les résultats sur la biohydrogénation de C18:2 allaient dans le même sens avec les deux méthodes, mais l'importance de la protection de C18:2 sous forme de linoleamide était plus grande *in vitro* que

dans le contenu duodéal. Nos résultats ainsi que ceux de Jenkins et Adams (2002) suggèrent que la méthode *in vitro* est un outil intéressant pour estimer la biohydrogénation.

Agazzi et al. (2004) ont étudié la biohydrogénation des AGI de graines de soja extrudées *in situ*, ils ont constaté que la biohydrogénation *in situ* était lente et fortement influencée par les conditions de l'expérience. Leur conclusion était que cette méthode présentait un intérêt limité pour estimer la biohydrogénation des aliments.

Par rapport aux résultats obtenus avec le contenu duodéal :

- la méthode *in vitro* a surestimé la proportion de *cis-9,trans-11C18:2* et de CLN mais elle a permis une bonne estimation des autres intermédiaires de biohydrogénation.
- la méthode *in situ* a conduit à une surestimation de tous les intermédiaires de biohydrogénation.
- la biohydrogénation des AGPI a été sous-estimée dans la phase solide du contenu ruminal, et surestimée dans la phase liquide, et ces contenus ont eu des proportions d'intermédiaires de biohydrogénation voisines de celles observées dans le contenu duodéal.

L'effet du traitement sur la biohydrogénation et les intermédiaires de biohydrogénation dépend de la méthode d'investigation : l'analyse du contenu duodéal, de la phase liquide du rumen, et la mesure *in situ* n'ont pas distingué les différentes formes de lin, alors qu'*in vitro* et dans la phase solide du rumen, le conditionnement a ralenti la biohydrogénation et diminué les proportions d'intermédiaires.

En considérant l'ensemble des méthodes d'investigation, la biohydrogénation des AGPI et les proportions de *trans-C18:1* étaient plus faibles avec les graines de lin conditionnées qu'avec les autres formes de lin utilisées.

4. PARTIE III. EFFETS D'UN REGIME ALIMENTAIRE SUPPLEMENTE AVEC DE GRAINES DE LIN CRUES OU EXTRUDEES SUR LE PROFIL DES ACIDES GRAS DU PLASMA, LA PRODUCTION ET LA COMPOSITION DU LAIT

Les expériences *in vitro*, *in situ* et *in vivo* sur des vaches fistulées, qui ont fait l'objet des parties précédentes, nous ont permis d'obtenir des données sur la biohydrogénation et les intermédiaires de biohydrogénation de C18:3 contenu dans les graines de lin, et sur l'impact du traitement du lin sur ces paramètres.

Après ces expériences préliminaires, nous avons vérifié l'impact du lin et de son traitement sur la qualité des matières grasses du lait, en tant que produit destiné au consommateur humain. A cette fin, les effets sur la production et la composition du lait de deux régimes riches en graines de lin crues ou extrudées ont été comparés à un régime témoin sans ajout de graines de lin. Le lin conditionné n'a pas été utilisé dans cette expérimentation, en particulier en raison de difficultés d'approvisionnement pour des quantités élevées, mais aussi en raison de difficultés de conservation.

4.1. Matériels et méthodes spécifiques

4.1.1. Protocole expérimental et rations

Trente vaches en lactation ont été assignées à trois lots selon la parité, la production de lait, le stade de lactation et les taux butyreux (TB) et protéique (TP). Chaque lot comportait 5 primipares et 5 multipares. Trois régimes alimentaires (une ration témoin ne contenant pas de lin, une ration contenant du lin extrudé et une ration contenant du lin cru) ont été comparés sur trois périodes de 21 jours, dont 19 jours d'adaptation, dans un protocole en carré latin. Au début de la deuxième période, une vache a été exclue à cause d'une mammite.

Le tableau 21 présente les ingrédients utilisés et la composition chimique des trois régimes, dont leur composition en AG. La ration mélangée était distribuée le matin, de l'eau était disponible à volonté.

Tableau 21. Ingrédients et composition chimique des rations.

Régime ¹	T	LC	LE
MS, kg (distribués)	22,86	22,56	22,46
Ingrédients (% MS de la ration)			
Ensilage de maïs	60,31	61,39	61,12
Luzerne déshydratée	8,24	6,26	6,29
Blé	5,58	0,00	0,00
Concentré protéique ²	13,48	14,13	14,06
Complément de production ³	9,34	0,00	0,00
Graines de lin crues	0,00	16,42	0,00
Graines de lin extrudées	0,00	0,00	16,79
Matière grasse ⁴	1,31	0,00	0,00
AMV ⁵	1,31	1,34	1,33
Composition chimique (% MS)			
MAT	15,43	15,84	15,79
AG totaux	3,26	5,60	5,74
NDF	42,08	43,10	43,07
ADF	24,36	24,90	24,40
CB	21,23	20,92	21,14
% des AG totaux			
C12:0	1,51	0,78	0,79
C14:0	1,85	0,43	0,44
C16:0	26,71	10,14	10,38
C18:0	3,37	3,30	3,42
<i>cis</i> -9C18:1	22,28	18,72	18,87
C18:2	32,66	25,45	25,24
C18:3	7,86	39,72	39,01

¹ T : régime témoin ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Aliment correcteur azoté composé de tourteau de soja protégé, tourteau de tournesol protégé, tourteau de germe de maïs, urée, tourteau de palmiste et vinasse de canne.

³ Correcteur énergétique à base de céréales (blé, orge, maïs).

⁴ Aliment complémentaire du commerce composé de sels d'acide gras d'huile de palme et d'huile de soja.

⁵ Aliment minéral et vitaminé contenant : 7% P, 21% Ca, 6% Mg, 1% Na, et par kg : 300000 UI vitamine A, 60000 UI vitamine D3, 700 mg vitamine E, 4500 mg Zn, 3500 mg Mg, 800 mg Cu, 70 mg I, 20 mg Co, 15 mg Se.

4.1.2. Mesures et prélèvements

La production de lait de chaque vache était mesurée au cours des 4 derniers jours de chaque période. Le 20^{ème} jour de chaque période, du sang était prélevé à 14h00, et du lait était prélevé à la traite du soir. Le 21^{ème} jour à la traite de matin, un deuxième prélèvement de lait était effectué, il était suivi d'une deuxième prise de sang. Les prélèvements des deux traites (50 ml par traite) étaient immédiatement congelés. Avant analyse, les échantillons des deux traites étaient mélangés.

En outre, à chacune de ces deux traites, des prélèvements de lait étaient envoyés au laboratoire interprofessionnel d'analyses laitières pour doser le TP et TB. Le sang était prélevé à la veine coccygienne, dans des tubes héparinés sous vide, qui étaient centrifugés et le plasma était immédiatement congelé.

4.2. Résultats

4.2.1. Production et composition du lait

La production de lait, le TB et le TP sont présentés dans le tableau 22.

L'ingestion de graines de lin a significativement baissé la production de lait, mais elle n'a pas eu d'effet significatif sur le TB ou le TP par rapport à la ration témoin.

Tableau 22. Effet d'un supplément de graines de lin sur la production et la composition du lait des vaches laitières.

Régimes ¹	T	LC	LE	ECTM ²	<i>P</i>
Lait (kg/jour)	34,86 ^a	33,34 ^b	32,30 ^b	0,37	0,000
Composition, %					
TB %	4,61	4,49	4,36	0,09	0,17
TP %	2,95	2,90	2,89	0,02	0,13
Production (kg/jour)					
Matière grasse	1,59 ^a	1,49 ^{ab}	1,41 ^b	0,04	0,002
Protéine	1,03 ^a	0,97 ^b	0,93 ^b	0,01	0,000

¹T : régime ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Ecart-type de la moyenne.

^{a-b} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement ($P < 0,05$).

La production de matière grasse dans le lait a eu tendance à baisser et la production de matière protéique a significativement baissé chez les vaches consommant des graines de lin par rapport à celles consommant la ration témoin.

Il n'y avait pas de différence significative entre LE et LC pour la production de lait, le TB et le TP.

4.2.2. Plasma

4.2.2.1. Profil des AG (autres que les *trans*-C18:1)

Le profil des AG du plasma est présenté dans le tableau 23.

Tableau 23. Profil des AG (autres que des *trans*-C18:1) dans le plasma des vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.

Régimes ¹	T	LC	LE	ECTM ²
(% des AG totaux)				
C12:0	0,20 ^a	0,15 ^b	0,10 ^c	0,01
C14:0	0,98 ^a	0,84 ^b	0,68 ^c	0,03
C15:0	0,47 ^a	0,43 ^b	0,43 ^b	0,01
C16:0	10,23 ^a	8,16 ^b	7,71 ^c	0,10
C16:1	0,68	0,71	0,71	0,06
C17:0	0,48 ^a	0,44 ^b	0,42 ^c	0,01
C17:1	0,15	0,15	0,12	0,01
C18:0	13,81 ^b	14,49 ^a	14,09 ^{ab}	0,13
<i>cis</i> -9C18:1	7,98 ^a	7,51 ^b	7,70 ^{ab}	0,13
<i>cis</i> -11C18:1	0,47 ^a	0,38 ^b	0,36 ^b	0,02
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,13 ^c	0,20 ^b	0,26 ^a	0,01
C18:2	44,05 ^a	37,80 ^b	36,99 ^b	0,29
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15C18:2	0,50	0,47	0,40	0,04
CLN	0,11 ^c	0,21 ^b	0,27 ^a	0,01
C18:3	4,45 ^c	13,46 ^b	14,84 ^a	0,20
C20:4	2,43 ^a	2,19 ^b	2,35 ^a	0,03

¹ T : régime ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Ecart-type de la moyenne.

^{a-c} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

Les proportions de C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, *cis*-9C18:1, *cis*-11C18:1, C18:2 et C20:4 ont diminué, mais les proportions de C18:0, *cis*-9,*trans*-11C18:2, CLN et C18:3 ont augmenté dans le plasma avec l'ingestion de graines de lin par rapport à l'ingestion de la ration témoin. L'ingestion de graines de lin extrudées a permis de diminuer les proportions de C12:0, C14:0, C16:0 et C17:0, et d'augmenter les proportions de *cis*-9,*trans*-11C18:2, CLN et C18:3 dans le plasma par rapport à l'ingestion de graines de lin crues. La proportion de *trans*-11,*cis*-15C18:2 n'a pas été modifiée par l'ingestion de lin cru ou extrudé.

4.2.2.2. Profil des AG *trans*-C18:1

Le profil des *trans*-C18:1 dans le plasma est présenté dans le tableau 24. Les proportions des AG de *trans*-4C18:1 à *trans*-9C18:1 n'étaient pas modifiées de façon significative par l'inclusion de lin dans la ration. Les proportions des AG de *trans*-10+11C18:1 à *trans*-16C18:1 ont augmenté avec l'ingestion de lin. En outre, l'ingestion de graines de lin extrudées a augmenté les proportions de ces isomères par rapport aux graines de lin crues.

Tableau 24. Profil des acides *trans*-C18:1 du plasma de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.

Régimes ¹	T	LC	LE	ECTM ²
(% des AG totaux)				
<i>trans</i> -C18:1 totaux	1,11 ^c	2,23 ^b	3,04 ^a	0,10
<i>trans</i> -4C18:1	0,01	0,01	0,02	0,01
<i>trans</i> -5C18 :1	0,015 ^b	0,02 ^{ab}	0,02 ^a	0,004
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,01	0,02	0,01	0,01
<i>trans</i> -9C18:1	0,03	0,07	0,05	0,03
<i>trans</i> -10+11C18:1	0,41 ^c	0,64 ^b	0,95 ^a	0,03
<i>trans</i> -12C18:1	0,13 ^c	0,28 ^b	0,35 ^a	0,04
<i>trans</i> -13+14C18:1	0,27 ^c	0,69 ^b	0,99 ^a	0,04
<i>trans</i> -15C18:1	0,09 ^c	0,25 ^b	0,34 ^a	0,05
<i>trans</i> -16C18:1	0,09 ^c	0,22 ^b	0,27 ^a	0,04

¹ T : régime ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Ecart-type de la moyenne.

^{a-c} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

4.2.3. Lait

4.2.3.1. Profil des AG (autres que des AG trans-C18:1)

Le profil des AG du lait fait l'objet du tableau 25. L'ingestion de lin n'a pas affecté les proportions de C4:0, C11:0, C13:0 et C20:4. Les proportions d'AG de C8 à C17 ainsi que celles de *cis*-11C18:1, C14:1, C16:1, C17:1 étaient significativement diminuées avec l'ingestion de graines de lin par rapport à la ration témoin. L'ingestion de lin a significativement augmenté les proportions de C18:0, *cis*-9C18:1, *cis*-15C18:1, *cis*-9,*trans*-11C18:2, *trans*-11,*cis*-15C18:2, CLN et C18:3, mais la proportion de C18:2 a significativement diminué avec les rations enrichies en graines de lin.

L'extrusion du lin a augmenté les proportions de *cis*-15C18:1, *cis*-9,*trans*-11C18:2, *trans*-11,*cis*-15C18:2 et CLN, et diminué les proportions des AG de C6:0 à C16:0 par rapport aux graines de lin crues. Les proportions de C16:1, C17:1, *cis*-9C18:1, *cis*-11C18:1, C18:2, et C18:3 n'étaient pas modifiées de façon significative par l'extrusion du lin.

Tableau 25. Profil des AG du lait (autres que des *trans*-C18:1) de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.

Régime ¹	T	LC	LE	ECTM ²
% des AG totaux				
C4:0	2,69	2,69	2,53	0,06
C6:0	2,16 ^a	2,01 ^a	1,81 ^b	0,05
C8:0	1,33 ^a	1,23 ^b	1,06 ^c	0,02
C10:0	2,74 ^a	2,37 ^b	2,05 ^c	0,06
C11:0	0,25	0,20	0,21	0,02
C12:0	3,95 ^a	3,15 ^b	2,50 ^c	0,08
C13:0	0,19	0,15	0,16	0,02
C14:0	11,41 ^a	9,95 ^b	9,11 ^c	0,11
C14:1	0,99 ^a	0,76 ^b	0,71 ^b	0,04
C15:0	0,98 ^a	0,84 ^b	0,80 ^b	0,02
C16:0	33,59 ^a	24,35 ^b	23,34 ^c	0,29
C16:1	1,73 ^a	1,23 ^b	1,23 ^b	0,04
C17:0	0,63 ^a	0,57 ^b	0,58 ^b	0,02
C17:1	0,16 ^a	0,09 ^b	0,13 ^{ab}	0,02
C18:0	9,40 ^b	14,20 ^a	14,48 ^a	0,30
<i>cis</i> -9C18:1	18,65 ^b	21,84 ^a	22,21 ^a	0,27
<i>cis</i> -11C18:1	0,53 ^a	0,45 ^b	0,43 ^b	0,02
<i>cis</i> -15C18:1	0,09 ^c	0,53 ^b	0,87 ^a	0,05
<i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11C18:2	0,59 ^c	0,80 ^b	1,13 ^a	0,05
<i>trans</i> -11, <i>cis</i> -15-C18:2	0,04 ^c	0,60 ^b	0,89 ^a	0,03
C18:2	1,92 ^a	1,70 ^b	1,62 ^b	0,04
CLN	0,00 ^c	0,13 ^b	0,16 ^a	0,01
C18:3	0,28 ^b	0,95 ^a	1,22 ^a	0,09
C20:4	0,14	0,09	0,11	0,03
AG impairs ³	2,05 ^a	1,77 ^b	1,72 ^b	1,23
C4:0-C16:0	60,28 ^a	47,70 ^b	44,27 ^c	0,43
P/S ⁴	0,04 ^c	0,07 ^b	0,09 ^a	0,001
oméga-6/oméga-3	8,98 ^a	1,62 ^b	1,26 ^c	0,18
AGMI ⁵	25,25 ^c	30,96 ^b	33,43 ^a	0,37
AGPI	2,96 ^c	4,28 ^b	5,09 ^a	0,17

¹ T : régime ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Ecart- type de la moyenne.

³ C11+C13+C15+C17

⁴ Rapport : AG polyinsaturés/AG saturés.

⁵ AG *trans*-C18:1 inclus.

^{a-c} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement (P < 0,05).

4.2.3.2. Profil des AG *trans*-C18:1

Le profil des *trans*-C18:1 du lait est présenté dans le tableau 26. L'ingestion de graines de lin a significativement augmenté toutes les proportions des *trans*-C18:1 par rapport à la ration témoin. L'ingestion de graines de lin extrudées a augmenté de façon significative les proportions de *trans*-9C18:1, *trans*-10+11C18:1, *trans*-13+14C18:1 et *trans*-15C18:1 dans le lait en comparaison des graines de lin crues.

Tableau 26 : Profil des acides *trans*-C18:1 du lait de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.

Régime ¹	T	LC	LE	ECTM ²
(% des AG totaux)				
<i>trans</i> -C18:1 totaux	3,18 ^c	6,61 ^b	8,91 ^a	0,27
<i>trans</i> -4C18:1	0,02 ^b	0,03 ^a	0,04 ^a	0,003
<i>trans</i> -5C18:1	0,01 ^b	0,02 ^a	0,02 ^a	0,002
<i>trans</i> -6+7+8C18:1	0,09 ^b	0,11 ^b	0,25 ^a	0,02
<i>trans</i> -9C18:1	0,17 ^c	0,23 ^b	0,35 ^a	0,02
<i>trans</i> -10+11C18:1	1,33 ^c	2,11 ^b	3,13 ^a	0,08
<i>trans</i> -12C18:1	0,31 ^b	0,67 ^a	0,74 ^a	0,02
<i>trans</i> -13+14C18:1	0,73 ^c	1,92 ^b	2,64 ^a	0,17
<i>trans</i> -15C18:1	0,25 ^c	0,79 ^b	0,93 ^a	0,04
<i>trans</i> -16C18:1	0,29 ^b	0,73 ^a	0,80 ^a	0,03

¹ T : régime ne contenant pas de lin, LC : régime contenant du lin cru, LE : régime contenant du lin extrudé.

² Ecart-type de la moyenne.

^{a-c} Les moyennes affectées d'une lettre différente à l'intérieur d'une ligne diffèrent significativement ($P < 0,05$).

4.3. Discussion

4.3.1. Production et composition du lait

L'ingestion d'une ration supplémentée avec des graines de lin (crues ou extrudées) a eu comme conséquence une baisse de la production de lait dans cette expérience. Les résultats publiés sur la réponse de la production de lait à un supplément de graines de lin sont contradictoires. Gonthier et al. (2005) ont constaté que l'inclusion de graines de lin (cru,

extrudé ou micronisé) à 12,6% de la MS de la ration avait un effet négatif sur la production de lait. Au contraire, Kennelly (1996) n'a pas trouvé d'effet négatif sur la production de lait avec l'addition de graines de lin entières jusqu'à 15% de la MS de la ration, mais dans une autre expérience présentée dans le même article, l'inclusion de graines entières de lin à 10% de la MS de la ration a diminué la production de lait par rapport à la ration témoin. Dans cette dernière expérience le changement de teneur du lait en C18:3 était faible, ce qui indique une biohydrogénation importante des AGPI dans le rumen conduisant probablement d'après Petit et al., (2001) à une réduction de l'activité cellulolytique et de la prise alimentaire. La quantité de MS ingérée par l'animal affecte la quantité de lait produit. Ainsi, dans une expérimentation au cours de laquelle le traitement des graines de lin par le formol conduisait à une augmentation de lait produit par rapport aux graines de lin non traitées, l'auteur attribuait cette hausse de production à l'augmentation d'ingestion de MS avec le lin traité (Petit, 2003). Dans notre expérience, nous n'avons pas mesuré la prise alimentaire, et ne pouvons donc prendre en compte ce paramètre.

L'addition de matières grasses riches en AGI à la ration des vaches laitières entraîne une diminution du TB et TP de lait (Schingoethe et Casper, 1991). Dans notre expérience, le supplément de graines de lin n'a pas significativement modifié le TB ou le TP. Cependant le TP a eu tendance ($P=0,13$) à diminuer avec l'ingestion de LE. L'absence d'effet dépresseur sur la matière grasse du lait suggère que la réduction de synthèse *de novo* des AG, liée au prélèvement sanguin d'AG longs, était compensée par l'augmentation d'apport d'AG par le lin (Gonthier et al., 2005).

La production de matières grasses a diminué de 0,10 et 0,18 kg/j et la production de protéines de lait a diminué de 0,06 et 0,10 kg/j avec l'ingestion de graines de lin crues et extrudées, respectivement. La baisse de production de protéines et de matières grasses dans le lait serait donc essentiellement une conséquence de la baisse de production de lait, puisque le TB et le TP n'étaient pas significativement affectés.

4.3.2. Profil des AG du plasma et du lait

L'évolution du profil des AG du lait en réponse aux traitements est cohérente avec l'évolution du profil des AG du plasma, sauf pour la proportion de *trans*-11,*cis*-15C18:2, indépendante de la ration dans le plasma, et accrue par l'apport de lin dans le lait.

Mise à part la proportion de C4:0 dans le lait, toutes les proportions des AG courts et moyens étaient diminuées dans le plasma et dans le lait avec l'ingestion de graines lin. Les proportions

des AG à 18 carbones (sauf *cis*-11C18:1 et C18:2) étaient augmentées dans le plasma et le lait avec l'ingestion de graines de lin. Nos résultats rejoignent donc les résultats de Petit et al. (2001), Soita et al. (2003), et Gonthier et al. (2005). Les AG de C4:0 à C14:0 et une partie du C16:0 sont synthétisés *de novo* par la glande mammaire et l'apport accru d'AGPI dans la ration inhibe fortement cette synthèse (Clapperton et Banks, 1985). Grummer (1991) a proposé deux explications quant à cette inhibition : un effet indirect par modification de la production des AGV dans le rumen en augmentant la proportion d'acide propionique et en diminuant les proportions des acides acétique et butyrique, ces deux derniers étant les précurseurs de la lipogénèse mammaire, ou un effet direct sur l'acétyl-CoA carboxylase (enzyme clé dans la synthèse *de novo* des AG). Cependant, La théorie de la biohydrogénation des AG comme mécanisme expliquant les chutes de taux butyreux avec certains régimes a été récemment suggéré et a attribué l'inhibition au *trans*-10C18:1 et *trans*-10,*cis*-12C18:2 (Bauman et Griinari, 2001).

La teneur en acide butyrique du lait n'a pas été affectée par notre supplément lipidique, comme déjà constaté par Clapperton et Banks (1985). Cette particularité peut être due au fait que cet AG est synthétisé en partie par des voies métaboliques indépendantes de l'acétyl-CoA carboxylase, et parce que l'oxydation des AG longs en corps cétoniques accroît la disponibilité en butyrate pour la glande mammaire (Chilliard et al., 2000). La proportion de C18:3 a été multipliée par 4 avec l'ingestion de 2,6 kg MS de graines de lin dans notre expérience, contre un facteur 3 avec une ration contenant 2 kg MS de graines de lin crues ou micronisées (Gonthier et al., 2005), et 2 avec une ration contenant 1 kg MS de graines de lin crues ou micronisées (Soita et al., 2003). Un faible changement dans la proportion de C18:3 du lait, comparé à l'infusion de 500 g d'huile de lin dans le duodénum, qui a multiplié la proportion de C18:3 par 7 en comparaison avec l'ingestion de graines de lin protégées par du formaldéhyde et ajoutées à raison de 11,40% de la ration (Petit et al., 2002), a également été noté et reflète la biohydrogénation intense de cet AG dans le rumen.

La proportion de *cis*-9C18:1 était légèrement mais significativement plus élevée dans le plasma avec l'ingestion de la ration témoin, mais au contraire était plus élevée dans le lait avec l'ingestion de graines de lin. Une partie de cet AG présent dans le lait vient de la désaturation de C18:0 par la mamelle. Environ la moitié du C18:0 prélevé par la glande mammaire est désaturé en *cis*-9C18:1 (Enjalbert et al., 1998).

L'ingestion de graines de lin extrudées n'a pas modifié les proportions de *cis*-9C18:1 et C18:2 dans le plasma ou dans le lait en comparaison avec celle de graines de lin crues, alors que la proportion de C18:3 a augmenté significativement dans le plasma, et de façon non

significative dans le lait. De même, Gonthier et al. (2005) n'ont pas constaté d'augmentation des proportions de *cis*-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans le lait des vaches consommant du lin extrudé en comparaison avec celles consommant du lin cru. L'extrusion des graines de lin n'a pas suffisamment protégé C18:3 pour accroître sa proportion dans le lait au cours de notre expérience. Cette conclusion est en accord avec les observations de Clinquart et al. (1993), Focant et al. (1998) et Gonthier et al. (2005).

Le supplément de lin était la seule source de CLN dans le lait car il n'y avait pas de CLN détectable dans le lait du groupe témoin. Harfoot et Hazlewood (1988) ont décrit *cis*-9,*trans*-11,*cis*-15C18:3 comme le principal isomère conjugué dans la biohydrogénation de C18:3. La présence de CLN dans la matière grasse du lait de vache a déjà été mentionnée (Banni et al., 1996). Dans notre expérimentation, l'extrusion du lin a augmenté la proportion de CLN.

La proportion de *cis*-15C18:1 dans le lait était multipliée par 6 et 10, et la proportion de *trans*-11,*cis*-15C18:2 était multipliée par 15 et 22 respectivement par l'ingestion de graines de lin crues et extrudées. Ceci est cohérent avec les résultats de Loo et al. (2004), qui ont constaté une multiplication des teneurs en *cis*-15C18:1 et *trans*-11,*cis*-15C18:2 respectivement par 22 et 9 dans le lait en réponse à l'apport d'un supplément d'huile de lin à une ration riche en fourrages. Les AG *cis*-15C18:1 et *trans*-11,*cis*-15C18:2 sont en effet des intermédiaires principaux de la biohydrogénation de C18:3 (Body, 1976).

Les AG C11:0, C13:0, C15:0, contenus dans la matière grasse du lait sont synthétisés dans la glande mammaire à partir de la condensation du propionate et du malonyl-CoA tandis que le C17:0 du lait résulte plutôt d'un prélèvement sanguin de cet AG issu de la synthèse bactérienne dans le rumen (Massart-Leën et al., 1983). Ces AG impairs linéaires saturés ont réagi différemment à l'inclusion de graines de lin dans la ration des vaches au cours de notre expérience : les proportions de C11:0 et C13:0 n'étaient pas modifiées, mais les proportions de C15:0 et C17:0 dans le plasma et dans le lait étaient diminuées par l'ingestion de lin.

L'utilisation des AG impairs du lait comme un outil pour évaluer la fonction du rumen en terme d'activité microbienne et d'interaction entre les micro-organismes et le substrat a été proposée par Cabrita et al., (2003). Ces auteurs ont montré qu'il existait une relation inverse entre la proportion du C17:0 (%AG totaux) dans le lait et la teneur de la ration en protéines. Nos résultats, ceux de Kennelly (1996) et de Gonthier et al. (2005) ont montré une relation inverse entre les proportions de C15:0 et C17:0 et la teneur de la ration en graines de lin. Cela peut être lié à un changement dans la population microbienne du rumen (Cabrita et al., 2003).

Dans notre expérience l'ingestion de graines de lin crues a diminué le rapport oméga-6/oméga-3 dans le lait de 8,00 à 1,60. L'utilisation de graines de lin extrudées a fait baisser encore plus

ce rapport (1,26). Du point de vue nutritionnel, nos résultats peuvent donc être considérés comme positifs, car dans les régimes occidentaux ce rapport est maintenant de 15 à 16,7 alors que le rapport recommandé est inférieur à 4 (Simopoulos, 2002).

4.3.3. Les AG *trans*-C18:1 dans le plasma et dans le lait

La détermination d'un profil complet de *trans*-C18:1 dans le lait par la CCM-Ag n'a fait l'objet que d'un nombre limité de publications (Bickerstaffe et al., 1972 ; Parodi, 1976 ; Precht et Molkentin, 1996 ; LeDoux et al., 2002 ; Piperova et al., 2002). Le profil et la production de *trans*-C18:1 ont été déterminés également dans le lait et le plasma des vaches laitières, mais par quantification directe par CPG (Loor et al., 2004 ; Loor et al., 2005). Bien que l'analyse directe à l'aide d'une colonne de 100 m CP-Sil 88 ait déjà montré une très bonne estimation des teneurs en *trans*-C18:1, seule la combinaison de CPG et CPM-Ag permet une détermination exacte de ces AG (Wolff et al., 1998).

Dans notre expérience, le pourcentage de *trans*-C18:1 dans le lait du groupe témoin était comparable au pourcentage annuel issu des études françaises et allemandes (3,3-3,8% d'après Wolff et al., 1998). L'ingestion de graines de lin dans notre expérience a significativement augmenté la production de *trans*-C18:1, en accord avec les résultats enregistrés sur le lait de vache par Loor et al. (2005) avec une addition d'huile de lin. Dans le lait et le plasma du groupe témoin de notre expérience, comme lors de plusieurs études, *trans*-10+11C18:1 représentaient la majeure partie des AG *trans*-C18:1 du lait (Bickerstaffe et al., 1972 ; Parodi, 1976 ; Precht et Molkentin, 1996 ; LeDoux et al., 2002 ; Piperova et al., 2002) et du plasma (Loor et al., 2005). La littérature montre que si la ration est pauvre en fourrages, le *trans*-10C18:1 devient dominant dans le lait par rapport au *trans*-11C18:1 (Piperova et al., 2000). Malgré une séparation imparfaite de ces deux isomères avec la technique chromatographique utilisée dans notre expérimentation, l'examen des chromatogrammes montre que le *trans*-10C18:1 ne représentait qu'un léger épaulement sur le pic principal de *trans*-11C18:1. Avec l'inclusion de graines de lin, nous avons trouvé que les proportions de *trans*-13+14C18:1 dans le plasma et dans le lait étaient proches de celles de *trans*-10+11C18:1. Nos résultats confirment donc ceux obtenus *in vitro* par Ward et al. (1964) sur la biohydrogénation de C18:3, dans lesquels *trans*-13C18:1 et *trans*-14C18:1 représentaient à eux deux 43% des intermédiaires octadécénoïques alors que le *trans*-11C18:1 ne représentait que 12%. De même, Loor et al. (2002a) ont trouvé avec une addition d'huile de lin à la ration, que la production

dans le lait de *trans*-13+14C18:1 augmentait de 4 à 40 g/j, alors que le *trans*-11C18:1 n'augmentait que de 8 à 24 g/j.

L'acide *trans*-15C18:1 est considéré comme un produit final important dans la biohydrogénation de C18:3 (Harfoot et Hazlewood, 1988). Cependant, la proportion de cet AG dans le plasma et dans le lait était en moyenne, dans notre expérience, très proche de celles des *trans*-12C18:1 et *trans*-16C18:1, et y représentait moins de 50% de la proportion des *trans*-13+14C18:1.

L'ingestion de graines de lin extrudées a augmenté le pourcentage de *trans*-C18:1 en comparaison avec les graines de lin crues. Les proportions de *trans*-9C18:1, *trans*-10+11C18:1, *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 ont été augmentées dans le plasma (sauf pour *trans*-9C18:1) et dans le lait (sauf pour *trans*-16C18:1) par l'ingestion de graines de lin extrudées en comparaison avec des graines de lin crues. L'extrusion des graines oléagineuses ralentit les dernières étapes de biohydrogénation, en augmentant surtout les intermédiaires *trans* (Chouinard et al., 1997a ; Bayourthe et al., 2000 ; Abughazaleh et al., 2002).

La relation entre la consommation des *trans*-C18:1 et les maladies cardiovasculaires a été souvent étudiée (Semma, 2002). Homler (1998) a passé en revue des études portant sur le métabolisme des *trans*-C18:1 chez l'Homme : la plupart de ces études ont comparé *cis*-9C18:1 à *trans*-9C18:1. Dans ces études tous les AG *trans*-C18:1 ont été assimilés au *trans*-9C18:1. Cependant, la position de la double liaison est très importante en ce qui concerne l'effet biologique des isomères, et donc les effets générés par *trans*-9C18:1 ne sont pas forcément représentatifs de tous les *trans*-C18:1 (Bauman, 2004). L'acide *trans*-9C18:1 représente en moyenne 6,9% des *trans*-C18:1 dans le lait de vache (Precht et Molkentin, 1996). Dans notre expérience, avec l'inclusion de graines de lin dans la ration, l'isomère *trans*-9C18:1 représentait en moyenne seulement 3,7% des *trans*-C18:1.

L'addition de lin cru ou extrudé à la ration des vaches laitières a conduit à une diminution de la quantité de lait produite, sans modification significative des taux butyreux et protéique. Les données bibliographiques sur l'effet d'un apport de graines de lin sur la production de lait sont discordantes, mais la tendance observée vers la baisse de TB et TP avec l'ingestion de LE est en accord avec les données bibliographiques. L'ingestion de lin cru a diminué les proportions d'AG C6:0 à C16:0 et le rapport oméga-6/oméga-3 et a augmenté les proportions de *cis*-9C18:1, de tous les isomères *trans*-C18:1, ainsi que de *cis*-9,*trans*-

11C18:2, *trans*-11,*cis*-15C18:2, et C18:3. L'ingestion de lin extrudé, en comparaison avec le lin cru, n'a pas eu d'effet sur la production du lait, le TB et le TP, a diminué les proportions d'AG C6:0 à C16:0 et le rapport oméga-6/oméga-3, et a augmenté les proportions de *trans*-9C18:1, *trans*-10+11C18:1, *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1, *cis*-9,*trans*-11C18:2, *trans*-11,*cis*-15C18:2. Nos résultats montrent une augmentation de la proportion de CLN dans le lait avec l'ingestion de lin cru, et l'extrusion de graines de lin augmente significativement cette proportion dans le lait par rapport au lin cru.

Discussion générale, conclusion et perspectives

En nutrition humaine, l'acide C18:3 possède plusieurs propriétés diététiques intéressantes, liées aux maladies cardiovasculaires (Singh et al., 2002 ; De Lorgeril et Salen, 2004). L'augmentation de C18:3 dans le lait et les produits laitiers représenterait un moyen efficace pour augmenter sa consommation, mais aussi pour réduire le rapport oméga-6/oméga-3 très élevé maintenant dans le régime alimentaire.

De manière générale, la matière grasse du lait des vaches est pauvre en AGPI, mais elle contient une relativement grande quantité de C14:0 et de C16:0 (Kennelly, 1996), or les AG C12:0, C14:0 et C16:0 ont un effet athérogène (William, 2000). Le rapport oméga-6/oméga-3 est élevé dans le lait (Petit et al., 2004) ce qui est aussi défavorable pour la santé humaine (Simopoulos, 2002).

La biohydrogénation ruminale de C18:3 diminue la possibilité d'enrichir le lait en cet AG. En outre, cette biohydrogénation a comme conséquence la formation d'intermédiaires qu'on retrouve dans le lait. Dans notre essai zootechnique, nous avons comparé deux formes des graines de lin (extrudées ou crues) avec un régime témoin. L'inclusion de graines de lin dans la ration des vaches laitières a augmenté la teneur en C18:3 et diminué la teneur en C18:2 dans le plasma et dans le lait, faisant passer le rapport oméga-6/oméga-3 de 9 à 2 ; ce changement était accompagné par une diminution des proportions d'AG de C6:0 à C16:0 et une augmentation de *cis-9,trans-11*C18:2 et CLN. La production de lait a diminué mais le TB et le TP n'ont pas été significativement modifiés par l'inclusion de lin dans la ration, en accord avec les résultats publiés par Gonthier et al. (2005).

Dans nos expériences, la biohydrogénation des AG du lin a conduit principalement à la formation de 9,11,15C18:3, *trans-11,cis-15*C18:2, *trans-10+11*C18:1, *trans-12*C18:1, *trans-13+14*C18:1, *trans-15*C18:1 et *trans-16*C18:1. Ces résultats sont en accord avec ceux de Looor et al. (2004 ; 2005) sauf pour le 9,11,15C18:3 qui n'avait pas été mesuré par ces derniers.

Le conditionnement du lin a partiellement protégé C18:3 de la biohydrogénation. La température de conditionnement était faible (35 C°) et elle ne peut donc pas expliquer cette effet. Les graines de lin conditionnées avaient été broyées à la grille de 6 mm, au lieu de 3 mm pour les graines extrudées ou crues. Cette différence de taille des particules dans notre expérience *in vivo* sur des vaches fistulées peut expliquer la faible biohydrogénation des AGPI, enfermés dans la structure de particules (Kennelly, 1996). Cependant, le conditionnement de graines de lin a aussi ralenti la biohydrogénation dans nos essais *in vitro* et *in situ* malgré le broyage de toutes les formes de graines de lin à la grille de 0,5 mm avant l'incubation.

L'extrusion du lin n'a pas significativement protégée C18:3 de la biohydrogénation ruminale mais a eu comme conséquence une augmentation des intermédiaires de biohydrogénation. Clinquart et al. (1993), et Gonthier et al. (2004b) ont abouti à une conclusion similaire sur les effets de l'extrusion du lin. Il a été suggéré que la libération des AG sous l'effet de l'extrusion pourrait les rendre disponibles pour les micro-organismes du rumen (Chouinard et al., 2001). Cette hypothèse n'est pas confirmée par nos résultats car la biohydrogénation ruminale des AGPI avec le lin extrudé et le lin cru était similaire dans les contenus digestifs.

Dans le contenu duodéal, dont la mesure du profil ou du flux d'AG est en général considérée comme la méthode de référence pour la mesure de la biohydrogénation, l'effet de la méthode de traitement sur l'importance et les intermédiaires de biohydrogénation n'a pas été très fort, et n'a pas été significatif dans notre expérience *in vivo*, probablement en raison du faible nombre d'animaux. En outre, la lourdeur des expérimentations *in vivo* nécessite la mise au point d'autres moyens plus légers pour étudier les différents facteurs influençant la biohydrogénation des AGI.

L'incubation *in vitro* avec du jus de rumen et l'incubation dans le rumen de sachets renfermant la matière à tester sont couramment utilisées pour étudier la dégradation de différents composants de la matière organique des aliments (Wu et Palmquist, 1991 ; Perrier et al., 1992 ; Arielli et al., 1995 ; Chouinard et al., 1997 ; Michalet-Doreau et Nozière, 1999). En pratique, la méthode *in vitro* est la plus facile à mettre en œuvre car une seule vache donneuse peut fournir du jus de rumen. En outre, Wu et Palmquist (1991) et Fellner et al. (1995) ont trouvé que la synthèse et la biohydrogénation des AG *in vitro* étaient semblables à celles obtenues *in vivo*, prouvant que les mesures *in vitro* peuvent prédire le métabolisme des AG *in vivo*. Cependant, les conditions expérimentales peuvent être un facteur important de variation *in vitro*.

L'intérêt majeur de l'emploi des méthodes *in situ* est économique, car on peut réduire au minimum les animaux utilisés, tout en étudiant la dégradation dans des conditions physiologiques, proches de la réalité en comparaison avec l'incubation *in vitro*. La technique *in situ* permet de faire une comparaison de la biohydrogénation lipidique entre les aliments mais elle ne permet pas d'estimer quantitativement la biohydrogénation *in vivo* (Perrier et al., 1992 ; Enjalbert et al., 2003). De même, *in situ*, la vitesse de biohydrogénation des AG du colza était inférieure et le temps de latence était plus élevé qu'*in vitro* (Enjalbert et al., 2003). En outre, l'interprétation des variations de la composition des AG dans les sachets est difficile parce que la disparition d'un AG peut être la conséquence de la biohydrogénation ou simplement due au fait que l'AG a quitté le sachet (Perrier et al., 1992).

Dans nos expériences, l'effet des traitements n'a pas été le même selon les différentes méthodes d'investigation. Par rapport aux résultats obtenus dans le contenu duodéal dans notre expérience, la méthode *in vitro* a permis une bonne estimation de l'effet des traitements sur la biohydrogénation des AGPI et sur les intermédiaires de biohydrogénation. La méthode *in situ* a par contre été caractérisée par une sous-estimation de l'importance de la biohydrogénation, et une surestimation de tous les intermédiaires de biohydrogénation. La biohydrogénation des AGPI était sous-estimée dans la phase solide et surestimée dans la phase liquide du contenu ruminal. Nos expériences *in vitro*, *in situ* et *in vivo* sur les vaches fistulées, nous permettent de conclure que :

- un échantillon représentatif des phases solide et liquide du contenu ruminal est envisageable pour étudier la biohydrogénation des AGI.
- les résultats obtenus *in vitro* sont plus proches des résultats obtenus dans le contenu duodéal que les résultats obtenus *in situ*.

L'évolution de la composition du lait en fonction du traitement du lin reflétait davantage les résultats observés *in vitro* que ceux observés dans le contenu duodéal de vaches tarées. La biohydrogénation du lin extrudé *in vitro* était moins forte que celle du lin cru, ce qui est cohérent avec nos observations dans le lait, dans lequel C18:3 représentait 1,22% des AG avec l'ingestion de lin extrudé et 0,95% avec l'ingestion de lin cru. Au contraire, dans les contenus ruminal et duodéal les proportions de C18:3 étaient presque les mêmes avec les lins cru ou extrudé. L'extrusion a augmenté *in vitro* tous les intermédiaires de biohydrogénation. Cet effet ne concernait qu'une partie des *trans*-C18:1 *in situ*, et aucun intermédiaire dans le contenu duodéal. L'extrusion augmentait les proportions des intermédiaires de biohydrogénation dans le lait, comme *in vitro*. Le contenu duodéal, considéré comme une méthode de référence n'a pas prédit l'effet de l'extrusion de graines de lin observé dans le lait. Cependant, dans nos expériences les prélèvements de lait et les prélèvements des contenus ruminal et duodéal n'étaient pas effectués sur les mêmes animaux, les prélèvements digestifs étant faits sur des vaches tarées.

Enfin, les intermédiaires de biohydrogénation trouvés dans le lait dans notre expérience comprenaient ceux qui ont des effets positifs sur la santé humaine comme le *cis*-9,*trans*-11C18:2 (Parodi, 1999) ou sur modèle animal comme le 9,11,15C18:3 (Plourde, 2005), mais aussi ceux qui ont des effets négatifs comme les acides *trans*-C18:1 (Semma, 2002). Il faut donc rester prudent quant aux conséquences possibles sur la santé humaine de la distribution de matières grasses de lin aux vaches, car cette ingestion de lin a sensiblement augmenté la proportion de *trans*-C18:1 dans le lait dans notre expérience.

Aussi, des connaissances complémentaires seraient nécessaires pour éclaircir ou expliquer différents points dans nos expériences :

1. Dans nos études *in vitro* et *in situ* nous avons rebroyé les différentes formes de graines de lin à la grille de 0,5 mm. Cependant, cette homogénéisation de taille après traitement n'annule pas forcément les possibles différences entre formes de lin dues à des écarts de tailles de particules pendant le traitement. Des essais comparant des formes conditionnées et/ou extrudées dans des conditions identiques de taille des particules peuvent être nécessaires.
2. Le conditionnement des graines de lin s'avère intéressant mais il faudrait comparer plusieurs tailles de particules et températures de conditionnement, ou plusieurs couples température – durée, pour déterminer les conditions idéales offrant le flux maximal d'AGPI dans le duodénum. En outre, pendant notre travail avec cette forme de lin, sa conservation s'est avérée difficile à cause de son taux d'humidité ; ce problème resterait à résoudre avant de mettre en œuvre l'utilisation de cette forme de lin.
3. Compte tenu de l'effet du conditionnement seul observé dans nos expériences, une étude détaillée de l'effet des différentes combinaisons (conditionnement / extrusion) sur la fermentation et sur la biohydrogénation ruminale des AGPI se révélerait intéressante, car la forme extrudée est celle qui se trouve sur le marché et est utilisée par les éleveurs.
4. Dans cette expérience, la teneur des AG *trans*-13+14C18:1, *trans*-15C18:1 et *trans*-16C18:1 dans le lait de vache était importante lors d'apport de lin dans la ration, surtout après extrusion. L'impact de ces AG sur la santé humaine reste inconnu et donc des essais des effets possibles sur la santé humaine sont nécessaires afin de préciser si la matière grasse du lait ainsi obtenu a une bonne qualité diététique.

Références bibliographiques

- Abe, M. et D. W. Kufe.** 1984. Effect of sodium butyrate on human breast carcinoma (MCF-7) cellular proliferation, morphology, and CEA production. *Breast Cancer Res Treat.* 4 : 269-74.
- Abu-Ghazaleh, A. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, K. F. Kalscheur et L. A. Whitlock.** 2002. Fatty acids profiles of milk and rumen digesta from cows fed fish oil, extruded soybeans or their blend. *J. Dairy Sci.* 85 : 2266-2276.
- Agazzi, A., C. Bayourthe, M. C. Nicot, A. Troegeler-Meynadier, R. Moncoulon et F. Enjalbert.** 2004. In situ ruminal biohydrogenation of fatty acids from extruded soybeans : effects of dietary adaptation and of mixing with lecithin or wheat straw. *Anim. Fedd Sci. Technol.* 117 : 165-175.
- Agence Française de Securite Sanitaire des Aliments.** 2003. Acides gras de la famille oméga-3 et système cardiovasculaire : intérêt nutritionnel et allégations. www.afssa.fr
- Annison, E. F., J. F. Linzell, S. Fazakerley et B. W. Nichols.** 1967. The oxidation and utilisation of palmitate, stearate, oleate and acetate by the mammary gland of the fed goat in relation their overall metabolism, and the role of plasma phospholipids and neutral lipids in milk fat synthesis. *Biochem. J.*, 102 : 637-647.
- Arieli, A., I. Bruckental, O. Kedar et D Sclan.** 1995. In sacco disappearance of starch, nitrogen and fat of processed grains. *Anim. Feed Sci. Tech.* 51 : 278-295.
- Banni, S., G. Carta, M. S. Contini, E. Angioni, M. Deiana, M. A. Dessi, M. P. Melis et F. P. Corongiu.** 1996. Characterization of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products, and lamb tissues. *J. Nutr Biochem.* 7 : 150-155.
- Baro, L., J. Fonolla, J. L. Pena, A. Martínez-Ferez, A. Lucena, J. Jiménez, J. J. Boza et E. Lopez-Huertas.** 2003. N-3 fatty acids plus oleic acid and vitamin supplemented milk consumption reduce total and LDL cholesterol, homocysteine and levels of endothelial adhesion molecules in healthy humans. *Clin. Nutr.* 22 : 175-182.
- Bauchart, D.** 1993. Lipid absorption and transport in ruminants. *J. Dairy Sci.* 76: 3864-3881.
- Bauchart, D., Doreau, M. et A. Kindler.** 1987. Effect of fat and lactose supplementation on digestion in dairy cows. 2. Long-chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 70 : 71-80.
- Bauchart, D., F. Legay-Carmier, M. Doreau et J. P. Jouany.** 1986. Effets de l'addition de matières grasses non protégées à la ration de la vache laitière sur la concentration et la composition chimique des bactéries et des protozoaires du rumen. *Reprod. Nutr. Dev.* 26 (1B) : 309-310.
- Bauchart, D., M. Doreau et F. Legay-Carmier.** 1985. Utilisation digestive des lipides et conséquences de leur introduction sur la digestion des ruminants. *Bull. Tech. C.R.Z.V. Theix, I.N.R.A.* 61: 65-77.
- Bauman D.E., J.M. Griinari.** 2001. Regulation and nutritional manipulation of milk fat : low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.*, 70, 15-29.

Bauman, D. E., J. W. Perfield et A. L. Lock. 2004. Effect of Trans fatty acids on milk fat and their impact on human health. Proceeding: Southwest nutrition and management conference. 19th annual, Feb 2004. The University of Arizona.

Bayourthe, C., F. Enjabert et R. Moncoulon. 2000. Effects of different forms of canola oil fatty acids plus canola meals on milk composition and physical properties of butter. *J. Dairy Sci.* 83 : 690-697.

Beam, T. M., T. C. Jenkins, P. M. Moate, R. A. Kahn et D. L. Palmquist. 2000. Effects of amounts and source of fat on the rate of lipolysis, biohydrogenation of fatty acids in rumen contents. *J. Dairy Sci.* 83 : 2564-2573.

Ben Salem, H., R. Krzeminski, A. Ferlay et M. Doreau. 1993. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows : comparison of hay and corn silage diets. *Can. J. Anim. Sci.* 73: 547-557.

Berset, C. 1994. Influence de la cuisson-extrusion sur les lipides et les pigments. In : La cuisson-extrusion. Ed. : Colonna, P. et G. Della Valle, Lavoisier, Paris, France, P : 142-162.

Bickerstaffe, R., D. E. Noakes et E. F. Annison. 1972. Quantitative aspects of fatty acids Biohydrogenation, absorption and transfer into milk fat in lactating goat with special reference to the cis and trans isomers of octadecenoate and linoleate. *Biochem. J.* 130 : 607-617.

Body, D. R. 1976. The occurrence of cis-octadec-15-enoic acid as a major biohydrogénation product from methyl linolenate in bovine rumen liquor. *Biochem. J.* 157 : 741-744.

Bonanome A. et S. M. Grundy. 1988. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Engl. J. Med.* 318 : 1244-1248.

Bouvier, J. M. 1996. Engineering analysis of preconditioning in the extrusion-cooking process. *Cereal Foods World* 41 : 737-740.

Cabrita, A. R. J., A. J. M. Fonseca, R. J. Dewhurst et E. Gomes. 2003. Nitrogen supplementation of corn silages. 2. Assessing rumen function using fatty acid profiles of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 86 : 4020-4032.

Carroll, D. J., M. J. Jerred, R. R. Grummer, D. K. Combs, R. D. Rierison et E. R. Hauser. 1990. Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on plasma progesterone, energy balance, and reproductive traits of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73 : 2855-2863.

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

- Chilliard, Y., A. Ferlay, J. Rouel et G. Lamberet.** 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 86:1751-1770.
- Chilliard, Y.** 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents: a review. *J. Dairy Sci.* 76 : 3897-3931.
- Chilliard, Y., A. Ferlay et M. Doreau.** 2001. Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières: acides gras trans, polyinsaturés, acide linoléique conjugué. *INRA. Prod. Anim.* 14 : 323-335.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, R. M. Mansbridge et M. Doreau.** 2000. Ruminants milk fat plasticity : nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids : Review. *Ann. Zootech.* 49 :181-205.
- Chilliard, Y., M. Doreau, G. Gagliostro et Y. Elmeddah.** 1993. Addition de lipides protégés (encapsulés ou savon de calcium) à la ration de vaches laitières. Effet sur la performance et la composition du lait. *INRA. Prod. Anim.* 2 : 139-150.
- Chouinard, P. Y., J. Lévesque, V. Girard et J. Brisson.** 1997b. Dietary soybeans Extruded at different temperatures: milk composition and in situ fatty reactions. *J. Dairy Sci.* 80 : 2913-2925.
- Chouinard, P. Y., L. Corneau, W. R. Bulter, Y. Chilliard, J. K. Drackley et D. E. Bauman.** 2001. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. *J. Dairy Sci.* 84 : 680-690.
- Chouinard, P. Y., V. Girard et G. J. Brisson.** 1997a. Performance and profiles of milk fatty acids of cows fed full fat, heat treated soy beans using various processing methods. *J. Dairy Sci.* 80 : 334-344.
- Chouinard, P. Y., V. Girard et G. J. Brisson.** 1998. Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *J. Dairy Sci.* 81: 471-481.
- Chow, T.T., Fievez, V., Raes, K., Demeyer, D. et De Smet, S.** 2003. Lipolysis and biohydrogenation of linoleic and linolenic acid in vitro: comparison of linseed sources and grass. *Proc. British Soc. Anim. Sci. York, U.K.,* P : 169.
- Clapperton, J. L.** 1978. Biohydrogenation of protected soya-bean oil in sheep fed low-fiber diet. *Proc. Nutr. Soc.* 37 : 65A.
- Clapperton, J. L. et W. Banks.** 1985. Factors affecting the yield of milk and its constituents, particularly fatty acids, when dairy cows consume diets containing adding fat. *J. Sci. Food. Agric.* 36 : 1205-1211.
- Clarenburg, R.** 1992. *Physiological chemistry of domestic animals.* Mosby-Year book, Inc. USA.

- Clinquart, A., L. Istasse, C. Van Eenaeme, M. Diez, I. Dufrasne et J. M. Bienfait.** 1993. Influence de l'extrusion de mélanges de graines de lin et d'orge, de graines de pois et de colza, et de fèves de soja, sur la dégradabilité dans le rumen de leurs fractions azotée et lipidique et sur leur composition en acides gras. *Ann. Zoot.* 42 : 130-131.
- Cook, J. L., T. W. Scott, K. A. Ferguson et I. W. McDonald.** 1970. Production of poly-unsaturated ruminant fats. *Nature* 228 : 178-179.
- Coppock, C. E. et D. L. Wilk.** 1991. Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: effect on intake, digestion, milk yield, and composition. *J. Anim. Sci.* 69 : 3826-3837.
- Cuvelier C., J. F. Cabaraux, I. Dufrasne, J. L. Hornick , L. Istasse.** 2004. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.* 148, 133-140.
- Czerkawski, J. W., W. W. Christie, G. Brieckenridge et M. L. Hunter.** 1975. Changes in the rumen metabolism of sheep given increasing amounts of linseed oil in their diet. *Br. J. Nutr.* 34 : 25-44.
- Dawson, R. M. C., N. Hemington, D. Grime, D. Lander et P. Kemp.** 1974. Lipolysis and hydrogenation of galactolipids and the accumulation of phytic acid in the rumen. *Biochem. J.* 144 : 169-170.
- Deaville, E. R., D. E. Givens et J. S. Blacke.** 2004. Dietary supplements of whole linseed and vitamin E to increase levels of α -linolenic acid and vitamin E in bovine milk. *Anim. Res.* 53 : 3-12.
- De Lorgeril, M. et P. Salen.** 2004. Alpha-linolenic acid and coronary heart disease. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 14 : 162-169.
- De Lorgeril, M., P. Salen, J-L. Martin, I. Monjaud, J. Delaye, N. Mamelle.** 1999. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. Final Report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation.* 99 : 779-785.
- Demeyer, D. et M. Doreau.** 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nutr. Soc.* 58 : 593-607.
- Devendra, C. et D. Lewis.** 1974. Interaction between dietary lipids and fiber in the sheep. *Anim. Prod.* 19 : 67.
- Dhiman, T. R., L. D. Satter, M. W. Pariza, M. P. Galli, K. Albright et M. X. Tolosa.** 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83 : 1016-1027.
- Doreau, M. et A. Ferlay.** 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45 : 379-396.
- Doreau, M. et B. Michalet-Doreau.** 1987. Tourteaux et graines de colza et de tournesol : utilisation digestive par les ruminants. *Bull. tech. C.R.Z.V. Theix. INRA.* 86 : 29-39.

Doreau, M. et C. Poncet. 2000. Ruminant biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reprod. Nutr. Dev.* 40 : 201

Doreau, M., P. Grimaud et B. Michalet-Doreau. 2000. La sous-alimentation chez les ruminants : ses effets sur la digestion. *INRA Prod. Anim.* 13 : 247-255.

Drackley, J. K., T. M. Cicela et D. W. LaCount. 2003. Response of primiparous and multiparous Holstein cows to additional energy from fat or concentrate during summer. *J. Dairy Sci.* 86 : 1306-1314.

Drackley, J. K. et J. P. Elliott. 1993. Milk composition, ruminal characteristic and nutrient utilization in dairy cows fed partially hydrogenated tallow. *J. Dairy Sci.* 76 : 183-196.

Duckett, S. K., J. G. Andrae et F. N. Owens. 2002. Effects of high oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *J. Anim. Sci.* 80 : 3353-3360.

Duncan, W. R. et G. Garton. 1962. The C18 fatty acids of ox plasma lipids. *J. Lipid Res.* 3 : 55-65.

Enjalbert, F., M. C. Nicot, C. Bayourthe et R. Moncoulon. 1998. Duodenal infusions of palmitic, stearic or oleic acids differently affect mammary gland metabolism of fatty acids in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128: 1525-1532.

Enjalbert, F., P. Eynard, M. C. Nicot, A. Troegeler-Meynadier, C. Bayourthe et R. Moncoulon. 2003. In Vitro versus in situ ruminal biohydrogenation of unsaturated fatty acids from a raw or extruded mixture of ground canola seed/canola meal. *J. Dairy Sci.* 86 : 351-359.

Fellner, V., F. D. Sauer et J. K. G. Kramer. 1995. Steady state rates of linoleic acid biohydrogenation by ruminal bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 78 : 1815-1823.

Ferlay, A., F. Legay, D. Bauchart, C. Ponc et M. Doreau. 1992. Effects of a supply of raw or extruded rapeseeds on digestion in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 70 : 915-923.

Focant, M., E. Mignolet, M. Marique, F. Clabots, T. Breyne, D. Dalemans et Y. Larondelle. 1998. The effect of vitamin E supplementation of cow diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation. *J. Dairy Sci.* 81 : 1095-1101.

Folch J., M. Lees et G. H. S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497-509.

Fotouhi, N. et T. C. Jenkins. 1992. Resistance of fatty acyl amides to degradation and hydrogenation by ruminal microorganisms. *J. Dairy Sci.* 75: 1527-1532.

Gagliostro, G., Y. Chilliard et M. J. Davicco. 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites. *J. Dairy Sci.* 74: 1893-1903.

Gerson, T., A. John et S. D. King. 1985. The effect of dietary starch and fiber rates on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta. *J. Agric. Sci. Camb.* 105 : 27-30.

Girard, V. et J.C. Hawke. 1978. The role of Holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acid in the rumen. *Biochimica Biophysica Acta (BBA)-Lipids and lipids metabolism.* 528 : 17-27.

Gonthier, C., A. F. Mustafa, D. R. Ouellet, P. Y. Chouinard, R. Berthiaume et H. V. Petit. 2005. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci.* 88 : 748-756.

Gonthier, C., A. F. Mustafa, R. Berthiaume, H. V. Petit et D. R. Ouellet. 2004b. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on digestion and ruminal biohydrogenation of long-chain fatty acids. *Can. J. Anim. Sci.* 84 : 705-711.

Gonthier, C., A. F. Mustafa, R. Berthiaume, H. V. Petit, R. Martineau et D. R. Ouellet. 2004a. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 : 1854-1863.

Goosen, P. C. et I. Mulder. 1971. The effect of linseed oil added to the diet of cows on the fatty acid composition of rumen content and blood. *Z. Tierphysiol Tierernahr Füttermittelkd.* 27 : 125-134.

Gosselink J.M.J., J.P. Dulphy, C. Poncet, J. Aufrère, S. Tamminga et J.W.Cone. 2004. Rumen escape nitrogen from forages in sheep: comparison of in situ and in vitro techniques using in vivo data. *Anim. Feed Sci. Technol.* 116 : 35-51.

Griinari J. M., D. A. Dwyer, M. A. McGuire, D. E. Bauman, D. L. Palmquist et K. V. Nurmela. 1998. Trans-octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81 : 1251-1261.

Griinari, J. M. et D. E. Bauman. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid. In : *Advance in conjugated linoleic acid research*, Ed.:Yurawecz, M. P., Mossoba, M. M., Kramer, J. K. G., Pariza, M. W. and Nelson, G. J., AOCS Press, Champaign, IL, USA, Vol 1. PP : 180-200.

Griinari, J. M., B. A. Corl, S. H. Lacy, P. Y. Chouinard, K. V. V. Nurmela et D. E. Bauman. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.* 130 : 2285-2291.

Grummer, R. R. 1988. Influence of prilled fat calcium salt of palm oil fatty acids on ruminal fermentation and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* 71 : 117-123.

Grummer, R. R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 74 : 3244-3257.

Gulati, S. K., T. W. Scott et J. R. Ashes. 1997. In-vitro assessment of fat supplements for ruminants. *Anim. Feed Sci. Tech.* 64 : 127-132.

- Hach, C. C., B. K. Bowden , A. B. Koplove et S. V Brayton.** 1987. More powerful peroxide Kjeldahl digestion method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70 : 783-787.
- Hach, C. C., S. V. Brayton et A. B. Kopelove.** 1985. A powerful Kjeldahl nitrogen method using peroxymonosulfuric acid. *J. Agric. Food Chem.*, 33: 1117-1123.
- Harfoot, C. G. et G. P. Hazlewood.** 1988. Lipid metabolism in the rumen. In : The rumen microbial ecosystem, Ed.: Hobson, P. N., Elsevier, Barking, UK., P 285-322.
- Harfoot, C. G., R. C. Noble et J. H. Moore.** 1973. Food particles as a site of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms in vitro. *Biochem. J.*, 132 : 829-32.
- Harrison, F. A., W. M. F. Leat et A. Forster.** 1974. Absorption of maize oil infused into the duodenum of sheep. *Proc. Nutr. Soc.* 33 : 101A-102A.
- Hawke, J. C.** 1971. The incorporation of long chain fatty acids into lipids by rumen bacteria and the effect on biohydrogenation. *Biochimica Biophysica Acta BBA- Lipids and Lipid Metabolism.* 248 : 167-170.
- Hawke, J. C. et W. R. Silcock.** 1970. In vitro rate of lipolysis and biohydrogenation in rumen contents. *Biochem. Biophysic. Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism,* 218 : 201-12.
- Hodgson, J. M., M. L. Wahlquist, J. A. Boxall et N. D. Balazs.** 1996. Platelet trans fatty acids in relation to angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 120 : 147-54.
- Homler, G.** 1998. Biochemistry of trans-monenoic fatty acids. In : Trans fatty acids in human nutrition, Ed. : J. L. Sébédio and W. W. Christie. The oily press, Dundee, Scotland, U.K., P: 163-189.
- Igarashi, M. et T. Miyazawa.** 2000. Newly recognized cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on cultured human tumor cells. *Cancer Letters* 148 : 173-179.
- Ikwuegbu, O. A. et J. D. Suttun.** 1982. The effect of varying the amounts of linseed oil Supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* 48 : 365-375.
- Ilian, M. A., M. A. Razzaque et A. J. Salman.** 1988. Use of fat in diets of sheep in hot environments. II. Effect on rumen metabolism. *Anim Feed. Sci. Technol.* 19 : 343-350.
- Illg, D. J., M. D. Stern., H. R. Mansfield et B. A. Crooker.** 1994. Effects of extruded soybeans and forage source on fermentation by rumen microorganisms in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 77 : 1589-1597.
- Jenkins, T. C.** 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76: 3851-3863.

Jenkins, T. C. et C. S. Adams. 2002. The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. *J. Anim Sci.* 80 : 533-540.

Jenkins, T. C. et B. F. Jenny. 1992. Nutrient digestion and lactation performance of dairy cows fed combinations of prilled fat and canola oil. *J. Dairy Sci.* 75 : 796-803.

Jouany, J. P., L. Broudiscou, R. A. Prins et S. Komisarczuk-Bony. 1995. Métabolisme et nutrition de la population microbienne du rumen. En: Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion, Ed., Jarrige, R., Y. Rucckebusch, C., Demarquilly, M. H. Farce et M. Journet, INRA, Paris, France, P : 350-381.

Jouany, J. P. 1982. volatile fatty acid and alcohol determination, in digestive contents, silage juice, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sci. Alim.*, 2: 131-144.

Kalscheur, K. F., B. B. Teter, L. S. Piperova et R. A. Erdman. 1997. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80 : 2104-2114.

Katz, I. et M. Keeney. 1966. Characterization of the octadecenoic acids in rumen digesta and rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* 49:962-966.

Kellens, M. J., H. L. Goderis et P. P. Tobback. 1986. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by mixed cultures of rumen micro-organisms. *Biotech. Bioengin.* XXVIII : 1268-1276.

Kelly, M. L., J. R. Berry, D. A. Dwyer, J. M. Grinari, P. Y. Chouinard, M. E. Van Amburgh et D. E. Bauman. 1998. Effect of dietary fatty acid sources on conjugated linoleic acid (CLA) concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128 : 881-885.

Kemp, P. et D. J. Lander. 1984. Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130 : 572-533.

Kennelly, J. J. 1996. The fatty acid composition of milk fat as influenced by feeding oil seed. *Anim. Feed Sci. Tech.* 60 : 137-152.

Kepler, C. R. et S. B. Tove. 1967. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. purification and properties of a linoleate Δ^{12} -cis Δ^{11} trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 242 : 5686-5692.

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

Kishino, S., J. Ogawa, A. Ando et S. Shimizu. 2003. Conjugated alpha-linolenic acid production from alpha-linolenic acid by *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a. *Euro. J. Lipid Sci. Techn.* 105 : 572-577.

Klein, V., V. Chajès, E. Germain, G. Schulgen, M. Pinault, D. Malvy, T. Lefrancq, A. Fignon, O. Le Floch, C. Lhuillery et P. Bougnoux. 2000. Low alpha-linolenic acid content of adipose breast tissue is associated with an increased risk of breast cancer. *Euro. J. Cancer* 36 : 335-340.

Knapp, D. M. et R. R. Grummer. 1990. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. *J. Dairy Sci.* 74 : 2573-2579.

Kohno, H., Y. Yasui, R. Suzuki et M. Hosokawa. 2004. Dietary seed oil rich in conjugated linolenic acid from bitter melon inhibits azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis through elevation of colonic PPARgamma expression and alteration of lipid composition. *Int. J. Cancer.* 110 : 896-901.

Kohno-Murase, J., M. Iwabuchi, K. Koba et J. Imamura. 2004. Production of an isomer of conjugated linolenic acid, punicic acid, in rapeseed and rice. In: 16th international plant lipid symposium, Budapest, Hungary, 1-4 Juin, P:166-167. Online : www.mete.mtesz.hu/pls/proceedings/eloadasok-pdf/16pls-proceeding-20050129.pdf

Kucuk, O., B. W. Hess, P. A. Ludden et D. C. Rule. 2001. Effect of forage : concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *J. Anim. Sci.* 79 : 2233-2240.

LeDoux M., A. Rouzeau, P. Bas et D. Sauvant. 2002. Occurrence of trans-C18:1 fatty acid isomers in goat milk : effect of two dietary regimens. *J. Dairy Sci.* 85 : 190-197.

Loor, J. J., A. B. P. A. Bandara et J. H. Herbein. 2002b. Characterization of 18:1 and 18:2 isomers produced during microbial biohydrogenation of unsaturated fatty acids from canola and soybean oil in rumen of lactating cows. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 86 : 422-432.

Loor, J. J., A. Ferlay, A. Ollier, M. Doreau et Y. Chilliard. 2002a. Conjugated linoleic acids (CLA), trans fatty acids, and lipid content in milk from Holstein cows fed a high-or low-fiber diet with two levels of linseed oil. *ADSA-ASAS-CSAS Annual Meeting, Quebec City, Canada, 22-24 July.* *J. Dairy Sci.* 85 (suppl. 1) : 279.

Loor, J. J., A. Ferlay, A. Ollier, M. Doreau et Y. Chilliard. 2005. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J. Dairy Sci.* 88: 726-740.

Loor, J. J., K. Ueda, A. Ferlay, Y. Chilliard et M. Doreau. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage : concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 : 2472-2485.

Lundy, F. P., E. Block, W. C. Bridges, J. A. Bertrand et T. C. Jenkins. 2004. Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *J. Dairy Sci.* 87: 1038-1046.

Maczulak, A. E., B. A. Dehority et D. L. Palmquist. 1981. Effects of long chain fatty acids on growth of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 42 : 856-862.

- Maia, M., J. M. C. Ramalho-Ribeiro et R. J. Wallace.** 2004. Conjugated linoleic acids are formed in a detoxification mechanism which protects *Butyrivibrio fibrisolvens* from the effects of polyunsaturated fatty acids. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: S57–S82.
- Marinucci, M. T., B. A. Dehority et S. C. Loerch.** 1992. In vitro and in vivo studies of factors affecting digestion of feeds in synthetic fiber bags. *J. Anim. Sci.* 70 : 296-307.
- Massart-Léon A. M., E. Roets, G. Peeters et R. Verbeke.** 1983. Propionate for fatty acid synthesis by the mammary gland of the lactating goat. *J. Dairy Sci.*, 66 : 1445-1454.
- Mensink R. P. et M. B. Katan.** 1990. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. *N. Engl. J. Med.* 7 : 439-45
- Mercier, C.** 1994. Comment aborder la cuisson-extrusion. En : *La cuisson-extrusion*. Ed. : Colonna, P. et G. Della Valle, Lavoisier, Paris, France, P : 2-13.
- Michalet-Doreau, B. et P. Nozière.** 1999. Intérêts et limites de l'utilisation de la technique des sachets pour l'étude de la digestion ruminale. *I.N.R.A. Prod. Anim.* 12 : 195-206.
- Michalet-Doreau, B., C. Bogaert et D. Bauchart.** 1985. Valeur nutritive des graines de soja crues ou extrudées pour les ruminants. *Bull.Tech. C. R. Z. V. Theix, I.N.R.A.* 59 : 29-38.
- Mielke, C.D. et D. J. Schingoethe.** 1981. Heat-treated soybeans for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 64: 1579-1585.
- Moore, H. J. et W. W. Christie.** 1981. Lipid metabolism of the mammary gland of ruminant animals. In : *Lipid metabolism in ruminant animals*. Ed.: Christie, W. W., Pergamon Press, Oxford, U. K., PP : 227-278.
- Moore, H. J., R. C. Noble et W. Steele.** 1969. The incorporation of linolenic and linoleic acids into the plasma lipids of sheep given intra-abomasal infusions of linseed oil, maize oil or linoleic acid. *Br. J. Nutr.* 23 : 141.
- Moore, H., C. Noble et W. Steele.** 1968. Facteurs affecting the polyunsaturated fatty acids contents of the plasma lipids in sheep. *Br. J. Nutr.* 22 : 681-688.
- Morand-Fehr, P. et G. Tran.** 2001. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. *I.N.R.A. Prod. Anim.* 14 : 285-302.
- Morand-Fehr, P. et M. Doreau.** 2001. Ingestion et digestion chez les ruminants soumis à un stress chaleur. *I.N.R.A Prod. Anim.* 14 : 15-27.
- Mosley, E. E., G. C. Powell, M. B. Riley et T. C. Jenkins.** 2002. Microbial hydrogenation of oleic acid to trans isomers In Vitro. *J. Lipid Res.* 43 : 290-296.

- Mustafa, A. F., C. Gonthier et D. R. Ouellet.** 2003a. Effects of extrusion of flaxseed on ruminal and postruminal nutrient digestibilities. *Archiv. Anim. Nutr.* 57: 455-463.
- Mustafa, A. F., Y. P. Chouinard et D. A. Christensen.** 2003b. Effects of feeding micronized flaxseed on yield and composition of milk from Holstein cows. *J. Sci. Food Agric.* 83 : 920-926.
- Mustafa, A., Y. P. Chouinard, D. R. Ouell et H. Soita.** 2003c. Effect of moist heat treatment on ruminal treatment degradability of sunflower seed. *J. Sci. Food Agric.* 83 : 1059-1064.
- Noakes, M., P. J. Nestel et P.M. Clifton.** 1996. Modifying the fatty acid profile of dairy products through feedlot technology lowers plasma cholesterol of humans consuming the products. *Am. J. Clin. Nutr.* 63 : 42-46.
- Noble, R. C.** 1981. Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals. In : *Lipid metabolism in ruminant animals*. Ed.: Christie, W. W., Pergamon Press, Oxford, U. K., pp 75-94.
- Nozière, P. et B. Michalet-Doreau.** 1996. Validation of in sacco method : influence of sampling site, nylon bag or rumen contents, on fibrolytic activity of solid-associated microorganisms. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57: 203-210.
- Offer, N. W., M. Marsden, J. Dixon, B. K. Speake et F. E. Thacker.** 1999. Effect of dietary fat supplements on levels of n-3 poly-unsaturated fatty acids, trans acids and conjugated linoleic acid in bovine milk. *Anim. Sci.* 69 : 613-625.
- Orskov, E. R. et J. McDonald.** 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 92 : 499-503.
- Palmquist, D. L. et T. C. Jenkins.** 1980. Fat in lactation rations : Review. *J. Dairy Sci.* 63 : 1-14.
- Palmquist, D. L., A. D. Beaulieu et D. M. Barbano.** 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76 : 1753-1771.
- Park, P. W. et R. E. Goins.** 1994. In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *J. Food Sci.* 59 : 1262-1266.
- Parodi, P. W.** 1976. Distribution of isomeric octadecenoic fatty acids in milk fat. *J. Dairy Sci.* 59 : 1870-1873.
- Parodi, P. W.** 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82 : 1339-1349.
- Pena, F., Tagari, H. et L. D. Satter.** 1986. The effect of heat treatment of whole cottonseed on site and extent of protein digestion in dairy cows. *J. Anim Sci.* 62 : 1423-1433.

Perrier, R., D. Michalet-Doreau, D. Bauchart et M. Doreau. 1992. Assessment of an in-situ technique to estimate the degradation of lipids in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 59: 449-455.

Petit, H. V. 2002. Digestion, milk production, milk composition et blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. *J. Dairy Sci.* 85 : 1482-1490.

Petit, H. V. 2003. Digestion, milk production, milk composition et blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. *J. Dairy Sci.* 86 : 2637-2646.

Petit, H. V., R. J. Dewhurst, N. D. Scollan, J. G. Proulx, M. Khalid, W. Haresign, H. Twagiramungu et G. E. Mann. 2002. Milk production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. *J. Dairy Sci.* 85 : 889-899.

Petit, H. V., C. Germiquet et D. Lebel. 2004. Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 : 3889-3898.

Petit, H. V., R. J. Dewhurst, J. G. Proulx, M. Khalid, W. Haresign et H. Twagiramungu. 2001. Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Can. J. Anim. Sci.* 81 : 263–271.

Piperova, L. S. B. B. Teter, I. Bruckental, J. Sampugna, S. E. Mills, M. P. Yurawecz, J. Fritsche, K. Ku et R. A. Erdman. 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.* 130 : 2568-2574.

Piperova, L. S., J. Sampugna, B. B. Teter, K. F. Kalscheur, M. P. Yurawecz, Y. Ku, K. M. Morehouse et R. A. Erdman. 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acids and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9-containing CLA in lactating dairy Cows. *J. Nutr.* 132 : 1235-1241.

Plourde, M. 2005. Effet des acides alpha-linoléniques conjugués sur l'efficacité alimentaire et la masse grasse. Séminaire III : STA-64273, Département des sciences des aliments et de Nutrition. Univ. LAVAL, Canada.

Polan, C. E., J. J. McNeill et S. P. Tove. 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol.* 88 : 1056-1064.

Precht, D. et J. Molkentin. 1996. Rapid analysis of the isomers of trans-octadecenoic acid in milk fat. *Int. Dairy J.* 6 : 791-809.

Precht, D. et J. Molkentin. 1999. C18:1, C18:2 and C18:3 trans and cis fatty acid isomers including conjugated cis Δ 9, trans Δ 11 linoleic acid (CLA) as well as total fat composition of German human milk lipids. *Nahrung.* 43 : 233-244.

Proell, J. M., E. E. Mosley, G. L. Powell et T. C. Jenkins. 2002. Isomerization of stable isotopically labeled elaidic acid to cis and trans monoenes by ruminal microbes. *J. Lipid Res.* 43 : 2072 - 2076.

Reddy, P. V., J. L. Morrill et T. G. Nagaraja. 1994. Release of free fatty acids from raw or processed soybeans and subsequent effects on fibers digestibilities. *J. Dairy Sci.* 77 : 3410-3416.

Rueggsegger, G. J. et L. H. Schultz. 1985. Response of high producing dairy cows in early lactation to the feeding of heat-treated whole soybeans. *J. Dairy Sci.* 68 : 3272-3279.

Schingoethe, D. J. et D. P. Casper. 1991. Total lactational response to added fat during early lactation. *J. Dairy Sci.* 74 : 2617-2622.

Scollan, N. D., M. S. Dhanoa, N. J. Choi, W. J. Maeng et M. Enser. 2001. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different sources of lipid. *J. Agri. Sci. Camb.* 136 : 345-355.

Scott, T. A., R. D. Shaver, L. Zebeda, B. Yandell et T. R. Smith. 1995. Effects of rumen-inert fat on lactation, reproduction and health of high producing Holstein herds. *J. Dairy Sci.* 78 : 2435-2451.

Semma, M. 2002. Trans fatty acids : properties, benefits and risks. *J. Health Sci.*, 48 : 7-13.

Shabi, Z. I. Bruckental, S. Zamwell, H. Tagari et A. Arieli. 1999. Effects of extrusion of grain and feeding frequency on rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 1252-1260.

Simopoulos, A. P. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 56: 365-379.

Sinclair, L. A., S. L. Cooper, J. A. Huntington, R. G. Wilkinson, K. G. Hallett, M. Esner et J. D. Wood. 2005. In vitro biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids protected against ruminal microbial metabolism. *Anim. Feed Sci. Technol.* In press.

Singh, R.B., G. Dubnov, M.A. Niaz, S. Ghosh, R. Singh, S.S. Rastogi, O. Manor, D. Pella et E. M. L Berry. 2002. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised singleblind trial. *Lancet.* 360 : 1455-1461.

Skaar, T. C., R. R. Grummer., M. R. Dentine et R. H. Stauffacher. 1989. Seasonal effects of prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactation performance and lipid metabolism. *J. Dairy Sci.* 72 : 2028-2038.

Sklan, D., M. Kaim, V. Moallem et Y. Folman. 1994. Effects of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows. *J. Dairy Sci.* 77 : 1652-1660.

Skoch, E. R., K. C. Behnke, C. W. Deyoe et S. F. Binder. 1981. The effect of steam-conditioning rate on the pelleting process. *Anim. Feed Sci. Technol.* 6 : 83-90.

Soita, H.W., J.A. Meier, M. Fehr, P. Yu, D. A. Christensen, J. J. McKinnon et A. F. Mustafa. 2003. Effects of flaxseed supplementation on milk production, milk fatty acid composition and nutrient utilization by lactating dairy cows. *Arch. Anim. Nutr.* 57 : 107-116.

Staples, C. R., J. M. Burke et W. W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissue and performance of lactating cows. Symposium : Optimizing energy nutrition for reproducing dairy cattle. *J. Dairy. Sci.* 81 : 856-871.

Suresh, Y. et U. N. Das. 2003. Long-chain polyunsaturated fatty acids and chemically induced diabetes mellitus: effect of ω -3 fatty acids. *Nutrition.* 19 : 213-228.

Suzuki R, R. Noguchi, T. Ota, M. Abe, K. Miyashita et T. Kawada. 2001. Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells. *Lipids* 36 : 477-482.

Tagari, H, F. Pena et L. D. Satter. 1986. Protein degradation by rumen microbes of heat-treated whole cottonseed. *J. Anim Sci.* 62 : 1732-1736.

Thompson, G. E. et W. W. Christie. 1991. Extraction of plasma triacylglycerols by the mammary gland of the lactating cow. *J. Dairy Res.* 58 : 251-255.

Toullec, R. et J. -P. Lallès. 1995. Digestion dans la caillette et l'intestin grêle. EN : Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion. Ed. : R. Jarrige, Y. Ruckebusch, M.-H. Farce et M. Journet, INRA., Paris, France, P : 527-581.

Troegeler-Meynadier, A., M. C. Nicot, C. Bayourthe, R. Moncoulon et F. Enjalbert. 2003. Effects of pH and concentrations of linoleic and linolenic acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation in vitro. *J. Dairy Sci.* 86 : 4054-4063.

Ueda, K., A. Ferlay, J. Chabrot, J. J. Looor, Y. Chilliard et M. Doreau. 2003. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. *J. Dairy Sci.* 86:3999-4007.

Van de Vossenberg, J. L. C. M. et K. N. Joblin. 2003. Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Letters. Appl. Microb.* 37 : 424-428.

Van Nevel, C. J. et D. I. Demeyer. 1996. Influence of pH on lipolysis and biohydrogenation of soybean oil by rumen contents in vitro. *Reprod. Nut. Dev.* 36 : 53-63.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson et B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.

Vandewalle, P., B. Giboulot, A. Sire, P. Papineau, D. Guibert, F. de Mondredon et J. P. Melcion. 1997. Conditionneur de vapeur : analyse du fonctionnement. 6^{ème} congrès français de génie des procédés, 24-26 sept. Paris, France.

Wachira, A. M., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, K. Hallett, M. Enser et J. D. Wood. 2000. Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 135 : 419-428.

Wang, J. H., M. K. Song, Y. S. Son et M. B. Chang. 2002. Effect of concentrate level on formation of conjugated linolenic acid and Trans-octadecenoic acid by ruminal bacteria incubated with oilseeds in vitro. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 15 : 687-694.

Ward, P. F. V., T. W. Scott et R. M. C. Dawson. 1964. The hydrogenation of unsaturated fatty acid in the ovine digestive tract. *Biochem. J.*, 92 : 60-68.

Weill, P., B. Schmitt, G. Chesneau, N. Daniel, F. Safraou et P. Legrand. 2002. Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. *Annals Nutr. Metab.* 46 : 182-191.

Weinberg, Z.G., R.E. Muck et P.J. Weimer. 2003. The survival of silage inoculant lactic acid bacteria in rumen fluid. *J. Appl. Microbiol.* 94 : 1066-1071.

West, J. W. 1999. Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *J. Dairy Sci.* 82 (Suppl. 2) : 21-35.

White, B. G., J. R. Ingalls, H. R. Sharma et J. A. McKirdy. 1987. The effect of whole sunflower seeds on the flow of fat and fatty acids through the gastro-intestinal tract of cannulated Holstein steers. *Can. J. Anim. Sci.* 67 : 447.

Wilkinson R.G., V. E. Fry et L. A. Sinclair. 2000. Effect of untreated and formaldehyde treated whole linseed on the performance and fatty acid composition of milk produced by Friesland ewes. *Proc. British Soc. Anim. Sci.* 152A.

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

Williams, C. M., Francis-Knapper, J. A., Webb, D., Brookes, C.A., Zampelas, A., Tredger, J.A., Wright, J., Calder, P.C., Yaqoob, P., Roche, H. et Jibney, M.J. 1999. Cholesterol reduction using manufactured foods high in monounsaturated fatty acids, a randomized cross over study. *Brit. J. Nutr.* 81 : 439-446.

Wolff, R. L., D. Precht et J. Molquentin. 1998. Occurrence and distribution profiles of trans-18:1 acids in edible fats of natural origin. In : *Trans fatty acids in human nutrition*, Ed. : J. L. Sébédio and W. W. Christie, The oily press, Dundee, Scotland, U.K., P: 1-33.

Wu, Z. et D. L. Palmquist. 1991. Synthesis and biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 47 : 3035-86.

Wu, Z. et J. T. Huber. 1994. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows : a review. *Livestock Prod. Sci.* 39 : 141-155.

Wu, Z., O. A. Ohajuruka et D. L. Palmquist. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74 : 3025-3034.

Youdim, K. A., A. Martin et J. A. Joseph. 2000. Essential fatty acids and the brain : possible health implications. *Int. J. Devl. Neurosciences* 18 : 383-399.

Yurawecz, M. P., J. K. Hood, J. A. G. Roach, M. M. Mossoba, D. H. Daniels, Y. Ku, M. W. Pariza et S. F. Chin. 1994. Conversion of allylic hydroxy oleate to conjugated linoleic acid and methoxy oleate by acid-catalyzed methylation procedures. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71 : 1149-1155.

Zinn, R. A., S. K. Gulati, A. Plascencia et J. Salinas. 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 78 : 1738-1746.

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

Etudes bibliographiques

Figure 1 : Désaturation et élongation de C18:2 et C18:3 dans le foie des mamelles. 14

Figure 2 : Biohydrogénation de C18:3 par les bactéries du rumen. 22

MATERIELS ET METHODES GENERAUX

Figure 3 : Exemple de chromatogramme des acides gras C18. 52

Figure 4 : Exemple de chromatogramme des isomères *trans*-C18:1 séparés sur plaques par CCM-Ag. 53

PARTIE I. EFFETS DU CONDITIONNEMENT ET DE

L'EXTRUSION DE GRAINES DE LIN SUR LA

BIOHYDROGENATION DES AGPI *IN VITRO*

Figure 5 : Evolution du pH en fonction de la durée d'incubation *in vitro* de graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE). 59

Figure 6 : Pourcentage de C18:2 (% des AG C18 totaux) avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in vitro*. 61

Figure 7 : Pourcentage de C18:3 (% des AG totaux) avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in vitro*. 61

Figure 8 : Evolution de la proportion de *trans*-C18:1 totaux (% des AG C18) au cours de l'incubation *in vitro* de graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE). 64

PARTIE II. EFFET DU CONDITIONNEMENT ET DE

L'EXTRUSION DES GRAINES DE LIN SUR LA

BIOHYDROGENATION *IN SITU ET IN VIVO*

Figure 9 : Pourcentage de C18:2 (% des AG C18 totaux) dans les sachets avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in situ*. 79

Figure 10 : Pourcentage de C18:3 (% des AG totaux) dans les sachets avec les graines de lin crues (LC), conditionnées (LM) ou extrudées (LE), en fonction de la durée d'incubation *in situ*. 79

Figure 11 : Proportions de *trans*-C18:1 totaux dans les phases solide et liquide du contenu ruminal et dans le contenu duodénal des vaches fistulées recevant une ration

contenant des graines de lin crues (LC), des graines de lin conditionnées (LM), ou des graines de lin extrudées (LE). 86

LISTE DES TABLEAUX

Etudes bibliographiques

Tableau 1 : Effet d'un apport de lin (huile ou graines) sur la biohydrogénation ruminale des AGPI. 25

Tableau 2 : Effet d'un apport de lin (huile ou graines) sur la fermentation et la digestion ruminale. 27

Tableau 3 : Comparaison des proportions de C18:2 et C18:3 (en % des AG totaux) dans le plasma et le lait de vaches ayant reçu des graines de lin ou des graines de soja dans la ration. 52

Tableau 4 : Effet d'un apport de lin (huile ou graines) sur la production et la composition du lait. 53

PARTIE I. EFFETS DU CONDITIONNEMENT ET DE L'EXTRUSION DE GRAINES DE LIN SUR LA BIOHYDROGENATION DES AGPI *IN VITRO*

Tableau 5 : Composition chimique des graines de lin. 57

Tableau 6 : Effet des traitements du lin sur le temps de latence et la vitesse de la biohydrogénation des AGPI incubés in vitro. 60

Tableau 7 : Effet des traitements du lin sur les proportions des AG et des intermédiaires de biohydrogénation incubés in vitro (en % C18). 73

PARTIE II. EFFET DU CONDITIONNEMENT ET DE L'EXTRUSION DES GRAINES DE LIN SUR LA BIOHYDROGENATION *IN SITU ET IN VIVO*

Tableau 8 : Ingrédients et composition chimique des régimes. 70

Tableau 9 : Evolution du pH dans le rumen après le repas. 72

Tableau 10 : Evolution de la concentration totale en AGV dans le rumen après le repas. 73

Tableau 11 : Evolution des proportions des acides gras volatils dans le rumen après le repas. 74

Tableau 12 : Evolution des proportions des acides gras volatils ramifiés (iso-butyrique +

iso-valérique) dans le rumen après le repas.	76
Tableau 13 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal dans le contenu ruminal après le repas.	76
Tableau 14 : Effet des traitements du lin sur le temps de latence et la vitesse de biohydrogénation des AGPI incubés in situ.	78
Tableau 15 : Effet des traitements du lin sur les proportions des AG et les intermédiaires de biohydrogénation (% C18) in situ.	81
Tableau 16 : Proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3, et pourcentages de biohydrogénation de cis-9C18:1, C18:2 et C18:3 dans les phases solide et liquide du contenu ruminal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.	82
Tableau 17 : Proportions des intermédiaires de la biohydrogénation dans les phases solide et liquide du contenu ruminal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.	84
Tableau 18 : Proportions de C18:0, cis-9C18:1, C18:2 et C18:3, et pourcentages de biohydrogénation de cis-9C18:1, C18:2 et C18:3 mesurés dans le contenu duodéal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.	85
Tableau 19 : Proportions des intermédiaires de biohydrogénation dans le contenu duodéal des vaches fistulées recevant des graines de lin crues ou traitées.	87
Tableau 20 : Effet de la méthode d'investigation et des traitements du lin sur la biohydrogénation des AGI et les proportions de leurs intermédiaires.	92
PARTIE III. EFFETS D'UN REGIME ALIMENTAIRE	
SUPPLEMENTE AVEC DE GRAINES DE LIN CRUES OU	
EXTRUDEES SUR LE PROFIL DES ACIDES GRAS DU PLASMA,	
LA PRODUCTION ET LA COMPOSITION DU LAIT.	
Tableau 21 : Ingrédients et composition chimique des rations.	97
Tableau 22 : Effet d'un supplément de graines de lin sur la production et la composition du lait des vaches laitières.	98
Tableau 23 : Profil des AG (autres que des trans-C18:1) dans le plasma des vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.	99
Tableau 24 : Profil des acides trans-C18:1 du plasma de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.	100
Tableau 25 : Profil des AG du lait (autres que des trans-C18:1) de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.	102

Tableau 26 : Profil des acides *trans*-C18:1 du lait de vaches consommant une ration contenant ou non des graines de lin crues ou extrudées.

LISTE DES ABBREVIATIONS

AA	Acide gras arachidonique
ADF	Acid detergent fiber
AG	Acide gras
AGI	Acides gras insaturés
AGS	Acides gras saturés
AGMI	Acides gras monoinsaturés
AGPI	Acides gras polyinsaturés
AGV	Acides gras volatiles
BF4	Trifluorure de bore
<i>cis</i>-9C18 :1	Acide oléique
C18:2	Acide linoléique
C18:3	Acide α -linoléique
C2	Acide acétique
C3	Acide propionique
CLA	Acides linoléiques conjugués
CLN	Acides α -linoléiques conjugués
CCM-Ag	Chromatographie sur couche mince imprégné de nitrate d'argent
CPG	Chromatographie de phase gazeuse
DHA	Acide docosahexaénoïque
DMOX	2-alkenyl-4,4-diméthylloxazoline
EPA	Acide eicosapentaénoïque
HDL	Lipoprotéines de haute densité
IDL	Lipoprotéines de densité intermédiaire
LDL	Lipoprotéines de faible densité
LC	Mélange de 70% graines de lin + 30% son de blé, cru
LE	Mélange de 70% graines de lin + 30% son de blé, extrudé
LM	Mélange de 70% graines de lin + 30% son de blé, (maturé) conditionné.

MG	Matière grasse
MS	Matière sèche
NDF	Neutral detergent fiber
N-NH3	Azote ammoniacal
Oméga-3	Acides gras de la famille oméga-3
Oméga-6	Acides gras de la famille oméga-6
TB	Taux butyreux
TP	Taux protéique
<i>trans</i>-C18:1	Acides gras <i>trans</i> -octadécénoïque
VLDL	Lipoprotéines de très basse densité