

## **Biodisponibilité de l'acide $\alpha$ -linoléique : intérêt d'une huile combinée**

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 1, 101-4, Janvier - Février 2000, Dossier : actes des Journées Chevreul "Corps gras, nutrition et santé, questions d'actualité" (Bordeaux, Pessac)

**Auteur(s)** : Patricia BOULOS, Nicole COMBE, Lesieur, Service nutrition, 92572 Neuilly-sur-Seine.

**Author(s)** : Patricia BOULOS, Nicole COMBE

**Résumé** : L'objectif de notre étude était de comparer la biodisponibilité de l'acide  $\alpha$ -linoléique selon qu'il est apporté par l'une ou l'autre des quatre huiles suivantes, de teneur en acide  $\alpha$ -linoléique et/ou de structure glycéridique différentes : colza, soja, Isio4 à base de colza (Isio4-colza, le produit actuellement commercialisé) et Isio4 à base de soja (Isio4-soja). Pour cela, le taux d'absorption intestinale de l'acide  $\alpha$ -linoléique et sa répartition dans les TG et dans la phosphatidylcholine (PC) de la lymphe ont été étudiés chez le rat, pris comme modèle animal.

**Summary** : The aim of this study was to compare the bioavailability of alpha-linolenic acid contained in four edible oils : soybean oil, rapeseed oil (a.k.a. canola), a blend containing soybean oil (Isio4-soybean), and a blend containing rapeseed oil (Isio4-rapeseed). Bioavailability was measured as the intestinal absorption rate of alpha-linolenic acid and its structural positioning on lymph triglycerides and phosphatidylcholine, in rats. This study mainly shows a better bioavailability of alpha-linolenic acid present in rapeseed oil compared with soybean oil. Moreover, bioavailability is further improved when alpha-linolenic acid is provided in a blended oil, namely Isio 4-rapeseed.

**Keywords** : bioavailability, alpha-linolenic acid.

ARTICLE

### **Matériels et méthodes**

#### *Huiles testées*

Les huiles (colza, soja, Isio 4-colza et Isio 4-soja) ont été préalablement préparées en les associant à une quantité connue soit de trioléine (marquée au carbone 14), soit de tri-isopalmitine (triglycéride homogène, portant trois molécules d'acide isopalmitique). L'ajout de ces TG était destiné à comparer l'absorption intestinale de l'acide  $\alpha$ -linoléique à celle d'un acide gras mono-insaturé (acide oléique) ou d'un acide gras saturé (acide iso-palmitique) qui soit, comme l'acide  $\alpha$ -linoléique, strictement d'origine alimentaire et non endogène.

#### *Animaux*

Des rats Wistar (une dizaine par essai), pesant 250-300 g, ont subi, à jeun, une dérivation du canal lymphatique thoracique, sous anesthésie générale. À son réveil, chaque animal a reçu, par intubation gastrique, 0,5 g de la préparation d'huiles testées. La lymphe a été recueillie, dans la glace, pendant

les 24 heures qui ont suivi l'intubation, au cours desquelles l'animal a eu libre accès à la boisson et à de la nourriture totalement dépourvue de lipides [8].

#### *Analyse des triglycérides ingérés et des lipides lymphatiques*

Les lipides totaux de la lymphe sont extraits par un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v) selon la méthode de Folch [9].

Le dosage des acides alpha-linolénique et iso-palmitique, dans ces lipides totaux, a été effectué par chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec standard interne, celui de l'acide oléique <sup>14</sup>C par mesure de la radioactivité du carbone 14 [8].

La distribution des acides gras entre les positions interne et externe des TG et de la PC, préalablement isolés par chromatographie sur couche mince, a été établie par méthodes enzymatiques suivies d'une analyse par CPG [10, 11].

#### *Expression des résultats : taux d'absorption relatifs (T<sub>®</sub>) de l'acide alpha-linolénique par rapport à l'acide oléique et à l'acide iso-palmitique*

À partir des teneurs respectives en acides alpha-linolénique et oléique ou alpha-linolénique et iso-palmitique présentes, d'une part, dans le mélange ingéré par l'animal et, d'autre part, dans les lipides de la lymphe recueillie pendant les 24 heures consécutives à cette ingestion, le taux d'absorption de l'acide alpha-linolénique a été rapporté à celui de l'acide oléique et à celui de l'acide iso-palmitique :

$$T_{®} = R_L / R_H$$

$$\text{avec } R_L = \frac{\begin{array}{c} 18:3 \text{ n-3} \\ \text{dans les lipides lymphatiques (mg/g)} \end{array}}{\begin{array}{c} {}^{14}\text{C } 18:1 \text{ ou iso-16:0} \\ \text{dans les lipides lymphatiques} \\ \text{(dpm ou mg/g)} \end{array}}$$

$$\text{avec } R_H = \frac{\begin{array}{c} 18:3 \text{ n-3} \\ \text{dans l'huile ingérée (mg/g)} \end{array}}{\begin{array}{c} {}^{14}\text{C } 18:1 \text{ ou iso-16:0} \\ \text{dans l'huile ingérée (dpm ou mg/g)} \end{array}}$$

## **Résultats et discussion**

### *Absorption lymphatique de l'acide alpha-linolénique en fonction de la nature de l'huile*

#### ***Absorption comparée de l'acide alpha-linolénique et de l'acide oléique***

Le pourcentage d'acide alpha-linolénique et sa répartition interne/ externe dans les TG consommés par les rats sont rassemblés dans le *tableau 1*. Les huiles de colza et de soja diffèrent à la fois par leur teneur en acide alpha-linolénique, respectivement 9,3 et 6,5 %, et leur structure glycéridique. Plus de

la moitié de l'acide alpha-linolénique est en position interne dans les TG de colza, à peine le tiers dans l'huile de soja. Cette différence de structure se retrouve donc entre l'huile Isio4-colza et l'huile Isio4-soja. En revanche, ces deux huiles ont la même teneur en acide alpha-linolénique (environ 1 %).

Le taux d'absorption lymphatique ( $T_{\circ}$ ) de l'acide alpha-linolénique par rapport à celui de l'acide oléique a été déterminé pour chaque rat. La *figure 1* représente les valeurs moyennes de  $T_{\circ}$  établies, pour chaque huile étudiée, à partir des données individuelles de 6 rats (colza), 7 rats (soja), 7 rats (Isio4-colza) et 7 rats (Isio4-soja).

On remarque que  $T_{\circ}$  (18:3 n-3/18:1 n-9) est identique pour les huiles de colza et de soja, respectivement  $1,09 \pm 0,06$  et  $1,08 \pm 0,08$ . Ces valeurs ne sont pas significativement différentes de 1, ce qui signifie que les acides alpha-linolénique et oléique<sup>14</sup>C sont absorbés avec la même efficacité lorsqu'il s'agit des huiles de colza et de soja. En revanche, lorsque les rats reçoivent l'une ou l'autre des deux huiles combinées Isio 4,  $T_{\circ}$  est plus élevé, soit  $1,33 \pm 0,17$  ou  $1,25 \pm 0,15$ , respectivement pour l'huile Isio 4-colza ou l'huile Isio 4-soja. Ces valeurs sont comparables entre elles, mais significativement supérieures ( $p < 0,01$ ) à celles obtenues avec les deux huiles de graine seules (colza ou soja). Il apparaît donc que les huiles Isio4 contribuent à augmenter spécifiquement l'absorption intestinale de l'acide alpha-linolénique par rapport à celle de l'acide oléique. On ne peut attribuer cet effet à la répartition interne/externe de l'acide alpha-linolénique dans les TG des huiles étudiées, puisqu'elle est la même pour un couple d'huiles données : colza et Isio 4-colza ou soja et Isio 4-soja.

### **Absorption comparée de l'acide alpha-linolénique et de l'acide isopalmitique**

Cette étude a porté sur l'huile de colza et l'huile Isio4 correspondante, en associant préalablement l'huile à de la triisopalmitine en proportions convenables (*tableau 2*). La préparation obtenue avec l'huile de colza avait des teneurs voisines en acides iso-16:0 et 18:3 n-3, respectivement 9,2 et 8,3 % par rapport aux acides gras totaux. Deux préparations « Isio4-colza/triisopalmitine » ont été comparées à la préparation « colza/triisopalmitine » pour tenir compte du pourcentage de l'acide 18:3 n-3, d'une part, et de la charge en triisopalmitine, d'autre part. Ainsi, dans l'une des préparations (Isio4-colza 1), les pourcentages en iso-16:0 et 18:3 n-3 étaient comparables (environ 1 %) et, dans l'autre (Isio4-colza 2), le taux d'acide iso-16:0 était similaire (9,5 %) à celui de la préparation « colza/triisopalmitine » (9,2 %).

La *figure 2* représente les valeurs moyennes de  $T_{\circ}$  (18:3 n-3/iso-16:0) obtenues à partir des données individuelles de 9 rats (colza), 5 rats (Isio4-colza 1) et 5 rats (Isio4-colza 2). On remarque que  $T_{\circ}$  n'est pas significativement différent de 1 ( $1,09 \pm 0,06$ ) chez les rats qui ont ingéré l'huile de colza. Cela signifie que les acides alpha-linolénique et isopalmitique sont résorbés vers la lymphe avec la même efficacité. En revanche, lorsque les rats reçoivent l'une ou l'autre des deux préparations Isio4-colza,  $T_{\circ}$  est égal à  $1,31 \pm 0,10$  et  $1,24 \pm 0,06$ , respectivement pour les mélanges 1 et 2, résultats non significativement différents. Le taux d'absorption lymphatique des acides alpha-linolénique et isopalmitique n'est donc pas affecté par leurs proportions respectives (1,0 contre 9,5 %) dans le corps gras ingéré. Toutefois, ces valeurs de  $T_{\circ}$  sont significativement plus élevées ( $p < 0,01$ ) que celles observées avec la préparation colza ( $1,09 \pm 0,06$ ), ce qui suggère que seuls les préparations de type

Isio 4 favorisent l'absorption intestinale de l'acide alpha-linolénique par rapport à celle de l'acide isopalmitique.

L'ensemble de ces résultats montre que l'acide 18:3 n-3 est mieux absorbé (de 15 %) par la muqueuse intestinale que les acides <sup>14</sup>C 18:1 et iso 16:0, dès lors qu'ils sont véhiculés par une huile combinée Isio4 plutôt qu'une huile monograine (colza ou soja). Cet effet n'est pas dû à une différence de structure glycéridique entre ces huiles, puisque la répartition interne/externe de l'acide alpha-linolénique dans les TG de l'huile Isio4 est la même que celle de l'huile monograine correspondante. Nous avons, par ailleurs, recherché si l'huile Isio4-colza pouvait être plus rapidement hydrolysée par la lipase pancréatique que l'huile de colza, avec pour incidence éventuelle des interactions lumineuses, entre les phases huileuse et micellaire, plus favorables à l'absorption de l'acide alpha-linolénique [12]. La mesure *in vitro* de l'activité de la lipase pancréatique vis-à-vis de ces deux huiles a montré qu'il n'en était rien ; le même taux d'hydrolyse a été enregistré au terme de 15, 30 et 60 minutes d'incubation. Autre hypothèse qui pourrait être avancée, celle d'une composition de la phase micellaire plus apte, dans le cas d'Isio 4, à solubiliser l'acide alpha-linolénique que les acides oléique et isopalmitique. On peut s'attendre, en effet, à ce que la digestion des huiles Isio 4 et de colza passe par des phases micellaires très différentes par la nature et les proportions de leurs acides gras et monoglycérides respectifs.

#### *Composition en acide alpha-linolénique des lipides lymphatiques en fonction de la nature de l'huile ingérée*

L'acide alpha-linolénique représente 1 % des acides gras totaux des TG lymphatiques, après ingestion de l'une ou l'autre des huiles Isio 4, 4,4 % avec l'huile de soja et 6,5 % avec l'huile de colza (*tableau 3*). On note que les quantités retrouvées dans la lymphe sont proportionnelles aux quantités ingérées quand on considère les huiles de colza et de soja. En effet, dans l'entérocyte, les TG sont resynthétisés majoritairement à partir des acides gras et des 2-monoglycérides issus de la digestion [13]. Ce fait bien établi a, en outre, pour conséquence directe qu'un acide gras situé en position interne des TG alimentaires conserve cette position dans les TG lymphatiques, comme en témoigne la répartition de l'acide alpha-linolénique sur les positions interne (*sn 2*) et externes (*sn 1+ sn 3*) de ces TG (*tableau 3*). Ainsi, comparativement à l'huile de soja, l'huile de colza privilégie la position interne à l'égard de l'acide alpha-linolénique dans les TG de la lymphe et par voie de conséquence sa biodisponibilité dans l'organisme. L'influence de la structure glycéridique d'un corps gras sur celle des lipides sanguins a, par ailleurs, été évoquée pour rendre compte des biotransformations des acides palmitique [14] et linoléique [15]. Les quantités d'acide alpha-linolénique présentes dans la lymphe après ingestion des huiles Isio4 sont proportionnellement plus élevées qu'après ingestion des huiles de colza et de soja, ce qui reflète la différence observée entre les coefficients d'absorption intestinale. Comme attendu, au niveau de la position de l'acide alpha-linolénique dans les TG de la lymphe, les huiles combinées Isio 4-colza et Isio 4-soja n'ont pas le même effet ; elles se comportent comme les huiles monograines correspondantes, à savoir que Isio 4-colza privilégie la position interne pour l'acide alpha-linolénique.

La teneur en acide alpha-linolénique de la PC lymphatique est, quant à elle, de 6 à 10 fois plus faible que celle des TG correspondants, conséquence du métabolisme de la PC, dans les cellules intestinales. Il est admis que la PC y est synthétisée très majoritairement à partir des acides gras d'origine endogène. Cependant, on constate ici que la distribution de l'acide alpha-linolénique entre

les positions interne (*sn* 2) et externe (*sn* 1) de la PC tend à être influencée par celle des TG ingérés. Avec l'huile de colza, la part d'acide alpha-linolénique située en position interne de la PC est plus élevée qu'avec l'huile de soja (67 contre 57 %). Une fraction de la PC serait donc synthétisée à partir des 2-monoglycérides absorbés, comme cela a été avancé, par ailleurs [16]. Cette hypothèse très rarement émise se trouve, de plus, confirmée par nos résultats sur la composition de la PC lymphatique des rats (*n* = 9) nourris avec la préparation colza/triisopalmitine. Dans ce cas, la PC contient, en moyenne,  $1,88 \pm 0,46$  % d'acide isopalmitique (d'origine strictement exogène) dont 52 % sont en position interne. Cette situation est inattendue par synthèse endogène puisque les transacylases spécifiques de la synthèse des phospholipides privilégient un acide gras insaturé en position interne. Nos résultats étayent la preuve de l'existence, dans l'entérocyte, d'une voie secondaire de synthèse de la PC qui utilise les 2-monoglycérides issus de la digestion des TG.

## CONCLUSION

En conclusion, cette étude a montré que l'huile de colza favorise, par rapport à l'huile de soja, la biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique dans les lipides lymphatiques et que cet effet est, en outre, amélioré avec l'huile combinée Isio 4 correspondante. Enfin, nos résultats confortent l'hypothèse de l'existence d'une voie secondaire de synthèse des phospholipides dans l'entérocyte à partir des 2-monoglycérides issus de la digestion des TG alimentaires.

## Remerciements

Les auteurs remercient le professeur Bernard Entressangles pour son intérêt stimulant pendant la réalisation de l'étude, ainsi que Laurence Fonseca et Pascale Nonatel pour leur participation technique efficace.

## REFERENCES

1. SPECTOR AA (1999). Essentiality of fatty acids. *Lipids*, 34 (Suppl.) : S1-3.
2. BOURRE JM (1996). Développement du cerveau et acides gras polyinsaturés. *OCL*, 3 : 173-8.
3. RENAUD S (1996). Prévention secondaire de l'infarctus par le régime. Rôle de l'acide alpha-linolénique. *OCL*, 3 : 169-72.
4. METAIS P (1982). Métabolisme normal et pathologique des acides gras essentiels. *Cah Nutr Diet*, 17 : 223-34.
5. DUPIN H, ABRAHAM J, GIACHETTI I (1992). *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 2<sup>e</sup> édition. Paris : CNERNA-CNRS et Lavoisier Tec Doc.
6. MATTSON FH, NOLEN GA, WEBB MR (1973). The absorbability of rats of various triglycerides of stearic and oleic acid and effect of dietary calcium and magnesium. *J Nutr*, 109 : 1682-7.
7. BEZARD J, CLOUET P (1997). Biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique. *OCL*, 4 : 191-6.
8. COMBE N, CONSTANTIN MJ, ENTRESSANGLES B (1981). Lymphatic absorption of non volatile oxidation products of heated oils in the Rat. *Lipids*, 16 : 8-14.

9. FOLCH J, LEES M, SLOANE-STANLEY G H (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, 226 : 497-509.

10. RIESTCH J (1982). Étude de la structure glycéridique de la nouvelle huile de colza. *Rev Fse Corps Gras*, 29 : 75-7.

11. WOLFF R, COMBE N (1985). Cardiolipides : purification et hydrolyse enzymatique rapide par la phospholipase A<sub>2</sub>. *Rev Fse Corps Gras*, 32 : 251-5.

12. THOMSON A BR , KEELAN M, GARG ML, CLANDININ MT (1989). Intestinal aspects of lipid absorption : a review. *Can J Physiol Pharmacol*, 67 : 179-91.

13. BORGSTRÖM B (1977). Digestion and absorption of lipids. *Int Rev Physiol*, 12 : 305-23.

14. INNIS SM, DYER R, QUINLAN P, DIERSEN-SCHADE D (1995). Palmitic acid is absorbed as *sn*2 monopalmitin from milk and formula with rearranged triacylglycerols and results in increased plasma triglyceride *sn*2 and cholesteryl ester palmitate in piglets. *J Nutr*, 125 : 73-81.

15. RENAUD SC, RUF JC, PETITHORY D (1995). The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biologic effects in rats. *J Nutr*, 125 : 229-37.

16. LEHNER R, KUKSIS A (1992). Utilization of 2-monoacylglycerols for phosphatidylcholine biosynthesis in the intestine. *Biochim Biophys Acta*, 1125 : 171-9.

#### Illustrations

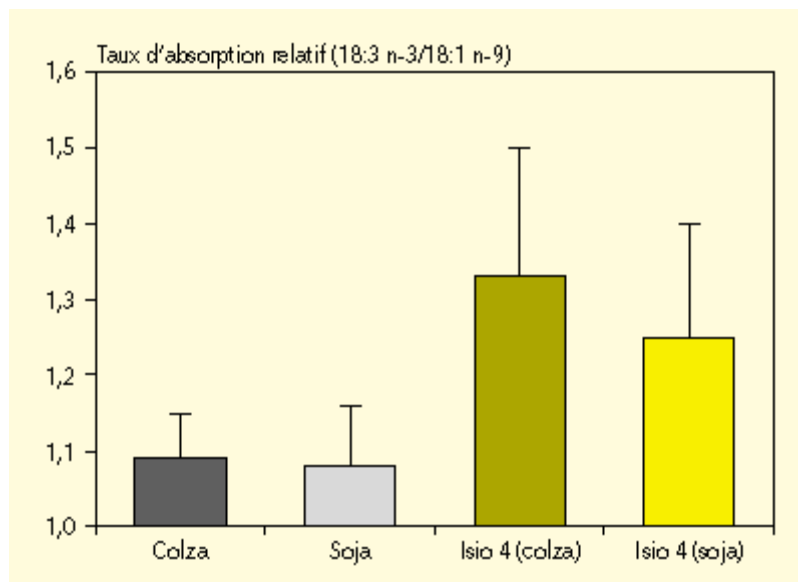


Figure 1. Absorption lymphatique de l'acide alpha linoléique par rapport à celle de l'acide oléique en fonction de l'huile ingérée.

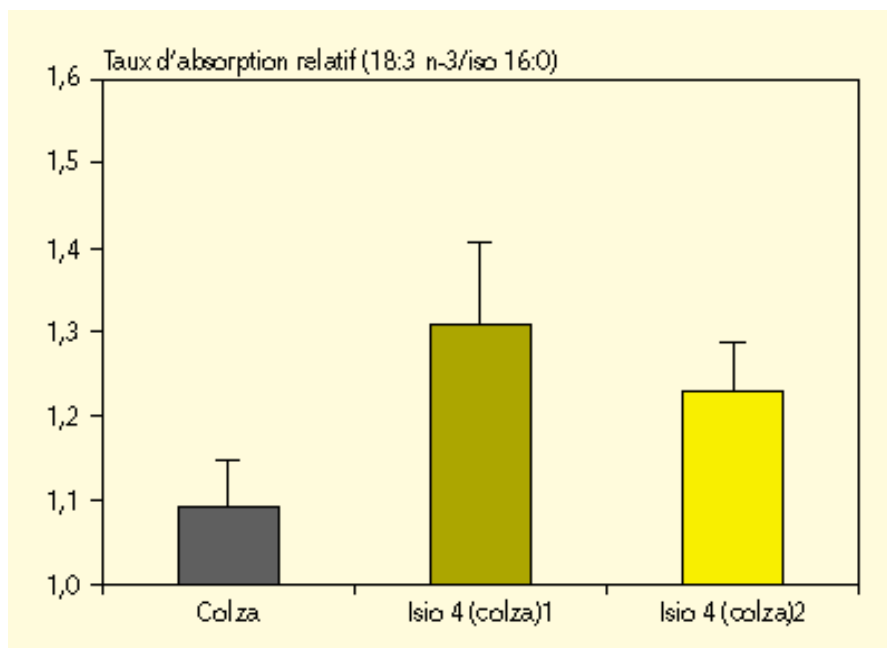


Figure 2. Absorption lymphatique de l'acide alpha-linolénique par rapport à celle de l'acide isopalmitique en fonction de l'huile ingérée.

Huiles	Teneur <sup>a</sup>	Répartition <sup>b</sup> dans les TG	
		interne	externe
Colza <sup>c</sup>	9,3	58	42
Soja <sup>c</sup>	6,5	31	69
Isio4-colza <sup>c</sup>	1,1	56	44
Isio4-soja <sup>c</sup>	1,3	30	70

Tableau 1. Composition en acide alpha-linolénique des corps gras ingérés.

a : % 18:3 n-3 dans les triglycérides (TG) par rapport aux acides gras totaux.

b : en % par rapport à l'ensemble des positions : sn 2 (interne) + sn 1 et sn 3 (externes).

c : en mélange avec de la trioléine 14C.

Huiles	Teneur <sup>a</sup>		Répartition <sup>b</sup> dans les TG			
	18:3 n-3	iso 16:0	interne		externe	
			18:3 n-3	iso 16:0	18:3 n-3	iso 16:0
Colza <sup>c</sup>	8,3	9,2	58	33	42	67
Isio 4-colza 1 <sup>c</sup>	1,1	1,7	56	33	44	67
Isio 4-colza 2 <sup>c</sup>	1,0	9,5	56	33	44	67

Tableau 2. *Composition en acide alpha-linolénique et isopalmitique des corps gras ingérés.*

a : % 18:3 n-3 dans iso 16:0 dans les triglycérides (TG) par rapport aux acides gras totaux.

b : en % par rapport à l'ensemble des positions : *sn* 2 (interne) + *sn* 1 et *sn* 3 (externes).

c : en mélange avec de la triisopalmitine.

Huiles ingérées	Teneur <sup>a</sup> dans les TG	Répartition <sup>b</sup> dans les TG		Teneur <sup>a</sup> dans PC	Répartition <sup>c</sup> dans PC	
		interne	externe		interne	externe
Colza <sup>d</sup>	6,5	44	56	1,2	67	33
Soja <sup>d</sup>	4,4	29	71	0,4	57	43
Isio 4-colza <sup>d</sup>	1	40	60	0,1	56	44
Isio 4-soja <sup>d</sup>	1	29	71	0,1	51	49

Tableau 3. *Composition en acide alpha-linolénique des lipides lymphatiques.*

a : % 18 : 3 par rapport aux acides gras totaux dans les TG et PC (phosphatidylcholine).

b : en % par rapport à l'ensemble des positions : *sn* 2 (interne) + *sn* 1 et *sn* 3 (externes) des TG.

c : en % par rapport à l'ensemble des positions : *sn* 2 (interne) + *sn* 1 (externe) de PC.

d : en mélange avec de la trioléine 14C.