

Les oxystérols dans l'alimentation

Oxysterols in diet

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 4, 375-9, Juillet - Août 2000, Fondamental

Auteur(s) : André GRANDGIRARD

Résumé : Les stérols alimentaires comme le cholestérol ou les phytostérols peuvent être oxydés au cours des traitements technologiques en dérivés hydroxy-, céto-, époxy-, hydroperoxy-. Ces composés peuvent être absorbés en petite quantité (de l'ordre de quelques mg/j) et vont interférer avec les oxystérols formés *in vivo*. On pense que ces oxystérols ont des effets biologiques importants; on les soupçonne en particulier d'avoir un rôle dans l'athérosclérose. Mais, actuellement, on ne peut dire avec certitude si ce sont les oxystérols alimentaires ou les oxystérols formés *in vivo* qui pourraient être responsables de cette pathologie. Dans l'attente de résultats significatifs dans ce domaine, il est prudent d'utiliser des procédés technologiques permettant de restreindre la formation de ces composés.

Mots-clés : oxystérols, oxycholestérols, oxyphytostérols, procédés technologiques, aliments.

Summary: During technological treatments, cholesterol or phytosterols may be oxidized and form hydroxy-, keto-, epoxy-, hydroperoxy-sterols. Little quantities of these oxysterols can be absorbed (about some mg/d). These food oxysterols could interfere with oxysterols formed *in vivo*. Important biological effects have been described for these compounds: they are suspected to have an effect in atherosclerosis. However, it is actually impossible to say if the food oxysterols or the *in vivo* formed oxysterols are responsible of this pathology. During waiting for more results in this field, the prudent way involve the use of technological treatments allowing a decrease in the formation of these oxysterols in food.

Keywords: oxysterols, oxysterols, oxycholesterols, oxyphytosterols, technological treatments, food.

ARTICLE

Introduction

Depuis quelques années, on observe un intérêt grandissant pour les dérivés oxydés des stérols ou oxystérols, du fait de l'étendue de leurs effets biologiques [1]. Ces composés sont en effet très impliqués dans les transformations métaboliques du cholestérol en acides biliaires et en hormones stéroïdes et ils pourraient également avoir un rôle dans la régulation de l'homéostasie du cholestérol. Cependant, ces oxystérols sont également soupçonnés d'avoir divers effets cytotoxiques ou mutagènes. On pense en particulier qu'ils pourraient avoir un rôle dans le développement de l'athérome [2]. Mais, il est actuellement très difficile de savoir si les oxystérols formés au cours des traitements technologiques des aliments peuvent avoir un rôle dans ces processus pathogènes, car ces composés se surajoutent à ceux qui sont formés directement *in vivo* [3]. Dans certaines études effectuées chez le lapin et le pigeon, il semble cependant établi que des doses élevées d'oxystérols

dans l'alimentation pourraient contribuer à l'apparition de phénomènes athéromateux [2]. Par ailleurs, une étude épidémiologique effectuée à Londres sur des immigrants indiens a montré que ces derniers présentaient un taux élevé d'athérosclérose et cela avait été mis en relation avec la présence dans leur régime alimentaire de « *ghee* », aliment traditionnel caractérisé en particulier par le fait que 12 % des stérols y sont présents sous forme oxydée [4]. Même si les apports d'oxystérols par une alimentation équilibrée sont très faibles, les effets décrits précédemment justifient que l'on se préoccupe des conditions de formation de ces oxystérols dans les aliments. La majeure partie de cet article sera consacrée aux dérivés oxydés du cholestérol, stérol majeur de l'homme et des animaux. Dans une seconde partie, le point sera fait sur l'état de nos connaissances sur les dérivés oxydés des stérols végétaux ou phytostérols. De nombreuses revues ont déjà été consacrées à l'oxydation du cholestérol [5] et à la présence d'oxystérols dans les aliments [6]. L'objectif du présent travail n'est pas de refaire une étude exhaustive sur ce sujet, mais de tenter de dégager quelques pistes pouvant présenter un intérêt pratique, dans un avenir proche.

Oxydation du cholestérol dans les aliments

Dans les aliments, ces oxycholestérols sont formés par autoxydation. Les mécanismes d'oxydation impliquent une action de l'oxygène moléculaire ou de divers radicaux libres. Les principaux oxystérols (*figure 1*) sont issus :

- d'une oxydation en position 7 du stérol (7 α -hydroxycholestérol ; 7 β -hydroxycholestérol ; 7-cétocholestérol) ;
- d'une oxydation de la double liaison (cholestérol-5 α , 6 α -époxyde ; cholestérol-5 β , 6 β -époxyde ; cholestanetriol) ;
- d'une oxydation sur la chaîne latérale (25-hydroxycholestérol). Ce type de composé n'est formé qu'en très petite proportion dans les aliments.

Tous les aliments contenant du cholestérol et exposés à des pro-oxydants peuvent être une source d'oxycholestérols. On en trouve en particulier dans les poudres d'œufs, dans certains produits laitiers, dans des charcuteries, des saindoux chauffés, des aliments irradiés, des plats préparés, etc. Cependant les quantités trouvées dans les aliments sont très variables suivant les auteurs. Quelques exemples de ces différences sont notés dans le *tableau 1*. On constate par exemple des valeurs qui varient de 1 à 30 pour la poudre d'œuf, de 1 à 40 pour les biscuits et de 1 à 200 pour les laits infantiles ! Ces variations peuvent s'expliquer de différentes manières : d'abord, les échantillons sont différents et n'ont pas forcément subi les mêmes traitements technologiques ; ensuite, la durée de stockage peut influencer, comme nous le verrons ci-après ; enfin, il est probable que les différentes méthodes d'analyse utilisées ont pu fournir des résultats différents. L'analyse de ces composés est, en effet, assez difficile, pour plusieurs raisons. D'abord, ils ne sont présents qu'en très faibles quantités (quelques ppm) ; ensuite, ils sont fragiles et peuvent se transformer au cours des processus analytiques ; par ailleurs, des oxystérols peuvent se former de manière artefactuelle dans les échantillons, si l'on ne les protège pas suffisamment de l'oxydation pendant l'analyse ; enfin, ils sont souvent difficiles à identifier avec certitude, si l'on ne dispose pas de spectrométrie de masse. De ce point de vue, il est intéressant de constater que l'on obtient des quantités beaucoup plus faibles d'oxystérols lorsque l'on utilise des méthodes où le niveau de formation d'artefacts a pu être mesuré

par ajout, en début d'analyse, de cholestérol deutéré ou tritié [15].

Les facteurs principaux qui vont influencer sur la teneur en oxycholestérols d'un aliment sont le type de traitement technologique et le stockage. Une illustration du poids de ces facteurs est donnée par l'étude de Zunin *et al.* [16], qui est résumée dans la *figure 2*. Dans cette étude, la teneur en 7-cétocholestérol (considéré comme représentatif des oxycholestérols totaux) a été mesurée dans des biscuits fabriqués avec des œufs frais ou de la poudre d'œufs, juste après la fabrication ou après un stockage modéré. Les œufs frais ne contiennent que 0,5 ppm de 7-cétocholestérol (par rapport aux lipides de l'aliment), alors que la poudre d'œuf en contient 4,7. Après cuisson, la différence augmente entre les biscuits préparés avec des œufs frais et ceux qui l'ont été avec de la poudre d'œuf. Après 35 jours de stockage, la différence est considérable entre les deux types de biscuits : 9,3 vs 57,0).

La poudre d'œuf est d'ailleurs un des aliments les plus riches en oxycholestérols (*tableau 1*). Cependant, sa teneur peut différer beaucoup en fonction de la manière dont elle a été obtenue. Missler *et al.* [17] ont, par exemple, montré que la préparation de poudre d'œufs par chauffage direct provoquait une formation d'oxycholestérols bien plus importante qu'un chauffage indirect (*tableau 2*). Morgan et Armstrong [18] ont par la suite mis en évidence que ce sont les oxydes d'azote (oxyde nitrique et oxyde nitreux), présents dans la flamme, qui agissaient comme initiateurs de radicaux libres.

La température de chauffage va également beaucoup influencer sur la formation d'oxycholestérols. Cependant, il semble qu'une température très élevée ne soit pas toujours celle qui va conduire à la formation du maximum d'oxycholestérols : par exemple, Park et Addis [19] ont montré qu'il se formait plus de 7-cétocholestérol et d'époxycholestérols dans du saindoux si celui-ci était chauffé à 135 ou 150 °C qu'à 165 °C. Il est probable que l'élévation de température va entraîner progressivement la décomposition des oxystérols les plus fragiles, tels que les hydroperoxydes ; ces réarrangements entre oxycholestérols vont conduire à une augmentation relative des composés les plus thermostables, comme le 7-cétocholestérol [20].

Même des traitements technologiques considérés comme anodins peuvent parfois avoir un effet important sur la teneur en oxycholestérols. Nielsen *et al.* [21] se sont par exemple intéressés au fromage « feta » : habituellement, ce fromage est fabriqué à partir de lait de chèvre et de brebis ; mais on en trouve actuellement, au Danemark, qui sont fabriqués à partir de lait de vache. Pour masquer le changement de lait, un blanchiment est opéré afin de détruire le beta-carotène relativement abondant dans le lait de vache et qui colore le fromage en jaune. Ce traitement est effectué à très haute température (265 ou 280 °C) pendant 2 à 4 minutes. La *figure 3* nous indique que de tels fromages blanchis contiennent beaucoup plus d'oxycholestérols que les fromages non blanchis et que cette différence s'amplifie encore au cours du stockage. Ce type de traitement technologique se révèle ainsi particulièrement superflu, car non seulement il diminue la quantité de caroténoïdes, qui sont des nutriments utiles, mais aussi il provoque la formation de composés indésirables tels que les oxycholestérols !

Les radiations ionisantes, parfois utilisées pour débarrasser les aliments des salmonelles ou autres micro-organismes indésirables, sont également susceptibles de provoquer l'oxydation des stérols. Hwang et Maerker [13] ont, par exemple, montré que les oxycholestérols de la viande de bœuf et de veau doubleraient au cours d'une irradiation à 10 kGy (*tableau 3*), alors que la viande de porc résistait mieux au traitement. Dans ces conditions, c'est le 7-cétocholestérol qui est principalement formé.

Ces auteurs ont d'ailleurs proposé d'utiliser le rapport 7-cétocholestérol/alpha et beta-époxydes pour distinguer les viandes irradiées de celles qui avaient simplement subi une autoxydation. On peut également remarquer dans le *tableau 3* qu'un stockage réfrigéré de 2 semaines suffit pour augmenter considérablement les teneurs en oxystérols, en particulier dans les viandes irradiées. Une autre expérience, effectuée par Lebovics *et al.* sur de la poudre d'œuf irradiée [22], nous apporte des éléments très importants dans ce domaine (*tableau 4*). Ces auteurs utilisent la teneur en hydroxycholestérols comme marqueurs des oxystérols. Lorsque l'irradiation est effectuée en utilisant un emballage en polyéthylène perméable à l'air, on observe une oxydation bien plus importante à la dose de 4 kGy qu'à celle de 2 kGy. Avec un emballage beaucoup moins perméable à l'air (feuille d'aluminium recouverte de polyéthylène à l'extérieur et de polyester à l'intérieur), mais sans éliminer l'air de l'emballage, il y a une diminution considérable à 4 kGy, mais pas de modification à 2 kGy. En utilisant le même emballage, sous vide, on obtient des teneurs en oxystérols très faibles pour les deux doses d'irradiation. Cette expérience montre que, même pour la poudre d'œuf, qui a une grande surface spécifique et est donc facilement oxydable, on peut beaucoup améliorer la situation en utilisant des procédés technologiques simples.

Dans un système aussi multifactoriel qu'un aliment, il est difficile de modéliser et de reproduire exactement tous les processus conduisant à l'oxydation. Cependant, certaines études ont mis en évidence l'importance de l'environnement du cholestérol dans l'aliment sur sa susceptibilité à l'oxydation. Par exemple, Kim et Nawar ont montré que, dans la membrane du globule gras du lait, la fraction non lipidique protégeait le cholestérol de l'oxydation, tandis que la fraction lipidique la favorisait et que l'eau avait un rôle bénéfique [23]. Par ailleurs, de nombreuses études ont montré l'intérêt des antioxydants dans ce domaine.

Dans plusieurs études relatées précédemment, on a pu noter que le stockage provoquait une augmentation des teneurs en oxystérols [13, 16, 21]. Ce phénomène a été décrit dans de nombreux autres travaux et on l'observe même si le stockage est effectué à - 20 °C [11]. Un enrichissement des aliments en vitamine E ainsi qu'un stockage sous azote [24] peuvent restreindre la formation d'oxystérols. Cependant, le phénomène qui pose le plus question est le fait que les aliments qui ont subi certains types de traitements technologiques vont voir leurs stérols s'oxyder beaucoup plus au cours du stockage (*figures 2 et 3, tableau 3*). Pour expliquer cela, on peut émettre plusieurs hypothèses. La première consiste à estimer que les traitements technologiques ont suffisamment modifié la structure des aliments pour que l'oxygène puisse agir plus aisément : ceci pourrait être vrai dans certains cas, mais il est difficile de penser que cela puisse s'appliquer dans toutes les situations. Ce qui nous conduit à émettre une autre hypothèse : les traitements technologiques auraient provoqué non seulement la formation des oxystérols analysés, mais aussi celle d'hydroperoxydes de cholestérol. Ces derniers composés ne sont pas quantifiés en utilisant les méthodes classiques d'analyse des oxystérols. Lors du stockage, ces composés évolueraient vers des formes plus stables d'oxystérols tels que les hydroxycholestérols ou le 7-cétocholestérol, qui eux peuvent être quantifiés facilement. Le fait qu'il soit à présent possible d'analyser les hydroperoxycholestérols, en même temps que les autres oxystérols, par HPLC avec un détecteur évaporatif à diffusion de la lumière [25] ou par HPLC-MS [26] devrait permettre d'évaluer la validité de cette hypothèse.

Oxydation des phytostérols dans les aliments

Il existe bien d'autres stérols que le cholestérol. En particulier, on trouve dans les aliments des

teneurs notables en certains stérols végétaux ou « phytostérols ». Ces stérols ont une structure chimique très proche de celle du cholestérol : le campestérol ne diffère du cholestérol que par la présence d'un groupe méthyle en position 24 ; le sitostérol a un groupe éthyle en 24 ; le stigmastérol a en plus une liaison éthylénique en 22-23, le brassicastérol est homologue du stigmastérol avec un groupe méthyle en 24, etc. (*figure 4*). Ces phytostérols sont peu absorbés au niveau intestinal (5 % pour le sitostérol, 15 % pour le campestérol). Ces composés intéressent de plus en plus les nutritionnistes, car ils présentent divers effets bénéfiques : en particulier ils permettent de diminuer l'absorption intestinale du cholestérol. Ces propriétés ont permis l'apparition sur le marché de margarines enrichies en divers types de phytostérols. Cependant, ces phytostérols peuvent subir des oxydations et donner des composés tout à fait analogues aux oxycholestérols [6]. Très peu d'études ont été consacrées à ces oxyphytostérols. Des quantités très faibles de ces composés ont été trouvées dans de la farine [27], du café [28] et des laits infantiles [29]. Les pommes de terre frites sont le seul aliment où des quantités notables d'oxyphytostérols ont été décelées [30]. Le *tableau 5*, extrait de ce travail, montre, par exemple, que c'est le 7-cétositostérol qui est le principal oxyphytostérol présent. En fonction de la nature de l'huile et des conditions de fabrication, ces teneurs peuvent varier. Dutta [30] précise qu'il trouve de 2,4 à 4 ppm d'oxyphytostérols dans les frites. Les quantités de ces composés sont donc assez faibles dans les aliments. Par ailleurs, ils ne passent la barrière intestinale qu'en très petites quantités [31]. Pourtant un travail très récent a permis de déceler des oxysitostérols dans des plasmas humains [Grandgirard *et al.*, résultats non publiés] : ceci incite à se préoccuper du métabolisme *in vivo* de ces derniers composés et de leurs effets physiologiques éventuels.

CONCLUSION

Les oxystérols sont une famille de composés dont les effets *in vivo* sont encore mal connus, mais dont l'importance pourrait être considérable. Ces composés ne sont présents qu'en petite quantité dans les aliments et les quantités ingérées par l'homme sont faibles : van de Bovenkamp *et al.* estiment à quelques milligrammes les quantités ingérées par jour [7]. Lake et Scholes ont récemment montré qu'un repas de type « *fish and chips* », en Nouvelle-Zélande, apportait 2,5 mg d'oxystérols [32]. Leurs résultats sont donc tout à fait cohérents avec ceux de van de Bovenkamp *et al.* Personne n'est cependant capable de dire avec certitude si des quantités aussi faibles d'oxystérols peuvent avoir ou non des effets indésirables chez l'Homme. Dans l'attente de résultats significatifs dans ce domaine, il est nécessaire d'être prudent et de se préoccuper des conditions qui permettent de restreindre la formation de tels composés. Les teneurs en oxystérols des aliments, et en particulier leurs rapports avec les stérols de départ, sont d'ailleurs un excellent indice de la qualité des procédés technologiques utilisés pour la fabrication d'un aliment. De nombreuses améliorations ont déjà été proposées : rôle des antioxydants, renforcement en vitamine E, rôle de l'emballage et du type d'atmosphère dans l'emballage, etc. Mais il faudra sans doute aller plus loin et éviter par exemple les traitements inutiles tels que le blanchiment, proscrire le chauffage direct lors de la fabrication de poudre de lait et même, pourquoi pas, recommander l'utilisation d'œufs frais, plutôt que de poudre d'œufs ! Ce ne sont là, bien sur, que quelques exemples. Mais ils sont révélateurs des évolutions qui semblent nécessaires.

REFERENCES

1. GUARDIOLA F, CODONY R, ADDIS PB, RAFECAS M, BOATELLA J (1996). Biological effects of oxysterols : current status. *Food Chem Toxicol*, 34 : 193-211.
2. PENG SK, HU B, MORIN RJ (1991). Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J Clin Lab Anal*, 5 : 144-52.
3. CRASTES DE PAULET A, ASTRUC ME, BASCOUL J (1988). Les oxystérols : propriétés biologiques et problèmes nutritionnels. *Biologie des lipides chez l'homme* In : Douste-Blazy L, Mendy F, eds. Éditions Médicales Internationales : 154-74.
4. JACOBSON MS (1987). Cholesterol oxides in Indian ghee : possible cause of unexplained high risk of atherosclerosis in indian immigrant populations. *Lancet*, i : 656-8.
5. ROSE-SALLIN C, SIEBER R, BOSSET JO, TABACCHI R (1996). Mécanismes d'oxydation du cholestérol. *OCL*, 3 : 227-35.
6. BOSINGER S, LUF W, BRANDL E (1993). « Oxysterols » : their occurrence and biological effects. *Int Dairy J*, 3 : 1-33.
7. VAN DE BOVENKAMP P, KOSMEIJER-SCHUIL TG, KATAN MB (1988). Quantification of oxysterols in Dutch foods : egg products and mixed diets. *Lipids*, 23 : 1079-85.
8. CSALLANY AS, KINDOM SE, ADDIS PB, LEE JH (1989). HPLC method for quantitation of cholesterol and four of its major oxidation products in muscle and liver tissues. *Lipids*, 24 : 645-51.
9. SANDER BD, ADDIS PB, PARK SW, SMITH DE (1989). Quantification of cholesterol oxidation products in a variety of foods. *J Food Prot*, 52 : 109-14.
10. PIE JE, SPAHIS K, SEILLAN C (1990). Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients : identification and quantification of cholesterol oxides. *J Agr Food Chem*, 38 : 973-9.
11. PIE JE, SPAHIS K, SEILLAN C (1991). Cholesterol oxidation in meat products during cooking and frozen storage. *J Agr Food Chem*, 39 : 250-4.
12. SARANTINOS J, O'DEA K, SINCLAIR AJ (1993). Cholesterol oxides in Australian foods - identification and quantification. *Food Australia* 45 : 485-90.
13. HWANG KT, MAERKER G (1993). Quantitation of cholesterol oxidation products in unirradiated and irradiated meats. *J Am Oil Chem Soc*, 70 : 371-5.
14. FONTANA A, ANTONIAZZI F, CIAVATTA ML, TRIVELLONE E, CIMINO G (1993). ¹H-NMR study of cholesterol autooxidation in egg powder and cookies exposed to adverse storage. *J Food Sci*, 58 : 1286-90.
15. ROSE-SALLIN C, HUGGETT AC, BOSSET JO, TABACCHI R, FAY LB (1995). Quantification of cholesterol oxidation products in milk powders using [2H(7)]cholesterol to monitor cholesterol autooxidation artifacts. *J Agr Food Chem*, 43 : 935-41.

16. ZUNIN P, EVANGELISTI F, CABONI MF, PENAZZI G, LERCKER G, TISCORNIA E (1995). Cholesterol oxidation in baked foods containing fresh and powdered eggs. *J Food Sci*, 60 : 913-6.
17. MISSLER SR, WASILCHUK BA, MERRITT CJ (1985). Separation and identification of cholesterol oxidation products in dried egg preparations. *J Food Sci*, 50 : 595-8, 646.
18. MORGAN JN, ARMSTRONG DJ (1992). Quantification of cholesterol oxidation products in egg yolk powder spray-dried with direct heating. *J Food Sci*, 57 : 43-5, 107.
19. PARK SW, ADDIS PB (1986). Identification and quantitative estimation of oxidized cholesterol derivatives in heated tallow. *J Agr Food Chem*, 34 : 653-9.
20. SMITH LL (1981). *Cholesterol autooxidation*. New York : Plenum Press.
21. NIELSEN JH, OLSEN CE, LYNDON J, SORENSEN J, SKIBSTED LH (1996). Cholesterol oxidation in feta cheese produced from high-temperature bleached and from non-bleached butteroil from bovine milk. *J Dairy Res*, 63 : 615-21.
22. LEBOVICS VK, GAAL O, FARKAS J, SOMOGYI L (1994). Influence of packaging atmosphere on the formation of cholesterol oxides in gamma-irradiated egg powder. *J Sci Food Agr*, 66 : 71-3.
23. KIM SK, NAWAR WW (1992). Oxidative interactions of cholesterol in the milk fat globule membrane. *Lipids*, 27 : 928-32.
24. ANGULO AJ, ROMERA JM, RAMIREZ M, GIL A (1997). Determination of cholesterol oxides in dairy products effect of storage conditions. *J Agr Food Chem*, 45 : 4318-23.
25. CABONI MF, COSTA A, RODRIGUEZ-ESTRADA MT, LERCKER G (1997). High performance liquid chromatographic separation of cholesterol oxidation products. *Chromatographia*, 46 : 151-5.
26. SEVANI A, SERAGLIA R, TRALDI P, ROSSATO P, URSINI F, HODIS H (1994). Analysis of plasma cholesterol oxidation products using gas and high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Free Rad Biol Med*, 17 : 397-409.
27. NOUROOZ-ZADEH J, APPELQVIST LA (1992). Isolation and quantitative determination of sterol oxides in plant-based foods : soybean oil and wheat flour. *J Am Oil Chem Soc*, 69 : 288-293.
28. TURCHETTO E, LERCKER G, BORTOLOMEAZZI R (1993). Oxisterol determination in selected coffees. *Toxicol Ind Health* 9 : 519-27.
29. ZUNIN P, CALCAGNO C, EVANGELISTI F (1998). Sterol oxidation in infant milk formulas and milk cereals. *J Dairy Res*, 65 : 591-8.
30. DUTTA PC (1997). Studies on phytosterol oxides 2 content in some vegetable oils and in French fries prepared in these oils. *J Am Oil Chem Soc*, 74 : 659-66.
31. GRANDGIRARD A, SERGIEL JP, NOUR M, DEMAISON-MELOCHE J, GINIES C (1999). Lymphatic absorption of phytosterol oxides in rats. *Lipids*, 34 : 563-70.
32. LAKE RJ, SCHOLLES P (1997). Consumption of cholesterol oxides from fast foods fried in beef fat in New Zealand. *J Am Oil Chem Soc*, 74 : 1069-75.