



HAL
open science

Effet d'un apport en ALA et en DHA sur le métabolisme lipidique et la qualité de la viande de porc. : Caractérisation par SPIR de la composition en acides gras

Auriane de Tonnac de Villeneuve

► To cite this version:

Auriane de Tonnac de Villeneuve. Effet d'un apport en ALA et en DHA sur le métabolisme lipidique et la qualité de la viande de porc. : Caractérisation par SPIR de la composition en acides gras. Science des productions animales. Agrocampus Ouest, 2016. Français. NNT : 2016NSARB289 . tel-01538760

HAL Id: tel-01538760

<https://theses.hal.science/tel-01538760>

Submitted on 14 Jun 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

RÉSUMÉ ABSTRACT

Effet d'un apport en ALA et en DHA sur le métabolisme lipidique et la qualité de la viande de porc. Caractérisation par SPIR de la composition en acides gras.

Cette thèse visait à évaluer l'effet d'une alimentation pourvue en graines de lin riches en acide α -linoléique (ALA) et en microalgues riches en acide docosahexaénoïque (DHA) sur le métabolisme des lipides et la qualité de la viande de porc. Les régimes n'ont pas eu d'effet sur les performances de croissance et les critères de qualité de la carcasse mesurés en abattoir. La digestibilité des acides gras polyinsaturés (AGPI) n-3, leurs quantités dans les régimes et les traitements technologiques subis par la graine de lin ont impacté le dépôt d'ALA et de DHA dans les lipides totaux et les fractions neutres et polaires des tissus. La quantité de malonaldéhyde, représentatif de la peroxydation des acides gras, du muscle longissimus dorsi et du tissu adipeux sous cutané dorsal (TAD) a été augmentée avec un apport de microalgues. Une odeur plus prononcée des rôtis issus du régime microalgues a été identifiée par un jury entraîné. Enfin, les activités et l'expression des gènes de la lipogenèse et de la synthèse des AGPI n-3 ont été diminuées au niveau hépatique avec l'apport de microalgues. Un second objectif visait à recenser les facteurs de variation du dépôt des AGPI n-3 dans les tissus porcins pour les intégrer dans un modèle prédictif de ce dépôt. En raison d'une grande variabilité entre individus, seuls des modèles linéaires ont pu être établis en considérant les quantités digestibles d'ALA et de DHA ingérées, le sexe des animaux et l'effet du lot. Enfin, la thèse a permis de proposer des équations de calibration de spectrométrie en proche infra-rouge (SPIR) afin de déterminer la composition en acides gras du TAD des porcs pour identifier rapidement les viandes enrichies en AGPI n-3.

Mots-clés : ALA, DHA, porc, viande, SPIR

Effect of ALA and DHA on lipid metabolism and pork quality. NIRS characterization of fatty acid composition.

Pigs used in this thesis were fed linseed rich in α -linolenic acid (ALA) and microalgae rich in docosahexaenoic acid (DHA) to evaluate the effect of diet on lipid metabolism and pork quality. Fatty acid (FA) composition of the diets did not have any effect on pig performances and carcass parameters measured at slaughter. The digestive utilization, the quantity of n-3 polyunsaturated FA (PUFA) in the diet and the technological treatment applied to linseed were identified as modifiers of the deposition of ALA and DHA in total, neutral and polar lipids. They also had an impact on the activity of lipogenesis enzymes and on the gene expression involved in n-3 PUFA synthesis in the liver. The malonaldehyde content, representative of the FA lipoperoxydation, measured in longissimus dorsi muscle and subcutaneous adipose tissue of the back (SCB), significantly increased with the supply of microalgae and with linseed to a lesser extent. Finally, the odor of the meat from pigs fed microalgae was more pronounced than meat from pigs fed linseed or a mix 75%/25% of linseed and microalgae. From results obtained in animal experiments, linear models were built to predict n-3 PUFA deposition in pig tissues from quantities of digestible ALA and DHA ingested by animals. Finally, a last part of the thesis allowed characterizing the FA composition of the SCB by near infrared spectroscopy (NIRS) in order to quickly identify the meat enriched with n-3 PUFA.

Keywords: ALA, DHA, pork, meat, NIRS

UNIVERSITE
BRETAGNE
LOIRE

AGRO
CAMPUS
OUEST

Auriane DE TONNAC DE VILLENEUVE • 6 décembre 2016

Thèse AGROCAMPUS OUEST
sous le label de l'Université Bretagne Loire
pour obtenir le grade de
DOCTEUR D'AGROCAMPUS OUEST
Spécialité Biologie et Agronomie

ÉCOLE DOCTORALE • Vie - Agro - Santé (VAS)
LABORATOIRE D'ACCUEIL • UMR INRA - AO
Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal
et les Systèmes d'Élevage (PEGASE)

Effet d'un apport en ALA et en DHA sur le métabolisme lipidique et la qualité de la viande de porc.
Caractérisation par SPIR de la composition en acides gras.



AGROCAMPUS OUEST • Institut supérieur des sciences agronomiques,
agroalimentaires, horticoles et du paysage
65 rue de Saint-Brieuc - CS84215 - F-35042 Rennes Cedex
Tél. : 02 23 48 50 00
www.agrocampus-ouest.fr



Thèse B-289 — 2016-35 • TONNAC A.

Effet d'un apport en ALA et
en DHA sur le métabolisme
lipidique et la qualité
de la viande de porc.
Caractérisation par SPIR de la
composition en acides gras

Lucile MONTAGNE
Professeure, AGROCAMPUS OUEST, UMR PEGASE / *présidente*
Stefaan DE SMET
Professeur, Université de Ghent / *rapporteur*
Michel NARCE
Professeur, Université de Bourgogne / *rapporteur*
Donato ANDUEZA
Ingénieur de recherche, INRA Clermont-Ferrand / *examineur*
Mathieu GUILLEVIC
Ingénieur de recherche, Valorex / *examineur*
Jacques MOUROT
Directeur de recherche, UMR PEGASE / *directeur de thèse*
Etienne LABUSSIÈRE
Chargé de recherche, UMR PEGASE / *encadrant de thèse*



N° ordre : 2016-35
N° série : B-289

THESE / AGROCAMPUS OUEST

Sous le label de l'Université Européenne de Bretagne

pour obtenir le diplôme de :

**DOCTEUR DE L'INSTITUT SUPERIEUR DES SCIENCES AGRONOMIQUES,
AGRO-ALIMENTAIRES, HORTICOLES ET DU PAYSAGE**

Spécialité : Biologie et Agronomie

Ecole Doctorale : Vie Agro Santé

présentée par :

AURIANE DE TONNAC DE VILLENEUVE

***EFFET D'UN APPORT EN ALA ET EN DHA SUR LE METABOLISME
LIPIDIQUE ET LA QUALITE DE LA VIANDE DE PORC.
CARACTERISATION PAR SPIR DE LA COMPOSITION EN ACIDES GRAS***

soutenu le 6 décembre 2016 devant la commission d'Examen

Composition du jury :

Présidente de jury	Mme. Lucile MONTAGNE	Professeur à Agrocampus Ouest, Rennes
Rapporteur	M. Stefaan DE SMET	Professeur à l'université, Ghent
Rapporteur	M. Michel NARCE	Professeur à l'université, Dijon
Examineur	M. Donato ANDUEZA	Ingénieur de recherche, INRA Clermont-F.
Examineur	M. Mathieu GUILLEVIC	Ingénieur de recherche, Valorex
Directeur de thèse	M Jacques MOUROT	Directeur de recherche, INRA Rennes
Encadrant de thèse	M. Etienne LABUSSIÈRE	Chargé de recherche, INRA Rennes

Laboratoire d'accueil :

Centre INRA de Rennes
Unité Mixte de Recherche PEGASE
Equipe Alimentation et Nutrition
35590 Saint-Gilles

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes :

Acceptée dans un journal à comité de lecture

- De Tonnac, A.,** E. Labussiere, A. Vincent and J. Mourot (2016). "Effect of alpha-linolenic acid and DHA intake on lipogenesis and gene expression involved in fatty acid metabolism in growing-finishing pigs." *British journal of nutrition* **116**: 7-18.
- Mourot, J. and **A. de Tonnac** (2015). "The Bleu Blanc Coeur path: impacts on animal products and human health." *Ocl* **22**(6): D610.

Soumission dans un journal à comité de lecture

- De Tonnac, A.,** S. Karim-Luisset and J. Mourot. Tissue location and linseed diet effect on fatty acid composition of tissues of pigs. *Livestock Science*. Soumis le 16.09.2016
- De Tonnac, A.,** J. Mourot, E. Certenais, G. Mairesse and E. Labussière. Near infrared spectroscopy predicts the fatty acids content of subcutaneous backfat but not *longissimus thoracis and lumborum* muscle of pigs fed linseed and microalgae. *Meat Science*. Soumis le 21.09.2016
- De Tonnac, A.,** J. Mourot and E. Labussière. Ileal digestibility of amino acid and fatty acids from linseed or *Schizochytrium sp.* microalgae in growing pigs (*en préparation*)

Communications orales à des congrès

- De Tonnac, A.,** M. Guillevic, G. Chesneau, G. Mairesse and J. Mourot (2015). Influence de la nature des acides gras n-3 sur la qualité nutritionnelle de la viande de porc. Journées francophones de nutrition. Marseille. **29**(4)
- De Tonnac, A.,** K. Meteau, M. Guillevic, G. Chesneau, G. Mairesse and J. Mourot (2016). Influence de la nature des acides gras n-3 du régime sur les critères de performances de croissance du porc et sur les qualités nutritionnelle et sensorielles de la viande. 48^{èmes} Journées de la Recherche Porcine. Paris. 279-283

Communications sous forme de poster à des congrès

- De Tonnac, A.** and J. Mourot (2014). Effet de la teneur en acide linoléique ou en acide docosahexaénoïque dans le régime sur la synthèse des lipides chez le porc. Journées francophones de nutrition. Bruxelles. **28**(4): S73
- De Tonnac, A.,** M. Azzopardi, J. L. Le Noc, C. Perrier, G. Robin and J. Mourot (2015). Effect of introducing different n-3 fatty acids into pig fed on the nutritional quality of the meat and processed products. International Congress of Meat Science & Technology. Clermont-Ferrand.
- De Tonnac, A.,** C. Perrier, G. Robin and J. Mourot (2015). Estimation de la provenance de l'EPA dans le foie de porc en fonction des acides gras ingérés. Journées francophones de nutrition. Marseille. **29**(4)
- De Tonnac, A.,** J. Mourot, M. Guillevic and G. Mairesse (2016). The effect of sex and extruded linseed diet +/- concentrate in fiber on the fatty acid composition of pigs tissues. Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP). Belfast

REMERCIEMENTS

L'ensemble des travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein de l'unité mixte de recherche 1348 « Physiologie, Environnement et Génétique pour l'Animal et les Systèmes d'Elevage » regroupant l'INRA et Agrocampus Ouest de Rennes et dirigée par le Dr. Jaap VAN MILGEN. Ce travail s'inscrit dans les thématiques de recherche de l'équipe « ALimentation et NUTrition », dirigée par Catherine HURTAUD.

Avant toute chose, je tiens à remercier mon directeur de thèse, Jacques MOUROT, sans qui mon souhait de réaliser une thèse n'aurait été possible. Je tiens à le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée à porter ce projet alors même qu'il ne me connaissait pas et dans un moment de doute quant à sa réalisation. Je le remercie également d'avoir partagé avec moi toutes ses connaissances et sa très longue expérience des lipides et des « oméga 3 » en particulier. Merci Jacques d'avoir su conduire d'une main de fer le projet « Agralid » sans quoi la thèse n'aurait pu se dérouler. Enfin, merci pour ton extrême gentillesse, ta grande patience et ton humour, parce que « du coup » cela a rendu ce travail très agréable et enrichissant.

Je remercie Etienne LABUSSIÈRE, mon co-encadrant de thèse pour les heures à corriger, discuter, échanger, améliorer; recorriger, rediscuter, re-échanger...tout au long de ces trois années. Surtout corriger et améliorer ! Merci Etienne pour ta grande patience (et oui avec moi il en faut), ta disponibilité, mais également ta rigueur scientifique et tes nombreux conseils, notamment de méthodologie.

J'exprime ensuite mon estime et mes remerciements aux membres de mon jury : le Pr Stefan DE SMET, le Pr Michel NARCE, le Pr Lucile MONTAGNE, le Dr Donato ANDUEZA et Mathieu GUILLEVIC qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail de thèse et de me faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissances.

Je remercie ma tutrice de thèse, Frédérique PEDRONO ainsi que les membres de mon comité de thèse pour leur disponibilité.

J'attribue également de nombreux remerciements aux membres du laboratoire et aux personnes avec lesquelles j'ai pu échanger et partager au cours de ces trois années, notamment :

Cécile PERRIER, pour tout ! L'humour, la bonne humeur, la franchise, la sincérité, la patience, la disponibilité, les compétences techniques, l'aide, la participation, les conseils, le tempérament... Bref, « le but du jeu » c'est que tu restes toi parce que grâce à toi je garde un super souvenir de mon passage dans le 1^{er} bureau du couloir de l'extension côté sud.

Gwennola ROBIN, pour m'avoir formé a de nombreuses techniques de laboratoire (le Koné puis Folch puis les Tbars puis l'extraction des lipides neutres et polaires, un peu d'Honikel aussi, au broyage à l'azote liquide...) et de conduite, car être écologique cela s'apprend aussi.

Jennifer CARRE et Sihem KARIM-LHUISSET, pour leur aide dans le travail de laboratoire et sans qui j'aurais sans doute écrit ce mémoire munie d'une blouse blanche et de gants bleus. Merci les filles pour les discussions et les rigolades dans le bureau (tout en travaillant bien évidemment).

Merci aussi à Yolande et Annie pour leur aide également dans le travail de laboratoire et leur patience face aux nombreuses heures passées pour mes essais.

Merci à Patrice et Josselin pour leurs connaissances des animaux et leur très bon travail d'animalier ainsi que les nombreuses rigolades, au cours desquelles les cochons ont dû nous prendre pour des fous. Je garde un très bon souvenir de cette période dans le bâtiment 13. Merci aussi aux animaliers du « métabo », Vincent et Régis.

Merci aux membres de l'équipe RetD de Valorex : « les deux Guillaume » (G. CHESNEAU et G. MAIRESSE), Emmanuelle CERTENAIS et Benoît-pierre MOUROT, pour m'avoir acceptée comme doctorante sur ce sujet, pour m'avoir accueillie au sein de votre équipe à Combourtillé, pour m'avoir présenté aux autres membres de l'entreprise, pour avoir échangé des idées et des conseils avec moi et m'avoir formé aux calibrations de SPIR et dépannée sur l'utilisation du logiciel.

Merci à Jean-Yves DOURMAD, Samir et Pierre pour leur aide en statistiques et utilisation des logiciels spécifiques.

Merci à tous mes amis que j'ai rencontré pendant cette thèse et avec qui je garde de nombreux et bons souvenirs : Sandy, Séverine, Elise, Hauteclaire, Alice, Nicolas et Louise. Merci à vous d'avoir été là dans les moments difficiles, merci pour les soirées (danse, meurtre au Knock, brain, jeux de société, Euro2016) les balades à cheval de l'extrême (la bombe de travers ne protège pas des terrains boueux), les anniversaires originaux (j'adore le risotto), les sorties plage, lac and Co, le pic-nic, les courses de fadas en mode schtroumfs et minions, les moments de partage où nous avons testé nos capacités à rouler du riz dans une algue ou à faire cuire des donuts au four. Pour tous ces supers souvenirs (et ceux que j'oublie), merci du fond du cœur.

Merci à tous les membres de ma famille pour leur curiosité et l'intérêt qu'ils ont porté à mon sujet de thèse. Un merci aussi à Christian MARSAN (mon professeur de français de 6^{ème} et 3^{ème}), qui ne s'en souviendra peut-être pas, mais qui m'a poussée à faire une thèse, parce qu'il croyait en moi et qu'il estimait que j'étais suffisamment bosseuse pour cela. Merci également à mon professeur de zootechnie de BTS PA, Laurent DELTEIL pour ces excellents cours sur les porcins, sa passion, qui m'a donné le goût de travailler avec cette espèce. Merci également à TOUS ceux que j'aurais pu oublier dans ces quelques lignes.

Enfin j'adresse un dernier merci, mais pas des moindres (car comme on dit, le meilleur pour la fin 😊) à Julien, mon amoureux depuis cinq ans, qui me supporte au quotidien, qui me soutient et m'aide dans la mesure du possible, qui m'a suivie jusque dans les contrées les plus pluvieuses (et par là je n'entends pas que la Bretagne, pluie de Bradford quand tu nous tiens...) et qui s'est également beaucoup intéressé à mon sujet de thèse au point d'en faire part lui-même à notre entourage.

MERCI à TOI, MERCI à VOUS

Cette thèse illustre bien les propos suivants :

« ... *Le gras, c'est la vie* » de Karadoc

« *Dans le cochon, tout est bon* » de Brillat-Savarin

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	3
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES ABREVIATIONS	14
TABLE DES TABLEAUX	16
TABLE DES FIGURES	18
PREAMBULE.....	20
INTRODUCTION GENERALE.....	22
ELEMENTS DE BIBLIOGRAPHIE	25
Partie 1 Les acides gras : généralités, synthèse, métabolisme et rôle physiologique chez l'Homme et l'animal.....	26
1. Les lipides : des molécules constituées d'acides gras	27
1.1. Caractéristiques des lipides.....	27
1.2. Définition et familles d'acides gras	27
1.3. Saturation et insaturation des acides gras	28
1.4. Séries d'acides gras polyinsaturés	28
2. La lipogenèse chez le porc.....	28
3. Phénomènes d'élongation et de désaturation des acides gras polyinsaturés	30
4. Les limites de la synthèse des AGPI LC n-3	32
4.1. Facteurs limitants	32
4.1.1. Taux de conversion du précurseur	32
4.1.2. Rétroconversion du DHA.....	32
4.2. Activités et compétitions enzymatiques	33
4.2.1. Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase entre les familles n-6 et n-3	33
4.2.2. Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase dans la famille des AGPI n-3	33
5. Transport membranaire ou captage des lipides par les tissus « cibles ».....	34
6. Métabolisme tissulaire des AGPI n-3	37

6.1. β -oxydation	37
6.2. Rétroconversion	39
6.3. Péroxydation	40
6.4. Estérification	42
7. Rôles physiologiques des AGPI au sein de l'organisme	44
7.1. Rôle de structure des membranes cellulaires	44
7.2. Rôle de précurseur d'eicosanoïdes.....	46
7.3. Facteur de transcription	47
8. Effets sur la santé et maladies.....	50
8.1. Effets positifs pour la santé.....	50
8.2. Effets délétères d'une surconsommation d'AGPI n-3	50
Partie 2 Sources, apports nutritionnels conseillés et consommation en AGPI n-3	52
1. Les sources alimentaires d'acides gras	53
1.1. Les sources d'acide α -linoléique.....	53
1.2. Les sources d'EPA et de DHA	54
2. Les apports nutritionnels conseillés en AGPI n-3	58
3. Les consommations en AGPI n-3	59
3.1. Les niveaux de consommation en ALA.....	60
3.2. Les niveaux de consommation en EPA et DHA.....	60
4. Les aliments contributeurs.....	61
Partie 3 Facteurs de variation de la synthèse et du dépôt d'AGPI n-3 chez le porc	63
1. Effet de l'alimentation	64
1.1. Effet du niveau alimentaire.....	64
1.2. Effet de la composition du régime	64
1.3. Effet de la dose dans l'aliment et de la durée de distribution	64
1.4. Effet du traitement technologique de la graine de lin.....	65
2. Effets liés à l'animal	66

2.1. La race.....	66
2.2. Le sexe	67
2.3. Les hormones	69
2.4. L'âge des animaux	71
3. Effet de l'organe ou du tissu.....	71
MATERIEL ET METHODES	73
1. Régimes expérimentaux	74
2. Animaux et prélèvements expérimentaux	76
2.1. Elevage et animaux	76
2.1.1. Essai 1	76
2.1.2. Essai 2	77
2.1.3. Essai 3	77
2.2. Abattage, découpe et mesures de la qualité de la viande.....	77
2.3. Prélèvement des échantillons.....	78
2.3.1 Essais 1 et 2.....	78
2.3.2. Essai 3	79
3. Dosages de laboratoire.....	80
3.1. Caractérisation des aliments expérimentaux et des jus iléaux	80
3.2. Détermination de la matière sèche	80
3.3. Détermination de la matière minérale.....	80
3.4. Détermination de la matière organique.....	80
3.5. Détermination de la teneur en énergie brute	80
3.6. Détermination de la teneur en protéines totales	81
3.7. Détermination des acides aminés d'hydrolysats de protéines	81
3.8. Hydrolyse des protéines.....	81
3.9. Dérivation des acides aminés.....	82

3.10. Détermination des acides aminés par HPLC	82
3.11. Détermination de la cellulose brute	82
3.12. Détermination des parois végétales	83
3.13. Détermination de l'amidon par polarimétrie.....	84
3.14. Détermination de la matière grasse hydrolysée par la méthode standard.....	84
3.15. Extraction des lipides et analyse de la composition en acides gras	85
3.15.1. Par la méthode de Folch et al (1957)	85
3.15.2. Par spectrométrie proche infrarouge (SPIR).....	87
3.16. Extraction des lipides neutres et polaires.....	89
3.17. Potentiel de peroxydation des acides gras des tissus	89
3.18. Dosage des paramètres sanguins.....	90
3.18.1. Dosage des triglycérides sanguins	90
3.18.2. Dosage du cholestérol total et détermination du HDL cholestérol	90
3.19. Dosage des activités enzymatiques.....	91
3.20. Etude de l'expression des gènes du métabolisme lipidique.....	91
3.20.1. Extraction des ARNs.....	91
3.20.2. Synthèse des brins d'ADN complémentaire (ADNc)	93
3.20.3. Choix des amorces pour la PCR.....	93
3.20.4. Contrôle de l'efficacité des amorces et d'absence de contamination des échantillons d'ADNc et du Mastermix de PCR.....	94
3.20.5. PCR en temps réel.....	95
RESULTATS	96
PARTIE 1 Digestibilité iléale des acides aminés et des acides gras de la graine de lin et des microalgues riches en DHA chez le porc en croissance (volet 2, essai 3).....	97
PARTIE 2 Effet de l'ingestion de différentes doses d'ALA et de DHA sur le devenir des acides gras dans les tissus et leur répartition au sein des fractions neutres et polaires des	

lipides musculaires et sur le métabolisme des lipides. Conséquences sur la qualité de la viande de porc (volets 1 et 2, essais 1 et 2).....	116
PARTIE 3 Effet du traitement technologique des graines de lin et de la localisation anatomique des tissus sur la composition en acides gras chez le porc (volet 2, essai 2).	156
PARTIE 4 Prédiction spectrale de la teneur en acides gras du muscle et du tissu adipeux de porc ayant ingérés différentes sources lipidiques plus ou moins riches en acides gras n-3 (volet 3, essais 1 et 2).....	174
DISCUSSION GENERALE	192
1. Facteurs de variation de la qualité nutritionnelle des tissus porcins et conséquences sur les qualités technologique et sensorielle de la viande	194
1.1. Identification des facteurs de variation du dépôt des AGPI n-3	194
1.1.1. Effet du niveau alimentaire	194
1.1.2. Digestibilité des acides gras	195
1.1.3. Composition en acides gras de l'aliment	196
1.1.4. Régulation du métabolisme.....	197
1.1.5. Traitement technologique de la matière première.....	198
1.1.6. Localisation anatomique et rôle des tissus	199
1.2. Qualités de la viande.....	200
1.2.1. Paramètres mesurés à l'abattoir	200
1.2.2. Lipoperoxydation des acides gras et analyse sensorielle de la viande.....	201
1.3. Recommandations nutritionnelles.....	202
2. Prédiction du dépôt des AGPI n-3 dans les tissus porcins	203
2.1. Construction du modèle	203
2.2. Estimation des dépôts des mâles castrés.....	204
2.3. Prédiction des dépôts des femelle et mâles entiers	206
2.4. Prédiction des dépôts des mâles castrés issus du régime G3M1 (essai 1)	207
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	208

REFERENCES..... 213

ANNEXES 235

RESUMES

LISTE DES ABREVIATIONS

AACC	American Association of Cereal Chemist	CDP-DAG	cytidine diphosphate diacylglycérol
ABC	atp binding cassette	COX-2	cyclo-oxygénase 2
ACC	acétyl CoA carboxylase	CPG	chromatographie en phase gazeuse
ACTH	adénocorticotrophine	CPT1	carnitine acyltransférase
ADCD	atp binding cassette de type D	CUDa	coefficient d'utilisation digestif apparent
ADN	acide désoxyribonucléique	CUDs	coefficient d'utilisation digestif standardisé
AET	apport énergétique total	D	race de porc Duroc
AFSSA	agence française de sécurité sanitaire des aliments devenue ANSES	DGLA	acide dihomog- γ -linoléique
AFNOR	Association française de normalisation	DHA	acide docosahexaénoïque
AG	acide gras	DMLA	dégénérescence maculaire liée à l'âge
AGMI	acide gras monoinsaturé	DP	croisement de porc Duroc×Piétrain
AGPI	acide gras polyinsaturé	DPA	acide docosapentaénoïque
AGPI LC	acide gras polyinsaturé à longue chaîne	EFSA	Autorité européenne de sécurité des aliments
AGS	acide gras saturé	ELOVL2	fatty acid elongase 2
AGT	acides gras totaux	ELOVL5	fatty acid elongase 5
ANR	agence nationale de la recherche	EM	enzyme malique
AL	acide linoléique	EPA	acide eicosapentaénoïque
ALA	acide α -linoléique	ERO	espèces réactives dérivées de l'oxygène
AMP cyclique	adénosine monophosphate cyclique	FABP	Fatty Acid Binding Protein
ANC	apports nutritionnels conseillés	FAD	Forme oxydée de flavine adénine dinucléotide
ANSES	agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail	FADH2	forme réduite de flavine adénine dinucléotide
AOAC	Association of Official Analytical Chemists	FADS1	fatty acid desaturase 1
AP	acide phosphatidique	FADS2	fatty acid desaturase 2
ARA	acide arachidonique	FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
ARN	acide ribonucléique	FAS	Fatty Acid Synthase
ATP	adénosine triphosphate	FAT	Fatty Acid Translocase
B	race de porc Berkshire	FATP	Fatty Acid Transport Protein
BF₃	trifluorure de Bore	G6PDH	Glucose 6 phosphate dehydrogenase
CALIPSO	Etude des Consommations Alimentaires de produits de la mer et Imprégnation aux éléments traces, Polluants et Oméga 3	GLUT 4	Glucose transporter type 4
CD	cluster de différenciation	GP	glycérophospholipides

GPR120	protéine G couplée au récepteur 120	NOS	oxyde nitrique synthase
GPR40	protéine G couplée au récepteur 40	P	porc de race Piétrain
HDL	lipoprotéines de haute densité	PC	phosphatidylcholine
HNF	facteurs nucléaires hépatique	PE	phosphatidylethanolamine
HNF4	facteur nucléaire hépatique de type 4	PI	phosphatidylinositol
HPLC	chromatographie en phase liquide à haute performance	PKA	protéine kinase A
IL	interleukine	PKC	protéine kinase C
INCA	INSuffisance CARdiaque	PPARα	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
IκB	sous unité inhibitrice de NF κ B	PPARδ	Peroxisome proliferator-activated receptor delta
LD	muscle <i>longissimus dorsi</i>	PPRE	proliférateurs des peroxysomes response élément
LDL	lipoprotéines de faible densité	PSE	viande « pale, soft, exsudative » ou pâle, molle et exsudative
LPL	phospholipases	PS	phosphatidylsérine
LT	lipides totaux	PV	poids vif
LW	race de porc de race Large White	RXR	récepteur aux rétinoïdes X
LWP	croisement de porc Large White \times Piétrain	SCD	Stearoyl-CoA desaturase
LXR	récepteurs hépatiques aux oxystérols	SPIR	spectrométrie en proche infra-rouge ou NIRS
MCV	maladie cardiovasculaire	SREBP-1c	Sterol regulatory element-binding protein 1
MDA	dialdéhyde malonique ou malondialdéhyde	SU.VI.MAX	Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oXydants
MS	matière sèche	T	porc de race Tamworth
NAD⁺	forme oxydée de nicotinamide adénine dinucléotide	TASC	tissu adipeux sous cutané du dos
NADH	forme réduite de nicotinamide adénine dinucléotide	TNF	facteur de nécrose tumorale
NADP	forme oxydée de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	TPA	acide tétracosapentaénoïque
NADPH	forme réduite de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	VLDL	lipoprotéines de très faible densité
NFκB	facteur nucléaire-kappa B		

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Rôles physiologiques des acides gras polyinsaturés

Tableau 2. Sources riches en acide α -linoléinique

Tableau 3. Sources riches en acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA)

Tableau 4. Teneur en EPA et DHA d'algues marines et de microalgues

Tableau 5. Quantités d'EPA+DHA dans les produits animaux, avec ou sans enrichissement dans l'aliment

Tableau 6. Apport nutritionnel conseillé en lipides, LA et acides gras n-3 pour un adulte consommant 2000 kcal par jour

Tableau 7. Apport nutritionnel conseillé en acides gras n-3 pour les populations particulières

Tableau 8. Consommation moyenne (% de l'AET ou en mg/j) en acides gras n-3 dans différents pays du monde

Tableau 9. Consommation moyenne (%cal ou mg/j) d'acides gras n-3 par des enfants et adolescents de pays industrialisés

Tableau 10. Effet de sources alimentaires riches en acides gras n-3 sur le dépôt d'ALA et de DHA dans les tissus de différentes espèces animales

Tableau 11. Effet de la dose ou de la durée d'alimentation en graines de lin sur le dépôt d'acides gras n-3 dans les tissus porcins

Tableau 12. Taux d'introduction des matières premières et composition nutritionnelle du premier essai

Tableau 13. Composition en acides gras des régimes du premier essai

Tableau 14. Taux d'introduction des matières premières et composition nutritionnelle du deuxième essai

Tableau 15. Composition en acides gras des régimes du deuxième essai

Tableau 16. Composition des régimes de l'essai de digestibilité

Tableau 17. Composition en acides gras des régimes de l'essai de digestibilité

Tableau 18. Schéma expérimental (carré latin de rang 5)

Tableau 19. Pré-traitements testés lors des calibrations spectrales

Tableau 20. Taux d'introduction (%) des matières premières dans les régimes et composition en acides gras n-3

Tableau 21. Effet du régime sur la carcasse et la qualité technologique de la viande

Tableau 22. Régression linéaire entre la quantité (g) d'ALAA ou de DHAB ingérée pendant deux mois sur la quantité d'ALA ou de DHA en g retrouvée dans le tissu entier (a) ou en mg dans 100 g de tissu (b)

Tableau 23. Teneur (%) en lipides totaux, neutres et polaires du muscle LD et du cœur

Tableau 24. Répartition (%) des lipides neutres et polaires du muscle LD et du cœur

Tableau 25. Quantité (mg/100g) en acides gras des lipides neutres et polaires du muscle longissimus dorsi (LD)

Tableau 26. Quantité (mg/100g) en acides gras des lipides neutres et polaires du cœur

Tableau 27. Teneur des acides gras (% des acides gras totaux) des lipides neutres du cœur (C) et du muscle longissimus dorsi (LD)

Tableau 28. Teneur des acides gras (% des acides gras totaux) des lipides polaires du cœur (C) et du muscle longissimus dorsi (LD)

Tableau 29. Efficacité de dépôt des acides gras n-3 selon les régimes dans le foie, le TAD et le LD

Tableau 30. Comparaison de l'efficacité de dépôt entre acides gras n-3 dans les tissus

Tableau 31. Expression des gènes de la $\Delta 6$ -désaturase et de l'élongase 5 dans le foie, le TAD et le muscle LD de porcs ayant ingérés le régime à base d'huile de colza

Tableau 32. Comparaison des teneurs en EPA et DPA (% des AGT) entre le foie, le LD et le TAD selon les lots

Tableau 33. Effet du lot, du sexe et de l'interaction sur les performances de croissance des porcs dans le cas de l'essai 1 et celui de l'essai 2

Tableau 34. Quantité (g) d'ALA et de DHA par kg d'aliment des essais expérimentaux menés dans le cadre de la thèse

Tableau 35. Effet des régimes sur les quantités (mg/l) de triglycérides, cholestérol total et HDL cholestérol du sang - Essais 1 et 2

Tableau 36. Moyenne et écart type (ET) entre lots du poids de carcasse (kg) et du poids des pièces de découpe (g) selon les essais expérimentaux

Tableau 37. Moyenne et écart type (ET) entre lots des caractéristiques de la viande mesurées à l'abattoir au cours des deux essais

Tableau 38. Effet des régimes sur le poids de foie de l'essai 2

Tableau 39. Apport en LA, ALA, EPA et DHA de 100 g de côte cuite en pourcentage des besoins journaliers pour un adulte consommant 2000 kcal par jour, en fonction des quantités distribuées dans les régimes des porcs

Tableau 40. Equations de prédiction du dépôt des AGPI n-3 dans le muscle LD et le TAD de porc abattus à 115 kg de poids vif

TABLE DES FIGURES

- Figure 1.** Lipide polaire
- Figure 2.** Classification des lipides
- Figure 3.** Acides gras
- Figure 4.** Synthèse de l'acide palmitique (lipogénèse)
- Figure 5.** Biosynthèse des acides gras polyinsaturés
- Figure 6.** Taux de conversion de l'acide α -linoléique
- Figure 7.** Compétition pour les désaturases et les élongases entre les familles d'acides gras n-3 et n-6
- Figure 8.** Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase entre le précurseur et les dérivés d'acides gras n-3
- Figure 9.** Bicouche lipidique des membranes cellulaires
- Figure 10.** Impact du DHA sur les radeaux lipidiques
- Figure 11.** Précurseurs et rôles dans l'inflammation des eicosanoïdes
- Figure 12.** Les acides gras polyinsaturés agissent comme facteurs de transcription
- Figure 13.** Mécanismes d'action des acides gras polyinsaturés sur les PPAR α et γ
- Figure 14.** Effet de la matière première sur le dépôt d'acide α -linoléique dans le tissu adipeux dorsal de porc
- Figure 15.** Schéma des questions du sujet
- Figure 16.** Schéma d'un shunt iléo-rectal chez le porc
- Figure 17.** Schéma de découpe des carcasses selon la méthode de Métayer, A. et Daumas, G. 1998 (Méthode hollandaise)
- Figure 18.** Quantité (mg/100g de tissu) d'ALA et de DHA dans le TAD, le muscle LD et le foie et consommation totale (g) d'ALA ou de DHA pendant deux mois.
- Figure 19.** Potentiel de lipoperoxydation (de 0 à 5 heures) des acides gras dans le muscle longissimus dorsi (LD) et le tissu adipeux sous cutané dorsal (TAD) des porcs (N=60).
- Figure 20.** Acides gras déposés dans le foie en fonction de la quantité d'ALA ingérée (régime soja-palme = base 100)
- Figure 21.** Acides gras déposés dans le foie en fonction de la quantité de DHA ingérée (régime GLE = base 100)
- Figure 22.** Provenance de l'EPA du foie (EPA_{hép}) des porcs ayant ingéré des graines de lin et/ou des microalgues
- Figure 23.** Dépôt d'ALA et de DHA (g) dans le foie, les tissus musculaires et adipeux en fonction de la quantité ingérée pendant deux mois par les porcs

Figure 24. Consommation totale d'ALA et de DHA digestibles entre les différents régimes des deux essais

Figure 25. Dépôt mesuré d'AGPI n-3 (mmol) en fonction de du dépôt prédit dans le muscle LD de mâles castrés, sans effet du lot.

Figure 26. Dépôt mesuré d'AGPI n-3 (mmol) en fonction de du dépôt prédit dans le TAD de mâles castrés sans effet du lot

PREAMBULE

L'Homme a besoin d'un certain nombre de nutriments pour vivre et rester en bonne santé. Chaque époque présente une alimentation spécifique.

Au temps préhistorique, les Hommes se nourrissaient de ce qu'ils trouvaient dans la nature : baies, racines, graines, fruits, pousses et de quelques petits animaux chassés puis consommés crus. C'est le choix de leur alimentation qui leur a permis de franchir les années et de façonner par-delà les siècles notre patrimoine génétique (Weil 2007). Au temps des cavernes, pour combattre le froid et passer l'hiver, rien n'était plus efficace que de consommer des produits riches en lipides pouvant se déposer dans les tissus. Ainsi fut faite notre capacité à stocker les graisses.

Entre - 7000 et - 8000 ans, vint le début de la sédentarisation et surtout le début de l'agriculture. La domestication des plantes et des animaux apparut à cette époque. Notre alimentation se diversifia, alliant céréales, légumes et viandes. Contrairement aux ruminants qui furent domestiqués pour produire laine, lait, cuir et force de traction, le porc fut domestiqué à cette période à des fins alimentaires. Les porcs ont ensuite été utilisés pour des raisons de forte prolificité fournissant la viande nécessaire aux Hommes du XVIII^{ème} siècle. Au moyen âge, des porcs très gras, jouant le rôle d'éboueurs dans les villes, étaient élevés pour leur capacité à fournir du saindoux, élément essentiel dans la vie de tous les jours. Le XIX^{ème} siècle voit l'élevage des porcs entrer dans l'ère de l'industrialisation. L'essor de la production porcine est favorisé par la généralisation de la culture de la pomme de terre, par la production de déchets alimentaires issus des industries, des hôpitaux et écoles et par la sélection de porcs plus performants. Au début du XX^{ème} siècle, c'est l'aspect rémunérateur de cet élevage qui fut la cause de l'engouement pour cette production. La viande de porc et sa variété de produits frais ou transformés sont ainsi devenues des denrées de qualité peu chères à l'achat par rapport à celle des autres espèces telle que la viande de bœuf, facilement accessibles et donc attractive aux yeux du consommateur. La consommation de viande de porc a ainsi connu son essor entre 1789 et la fin du XX^{ème} siècle (Birlouez 2013). Dès lors, elle est devenue la première viande consommée en France (dont 2/3 sous forme transformée) et dans le monde et cela malgré un déclin qui s'observe depuis le début du XXI^{ème} siècle (37 kg ec par habitant par an en 2007 contre 32 kg ec en 2013).

INTRODUCTION GENERALE

Malgré l'engouement de la population française pour la viande de porc, cette dernière jugée trop grasse, n'a pas toujours bénéficié d'une image positive, considérée souvent comme mauvaise pour la santé. C'est pourquoi de nombreux travaux ont été réalisés sur la lipogenèse, la teneur en lipides de la viande de porc et leurs facteurs de variation. Ainsi, de nombreux efforts tant sur le niveau génétique que sur le plan alimentaire ont permis de diminuer de moitié la teneur en lipides (Sellier 1983; Mourot *et al.* 1999). Il a ainsi été établi que cette viande est peu grasse (2% de lipides pour le muscle *longissimus dorsi*), la teneur variant selon la localisation anatomique (6% dans le diaphragme). D'autre part il est possible de séparer facilement le gras visible du muscle (Mourot et Lebret 2009) pour en diminuer encore l'adiposité au moment de la consommation.

Les lipides sont des macromolécules complexes, constituées pour certaines par des acides gras. Parmi ces acides gras, différentes catégories se distinguent à savoir les acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Quand ils ont été ingérés par l'Homme ou par l'animal, ces acides gras jouent un rôle dans de nombreuses fonctions métaboliques de l'organisme. Or les changements dans les habitudes alimentaires des consommateurs ont entraîné avec le temps un déficit de certains de ces acides gras (de la famille des n-3) par rapport à d'autres (de la famille des n-6) et donc l'apparition de nouvelles maladies dites « maladie des sociétés industrielles ». Ainsi depuis le début des années 2000, des programmes de nutrition, tel que le programme national nutrition santé (PNNS), ont été mis en place pour proposer des recommandations de nutrition aux populations. Du côté des scientifiques, des études ont montré qu'il était faisable d'améliorer la qualité nutritionnelle des lipides de tissus animaux en travaillant sur leur alimentation. Les résultats de ces études ont ainsi révélé qu'il était possible d'aider les consommateurs à répondre à ces recommandations en choisissant des produits de qualité, conçus pour mieux rétablir l'équilibre entre les différents acides gras.

Dans cette démarche, l'agence nationale de la recherche (ANR) a financé pendant trois ans (2013-2016) un projet visant à élaborer puis proposer aux consommateurs des menus équilibrés, à bonne valeur nutritionnelle, environnementale et socioéconomique. C'est dans le déroulement de ce projet nommé Agralid qu'est venu s'intégrer une partie de ma thèse. Pour répondre aux objectifs d'Agralid, les lipides notamment de muscles d'animaux comme le porc, nourris spécifiquement pour améliorer la qualité de leurs tissus, ont été dosés et analysés en laboratoire. Toutefois, il pourrait en être autrement.

Pour orienter les consommateurs vers les produits à haute valeur ajoutée, les labels s'emploient donc à identifier leurs aliments par des logos. C'est le cas par exemple de

l'association Bleu Blanc Cœur (loi 1901) qui travaille en collaboration avec l'entreprise Valorex (France) pour fournir des produits riches en acides gras n-3 (ou oméga 3). C'est après de multiples essais qu'elles ont pu établir que des animaux nourris au lin, une graine riche en acide α -linoléique et précurseur des acides gras « oméga 3 », permettait de produire de la viande, du lait ou des œufs riches en ces acides gras. Pour mieux valoriser ces produits, garantir une traçabilité et une obligation de résultats, il est important de disposer d'un outil de mesure simple directement à l'abattoir pour caractériser les produits. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) qui permet des mesures fiables et précises dans le cas de programme de recherche ne peut pas être utilisée en routine en raison de son coût et de sa durée d'analyse. Pour cela, il faut disposer d'une technique à la fois innovante et rapide.

Cette solution passerait par le développement d'un appareil de mesure en infrarouge, technique ancienne dont l'existence fut révélée au début du XIX siècle. Dès lors, de nombreux travaux sur l'infrarouge se sont succédés dont pas moins de 255 entre 1930 et 1980 et plus de 1000 la décennie suivante. Aujourd'hui la méthode s'est répandue dans les domaines tels que l'agro-alimentaire ou l'industrie pharmaceutique (Bellon-Maurel 2006) et les appareils de mesure sont devenus de plus en plus performants et malléables.

La problématique de la thèse est la suivante : « Quel est l'impact d'un apport en dérivé et précurseur d'acides gras n-3 dans l'aliment de porcs (charcutier) en croissance-finition sur le dépôt de ces acides gras dans les tissus ? ». Ce travail de thèse, financé par l'entreprise Valorex dans le cadre d'une convention CIFRE et réalisé à l'INRA-UMR 1348 PEGASE, avait pour objectif d'étudier l'effet d'une alimentation riche en AGPI n-3 sur 1-le métabolisme des lipides et acides gras, à travers notamment l'étude de leur digestibilité et l'effet de leur origine alimentaire sur les activités enzymatique et l'expression de gènes et 2-sur les quantités de ces acides gras de la viande de porc dosées par méthodes de laboratoire et SPIR, afin de proposer *in fine* des pistes pour arriver à prédire le dépôt de ces acides gras dans les tissus. La première partie de ce mémoire portera sur la présentation des connaissances sur les acides gras, les besoins de l'Homme en AGPI n-3 et la qualité nutritionnelle des lipides de la viande de porc. Le matériel et méthodes sera détaillé dans une deuxième partie. Les résultats seront présentés dans une troisième partie. Enfin, une dernière partie discutera des résultats sur le métabolisme et les quantités dosées dans les tissus afin d'émettre des pistes pour arriver à construire un modèle de prédiction du dépôt des acides gras n-3 dans la viande de porc.

ELEMENTS DE BIBLIOGRAPHIE

Partie 1

Les acides gras : généralités, synthèse, métabolisme et rôle physiologique chez l'Homme et l'animal

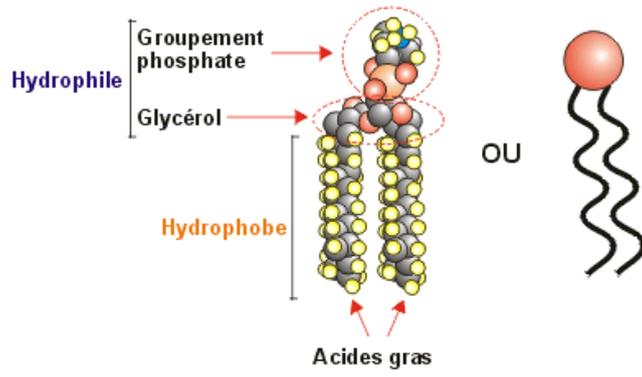
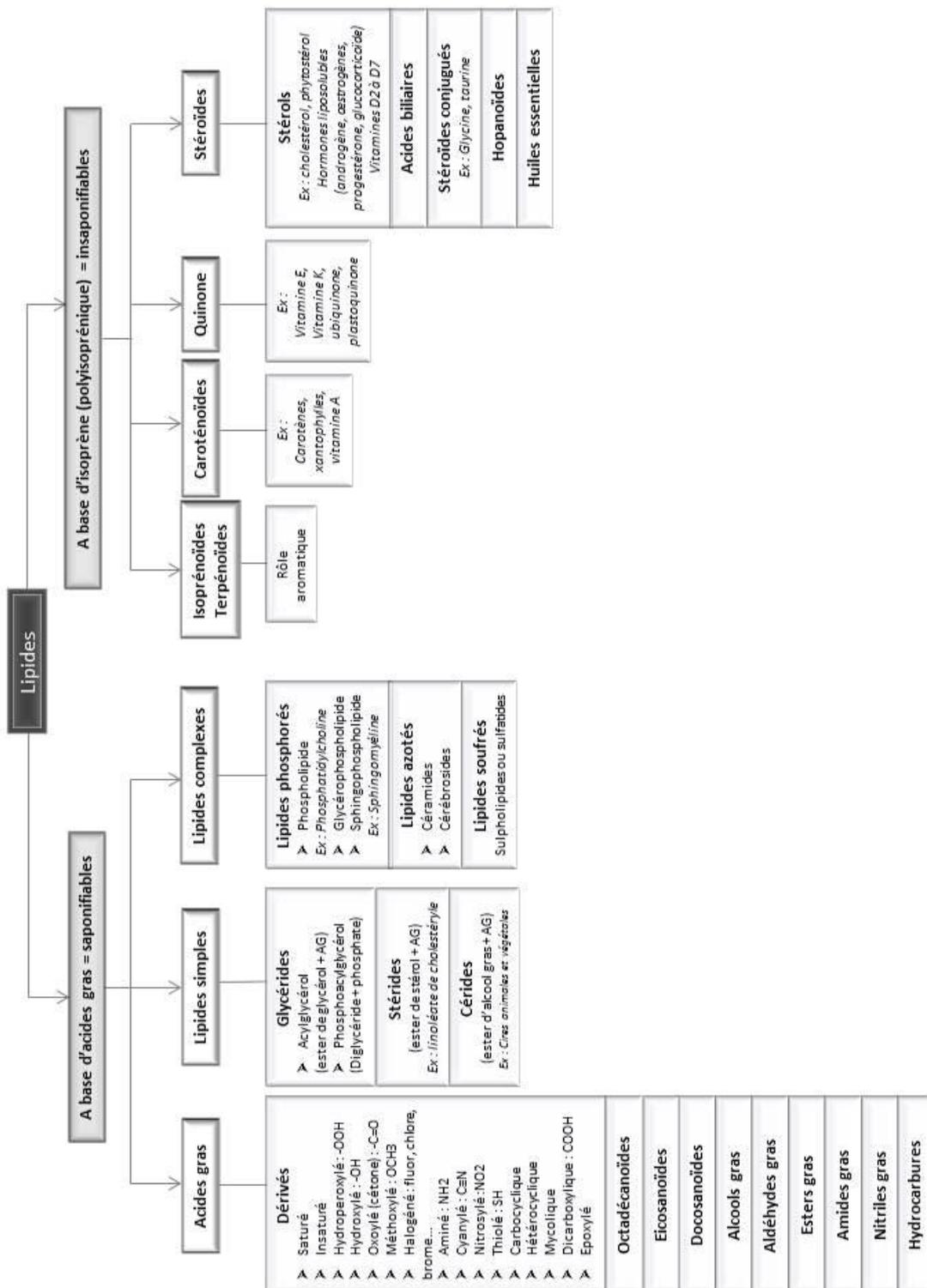


Figure 1. Lipide polaire

Figure 2. Classification des lipides

1. Les lipides : des molécules constituées d'acides gras

1.1. Caractéristiques des lipides

Les lipides sont un ensemble de molécules hétérogènes, caractérisées par leur structure et propriétés chimiques ainsi que par leur propriété physique de solubilité. Ce sont des molécules insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques non polaires tels que le chloroforme, le méthanol, le cyclohexane, l'éther éthylique ou l'acétone. Cette dernière caractéristique s'explique par leur structure chimique qui leur procure un caractère neutre ou polaire. Les lipides polaires sont constitués d'une partie amphiphile composée d'une « tête polaire » (glycérol et groupement phosphate) et d'une « queue apolaire » hydrophobe appelée acide gras (Figure 1). La plupart des lipides sont d'ailleurs des esters d'acides gras.

Les lipides se classent selon leur composition chimique, caractérisée par la présence ou non d'acides gras (Figure 2). Les lipides à base d'acides gras sont saponifiables tandis que les lipides à base d'isoprène sont insaponifiables. Les lipides constitués d'acides gras comprennent également les lipides simples (glycérides, stérides ou cérides) ou complexes (phosphorés, azotés ou soufrés). Les autres lipides à base d'acides gras constituent des dérivés.

1.2. Définition et familles d'acides gras

Les acides gras sont des molécules de type $\text{CH}_3\text{-R-COOH}$ où R représente une chaîne carbonée aliphatique de longueur variable. Les extrémités de la chaîne carbonée se composent d'un groupement méthyle CH_3 et d'un acide carboxylique COOH . Les acides gras sont contenus dans les graisses animales ou végétales (Figure 3). De façon générale, les acides gras présentent une chaîne linéaire monocarboxylique constituée de quatre à trente-six atomes de carbone et de six doubles liaisons au maximum. Chez les animaux monogastriques, la plupart des acides gras ont un nombre pair d'atomes de carbone sur une chaîne non ramifiée, alors que les ruminants sont capables de synthétiser des acides gras plus complexes à chaîne ramifiée ou des acides gras avec un nombre impair d'atomes de carbone.

Les acides gras peuvent être hydroxylés (OH), halogéné (F, Cl...) ou aminé (NH_2). Ils peuvent également former des octadécanoïdes, des eicosanoïdes ou encore des docosanoïdes. Les octadécanoïdes sont des dérivés d'acides gras à dix-huit atomes de carbone. Les eicosanoïdes sont des dérivés oxygénés des acides gras à vingt atomes de carbone. Les docosanoïdes sont des dérivés de l'acide docosahexaénoïque (DHA) (Guillevic 2009). Enfin, la fonction carboxyle COOH d'un acide gras peut-être remplacée par un autre groupement

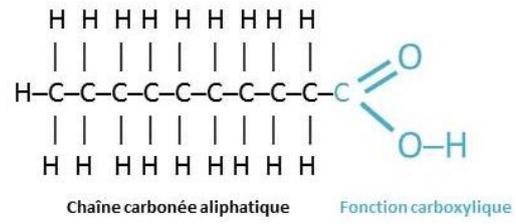


Figure 3. Acides gras

d'atomes ou peut tout simplement avoir été perdue (hydrocarbures). Dans ce cas, il s'agira d'alcools, d'aldéhydes, d'esters, d'amides, de nitriles et d'éthers gras.

1.3. Saturation et insaturation des acides gras

Les acides gras sont constitués d'un enchainement d'atomes de carbone reliés entre eux par des liaisons. Lorsque la molécule est composée de liaisons simples carbone-carbone, il s'agit d'un acide gras saturé (AGS) en hydrogène. Chez les végétaux et les animaux, ces acides gras se présentent majoritairement sous forme linéaire. En revanche, lorsque la molécule contient une ou plusieurs doubles liaisons carbone-carbone, alors l'acide gras est dit insaturé. Les acides gras insaturés représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux. Ils sont dit monoinsaturés (AGMI) lorsque la molécule contient une seule double liaison et polyinsaturé (AGPI) lorsqu'elle en contient plus d'une.

1.4. Séries d'acides gras polyinsaturés

Il existe quatre séries d'acides gras insaturés. Ces séries se distinguent par la localisation de la première double liaison à l'extrémité méthyle. Selon les biologistes dont la nomenclature diffère de celle des chimistes, les acides gras de la série des AGPI n-6 ou $\omega 6$ (oméga 6) possèdent leur première double liaison entre le 6^{ème} et le 7^{ème} carbone à l'opposé du groupement carboxylique. A l'instar des acides gras n-6, ceux de la série n-3 possèdent leur première double liaison sur le 3^{ème} carbone. Parmi ces séries, se trouvent également celles des acides gras n-7 (première double liaison entre le 7^{ème} et le 8^{ème} carbone) et n-9. Ces quatre séries se trouvent dans les tissus et le sang humain avec une prépondérance des familles n-6 et n-3. Les acides gras n-6, n-3, n-7 et n-9 constituent respectivement les familles linoléique, linoléinique, oléique et palmitoléique, du nom de l'acide gras ayant le plus faible nombre d'atomes de carbone dans chaque série.

2. La lipogenèse chez le porc

Dans l'espèce porcine, la localisation de la synthèse des lipides évolue avec l'âge des animaux. En effet, jusqu'à au moins huit semaines d'âge, l'activité enzymatique est prépondérante dans le foie par rapport aux tissus adipeux. A partir du sevrage, les tissus adipeux deviennent le lieu de synthèse principal. La richesse en lipides du lait maternel semble induire une faible fonctionnalité de l'équipement enzymatique et réduire ainsi la lipogenèse. A contrario, l'apport de glucose par l'aliment post-sevrage peut être mobilisé pour servir de substrat à la synthèse lipidique (Fenton *et al.* 1985). L'amidon de l'aliment est

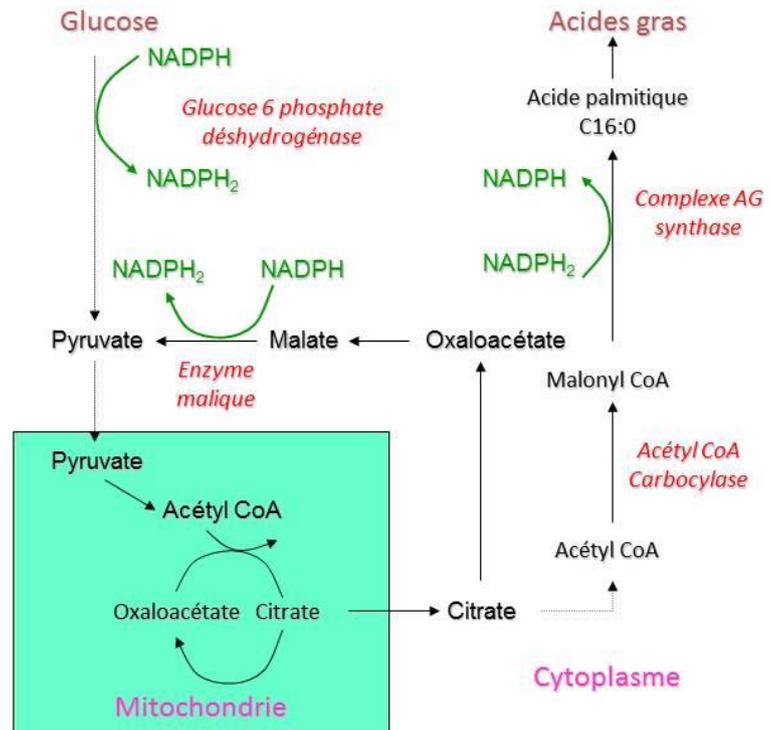


Schéma simplifié de la synthèse de novo des acides gras au niveau de l'adipocyte

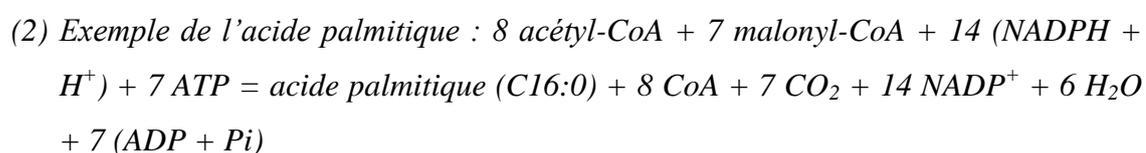
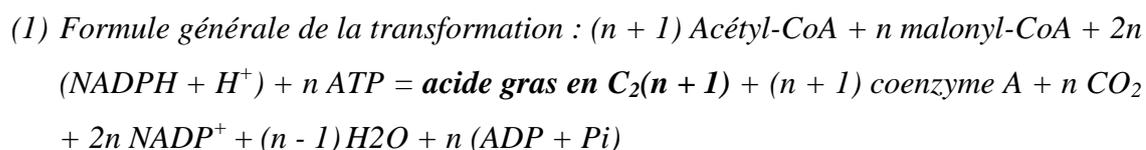
Figure 4. Synthèse de l'acide palmitique (lipogénèse)

dégradé en glucose, qui chez le porc devient le précurseur de la synthèse *de novo* des acides gras (O'Hea et Leveille 1969; Mourot *et al.* 1999).

La synthèse des acides gras a lieu dans le cytoplasme des cellules. Elle débute par une glycolyse, c'est-à-dire par le catabolisme du glucose en deux molécules de pyruvate. Cette glycolyse est permise notamment grâce à l'enzyme glucose-6-P déshydrogénase (G6PDH), dont l'activité nécessite la consommation d'une forme réduite du coenzyme NADP, le NADPH. Comme cela a été montré chez le porc, cette activité est régulée par plusieurs facteurs, tels que le niveau alimentaire, la composition lipidique du régime, la localisation anatomique ou tissu, la race ainsi que l'âge des animaux. Par exemple, l'enrichissement en acide linoléique à 2,0% d'un régime entraîne une augmentation de 3 et 8 points de l'activité de la G6PDH respectivement dans le tissu adipeux sous cutané du jambon et le tissu adipeux périrénal par rapport à un régime n'en contenant que 1,5% (Mourot *et al.* 1994). Cette observation démontre que les tissus n'ont pas tous la même capacité de synthèse, pouvant expliquer que certains d'entre eux sont plus aptes à générer des dépôts de gras. De même, cette activité est généralement plus importante chez les porcs gras de race Meishan que chez les porcs maigres Large White (LW), quel que soient les tissus étudiés ou l'âge des animaux (Mourot *et al.* 1996). En revanche, l'activité de la G6PDH mesurée en μmol de NADPH formé par minute et par gramme de tissu, diminue de moitié quel que soit le tissu entre un porc jeune (environ 20 kg) et un porc en âge d'être abattu (120 kg) (Mourot *et al.* 1995). Après la mise en place du tissu adipeux, la synthèse lipidique diminue avec l'âge, laissant place au stockage de lipides alimentaires *via* les triglycérides.

Une des deux molécules de pyruvate ainsi formées va pouvoir subir une décarboxylation oxydative à l'intérieur des mitochondries de la cellule en conditions aérobies. La dégradation de cette molécule de pyruvate par le complexe pyruvate déshydrogénase, fournit de l'acétyl-CoA piégé dans la mitochondrie. La seconde molécule de pyruvate va permettre la formation d'oxaloacétate. L'acétyl-CoA s'associe alors à l'oxaloacétate pour former du citrate capable de franchir la membrane mitochondriale. Une fois de retour dans le cytoplasme, l'ATP citrate lyase catabolise le citrate de façon à régénérer l'acétyl-CoA. Ce dernier sera transformé en malonyl-CoA grâce à l'action de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) indirectement impliquée dans la synthèse *de novo* des acides gras à moins de 16 carbones (acide palmitique) ou saturés (1 et 2) (Mourot *et al.* 1999) (Figure 4). A l'instar de la G6PDH, l'activité de l'ACC est dépendante des mêmes facteurs, mais dans certains cas présente des évolutions différentes. Ainsi, alors que l'activité de la G6PDH est toujours supérieure chez les

Meishan que chez les LW quel que soit l'âge des animaux, celle de l'ACC est plus importante chez les Meishan à 20 kg mais plus faible à partir de 40 kg que l'activité mesurée chez les LW et cela quel que soit le tissu étudié (Mourot *et al.* 1996). En revanche, tout comme la G6PDH, l'activité de l'ACC augmente avec la teneur en acide linoléique du régime, mais diminue avec l'âge (Mourot *et al.* 1994; Mourot *et al.* 1995). La synthèse *de novo* de l'acide palmitique est permise par le complexe enzymatique d'acide gras synthase (FAS) et nécessite de l'énergie sous forme d'ATP ainsi que du NADPH disponible. Les équations stœchiométriques des transformations sont les suivantes :



L'acide palmitique peut être transformé en acide oléique (C18:1 n-9), puis linoléique (LA, C18:2) et enfin alpha-linolénique (ALA, C18:3) par les végétaux uniquement, ces deux derniers acides gras étant les précurseurs indispensables à la synthèse des séries n-6 et n-3 chez l'Homme et les animaux.

3. Phénomènes d'élongation et de désaturation des acides gras polyinsaturés

Les mammifères ne peuvent pas synthétiser les deux précurseurs des séries n-6 et n-3 que sont respectivement l'acide linoléique et l'acide alpha-linolénique. En effet, leur organisme est dépourvu des enzymes $\Delta 12$ et $\Delta 15$ désaturases permettant l'introduction de doubles liaisons dans la chaîne carbonée de l'acide oléique. Les deux précurseurs doivent être prélevés dans le milieu extérieur *via* l'alimentation. L'unique solution pour l'Homme d'avoir accès à ces acides gras est donc d'ingérer des végétaux pourvus en LA et ALA ou des animaux ayant consommés ces végétaux. Les acides linoléique et α -linoléique sont ainsi qualifiés d'indispensables (Cherfaoui 2012).

A contrario, l'Homme est en mesure de synthétiser l'ensemble des acides gras polyinsaturés à plus de 18 carbones grâce à des réactions en chaîne d'élongations (ajout d'atomes de carbone) et de désaturation (suppression d'atomes d'hydrogène) des précurseurs LA et ALA. Les élongations ont lieu dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique

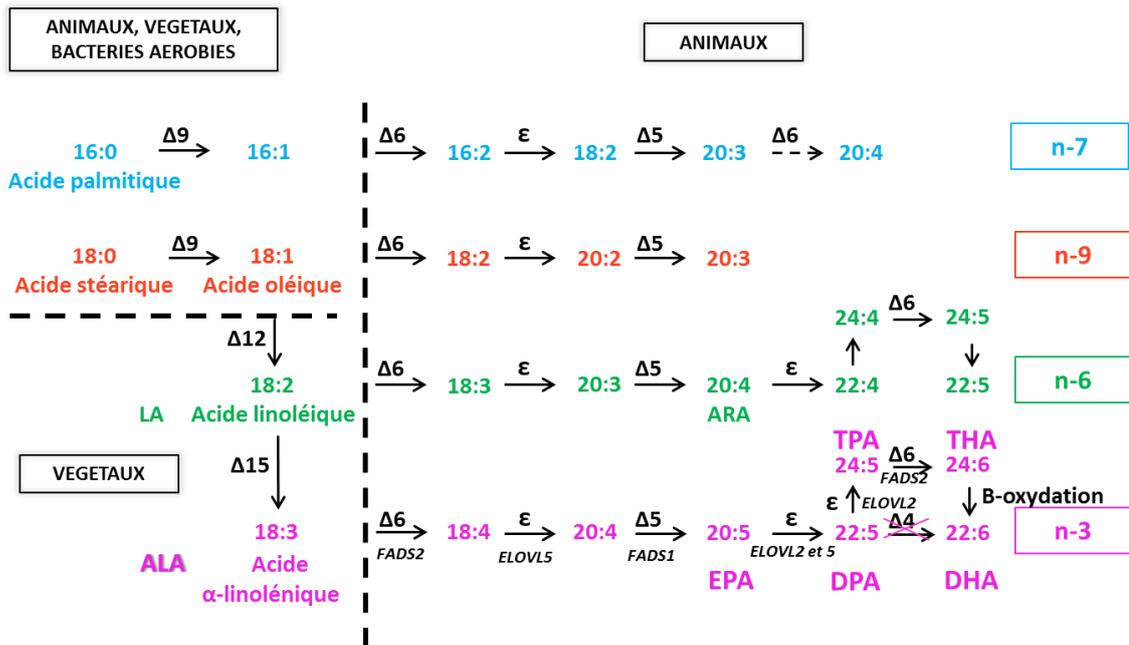


Figure 5. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés (Anses, 2011)

Le symbole Δ indique une désaturation, avec la place de la double liaison introduite repérée à partir du groupe carboxyle COOH. Le symbole ϵ indique une élongation. Les familles n-7 et n-9 ne sont pas essentielles car leur précurseur est synthétisable par l'Homme (et l'animal). Les familles n-6 et n-3 constituent les AG essentiels.

des cellules, alors que les désaturations ont lieu dans la membrane du réticulum. L'ensemble des cellules de l'organisme est concerné, malgré une prépondérance de la synthèse dans les cellules hépatiques et adipeuses. L'enchaînement d'élongations et de désaturations s'effectue de l'extrémité méthyle vers l'extrémité carboxyle et permet de conserver la structure n-6 et n-3 des deux précurseurs d'origine. Ces phénomènes sont induits par des enzymes désaturases ($\Delta 6$ et $\Delta 5$) et des élongases (ϵ) (Figure 5). Les acides gras obtenus à partir des précurseurs sont des dérivés comprenant de 20 à 24 atomes de carbone et dont l'ensemble forme les familles d'acides gras n-6 ou n-3 à longue chaîne (AGPI LC). Dans la famille des AGPI LC n-6, l'acide arachidonique (ARA, C20:4) est le principal dérivé, alors que dans la famille des n-3, les principaux dérivés sont l'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5), l'acide docosapentaénoïque (DPA, C22:5) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6).

La synthèse des dérivés de LA et ALA débute par une $\Delta 6$ -désaturation, suivie d'un enchaînement élongation/ $\Delta 5$ -désaturation/ deux élongations successives/ $\Delta 6$ -désaturation et d'une β -oxydation (Sprecher *et al.* 1995) (Figure 5). Le DHA et le C22:5 n-6 sont les dérivés terminaux de la synthèse des AGPI respectivement n-3 et n-6. Dans la famille des n-6, le C18:3 est d'abord converti en C20:3 qui est désaturé en C20:4, lui-même converti à son tour en C22:4 et C24:4 par deux élongations. Dans la famille des n-3, la première élongation permet de convertir le C18:4 en C20:4. La synthèse du DHA nécessite une étape terminale de β -oxydation peroxysomale à partir du DPA. Contrairement à ce qui a longtemps été supposé, le DHA n'est pas produit dans les microsomes à partir du DPA *via* l'action de la $\Delta 4$ désaturase. En revanche, l'EPA est allongé en DPA qui subit également une élongation au niveau des microsomes pour donner de l'acide tétracosapentaénoïque (TPA, C24:5). Le TPA passe dans les peroxysomes où il est désaturé en position 6 *via* une $\Delta 6$ désaturase pour donner l'acide tétracosahexaénoïque (THA, C24:6). Ce dernier est métabolisé en DHA après la perte de deux carbones issue d'un cycle de β -oxydation. Le DHA retourne ensuite dans le réticulum endoplasmique (Voss *et al.* 1991; Burdge et Calder 2005).

L'activité des élongases sur les acides gras à dix-huit et vingt atomes de carbone et les AGPI LC n-3 a été identifiée comme étant le produit de l'expression du gène ELOVL5 chez l'Homme (Leonard, Bobik *et al.* 2000). En revanche, Leonard, Kelder *et al.* 2002 ont identifié Elov12 et ELOVL2 respectivement chez la souris et l'Homme comme étant les gènes permettant l'élongation des AGPI LC à vingt et vingt-deux atomes de carbone. Toutefois, il semblerait que les élongases du gène 2 soient plus actives pour convertir les acides gras à vingt et vingt-deux atomes de carbone que pour convertir ceux à dix-huit atomes.

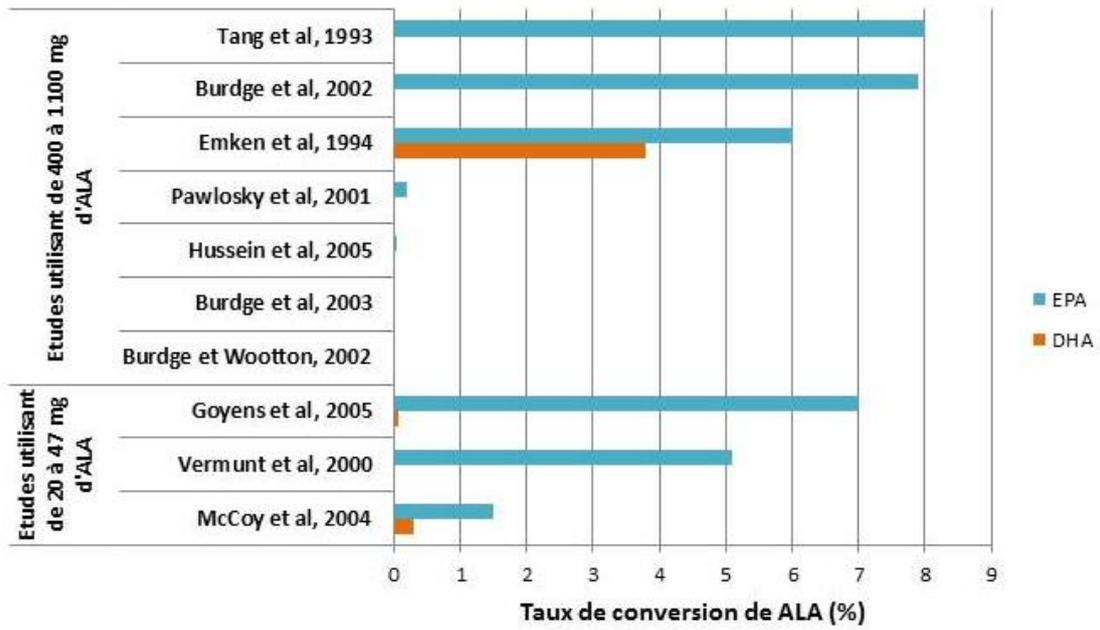


Figure 6. Taux de conversion de d'acide α -linoléinique chez l'Homme (Plourde, M. et Cunnane, S.C, 2007 ; Burdge, G. C. et Calder, P. C., 2005)

4. Les limites de la synthèse des AGPI LC n-3

4.1. Facteurs limitants

4.1.1. Taux de conversion du précurseur

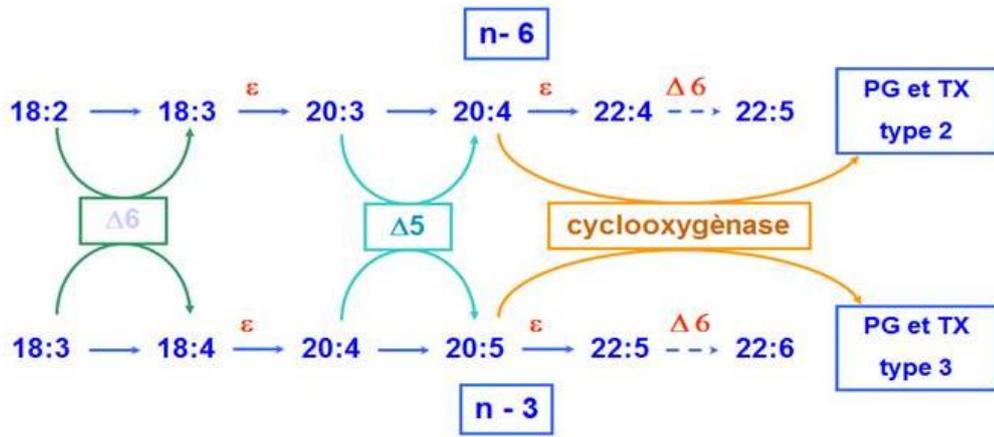
De nombreuses études ont montré que le taux de conversion du précurseur ALA en AGPI LC n-3 chez l'Homme était très faible, de l'ordre de 0,2 à 8,0% pour l'EPA (Brenna, J.T. 2002; Goyens *et al.* 2006; Igarashi *et al.* 2007; Plourde et Cunnane 2007) et entre 0,05% et 4,0% pour le DHA (Brenna, J. T. 2002; Burdge et Calder 2005). En revanche, les auteurs semblent en désaccord sur les taux de conversion de l'EPA et du DPA. Pawlosky *et al.* 2001 ont ainsi montré que les taux de conversion de l'EPA en DPA et du DPA en DHA étaient respectivement de 63,0 et 37,0% (Figure 6). A l'inverse, Goyens *et al.* 2005 n'ont détecté que 7,0% de taux de conversion de l'EPA en DPA et 1,0% des 7,0% du DPA vers le DHA.

L'ALA semble donc être une source limitée pour satisfaire les besoins en DHA de l'Homme. Par ailleurs, les taux de conversion peuvent varier selon l'espèce étudiée, le genre, l'âge, le régime et les statuts endocrinien, physiologique et pathologique. Par exemple, Burdge et Wootton 2002a ont démontré que les jeunes femmes avaient un meilleur taux de conversion de l'ALA en EPA et DHA que les hommes du même âge. L'action des œstrogènes ainsi qu'une plus forte β -oxydation chez ces dernières pourrait expliquer cette observation. De même, Rapoport *et al.* 2010 ont pu constater que les rats avaient un meilleur rendement hépatique que l'Homme pour synthétiser le DHA à partir d'ALA. Cette observation confirme les travaux *in vitro* de Descomps 2003, qui ont révélé que le rat désature dix fois plus que l'Homme, permettant ainsi au rongeur de satisfaire les besoins en DHA de son cerveau.

4.1.2. Rétroconversion du DHA

Au milieu des années 60, les phénomènes de rétroconversion du DHA ont été mis en évidence pour la première fois (Verdino *et al.* 1964; Schlenk *et al.* 1967). Schlenk *et al.* 1969 ont ensuite montré chez le rat que la rétroconversion du DHA en DPA avait lieu dans les peroxysomes et plus généralement dans les peroxysomes hépatiques. Le mécanisme de rétroconversion sera expliqué dans un paragraphe postérieur.

Les compétitions entre familles n-6 et n-3
pour les $\Delta 6$ et $\Delta 5$ désaturases et la cyclooxygénase



PG : prostaglandines; TX : thromboxanes

Figure 7. Compétition pour les désaturases et les élongases entre les familles d'acides gras n-3 et n-6

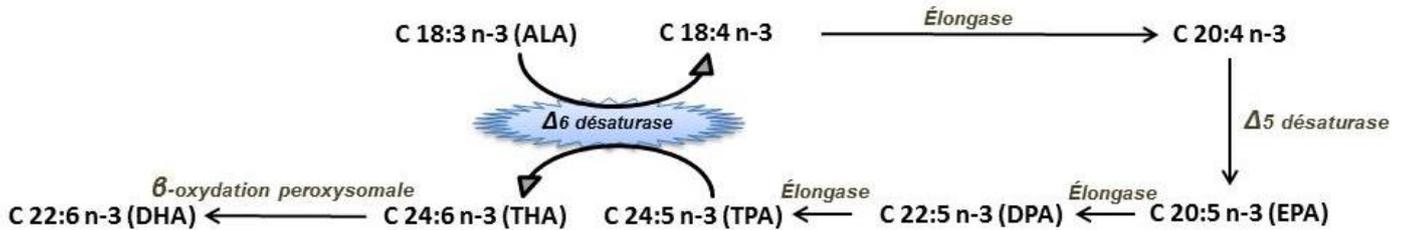


Figure 8. Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase entre le précurseur et les dérivés d'acides gras n-3 (Figure personnelle)

4.2. Activités et compétitions enzymatiques

4.2.1. *Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase entre les familles n-6 et n-3*

Chez les mammifères, les enzymes désaturases $\Delta 5$ et $\Delta 6$ sont impliquées dans la synthèse des AGPI n-6, mais également des n-3. Certains scientifiques ont ainsi mentionné que les deux voies métaboliques se trouvaient en concurrence pour ces enzymes (Lavialle et Layé 2010).

Selon le même principe que pour le DHA, les quantités de C18:2 n-6 ingérées impactent le taux de conversion du précurseur LA en ses dérivés à longue chaîne. Ainsi, selon Emken *et al.* 1994, une différence de sélectivité de la $\Delta 6$ désaturase entre les précurseurs n-6 et n-3 pourrait expliquer des taux de conversion variables entre les deux familles. La $\Delta 6$ désaturase pourrait en effet avoir une plus forte affinité pour la famille des n-6. Cette affinité serait en outre deux à quatre fois plus importante chez l'Homme que dans les microsomes de rat ou les plaquettes de truie. De plus, ces mêmes chercheurs ont supposé sans réussir à le montrer que le C18:2 n-6 alimentaire pouvait inhiber la désaturation du C24:5 n-3 en C24:6 n-3, suggérant que le C18:2 n-6 influencerait davantage l'activité de la $\Delta 6$ désaturase que son affinité. Ainsi, une plus forte consommation de LA défavorise l'élongation de l'ALA en faveur de la voie des AGPI n-6. Cela réduit la conversion de l'ALA en EPA et DHA et à contrario augmente la production d'ARA (Ruxton *et al.* 2004; Lavialle et Layé 2010) (Figure 7).

4.2.2. *Compétition pour la $\Delta 6$ -désaturase dans la famille des AGPI n-3*

Dans les tissus gras ou maigre de porc, le dépôt de DHA à partir de son précurseur ALA semble atteindre un plateau indiquant qu'elle est limitée dans le temps (Mourot, J. données non publiées). Cette observation est également vérifiée dans les cellules phospholipidiques de foie humain en l'absence de substrats lipidiques de la famille des AGPI n-6. L'utilisation d'ALA alimentaire pour enrichir les tissus en DHA ne semble donc pas être une voie prometteuse, d'autant que la synthèse et l'accumulation de DHA dans les tissus font intervenir des processus multienzymatiques. Le plateau de synthèse du DHA suggère donc qu'il existe une compétition entre l'ALA et le C24:5 n-3 pour la $\Delta 6$ -désaturase (Figure 8) (Portolesi *et al.* 2007). Selon D'Andrea *et al.* 2002, la $\Delta 6$ -désaturase aurait une plus forte affinité pour l'ALA que pour son dérivé, ce qui laisse penser que la désaturation du C24:5 n-3 est inhibée par la concentration d'ALA, empêchant la synthèse de DHA (Portolesi *et al.* 2007). L'ALA est donc à la fois précurseur et compétiteur pour la synthèse du DHA.

Le faible taux de conversion d'ALA vers les AGPI LC n-3, la rétroconversion possible du DHA vers EPA et l'existence de compétitions pour la $\Delta 6$ -désaturase constituent des facteurs limitants de la synthèse des AGPI LC n-3.

5. Transport membranaire ou captage des lipides par les tissus « cibles »

Le captage par les tissus des acides gras présents dans le sang et provenant d'une sécrétion hépatique ou de l'alimentation constitue la première étape limitante à leur dépôt tissulaire (Schwenk *et al.* 2010). Une fois qu'ils ont été captés par les tissus et qu'ils ont été introduits dans les cellules, les AGPI n-3 peuvent suivre différentes voies métaboliques qui constituent alors une seconde étape limitante à leur dépôt. Trois voies métaboliques entrent en jeu, à savoir celle du catabolisme lipidique par β -oxydation au niveau des peroxysomes et des mitochondries, une peroxydation d'origine enzymatique ou non et enfin une estérification permettant le stockage des acides gras sous forme de phospholipides (Ratnayake et Galli 2009).

Les acides gras présents dans le compartiment sanguin qui sont liés à l'albumine doivent être résorbés afin d'être estérifiés en triglycérides, monoglycérides ou phospholipides pour pouvoir passer à travers les membranes cellulaires. Ils se présentent alors sous forme libre neutre ou ionisé et c'est leur caractère amphipatique qui leur fournit les capacités « d'ouvrir » la bicouche phospholipidique. Cependant, leur transport transmembranaire requiert plusieurs conditions physiologiques particulières. Tout d'abord, il exige que le ratio entre acides gras et albumine soit compris entre 0,25 et 10,0 pour un rendement en acides gras libre estimé de 5,0 à 50,0 nM. Dans le cas contraire, la trop grande affinité de l'albumine pour les acides gras limite leur transfert à travers les membranes. De ce fait, les cellules doivent avoir également une grande affinité pour permettre le recrutement des acides gras et elles doivent être capables de transférer les acides gras sans retour en arrière possible vers l'albumine (Abumrad *et al.* 1999; Hajri et Abumrad 2002). Ensuite, il incombe au milieu extracellulaire d'être à un pH proche de la neutralité (pH = 7,4) pour favoriser le transfert. Enfin, il a été démontré que les formes neutres, non protonées d'acides gras transitent mieux que les formes ionisées. C'est le cas notamment des acides gras à chaîne courte ou moyenne (Hamilton 1999). L'absorption des acides gras par les cellules est sensible à certains inhibiteurs anioniques qui peuvent bloquer la majeure partie du processus, suggérant que la forme anionique des acides gras est la plus efficace pour transiter (Hajri et Abumrad 2002).

Pour traverser les membranes plasmiques et atteindre le cytoplasme des cellules, trois mécanismes ont été mis en évidence. Les acides gras transitent soit par un mécanisme de flip-flop mettant en jeu des vésicules, soit par un mécanisme faisant intervenir des protéines de transport qui participent de manière passive, soit par un mécanisme qui fait intervenir les deux solutions précédentes. Dans le premier cas, ce sont les acides gras ionisés qui traversent plus rapidement que les formes neutres (Abumrad *et al.* 1999; Hamilton 1999). Ce transport passif implique cinq étapes de cinétique différentes dont la dissociation des acides gras de l'albumine, la diffusion à travers la phase aqueuse extracellulaire, l'insertion dans la membrane via la vésicule, le mouvement de flip-flop et enfin la dissociation des acides gras de la membrane interne. Toutefois, le mouvement de flip-flop et la dissociation de la membrane sont dépendants de la taille des acides gras, tandis que seul le mouvement est dépendant de la température (Russo *et al.* 1997). Des études ont mis en évidence que les mouvements de flip-flop limitaient les transferts suggérant qu'ils ne sont adaptés qu'à des cellules simples comme les érythrocytes, mais pas à des cellules complexes. Il a été conclu que ces mouvements devaient alors être 1,5 à 50,0 fois trop lents pour permettre de répondre aux besoins en acides gras des cellules musculaires (Hajri et Abumrad 2002). En outre, la perméabilité de l'acide palmitique a été estimée à $1,61 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ soit 15 secondes de flip-flop (Hamilton et Brunaldi 2007). Dans le deuxième cas, le transfert des acides gras implique des protéines de transport à savoir une Fatty Acid Transport Protein (FATP), une translocase (FAT/CD36), une protéine de cavéoline ou une Fatty Acid Binding Protein (FABPpm). Il s'agit de protéines transmembranaires dans les deux premiers cas et de protéines membranaires périphériques dans les deux derniers cas.

Il existe six formes différentes de FATP, chacune préférentiellement localisées dans des tissus possédant une forte activité métabolique des acides gras comme le tissu adipeux pour FATP1, le cœur pour FATP1 et 6, le muscle pour FATP1, le foie pour FATP2, 4 et 6, les reins pour FATP2 et 4 ou encore les poumons pour FATP3, le cerveau pour FATP4 et l'intestin pour FATP4. Ces protéines transportent de préférence les acides myristique, palmitique et arachidonique, indiquant que les sites de liaison entre la protéine et les acides gras ont des spécificités. Elles possèdent toutes un domaine de liaison à l'ATP qui permet de former des intermédiaires d'adénylates dont des synthétases d'acyl-CoA d'acides gras à longue chaîne qui estérifient les acides gras en Acyl-CoA. Ces Acyl-CoA améliorent l'entrée des acides gras dans les cellules probablement en diminuant les concentrations d'acides gras dans le compartiment extracellulaire et créant ainsi un gradient de concentration entre les

compartiments extra et intracellulaires (Abumrad *et al.* 1999; Hajri et Abumrad 2002; Hamilton et Brunaldi 2007). Les translocases FAT identifiées dans le tissu adipeux de rat et CD36 son équivalent chez l'Homme sont des protéines possédant deux segments transmembranaires situés au niveau de radeaux (« rafts ») lipidiques riches en protéines cavèoline, deux segments intracellulaires très courts et un long segment extracellulaire glycosylé. Dans son rôle de protéine de transport, CD36 est capable de se lier à de multiples ligands comme les lipoprotéines et aux acides oléique, palmitique, stéarique et linoléique dans le tissu adipeux. Comme pour FATP, CD36 s'exprime préférentiellement dans les tissus ayant une forte capacité métabolique pour les acides gras comme le muscle, le tissu adipeux ou les intestins, mais son activité est faible dans le foie. Il a été démontré que CD36 est aussi bien impliqué dans le transport des acides gras que dans leur oxydation. C'est pour cette raison qu'il est principalement présent dans les muscles squelettiques à fibres oxydatives comparativement aux muscles possédant des fibres glycolytiques. Les protéines de cavèoline sont des protéines périphériques liées aux membranes au niveau de rafts nommés cavèoles. Il existe trois classes de cavèolines nommées cavèoline-1, -2 ou -3. Les formes 1 et 2 sont exprimées de manière ubiquitaire, tandis que la forme 3 est spécifique du muscle. La cavèoline-1 participe à l'absorption des acides gras par certains tissus (tissu adipeux, cellules endothéliales et poumon) et à leur métabolisme, notamment la production de triglycérides. La cavèoline-1 est abondante dans les adipocytes, où elle participe à la livraison d'acides gras aux sites de stockage comme les gouttelettes lipidiques. Selon certaines études, l'absorption au niveau des cavèoles serait concomitante à l'expression de la cavèoline-1 et de CD36 ou FAT. Chez des souris déficientes en cavèoline-1, CD36 ne se lierait pas convenablement aux cavèoles de la membrane ce qui réduirait l'absorption des acides gras. Cette modification de localisation de CD36 serait en outre associée à une modification du profil en acides gras. La dernière protéine impliquée dans l'absorption des acides gras est une protéine périphérique associée à la membrane plasmique interne du foie, du tissu adipeux, du cœur, de l'intestin ou de l'endothélium vasculaire. Les preuves de son implication dans l'absorption des acides gras a initialement été démontrée sur sa capacité à se lier à l'acide oléique. Il s'agit de FABPpm qui, associée à CD36, est également impliquée dans l'oxydation des acides gras. Le muscle squelettique rouge de rat contient en outre 80% plus de FABPpm que le muscle squelettique blanc, ce qui est cohérent avec une plus forte capacité oxydative du muscle rouge (Abumrad *et al.* 1999; Hajri et Abumrad 2002; Schwenk *et al.* 2010).

L'ensemble de ces protéines permet le passage des acides gras à travers la membrane phospholipidique, mais l'efficacité de passage est plus ou moins grande. CD36 et FATP4 sont par exemple respectivement 2,3 et 1,7 fois plus efficaces que FABPpm et FATP1 (Schwenk *et al.* 2010). Une fois arrivés sur la membrane interne des cellules, les acides gras vont devoir quitter leur transporteur. La désorption spontanée des acides gras de leur transporteur transmembranaire est un phénomène rapide qui prend moins d'une seconde pour les acides gras saturés entre 14 et 26 carbones. Ce temps de désorption est multiplié par dix avec l'ajout d'un groupe CH₂ sur la chaîne acyle (Hamilton 1999).

En raison de forts besoins en AGPI n-3, un grand nombre d'études s'est intéressé au captage de ces acides gras par le cerveau (Brossard *et al.* 1997; Polozova *et al.* 2006; Chen *et al.* 2008; Mitchell et Hatch 2011), en comparaison à d'autres tissus. Des travaux ont montré que le transport le plus probant de ces acides gras serait une diffusion simple des AGPI n-3 *via* un mouvement de flip-flop à travers la barrière hémato-encéphalique (Hamilton et Brunaldi 2007; Ouellet *et al.* 2009). D'autres études ont montré que la très bonne corrélation entre la composition en AGPI n-3 des phospholipides des cellules sanguines et celle du muscle, des reins, du cœur ou du foie suggère plutôt une diffusion passive de ces acides gras (Tu *et al.* 2013), tandis que les AGPI n-3 diffuseraient conjointement de manière passive et à l'aide de protéines à travers la membrane hépatocytaire (Zhou *et al.* 2010). Enfin, le DHA transiterait préférentiellement à travers la membranaire adipocytaire grâce à l'intervention de la protéine CD36 (Kontrová *et al.* 2007).

6. Métabolisme tissulaire des AGPI n-3

Une fois dans les cellules, les AGPI n-3 entrent dans une des quatre voies métaboliques suivantes : une β -oxydation, une rétroconversion des acides gras à longue chaîne, une peroxydation pouvant être induite par des enzymes ou une estérification.

6.1. β -oxydation

La β -oxydation des acides gras à longue chaîne s'effectue soit dans la matrice des mitochondries, soit dans les peroxysomes. La β -oxydation mitochondriale permet de générer des groupes d'acétyl-CoA, tandis que la β -oxydation peroxysomale permet la synthèse de DHA par raccourcissement des chaînes d'acides gras à partir du C24:6 n-3. Il est difficile d'estimer la contribution de chacun des organites dans la β -oxydation des différents AGPI (Osmundsen *et al.* 1991b). Les AGPI n-3 à longue chaîne qui se trouvent dans le cytosol entrent dans l'un des deux organites *via* un transporteur. Ce dernier se nomme ATP binding

cassette (ABC), dont la sous famille D (ABCD) a été identifiée chez les mammifères. ABCD, qui se divise en deux hétéromères ABCD1 et ABCD2, participe au transport transmembranaire des acides gras à très longue chaîne et est activé par une acyl-CoA synthétase au niveau de la membrane externe de la mitochondrie et de celle des peroxysomes (Schulz 1991; Morita et Imanaka 2012). En plus d'activer le transport, l'acyl-CoA synthétase permet de transformer les acides gras en acyl-CoA à très longue chaîne comme l'ARA (Schulz 1991).

Les acyl-CoA qui se trouvent dans l'espace inter-membranaire des mitochondries doivent alors transiter à travers la membrane interne imperméable. Pour cela, ils sont transférés à l'aide d'une carnitine acyltransférase (CPT 1) et d'une acylcarnitine translocase. A ce stade, du malonyl-CoA peut intervenir pour inhiber l'action de la CPT 1 et ainsi réguler la β -oxydation mitochondriale. Une fois dans la matrice, les acyl-CoA à très longue chaîne entrent dans quatre cycles de β -oxydation constitués d'une déshydrogénation des acyl-CoA (oxydation par du FAD), puis d'une hydratation des 2-*trans*-enoyl-CoA, d'une deuxième déshydrogénation (oxydation par du NAD⁺) et enfin d'un clivage du 3-ketoacyl-CoA thioester (thiolyse par un CoA). Le 3-ketoacyl-CoA thioester donne un acyl-CoA raccourci de deux atomes de carbone et un acétyl-CoA. Ces réactions ont été mises en évidence dans les mitochondries de foie de rat et de bovin, de cœur de bovin et de porc (Schulz 1991). L'acétyl-CoA entre dans un cycle de Krebs au niveau de la matrice et permet à son tour de fournir du FADH₂ et du NADH. Ces deux éléments sont enfin oxydés dans la chaîne respiratoire de la membrane mitochondriale interne pour produire de l'ATP. Il faut noter que contrairement à la β -oxydation mitochondriale des AGS, celle des AGPI nécessite un apport énergétique soit sous forme de NADPH dans les mitochondries couplées, soit sous forme d'ATP dans les mitochondries découplées (Schulz et Kunau 1987). Il est possible que des AGPI, comme l'acide linoléique soient convertis en thioester-CoA avant de passer dans les cycles de β -oxydation pour permettre la dégradation des doubles liaisons *cis*. La Δ^3 -*cis*- Δ^2 -*trans*-enoyl-CoA isomérase est responsable de cette conversion à la fois au niveau des mitochondries de foie de rat, mais également des peroxysomes (Schulz et Kunau 1987; Schulz 1991).

La β -oxydation peroxysomale des AGPI nécessite des cycles et l'intervention d'enzymes supplémentaires pour agir sur les doubles liaisons. Deux chemins de dégradations sont possibles, à savoir une voie dépendante d'une 3-hydroxyacyl-CoA épimérase et une deuxième voie faisant intervenir une réductase 2,4 dienoyl-CoA NADPH dépendante. Toutefois, il n'existe pas de protéine seule capable d'effectuer l'épimérisation. Cette étape

nécessite en effet un processus conjoint de déshydratation-hydratation induit par deux 2-enoyl-CoA hydratases (Schulz et Kunau 1987; Schulz 1991; Hiltunen *et al.* 1993). Un faible pourcentage d'AGPI est dégradé *via* l'épimérase (Schulz 1991) et les acides éruciques, oléique, LA, ALA et DHA sont raccourcis avec deux à trois cycles de β -oxydation peroxysomale dans le foie et le cœur de rat.

Contrairement à la β -oxydation des AGPI dans les mitochondries, celle ayant lieu dans les peroxysomes est incomplète. Le raccourcissement de chaîne par la β -oxydation peroxysomale permet de fournir des acides gras à chaîne courte qui sont d'excellents substrats pour la β -oxydation mitochondriale, expliquant que les AGPI à longue chaîne soient faiblement oxydés par cet organite (Osmundsen *et al.* 1991b). Toutefois, la part d'intervention des deux organites dans la β -oxydation dépend des AGPI eux-mêmes. Dans les mitochondries de foie de bovin, plus de 50% d'ALA est dégradé par β -oxydation contre 27% pour LA, ce qui représente une oxydation 3,2 fois plus importante pour l'ALA par rapport à LA (Gruffat *et al.* 2011). De même, l'EPA serait préférentiellement dégradé dans les mitochondries de foie de rat, à la différence du DHA qui le serait préférentiellement dans les peroxysomes (Madsen *et al.* 1998).

6.2. Rétroconversion

Les peroxysomes participent à la fois à la synthèse et à la rétroconversion du DHA. Le DHA, mais également le DPA n-3 peuvent être rétroconvertis en EPA par un cycle de β -oxydation utilisant une Δ^4 -enoyl-CoA réductase ainsi qu'une Δ^3 et Δ^2 enoyl-CoA isomérase (Gronn *et al.* 1991). Tout d'abord, le DHA gagne une double liaison 2-trans introduite grâce à l'intervention d'une acyl-CoA oxydase et des Δ^3 et Δ^2 enoyl-CoA isomérases. Puis il perd sa double liaison 4-*cis*, réduite par du NADPH grâce à une 2,4-dienoyl-CoA réductase. Une fois ces deux étapes effectuées, le DHA rentre dans un cycle de β -oxydation pour donner du DPA. Finalement, le taux de rétroconversion du DHA plasmatique atteindrait 9% chez le rat contre 0,5 à 4% chez l'Homme (Gronn *et al.* 1991; Burdge et Wootton 2002b). Cette différence pourrait venir d'une distribution endogène des AGPI n-3 plus efficace chez les rongeurs que chez l'être humain. En effet, 41% du DHA plasmatique est estérifié en triacylglycérols chez le rat contre 9% chez l'Homme, sans doute du fait d'une plus faible activité des enzymes hépatiques humaine (Brossard *et al.* 1996). Conquer et Holub 1997 ont par ailleurs montré que le taux de rétroconversion chez l'Homme était identique à 9,4% quel que soit son régime (omnivore ou végétarien). Les différences de résultat entre ces derniers et Brossard *et al.*

(1996), proviennent vraisemblablement des différences de durée d'expérimentation (respectivement quarante-deux jours et un jour) et de la forme des lipides ingérés (respectivement capsule de DHA et triacylglycérols). (Tam *et al.* 2008) ont en outre révélé l'existence d'une rétroconversion du C22:5 n-6 en ARA.

6.3. Péroxydation

La troisième voie catabolique des AGPI n-3 est une peroxydation pouvant faire intervenir des enzymes. L'EPA et le DHA sont catabolisés pour produire des résolvines, respectivement de la série E et D, des protectines ou des marésines à partir du DHA uniquement. La synthèse de ces médiateurs lipidique implique la formation d'intermédiaires à l'aide d'enzymes que sont les cyclo-oxygénases dans le cas des résolvines et les lipoxygénases dans le cas des résolvines, protectines et marésines. Ces intermédiaires subissent ensuite une époxydation et une hydrolyse ou une conversion enzymatique pour former les médiateurs impliqués dans les processus anti-inflammatoires (Lefis-Lacourtablaise 2010). Toutefois, la peroxydation peut avoir lieu sans l'intervention d'enzymes, les AGPI étant sensibles aux phénomènes de lipoperoxydation. En plus des AGPI, deux molécules sont mises en jeu dans ce processus, à savoir des espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) et des antioxydants. La famille d'ERO comprend des dérivés non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et des radicaux libres oxygénés. Les ERO sont des molécules oxydantes très instables, dont le principal processus de production des radicaux libres oxygénés est la chaîne respiratoire mitochondriale. Les AGPI LC, qu'ils soient estérifiés sous forme de triglycérides, phospholipides ou d'esters de cholestérols ou non, constituent des cibles privilégiées des ERO en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Cette particularité est d'autant plus vraie que leur degré d'insaturation est élevé. Une équation de peroxydation (P) estimant la concentration en hydrogène bis-allylique a été mise en place à partir des études de Hu *et al.* 1989; Nagyová *et al.* 2001: $P = (\% \text{ diénoïque}) + (\% \text{ triénoïque} \times 2) + (\% \text{ de tétraénoïque} \times 3) + (\% \text{ pentaénoïque} \times 4) + (\% \text{ hexaénoïque} \times 5)$.

La peroxydation des AGPI est une réaction radicalaire qui s'effectue selon un enchaînement de trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Frankel 1998). Elle aboutit à la formation de plusieurs types de peroxydes et de produits secondaires. Le dialdéhyde malonique ou malondialdéhyde (MDA) est un produit secondaire provenant de l'oxydation des AGPI n-3 (Ayala *et al.* 2014). Les situations de stress, qu'il soit d'origine inflammatoire, infectieuse, physique, émotionnelle, environnemental (changement des habitudes, pour l'Homme par exemple, ou changement climatique brusque ou conduite

intensive pour l'animal) ou nutritionnelle (régime pour l'Homme ou restriction alimentaire pour l'animal), provoquent des désordres physiologiques à l'origine d'une surproduction d'ERO. Il s'agit d'un « stress oxydant », dont le processus a été mis en évidence chez l'animal. Dans les cas d'études, le transport, un stress émotionnel avant abattage et un changement climatique brusque sont à l'origine d'un stress chez les ruminants se traduisant respectivement par l'apparition de MDA dans le sérum ou une élévation de la cortisolémie en association à une augmentation du niveau de MDA du plasma, une augmentation de l'intensité de lipoperoxydation de la viande et une augmentation du taux de lipoperoxydation du plasma (Bernabucci *et al.* 2002; Gladine 2006; Gobert 2010). De la même façon, le stress engendré par le transport à l'abattoir par exemple chez les monogastriques tel que le porc a un effet direct sur la qualité de la viande telle que la flaveur, la couleur, la texture, la valeur nutritive et son statut sanitaire (Buckley *et al.* 1995). Il entraîne, en outre, une détérioration des qualités nutritionnelle et organoleptique respectivement par une diminution des quantités d'AGPI présents dans le tissu musculaire et une perte en vitamines, tout en produisant une odeur désagréable due au rancissement. Les viandes de porcs ou de volailles issus d'animaux stressés sont alors dénommées viande PSE pour « pale, soft, exsudative » en raison de leur apparence claire, molle et humide (Barbut *et al.* 2008). L'autre effet délétère de la lipoperoxydation est sa tendance à favoriser la production de composés toxiques qui se retrouvent dans la viande et qui sont potentiellement dangereux à long terme pour l'organisme du consommateur. Les aldéhydes et le fer héminique retrouvés dans la viande rouge font partie de ces métabolites considérés comme toxiques pour l'Homme à long terme. Ils sont en outre impliqués dans les phénomènes d'athérosclérose ou de cancer (Draper *et al.* 1986; Du *et al.* 2001; Pierre *et al.* 2003).

Pour limiter l'oxydation des acides gras de la viande, l'alimentation des animaux peut être enrichie en antioxydants. Les antioxydants interagissent avec les oxydants afin de rétablir l'équilibre ionique des cellules. Ils peuvent être de nature endogène ou exogène et donc être apportés par l'alimentation. Il existe divers antioxydants exogènes dont l'origine est fonction de leur solubilité. Certains sont liposolubles comme les tocophérols, tocotriénols, les β -carotènes et les lycopènes, d'autres sont hydrosolubles comme les vitamines C et E et l'acide ascorbique et enfin les derniers peuvent être à la fois liposolubles et hydrosolubles comme les polyphénols. Les principales sources alimentaires d'antioxydants pour l'Homme sont les fruits, les légumes, les plantes comme le curcuma ainsi que les boissons telles que le thé, le café ou le vin (Pulla Reddy et Lokesh 1994a, b; Ozsahin *et al.* 2011; Liu *et al.* 2015).

L'alimentation des animaux d'élevage peut quant à elle contenir des antioxydants végétaux tels que la vitamine E ou l' α -tocophérol provenant d'huiles végétales (Oriani *et al.* 2001; D'Arrigo *et al.* 2002a; D'Arrigo *et al.* 2002b; Hoz *et al.* 2003; Hoz *et al.* 2004; Sarraga *et al.* 2007; Kouba et Mourot 2011). Les antioxydants agissent selon deux modes d'action. Ils peuvent inhiber la formation ou intercepter les espèces réactives de l'oxygène. Il s'agit alors de chélateurs de métaux, de désactivateurs ou de piègeur d'oxygène ou de réducteurs d'hydroperoxydes. Ils peuvent également intercepter les radicaux propagateurs de la peroxydation lipidique. Dans ce cas il s'agit de donneurs d'hydrogène (Cherfaoui 2012).

Quelques études ont mis en évidence les préférences métaboliques des AGPI n-3. Il a par exemple été montré chez l'animal jeune que 200 fois plus d'atomes de carbone issus de l'ALA étaient recyclés par β -oxydation pour la synthèse de nouveaux acides gras plutôt que pour la synthèse de DHA (Cunnane 2004). De la même façon, Lin et Salem 2007, ont montré que 78% d'une dose d'ALA ingérée par des rats étaient dégradés par voie mitochondriale, tandis que 16% se seraient déposés dans les tissus et que les 6% restant auraient effectivement été convertis en AGPI à plus longue chaîne. Dans le cerveau de souris, 20% de l'EPA présent sont catabolisés, ce qui représente une β -oxydation de l'EPA 2,5 plus importante que celle du DHA (Chen *et al.* 2009). Cette observation est expliquée par le fait que la carnitine acyltransférase CPT1 aurait une plus forte affinité pour l'EPA que pour le DHA (Gavino et Gavino 1991). Enfin, il semblerait que la β -oxydation et la rétroconversion du DHA du plasma chez l'Homme augmenteraient avec l'âge, expliquant le déclin des fonctions cognitives (Plourde *et al.* 2011).

6.4. Estérification

L'ensemble des AGPI n-3 présents dans les lipides neutres (simples) ou polaires (complexes) et non catabolisés par l'une des trois voies précédentes subiront une estérification. Parmi les lipides polaires estérifiés se trouvent les glycérophospholipides (GP) et les sphingolipides des membranes cellulaires et des organites. Les glycérophospholipides les plus importants sont les phosphatidylethanolamine (PE), les phosphatidylinositol (PI), les phosphatidylsérine (PS) et les phosphatidylcholine (PC) tandis que les sphingolipides les plus importants sont représentés par la sphingomyéline.

L'ensemble des GP présente une structure commune qui consiste en deux acides gras estérifiés en positions *sn*-1 et *sn*-2 du glycérol et en une position *sn*-3 composée d'un groupe phosphate. L'éthanolamine, l'inositol, la sérine et la choline ont été identifiées comme

appartenant à ce groupe. La biosynthèse des GP est à l'origine de la formation d'acide phosphatidique (AP) qui devient le substrat de deux voies enzymatiques. La première voie permet la synthèse de diacylglycérol par suppression du groupe phosphate de la position *sn-3* tandis que la deuxième voie consiste en une estérification des acides gras également au niveau de la position *sn-3* pour former des triacylglycérols. L'AP permet également la synthèse de PC et de PE par addition respective de choline ou d'éthanolamine. Les PC, qui représentent la plus importante part des GP, sont préférentiellement localisés dans la membrane externe des cellules, jouant un rôle important dans la sécrétion des VLDL par le foie et gouvernant ainsi la distribution du cholestérol et des lipides aux organes et tissus. Les PE qui représentent 20 à 30% des phospholipides membranaires sont principalement (80%) localisés dans les membranes internes et les mitochondries. Ils ont un rôle de stabilité des membranes, notamment grâce à leur petite taille. Contrairement aux procaryotes, la biosynthèse des PS chez les eucaryotes requière la présence de PE et PC dans les réticulum endoplasmiques. Les PC perdent leur choline alors que les PE perdent leur éthanolamine au profit de la sérine pour donner des PS. Ces derniers représentent 5 à 10% des phospholipides et ils sont principalement localisés dans les membranes internes. Toutefois, lorsqu'ils se trouvent dans les membranes externes, les PS ont un rôle dans la coagulation et l'apoptose cellulaire *via* une stimulation de la protéine kinase C (PKC). La forme anionique de la tête des PS favorise leur interaction avec les protéines membranaires chargées positivement et ils facilitent ainsi le contact entre les protéines et leurs récepteurs. Enfin, les PI sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique à partir de molécules de cytidine diphosphate diacylglycérol (CDP-DAG) et d'inositol. Les membranes internes contiennent environ 10% de PI indispensables à leur structure et au fonctionnement des voies de signalisation.

La sphingomyéline est un lipide spécifique aux cellules animales constitué de céramide liée à une phosphorylcholine en position *sn-1*. Avec les PC, ils se trouvent majoritairement dans les membranes externes et sont responsables de la formation des rafts lipidiques. La sphingomyéline est principalement constituée d'acides gras saturés dont la chaîne contient plus de seize atomes de carbone (Castro-Gomez *et al.* 2015).

Parmi les acides gras n-3, les chaînes acyles des phospholipides des membranes cellulaires de la rétine, du sperme et des synapses contiennent presque 50% molaire de DHA. Le DHA se trouve principalement au niveau des positions *sn-1* et *sn-2* des chaînes acyles qui se composent également d'acides gras saturés C16:0 et C18:0. Il a été montré que le DHA s'incorpore rapidement dans ces phospholipides de membranes plasmiques mais aussi dans

Tableau 1. Rôles physiologiques des acides gras polyinsaturés

Rôles physiologiques	Effets bénéfiques potentiels	Maladies cibles	AGPI impliqués	Auteurs
Régulation de la pression sanguine	Baisse de la pression sanguine	Hypertension, MCV	AGPI n-3	(<i>Simopoulos, 1991</i>)
Régulation de la fonction plaquettaire	Baisse de la probabilité de thrombose	Thrombose, MCV	C20:5 n-3 (EPA) C22:6 n-3 (DHA) C20:4 n-3 ou C20:3 n-6	(<i>Simopoulos, 1991</i>)
Régulation de la coagulation sanguine	Baisse de la concentration plasmatique de TG	Thrombose, MCV		
Régulation de la concentration plasmatique en TG	Amélioration de la réactivité vasculaire	Hypertriglycéridémie, MCV	C22:6 n-3 (DHA)	
Régulation de la fonction vasculaire	Baisse des arythmies cardiaques	MCV	C20:5 n-3 (EPA) C22:6 n-3 (DHA) C22:5 n-3 (DPA)	(<i>Simopoulos, 1991 ; Christensen et al, 1996</i>) (<i>Di Stasi et al, 2004</i>)
Régulation du rythme cardiaque	Augmentation de la variabilité de la fréquence cardiaque	MCV		
Régulation de la fréquence cardiaque	Baisse de l'inflammation	MCV		
Régulation de l'inflammation	Amélioration de la fonction immunitaire	Maladies inflammatoires (arthrite, asthme, psoriasis,...), MCV	C20:5 n-3 (EPA)	
Régulation de la fonction immunitaire	Baisse de la synthèse et du stockage des TG	Problèmes d'immunité	C22:5 n-6	
Régulation du métabolisme des TG et des AG	Maintien de la masse osseuse	Perte et gain de poids, obésité		
Régulation du turnover osseux	Maintien de la masse osseuse	Ostéoporose		
Régulation de la sensibilité à l'insuline	Amélioration de la sensibilité à l'insuline	Diabètes de type 2		
Régulation de la croissance tumorale	Baisse de la croissance et de la survie tumorale	Cancers	AGPI n-3 C22:6 n-3 (DHA) C20:5 n-3 (EPA) Ratio AGPI n-6/n-3	(<i>Berquin et al, 2008</i>) (<i>Simopoulos, 2008</i>)
Régulation de la signalisation visuelle	Optimisation de la signalisation visuelle	Faible développement visuel chez l'enfant (notamment prématuré)	C18:4 n-3	
Composant structural du cerveau et du système nerveux central	Optimisation du développement cérébral (meilleurs processus cognitifs et d'apprentissage)	Enfants avec de faibles processus cognitifs et d'apprentissage	C18:3 n-3 (ALA)	

les mitochondries. Ils sont en outre prioritairement incorporés dans les PE, puis dans une moindre mesure dans les PC et autres classes de phospholipides. Le DHA s'incorpore prioritairement dans les PE et les PS de la membrane interne des érythrocytes. De façon générale, la distribution du DHA dans les différentes classes de lipides est hétérogène et leurs effets sur les protéines membranaires ont été étudiés (Stillwell et Wassall 2003).

Concernant la forme neutre des lipides, des esters éthyliques de DHA et d'EPA, obtenus industriellement, peuvent être commercialisés *via* les compléments alimentaires à la place de triacylglycérols issus d'huiles de poisson ou de crustacés. Cependant, il a été montré que l'incorporation d'EPA et de DHA dans les érythrocytes humains sous forme d'esters serait d'environ 15% plus faible que sous forme de triacylglycérols après trois ou six mois (Neubronner *et al.* 2011). De même, l'absorption intestinale et le transport lymphatique de l'EPA et du DHA sont optimum lorsque ces deux acides gras sont en position *sn-2* des triacylglycérols ingérés (Christensen *et al.* 1995).

7. Rôles physiologiques des AGPI au sein de l'organisme

Les AGPI LC remplissent de nombreux rôles au sein de l'organisme. Les AGPI n-6 sont impliqués dans des fonctions de reproduction, épidermique, plaquettaire, de réponse inflammatoire, et dans le système immunitaire. Les AGPI n-3 interviennent dans la vision, dans le développement fœtal et le fonctionnement du cerveau, dans les fonctions plaquettaire, de réponse inflammatoire, de physiologie vasculaire, nerveuse et ont un rôle hypotriglycéridémiant. Les AGPI n-3 sont également impliqués dans la prévention de nombreuses pathologies, en particulier les maladies cardiovasculaires et neurologiques (Tableau 1).

7.1. Rôle de structure des membranes cellulaires

Les membranes cellulaires sont constituées d'environ 40% de lipides, 52% de protéines et 8% de glucides en poids sec de membrane (Cooper 2000). Elles sont constituées de bicouches de phospholipides dans lesquelles viennent s'insérer les protéines globulaires, des glucides sous forme d'oligosaccharides et du cholestérol (Figure 9). Les membranes cellulaires assurent de multiples fonctions (compartimentation des cellules, échanges d'informations entre cellules, régulation des transports d'ions, de protéines et de sucres, mouvements cellulaires, régulation du métabolisme...) qui peuvent être modifiées par la composition en AGPI des phospholipides (Stillwell *et al.* 2005).

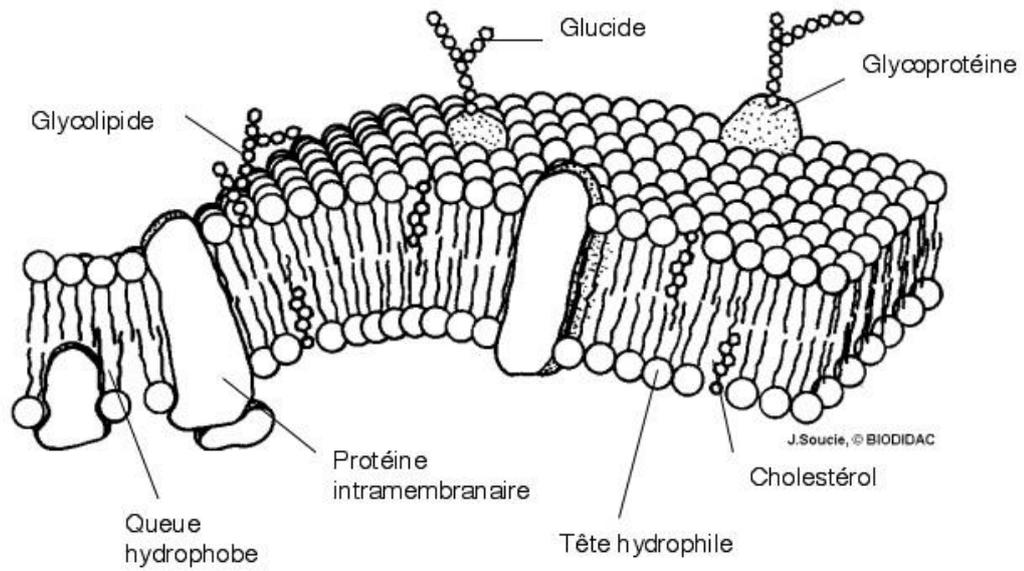


Figure 9. Bicouche lipidique des membranes cellulaires

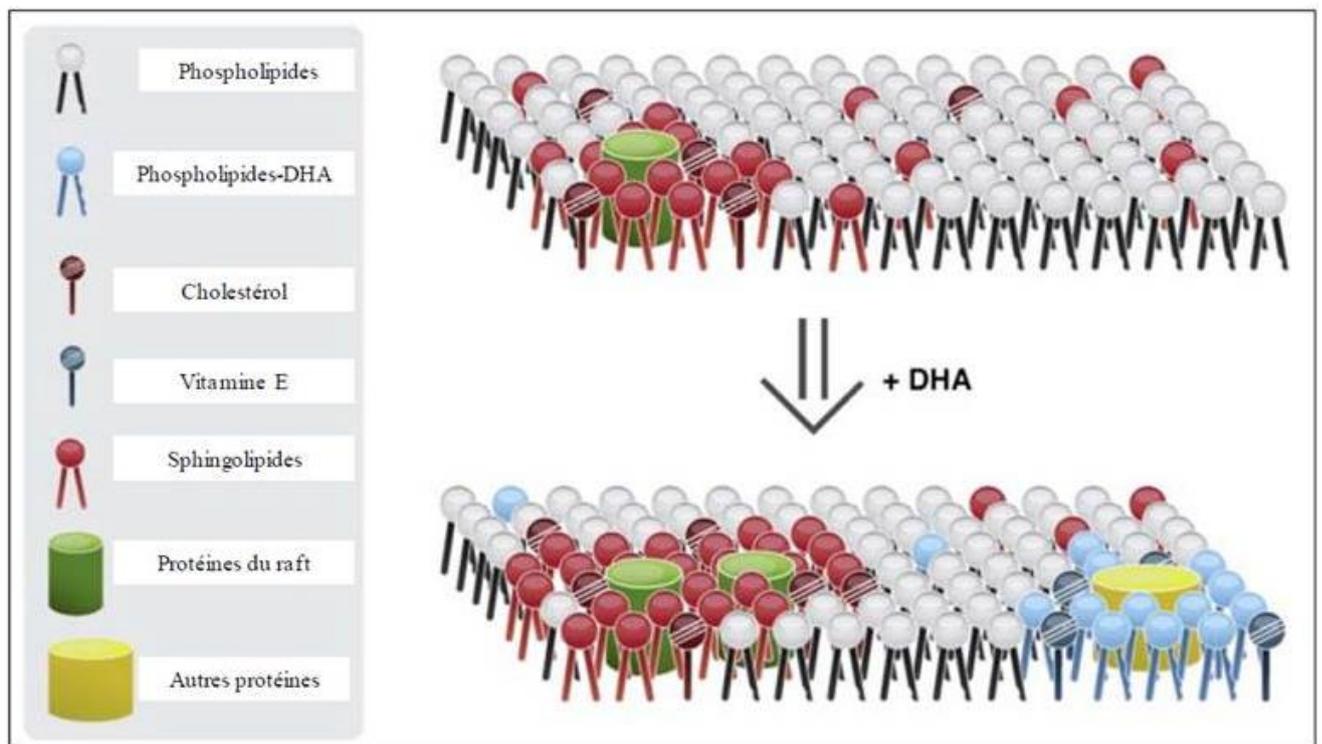


Figure 10. Impact du DHA sur les radeaux lipidiques (Wassall et Stillwell, 2009)

D'après Lavalie et Layé (2010), les phospholipides membranaires sont principalement constitués de LA, d'ARA et de DHA. Le nombre de carbones et de doubles liaisons des chaînes carbonées de ces AGPI LC impactent leur point de fusion et donc la fluidité membranaire. Une augmentation ou une diminution de la fluidité membranaire va avoir pour conséquence de modifier les activités des protéines (enzymes, transporteurs, récepteurs ou canaux ioniques) contenues entre les phospholipides. L'effet peut être direct ou indirect.

Dans le premier cas, la richesse en AGPI LC (augmentation du nombre de double liaison, diminution du point de fusion et donc augmentation de la fluidité membranaire) facilite les changements de conformation des protéines intrinsèques et donc leur activité. Un exemple est celui de l'impact du DHA sur le fonctionnement des membranes de la rétine. Par abus de langage, lorsque le mot « rétine » est employé, il s'agit en réalité de la rétine neurale associée à l'épithélium pigmentaire rétinien ou choroïde (Bretillon *et al.* 2010). La concentration en DHA influence la composition phospholipidique de la membrane des cellules photoréceptrices de la rétine neurale, générant ainsi un changement de conformation de la rhodopsine (photopigment rétinien). Cette dernière réceptionne les photons et les transforme en signal électrique afin de faire varier la sensibilité de l'œil à la lumière. Le DHA a donc un rôle important dans la vision, d'autant qu'il compose pour 15 % la totalité des AG présents dans les phospholipides de la rétine neural.

Dans le deuxième cas, il s'agit d'une séparation d'espaces membranaires plus ordonnés et donc moins fluides, appelés « radeaux lipidiques » ou « raft » en anglais. Ces radeaux, riches en acides gras saturés, sphingolipides et cholestérol sont associés à des complexes protéiques actifs impliqués dans la signalisation intracellulaire. Ces complexes peuvent ainsi interagir et s'activer de façon très différente des protéines individualisées (Guillevic 2009; Lavalie et Layé 2010; Cherfaoui 2012). Dans certains cas, les AGPI n-3 alimentaires peuvent modifier la structure des rafts lipidiques. Cependant, il semblerait qu'ils ne puissent pas s'insérer directement dans les rafts en raison de leur faible affinité pour le cholestérol et seraient donc incorporés dans les régions voisines (Calder 2012) (Figure 10). De ces régions, ils influencent la formation et la fonction des rafts, en particulier les rafts de cellules immunitaires, vasculaires ou tumorales. Dans ces cellules, ils ont ainsi pour rôle de protéger le système circulatoire, le système immunitaire et de ralentir la croissance des cellules tumorales, dont le mécanisme est décrit dans la partie « cancers ».

En ce qui concerne les AGPI n-3 et en particulier le DHA, il a été montré que son incorporation dans les membranes cellulaires avait pour conséquence d'activer la PKC. Le

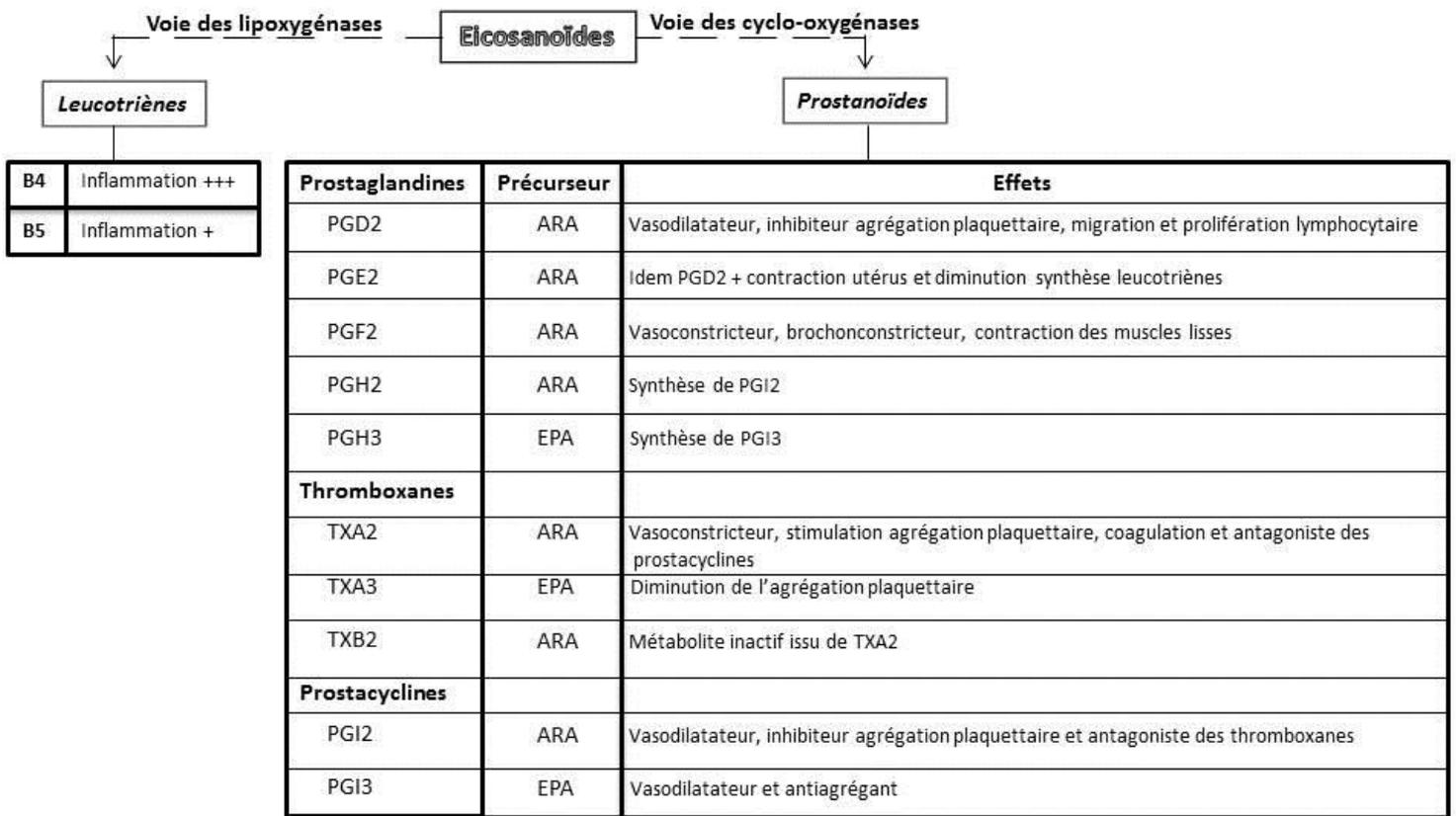


Figure 11. Précurseurs et rôles dans l'inflammation des eicosanoïdes

DHA est une molécule courbée qui quand elle s'insère dans les PC membranaires entraîne une courbure de la membrane et permet à la protéine de s'activer. De la même façon, le DHA et l'EPA peuvent affecter les protéines ou canaux de transport ioniques et inhiber la communication cellulaire par les jonctions gap (Stillwell et Wassall 2003).

7.2. Rôle de précurseur d'eicosanoïdes

Les AGPI LC n-3 et n-6 à plus de 18 atomes de carbone sont libérés des phospholipides membranaires par hydrolyse au niveau de la liaison ester *sn-2* par la phospholipase A2 (PLA2). Ils vont ensuite pouvoir être intégrés dans une des deux voies de métabolisation des eicosanoïdes :

- *celle faisant intervenir des enzymes cyclo-oxygénases (COX-1 ou COX-2), permettant de générer des prostanoides (prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes)*
- *celle faisant intervenir des lipoxygénases (5-, 12- ou 15-LOX) qui conduisent à la synthèse de leucotriènes*

Les produits issus de ces deux voies sont de puissants dérivés ou médiateurs lipidiques nommés **eicosanoïdes** et généralement identifiés comme étant des hormones autocrines et paracrines. Ils jouent de nombreux rôles notamment dans la reproduction, la physiologie cardiaque (pression artérielle, vasoconstriction ou dilatation), l'inflammation au niveau du système nerveux central (neuroprotection), l'homéostasie, l'immunité et la coagulation sanguine. Les leucotriènes sont généralement synthétisés par les cellules impliquées dans les processus inflammatoires ou cellules de l'immunité (monocytes, macrophages, mastocytes et leucocytes). A l'inverse, les prostanoides sont quant à eux élaborés par les tissus tels que le tissu adipeux, le cerveau, le cœur, les reins, les poumons, ainsi que les cellules endothéliales vasculaires et les plaquettes. Selon leur origine, les eicosanoïdes peuvent avoir un rôle inflammatoire disparate. En effet, les prostanoides de la série 2 et les leucotriènes de la série 4, dérivés de l'ARA, ont des activités pro-inflammatoires de forte intensité, alors que les prostanoides de la série 3 et les leucotriènes de la série 5, issus de l'EPA ont un rôle pro-inflammatoire de faible intensité, voire un rôle anti-inflammatoire (Lavialle et Layé 2010; Cherfaoui 2012) (Figure 11).

Plus récemment d'autres voies de synthèse de médiateurs oxygénés ont été découvertes. Dans les voies décrites par Guesnet *et al.* 2005, il s'agit de voies enzymatique et d'oxydation non enzymatique des AGPI à 20 et 22 atomes de carbone :

- *des résolvines, docosatriènes et neuroprotectines*

Ces molécules sont des dérivés du DHA et de l'EPA désignées respectivement sous les séries D et E et ayant des rôles anti-inflammatoires et immuno-modulateurs (Serhan et Chiang 2002; Serhan *et al.* 2004; Serhan 2008). La synthèse de ces médiateurs implique la voie des cyclo-oxygénases et des lipoxygénases (Cherfaoui 2012). Les séries D et E sont suivies d'un chiffre allant de 1 à 4 et correspondant au composé bioactif de la série. Par exemple, les résolvines E1 et D1 ainsi que la protectine D1 empêchent l'infiltration des neutrophiles dans les sites de l'inflammation (Serhan 2008) et régulent également les cytokines et les dérivés oxygénés, diminuant ainsi la réponse inflammatoire (Ariel et Serhan 2007). Enfin, il semblerait que la protectine D1, issue du DHA et constituée d'une structure triène conjuguée, joue un rôle de protection des tissus neuronaux, prévenant des maladies neurodégénératives telles qu'Alzheimer (Ariel et Serhan 2007; Bazan 2009). Dans ce cas, ces composés bioactifs sont appelés « neuroprotectines » :

- *des hydroperoxydes d'AGPI n-6 et n-3, synthétisées à partir de l'acide arachidonique et eicosapentaénoïque par action de quatre lipoxygénases*
- *des acides époxyeicotriénoïque (EET), engendrés par la peroxydation des AGPI à 20 atomes de carbone*
- *des isoprostanes et neuroprostanes issus d'un processus de peroxydation non enzymatique de l'ARA et du DHA*

7.3. Facteur de transcription

Les AGPI n-3 et leurs dérivés oxygénés sont des régulateurs importants de l'expression des gènes codant des protéines des métabolismes lipidique et glucidique. Pour se faire, ils font intervenir des facteurs de transcription dont les plus importants sont les récepteurs aux proliférateurs de peroxysomes (PPARs), la protéine de liaison à l'élément de régulation des stéroïdes (SREBP-1c), les récepteurs aux rétinoïdes (RXR), les récepteurs hépatiques (LXR), ainsi que leurs facteurs nucléaires hépatiques HNF de type 4α et enfin le facteur nucléaire-kappa B (NFκB) (Guesnet *et al.* 2005; Calder 2012).

La régulation génique s'effectue de deux façons dans les noyaux cellulaires :

- *Soit directement par liaison des AGPI sur les récepteurs nucléaires PPARs-HNF4-RXR ou LXR*
- *Soit indirectement en inhibant la transcription du récepteur SREBP-1c*

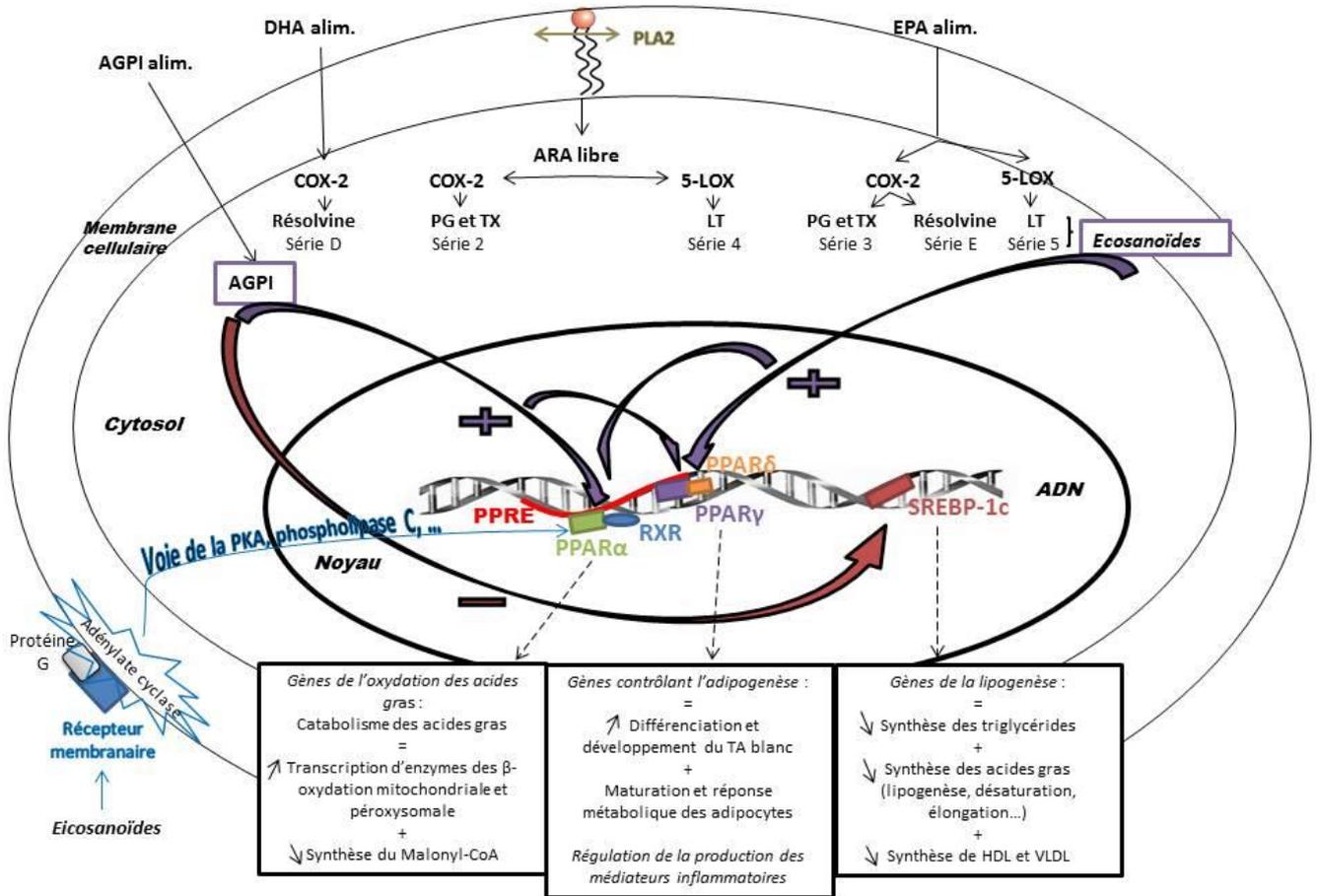


Figure 12. Les acides gras polyinsaturés agissent comme facteurs de transcription (Figure personnelle inspirée par Guesnet et al., 2005)

Dans le premier cas, les AGPI synthétisés par l'organisme ou les AGPI alimentaires et leurs dérivés oxygénés (eicosanoïdes) activent par effet direct le facteur de transcription PPAR α . Son activation, causée par un changement de conformation, entraîne son association au récepteur RXR. L'ensemble se lie alors à une séquence spécifique de l'ADN, nommée PPRE pour Peroxysome Proliferator Response Element. Cette séquence se situe en outre au niveau du promoteur de gènes impliqués dans le métabolisme lipidique. Or lorsque le couple « PPAR α -RXR » se fixe sur PPRE, les conséquences varient en fonction de la localisation génique du promoteur. Soit il se fixe sur un gène de l'anabolisme lipidique, soit sur un gène du catabolisme. Dans le premier cas, la fixation a pour effet d'inactiver la transcription du gène FADS2 qui code pour la Δ 6-désaturase et au contraire dans le deuxième cas d'activer la transcription de gènes de protéines de transport des acides gras et la transcription d'enzymes des β -oxydations mitochondriales et péroxysomale. Les AGPI et leurs dérivés ont ainsi pour effet de stimuler le catabolisme des AG au niveau hépatique, du tissu adipeux brun et des muscles et d'inhiber la synthèse des acides gras à longue chaîne dans le foie uniquement (Nakamura et Nara 2004) (Figure 12).

Les eicosanoïdes produits à partir des AGPI sont directement intégrés dans le cytosol des cellules. En revanche, certains d'entre eux doivent traverser la membrane nucléaire pour atteindre leur site récepteur (PPARs) sur l'ADN. Pour cela, ils vont se fixer sur des récepteurs membranaires eux même liés à des protéines G. Par leur transfert *via* cette affinité, les eicosanoïdes augmentent les concentrations intracellulaires d'AMP cyclique (par l'intermédiaire de l'adénylate cyclase) et activent ainsi les voies de signalisations cellulaires (rôle de messenger) impliquant notamment une protéine kinase A (PKA), une phospholipase C et du calcium (Guesnet *et al.* 2005). C'est notamment par ce rôle de messenger que les eicosanoïdes interviennent dans l'inflammation, la contraction des muscles lisses au niveau sanguin, pulmonaire, utérin et intestinal, dans la régulation des métabolismes et dans l'agrégation plaquettaire.

Dans le deuxième cas, les AGPI peuvent inactiver la transcription du récepteur SREBP-1c au niveau du foie. SREBP-1c est un récepteur qui se lie à la séquence ADN d'un élément régulateur des stérols. La synthèse des enzymes impliquées dans les métabolismes lipidiques est alors inhibée. Sont ainsi concernées les enzymes de la lipogenèse *de novo* des acides gras (acétyl-CoA synthase, acétyl-CoA carboxylase, acide gras synthase), les enzymes de bioconversion des AGPI (Δ 9, Δ 6 et Δ 5-désaturases) et les enzymes de synthèse des triglycérides (diacylglycérol acyltransférase). SREBP-1c doit être activé par clivage

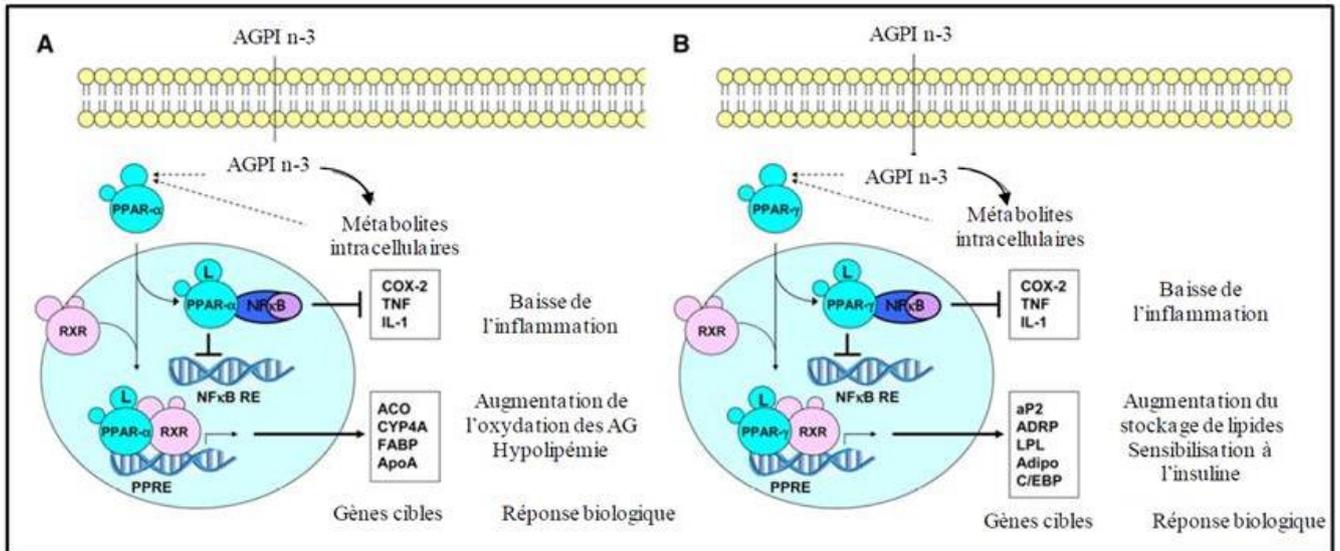


Figure 13. Mécanismes d'action des acides gras polyinsaturés sur les PPAR α et γ
(Calder, 2012)

ACO, acyl CoA oxidase; *Adipo*, adiponectin; *ADRP*, adipose differentiation related protein; *aP2*, adipocyte protein 2; *ApoA*, apolipoprotein A; *C/EBP*, CCAAT/enhancer-binding proteins; *COX*, cyclooxygenase; *CYP4A*, cytochrome P450 4A; *FABP*, fatty acid binding protein; *L*, ligand; *LPL*, lipoprotein lipase; *RXR*, retinoic acid receptor.

protéolytique pour pouvoir se lier à l'ADN nucléaire et activer ainsi la transcription de protéines lipogéniques. Or les AGPI agissent négativement sur la transcription de SREBP-1c ou sur son clivage, inactivant ainsi la synthèse d'acides gras, de triglycérides ou lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de haute densité (HDL) (Guesnet *et al.* 2005) (Figure 12).

En conclusion, l'ensemble de ces mécanismes peuvent expliquer la capacité des AGPI et en particulier les AGPI n-3 à diminuer les concentrations plasmatiques en triglycérides et à diminuer l'inflammation (Calder 2012).

Plus de précisions ont été apportées par (Calder 2012). Un facteur de transcription supplémentaire semble en effet intervenir dans l'induction de l'expression des gènes codant pour les protéines de l'inflammation, notamment les cytokines (facteur de nécrose tumorale : TNFs et interleukines : ILs), des molécules d'adhésion, COX-2 et l'oxyde nitrique synthase (NOS). Ce facteur joue également un rôle dans la réponse immunitaire *via* la NOS et dans la croissance cellulaire. La NOS est également impliquée dans des fonctions neuronales et peut avoir un effet vasodilatateur. Ce facteur de transcription est le NFκB (Kumar *et al.* 2004; Sigal 2006). Le trimère NFκB initialement sous forme inactive, est activé par des signaux extracellulaires tels que des endotoxines bactériennes, des cytokines inflammatoires, des radiations en ultra-violet ou un stress oxydatif. L'activation par les signaux est réalisée *via* la phosphorylation d'une sous unité inhibitrice IκB. Cette dernière entraîne la dissociation du trimère NFκB en dimère qui est ensuite transporté vers le noyau. Selon Calder (2012), l'EPA et le DHA peuvent inhiber la production des protéines de l'inflammation telles que COX-2, NOS, TNFα ou les interleukines 1, 6, 8 et 12 présentent dans les cellules endothéliales, les cellules immunitaires ou les cellules dendritiques. Les AGPI n-3 semblent exercer leur effet inhibiteur en réduisant la phosphorylation de l'IκB et en diminuant ainsi l'activité de NFκB. Pour exemple, des études ont testé l'effet d'huile de poissons riche en AGPI n-3 chez l'Homme et l'animal sur l'activation des NFκB et la production de cytokines. Ces études ont montré que la supplémentation en huile diminuait la production de TNFα, des IL 1β et 6 et des facteurs de croissance. Enfin, il semblerait qu'il existe une interaction entre PPARγ et NFκB. PPARγ empêcherait en effet le transport de NFκB vers le noyau, après l'intervention d'AGPI n-3 (Calder 2012) (Figure 13).

Des protéines G (GPR40 ou GPR120) couplées à des récepteurs, peuvent se lier à des AGPI et activer des signaux intracellulaires impliqués dans des effets anti-inflammatoires. Le DHA est par exemple capable *via* GPR120 d'empêcher l'activation de NFκB et donc d'inhiber la réponse inflammatoire initialisée par des endotoxines (Calder 2012).

8. Effets sur la santé et maladies

8.1. Effets positifs pour la santé

De nombreuses études ont montré l'intérêt pour l'Homme de consommer des AGPI n-3. Ces derniers aident en effet à limiter l'apparition de maladies ou à lutter contre la douleur de certaines maladies, en favorisant la production de molécules anti-inflammatoires. Les AGPI n-3 aident à se défendre contre certaines maladies respiratoires (asthme, allergies respiratoires), inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, les colites ulcéreuses, la maladie de Crohn, le psoriasis et les dermatites), mentales (Alzheimer, schizophrénie, dépression, bipolarité, hyperactivité, autistes, stress, agressivité), cardiovasculaires (athérome, thrombose, arythmie, hypertension, infarctus...), cancéreuses, métaboliques (diabète et obésité), les maladies de la vue (glaucome, cataracte, dégénérescence maculaire liée à l'âge), l'ostéoporose, la mucoviscidose et l'infertilité (Anses 2011a).

8.2. Effets délétères d'une surconsommation d'AGPI n-3

Les résultats portant sur l'effet des AGPI n-3 sur la santé vont dans le sens d'effets bénéfiques. Cependant, des témoignages de scientifiques et d'explorateurs ont révélé un défaut de coagulation du sang dans la population Esquimaux du Groenland consommant de la viande et des graisses riches en AGMI et en AGPI n-3 (Bang et Dyeberg 1980). C'est pour cette raison que des études essayant de mimer le régime des populations traditionnelles d'Esquimaux ont été menées sur des volontaires afin de confirmer ou d'infirmer ces résultats. Les participants ont ingéré 15 mL par jour d'huiles de phoque, de baleine ou de foie de morue, contenant entre 4 et 10% d'EPA et 7 et 13% de DHA, pendant dix à cinquante-six semaines (Osterud *et al.* 1995; Brox *et al.* 2001). Ces deux études ont montré une réduction de l'activité des cellules sanguines et de l'activation de la coagulation due à une diminution de l'agrégation plaquettaire et une diminution des teneurs en thromboxane A₂ des lipopolysaccharides (baisse de 44% avec l'huile de baleine). D'autres études ont confirmé ces résultats et montré également une diminution du nombre de plaquettes sanguines (Hornstra 1989; Brown et Roberts 1991), une diminution de 15% de la teneur en fibrinogène sanguin (Saynor et Gillott 1992; Oosthuizen *et al.* 1994) ainsi qu'une augmentation du temps de saignement de 15 à 20 secondes en fonction du sexe des sujets (Bulliyya 1999) suite à une consommation de poisson ou de leur huile. Même si les mécanismes d'action des AGPI n-3 de ces huiles sur ces cellules restent inexpliqués, des pistes ont toutefois été proposées. L'ARA constitutif des membranes phospholipidiques des plaquettes serait remplacé par

l'EPA et le DHA contenu dans ces huiles. Cela entraînerait la baisse de production des thromboxanes A₂, normalement synthétisés à partir de l'ARA et impliqué dans l'homéostasie primaire ou clou plaquettaire.

Partie 2

**Sources, apports nutritionnels conseillés et
consommation en AGPI n-3**

Tableau 2. Sources riches en acide α -linoléniq (Leray, 2013)

	Teneur en lipides (g/100g)	Teneur en ALA (g/100g)		Teneur en lipides (g/100g)	Teneur en ALA (g/100g)
Graisses et huiles			Graines de sésame		
Beurre doux	82,6-83,2	1,20	Lentilles	50,4	0,67
Lard	100	0,98	Céréales		
Huile de chia	100	72	Germes de blé	9,2	0,59
Huile de Périlla	100	> 60	Son de blé	4,7	0,16
Huile de lin	100	50-54,20	Graines d'orge	2,1	0,11
Huile de chanvre	100	20	Flocons d'avoine	7,0	0,10
Huile de noix	100	12-13,50	Légumes		
Huile de colza	100	9-9,15	Menthe	-	0,20
Huile canola	100	8	Chou-fleur	0,3	0,10
Huile de soja	100	6,80-7,70	Cresson	0,7	0,18-0,29
Huile d'olive	100	0,86	Chou frisé	0,9	0,35
Huile de maïs	100	0,70	Laitue	0,2	0,07
Huile de Palme	100	0,20	Radis	0,1	0,05
Margarine (80%)	80	2,40	Persil	0,4	0,12-0,13
Graines et noix			Pomme de terre	0,1	0,02
Noix de Grenoble	-	8	Epinards	0,3	0,13
Noix	62,5	6,80	Chou blanc	0,2	0,09
Noix de Macadamia	-	1,38	Brocoli	-	0,02
Pécan	72,0	0,85	Chou de Bruxelles	-	0,17
Arachide	49,4	0,54	Concombre	-	0,04
Amande	54,1	0,26	Petits pois	0,5	0,04
Noisette	61,6	0,15	Haricots verts	0,2	0,04
Laits			Fruits		
Lait de femme	3,8	32 mg/100ml	Châtaigne	-	0,17
Lait de vache	3,7	300 mg/100ml	Framboise	-	0,13
Légumineuses			Fraise	-	0,07
Haricots secs	1,4	0,25	Banane	0,18	0,03
Pois secs	1,4	0,16	Ananas	0,15	0,02
Soja sec	18,1	0,93	Raisin	0,28	0,01

1. Les sources alimentaires d'acides gras

Les sources d'acides gras diffèrent en fonction de la molécule considérée. Les acides gras saturés sont majoritairement présents dans les produits animaux tels que le beurre, le lait, le lard, la viande ou le fromage. Les acides gras insaturés de forme *cis* se trouvent principalement dans les huiles végétales, tandis que la forme *trans* se trouve dans les produits issus de ruminants, en raison de biohydrogénations ayant lieu dans le rumen. Concernant les AGPI n-3, les teneurs dans les différentes ressources sont très variables pour un même acide gras.

1.1. Les sources d'acide α -linoléinique

Selon Leray (2013), les végétaux renferment la réserve la plus importante d'AGPI n-3 dont la part la plus élevée est représentée par l'ALA. L'appareil végétatif (« parties vertes ») aussi bien que les graines renferment cet acide gras. Il semblerait que les végétaux comme le cresson, le persil ou les épinards renferment également du C16:3 n-3, le précurseur de l'ALA, à des teneurs de respectivement 45; 44 et 21 mg pour 100 g de produit (Pereira *et al.* 2001). Les végétaux sont une source non négligeable d'ALA dont la consommation d'environ 250 g de légume ou 200 g de fruit par repas permet d'en apporter près de 250 mg par jour (Tableau 2). Toutefois, les huiles végétales restent les principales sources alimentaires d'ALA pour l'Homme. Les huiles de consommation courante, en particulier celles de noix, colza et soja contiennent respectivement 13; 9 et 7% d'ALA. En France, les huiles de colza et de soja sont les plus utilisées, à l'exception du Dauphiné et du Périgord qui sont les plus gros consommateurs d'huile de noix (plus de 0,1 L par an et par habitant). D'autres huiles moins connues des cuisines traditionnelles occidentales comme l'huile de lin, de chia, de Périlla ou de chanvre renferment davantage d'ALA (entre 20 et 75%) et sont en outre utilisées comme huiles diététiques ou à usage thérapeutique. Concernant l'huile de lin, sa très faible teneur en antioxydants végétaux et sa forte sensibilité à l'oxydation ont rendu sa commercialisation et son utilisation interdite jusqu'en 2006 sur le territoire français. Ce n'est qu'en 2006, après de nombreux pays européens, que l'Afssa (Agence de sécurité sanitaire française) a autorisé sa mise sur le marché en tant que complément alimentaire (saisine 2004-sa-0213) ou pour une utilisation dans les aliments courants sous forme crue ou en mélange avec d'autres huiles (saisine-sa-0409). En 2009, elle a autorisé sa commercialisation sous forme d'huile de cuisine (saisine n° 2008-SA-0392). Ce sont des raisons économiques et de santé publique qui ont poussé l'Afssa à lever cette interdiction. Dans le cadre économique, c'est la libre circulation des produits dans l'Union européenne et la commercialisation déjà

Tableau 3. Sources riches en acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA) (Leray, 2013)

	Teneur en lipides (g/100g)	Teneur en EPA (g/100g)	Teneur en DHA (g/100g)		Teneur en lipides (g/100g)	Teneur en EPA (% AG totaux)	Teneur en DHA (% AG totaux)
Poissons de mer et d'eau douce				Laits			
Thon	15,5	0,23-1,08	0,63-2,29	Lait de chèvre	-	0,08	0,02
Saumon sauvage	11,8-13,6	0,71-0,86	1,10-2,15	Lait de brebis	-	0,06	0,04
Saumon d'élevage	-	1,10	2,0	Lait de vache	3,7	0,05	0,02
Maquereau	11,9-14,2	0,63-0,90	1,12-1,40	Lait de femme	3,8	3 mg/100g	9 mg/100g
Hareng	17,8	0,71-2,04	0,68-0,86	Viandes bovines			
Sardine	4,5-11,2	0,47-0,58	0,51-0,81	Faux filet	6,7	0,2	-
Anguille	24,5	0,08-0,26	0,06-0,57	Tende de tranche	2,3	0,8	0,2
Espadon	4,4	0,13	0,66	Macreuse	3,4	0,5	0,1
Truite	2,7-4,3	0,15-0,22	0,44-0,52	Paleron	6,5	0,2	-
Flétan	1,7	0,14	0,37	Hampe	8,6	0,2	0,1
Sole	0,4-1,4	0,03-0,14	0,11-0,16	Bavette	5,7	0,3	0,1
Sandre	0,7	0,10	0,05	Entrecôte	8,7	0,1	-
Morue	0,6	0,06	0,12	Abats de bovins			
Cabillaud	0,8	0,06	0,12	Joue	5,0	0,4	0,2
Aiglefin	0,6	0,04	0,12	Cœur	2,9	2,0	0,2
Crustacés et mollusques				Langue	13,8	0,2	-
Crevette	1,4	0,20-0,30	0,10-0,25	Foie	4,3	1,8	2,6
Homard	1,9	0,10	0,10	Rognons	2,7	2,8	1,3
Moule	1,3	0,05	0,10	Veau de lait			
Ecrevisse	1,1	0,06	0,08	Flanchet	-	2,0	0,9
Huitre	1,5	0,19	0,20	Foie	3,4	0,3	0,2
Poulpe	0,9	0,15	0,16	Viandes d'agneau			
Viandes et œufs				Filet (animaux à l'herbe)	-	1,8	0,6
Dinde (escalope)	2,3	0,002	0,008	Filet (anx. en bergerie)	-	1,0	0,5
Agneau (gigot)	5,1-14,0	0,023	0,007	Viande porc (filet)			
Canard (magret)	-	0,002	0,010-0,030	Viande porc (filet)	4,3	0,17	0,12
Œuf de poule (≈ 54g)	8,5	0,00	0,056-0,062	Viande de lapin (cuisse)	9,2	0,35	0,45
				Viande de poulet (filet)	3,9	0,5	1,9

effective de cette huile dans de nombreux pays comme le Canada ou la Chine qui justifient cette décision, tandis qu'en termes de santé, c'est le déficit de consommation en AGPI n-3 qui l'appuya. Toutefois, sous l'égide de la saisine 2008, des mesures de précaution concernant le conditionnement (traçabilité des lots, volumes inférieurs à 250 mL, inertage à l'azote avant obturation des bouteilles, utilisation de matériau de conditionnement opaque) et la conservation (contrôle de la durée de vie inférieure à un an) ont été imposées aux professionnels ainsi qu'aux utilisateurs concernant son utilisation (cuisson à éviter, conservation à l'abri de la chaleur avant ouverture et au réfrigérateur après ouverture et pas plus de trois mois) (Afssa 2009). Enfin, des industriels comme Valorex en partenariat avec l'association Bleu Blanc Cœur développent depuis plus de 20 ans, une démarche d'amélioration de la qualité des produits animaux par le biais d'une alimentation pourvue en AGPI n-3. Les agriculteurs engagés dans cette démarche doivent nourrir leurs animaux avec des sources végétales traditionnelles à faibles rendements (< 20 q/Ha), mais qui sont riches en ALA. Sont ainsi couramment utilisées dans leurs rations, des graines de lin extrudées pour les monogastriques et dans une moindre mesure les ruminants ainsi que de l'herbe, de la luzerne et du lupin. A noter toutefois, qu'il existe plus d'une soixantaine de variétés de lin répertoriées dans le « Catalogue officiel des espèces et variétés de plantes cultivées en France » mais qu'elles n'apportent pas toutes la même teneur en ALA. Il existe par exemple des variétés riches en fibres utilisées dans la filière textile (Bono *et al.* 2015), tandis qu'une trentaine de variétés contenant des teneurs élevées en ALA (plus de 55% des acides gras totaux) sont utilisées pour l'alimentation humaine et animale (Mourot et Lebret 2009; Savoie *et al.* 2015).

1.2. Les sources d'EPA et de DHA

Les produits halieutiques, de mer ou d'eau douce, constituent les sources alimentaires les plus riches en EPA et DHA pour l'Homme (Tableau 3). Parmi elles, les poissons gras comme l'anguille, le hareng, le thon, le saumon ou le maquereau sont les plus pourvus en ces deux acides gras (jusqu'à 2%). A contrario, les poissons maigres comme la morue, le cabillaud ou l'églefin sont plus faiblement pourvus, à hauteur de 0,06% d'EPA et de 0,12% de DHA en raison de leur plus faible capacité à stocker des lipides au niveau musculaire. En revanche, leur plus grande réserve énergétique sous forme de lipides se situe au niveau hépatique, comme dans le cas de la morue par exemple (Médale 2009).

Tout comme leurs congénères terrestres, la composition lipidique des animaux aquatiques (zooplancton, crustacés, mollusques, poissons) reflète la composition lipidique de leur alimentation. Des études ont effet montré que les poissons possèdent des gènes codant

Tableau 4. Teneur en EPA et DHA d'algues marines et de microalgues (Leray, 2013)

Algues marines	Teneur en EPA (%)	Teneur en DHA (%)
dulce (<i>Palmaria palmaria</i>)	92	-
Kombu (<i>Laminaria hyperborea</i>)	68	-
goémon noir (<i>Ascophyllum nodosum</i>)	50	-
varech denticulé (<i>Fucus serratus</i>)	47	-
wakame (<i>Undaria pinnatifida</i>)	46	-
laitue de mer (<i>Ulva lactuca</i>)	3,5	-
Microalgues		
<i>Nannochloropsis oculata</i>	29,7	0,0
<i>Phaeodactylum tricorruptum</i>	28,4	0,7
<i>Pavlova salina</i>	19,1	1,5
<i>Chaetoceros constrictus</i>	18,8	0,6
<i>Skeletonema costatum</i>	15,4	2,3
<i>Chaetoceros muelleri</i>	12,8	0,8
<i>Schyzochytrium sp.</i> (SR21)	0,9-2,6	34,9
<i>Ulkenia sp.</i> (TC10, groupe D, CS-991)	11,2	37,5
<i>Gymnodinium kowalevskii</i>	0,1	9,5
<i>Chroomonas salina</i>	12,9	7,1

pour les désaturases et les élongases impliquées dans la synthèse des AGPI n-3, mais que cette synthèse reste faible. Chez les poissons marins, Morais *et al.* 2009 ont montré que l'activité des élongases du saumon d'Atlantique est faible, tandis que Ghioni *et al.* 1999 ont montré que le ratio de transformation de l'ALA vers l'EPA est faible chez le turbot et le saumon d'Atlantique. Les poissons d'eau douce, sont quant à eux plus efficaces que les poissons marins pour transformer l'ALA en ses dérivés à longue chaîne. Cela a été démontré chez des truites arc en ciel à partir d'ALA radiomarké (Owen *et al.* 1975; Buzzi *et al.* 1996; Mourente et Tocher 1998) et pourrait s'expliquer par le fait que contrairement aux écosystèmes marins, l'acide gras majoritaire des végétaux présents dans les écosystèmes d'eau douce est l'ALA (9,0 à 15,0% des AG totaux) (Sargent *et al.* 1989). Néanmoins, les teneurs en AGPI n-3 des poissons d'eau douce, majoritairement représentés par des poissons maigres, sont plus faibles que dans la chair des poissons marins (Trautwein 2001).

D'autres facteurs ont des effets sur la teneur en lipides et la composition en acides gras des animaux aquatiques. Parmi eux, il y a l'effet de la température ou de la saison, l'âge des animaux ou leur maturité sexuelle et leur taille. Les variations de teneur en lipides de la chair des poissons sont particulièrement marquées chez les espèces grasses. Par exemple, la teneur en lipides des sardines varie de 1,2% au printemps à 18,4% en automne, ce qui a pour conséquence de faire varier également ses teneurs en EPA et DHA, respectivement de 0,12 à 3,22 et 0,16 à 1,90 g/100g de chair entre ces deux saisons. Ces variations sont liées à la quantité de nourriture disponible dans le milieu et à la maturité sexuelle des animaux. La teneur en lipides augmente également avec l'âge et donc la taille des animaux, en particulier chez le saumon. Chez les poissons d'élevage, les variations des teneurs en lipides du muscle sont beaucoup moins marquées au cours de l'année en raison des plan d'alimentation établit pour satisfaire la satiété des animaux au cours du cycle d'élevage (Médale 2009; Boudroua *et al.* 2011).

Le milieu aquatique fournit des algues riches en EPA, utilisées par les consommateurs dans diverses préparations culinaires. Leur teneur en cet acide gras varie de 3,5 à 92,0% (C Leray 2013) (Tableau 4). En milieu marin, le phytoplancton constitué de microalgues et d'algues unicellulaires est à la base de toute la chaîne alimentaire. Il constitue la ressource directe en AGPI n-3 des crustacés et poissons herbivores ainsi que la ressource indirecte des poissons carnivores. Le phytoplancton possède les complexes enzymatiques nécessaire à la synthèse d'ALA et certaines espèces de microalgues constituent une exception dans le domaine végétal puisqu'elles possèdent également les complexes désaturases-élongases

nécessaire à la synthèse des AGPI n-3 LC dérivés de l'ALA. Parmi elles, se trouvent *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Thalassiosira pseudonana* et *Pavlova lutheri* (Tonon *et al.* 2002). De ce fait, il a été montré que *N. oculata* et *P. tricornutum* sont des microalgues contenant une teneur élevée en EPA comprise entre 8 et 30% molaire d'un extrait total de lipides en phase de croissance ou en phase stationnaire dans l'expérimentation de Tonon *et al.* (2002) ou de près de 30% des acides gras totaux dans l'essai de Zhukova et Aizdaicher (1995). *Thalassiosira pseudonana* et *Pavlova lutheri* contiennent également de fortes teneurs en EPA de l'ordre de 12% molaire en phase stationnaire uniquement. Contrairement à *N. oculata* et *P. tricornutum*, leurs cellules renferment également entre 4 et 10% molaire de DHA (Tonon *et al.* 2002). D'autres algues présentent de fortes teneurs en DHA sans pour autant qu'il ait été démontré qu'elles possèdent l'équipement enzymatique adéquat. L'essai de Zhukova et Aizdaicher (1995) a ainsi pu montrer que *Gymnodinium kowalevskii* et *Chroomonas salina* contiennent respectivement 9,5 et 7,1% de DHA alors que les 13 autres algues testées n'en contiennent pas plus de 1,5% des AG totaux. Toutefois, l'espèce *Schizochytrium sp.* contient entre 50 et 77% de lipides (Chisti 2007) dont l'acide gras principal est le DHA puisqu'il représente 34,9% des AG totaux (Nakahara *et al.* 1996; Leray 2013) soit trois à quatre fois plus que dans les deux espèces *Gymnodinium kowalevskii* et *Chroomonas salina*. Cette teneur varie de 43,7% (teneur au bout de huit heures de culture) à 33,5% (teneur au bout de dix jours de culture) selon les phases de croissance (Morita *et al.* 2006). Pour multiplier les ressources disponibles en AGPI n-3 pour l'Homme, la microalgue *Schizochytrium sp.* est produite en biofermenteurs industriels afin d'être intégrée dans des compléments alimentaires ou au niveau expérimental, dans les rations d'animaux d'élevage. *Ulkenia* est une microalgue cultivée et commercialisée par Lonza Ltd qui permet de produire une huile contenant 400 mg/g de DHA (Leray 2013) (Tableau 4). Ces microalgues servent en effet à la production d'huiles ou de préparations séchées encapsulées coûteuses et dont les consommateurs ne sont pas friands comparativement à la consommation de produits « plus naturels » (Sanghvi et Lo 2010). Ces compléments alimentaires peuvent également être produits à partir d'huiles d'animaux marins (anchois, sardine, morue, saumon, crustacés, krill, phoque) contenant des dérivés estérifiés d'acides gras libres et de triacylglycérols et dont la teneur en AGPI n-3 varie de 30 à 90%. Toutefois, à terme, leur disponibilité commerciale se verrait réduite en raison notamment de la réduction permanente des ressources halieutiques et de la mise en place de réglementations strictes sur la pêche (CE n° 1224/2009) qui permettent le maintien des équilibres océaniques (Leray 2013). L'aquaculture est donc devenue une solution alternative fournissant près de 50% du poisson consommé dans le monde depuis dix

Tableau 5. Quantités d'EPA+DHA dans les produits animaux, avec ou sans enrichissement dans l'aliment (Givens et Gibbs, 2006)

	Apport EPA + DHA (mg/j/pers)	
	Sans enrichissement	Avec enrichissement
Produits laitiers	0	71,5
Viande	37,0	105,4
Œufs	8,8	54,3

ans (FAO 2008, 2010). Malheureusement, l'aquaculture est elle-même tributaire d'huiles de poissons sauvages, utilisées dans l'alimentation des poissons d'élevage pour la fourniture en AGPI n-3. Ainsi près de 87% des huiles de poissons produites dans le monde sont à destination de l'aquaculture (Tacon et Metian 2008). D'autres solutions doivent donc être proposées pour pallier à la dépendance des huiles d'animaux marins utilisées soit comme compléments alimentaires soit comme ingrédient dans les rations des poissons d'élevage. L'utilisation du krill, ressource la plus abondante sur la planète et la moins contaminée (métaux lourds) semble être une solution acquise par les industriels (Leray 2013). De la même façon, l'utilisation d'huiles végétales (lin, soja, colza) dans l'alimentation des poissons d'élevage s'est accrue, causant une augmentation des niveaux d'ALA et une diminution de ceux d'AGPI LC n-3 dans leur chair (Miller *et al.* 2008).

En nutrition humaine, les margarines sont un produit industriel contenant des AGPI n-3 d'origine végétale. Toutefois, leur richesse en AGPI n-3 ne se situe pas au niveau du DHA, mais au niveau de l'ALA. Les nombreuses margarines mises sur le marché contiennent de 1,5 à 3,0 g d'ALA pour 100 g de produit pour les moins riches comme par exemple PRO-ACTIV tartine Fruit d'Or® contre 5,0 à 7,7 g pour les plus riches (St-Hubert Oméga 3®, Oméga 3et6 Fruit d'Or®) (Leray 2013; Renault 2015) avec un ratio AGPI n-6/AGPI n-3 ne dépassant pas 5,0.

Enfin, les produits animaux sont des ressources non négligeables en EPA et DHA (Tableau 5). Un œuf de poids moyen de 60g apporte par exemple entre 30 et 90 mg de DHA soit 0,8% des AG totaux mais pas d'EPA quand la poule a reçu un aliment standard (Pieroni et Coste 2010; Cherfaoui 2012). Certains œufs produits sous cahier des charges spécifiques contiennent même jusqu'à 120 mg de DHA suite à l'ingestion par les poules d'un aliment riche en ALA (Leray 2013). Hormis celle de poulet, les viandes apportent quant à elles des teneurs plus faibles en DHA (moins de 0,5%), le foie de bovin étant le plus riche avec une teneur de 2,6% des AG totaux. En revanche, les viandes contiennent toutes davantage d'EPA (entre 0,2 et 2,8%) que les œufs. Les laits, même s'ils contiennent ces deux acides gras, présentent des teneurs très faibles et inférieures à 0,1% des AG totaux.

Afin de mieux renseigner les consommateurs sur les teneurs en AGPI n-3 des produits commercialisés, la Commission européenne a émis certaines règles concernant les annonces nutritionnelles (règlement EC n° 116/2010 du 9 février 2010). Ainsi un produit est « source d'acides gras n-3 » lorsqu'il contient au moins 0,3 g d'ALA pour 100g de produit et 100 kcal ou au moins 40,0 mg d'EPA+DHA pour 100g de produit et 100 kcal. De la même manière, il

est « riche en acides gras n-3 » lorsqu'il contient au moins 0,6 g d'ALA pour 100 g de produit et 100 kcal ou au moins 8,0 mg d'EPA+DHA pour 100 g de produit et 100 kcal (Leray 2013).

2. Les apports nutritionnels conseillés en AGPI n-3

Les apports nutritionnels conseillés (ANC) sont définis par l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Anses anciennement Afssa). Ils ont été établis à partir de données scientifiques (environ 15000 travaux en trente ans, Leray 2013) qui ont déterminé des valeurs repères permettant la couverture des besoins nutritionnels nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme de personnes de sexe et d'âge différents.

La dernière réactualisation des ANC pour les acides gras en France date de 2010, au moment de la création de l'Anses. Dès lors, les acides gras autrefois catégorisés par AGS, AGMI et AGPI ont été classés selon leur degré d'indispensabilité. Les acides gras indispensables, non synthétisés ou synthétisés en quantité insuffisante par l'organisme, ont été séparés des acides gras non indispensables, c'est-à-dire synthétisés en quantité suffisante par l'organisme. D'après l'Anses, les données scientifiques disponibles ne permettent d'établir des besoins physiologiques de l'homme et la femme adultes que pour LA, ALA et DHA considérés comme indispensables (Anses 2011a). Le DHA est un acide gras indispensable en raison du faible taux de conversion de l'ALA, conduisant à la définition d'un besoin physiologique minimal. A contrario, il n'existe pas suffisamment d'arguments pour considérer l'EPA comme un acide gras indispensable et en définir un besoin. La conversion de l'ALA en EPA est significative à partir du moment où les apports sont adéquats. Ainsi, pour répondre au besoin physiologique d'un adulte consommant 2000 kcal/j, pour un apport total en lipides de 35 à 40% de l'apport énergétique total (AET), les apports en LA, ALA et DHA sont respectivement de 4% de l'AET (8,8 g/j), 1% de l'AET (2,2 g/j) et 0,1% de l'AET (250 mg/j). Les besoins sont définis afin d'assurer un rapport LA/ALA strictement inférieur à 5 (Anses 2011a). Toutefois, certains auteurs suggèrent qu'en limitant fortement l'apport en acides gras n-6, les apports en AGPI n-3 pourraient être dix fois plus faibles, même si la plupart prônent la réduction de la consommation d'AGPI n-6 et l'augmentation de la consommation d'AGPI n-3 (Leray 2013).

Les ANC sont des recommandations qui peuvent également prendre en compte le rôle préventif des AGPI dans les diverses pathologies étudiées précédemment. Pour cela, un ANC pour l'EPA a été défini, sur la base de données bibliographiques regroupant des apports simultanés d'EPA et de DHA. L'ANC pour ces deux acides gras a été fixé à 500 mg/j pour la

Tableau 6. Apport nutritionnel conseillé en lipides, LA et acides gras n-3 pour un adulte consommant 2000 kcal par jour (Anses, 2011)

	Besoin physiologique minimal		Prévention du risque (% de l'AET)				
	% de l'AET	Quantité par jour	Diabète et obésité	MCV	Cancers du sein et côlon	Troubles neuropsychiatriques	DMLA
Lipides totaux	35-40	77-88 g	30-40	35-40	35-40	35-40	< 40
LA	4	8,8 g	2	5	2	2	< 4,5
ALA	1	2,2 g	0,8	1	0,8	0,8	0,8
DHA	0,113	250 mg	0,225	0,225-0,338	0,225	0,225	0,225
EPA	-	250 mg					

LA : acide linoléique, AET : apport énergétique total, MCV : maladie cardiovasculaire, DMLA : dégénérescence maculaire liée à l'âge

Tableau 7. Apport nutritionnel conseillé en acides gras n-3 pour les populations particulières (Anses, 2011)

	LA	ALA	DHA	EPA + DHA
Femme enceinte	4,0% de l'AET	1,00% de l'AET	250 mg	500 mg
Femme allaitante	4,0% de l'AET	1,00% de l'AET	250 mg	500 mg
Nouveau-né (< 6 mois)	2,7% de l'AET	0,45% de l'AET	0,32% des AG totaux	EPA < DHA
Nourrisson (6 mois < > 1 mois)	2,7% de l'AET	0,45% de l'AET	70 mg	-
Enfant en bas âge (1 à 3 ans)	2,7% de l'AET	0,45% de l'AET	70 mg	-
Enfant (3 à 9 ans)	4,0% de l'AET	1,00% de l'AET	125 mg	250 mg
Adolescent (10 à 18 ans)	4,0% de l'AET	1,00% de l'AET	250 mg	500mg

somme EPA+DHA, soit un apport moyen de 250 mg/j d'EPA (Tableau 6). Ce besoin correspond à la consommation minimale de deux repas de poissons gras par semaine (Lichtenstein *et al.* 2006). Au niveau européen, l'autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa), a publié en 2012 ses propres recommandations concernant la limite maximale admissible des apports en EPA + DHA. L'Efsa considère ainsi qu'un apport sur le long terme d'environ 5 g/j d'un mélange de ces deux acides gras n'est pas nocif pour la santé, n'induisant aucun trouble de saignement, du métabolisme du glucose ou des fonctions immunitaires (Efsa 2012). Des ANC ont également été établis pour des populations particulières, telles que les nourrissons, l'enfant et la femme enceinte ou allaitante (C Leray 2013) (Tableau 7).

Ainsi concernant les apports en AGPI n-3, le docteur M. Crawford (UK) milite pour la nécessité d'une « approche de type Kyoto afin de s'attaquer au problème global de la carence en AGPI n-3 qui a la même ampleur pour la santé humaine que le problème du CO₂ pour la santé de la planète » (Leray 2013).

3. Les consommations en AGPI n-3

De nombreuses études ont rapporté les consommations en AGPI n-3 de différentes populations. Parmi ces études, nous pouvons citer INCA et INCA2 (INSuffisance CARDIAque) (Razanamahefa *et al.* 2005), SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants) (Astorg *et al.* 2004; Hercberg *et al.* 2004), TRANSFAIR (Hulshof *et al.* 1999) et AQUITAINE (Combe et Boue 2001) ainsi que les études de Astorg *et al.* 2004; Bourre et Paquette 2007; Maillot *et al.* 2007; Simopoulos 2010 au niveau français. Les études de Meyer *et al.* 2003; Elmadfa et Kornsteiner 2009; Blasbalg *et al.* 2011; Meyer 2011 ont rapporté les niveaux de consommation mondiale des adultes en AGPI n-3. Des études comme celles de Innis *et al.* 2004; Howe *et al.* 2006; Murray *et al.* 2006; Sioen *et al.* 2007a; Sioen *et al.* 2007b; Colter *et al.* 2008; Madden *et al.* 2009 ont également été menées au niveau mondial pour les enfants et adolescents. Toutefois, même si le recueil de ces données est faisable, il reste néanmoins très complexe tant au niveau français (imprécisions des données du fait de méconnaissances des tables de composition des aliments et de la difficulté d'évaluer les apports lipidiques, variables selon les quantités consommées et influencées par des choix individuels) qu'au niveau européen (utilisation de méthodologies différentes pour le recueil des informations, utilisation d'outils ou de bases de données spécifiques, utilisation de données analysées, calculées ou dérivées).

Tableau 8. Consommation moyenne (% de l'AET ou en mg/j) en acides gras n-3 dans différents pays du monde

Pays	ALA % de l'AET	EPA mg/j	DHA mg/j	EPA + DHA mg/j	Référence
Belgique, Royaume-Unis, Autriche, Allemagne	< 1	-	-	210-270	Simopoulos, 2010
Finlande	< 1	-	-	300	Simopoulos, 2010
Norvège	< 1	-	-	830	Simopoulos, 2010
Etats-Unis	0,72	-	-	140	Blasbalg <i>et al.</i> , 2011
Chine	-	-	-	30	Elmadfa et Kornsteiner, 2009
Japon	-	-	-	1050	Elmadfa et Kornsteiner, 2009
	0,037	-	-	-	Razanamahefa <i>et al.</i> , 2005
	0,22	-	-	-	Hulshof <i>et al.</i> , 1999
	0,26	-	-	-	Combe et Boue, 2001
France	0,37	150 (H)-118 (F)	273 (H)- 226 (F)	-	Astorg <i>et al.</i> , 2004
	-	452	786	-	Hercberg <i>et al.</i> , 2004
	-	-	180	-	CALIPSO, 2006
	-	-	130 (H)- 100 (F)	-	Bourre et Paquette, 2007
	-	-	-	-	Maillot <i>et al.</i> , 2007

H : hommes, F : femmes

3.1. Les niveaux de consommation en ALA

Différentes études ont rapporté le niveau de consommation français en ALA, dont les teneurs sont très variables, soit 0,1 g/j dans l'étude INCA, 0,6 g/j dans l'étude TRANSFAIR, 0,7 g/j dans l'étude AQUITAINE et 1g/j (0,4% de l'AET) dans l'étude SU.VI.MAX.

Les études de Simopoulos 2010; Blasbalg *et al.* 2011 ont rapporté les consommations mondiales moyennes d'ALA. La première étude a été menée dans 14 pays dont 7 européens dont la consommation moyenne d'ALA a été estimée à de moins 1% de l'AET. La deuxième étude, menée aux Etats-Unis a constaté une consommation moyenne d'ALA de 0,7% de l'AET dont 45% apporté par de l'huile de soja (Tableau 8).

3.2. Les niveaux de consommation en EPA et DHA

De nombreuses données concernant les consommations d'EPA et de DHA ont pu être établies aussi bien en France que dans le monde. Ces données peuvent être publiées en séparant les sexes. Ainsi, les données de consommation française en EPA et DHA s'élèvent à respectivement 150 mg/j et 273 mg/j pour les hommes et 118 mg/j et 226 mg/j pour les femmes selon l'étude SU.VI.MAX (Astorg *et al.* 2004). En revanche, ces données révèlent des valeurs beaucoup plus faibles dans l'étude de Maillot *et al.* 2007 en ce qui concerne le DHA, dont 130 mg seraient consommés par jour par les hommes et 100 mg par les femmes. De la même façon, sans séparer les sexes, les valeurs diffèrent d'une étude à l'autre, à savoir 180 mg/j de DHA seraient consommés dans l'étude de Bourre et Paquette 2007, 380 mg/j dans celle de Simopoulos 2010 et 786 mg/j dans l'étude CALIPSO 2006. Les valeurs varient du simple au double, notamment parce que le panel de l'étude CALIPSO était constitué de sujets vivant en zone côtière et consommant régulièrement du poisson. De ce fait, ils consommaient également 452 mg/j en moyenne d'EPA et 127 mg/j de DPA.

Des données de consommation d'EPA et de DHA ont été publiées au niveau mondial. Elmadfa et Kornsteiner 2009 ont pu montrer que dans 12 pays sur 4 continents, la consommation moyenne en EPA+DHA était comprise entre 0,03 g/j en Chine et 1,05 g/j au Japon, ce qui représente moins de 4% de l'AET. En Asie, les plus forts consommateurs en ces deux acides gras sont le Japon et la Corée du Sud, tandis qu'en Europe il s'agit de la Norvège avec une consommation moyenne supérieure aux recommandations de 500 mg/j (Tableau 8). De son côté, Simopoulos 2010 a montré que les Belges, les Anglais, les Autrichiens et les Allemands consommaient en moyenne 210 à 270 mg/j d'EPA + DHA, contre 300 mg/j pour les Finlandais et 830 mg/j pour les Norvégiens. Ces consommations sont reliées aux

Tableau 9. Consommation moyenne (%cal ou mg/j) d'acides gras n-3 par des enfants et adolescents de pays industrialisés (Anses, 2011)

	ALA % cal	EPA % cal	DHA mg/j
Enfant 1 à 3 ans	0,51-0,79	22-57	43-95
Enfant 3 à 9 ans	0,29-0,74	26-60	49-96
Adolescents	0,31-0,57	39-57	14-111

consommations de poissons plus répandues dans les pays côtiers en particulier d'Europe du Nord et au Japon. Un effet du sexe a en outre été rapporté en Allemagne et en Australie avec une consommation supérieure de 40% chez les femmes que chez les hommes (Linseisen *et al.* 2003; Howe *et al.* 2006). Selon Blasbalg *et al.* 2011, la consommation moyenne d'EPA + DHA aux Etats-Unis serait d'environ 140 mg/j, tandis que Psota *et al.* 2006 ont reporté une consommation moyenne de 110 mg/j pour les hommes et 170 mg/j pour les femmes en effectuant la somme EPA + DPA + DHA, soit des valeurs beaucoup plus faibles que Blasbalg *et al.* 2011 (Tableau 8).

Ainsi, la consommation d'AGPI n-3 est en dessous des apports nutritionnels recommandés dans une majorité de pays. Une exception est toutefois observée pour les Esquimaux Inuits de Nunavik et les Japonais, forts consommateurs de produits de la mer (Meyer 2011). La consommation française d'AGPI n-3 se trouve donc être deux fois inférieure à celle des Japonais. Enfin, des données ont également été rapportées concernant les consommations d'AGPI n-3 des enfants et adolescents dans divers pays industrialisés (Tableau 9).

Concernant les ratios LA/ALA et AGPI n-6/AGPI n-3, il est à noter qu'ils sont généralement très en deçà de la limite maximale conseillée de 5, du fait d'une consommation en AGPI n-3 insuffisante.

4. Les aliments contributeurs

Selon les pays et régions du monde, les aliments contributeurs aux apports en AGPI n-3 tels que ALA, EPA et DHA varient en fonction des habitudes alimentaires.

En France (toute régions confondues), la part la plus importante d'ALA provient de la consommation de produits laitiers (24,6%) suivie des fruits et végétaux (21,1%), de la viande et des œufs (17,2%), des graisses, huiles, produits céréaliers et sucrés (environ 9%) et dans une moindre mesure des poissons et fruits de mer (1,8%) (Astorg *et al.* 2004). Toutefois, ces chiffres varient en fonction des régions et l'étude menée en Aquitaine a montré que les produits laitiers et matières grasses animales contribuaient pour plus de 75% des apports en ALA contre 27% pour les matières grasses d'origine végétales (huiles, produits manufacturés, fruits et légumes) (Combe et Boue 2001). Une étude ayant les mêmes objectifs a été menée en Corée et a démontré que le soja (huile, caillé de soja cru, tofu) est l'aliment contribuant le plus aux apports en ALA (27,1%) de cette population. Vient ensuite l'huile de Périlla (6,2%), très peu consommée dans les pays occidentaux et le riz (5,8%) (Kim *et al.* 2004)

Les aliments fournisseurs d'EPA et de DHA en France sont représentés par les poissons et fruits de mers à respectivement 71,9 et 64,7%, puis par la viande et les œufs (17,5 et 18,4%). La consommation de fruits et végétaux ne permet d'apporter qu'environ 1,0% de chacun de ces deux acides gras, tandis que les produits laitiers n'en apportent pas du tout (Astorg *et al.* 2004). Des résultats similaires ont été observés en Australie, dont la consommation de poissons et fruits de mer permet d'apporter 49,7% d'EPA et 69,9% de DHA. Les viandes participent aussi beaucoup à cet apport avec 44,8% d'EPA et 19,6% de DHA. A l'inverse, les fruits, légumes et produits laitiers australiens ne permettent pas de répondre aux besoins en ces deux acides gras. En Corée, les principaux aliments contributeurs aux apports en EPA et DHA sont les poissons et fruits de mer (anchois 23,1 et 24,4%, maquereau 10,0 et 10,2%, courbine jaune 7,6 et 7,3%, lieu noir d'Alaska 5,7 et 3,2%, calamar 5,4 et 4,0%, thon 3,3 et 2,7% et crabe 1,7 et 1,3%). Les œufs quant à eux apportent 12,5% des besoins en DHA.

Ainsi, en France (et dans d'autres pays de type occidental), les poissons et fruits de mer représentent les principales (plus de 60,0%) sources d'AGPI n-3 (tous confondus), tandis que la consommation de viandes et d'œufs permettent d'en apporter presque 25,0% (Astorg *et al.* 2004). Cet apport est basé sur la consommation de produits animaux ayant reçus une alimentation non enrichie en acides gras n-3. Les contributions de chacun des aliments dans les apports en AGPI n-3 énoncés dans ce paragraphe concernent une partie des apports, qui restent très en deca des recommandations. Néanmoins, ces valeurs peuvent augmenter avec l'apport d'AGPI n-3 dans l'alimentation des animaux (Givens et Gibbs 2006). Par exemple, l'enrichissement en AGPI n-3 des aliments de ruminants permet d'apporter 71,5 mg/j d'EPA + DHA par le biais des produits laitiers. Ainsi, 15% des besoins d'un adulte consommant 2000 kcal par jour sont ainsi couverts alors que sans enrichissement, ces produits auraient été dépourvus d'EPA et de DHA (Tableau 5).

Partie 3

Facteurs de variation de la synthèse et du dépôt d'AGPI n-3 chez le porc

Tableau 10. Effet de sources alimentaires riches en acides gras n-3 sur le dépôt d'ALA et de DHA dans les tissus de différentes espèces animales

Matières première	Espèce	ALA dans aliment		DHA dans aliment		Tissus	ALA dans tissu		DHA dans tissu		Référence
		Régime contrôle	Régime expérimental	Régime contrôle	Régime expérimental		Régime contrôle	Régime expérimental	Régime contrôle	Régime expérimental	
Graine de lin extrudée	Lapin (engraissement)	17,4% des AG	5,7% des AG	NR	NR	Muscle SM	1,48 % des AG	3,51 % des AG	0,22 % des AG	0,30 % des AG	Kouba <i>et al.</i> , 2008
		22,4 % des AG	7,1 % des AG	NR	NR	Muscle LD	1,52 % des AG	3,96 % des AG	0,19 % des AG	0,26 % des AG	Benatmane <i>et al.</i> , 2011
						Muscle LD	9,41 % des AG	14,95 % des AG	0,19 % des AG	0,26 % des AG	
	Poules pondeuses	3,0 % des AG	9,9 % des AG	0	0	Oeufs	0,47 % des AG	1,60 % des AG	0,60 % des AG	1,03 % des AG	Baéza <i>et al.</i> , 2015
	Poulet de chair	2,9 % des AG	6,9 % des AG	0	0	Muscle du filet	1,12 % des AG	3,09 % des AG	0,30 % des AG	0,30 % des AG	Baéza <i>et al.</i> , 2015
	Bovins (finition)	27,3 g/kg aliment	1,2 g/kg aliment	NR	NR	Muscle LD	27,8 mg/100g de muscle	31,2 mg/100g de muscle	2,50 mg/100g de muscle	2,42 mg/100g de muscle	Razminowicz <i>et al.</i> , 2008
		12,3 % des AG	28,1 % des AG	NR	NR	Muscle LT	0,39 % des AG	0,61 % des AG	0,01 % des AG	0,01 % des AG	Habeanu <i>et al.</i> , 2014
	Porc (engraissement)					Muscle SM	0,47 % des AG	0,75 % des AG	0,04 % des AG	0,07 % des AG	Guillevic <i>et al.</i> , 2009
		24,4 g/100g	2,6 g/100g	NR	NR	Muscle LD	0,42 g/100g	2,28 g/100g	0,15 g/100g	0,19 g/100g	
						Foie	0,49 g/100g	3,42 g/100g	1,21 g/100g	1,20 g/100g	Vorin <i>et al.</i> , 2003
		9,4 %	18,1 %	NR	NR	TAD	0,81 g/100g	5,27 g/100g	0,03 g/100g	0,05 g/100g	
					Muscle LD	11,8 mg/100g	19,9 mg/100g	1,6 mg/100g	1,8 mg/100g	Wilfart <i>et al.</i> , 2004	
3,5 %	19,9 %	NR	NR	TAD	1367 mg/100g	1775 mg/100g	23 mg/100g	28 mg/100g			
Graine de lin entière	Bovins (finition)	10,9 % des AG	0,4 % des AG	NR	NR	Muscle LD	0,51 % des AG	1,65 % des AG	0,06 % des AG	0,06 % des AG	Alberti <i>et al.</i> , 2014
Micro algue riche en DHA	Lapin (engraissement)	NR	NR	NR	NR	Muscle LD	100 mg/100g	144 mg/100g	15,2 mg/100g	73,6 mg/100g	Mordenti <i>et al.</i> , 2010
	Poules pondeuses	NR	NR	0 mg par poule par jour	825 mg par poule par jour	Oeufs	NR	NR	26,6 mg par oeuf	220 mg par œuf	Abril <i>et al.</i> , 2000
		3,0 % des AG	5,0 % des AG	0	7,3 % des AG	Oeufs	0,47 % des AG	0,54 % des AG	0,60 % des AG	2,50 % des AG	Baéza <i>et al.</i> , 2015
	Poulet de chair	2,9 % des AG	3,4 % des AG	0	6,5 % des AG	Muscle du filet	1,12 % des AG	1,14 % des AG	0,30 % des AG	4,83 % des AG	Baéza <i>et al.</i> , 2015
Agneaux	NR	NR	NR	NR	Muscle lomburum	39 mg/100g (avec ensilage) 41 mg/100g (avec concentré)	39 mg/100g (avec ensilage) 37 mg/100g (avec concentré)	13 mg/100g (avec ensilage) 12 mg/100g (avec concentré)	92 mg/100g (avec ensilage) 71 mg/100g (avec concentré)	Hopkins <i>et al.</i> , 2014	
DHA pur	Porc (engraissement)	NR	NR	NR	NR	Muscle du jambon	0,70 %	0,64 %	0,22 %	0,24 %	Sarraga <i>et al.</i> , 2007
Huile de lin	Poulet de chair	0,86 mg/g aliment (graisse de palme) 2,38 mg/g aliment (huile de soja)	14,1 mg/g	NR	NR	Poulet entier	0,51 mg/g (graisse de palme) 1,86 mg/g (huile de soja)	12,1 mg/g	0,05 mg/g (graisse de palme) 0,11 mg/g (huile de soja)	0,26 mg/g	Poureslami <i>et al.</i> , 2010
	Porc (engraissement)	9,4 %	21,9 %	NR	NR	Muscle LD TAD	11,8 mg/100g 1367 mg/100g	17,4 mg/100g 2331 mg/100g	1,6 mg/100g 23 mg/100g	1,8 mg/100g 23 mg/100g	Vorin <i>et al.</i> , 2003
Huile de colza	Porc (engraissement)	2,1 % des AG	6,3 % des AG	NR	NR	Muscle LL	0,60 % des AG	0,80 % des AG	NR	NR	Corino <i>et al.</i> , 2002
		3,5 %	5,8 %	NR	NR	Muscle LD	5,5 mg/100g	9,3 mg/100g	1,6 mg/100g	1,7 mg/100g	Wilfart <i>et al.</i> , 2004
Huile de poisson	Porc (engraissement)	3,6 % des AG	5,4 % des AG	0,74 % des AG	1,67 % des AG	Muscle LD	078 % des AG	1,07 % des AG	0,77 % des AG	0,99 % des AG	Leskanich <i>et al.</i> , 1997
	Poulet de chair	0,86 mg/g aliment (graisse de palme) 2,38 mg/g aliment (huile de soja)	1,27 mg/g	NR	3,03 mg/g	Poulet entier	0,51 mg/g (graisse de palme) 1,86 mg/g (huile de soja)	0,84 mg/g	0,05 mg/g (graisse de palme) 0,11 mg/g (huile de soja)	2,06 mg/g	Poureslami <i>et al.</i> , 2010

ALA : acide α -linoléinique, AG : acide gras, DHA : acide docosahexaénoïque, LD : muscle longissimus dorsi, LL : muscle longissimus lomburum, LT : muscle longissimus thoracis, NR : non renseigné, TAD : tissu adipeux dorsal. Quand deux formules alimentaires sont précisées pour deux âges différents, les données sur ALA et DHA sont calculées en faisant la moyenne des deux formules. Excepté les expérimentations de Habeanu *et al.*, 2014 ; Hopkins *et al.*, 2014 et Corino *et al.*, 2002, tous les régimes ont été apportés ad libitum. Excepté les régimes d'Alberti *et al.*, 2014 ; Mordenti *et al.*, 2010 ; Vorin *et al.*, 2003 et Abril *et al.*, 2000, tous les régimes contenant les acides gras n-3 ont été supplémentés en vitamine E ou α -tocophérol que ce soit par le biais de prémix ou d'antioxydants végétaux.

1. Effet de l'alimentation

1.1. Effet du niveau alimentaire

Le niveau alimentaire ou plus précisément les quantités d'aliment ingérées ont un impact sur la composition en acides gras des tissus. Les tissus de porcs ou des ruminants nourris en quantités restreintes contiennent moins de lipides mais proportionnellement plus d'AGPI et moins d'AGS et d'AGMI que des animaux nourris *ad libitum* (Eichhorn *et al.* 1986; Cameron 1991; Wiecek *et al.* 2011).

1.2. Effet de la composition du régime

De nombreuses études se sont intéressées à l'effet d'un apport de sources riches en acides gras n-3 dans les aliments d'animaux d'élevage sur la composition lipidique de la viande (Tableau 10). Les résultats montrent qu'une augmentation de la proportion d'AGPI n-3 dans l'alimentation des animaux induit une augmentation des teneurs en acides gras n-3 dans leurs tissus. Toutefois, cette relation est meilleure chez les monogastriques que chez les ruminants car les acides gras alimentaires sont dégradés par biohydrogénation dans les compartiments fermentaires des ruminants réduisant ainsi l'efficacité de dépôt (Chilliard *et al.* 2008). La teneur en acides gras n-3 dans les tissus dépend donc de l'espèce animale mais également de la richesse du régime. C'est le cas par exemple de l'ALA (Figure 14). Chez le porc, de nombreuses études traitant de l'effet de graines de lin alimentaires sur le dépôt d'acides gras n-3 ont été menées. Toutes ont démontré que la graine de lin extrudée est la matière première la plus performante pour fournir de l'ALA aux animaux et favoriser le dépôt de cet acide gras dans leurs tissus. En revanche, même si l'ALA est le précurseur des acides gras n-3, ces derniers et en particulier le DHA, se déposent à des quantités très faibles de l'ordre de 0,1 % des acides gras totaux dans les tissus (Guillevic *et al.* 2009b). L'utilisation de la microalgue *Schizochytrium sp.* en nutrition animale est une solution innovante pour enrichir les tissus animaux en DHA (Sardi *et al.* 2006; Mordenti *et al.* 2010; Baéza *et al.* 2013; Baéza *et al.* 2015a)

1.3. Effet de la dose dans l'aliment et de la durée de distribution

Les doses d'acides gras distribuées et la durée de distribution ont également un impact sur les quantités retrouvées dans les tissus animaux. L'augmentation de la dose de lin (de 0 à 3,5, 5, 10, 15 ou 30%), sous forme de graine (Romans *et al.* 1995a; Ahn *et al.* 1996; Van Oeckel *et al.* 1996; Matthews *et al.* 2000, Haak *et al.* 2008) ou de tourteau (Eastwood *et al.* 2008) dans l'aliment de porcs en croissance fait augmenter le dépôt d'ALA et d'EPA dans le

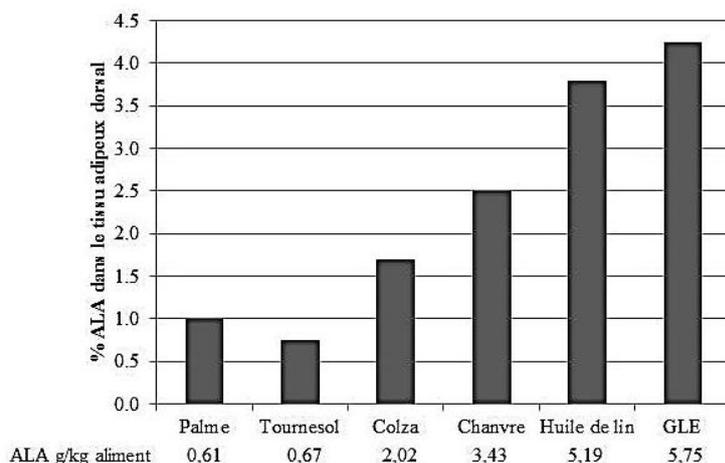


Figure 14. Effet de la matière première sur le dépôt d'acide α -linoléique dans le tissu adipeux dorsal de porc

Tableau 11. Effet de la dose ou de la durée d'alimentation en graines de lin sur le dépôt d'acides gras n-3 dans les tissus porcins

Dose ou durée d'alimentation au lin	Quantité déposée dans le tissu				Référence
	TAD (couche externe)	TAD (couche interne)	Muscle LD	Foie	
5 % de graines de lin	ALA : 9,2 mg/g EPA : 0,12	ALA : 23 mg/g EPA : 0,12	ALA : 0,52 mg/g EPA : 0,052	ALA : 0,25 mg/g EPA : 0,40	Romans <i>et al</i> , 1995a
10 % de graines de lin	ALA : 15 EPA : 0,16	ALA : 37 EPA : 0,16	ALA : 0,75 EPA : 0,055	ALA : 0,41 EPA : 0,73	
15 % de graines de lin	ALA : 18 EPA : 0,18	ALA : 53 EPA : 0,18	ALA : 0,87 EPA : 0,031	ALA : 0,41 EPA : 0,73	
1,5 % d'ALA			ALA : 8,54 % des AG		Ahn <i>et al</i> , 1996
2,5 % d'ALA	-		ALA : 12,26	-	
3,5 % d'ALA			ALA : 12,27		
0,4 % d'ALA			ALA : 1,3 % EPA : 0,6		Van Oeckel <i>et al</i> , 1996
0,7 % d'ALA	-		ALA : 2,1 EPA : 0,9	-	
1 % d'ALA			ALA : 2,6 EPA : 1,0		
50 g/kg de graines de lin	ALA : 10,6 %	ALA : 9,0 %	ALA : 3,3 % EPA : 1,8 DPA : 2,2	C16:0 : 12,1 % C20:4 n-6 : 12,5 ALA : 2,8 EPA : 4,0 DPA : 3,7	Matthews <i>et al</i> , 2000
100 g/kg de graine de lin	ALA : 8,8	ALA : 7,7	ALA : 3,9 EPA : 1,9 DPA : 2,0	C16:0 : 9,9 C20:4 n-6 : 12,5 ALA : 4,4 EPA : 5,9 DPA : 6,2	
15 % graine de lin pendant 7 jours avant abattage	ALA : 6,5 mg/g ARA : 2,2 EPA : 0,047	ALA : 6,4 mg/g ARA : 1,7 EPA : 0,03 DHA : 0,027	ALA : 0,33 mg/g EPA : 0,018 DHA : 0,0044	ALA : 0,70 mg/g ARA : 4,7 EPA : 0,99	Romans <i>et al</i> , 1995b
15 % graine de lin pendant 14 jours avant abattage	ALA : 7,9 ARA : 2,4 EPA : 0,073	ALA : 11 ARA : 2,6 EPA : 0,079 DHA : 0,048	ALA : 0,45 EPA : 0,025 DHA : 0,0048	ALA : 1,1 ARA : 4,7 EPA : 1,5	
15 % graine de lin pendant 21 jours avant abattage	ALA : 9,3 ARA : 2,4 EPA : 0,069	ALA : 14 ARA : 2,6 EPA : 0,011 DHA : 0,059	ALA : 0,52 EPA : 0,036 DHA : 0,0081	ALA : 1,1 ARA : 3,9 EPA : 1,4	
15 % graine de lin pendant 28 jours avant abattage	ALA : 12 ARA : 3,3 EPA : 0,11	ALA : 15 ARA : 2,9 EPA : 0,13 DHA : 0,066	ALA : 0,55 EPA : 0,041 DHA : 0,0070	ALA : 1,1 ARA : 3,7 EPA : 1,6	

Les chiffres en gras sous-lignés ne sont pas statistiquement différents du lot précédent ou ne suivent pas la tendance escomptée à savoir une augmentation ou une diminution. En revanche, ils sont statistiquement différents du lot contrôle.

tissu adipeux du dos (Romans *et al.* 1995b; Matthews *et al.* 2000; Eastwood *et al.* 2008), le muscle (Romans *et al.* 1995b; Ahn *et al.* 1996; Van Oeckel *et al.* 1996; Matthews *et al.* 2000; Eastwood *et al.* 2008) et le foie (Romans *et al.* 1995b; Matthews *et al.* 2000). Cette observation est vraie pour les mâles castrés comme pour les femelles (Van Oeckel *et al.* 1996). En revanche, les quantités en certains acides gras n-6 comme le C20:4 n-6 diminuent dans le foie (Matthews *et al.* 2000) ou le muscle (Ahn *et al.* 1996) avec la dose de lin. De la même façon, certains acides gras saturés comme le C16:0 ou le C18:0 diminuent dans le tissu adipeux du dos (Eastwood *et al.* 2008) ou le foie (Matthews *et al.* 2000) avec l'augmentation de l'apport de lin dans le régime. Toutefois, la part de lin dans l'aliment n'est pas seule responsable de ces résultats. En effet, Romans *et al.* 1995a ont démontré que l'augmentation de la durée d'alimentation aux graines de lin avant abattage avait également un effet positif sur le dépôt d'acides gras n-3 dans les tissus de porc. Ainsi les quantités d'ALA et d'EPA augmentent dans le tissu adipeux du dos, le muscle, le foie et la panne, tandis que la quantité d'ARA augmente dans le tissu adipeux et diminue dans le foie. Le DHA quant à lui augmente dans le tissu adipeux et le muscle (Tableau 11). Cependant, l'ensemble de ces résultats ne montrent pas d'augmentation significative du dépôt de DHA dans les tissus avec l'apport de lin (Raes *et al.* 2004). Ainsi, il est possible d'augmenter les teneurs d'acides gras dans les tissus soit en augmentant les quantités distribuées soit en augmentant la durée de distribution.

1.4. Effet du traitement technologique de la graine de lin

Certaines matières premières pourvues en facteurs anti-nutritionnels comme la graine de lin (hétérosides cyanogénétiques ou cyanogènes de type Linamaroside) doivent subir certains traitements (broyage, cuisson ou extrusion) pour être digestibles. Or, le type de traitement a un effet plus ou moins important sur la digestibilité de la matière grasse et de l'énergie. Ainsi trois régimes expérimentaux ayant la même composition chimique mais n'ayant pas subi le même traitement peuvent se différencier en matière d'utilisation digestive de la matière grasse par exemple. C'est le cas notamment entre un régime à base de graine de lin broyée ou un régime à base de graines de lin thermo-extrudées à températures différentes. Selon Noblet *et al.* 2008, l'extrusion de la graine de lin a un effet positif très marqué sur la digestibilité de la matière grasse et de l'énergie par rapport à une graine broyée. Par conséquent, les dépôts d'acides gras dans le tissu adipeux dorsal et le muscle sont améliorés avec des régimes à base de graines de lin extrudées, notamment à plus haute température (140°C) qu'à plus basse température (115°C) (Chesneau *et al.* 2009).

L'introduction d'acides gras n-3 dans les régimes doit s'accompagner d'une supplémentation en antioxydants. En effet, les acides gras à longue chaîne sont sensibles à la lipoperoxydation et cette sensibilité augmente avec la longueur de chaîne (Arakawa et Sagai 1986) et le nombre d'insaturations. La lipoperoxydation entraîne le développement d'odeurs et de saveurs désagréables de la viande (Pearson *et al.* 1983), ainsi qu'une perte de couleur et de nutriments et l'impossibilité pour les transformateurs de produire des charcuteries (Gray *et al.* 1996). L'étude de Mourot *et al.* 2010 a démontré qu'une supplémentation en antioxydant végétal les dix derniers jours de vie, à une teneur de 4 kg par tonne d'aliment suffisait à réduire la lipoperoxydation de la viande de porc.

2. Effets liés à l'animal

2.1. La race

Pour une même espèce, la race ou le type génétique a une influence sur la composition en acides gras des muscles ou du tissu adipeux de la carcasse. L'étude de Marriott *et al.* 2013, a montré que la quantité d'AGPI n-3 (mg/g tissu) dans le tissu adipeux sous cutané dorsal était supérieure de 24% chez des porcs issus de croisement Large White × Piétrain (LWP) par rapport au croisement Duroc × Piétrain (DP) et de 30% supérieure par rapport à la race pure Piétrain (P). Un résultat similaire a été démontré dans l'étude de Sobol *et al.* 2015, dans le muscle LD concernant le croisement synthétique L990 par rapport au porc Large White polonais. Ces deux études ont également rapporté des différences en termes de quantités d'ALA présent dans ces deux tissus en fonction des races étudiées. Le C18:3 n-3 est ainsi retrouvé en plus grande quantité dans le tissu adipeux du croisement LWP et le muscle de la lignée L990 que dans les autres races. De façon similaire, le tissu adipeux des croisements LWP et DP contiennent plus de C20:5 n-3 et de C22:5 n-3 que la race pure P. Ces résultats expliquent que le ratio AG n-6/AG n-3 soit inférieur dans les tissus des croisements LWP et L990. Wood *et al.* 2004 ont en outre étudié la différence de composition en AG des fractions neutres et polaires du muscle LD des races traditionnelles Berkshire (B) et Tamworth (T) ou modernes Large White (LW) et Duroc (D). Les résultats ont révélé que pour un régime standard, les quantités d'EPA, de DPA et de DHA étaient plus importantes dans les phospholipides des races LW et D que B et T. Cela a conduit de façon logique à un ratio AG n-6/AG n-3 inférieur dans les phospholipides des deux races modernes par rapport aux deux races traditionnelles. De la même manière, la quantité d'ALA trouvée dans les lipides neutres était supérieure induisant un ratio inférieur chez les races D et LW que T et B. Cette étude a en outre montré que les quantités d'AGPI et donc le ratio AGPI/AGS sont plus importants

dans les phospholipides que dans les lipides neutres. Or la quantité de phospholipides étant plus importante dans le muscle de la race D que dans les trois autres races, cela explique qu'un porc Duroc présente plus d'AG n-3 musculaire que des races plus maigres. Une autre raison qui peut expliquer qu'il y ait des différences de composition en AGPI n-3 entre races est l'abondance des ARN codant pour les enzymes $\Delta 6$ -désaturase et Stearoyl-CoA desaturase (SCD) dans les tissus. Marriott *et al.* 2013 ont montré que les quantités d'AGPI n-3 trouvées dans le tissu adipeux étaient corrélées aux quantités d'ARN de la $\Delta 6$ -désaturase. Ainsi, la race LWP qui possédait plus AGPI n-3 que DP ou P, présentait également une abondance d'ARN de la $\Delta 6$ -désaturase plus importante dans son tissu adipeux. De plus, Sobol *et al.* 2015 ont expliqué que des cellules musculaires qui surexpriment le gène de l'enzyme SCD, sont caractérisées par des teneurs élevées en ALA et EPA, mais également en LA et ARA. Or, leur étude a montré que la lignée L990 présentait une abondance d'ARN de la SCD plus importante que le LW polonais. Ainsi, les différences de teneurs en lipides neutres ou polaires et les quantités d'ARN codant pour la $\Delta 6$ -désaturase et la SCD mesurées dans les tissus peuvent expliquer les différences de composition d'acides gras entre races.

2.2. Le sexe

De nombreuses études ont montré que le sexe des animaux a une influence sur la composition en acides gras de leurs tissus. Dans l'espèce porcine, la plupart des études ont été réalisées en comparant les acides gras des tissus des mâles castrés avec les femelles. En proportion, le muscle des mâles castrés contient plus de C10:0, de C12:0, C14:0, C16:0 et C18:0 que celui des femelles (Zhang *et al.* 2007; Haak *et al.* 2008; Mas *et al.* 2010; Zemva *et al.* 2014). Cela vient à dire que le muscle des mâles contient plus d'AGS que celui des femelles (Nuernberg *et al.* 2005; Zhang *et al.* 2007). De la même façon, il a été montré que le muscle de mâles castrés (Zhang *et al.* 2007) ou la carcasse de mâles castrés Large White (Kloareg *et al.* 2007) contient plus de C18:1 que celui des femelles. Le muscle des mâles contient également plus de C16:1 et la carcasse plus de C20:1 que celui des femelles. Les études de Zhang *et al.* 2007; Zemva *et al.* 2014 ont ainsi démontré la plus forte teneur en AGMI du muscle des mâles castrés. A l'inverse, Nuernberg *et al.* 2005; Zhang *et al.* 2007; Okrouhlá *et al.* 2013 ont montré que le muscle des femelles contient plus d'AGPI que le muscle des mâles castrés. C'est le cas notamment du C18:2 n-6, C20:4 n-6, C20:3 n-3 et C20:4 n-3. Ces résultats sont appuyés par ceux de Haak *et al.* 2008; Mas *et al.* 2010 qui ont également montré une plus forte teneur musculaire en C18:3 n-3, C20:2 n-6, C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3 des femelles que des mâles. Kloareg *et al.* 2007 ont également montré que la

carcasse des femelles est plus riche en C18:2 n-6, C18:3 n-3, C20:2 n-6 et C20:5 n-3 que celle des mâles castrés. L'ensemble de ces résultats est en relation avec le régime des animaux mais également le niveau alimentaire et l'effet de la castration. En revanche, deux études n'ont pas réussi à démontrer le lien entre sexe et teneur en AGS, AGMI et AGPI du muscle de porc (Robina *et al.* 2013; Petrović *et al.* 2014). D'après Warnants *et al.* 1999; Högberg *et al.* 2001; Högberg *et al.* 2003 les lipides neutres constitués des triacylglycérols ou triglycérides du muscle des femelles contiennent des proportions plus fortes de C18:1, C18:2 n-6, C18:3 n-3, C20:4 n-6, C22:5 n-3, C22:6 n-3 et donc d'AGPI que les lipides neutres des mâles castrés. En revanche, ceux des mâles contiennent plus de C16:0 et d'AGS que les lipides neutres des femelles. De la même manière, les lipides polaires des femelles contiennent en proportion davantage d'AGPI, représentés par le C20:4 n-6, le C20:5 n-3, C22:4 n-6, C22:5 n-3 et le C22:6 n-3, que les phospholipides des mâles castrés. Or, il a été démontré que les carcasses de mâles castrés sont plus grasses et que leur muscle contient plus de gras intramusculaire que celles des femelles (Gispert *et al.* 2010). Cependant, selon Nuernberg *et al.* 2005, il semblerait que plus un muscle contient de lipides, plus il contient de lipides neutres, la quantité de lipides polaires variant peu. Cela expliquerait que le muscle des mâles castrés contiendrait plus de triacylglycérols et moins de lipides polaires que celui des femelles, comme l'ont confirmé Leszczynski *et al.* 1992; Warnants *et al.* 1996; Zhang *et al.* 2007. De même, les teneurs en acides gras des lipides neutres varient davantage plus que les phospholipides et les lipides neutres contiendraient moins d'AGPI et plus d'AGS que les lipides polaires (Warnants *et al.* 1996; Nuernberg *et al.* 2005; Zhang *et al.* 2007). Enfin, Mas *et al.* 2010 ont expliqué que le degré de saturation des acides gras d'un muscle dépendait de sa teneur en lipides. C'est-à-dire que la quantité d'AGS augmente quand la quantité de lipides dans le muscle augmente. Ces trois dernières observations expliquent qu'il existe des différences entre sexes et que le muscle des femelles soit plus riche en AGPI et moins riche en AGS que celui des mâles castrés. Högberg *et al.* 2001 ont justifié ces différences de composition en expliquant que le métabolisme des mâles castrés est différent de celui des femelles. Ils ont montré par une analyse en composantes multiples que le C18:2 n-6 et le C18:3 n-3 des phospholipides étaient groupés avec les mâles castrés, alors que les produits de désaturation et d'élongation étaient groupés avec les femelles (Högberg *et al.* 2003). Les désaturations et les élongations des précurseurs des familles des acides gras n-3 et n-6 chez les mâles castrés sont affectées par leur niveau alimentaire supérieur dû à la perte des fonctions sexuelles à l'issue de la castration.

Quelques différences de composition ont également été observées entre sexes dans le tissu adipeux. C'est le cas notamment dans les études de Mas *et al.* 2010; Mas *et al.* 2011; Robina *et al.* 2013, qui ont montré que le tissu adipeux sous cutané dorsal ou semi-membraneux des mâles castrés contenait plus d'AGMI et d'AGS tels que le C14:0 et le C16:0 que ceux des femelles. A l'inverse le tissu adipeux sous cutané semi-membraneux des femelles contient plus de C18:2 n-6, de C20:2 n-6, d'AG n-6 et d'AGPI que celui des mâles castrés (Mas *et al.* 2010). Des différences ont également été observées quand les couches interne et externe du tissu adipeux sous cutané dorsal sont étudiées séparément (Warnants *et al.* 1999; Serrano *et al.* 2013). D'autres études en revanche, n'ont pas démontré d'effet du sexe sur la composition en acides gras (Della Casa *et al.* 2010) ou la teneur en AGMI (Mas *et al.* 2010) du tissu adipeux sous cutané semi-membraneux. Dans le premier cas, les animaux étaient nourris à un niveau alimentaire restreint (deux fois par jour). Nuernberg *et al.* 2005 ont expliqué que la teneur en AGS augmentait et celle en AGPI diminuait dans le tissu adipeux dorsal quand celui-ci augmentait de taille ou d'épaisseur. Or, le tissu adipeux dorsal des mâles castrés étant plus épais que celui des femelles (Gispert *et al.* 2010), cela explique qu'il contient plus d'AGS et moins d'AGPI.

Enfin, deux études ont montré des différences de composition d'acides gras du muscle LD (Lopez-Bote *et al.* 1997) ou du tissu adipeux sous cutané (Wood *et al.* 1989) entre porcs mâles entiers et femelles. Dans les lipides neutres du muscle, les proportions de C18:2 n-6 et C18:3 n-3 ont tendance ($P = 0,09$) à être plus importantes chez les mâles entiers que chez les femelles et à l'inverse, celles de C16:1 n-7 et C18:1 n-9 des lipides polaires sont plus importantes chez les femelles que chez les mâles entiers, le niveau alimentaire pouvant une fois de plus expliquer ce résultat. Dans le tissu adipeux, les teneurs en C18:1 sont plus importantes chez les femelles que chez les mâles entiers et inversement pour celles de C18:2 et C18:3. Il semblerait que les acides gras des tissus de femelles soient donc davantage mono-insaturés que ceux des mâles et au contraire que les tissus de ces derniers soient davantage polyinsaturés par rapport aux tissus de ces dernières.

2.3. Les hormones

De nombreuses études ont été menées sur le lien entre hormones et acides gras. Concernant les hormones sexuelles, il a été montré que la progestérone fait diminuer la concentration de C18:3 n-3 des cellules hépatiques humaines. En revanche, cette hormone fait augmenter les teneurs en EPA, DPA et DHA du foie de la famille des acides gras n-3. Il semblerait qu'elle favorise ainsi la conversion d'ALA en ses dérivés chez l'être humain

(Sibbons *et al.* 2014). Il a également été démontré que la progestérone (Sibbons *et al.* 2014) et l'œstradiol (Extier *et al.* 2010; Kitson *et al.* 2010; Childs *et al.* 2012) font augmenter l'expression de FADS2, de la Fatty acid desaturase 1 (FADS1) qui code pour la $\Delta 5$ -désaturase, de Elov15 ou Elov12 du foie de ratte, en particulier par rapport au rat. La progestérone et dans une moindre mesure l'œstradiol augmentent l'expression des désaturases et des élongases *via* un mécanisme indirect impliquant l'activation de PPAR α (Kitson *et al.* 2010; Childs *et al.* 2012). La progestérone et les œstrogènes jouent donc un rôle dans la synthèse des AGPI n-3. Cette capacité de synthèse, quand elle est liée à la concentration plasmatique d'œstradiol, est plus importante chez la femme que chez l'homme. En effet, la forte corrélation entre l'œstradiol et les quantités d'AGPI LC n-3 circulants et tissulaires permettrait aux femelles, notamment en période périnatale, de répondre aux besoins de leur fœtus ou nouveau-né (Childs *et al.* 2008; Sibbons *et al.* 2014). En revanche, d'autres mécanismes peuvent expliquer cette différence entre sexes. En effet, le taux de β -oxydation, notamment d'ALA, est plus important chez les mâles que chez les femelles, favorisant davantage la conversion d'ALA chez ces dernières (Burdge et Wootton 2002a). Enfin, les œstrogènes auraient un impact sur la composition en acides gras du tissu adipeux. En plus d'augmenter la disponibilité d'ALA, ils augmenteraient également les concentrations circulantes d'AGPI LC chez la femelle par rapport au mâle. En effet, Tavendale *et al.* 1992 ont démontré que la composition en acides gras du tissu adipeux des femmes était différente de celle des hommes, celui des femmes possédant davantage de DPA n-3 et de DHA, malgré leur faible teneur dans ce tissu.

Etant donné l'importance des hormones de la glycémie dans le métabolisme énergétique, leur étude a également montré un effet sur la synthèse des AGPI n-3. Comme indiqué dans la revue de Bézard *et al.* 1994, de nombreux chercheurs ont montré une diminution des désaturations, notamment de LA, ALA et de l'acide dihomog γ -linoléique (DGLA) de rats diabétiques de type I. Ces résultats étaient corrélés avec une diminution en ARA et une augmentation en LA dans différents tissus animaux (Brenner 2003). En revanche, l'injection d'insuline a corrigé ce défaut dans toutes les études. Le glucagon a quant à lui des effets inverses à l'insuline, diminuant au contraire l'activité des $\Delta 5$ et $\Delta 6$ -désaturases dans les microsomes de foie de rat. Le glucagon stimule l'adényl cyclase qui entraîne à son tour l'augmentation d'AMP cyclique, faisant diminuer la phosphorylation de l'acetyl CoA carboxylase et donc la production de malonyl CoA, diminuant enfin par effet indirect l'activité des désaturases en donc la synthèse d'AGPI (Bézard *et al.* 1994).

Des études sur le métabolisme du stress ont montré l'effet négatif de l'épinéphrine, des glucocorticoïdes et de l'ACTH (hormone adénocorticotrope) sur l'activité de la $\Delta 6$ -désaturase dans le foie de rat (Bézard *et al.* 1994).

2.4. L'âge des animaux

La revue de Lebret *et al.* 1999 explique que le taux d'AGPI des lipides intramusculaires diminue avec l'âge en raison de l'augmentation de la teneur en acides gras d'origine endogène. Or ces lipides endogènes, synthétisés *de novo* par les animaux sont essentiellement saturés ou monoinsaturés du fait de l'absence chez les mammifères des enzymes de désaturation $\Delta 12$ et $\Delta 15$ indirectement responsables de la synthèse des AGPI. La composition en acides gras des lipides des tissus adipeux varie également avec l'âge des animaux. Quand les dépôts adipeux augmentent avec l'âge, leur taux d'insaturation tend à décroître parallèlement (Lebret *et al.* 1996; Lo Fiego *et al.* 2010), pour la même raison que dans le muscle.

3. Effet de l'organe ou du tissu

L'efficacité de dépôt des AGPI LC dépend du tissu dans lequel il se situe. Chez le porc, il a été démontré que le degré d'insaturation est plus élevé i) dans les tissus adipeux externes que dans les tissus adipeux internes et ii) dans la couche externe d'un tissu adipeux sous cutané que dans sa couche interne (Girard *et al.* 1988; Monziols *et al.* 2007). Inversement les couches et tissus adipeux internes sont plus saturés que leurs homonymes externes (Henry 1977; Wood *et al.* 1986). La taille des cellules, inversement corrélée au degré d'insaturation, permet à l'animal de s'adapter à la température grâce au maintien de la fluidité physique de ses lipides (Wood 1973; Monziols *et al.* 2007). De la même façon, des études ont montré que les tissus adipeux externes sont plus monoinsaturés que les tissus gras internes (Bee *et al.* 2002; Monziols *et al.* 2007). L'enzyme $\Delta 9$ -désaturase, responsable de la synthèse du C18:1, est en effet plus active dans les tissus adipeux sous cutanés que le tissu adipeux périrénal, expliquant ce gradient de monoinsaturation (Kouba *et al.* 1997). Concernant le tissu musculaire, il semblerait que les muscles de type « rouge » contenant des fibres à contraction lente possèdent davantage (6 à 7%) d'AGPI que les muscles de type « blanc » possédant des fibres à contraction rapide, des variations de teneurs en fibres pouvant avoir lieu dans un même muscle (Bout et Girard 1988a). Le rôle physiologique de chacun de ces muscles, en particulier la vitesse et le nombre de contractions des fibres musculaires expliquent ces différences biochimiques. Finalement, une dernière étude a démontré qu'il existait une

différence significative en termes de composition en AG entre tissus de différente nature. Le foie serait donc proportionnellement plus saturé et polyinsaturé, mais moins monoinsaturé que les tissus adipeux et musculaires (Razmaité 2012).

La partie bibliographique de ce mémoire a permis de mettre en évidence un ensemble de facteurs de variation du dépôt des acides gras dans les tissus animaux. Elle a en outre montré l'impact majeur de l'alimentation des animaux sur la qualité des lipides de la viande de porc. Il a également été montré que l'apport en AGPI n-3 était majoritairement apporté sous forme de précurseur, à savoir le C18:3 n-3 ou acide α -linoléique par le biais d'huile de colza ou de graines de lin. L'objectif de cette thèse était donc de tester l'effet conjoint d'un apport en acide α -linoléique et en acide docosahexaénoïque, un dérivé du C18:3 n-3, sur le métabolisme des lipides et la qualité de la viande évaluée par méthode standard ou par SPIR. Ces deux acides gras n-3 ont été apportés respectivement par des graines de lin extrudées ou dépelliculées et extrudées et par des microalgues riches en DHA (*Schizochytrium sp.*) dont la digestibilité a été étudiée. Par ailleurs, certains des facteurs de variations étudiés précédemment ont été utilisés dans le modèle de prédiction du dépôt des acides gras établi par Kloareg *et al.* (2007). A partir de la prise en compte de : l'effet de l'âge des animaux, l'effet de la quantité d'acides gras digestibles, du taux de conversion des précurseurs d'acides gras, du génotype des animaux et du compartiment tissulaire, ce modèle visait à établir des équations de prédiction du dépôt des acides gras majeurs ou essentiels (C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 n-6 et C18:3 n-3) du porc. En se basant sur un modèle similaire et en prenant également en compte les facteurs de variation du dépôt mis en évidence dans cette thèse, la discussion générale présentera la démarche de mise en place d'un modèle de prédiction du dépôt des AGPI n-3 dans le muscle *longissimus dorsi* et le tissu adipeux sous-cutané dorsal des porcs.

MATERIEL ET METHODES

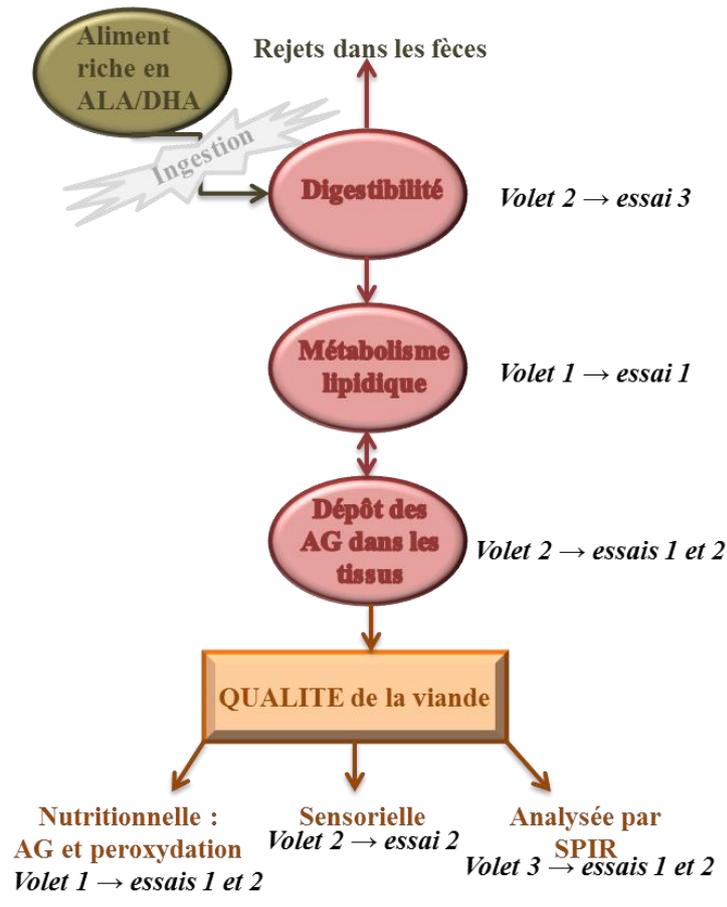


Figure 15. Schéma des questions du sujet

La thèse se présente en trois volets. Les éléments de réponse de chacun des volets ont été apportés suite à la mise en place de trois essais expérimentaux. Les volets de la thèse sont les suivants :

Volet 1 - Effet de variation d'apport de graines de lin ou de microalgues riches en DHA sur les activités enzymatiques et l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique

Volet 2 - Effet d'apport de graines de lin pauvres en fibres et de microalgues riches en DHA sur la digestibilité iléale des nutriments et les qualités nutritionnelles et sensorielles de la viande de porc

Volet 3 - Caractérisation des AG n-3 dans les tissus de porc par la méthode de spectrométrie proche infrarouge

Le premier essai (essai 1) entre dans le cadre d'un projet labellisé. Cet essai a donc été cofinancé par la région Bretagne et des industriels de la transformation et de la conservation des produits de charcuterie. Dans le cadre de la thèse, il aide à l'élaboration des volets 1 et 3 et a pour objectif de répondre à la question « Quel est l'effet d'un apport de doses variables d'ALA et de DHA dans l'aliment des porcs sur le métabolisme lipidique et la qualité nutritionnelle de la viande ? ». Le deuxième essai (essai 2) entre dans le cadre d'un projet financé par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) qui vise à évaluer la qualité nutritionnelle et l'impact environnemental et socioéconomique de plusieurs menus alimentaires afin de construire une évolution durable des pratiques agricoles et des recommandations nutritionnelles. Le nom ainsi choisi pour ce projet est « Agralid », soit « AGRiculture et ALimentation Durables ». Dans le cadre de la thèse, cet essai entre dans l'élaboration des volets 2 et 3 et a pour objectif d'étudier l'impact d'un nouveau traitement de la graine de lin sur le dépôt d'acides gras dans les tissus. Le troisième essai (essai 3) de la thèse permet d'étudier la digestibilité des aliments utilisés dans les deux premiers essais. L'essai 3 entre dans l'élaboration du volet 2 (Figure 15). Par la suite, les résultats seront présentés dans quatre parties intégrant l'ensemble des données obtenues grâce aux trois essais et répondant aux questions posées par les différents volets.

1. Régimes expérimentaux

Essai 1 : Effet de doses variables d'ALA et de DHA dans l'alimentation du porc sur le métabolisme lipidique (activités de lipogenèse et expression de gènes du métabolisme lipidique) et la qualité nutritionnelle de la viande.

Tableau 12. Taux d'introduction des matières premières et composition nutritionnelle du premier essai

%	COL	GLE	3GLE/ 1MAG	2GLE/ 2MAG	1GLE/ 3MAG	MAG
Matières premières						
Blé	25,953	24,581	24,879	25,170	25,454	25,715
Maïs	15,849	15,011	15,193	15,371	15,545	15,704
Orge	25,308	23,970	24,261	24,544	24,822	25,076
Son de blé	5,923	4,977	4,943	4,909	4,876	4,907
Tourteau de soja 48	18,821	17,826	18,042	18,253	18,459	18,648
Huile de colza	1,750	-	-	-	-	-
Graine de lin extrudée	-	7,570	5,610	3,700	1,830	-
Microalgue	-	-	0,940	1,850	2,740	3,610
Mélasses	2,972	2,815	2,849	2,882	2,915	2,944
Carbonate de calcium	1,274	1,207	1,221	1,235	1,249	1,262
Phosphate bicalcique	0,495	0,469	0,475	0,480	0,486	0,491
Sel	0,446	0,422	0,427	0,432	0,437	0,442
L-Lysine-HCl	0,330	0,312	0,316	0,320	0,324	0,327
DL-Méthionine	0,042	0,039	0,040	0,040	0,041	0,041
L-Threonine	0,030	0,028	0,028	0,029	0,029	0,029
Vitamines, minéraux et additifs	0,804	0,772	0,779	0,786	0,793	0,799
Composition nutritionnelle						
MS (%)	88,05	88,06	88,32	88,00	87,12	88,34
Energie brute (MJ/kg de MS)	18,58	18,67	18,70	18,69	18,53	18,61
Protéines brutes (% de MS)	17,77	17,12	16,89	16,13	16,25	16,38
Lipides totaux (% de MS)	4,81	4,96	4,86	4,70	4,75	4,48

Tableau 13. Composition en acides gras des régimes du premier essai

% des AG totaux	COL	GLE	3GLE/ 1MAG	2GLE/ 2MAG	1GLE/ 3MAG	MAG
C12:0	0,05	0,03	0,06	0,07	0,10	0,13
C14:0	0,18	0,16	1,15	2,05	3,04	4,04
C15:0	0,06	0,06	0,10	0,14	0,18	0,22
C16:0	13,04	12,67	14,69	16,58	18,63	20,89
C16:1 n-9	0,05	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03
C16:1 n-7	0,18	0,12	0,12	0,12	0,13	0,14
C18:0	2,28	3,00	2,67	2,27	1,92	1,66
C18:1 n-9c	37,08	18,65	16,67	14,75	12,72	11,01
C18:1 n-7	1,89	0,84	0,77	0,70	0,64	0,58
C18:2 n-6c	36,64	34,27	32,11	30,96	29,24	27,32
C18:3 n-6	0,00	0,00	0,03	0,06	0,09	0,12
C18:3 n-3	6,60	29,19	22,68	16,13	9,21	2,69
C18:4 n-3	0,01	0,01	0,05	0,09	0,13	0,17
C20:0	0,42	0,23	0,22	0,23	0,23	0,23
C20:1 n-9	0,84	0,32	0,31	0,28	0,25	0,26
C20:2	0,07	0,06	0,05	0,05	0,05	0,07
C20:3 n-6	0,00	0,01	0,22	0,43	0,65	0,90
C20:4 n-6	0,00	0,00	0,08	0,14	0,22	0,29
C20:3 n-3	0,00	0,03	0,02	0,05	0,08	0,10
C20:5 n-3	0,03	0,02	0,20	0,38	0,56	0,74
C22:0	0,04	0,04	0,04	0,06	0,06	0,07
C22:1 n-11	0,26	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05
C22:4 n-6	0,00	0,00	0,01	0,03	0,05	0,06
C22:5 n-6	0,00	0,00	1,98	3,80	5,77	7,56
C22:5 n-3	0,00	0,00	0,06	0,12	0,17	0,22
C22:6 n-3	0,00	0,00	5,26	10,07	15,28	19,90
C24:0	0,16	0,15	0,17	0,20	0,22	0,24
C24:1	0,11	0,03	0,19	0,16	0,30	0,26
AGS	16,24	16,35	19,10	21,60	24,38	27,50
AGM	40,41	20,07	18,15	16,09	14,12	12,34
AGPI	43,35	63,57	62,75	62,30	61,50	60,16
n-6	36,64	34,27	34,43	35,42	36,01	36,25
n-3	6,64	29,24	28,27	26,83	25,44	23,83
n6/n3	5,52	1,17	1,22	1,32	1,42	1,52

L'essai testant l'effet de doses variables d'ALA et de DHA dans l'aliment des porcs a été mené au travers de lots de dix animaux ayant reçus six régimes différents. Les porcs du lot contrôle ont ingéré de l'huile de colza comme source de matière grasse (lot CON ou COL). La composition lipidique (AGS, AGMI, AGPI) de ce régime servira de témoin tout au long de l'étude. Ceux du deuxième lot ont reçu une dose d'ALA (29,2% des AGT) à travers des graines de lin extrudées (TradiLin®, Valorex, France), mais pas de DHA (lot ALA ou GLE). Ceux du troisième lot ont consommé trois doses d'ALA (22,7% des AGT) pour une dose de DHA (5,3%), apporté par des microalgues riches en DHA (*Schizochytrium sp.*, DHA Gold®, DSM, Belgique) (lot 2ALA/DHA ou 3GLE/1MAG). Les porcs du quatrième lot ont reçu autant d'ALA (16,1%) que de DHA (10,1%, lot ALA/DHA ou 2GLE/2MAG), tandis que ceux du cinquième lot ont mangé trois doses de DHA (15,3%) pour une dose d'ALA (9,2%, lot ALA/2DHA ou 1GLE/3MAG). Enfin, ceux du dernier lot ont consommé uniquement une dose de DHA (19,9%) grâce à l'apport de microalgues (lot DHA ou MAG). La composition en matières premières et la composition nutritionnelle des régimes sont données dans le Tableau 12, celle des acides gras dans le Tableau 13. Tous les régimes ont été supplémentés avec 80 ppm de vitamine E pour protéger les acides gras de l'oxydation.

Essai 2 : Effet d'un nouveau traitement technologique de la graine de lin et son association avec une microalgue riche en DHA sur les dépôts d'ALA et de DHA dans les tissus de porc.

L'objectif du deuxième essai est de savoir si l'association de l'extrusion et la suppression de l'enveloppe de la graine de lin améliore les dépôts d'ALA dans les tissus de porcs. Pour cela, les porcs ont été répartis dans six lots de douze animaux ayant reçus des régimes contenant différentes sources lipidiques. Les animaux du lot contrôle ont reçu des huiles de soja et de palme. La composition lipidique (AGS, AGMI, AGPI) de ce régime servira également de témoin tout au long de l'étude. Ceux du deuxième lot ont consommé des graines de lin extrudées (lot GLE), tandis que ceux du troisième lot ont ingéré des graines de lin extrudées dont l'enveloppe a été supprimée (lot GLE-) (TradiLin®, Valorex, France). Les porcs du quatrième lot ont reçu un mélange de 75% de graines de lin GLE- et 25% de microalgues riches en DHA (*Schizochytrium sp.*, DHA Gold®, DSM, Belgique) (lot 3GLE-/1MAG), alors que ceux du cinquième lot ont reçu le mélange 50% GLE-/50% MAG (lot 2GLE-/2MAG). Enfin les animaux du dernier lot ont mangé un régime à base de 100% de microalgues (lot MAG). Les compositions en matières premières et nutritionnelle des régimes sont données dans le Tableau 14 et celle des acides gras dans le Tableau 15.

Tableau 14. Taux d'introduction des matières premières et composition nutritionnelle du deuxième essai

%	SP	GLE	GLE-	3GLE-/1MAG	2GLE-/2MAG	MAG
Matières premières						
Blé tendre	24,364	23,044	22,816	20,385	22,199	21,591
Mais	24,364	23,044	22,816	20,385	22,199	21,591
Orge	24,364	23,044	22,816	20,385	22,199	21,591
Tourteau de soja 48	17,881	18,624	18,723	17,011	18,235	17,755
Son de blé tendre	2,500	2,500	2,623	12,062	5,071	7,479
Huile de palme	0,189	-	-	-	-	-
Huile de soja	0,189	-	-	-	-	-
Graine de lin extrudée	-	3,642	-	-	-	-
Graine de lin extrudée "fibre-"	-	-	4,112	3,059	2,022	-
Microalgue	-	-	-	0,935	1,855	3,652
L-Lysine HCL	0,290	0,277	0,275	0,294	0,282	0,288
L-Thréonine	0,093	0,091	0,091	0,095	0,093	0,094
L-Tryptophane	0,014	0,013	0,013	0,011	0,013	0,012
DL-Méthionine	0,050	0,055	0,055	0,053	0,055	0,055
Sel	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450	0,450
Carbonate de calcium	0,540	0,538	0,539	0,599	0,554	0,570
Phosphate bicalcique	1,013	0,976	0,970	0,919	0,957	0,944
COV INRA	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500
Sevefarm	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Mélasse de canne	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Composition nutritionnelle						
MS (%)	84,68	85,16	85,53	85,35	85,40	86,35
Energie brute (MJ/kg de MS)	18,27	18,39	18,36	18,89	18,49	18,55
Protéines brutes (% de MS)	19,44	20,00	20,40	19,87	18,86	19,40
Lipides totaux (% de MS)	2,55	2,98	3,07	3,31	3,87	4,49

Tableau 15. Composition en acides gras des régimes du deuxième essai

% des AG totaux	SP	GLE	GLE-	3GLE-/1MAG	2GLE-/2MAG	MAG
C12:0	0,03	0,00	0,00	0,05	0,08	0,12
C14:0	0,19	0,11	0,10	1,56	2,60	4,39
C14:1	0,03	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01
C15:0	0,07	0,06	0,06	0,12	0,16	0,23
C16:0	16,05	12,38	12,09	14,43	16,51	18,77
C16:1 n-9	0,05	0,04	0,04	0,03	0,05	0,02
C16:1 n-7	0,14	0,11	0,11	0,11	0,19	0,10
C18:0	2,18	2,49	2,51	2,02	2,25	1,14
C18:1 n-9t	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C18:1 n-9c	22,54	18,22	18,03	14,94	13,93	9,52
C18:1 n-7	0,93	0,54	0,55	0,47	0,51	0,17
C18:2 n-6c	52,65	44,01	43,69	38,40	33,24	28,21
C18:3 n-6	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07	0,13
C18:3 n-3	3,51	20,72	21,59	14,89	9,67	2,31
C18:4 n-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,05
C20:0	0,33	0,29	0,28	0,36	0,25	0,24
C20:1 n-9	0,42	0,36	0,35	0,41	0,38	0,28
C20:2	0,04	0,04	0,05	0,04	0,07	0,02
C20:3 n-6	0,00	0,00	0,00	0,27	0,37	0,65
C20:4 n-6	0,02	0,00	0,00	0,05	0,14	0,20
C20:3 n-3	0,18	0,06	0,04	0,07	0,07	0,08
C20:4 n-3	0,04	0,03	0,04	0,14	0,28	0,42
C20:5 n-3	0,10	0,08	0,06	0,28	0,38	0,39
C22:0	0,25	0,21	0,18	0,16	0,16	0,13
C22:1 n-11	0,03	0,02	0,03	0,03	0,02	0,01
C22:5 n-6	0,00	0,00	0,00	2,86	4,78	8,38
C22:5 n-3	0,00	0,00	0,00	0,04	0,07	0,08
C22:6 n-3	0,03	0,01	0,01	7,95	13,37	23,45
C24:0	0,13	0,12	0,11	0,12	0,17	0,15
C24:1	0,05	0,05	0,04	0,14	0,15	0,35
AGS	19,24	15,65	15,34	18,83	22,19	25,16
AGMI	24,18	19,39	19,20	16,16	15,27	10,48
AGPI	56,58	64,95	65,47	65,01	62,54	64,36
n-6	52,68	44,01	43,69	41,60	38,59	37,56
n-3	3,86	20,90	21,73	23,38	23,87	26,78
n6/n3	13,67	2,11	2,01	1,78	1,62	1,40

Essai 3 : Etude de la digestibilité de graines de lin et de microalgues riches en DHA chez le porc.

L'objectif de cet essai est de mesurer les effets de l'introduction de matières premières riches en acides gras n-3 sur l'utilisation digestive des nutriments chez le porc au niveau iléal. Les porcs utilisés dans cet essai ont reçu six régimes composés comme suit :

- Régime 1 : régime standard (Stan)
- Régime 2 : régime standard supplémenté en huile de palme et soja (SP)
- Régime 3 : régime standard supplémenté en graine de lin extrudée (GLE)
- Régime 4 : régime standard supplémenté en graine de lin fibre - (GLE-)
- Régime 5 : régime standard supplémenté en microalgues riches en DHA (MAG)
- Régime 6 : régime protéoprive (sans protéine) (PP)

La rotation des porcs sur les régimes a permis d'assurer un ordre moyen de mesure identique pour tous les régimes (Tableau 16). Au cours d'une sixième période, un sixième régime à très faible teneur en protéines et matières grasses a été distribué à tous les porcs pour la détermination des productions endogènes de protéines et d'acides gras. Chaque période est constituée de quatre jours d'adaptation au régime et de trois jours de mesure précise de l'ingéré et de collecte des excréta. Les aliments ont été distribués sous forme de soupe et offerts aux porcs en deux repas par jour dont les quantités et les refus ont été pesés. Le niveau alimentaire est calculé sur la base d'un apport quotidien de 90,0 g/kg PV^{0,75}. La composition en acides gras de ces régimes est donnée dans le Tableau 17.

2. Animaux et prélèvements expérimentaux

2.1. Elevage et animaux

2.1.1. Essai 1

60 porcs de race croisée de mère (large white × landrace) et de père piétrain ont été élevés à l'élevage expérimental de l'INRA de Saint-Gilles (35) UMR PEGASE 1348, pendant huit semaines entre seize et vingt-quatre semaines d'âge. Les animaux ont été élevés en phase de croissance-finition. 30 femelles et 30 mâles castrés ont été répartis de manière équitable et selon leur poids dans six lots de dix animaux. Le poids moyen des animaux de chaque lot en début d'expérimentation était donc de 64,6 kg ± 5,5 kg. Les animaux ont été logés en cases individuelles. Les porcs ont été pesés à jeun une fois par semaine et nourris *ad libitum* jusqu'à

Tableau 16. Composition des régimes de l'essai de digestibilité

%	Stan	SP	GLE	GLE-	MAG	PP
Matières premières						
Blé tendre	23,00	20,52	19,27	19,27	19,27	-
Maïs	23,00	20,52	19,27	19,27	19,27	-
Orge	23,00	20,52	19,27	19,27	19,27	-
Son de blé tendre	2,36	2,11	1,98	1,98	1,98	-
Tourteau de soja 48	16,88	15,06	14,15	14,15	14,15	-
Huile de palme	-	5,00	-	-	-	-
Huile de soja	-	5,00	-	-	-	-
Grain de lin extrudée	-	-	15,00	-	-	-
Grain de lin extrudée "fibre -"	-	-	-	15,00	-	-
Microalgue	-	-	-	-	15,00	-
Amidon de maïs	3,94	3,52	3,30	3,30	3,30	83,60
Sucre	0,24	0,21	0,20	0,20	0,20	5,00
Cellulose	0,19	0,17	0,16	0,16	0,16	4,00
Sel	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Carbonate de calcium	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
COV INRA	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Bicarbonate de sodium	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Phosphate monocalcique	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
KCl	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
MgCl ₂ , 6H ₂ O	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Sevefarm	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Vitamines	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Composition nutritionnelle						
MS (%)	87,37	88,01	88,13	88,08	89,27	87,34
Energie brute (MJ/kg de MS)	17,03	19,53	17,99	17,75	18,71	16,07
Protéines brutes (% de MS)	17,09	15,08	17,27	16,07	15,96	0,48
Matières grasses (% de MS)	1,52	9,52	3,73	3,03	6,98	0,00

Tableau 17. Composition en acides gras des régimes de l'essai de digestibilité

% AG totaux	Stan	SP	GLE	GLE-	MAG
C12:0	0,01	0,16	0,02	0,02	0,19
C14:0	0,15	0,74	0,11	0,09	7,20
C14:1	0,16	0,95	0,81	0,66	0,00
C15:0	0,08	0,07	0,06	0,06	0,32
C16:0	19,92	33,32	10,68	10,47	21,69
C16:1 n-9	0,06	0,04	0,03	0,04	0,00
C16:1 n-7	0,13	0,18	0,09	0,08	0,05
C18:0	2,28	5,05	3,28	3,01	0,79
C18:1 n-9c	23,51	42,29	14,43	13,92	3,85
C18:1 n-7	0,98	1,47	0,63	0,62	0,25
C18:2 n-6c	46,47	9,92	11,76	13,27	10,22
C18:3 n-6	0,00	0,00	0,04	0,00	0,16
C18:3 n-3	3,05	0,51	7,84	6,60	0,76
C18:4 n-3	0,00	0,07	0,06	0,06	0,24
C20:0	0,46	1,15	0,28	0,31	0,21
C20:1 n-9	0,95	1,18	0,59	0,61	0,08
C20:2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
C20:3 n-6	0,00	0,02	0,00	0,00	1,24
C20:4 n-6	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
C20:3 n-3	0,42	0,70	0,26	0,28	0,12
C20:4 n-3	0,28	0,50	0,00	0,00	0,74
C20:5 n-3	0,41	0,09	0,25	0,23	0,82
C22:0	0,00	0,00	0,06	0,05	0,00
C22:1 n-11	0,28	0,43	0,17	0,17	0,08
C22:1 n-9	0,11	0,22	0,00	0,00	0,00
C22:4 n-6	0,00	0,10	0,00	0,00	0,05
C22:5 n-6	0,07	0,15	0,10	0,10	13,26
C22:5 n-3	0,00	0,12	0,06	0,09	0,21
C22:6 n-3	0,00	0,18	0,00	0,00	36,45
C24:0	0,20	0,20	0,15	0,13	0,23
C24:1	0,00	0,11	0,00	0,00	0,67
AGS	23,10	40,71	14,46	14,00	30,65
AGM	26,18	46,88	16,73	15,75	4,98
AGPI	50,72	12,41	20,26	20,54	64,37
n-6	46,55	10,24	11,90	13,33	24,93
n-3	4,17	2,17	8,36	7,22	39,35
n6/n3	11,16	4,74	0,71	0,92	0,63

la fin de l'expérimentation. L'eau était en accès libre. Les quantités d'aliment distribuées et les refus ont été pesés deux fois par jour afin de connaître les quantités consommées par porc.

2.1.2. Essai 2

Sur le même principe que la première étude, 72 porcs issus du même croisement que précédemment ont été élevés en phase de croissance et finition sur le site de Saint-Gilles pendant huit semaines, entre seize et vingt-quatre semaines d'âge. 36 mâles entiers et 36 mâles castrés ont été répartis de manière équitable selon leur poids dans six lots de douze animaux. Le poids moyen des animaux de chaque lot était de $50,8 \text{ kg} \pm 2,6 \text{ kg}$ en début d'expérimentation. Les mêmes conditions et les mêmes mesures que dans l'essai 1 ont été réalisées. Une mesure de l'épaisseur de lard dorsal, au niveau de la dernière côte et à 7 cm de la colonne vertébrale a été réalisée en plus sur chacun des porcs à quinze jours d'intervalle (eld1, 15 jours d'expérimentation ; eld2, un mois ; eld3, six semaines ; eld4, deux mois). Ces mesures ont été réalisées à l'aide d'un échographe (Noveko Vetko Plus, DGF, Canada).

Quatre porcs de 50 kg ont également été abattus dans le cadre de cet essai afin de connaître à $t=0$, la composition en acides gras de leurs tissus, permettant le calcul du dépôt pendant la phase de croissance-finition.

2.1.3. Essai 3

Les mesures ont été conduites sur 5 porcs (Piétrain \times (Large White \times Landrace)) ayant préalablement subi une anastomose iléo-rectale (Laplace *et al.* 1985) (Figure 16). Après une période de récupération post-opératoire de vingt et un jours, chaque porc d'un poids vif en début d'essai de 35,0 kg a reçu successivement les six régimes selon un carré latin de rang 5 (Tableau 18). Ils ont été abreuvés *ad libitum* et pesés une fois par semaine pour connaître leur poids en début et fin de chaque période. Les porcs étaient placés en cage individuelle de digestibilité pour la collecte de leurs excréta.

2.2. Abattage, découpe et mesures de la qualité de la viande

Dans les deux premières expérimentations et au bout de huit semaines d'élevage, les animaux ont été abattus à l'abattoir expérimental du même site et selon les pratiques en vigueur dans l'industrie porcine. Les animaux pesaient en moyenne $115,0 \text{ kg} (\pm 7,3 \text{ kg})$ le jour de l'abattage. Ils ont été mis à jeun seize heures avant abattage et réceptionnés en salle de stabulation à l'abattoir, avec un accès libre à l'eau. Les porcs ont ensuite été abattus un par un par exsanguination au niveau de la jugulaire et après étourdissement par électronarcose. Les carcasses ont ensuite été douchées puis échaudées afin d'être débarrassées de leurs soies. Les

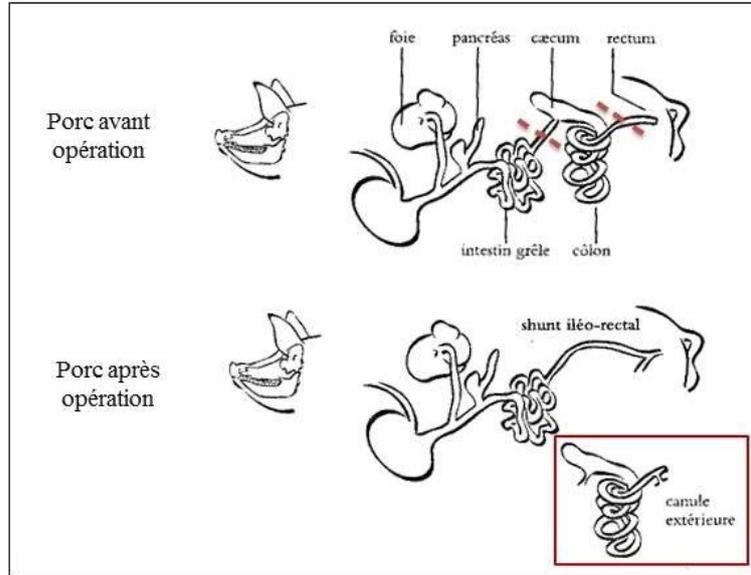


Figure 16. Schéma d'un shunt iléo-rectal chez le porc

Tableau 18. Schéma expérimental (carré latin de rang 5)

	Porc 1	Porc 2	Porc 3	Porc 4	Porc 5
Période 1	Stan	SP	GLE	GLE-	MAG
Période 2	SP	GLE	GLE-	MAG	Stan
Période 3	MAG	Stan	SP	GLE	GLE-
Période 4	GLE	GLE-	MAG	Stan	SP
Période 5	GLE-	MAG	Stan	SP	GLE
Période 6	PP	PP	PP	PP	PP

onglons de porc ont quant à eux été ôtés conformément à la norme en vigueur. Les carcasses ont été douchées une seconde fois avant d'être éviscérées. Les abats rouges (cœur et foie) puis les abats blancs (intestins, poumons et reins) ont été retirés avant de découper les carcasses en deux suivant l'axe de la colonne vertébrale. La tête et la queue ont été laissées sur la demi-carcasse gauche. Elles ont ensuite été pesées en fin de chaîne afin de connaître le poids chaud de carcasse. Puis le taux de muscle des pièces (TMP) a été déterminé à l'aide Fat-O-Meter ou capteur de gras et de maigre (CGM, Syleps, France), dont le principe repose sur une mesure physique de réflectance. La sonde de l'appareil a été enfoncée sur deux sites de mesure, à savoir entre la 3^{ème} et la 4^{ème} dernière vertèbre lombaire, à 8 cm de la ligne médiane dorsale ainsi qu'entre la 3^{ème} et 4^{ème} dernière côte, à 6 cm de la ligne médiane dorsale. Les épaisseurs de tissus adipeux sous cutanés du cou, du dos et du jambon ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Une fois les mesures effectuées, les carcasses ont d'abord été refroidies pendant une heure en chambre froide à forte ventilation afin d'entraîner une baisse rapide de la température des carcasses. Puis elles ont été réfrigérées pendant vingt-quatre heures en chambre froide à +4°C. Le lendemain de l'abattage, les carcasses ont été pesées une seconde fois afin de connaître leur poids à froid. Deux mesures de pH de la viande au niveau du muscle *longissimus dorsi* et du *semi-membraneux* ont été réalisées à l'aide d'un pH-mètre (Metrohm 826, USA). Puis les pièces telles que les pieds, les jambons, la queue, la longe, la bardière, la poitrine et les épaules ont été découpées selon la découpe hollandaise normalisée et en accord avec la méthode décrite par (Métayer et Daumas 1998) (Figure 17). Au moment de la découpe, une côte de chaque carcasse a été prélevée afin d'évaluer la couleur (indices L, a et b) de la viande à l'aide d'un chromamètre (CR 300, Konica Minolta, France). Le taux de perte en eau (ressuage) a été déterminé sur ces mêmes côtes selon la méthode de Honikel 1998. Elles ont été pesées, puis suspendues pendant quarante-huit heures en sachet individuel à +4°C. Une deuxième pesée a permis de connaître le taux de perte en eau à froid. Les côtes ont ensuite été cuites au bain-marie à +70°C pendant 30 minutes, puis repesées une dernière fois pour connaître les pertes en eau après cuisson.

2.3. Prélèvement des échantillons

2.3.1 Essais 1 et 2

Au moment de la saignée, un échantillon de sang a été prélevé dans des tubes héparinés (10 µl/ml) puis centrifugés à 3500 g pendant quinze minutes à +4°C. Les phases plasmatiques et érythrocytaires ont ensuite été aliquotées et conservées à -20°C en attendant les analyses des paramètres sanguins. Après avoir découpé les carcasses en deux, 16 échantillons au cours

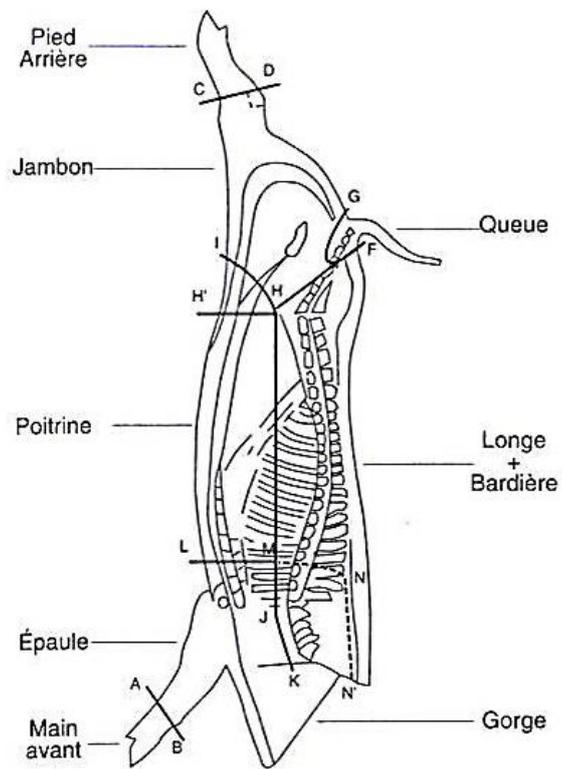


Figure 17. Schéma de découpe des carcasses selon la méthode de Métayer, A. et Daumas, G. 1998 (Méthode hollandaise)

de la première étude et 13 échantillons de tissus adipeux, muscles et organes dont le sang au cours de la deuxième étude ont été prélevés. Dans la première étude, des échantillons de foie, de muscle *longissimus dorsi* et de tissu adipeux du dos ont été immédiatement congelés dans de l'azote liquide puis conservés à -80°C en vue d'analyses enzymatiques et de réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN (RT-PCR). En revanche, l'ensemble des échantillons pour les deux premières études a immédiatement été congelé à -20°C après mise sous vide en vue des analyses de détermination de la teneur en lipides, de la composition en acides gras (par méthode chimique ou par spectrométrie en proche infra-rouge SPIR) et de la peroxydation des acides gras.

Des côtes entières ont également été prélevées afin de déterminer la teneur en lipides et la composition en acides gras avant et après cuisson. Les côtes ont été cuites sur un grill ménager selon les recommandations faites par le constructeur. Les côtes fraîches ou cuites ont d'abord été pesées entières. La chair des côtes crues désossées a été pesée puis broyée avant de passer en extraction. Les côtes cuites entières ont été chauffées au grill pendant trois minutes de chaque côté, puis repesées. Elles ont ensuite été désossées et la chair cuite a été pesée avant d'être broyée pour analyse.

2.3.2. Essai 3

Des échantillons d'aliment et de jus iléaux ont été recueillis afin de caractériser leur composition chimique dans le but de déterminer la digestibilité des aliments. Un échantillon de 500 g chaque matière première et de chaque régime est prélevé après chaque fabrication pour être analysé en laboratoire. De même, pendant la phase de collecte, un échantillon de chaque aliment a été prélevé au moment de la distribution des rations et cumulé de façon à constituer un échantillon de 500 g représentatif du matériel consommé par l'animal. La teneur en matière sèche (MS) de ces échantillons d'aliment est mesurée pendant vingt-quatre heures en étuve à 103°C; le reste est « poolé » pour les analyses de laboratoire ultérieures. Pendant la période de collecte, les jus iléaux ont été prélevés deux fois par jour dans des bacs contenant 500 mL d'une solution d'acide sulfurique à 2,0%. Les jus ont été cumulés pendant les trois jours de collecte et stockés en chambre froide. A la fin de chaque période, les jus iléaux de chaque porc ont été pesés et homogénéisés. Deux échantillons de ces jus ont ensuite servis pour mesurer la teneur en MS en étuve à 103°C pendant quarante-huit heures et un échantillon a été lyophilisé (soixante-douze heures à -35 °C) pour la suite des dosages de laboratoire.

3. Dosages de laboratoire

3.1. Caractérisation des aliments expérimentaux et des jus iléaux

Des échantillons d'aliment de chaque essai prélevés après fabrication et avant distribution aux animaux et de jus iléaux ont été dosés afin de déterminer leur composition chimique. Les dosages de matière sèche, d'énergie brute, des protéines totales et de la matière grasse (méthode à froid) ont été réalisés dans le cadre des trois essais et sur les trois types d'échantillons.

3.2. Détermination de la matière sèche

La matière sèche a été mesurée selon une norme AFNOR (Afnor 1982). 3 g d'aliment ont été introduits dans un creuset en porcelaine dont le poids est connu. Les creusets pleins sont ensuite placés dans une étuve à +103°C jusqu'à ce que les échantillons aient atteints une masse constante. La teneur en matière sèche (en gramme pour 100 g d'échantillon) est obtenue en faisant la différence entre le poids de l'échantillon humide et le poids de l'échantillon dessiqué selon la formule suivante :

$$\% \text{ MS} = \frac{(\text{poids échantillon dessiqué} - \text{poids creuset}) (\text{g}) \times 100}{\text{poids échantillon frais (g)}}$$

La méthode est identique pour les jus iléaux, si ce n'est que 350 g sont placés dans une barquette en aluminium de poids connu à la place d'un creuset en porcelaine.

3.3. Détermination de la matière minérale

La teneur en matière minérale a été déterminée en plaçant 5 g d'aliment broyé ou de jus iléaux lyophilisés dans un creuset qui est ensuite introduit dans un four à moufle à 550°C pendant huit heures. Le calcul de la teneur en matière minérale s'effectue de la manière suivante :

$$\% \text{ MM} = \frac{\text{poids des cendres (g)} \times 100}{\text{poids de l'échantillon sec (g)}}$$

3.4. Détermination de la matière organique

La teneur en matière organique se calcul comme suit : % MO = 100 - %MM

3.5. Détermination de la teneur en énergie brute

La teneur en énergie brute est mesurée grâce à un calorimètre (C5001 Cooling system, C5003 Control system, IKA, Allemagne) selon une norme ISO (ISO 1998). 1 g d'échantillon broyé d'aliment ou de jus iléaux lyophilisés est placé dans le calorimètre. Le principe consiste

à mesurer l'élévation de température provoquée par une combustion dans de l'oxygène sans contact avec l'extérieur ni perte de chaleur. En connaissant la capacité calorifique du système calorimétrique ainsi que l'augmentation de température de l'eau contenue dans la bombe et en considérant le poids de l'échantillon combustible, il est possible de calculer le pouvoir calorifique brut de l'échantillon. L'énergie brute est exprimée en joule pour 100 g d'échantillon sec ou frais si sa teneur en eau est connue. Des formules de calculs permettent de connaître la teneur en énergie nette des échantillons ((Noblet *et al.* 1989).

3.6. Détermination de la teneur en protéines totales

Le teneur en protéines brutes est obtenue selon une norme ISO (ISO 2008) et en suivant la méthode de Dumas (AOAC 1990). La teneur en protéines est obtenue en multipliant la teneur en azote total de l'échantillon par 6,25. La teneur en azote est connue en plaçant 200 mg d'échantillon dans un analyseur à azote (Rapid N exceed cube, Elementar France SARL, France). Ce dosage a été réalisé sur les aliments après fabrication, les aliments au moment de la distribution des rations et les jus iléaux.

3.7. Détermination des acides aminés d'hydrolysats de protéines

Pour doser les acides aminés contenus dans les protéines, il faut d'abord les libérer par hydrolyse (Afnor 1998). La composition en acides aminés des échantillons est ensuite déterminée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

3.8. Hydrolyse des protéines

Certains acides aminés étant libérés plus vite que d'autres et les acides aminés soufrés étant détruits en partie par l'hydrolyse, il est nécessaire de réaliser trois hydrolyses différentes du même échantillon. 50 mg d'échantillon sont pesés auxquels sont ajoutés 50 ml d'acide chlorhydrique 6N et du phénol pour protéger certains acides aminés comme la tyrosine. La tyrosine peut en effet subir une halogénéation au cours de l'hydrolyse. Les échantillons sont ensuite hydrolysés en étuve à 110 °C pendant vingt-quatre heures. Une fois refroidis, il faut ajouter 0,5 ml de solution d'étalon interne à 6,3 $\mu\text{mol/ml}$ (acide L- α -butyrique) afin de corriger les éventuelles erreurs de prise de volume au cours des étapes d'évaporation, de dérivation ou d'injection. 0,5 ml de ce mélange sont prélevés puis évaporés à l'aide d'un évaporateur sous vide Speed-vac et réhydratés avec de l'eau ultra pure pour être passés en HPLC. Cependant, une seconde hydrolyse de quarante-huit heures suivant le même protocole devra être réalisée afin d'analyser les acides aminés ramifiés tels que la valine, l'isoleucine et la leucine. Enfin, une dernière hydrolyse de dix-huit heures après une oxydation performique

permettra de libérer l'acide cystéique et la méthionine sulfone des protéines en vue de leur dosage. L'oxydation des protéines est permise grâce à du peroxyde d'hydrogène et à lieu en présence d'acide formique à 88,0%. La troisième hydrolyse suit les mêmes conditions que précédemment.

3.9. Dérivation des acides aminés

Les acides aminés contenus dans les hydrolysats de protéines doivent être dérivés avant de passer en HPLC. Les hydrolysats 24h, 48h ou oxydés se dérivent de la même façon. Pour cela, il faut mélanger et vortexer 10 µl d'hydrolysat avec 70 µl de tampon d'éluion qui permet d'amener la solution à pH 8,8. Ensuite, il faut ajouter 20 µl de réactif de dérivation, vortexer une seconde fois et placer les échantillons d'acides aminés dans l'HPLC.

3.10. Détermination des acides aminés par HPLC

Les amines primaires et secondaires obtenues par dérivation sont séparés par HPLC à l'aide d'un chromatographe (Système alliance 2690, Waters, USA) équipé d'un détecteur fluorimétrique et d'une colonne AccQtag de 3,9 mm × 150 mm de type C18 (Waters, USA). L'éluion s'effectue par gradient. Deux programmes sont utilisés dont un spécifique aux acides aminés soufrés ayant subis l'oxydation. Le programme de température du chromatographe est de +37°C dans le cas d'échantillons hydrolysés pendant vingt-quatre et quarante-huit heures et de 31°C dans les cas d'échantillons oxydés. La détection en sortie de colonne se fait par fluorimétrie. La durée totale d'analyse des profils d'acide aminés est de 100 minutes. Les calculs sont effectués par intégration des pics avec le logiciel Millenium. Les résultats sont donnés en g/100 g d'échantillon pour chaque hydrolysat.

3.11. Détermination de la cellulose brute

La teneur en cellulose brute dans les aliments et jus iléaux est déterminée selon la méthode de Weende, (1850) (Afnor 1993). Les échantillons contenant plus de 10,0% de lipides doivent d'abord subir une extraction de la matière grasse. Le principe de la méthode consiste à hydrolyser l'échantillon avec successivement de l'acide sulfurique et de l'hydroxyde de potassium puis à le minéraliser. Pour cela, 800 mg d'échantillon broyés à 1 mm (broyeur ultra-centrifugeur CD100, Retsch, Allemagne) sont placés dans un sachet (Humeau, France) (porosité 40 µm – 90 µm) de masse connue dans lequel 1800 ml de solution d'acide sulfurique à 0,26 N est ajouté. Les sachets contenus dans des Fibersac 24 (Hameau, France) sont chauffés à 100°C pendant 30 minutes pour permettre l'hydrolyse. Une seconde hydrolyse est réalisée en mélangeant 1800 ml d'hydroxyde de potassium à 0,23 N

avec l'échantillon et en chauffant les sachets à +100°C pendant trente minutes. A la fin de cette seconde hydrolyse, les échantillons sont rincés à l'acétone, séchés puis pesés. Enfin, le résidu issu des hydrolyses subit une minéralisation en étant placé dans un four à moufle à +525°C pendant quatre heures. Le résidu restant est pesé et le calcul du pourcentage de cellulose s'effectue de la manière suivante :

$$\% \text{ cellulose} = 100 \times \frac{\text{Prh} - (\text{Psv} \times \text{Fc}) - \text{Prm}}{\text{poids échantillon de départ}}, \text{ où}$$

Prh : poids du résidu après hydrolyse

Psv : poids du sachet vide

Prm : poids du résidu après minéralisation

Fc = (Prh/Psv) - (Prm/Psv)

3.12. Détermination des parois végétales

Les différents constituants pariétaux qui sont définis comme étant un résidu organique insoluble, sont obtenus dans des sachets après traitement de l'échantillon par des détergents selon la méthode de (Van Soest et Wine 1967). Cette méthode permet de déterminer les teneurs en cellulose brute, Neutral Detergent Fiber (NDF), Acid Detergent Fiber (ADF) et Acid Detergent Lignin (ADL). NDF, ADF et ADL sont des résidus composés de cellulose, hémicellulose, lignine et matières minérales obtenus après attaque de l'échantillon par un détergent neutre, un détergent acide ou de l'acide sulfurique.

L'extraction des matières grasses est nécessaire pour les échantillons contenant plus de 5,0% de matières grasses comme les fèces ou les aliments. Brièvement, 800 mg d'échantillon broyés à 1 mm (broyeur ultracentrifugeur DR100, Retsch, Allemagne) sont placés dans un sachet (Humeau, France) (porosité 40 µm – 90 µm) de masse connue recevant 1800 ml de solution au détergent neutre et 5 ml d'alpha-amylase pour les aliments uniquement. La digestion s'effectue à +100°C pendant une heure, puis le sachet subit plusieurs rinçages dont le dernier est à l'acétone. Une fois l'acétone évaporée sous hotte puis l'échantillon séché en étuve à +103°C pendant une nuit, le sachet plein est pesé une première fois. A cette étape, il reste le résidu NDF, contenant de la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Il faut procéder de la même façon sur les mêmes sachets avec 1800 ml de solution au détergent acide pour obtenir le résidu ADF, contenant la cellulose et la lignine. Enfin, les sachets sont traités par 250 ml d'acide sulfurique pour obtenir le résidu ADL qui contient la lignine et quelques matières minérales. Le calcul des résidus s'effectue comme suit :

$$\% \text{ NDF} = \frac{\text{poids échantillon après traitement par le détergent neutre} - (\text{poids sachet} \times 0,99)}{\text{poids initial de l'échantillon}}$$

$$\% \text{ ADF} = \frac{\text{poids échantillon après traitement par le détergent acide} - (\text{poids sachet} \times 0,99)}{\text{poids initial de l'échantillon}}$$

$$\% \text{ ADL} = \frac{\text{poids échantillon après traitement par l'acide sulfurique} - (\text{poids sachet} \times 0,99)}{\text{poids initial de l'échantillon}}$$

Des essais d'hydrolyse de sachets sans échantillon ont montré qu'il y avait une perte de poids d'environ 1,0% des sachets. Cela surestime les résidus minéraux dû aux cendres des sachets. Un facteur de correction de 0,99 doit donc être appliqué au poids des sachets.

3.13. Détermination de l'amidon par polarimétrie

La méthode de dosage de l'amidon comprend une double détermination (Recueil des normes françaises, 2^{ème} édition, 1985). Brièvement, 2,5 g d'échantillon sont traité à chaud au bain marie à +100°C pendant quinze minutes par de l'acide chlorhydrique dilué à 1,128% (normalité 0,309N). 5 ml de solution Carrez 1 et 5 ml de solution Carrez 2 sont ensuite ajoutés et agitées avec la solution qui sera filtrée en présence d'eau osmosée. Quand la solution est limpide, il faut mesurer le pouvoir rotatoire de la solution au polarimètre. La manipulation est répétée sur 5 g d'échantillon en remplaçant l'acide chlorhydrique par de l'éthanol. Une seconde mesure du pouvoir rotatoire de la solution est mesurée au polarimètre. La différence entre les deux mesures multipliée par le pouvoir rotatoire spécifique de l'amidon donne la teneur en amidon de l'échantillon.

3.14. Détermination de la matière grasse hydrolysée par la méthode standard

Pour déterminer la teneur en lipides par extraction à chaud, les échantillons d'aliment et de matières premières de l'essai 3 ont été broyés avec un broyeur ultracentrifugeuse muni d'une grille de 1 mm de diamètre (DR100, Retsch, Allemagne) et ceux de jus iléaux avec un broyeur Grindomix GM200 (Retsch, Allemagne). L'extraction des lipides à chaud s'effectue sur appareil Soxtec (Extracteur Soxtec Avanti 2050, Foss France SAS, France) à l'éther de pétrole (Afnor 1980). Les jus iléaux doivent au préalable avoir subis une hydrolyse des protéines à l'acide chlorhydrique (Afnor 1997). Environ 1 g d'aliment ou 3 g de jus iléaux sont placés dans des cartouches Wattman (80 mm × 33 mm) en présence de 80 ml d'un des solvants puis insérées dans l'appareil Soxtec. La température autour des cartouches doit être de +135°C avec l'éther de pétrole. Une fois le programme lancé et les températures atteintes, l'appareil effectue automatiquement les mouvements pour l'ébullition, le rinçage et la

récupération du solvant. En fin de manipulation il faut mettre à sécher les échantillons en étuve à +103°C pendant environ dix minutes puis les peser.

Le calcul du pourcentage de lipides totaux (LT) s'effectue de la manière suivante :

$$\% \text{ LT} = \frac{\text{poids échantillon après extraction} \times 100}{\text{poids initial de l'échantillon}}$$

Les extraits lipidique des jus iléaux ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) afin d'en connaître la composition en acides gras.

3.15. Extraction des lipides et analyse de la composition en acides gras

3.15.1. Par la méthode de Folch et al (1957)

✓ Teneur en lipides totaux

Afin de connaître la composition en acides gras d'un échantillon, il est nécessaire d'en extraire les lipides totaux sans dégrader les acides gras. Pour cela, les techniques d'extraction à froid se révèlent être plus efficaces que les méthodes à chaud. La méthode de Folch *et al.* (1957) (Folch *et al.* 1957) a été utilisée sur les tissus de porc prélevés à l'abattoir (muscles, tissus adipeux, foie) ainsi que sur les régimes alimentaires distribués aux animaux et sur les matières premières des trois essais. Cette méthode est utilisée préférentiellement dans notre laboratoire, même si pour les matières premières et aliments, la méthode de référence est celle de l'extraction à chaud à l'éther de pétrole après une hydrolyse à l'acide chlorhydrique (Afnor 1997; Sauvant *et al.* 2002). La masse d'échantillon utilisée pour le dosage est fonction de la teneur finale en lipides. Plus un échantillon est riche en lipides, moins le poids de la prise d'essai est important. Le poids de la prise d'essai, qui doit être représentatif de l'échantillon prélevé doit également permettre d'obtenir au moins 15 mg de lipides pour l'analyse par CPG.

Ainsi, 1 g de tissu adipeux, 10 g de muscles frais, de foie ou d'aliment et 10 g de jus iléaux lyophilisés sont utilisés pour le dosage des lipides. Les muscles et les jus iléaux sont broyés une première fois à l'aide d'un broyeur (Grindomix GM200, Retsch, Allemagne) et les échantillons d'aliment à l'aide d'un broyeur centrifugeur Retsch muni d'une grille de 1 mm (DR100, Retsch, Allemagne). La prise d'essai est homogénéisée au broyeur Polytron (PT 3100, Kinematica, Suisse) dans un mélange de solvants (solution Folch : 2/3 chloroforme, 1/3 méthanol) à 12000 tpm pendant une à deux minutes. Le broyat est ensuite filtré sur verre fritté monté sous vide et de porosité 100 à 160 µm. Le filtrat est mélangé à 22,5 ml de solution de NaCl à 0,73% et mis à décanter pendant deux heures. Après décantation, la phase inférieure (chloroforme + lipides), séparée par un ménisque de la phase supérieure (protéines

+ méthanol) est filtrée sur du sulfate de sodium anhydre ($\text{Na}_2\text{O}_4\text{S}$ pur à 99,7%, qualité RPE, PM. : 142,04 g/mol) à l'aide de filtres sans cendre dégraissés (diamètre : 15 cm). La phase supérieure est rincée avec 50 ml d'une solution de rinçage (40 ml de solution Folch + 10 ml de NaCl à 0,58%) afin d'extraire des éventuelles traces de lipides, puis mise à décanter quinze minutes. Cette phase est également filtrée sur le sulfate anhydre et ajoutée au filtrat précédent dans un ballon d'évaporation. Le mélange de chloroforme et lipides est mis à évaporer sous vide à +45°C pendant trente minutes puis toutes les dix minutes jusqu'à poids constant de l'extrait lipidique. Après évaporation totale du chloroforme, la quantité de lipides mise à sec est déduite par pesée en faisant la différence entre le poids du ballon plein et le poids du ballon vide. Cette quantité est exprimée en pourcentage selon la formule suivante :

$$\% \text{ LT} = \frac{(\text{poids ballon plein} - \text{poids ballon vide}) \times 100}{\text{poids de l'échantillon}}$$

- ✓ Composition en acides gras : préparation des esters méthyliques d'acides gras

Les esters méthyliques d'acides gras sont préparés selon la méthode de Morrison et Smith (1964) (Morrison et Smith 1964). Entre 20 et 30 mg de lipides sont saponifiés à +70°C au bain marie pendant quinze minutes dans 500 µl d'acide margarique (C17:0 à 5mg/ml) et 1 ml de solution méthanolique de soude (NaOH, 0,5N). Le C17:0 sert d'étalon interne et au calcul des résultats. Les acides gras saponifiés sont ensuite convertis en esters méthyliques pendant une méthylation de dix minutes au bain marie à +70°C et en présence d'un catalyseur, le trifluorure de Bore (BF_3). Enfin, 6 ml d'eau distillée et 2 ml de pentane sont ajoutés au mélange pour neutraliser l'excès de BF_3 et extraire les acides gras méthylés. Le mélange est mis à décanter pendant quinze minutes, puis la phase supérieure composée de pentane et d'esters est recueillie afin de passer en CPG.

- ✓ Chromatographie en phase gazeuse

L'extrait méthylé est analysé par CPG à l'aide d'un chromatographe (7890A GC system, Agilent technologies, USA) équipé d'une colonne capillaire de 0,25 mm × 30 m en polymère polysiloxane rempli de diméthylpolysiloxane et de 50,0% de cyanopropylphényl en phase stationnaire. Le programme de température du chromatographe débute à 150°C, puis augmente de 4°C par minute jusqu'à +220°C. Une fois à +220°C, la température est maintenue pendant 10,5 minutes. La durée totale d'analyse des profils d'acide gras est de vingt-huit minutes. Les températures de l'injecteur et du détecteur à ionisation de flamme (FID) sont respectivement de 220 et 280°C. Le gaz vecteur est l'hydrogène.

Les temps de rétention et l'analyse des pics est déterminé grâce au logiciel de chromatographie ChemStation Agilent. Chaque pic d'acide gras sort avec une certaine surface. La somme des surfaces de chacun des pics permet d'obtenir un total. Le résultat d'un acide gras en pourcentage (% des AG identifiés) s'obtient en calculant le rapport de son pic par rapport à la somme totale. Les résultats peuvent également s'exprimer en mg pour 100 g d'échantillon. Le calcul s'effectue à partir de la teneur en lipides de l'échantillon, du poids de la prise d'essai de lipide analysée par CPG et la quantité d'étalon interne introduite dans l'analyse (C17:0). Le pic du C17:0 sort avec une certaine surface qui correspond à 2,5 mg de cet AG. En comparant la surface d'un AG avec celle de l'étalon interne, il est possible d'en déduire le poids de cet AG dans la prise d'essai de lipides. Le calcul pour passer d'un résultat en % à un résultat en mg/100 g d'échantillon est :

$$\text{Quantité de l'AG (mg/100 g)} = \text{LT (\%)} \times 1000 \times \frac{\text{quantité AG par rapport au C17:0 (mg)}}{\text{poids méthylé (mg)}}$$

3.15.2. Par spectrométrie proche infrarouge (SPIR)

Les mesures spectrales pour déterminer la composition en acides gras ont été réalisées sur des échantillons de muscle LD broyé et de tissu adipeux sous cutané du dos (TASC) non broyé et décongelés à température ambiante pendant une heure. Les spectres ont été établis dans le proche infrarouge aux longueurs d'ondes comprises entre 400 et 2500 nm. Environ 5 g d'échantillon ont été utilisés de façon à remplir la totalité de la surface d'une coupelle rotative transparente (diamètre 50 mm et épaisseur 10 mm) en verre. Les échantillons ont été scannés dans la coupelle de mesure en mode réflectance à l'aide d'un spectromètre FOSS DS2500 monochromateur (FOSS, Nanterre, France) utilisant le système d'exploitation MosaicSolo (FOSS Analytical, Version 6.6.2.142). Les données de réflectance ont été enregistrées à intervalles de 2 nm et stockées sous forme de $\log(1/R)$ mesurées en nm.

Les calibrations ont été réalisées à partir du logiciel WinISI (FOSS, version 4.4.0) pour déterminer les teneurs en acides gras n-3 (ALA, EPA, DPA, DHA) exprimées en quantités (mg/100 g de tissu) ou en valeur relative (% des AG totaux) pour chacun des deux tissus. Au vu du nombre total d'échantillons (N=130), le modèle de prédiction a été élaboré en utilisant une procédure par validation externe au cours de laquelle les données chimiques et spectrales de $\frac{3}{4}$ des échantillons, choisis au hasard, ont temporairement été extraites de la base pour servir à la calibration et le quart restant à la validation. Les spectres anormaux pour chacun des tissus ont été extraits des bases de calibration à l'aide d'une analyse en composantes principale, dont la distance globale de Mahalanobis (GH) était inférieure à 10,0. Les équations

Tableau 19. Pré-traitements testés lors des calibrations spectrales

Pré-traitement mathématique	Correction de spectre	Caractéristiques de la dérivée	Longueurs d'ondes testées
PLS	Pas de correction	1441	400-1900 nm
		2641	800-1900 nm
		210101	
	SNV	1441	400-1900 nm
		2641	800-1900 nm
		210101	
SNVD	1441	400-1900 nm	
	2641	800-1900 nm	
	210101		
Standard MSC	1441	400-1900 nm	
	2641	800-1900 nm	
	210101		
Scale and offset	1441	400-1900 nm	
	2641	800-1900 nm	
	210101		
MPLS	SNV	1441	400-1900 nm
		2641	800-1900 nm
		210101	
	SNVD	1441	400-1900 nm
		2641	800-1900 nm
		210101	
Standard MSC	1441	400-1900 nm	
	2641	800-1900 nm	
	210101		
Scale and offset	1441	400-1900 nm	
	2641	800-1900 nm	
	210101		

Régression des moindres carrés partiels (PLS, Partial Least Square) ; PLS modifiée (MPLS) : permettent de réduire la matrice initiale en quelques variables latentes. Standard Normal Variate (SNV) supprime les effets multiplicatifs et les décalages de spectres par rapport à la ligne de base ; SNV De-trending (SNVD) permet d'éviter les tendances curviligne des spectres ; standard Multiplicative Scatter Correction (MSC) corrige les effets de dispersion de la lumière et donc les effets additifs et les différences d'intensité des pics.

de calibration ont été obtenues en utilisant une régression PLS (Partial Least Square) ou une PLS modifiée (MPLS). Afin d'avoir les calibrations les plus précises possibles, les spectres ont subi différentes combinaisons de pré-traitements dans les domaines spectraux compris entre 400-1900 ou 800-1900 nm, à savoir pas de correction, une Standard Normal Variate (SNV), une SNV De-trending (SNVD), une standard Multiplicative Scatter Correction (MSC) ou un Scale and Offset (Tableau 19). Les spectres ont également été dérivés. Les caractéristiques de la dérivation sont identifiées par un nombre à quatre chiffres. Le premier chiffre correspond au nombre de dérivée (1 ou 2), le second chiffre correspond à l'écart de dérivée (4, 6 ou 10), le troisième chiffre représente le nombre de points de lissage (4 ou 10) et le dernier chiffre indique s'il y a eu un deuxième lissage ou pas (1 = un seul lissage). La meilleure combinaison entre la régression, le domaine spectral étudié et le pré-traitement testé a été sélectionnée pour chaque acide gras en fonction de la plus faible erreur standard de validation (SEP), le plus fort coefficient de détermination de validation (R^2) et le plus fort coefficient de déviation résiduelle prédictive (RPD). Le RPD est défini comme étant le ratio de la déviation standard (SD) de la base de donnée de référence chimique sur le SEP (Williams et Sobering 1993). Le RPD doit être le plus grand possible. Un RPD de 2,5 est considéré comme étant adéquate pour la prédiction des acides gras dans le muscle (Guy *et al.* 2011; Zhou *et al.* 2012).

Dans un deuxième temps et après avoir établi dans quel tissu et avec quelle unité la calibration était la plus précise pour prédire au mieux les teneurs en acides gras, une seconde calibration par validation croisée a été réalisée. La méthode par validation croisée étant plus couramment utilisée dans les publications, nous avons fait le choix par la suite de l'appliquer pour prédire les teneurs des acides gras majeurs du porc (C16:0, C18:0, C18:1 n-9, C18:2 n-6, C20:4 n-6, AGS, AGMI), mineurs (ALA, EPA, DPA, DHA et AGPI) et les teneurs en AG n-6 et n-3 totaux dans le TASC et avec les valeurs exprimées en pourcentage. Les corrections spectrales utilisées ont été les mêmes que pour la calibration précédente et les valeurs statistiques de référence pour valider le modèle étaient un faible écart type de calibration (SEC) et un faible écart type de validation croisée (SECV), un fort coefficient de détermination de validation croisée (RSQ) et un fort RPD défini ici comme étant le rapport entre l'écart type de validation croisée et le SECV. D'après l'American Association of Cereal Chemist (AACC), le RPD est très satisfaisant dans le domaine de l'agriculture quand il est supérieur à 2,5 (Zhou *et al.* 2012).

3.16. Extraction des lipides neutres et polaires

Les lipides neutres et polaires d'un extrait lipidique sont séparés sur colonne SEP-PAK selon la méthode de (Juaneda et Rocquelin 1985; Sebedio *et al.* 1986). Environ 80 mg d'un extrait lipidique sont disposés sur une cartouche de silices (colonne SEP-PAK). Les lipides neutres sont élués dans un ballon à l'aide de 30 ml d'un mélange de 92 ml d'éther de pétrole et 8 ml d'éther diéthylique. Les lipides polaires sont élués avec 30 ml de méthanol et récupérés dans un second ballon. Les ballons sont ensuite évaporés et les acides gras contenus dans les deux fractions lipidiques sont analysés par CPG.

3.17. Potentiel de peroxydation des acides gras des tissus

La sensibilité des acides gras à la lumière et à l'air des tissus est déterminée par induction de la lipoperoxydation et pour le niveau de peroxydation, à l'aide d'acide 2-thiobarbiturique reactive substance (TBARS). Cette méthode a été mise en place par Buege et Aust en 1978 (Buege et Aust 1978) pour déterminer le niveau de peroxydation des lipides, puis réadaptée par Kornbrust et Mavis en 1980 (Kornbrust et Mavis 1980) pour induire la peroxydation. L'acide 2-thiobarbiturique est quantifié selon la méthode modifiée de Monahan *et al.*, en 1992 (Monahan *et al.* 1992) dans les tissus de porc, puis décrite selon Oriani *et al.*, en 2001 (Oriani *et al.* 2001). 1 g de muscle frais ou 0,7 g de tissu adipeux sont broyés dans 9 ml de chlorure de potassium à 1,15%. 100 µl de cet homogénat sont ensuite prélevés et aliquotés avec 500 µl de tampon Tris-malate (acide maléique, pH = 7,4), 200 µl d'acide ascorbique (2 mM) et 200 µl de sulfate de fer (FeSO₄ à 5mM). Le sulfate de fer active la réaction. Ce volume total de 1 ml est centrifugé à 2000 tr/min pendant dix minutes. La phase supérieure graisseuse est récupérée et divisée dans cinq tubes puis mise à incuber pendant 15, 60, 120, 200 ou 300 minutes dans un bain marie à +37°C. Après incubation, 2 ml de réactif à l'acide 2-thiobarbiturique, trichloacétique et hydrochlorique (TBA-TCA-HCl) est ajouté au milieu afin de stopper la réaction. Ce mélange est remis au bain-marie à +37°C pendant quinze minutes puis centrifugé à 4000 tr/min pendant quinze minutes. La réaction entraîne la formation de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui provoque une couleur rose plus ou moins foncée. L'intensité de la couleur de la phase supérieure est lue par spectrophotométrie à 535 nm par rapport à l'absorbance du blanc. Le blanc contient 500 µl de tampon Tri-malate, 200 µl de solution d'acide ascorbique, 200 µl de solution de FeSO₄, 100 µl de KCL à 1,15% et 2 ml de TBA-TCA-HCl, soit l'ensemble des réactifs moins l'homogénat. Le résultat de cinétique de peroxydation est donné en nmol de malondialdéhyde (MDA) formé par gramme d'échantillon à 0, 60, 120, 200 et 300 minutes.

3.18. Dosage des paramètres sanguins

Des dosages ont été réalisés sur la fraction plasmatique du sang en utilisant des kits BioMérieux. Les paramètres sanguins suivants : glucose, triglycérides, LDL et HDL cholestérol ont été mesurés grâce à un analyseur automatique (Spectrophotomètre Konelab 20i, Thermo Scientific, France) géré par informatique. Le principe consiste à mettre les molécules à doser dans un milieu réactionnel composé d'enzymes. La réaction produit de l'eau oxygénée (H_2O_2), dosée selon la réaction de Trinder (Trinder 1969) permettant de former un chromogène (quinonéimine) dont l'intensité de coloration est lu par spectrophotométrie.

3.18.1. Dosage des triglycérides sanguins

Les triglycérides sont dosés selon la séquence lipase-glycérokinase-glycérol-3-phosphate oxydase-peroxydase-chromogène :

lipase : triglycérides \rightarrow glycérol + acides gras

glycérokinase : glycérol + ATP \rightarrow glycerol-3-phosphate + ADP

glycerol-3-phosphate oxydase : glycerol-3-phosphate + $O_2 \rightarrow H_2O_2$ + phosphate dihydroxyacétone

peroxydase : H_2O_2 + parachlorophénol + amino-4-antipyrine \rightarrow quinonéimine + 2 H_2O + HCl

L'intensité de coloration mesurée à 500 nm est proportionnelle à la quantité de triglycérides présente dans l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg/l.

3.18.2. Dosage du cholestérol total et détermination du HDL cholestérol

Le cholestérol est dosé selon les réactions suivantes :

cholestérol estérase : cholestérol estérifié \rightarrow cholestérol + acides gras

cholestérol oxydase : cholestérol + $O_2 \rightarrow$ cholestène-4, one-3 + H_2O_2

peroxydase : 2 H_2O_2 + phénol + amino-4 antipyrine \rightarrow quinonéimine + 4 H_2O

L'intensité de coloration, mesurée à 500 nm est proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon.

Les lipoprotéines du plasma sont des particules sphériques contenant des quantités variables de cholestérol, de triglycérides, phospholipides et protéines. Leur densité dépend des proportions de lipides et protéines. Elles sont classées selon leur densité croissante en

chylomicrons, lipoprotéines de très faible densité (VLDL), de faible densité (LDL) et de haute densité (HDL).

3.19. Dosage des activités enzymatiques

Les échantillons de foie, de muscle et de tissu adipeux ont été conservés à -80°C en vue du dosage des activités des enzymes de la lipogénèse. Les tissus ne contenant pas tous la même concentration d'enzymes, les poids des prises d'essai varient d'un tissu à l'autre. Les dosages ont donc été réalisés sur 0,4 g de foie ou de tissu adipeux non broyé et 1,2 g de muscle LD non broyé dilués dans un tampon d'homogénéisation contenant 0,25 M de solution de sucrose, 1 mM d'EDTA et 1 mM de DTT. Le mélange est ensuite centrifugé à 100 000g durant une heure à +4°C. Le surnageant contenant les enzymes est aliquoté avant d'être analysé par un spectromètre à une absorbance de 340 nm (Bazin et Ferré 2001). Les mesures ont été adaptées en volume de surnageant et en réactif pour que les dosages soient réalisés automatiquement par le spectromètre KoneLab 20i (Thermo Scientific, France) avec un programme spécifique au laboratoire. Les activités sont exprimées en nmoles/min/g de tissu.

3.20. Etude de l'expression des gènes du métabolisme lipidique

Cette technique se compose de deux étapes. La première est appelée Reverse Transcriptase ou RT et consiste à synthétiser des ADN complémentaires ou ADNc à partir d'ARNs extraits des tissus de porcs. La deuxième étape, appelé Polymerase Chain Reaction ou PCR consiste à amplifier de façon exponentielle les ADNc obtenus lors de la RT. Elle nécessite pour cela, des amorces spécifiques du gène à amplifier.

3.20.1. Extraction des ARNs

Le principe de la méthode consiste à récupérer les ARNs contenus dans les tissus. Pour cela, le réactif TRIZOL® (Invitrogen, France) est utilisé pour lyser la cellule et ses composants cellulaires tout en préservant l'intégralité des ARNs. L'ajout de chloroforme dans la méthode permet de séparer les ARN de l'ADN et des protéines. Les ARN sont quantifiés et leur qualité doit enfin être vérifiée.

Les tissus ne contenant pas la même quantité d'ARN, 100-150 mg de tissu adipeux et 80-100 mg de muscle et de foie congelés ont servis pour l'extraction d'ARN. Les prises d'essai sont homogénéisées dans un tube contenant 3 billes en inox et 1 ml de TRIZOL® placé dans un broyeur (Precellys 24 Bertin, Bertin Technologies, France) suivant les programmes suivants :

tissu adipeux ou muscle : 6000 rpm pendant deux fois quinze secondes avec une pause de vingt secondes

foie : 4000 rpm pendant deux fois quinze secondes avec une pause de vingt secondes

Après broyage, l'homogénat est centrifugé à 12 000g pendant 10 minutes à +4°C. 900 µl de surnageant sont ensuite aliquotés avec 200 µl de chloroforme avant d'être centrifugés une seconde fois. Environ 600 µl de la phase aqueuse contenant les ARN et le chloroforme sont récupérés puis mélangés à environ 600 µl d'EtOH à 70,0%. La phase organique contient l'ADN et les protéines. Les ARN sont alors fixés sur des colonnes composées de membranes en silice (Nucleospin RNA II kit; Macherey Nagel, France). Pour cela les 1200 µl d'ARN, chloroforme et EtOH sont centrifugés à partir des colonnes à 5000g pendant deux minutes. Enfin, les ARN sont purifiés et récupérés hors de la colonne à l'aide de 75 µl d'eau exempte de RNase.

La pureté des ARN est vérifiée une première fois à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, France). Pour cela, 1,2 µl de chaque échantillon d'ARN est déposé sur la fibre optique du Nanodrop et analysé par le logiciel ND-1000 version 3.3.1. La concentration est donnée en ng/µl et elle doit être comprise entre 20 et 500 ng/µl. Deux ratios servent à la validation de la qualité :

- *Abs 260/280 > 1,8 : absence de contamination par des protéines ou du phénol. Une valeur en dessous de 1,8 correspond à la présence de résidus protéiques ou de phénol, tandis qu'une valeur largement supérieure correspond à une dégradation des acides nucléiques.*
- *Abs 260/230 > 1,7 : absence de contaminants co-purifiés tels que des ions phénolates, thiocyanate ou composés organiques. Une valeur en dessous de ce seuil correspond à la présence trop élevée de ces résidus.*

Un deuxième contrôle qualité est réalisé à l'aide du Bioanalyseur 2100 Kit RNA 6000 Nano (Agilent Technologies, France). Si la concentration d'ARN dépasse 500 ng/µl, l'échantillon doit être dilué. Les échantillons d'ARN sont dénaturés afin de détruire les structures secondaires des ARNs, pendant deux minutes à +70°C (Thermocycleur MJ Research.inc, PTC100TM – DQ182). Ensuite, les échantillons d'ARN dénaturés sont disposés sur une puce RNA nano Labchip® en présence d'un marqueur (RNA Nano Marker) qui permet d'aligner et de comparer les profils des échantillons. La lecture de la puce se fait

informatiquement à l'aide du logiciel Bioanalyzer 2100 expert. A ce niveau, quatre paramètres qualitatifs sont à vérifier :

- *Deux pics d'ARN bien distincts correspondant aux ribosomes 18S et 28S doivent se dessiner sur le profil d'électrophorèse*
- *La concentration d'ARN doit être cohérente avec le résultat du Nanodrop*
- *La valeur du ratio 28S/18S doit s'approcher de 2*
- *La valeur du RIN doit être comprise entre 1 et 10 (muscle > 8 et tissu adipeux 6-7). Le profil d'électrophorèse est décomposé en dix parties, chacune notée entre 0 et 1. La somme de ces dix notes est égale au RNA Integrity Number (RIN).*

3.20.2. Synthèse des brins d'ADN complémentaire (ADNc)

Une fois la qualité des ARNs vérifiée et validée, une transcription inverse est appliquée aux échantillons. Les ARNs sont ainsi transcrits en brin d'ADN complémentaires, utilisés ensuite pour la PCR en temps réel.

Un « pool » d'échantillons est élaboré à partir du mélange en quantité équivalente d'ARNs de 30 porcs sur les 60 que compte l'expérimentation et d'eau ultrapure (concentration : 100 ng/µl). Pour subir la transcription, les ARNs y compris ceux du pool, sont incubés une heure à +37°C puis cinq secondes à +95°C en présence d'un Mastermix Fast SYBRGreen® (Applied Biosystems, USA). Le Mastermix est composé de 10 µl de réactif 2X RT buffer et de 1 µl d'Enzymes Mix (kit « RNA to cDNA » Applied Biosystems).

3.20.3. Choix des amorces pour la PCR

Les séquences reverse et forward des amorces de gènes d'intérêt pour l'espèce *Sus Crofa* (porc domestique) ont été sélectionnées sur la base de données internet Ensembl Genom Browser (www.ensembl.org). Dans cette étude, il a fallu sélectionner 25 séquences Primer correspondant à l'expression de 25 gènes. Une fois sélectionnées, il faut vérifier sur le site internet ncbi/blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) que les séquences d'amorces soient spécifiques des gènes cibles recherchés. Après vérification, les couples d'amorces sont élaborés sur le logiciel Primer Express® software 3.0 (Thermo Scientific, France) afin d'éviter les amplifications non-spécifiques. Pour cela, il faut prendre en compte les critères suivants :

- *Pour éviter l'amplification d'ADN génomique : éviter les séquences d'amorces situées sur des jonctions « exon-exon »*

- *Pour avoir un minimum de structures secondaires qui empêcheraient l'accrochage des amorces aux ADNc (ces structures sont visualisables à partir du logiciel) : éviter les amorces en « épingle à cheveux », les « self-dimer » (amorces s'hybridant avec une copie d'elle-même), les cross-dimer » (hybridation des deux amorces du couple entre elles). Pour éviter les cross dimers, il faut choisir des amorces ne contenant pas plus de 3 paires de base « GC ».*

3.20.4. Contrôle de l'efficacité des amorces et d'absence de contamination des échantillons d'ADNc et du Mastermix de PCR

L'amplification des amorces doit être vérifiée et l'efficacité d'amplification calculée. Pour cela, les amorces sont diluées dans de l'eau ultrapure en présence des ADNc à des concentrations comprise dans une gamme de 0,005 à 5 ng/μl, soit une gamme de $12,5 \times 10^{-3}$ ng à 12,5 ng d'ARN. Les mélanges d'amorces et d'ADNc sont ensuite passés pendant une heure dans un appareil de PCR selon le programme suivant : deux minutes à +50°C, vingt secondes à +95°C, trois secondes à +95°C et enfin trente secondes à +60°C pendant 40 cycles. Pour une bonne dynamique d'amplification, la fluorescence doit croître de façon exponentielle. L'efficacité des amorces est enfin calculée grâce au logiciel Data Analysis Gene Expression (version 1.0.5.6). Pour chaque séquence d'amorce, l'efficacité d'amplification de PCR est déterminée en utilisant des courbes de calibration générées grâce à la gamme de dilution des ADNc. Cette étape permet de calculer la concentration en ADNc des différents tissus.

Au moment de l'amplification, un contrôle qualité est réalisé. Deux témoins négatifs sont nécessaires pour vérifier l'absence de contamination dans les échantillons d'ADNc. Le premier contrôle permet de vérifier la spécificité de l'amplification (contrôle «RT-»). Les amorces sont alors mélangées non pas avec les ADNc, mais avec le pool d'ARNs n'ayant pas subi de RT. La concentration de ce mélange est la même que celle de la gamme d'efficacité la plus élevée, à savoir 5 ng/μl. Ce témoin ne contenant que de l'ARN, alors la présence d'un amplicon indiquera une contamination par de l'ADN génomique. Le deuxième contrôle est constitué du couple d'amorces, d'eau ultrapure et du Mastermix Fast SYBRGreen®, sans ADNc. Il renseigne sur la contamination éventuelle du Mastermix ou sur la formation de dimères d'amorces. Ces deux témoins sont passés en même temps que les échantillons dans l'appareil de PCR.

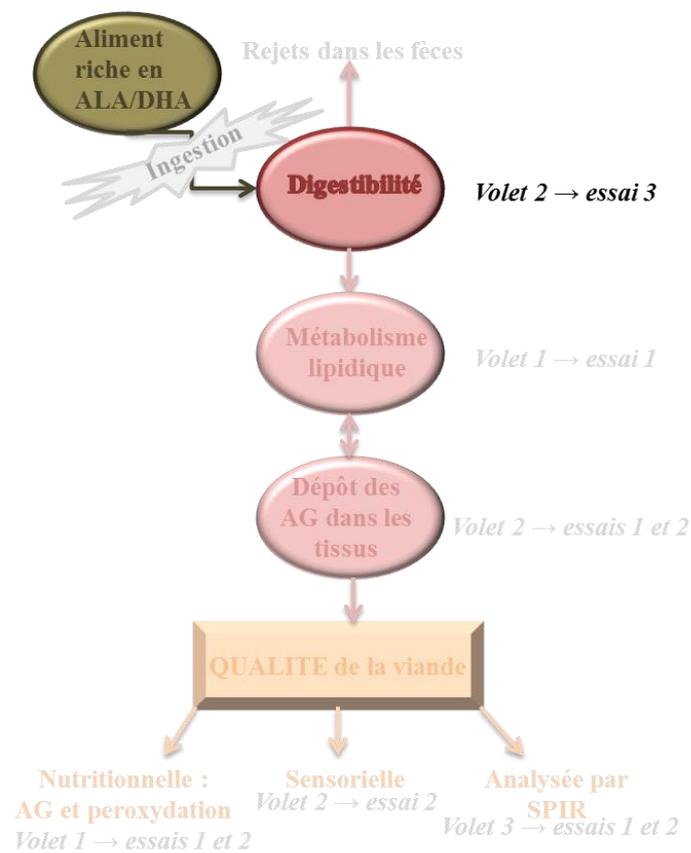
3.20.5. PCR en temps réel

L'expression de 27 gènes dont deux gènes de référence (**TOP2B** : topoisomérase (DNA) II beta 180kDa et **B2M** : beta 2 microglobulin,) a été mesurée par PCR dans le tissu adipeux du dos, le muscle LD et le foie. Après les calculs d'efficacité, l'amplification par PCR a été menée sur une concentration totale en ADNc de 1,0 ng/μl. Les amplifications sont réalisées en double avec chacune 2,0 μl d'ADNc, 0,40 μl d'amorce « sens » et « anti-sens », 5,0 μl de tampon de PCR (Mastermix Fast SYBRGreen®) contenant de l'uracile ADN glycosylase pour prévenir des contaminations par de l'ADN extérieur et 2,2 μl d'eau distillée. Un 7900 HT Fast Real-Time PCR (Thermo Scientific, France) de 384 puits a été utilisé. De la même façon que pour le contrôle qualité précédemment réalisé, un puit est rempli d'eau afin de vérifier l'absence de dimère tandis qu'un second puit sert à accueillir le pool d'ADNc (calibrateur). Les conditions de cycles sont identiques aux conditions utilisées pour tester les amorces. La spécificité de l'amplification des produits est vérifiée grâce à l'analyse de courbes de dissociation selon le programme suivant : +95°C/+60°C/+95°C durant quinze secondes chacun. Les gènes TOP2B et B2M, sélectionnés pour leur stabilité, et l'échantillon calibrateur servent pour la normalisation des résultats, qui sont donnés selon l'algorithme de Vandesompele *et al.*, (2002) (Vandesompele *et al.* 2002). Pour chaque échantillon, un facteur de normalisation (NF) (moyenne géométrique de l'expression des gènes de référence) est calculé grâce à l'algorithme geNorm (Vandesompele *et al.* 2002). Le niveau d'expression normalisée (QrN) est calculé selon la formule suivante : $QrN = \text{Eff}^{-\Delta Ct} / \text{NF}$ où Eff est l'efficacité de PCR du gène calculé grâce à la pente de la courbe de calibration et $\Delta Ct = Ct$ de l'échantillon contenant le gène cible – Ct de l'échantillon calibrateur. Ct est le cycle seuil correspondant au cycle de PCR qui se trouve à l'intersection du ΔRn et du seuil fixé par l'utilisateur. ΔRn correspond à la valeur de Rn à laquelle est soustraite la valeur du Rn de la ligne de base définie pendant les premiers cycles de la PCR.

RESULTATS

PARTIE 1

Digestibilité iléale des acides aminés et des acides gras de la graine de lin et des microalgues riches en DHA chez le porc en croissance (volet 2, essai 3)



Publication 1 : Digestibilité de la graine de lin plus ou moins riche en fibres et de microalgues riches en DHA

En préparation pour soumission dans Animal Feed Science and Technology

Objectif

L'objectif de ce travail était d'évaluer la digestibilité de matières premières et de régimes riche en acide α -linoléinique (ALA) ou en acide docosahexaénoïque (DHA).

Matériel et Méthodes

L'étude a été réalisée sur 5 porcs de PVI égal à 41,0 kg ayant subis une anastomose iléo-rectale. Ils ont été placés en cage de digestibilité afin de recueillir leurs excréta chaque semaine sur une période de trois jours. A chaque période et suivant un carré latin de rang 5, les porcs ont reçu un régime de base non supplémenté ou supplémenté avec de l'huile de palme et de soja ou des graines de lin extrudées ou des graines de lin extrudées pauvres en fibres ou des microalgues riches en DHA. A la fin de l'expérimentation, ils ont tous reçu un régime protéoprive composé de 84,0% d'amidon de maïs pour permettre d'effectuer les calculs de digestibilité. La composition chimique des matières premières, des aliments et des excréta lyophilisés a été déterminée afin de calculer les coefficients d'utilisation digestive apparent (CUDa) et standardisé (CUDs) des acides gras et aminés de chaque régime, ainsi que les quantités d'éléments digestibles des matières premières.

Résultats

Les CUD apparent et standardisés de la matière organique, des cendres et de l'énergie des régimes à base de graines de lin (dépelliculées et extrudées ou extrudées) étaient les plus faibles. En revanche, les CUD du C18:3 n-3 de ces régimes étaient les plus élevés, alors que le régime à base de microalgues avait le CUD du C22:6 n-3 et du C22:5 n-6 le plus élevé. Les fortes teneurs en ces acides gras dans les régimes expliquent ces résultats. Par ailleurs, le dépelliculage couplé à l'extrusion des graines de lin n'a pas amélioré la digestibilité des acides gras par rapport à l'extrusion seule. La teneur en fibres du régime, représentée par les teneurs en NDF, ADF et ADL, semble impacter fortement la digestibilité des acides gras. En revanche, le processus de dépelliculage a multiplié par plus de deux la digestibilité des acides aminés par rapport à l'extrusion. La suppression des facteurs antinutritionnels des graines explique ce résultat.

Conclusion

Ce travail a montré que plus le régime est riche en un acide gras, plus sa digestibilité est élevée, sans que le dépelliculage n'ait toutefois pu améliorer la digestibilité des acides gras par rapport aux graines extrudées seulement. Malgré la plus faible teneur en acides aminés des microalgues comparativement aux graines de lin, leur accessibilité les rend plus digestibles, avec toutefois une nette amélioration de leur digestibilité suite au dépelliculage des graines de lin comparativement à l'extrusion seule. Finalement, le dépelliculage des graines de lin est une technologie innovante pour améliorer la digestibilité des acides aminés uniquement.

**Ileal digestibility of amino acid and fatty acids from linseed or *Schizochytrium sp.*
microalgae in growing pigs**

A. de Tonnac^{1,2}, J. Mourot¹, E. Labussière¹

¹PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France

²Valorex, La Messayais, 35210 Combourtillé, France

Short title: Ileal digestibility of linseed and microalgae

Key words: ileal fatty acid digestibility, ileal amino acid digestibility, pig, linseed,
schizochytrium sp microalgae

†Corresponding author: Etienne.labussiere@inra.fr

Abstract

The ileal digestive utilization of feedstuffs containing high level of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) was studied in ileo-rectally anastomosed growing pigs (initial weight 41 kg). Five different fat sources, added from 5 to 15% to a wheat based diet (B) were tested: oil blend (5% of soy oil + 5% of palm oil; SP), extruded linseed (EL), dehulled and extruded linseed (EL-) and microalgae (MAG). The pigs were fed according to a 5×5 latin square design. A diet, which did not contain protein and fat (FP) was also formulated to measure the endogenous losses at the end of the experiment. Each experimental period lasted 4 days of adaptation to the diet and 3 d of collection of ileal digesta. Apparent and standardized ileal digestibility coefficients of nutrients, amino acids (AA) and fatty acids (FA) were calculated for diets and feedstuffs. Linseed inclusion in diets resulted in the lowest apparent and standardized ileal digestibility coefficient of organic matter (0.68), energy (0.68) and AA but the highest ileal digestibility coefficient of C18:3 n-3 (0.84). Additionally, values for nutrients and AA were better for dehulled and extruded linseed showing that the dehulling process improves the AA but not the FA ileal digestibility compared to the extrusion only. Microalgae inclusion resulted in the highest ileal digestibility coefficient of C22:5 n-6 and C22:6 n-3 (0.99). Finally, 32 g/kg DM of C18:3 n-3 were digestible in the linseed, whereas 167 g/kg DM of C22:6 n-3 were digestible in microalgae.

Introduction

Owing to their health benefits for humans, n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) can be introduced in animal diets in order to enriched meat products from these animals in these PUFA. Indeed, the fatty acid (FA) composition of animal tissues reflects the FA profile of the diets, especially in monogastric species (Mourot and Hermier, 2001). However, the lipid source used in animal production could influence digestibility and energy value of diets because of the chemical structure of FA. Indeed, FA are one of the most important factors determining the nutritive value of fat (Wiseman et al., 1990) and their rates of absorption depending on their degree of saturation (Jørgensen et al., 2000). For these reasons, some experiments have studied the digestibility of FA in pigs and ruminants (Flanzy et al., 1968; Sauvart and Bas, 2001; Doreau et al., 2012). It has thus been demonstrated that both dietary fat source and inclusion level affect the digestion of protein in pigs (Li and Sauer, 1994). Because of fecal rearrangements of FA in the large intestine of the pigs, it is necessary to study the digestibility of FA at the ileal level, to assess the profile of absorbed FA. In pigs, only one experiment has studied the ileal digestibility of n-3 PUFA like α -linolenic acid

(ALA) and of its derivatives as docosahexaenoic acid (DHA), coming from fish or rapeseed oil (Jørgensen et al., 2000). The digestibility of n-3 PUFA from other dietary fat source has not been studied. The aim of this study was to obtain information on the influence of different dietary n-3 PUFA sources on fat, amino acid and FA ileal digestibility in growing pigs.

Materials and methods

Animals and diets

The protocol of this experiment complied with the French legislation approved by the French Ministry of Research (Ref 02279.04) and conducted under the responsibility of E.Labussière. Five crossbred barrows were reared at the National Institute for Agricultural Research (INRA) of Saint-Gilles, France. They were surgically fitted with an ileo-rectal anastomosis at the terminal ileum as described by Laplace et al., 1994. After a post-operative recovery period of 21 days, they were housed in individual digestibility cages in order to collect their excreta. The average initial and final live body weight (LW) of pigs were 41 ± 1.3 kg and 62 ± 1.3 kg respectively.

A basal diet without fat (B) was formulated using wheat, corn and barley. Four diets were then created from the basal diet B supplemented with either 5% of soy oil + 5% of palm oil (SP), 15% of extruded linseed (EL) (Tradilin®, Valorex, France), 15% of dehulled and extruded linseed (EL-) (Valorex, France) or 15% of a DHA-rich microalgae (MAG) (DHA Gold®, Schizochytrium *sp.*, DSM, Belgium). A fat and protein free diet (FP) was also formulated in order to measure the endogenous losses of protein and fat.

The experiment was conducted according to a latin square design, with 5 animals that received successively the 5 experimental diets (B, SP, EL, EL- and MAG) during 5 periods of one week each. The order the pig received each diet ensured an average order of measurements for all diets. At the end of the experiment, the pigs were fed the protein and fat free diet during one supplementary period of one week in order to measure protein and FA endogenous losses. Each period consisted of 4 days of adaptation to the diet followed by 3 days of accurate measurements of feed consumption and total digesta collection. Diets were distributed twice a day (at 8:30 and 16:30) at a daily feed intake fixed at $90 \text{ g/kg LW}^{0.75}$ and revised after each period according to actual BW and expected BW gain. The diets were offered as mash dissolved in water (ratio 1:2) and pigs had free access to water. A sample of feed was collected and measured for DM content (after drying at 103°C during 24 h) for each diet at each period. Samples of the same diet were pooled and ground at 0.5 and 1 mm at the end of the experiment pending chemical analyses.

Ileal juice collection

Digesta were collected twice a day (at 8:30 and 16:30) in a tray that contained 500 mL of sulfuric acid solution at 2% to prevent microbial contamination and ammonia evaporation. The collected digesta were pooled per pig and diet for each experimental period. Ileal digesta were accumulated during the 3 days of collection and stored at +4°C. At the end of the collection period, the digesta were weighed and homogenized, sampled to measure DM content (after drying at 103°C during 48 h) and to be freeze-dried and ground for lab analyses.

Chemical analyses

Sample of feedstuffs, diets and freeze-dried ileal digesta were analyzed for chemical composition, fatty acid and amino acid (AA) contents. Dry matter and ash content were determined according to AFNOR norm (Afnor, 1977; 1982). The amount of protein ($N \times 6.25$) was determined by an ISO norm and the Dumas principle (AOAC, 1990; ISO, 2008). The gross energy was measured with an adiabatic bomb calorimeter (C5001 Cooling system, C5003 Control system, IKA, Germany) according to an ISO norm (ISO, 1998). The neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) were determined according to a sequential procedure with prior amyolytic treatment (Van Soest and Wine, 1967; Afnor, 1993). The starch content of diets was determined by a polarimetry method according to French standard (Recueil des normes françaises, 2^{ème} édition, 1985). The fat of feedstuffs, diets and digesta was extracted in a Soxtec device with petroleum ether after an acid hydrolysis (Afnor, 1980). The fat of feedstuffs and diets was also extracted with a mix of chloroform/methanol (v/v 2:1) according to the method of Folch et al., 1957. The methyl fatty acid composition was determined by GC chromatography on fat obtained from the Folch method (1957) (7890 GC system, Agilent technologies, USA). Cation exchange chromatography after acid hydrolysis for 24 h (Directive 98/64/CE, 3/09/99) (AFNOR, 2005) was used for AA. Analysis for methionine was performed after initial oxidation of samples with performic acid. Phenylalanine was analyzed without hydrolysis and oxidation and tryptophan was analyzed after hydrolysis in 4M barium hydroxide at 110 °C for 16h (Cohen and Michaud, 1993).

Calculations and statistical analyses

Values of nutrients, AA and FA content were expressed in percentage of dry matter (DM) for calculations. The FA content of feedstuffs, diets and ileal digesta was corrected by the percentage of total lipids in each sample. The apparent (AID) and standardized (SID) ileal digestibility coefficient of nutrients, FA and AA of experimental diets were calculated

Table 1. Chemical nutrient composition, amino acid and fatty acid profile of extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae *Schizochytrium sp.*

	Extruded linseed	Dehulled extruded linseed	Microalgae
<i>Nutrient composition</i>			
DM (g/kg) ^t	937	936	1001
Crude protein ^u (g/kg DM)	200	202	120
Crude fat ^v (g/kg DM)	223	220	338
Ether extract ^w (g/kg DM)	278	247	133
NDF ^x (g/kg DM)	284	319	-
ADF ^y (g/kg DM)	117	108	-
ADL ^z (g/kg DM)	44	35	-
Gross energy (MJ/kg DM)	24.1	23.6	29.9
<i>Essential amino acids (g/kg DM)</i>			
Arginine	17	16	10
Histidine	4	5	2
Isoleucine	7	7	4
Leucine	11	11	7
Lysine	8	8	5
Methionine	4	4	3
Phenylalanine	8	8	4
Threonine	7	7	5
Tryptophan	4	4	2
Valine	9	9	6
<i>Non-essential amino acids (g/kg DM)</i>			
Alanine	8	9	7
Asparagine	17	17	9
Cysteine	4.0	4	2
Glutamate	33	32	14
Glycine	11	11	5
Proline	8	8	4
Serine	8	8	5
Tyrosine	5	6	3
<i>Fatty acids (g/kg DM)</i>			
C14:0	0	0	24
C16:0	12	11	62
C18:0	7	7	2
C18:1 n-9c	28	26	0
C18:2 n-6c	34	34	0
C18:3 n-3	110	103	0.3
C22:5 n-6	0	0	47
C22:6 n-3	0	0	132
n-3	110	103	135

^tdry matter

^uCP = N × 6.25

^vlipid content of sample extract according to the method of Folch et al, 1957

^wlipid content extract with petroleum ether

^xneutral detergent fiber

^yacid detergent fiber

^zacid detergent lignin

according to standard procedures (Stein et al., 2007; Regnier et al., 2012). Values for AID were calculated by relating the total ileal outflow of nutrients to their dietary intake. Basal endogenous losses, as calculated for each pig fed the FP diet and then averaged, were assumed to be proportional to DM intake (Hess and Sève, 1999). The SID coefficient was calculated by subtracting the ileal endogenous losses from the ileal outflow.

The variance of the data of ileal digestibility (N=30) was statistically analyzed according to the PROC MIXED of SAS (SAS® 9.4 statistical software) with diet (N=5) and period (N=5) as the main effects and pigs as repeated subject between periods. Means were compared with the PDIFF option (Tukey test). A t-test was used to check whether values of endogenous losses differed significantly from zero. Results were presented as LSmeans and alpha level of significant difference between LS-means equaled 0.05.

Results

Chemical composition of linseed, microalgae and experimental diets

The chemical composition, amino acid and FA profile of linseed and microalgae are detailed in Table 1. Linseed contained a higher CP content (201 g/kg DM on average for both linseed) than microalgae (121 g/kg DM). The content in each AA of linseed was higher than in microalgae. Linseed nevertheless contained a lower fat content (221 g/kg DM on average for both linseed) than microalgae (339 g/kg DM). However, linseed contained more C18:0 (7 g/kg DM on average), C18:1 n-9 (27 g/kg DM on average), C18:2 n-6 (34 g/kg DM on average) and C18:3 n-3 (106 g/kg DM on average) than microalgae which contained less than 2 g/kg DM of these FA. In contrast, microalgae contained a higher content of C16:0 (62 g/kg DM), C22:5 n-6 (47 g/kg DM) and C22:6 n-3 (132 g/kg DM) than linseed (12 and 0 g/kg DM on average, respectively). Linseed is characterized by a lower energy supply (23.8 MJ/kg DM on average for both linseed) than microalgae (30.0 MJ/kg DM). The fiber content was measured only on linseed because values were below the sensitivity of the method for microalgae. The dehulled extruded linseed contained a lower content of ADF (108 g/kg DM) and ADL (35 g/kg DM) than extruded linseed (117 and 44 g/kg DM, respectively) but a higher NDF content (319 vs 284 g/kg DM).

The ingredient composition of the diets and their chemical composition are shown in table 2. The SP diet had the highest crude fat content (108 g/kg DM) and thus the highest energy supply (20 MJ/kg DM). However, the crude fat content of SP and MAG diets was twice as large as other diets. The EL and EL- diets had the highest CP content (167 g/kg DM

Table 2. Ingredient and chemical composition of diets

	Diets ^u					
	B	SP	EL	EL-	MAG	FP
<i>Ingredient composition (%)</i>						
Wheat	23.0	20.5	19.3	19.3	19.3	-
Corn	23.0	20.5	19.3	19.3	19.3	-
Barley	23.0	20.5	19.3	19.3	19.3	-
Wheat bran	2.4	2.1	2.0	2.0	2.0	-
Soybean meal	16.9	15.1	14.2	14.2	14.2	-
Corn starch	3.9	3.5	3.3	3.3	3.3	83.6
Sugar	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	5.0
Cellulose	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	4.0
Palm oil	-	5.0	-	-	-	-
Soy oil	-	5.0	-	-	-	-
Extruded linseed	-	-	15.0	-	-	-
Poor fiber extruded linseed	-	-	-	15.0	-	-
Microalgae	-	-	-	-	15.0	-
Salt	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Calcium carbonate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sodium bicarbonate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Monocalcium phosphate	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Potassium chloride	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
MgCl ₂ , 6H ₂ O	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Mineral + antioxidants	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Vitamins	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Chemical composition</i>						
DM (g/kg) ^t	874	880	881	881	893	873
Organic matter (g/kg DM)	923	927	920	919	907	941
Ash (g/kg DM)	77	73	80	81	93	59
Crude protein ^u (g/kg DM)	171	151	173	161	160	5
Crude fat ^v (g/kg DM)	17	108	42	34	80	0
Ether extract ^w (g/kg DM)	22	92	40	36	84	1
NDF ^x (g/kg DM)	135	125	154	163	109	16
ADF ^y (g/kg DM)	41	37	49	50	34	9
ADL ^z (g/kg DM)	6	5	10	10	6	0
Starch (g/kg DM)	535	471	453	459	440	826
Gross energy (MJ/kg DM)	17	20	18	18	19	16

B basal diet, SP soy + palm oil, EL extruded linseed, EL- dehulled extruded linseed, MAG microalgae, FP fat and protein free diet

^tdry matter

^uCP = N × 6.25

^vlipid content of sample extract according to the method of Folch et al, 1957

^wlipid content extract with petroleum ether

^xneutral detergent fiber

^yacid detergent fiber

^zacid detergent lignin

on average) and the highest fiber content (158 g/kg DM of NDF, 49 g/kg of ADF and 10 g/kg DM of ADL on average). The MAG diet had the highest organic matter content (940.6 g/kg DM). The FP diet had the highest ash (93 g/kg DM) and starch (826 g/kg DM) content. Finally, the AA and FA profile of feedstuffs affect the FA and AA profile of diets (Table 3). Indeed, the highest content of C16:0 and C18:1 n-9 is shown in SP diet (22.3 and 28.3 g/kg DM, respectively), whereas other diets had less than 15.0 g/kg DM of C16:0 and less than 6.0 g/kg DM of C18:1 n-9. The linseed diets contained the highest C18:3 n-3 content (2.8 g/kg DM on average) and the MAG diet contained the highest content of C22:5 n-6 (8.9 g/kg DM) and C22:6 n-3 (24.4 g/kg DM).

Pig performances and apparent ileal digestibility of diets

The performances of pigs and the AID coefficient of nutrients are shown in Table 4. The diet composition did not have any effect on final body weight of pigs. In contrast, pigs fed B, EL and EL- diets had a lower average daily gain (0.45, 0.38, 0.46 kg/d respectively) than pigs fed SP and MAG diets (0.62 and 0.71 kg/d respectively). Because of the low residual standard deviation, pigs fed MAG diet had the highest dry matter intake (1.59 kg/d). The period had an effect on performances of pigs.

The SP and MAG diets had the best AID coefficient for dry matter, organic matter and energy (> 0.70), whereas EL and EL- diets had the lowest AID coefficient for dry matter, organic matter, ash, NDF and energy (0.26-0.68). According to the considered FA, the AID coefficient of the diets varied between negative values and 0.99 (C22:5 n-6, MAG diet) (Table 5). The best values of AID coefficients (> 0.90) were observed for C18:1 n-9 (SP diet), C20:1 n-9 (SP diet), C20:3 n-6 (MAG diet), C20:3 n-3 (SP and EL diets), C20:4 n-3 (SP and MAG diets), C20:5 n-3 (linseed and MAG diets) and C22:6 n-3 (MAG diet). The period did not have any effect on AID coefficient of FA.

Basal endogenous losses and standardized ileal digestibility coefficient of diets

Endogenous AA and FA losses are presented in Table 6. Glutamate and asparagine represented more than 11% of the total AA losses, whereas lysine, threonine and valine represented more than 13% of essential AA losses. The highest FA endogenous losses were observed for C16:0 (0.22 g/kg DM), C18:0 (0.13 g/kg DM) and C18:2 n-6 (0.10 g/kg DM), whereas the lowest were particularly observed for C16:1 n-9, C22:1 n-9, C20:2, C20:3 n-6, C20:4 n-6, C20:3 n-3, C20:4 n-3, C20:5 n-3, and C22:6 n-3 (≤ 0.004 g/kg DM). The SID coefficient of AA and FA are presented in Tables 7 and 8. Except for arginine, methionine and glutamate, the SID coefficient of AA of the EL and EL- diets were lower than the SP and

Table 3. Amino acid and fatty acid profile of experimental diets supplemented with extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae

	Diets ^z					
	B	SP	EL	EL-	MAG	FP
<i>Essential amino acids (g/kg DM)</i>						
Arginine	105.8	97.4	111.0	114.2	114.1	1.2
Histidine	41.5	38.6	39.6	40.8	38.2	0.5
Isoleucine	68.1	62.9	66.0	70.4	61.3	0.9
Leucine	126.5	114.2	120.0	125.5	115.7	2.1
Lysine	81.5	75.8	72.5	78.9	81.2	0.9
Methionine	25.2	22.1	26.4	25.2	24.5	0.6
Phenylalanine	80.0	72.7	78.3	81.1	71.3	1.1
Threonine	58.3	53.1	55.5	57.5	59.4	0.7
Tryptophan	17.2	19.3	18.2	27.2	17.9	6.9
Valine	81.4	75.8	81.6	86.6	76.5	1.3
<i>Non-essential amino acids (g/kg DM)</i>						
Alanine	75.8	69.3	73.3	77.2	77.3	1.4
Asparagine	153.7	141.8	141.7	152.2	146.5	1.8
Cysteine	28.1	24.7	28.1	27.6	25.9	0.6
Glutamate	325.7	297.8	311.5	323.9	305.6	3.3
Glycine	71.1	65.3	73.0	76.8	65.3	1.0
Proline	106.1	85.6	93.1	93.5	83.5	1.6
Serine	81.2	74.7	77.9	79.1	76.5	0.9
Tyrosine	60.7	54.6	57.4	58.2	57.6	0.9
<i>Fatty acids (g/kg DM)</i>						
C16:0	2.6	22.3	4.2	4.0	14.5	0.0
C18:0	0.3	3.4	1.3	1.2	0.5	0.0
C18:1 n-9c	3.0	28.3	5.7	5.3	2.6	0.0
C18:2 n-6c	6.0	6.6	4.5	5.1	6.8	0.0
C18:3 n-3	0.4	0.3	3.1	2.5	0.5	0.0
C22:5 n-6	0.0	0.1	0.0	0.0	8.9	0.0
C22:6 n-3	0.0	0.1	0.0	0.0	24.4	0.0

^zB basal diet, SP soy + palm oil, EL extruded linseed, EL- dehulled extruded linseed, MAG microalgae, FP fat and protein free diet

MAG diets. The digestibility coefficients of AA of the basal diet were intermediate between SP/MAG and EL/EL- diets. The SID coefficient of the sum of AA of diets were higher (0.79-0.81 g/kg DM) than the SID coefficient of nitrogen (0.74-0.79 g/kg DM). The SP diet had the highest SID coefficient of individual and total SFA and MUFA, whereas the EL and EL- diets had the highest SID coefficient of C18:3 n-3 and the MAG diet had the highest C20:5 n-3, C22:5 n-6 and C22:6 n-3 SID coefficient. Except for the B diet, the SID coefficients of the sum of FA were higher (0.76-0.87 g/kg DM) than the SID coefficient of crude fat (0.69-0.84 g/kg DM).

Digestible nutrient content of linseed and microalgae

The apparent and standardized digestible nutrients content of feedstuffs are presented in Table 9. The arginine and the glutamate were the main digestible AA in the linseed and microalgae. The apparent and standardized digestible contents in threonine, alanine and tyrosine of microalgae was higher than of linseed. Moreover, the apparent and standardized digestible content in C18:4 n-3, C20:2, C20:3 n-6, C20:5 n-3, C22:5 n-6, C22:6 n-3, C24:1, total PUFA, n-6 and n-3 PUFA of microalgae was higher than those of oils and linseed. In contrast, the apparent and standardized digestible content of individual and total MUFA, C20:0, C18:2 n-6 and C20:3 n-3 of microalgae was lower than those of oils and linseed.

Apparent and standardized digestible of essential (except for methionine) and non-essential (except for cysteine) AA content of dehulled extruded linseed were higher than extruded linseed. Additionally, values of some essential AA, as histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine and valine were twice as large in dehulled extruded linseed than in extruded linseed.

Discussion

Methodological aspects

To increase the content in n-3 FA in pig tissues, animals can be fed with linseed or microalgae, but data on the nutritional value of these feedstuffs are scarce. Indeed, the amount of FA deposited by the pig depends on the level of intake and intestinal absorption but there is no information available regarding the digestibility of major FA of linseed and microalgae, thus limiting their use when targeted levels of absorbed FA are required. Additionally, extruded linseed and microalgae to a lesser extent can be used as protein sources for the pig and it is then necessary to know the digestibility of their AA.

Table 4. Performance of pigs, apparent ileal digestibility coefficient of nutritional components of experimental diets supplemented with extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae

	Diets ^w					Rsd	P-value	
	B	SP	EL	EL-	MAG		Diet	Period
No. of measurements	5	5	5	5	5	-		
<i>Performances of pigs</i>								
Initial body weight (kg)	47.7	47.1	48.4	47.6	46.9	1.7	0.713	<0.01
Final body weight (kg)	50.9	51.5	51.0	50.8	51.9	1.6	0.799	<0.01
Average daily gain (kg/d)	0.45 ^b	0.62 ^a	0.38 ^b	0.46 ^b	0.71 ^a	0.1	<0.001	<0.01
Dry matter intake (kg/d)	1.55 ^c	1.57 ^b	1.57 ^b	1.57 ^b	1.59 ^a	0.0	<0.001	<0.01
<i>Apparent ileal digestibility</i>								
Dry matter	0.674 ^b	0.704 ^a	0.622 ^c	0.619 ^c	0.699 ^a	0.015	<0.001	0.20
Organic matter	0.732 ^b	0.759 ^a	0.686 ^c	0.681 ^c	0.745 ^{ab}	0.012	<0.001	0.14
Ash	0.289 ^{bc}	0.318 ^b	0.251 ^c	0.265 ^{bc}	0.411 ^a	0.040	<0.001	0.45
Protein	0.742 ^a	0.750 ^a	0.717 ^b	0.700 ^b	0.743 ^a	0.018	0.003	0.49
NDF ^x	0.335 ^{ab}	0.372 ^a	0.322 ^b	0.312 ^b	0.344 ^{ab}	0.028	0.030	0.83
ADF ^y	0.103	0.142	0.146	0.115	0.164	0.046	0.271	0.96
ADL ^z	0.093 ^b	0.070 ^b	0.184 ^{ab}	0.128 ^b	0.293 ^a	0.094	0.020	0.50
Energy	0.717 ^b	0.770 ^a	0.681 ^c	0.677 ^c	0.756 ^a	0.012	<0.001	0.26

^wB basal diet, SP soy + palm oil, EL extruded linseed, EL- dehulled extruded linseed, MAG microalgae, FP fat and protein free diet

^xneutral detergent fiber

^yacid detergent fiber

^zacid detergent lignin

For each trait, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the diet.

Before the extrusion process applied to linseed, linseed is mixed with wheat bran so that the fat content of the mix is close to 20%. In the case of our feedstuffs, 57% of linseed were mixed with 43% of wheat bran, but only 48% of dehulled linseed were mixed with 52% of wheat bran before the extrusion process. As a consequence, the NDF content of dehulled extruded linseed (319 g/kg DM) was higher than the NDF content of the extruded linseed (284 g/kg DM). However, the dehulled extruded linseed had a lower ADF (108.4 g/kg DM) and ADL (35.0 g/kg DM) content than extruded linseed (116.9 and 43.5 g/kg DM respectively). The latter figures indicate that dehulling mainly decreased the lignin content of linseed whereas lignin is known to interact with protein and amino acids in the digestive tract, lowering their digestibility (Jondreville et al., 2000). Therefore, we hypothesized that the digestibility of nutrients of dehulled linseed would be increased because of its low ADF and ADL content.

In our study, endogenous AA losses were estimated by collecting ileal juice when pigs were fed a diet depleted in protein and fat. Values agreed with those reported in the study of Cozannet et al., 2010. Moreover, endogenous FA losses significantly differed from zero. The highest values were obtained for SFA. Additionally, the ALA and DHA contents equaled 0.016 and 0.004, indicating that despite the small duration of feeding with diets enriched in these FA, the gut was already enriched with these essential FA. These results indicate that the FA profile of endogenous losses depends on the FA composition of the diets. Because of this methodological approach, negative values of SID coefficient of FA or values superior to 1.000 are the consequence of having a low or a high FA intake respectively in the diet whereas the FA endogenous loss is considered to be constant across diets.

Ileal digestibility of nutrients contained in diets

The AID coefficient of the DM, OM, energy, nitrogen and fat of the EL and EL- diets were lower than other diets. The result for nitrogen is in accordance with the study of Cotten *et al.* (2016) which compared the digestibility of different plants whose linseed. They find an AID equaling 0.69 for linseed meal, whereas other meal had an AID equaling 0.86. In our experiment, this could be explained by higher ileal digesta losses of pigs fed linseed than other diets, due to the presence of anti-nutritional factors as cyanogen in linseed increasing ileal secretions. Surprisingly, there was no significant difference in the digestibility of nutrients between EL and EL- diets, despite the dehulling process applied before extrusion. Nevertheless, the higher content of wheat bran introduced in the dehulled extruded linseed may have decreased the digestibility of the mix because of its low digestive utilization.

Table 5. Apparent ileal digestibility coefficients of fatty acids of experimental diets supplemented with extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae

	Diets ^t					Rsd	P-value	
	B	SP	EL	EL-	MAG		Diet	Period
No. of measurements	5	5	5	5	5	-	-	-
Ether extract	0.582 ^c	0.836 ^a	0.666 ^b	0.672 ^b	0.823 ^a	0.024	<0.01	0.57
C16:0	0.408 ^d	0.856 ^a	0.723 ^b	0.760 ^b	0.587 ^c	0.044	<0.01	0.07
C16:1 n-9	0.113 ^c	0.812 ^a	0.622 ^b	0.680 ^b	-	0.084	<0.01	0.37
C16:1 n-7	-0.240 ^d	0.860 ^a	0.586 ^b	0.627 ^b	0.274 ^c	0.156	<0.01	0.39
C18:0	0.232 ^b	0.811 ^a	0.776 ^a	0.820 ^a	0.254 ^b	0.099	<0.01	0.62
C18:1 n-9	0.483 ^c	0.925 ^a	0.774 ^b	0.801 ^b	0.499 ^c	0.029	<0.01	0.28
C18:1 n-7	0.253 ^d	0.888 ^a	0.692 ^b	0.736 ^b	0.465 ^c	0.047	<0.01	0.20
C18:2 n-6c	0.632	0.662	0.687	0.695	0.669	0.055	0.44	0.16
C18:3 n-3	0.677 ^{bc}	0.611 ^c	0.820 ^a	0.852 ^a	0.690 ^b	0.052	<0.01	0.57
C20:0	0.367 ^d	0.866 ^a	0.673 ^b	0.724 ^b	0.455 ^c	0.054	<0.01	0.39
C20:1 n-9	0.234 ^b	0.904 ^a	0.647 ^a	0.768 ^a	-0.366 ^c	0.184	<0.01	0.23
C20:2	-	-	-	-	0.833	0.108	-	-
C20:3 n-6	-	1.000 ^a	-	-	0.985 ^b	0.006	0.02	-
C20:3 n-3	0.659 ^c	0.955 ^a	0.908 ^{ab}	0.872 ^b	0.871 ^b	0.613	<0.01	
C20:4 n-3	0.721 ^b	0.970 ^a	-	-	0.977 ^a	0.045	0.01	0.51
C20:5 n-3	0.898 ^{bc}	0.885 ^c	0.961 ^{ab}	0.942 ^{ab}	0.985 ^a	0.049	0.04	0.60
C22:1 n-11	-0.103 ^b	0.556 ^a	0.476 ^a	0.529 ^a	-0.268 ^c	0.079	<0.01	0.80
C22:1 n-9	0.403 ^b	0.967 ^a	-	-	-	0.196	0.01	-
C22:5 n-6	-0.710 ^c	0.735 ^b	0.766 ^b	0.644 ^b	0.994 ^a	0.102	<0.01	0.16
C22:6 n-3	-	1.000 ^a	-	-	0.990 ^b	0.003	<0.01	-
C24:1	-	0.889 ^a	-	-	0.522 ^b	0.162	0.02	-
SFA ^u	0.382 ^d	0.852 ^a	0.733 ^b	0.772 ^b	0.643 ^c	0.041	<0.01	0.07
MUFA ^v	0.450 ^c	0.921 ^a	0.766 ^b	0.796 ^b	0.462 ^c	0.031	<0.01	0.26
PUFA ^w	0.631 ^c	0.702 ^b	0.744 ^b	0.749 ^b	0.933 ^a	0.043	<0.01	0.53
n-6 FA ^x	0.628 ^c	0.667 ^{bc}	0.687 ^{bc}	0.693 ^b	0.856 ^a	0.046	<0.01	0.29
n-3 FA ^y	0.674 ^d	0.873 ^b	0.826 ^{bc}	0.855 ^c	0.982 ^a	0.030	<0.01	0.96
ΣFA ^z	0.811 ^c	0.937 ^a	0.895 ^b	0.905 ^b	0.932 ^a	0.012	<0.01	0.53

^tB basal diet, SP soy + palm oil, EL extruded linseed, EL- dehulled extruded linseed, MAG microalgae, FP fat and protein free diet

^usum of saturated fatty acids

^vsum of monounsaturated fatty acids

^wsum of polyunsaturated fatty acids

^xsum of n-6 fatty acids

^ysum of n-3 fatty acids

^zsum of FA

For each trait, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the diet.

Ileal digestibility of fat and fatty acids

Numerically, the SID coefficient of the sum of FA was higher than the SID coefficient of crude fat. This results is in accordance with the studies of Duran-Montgé *et al.* (2007) and Martínez-Ramírez *et al.* (2013), whose diets contained linseed oil or ground linseed respectively. This indicates that other fat soluble components (triglycerides, glycerol, sterol, phospholipids...) might have lower digestibility than FA (Martínez-Ramírez *et al.*, 2013). Except for the SP diet, numerically, the SID coefficient of individual SFA and MUFA and C18:2 was lower (mean value: 63%) than of individual PUFA (mean value: 83%). The coefficient of digestibility of SFA in our case seems to decrease with increasing the chain length of FA (Cera *et al.*, 1988; 1989) whereas the digestibility of PUFA seems increasing with the degree of FA unsaturation as explained by Jørgensen *et al.*, 2000. The fat source and losses of endogenous FA from the pig into the gut could also explain the low values SID coefficients of SFA and MUFA (Jørgensen *et al.*, 1993). Indeed, the highest coefficient of digestibility was observed for the main FA of linseed and microalgae. This could be explain by the fact that the way endogenous FA are taken into account in the calculation of SID values negatively affects the calculated AID coefficient of FA with a low content in the diet. For instance, differences in the AID coefficients of ALA between EL and MAG diets are larger than those in SID because of the low content in ALA in the MAG diet. Moreover, as in the study of Duran-Montgé *et al.* (2007) in which the ileal digestibility coefficient of C18:3 n-3 was equal 0.99 for linseed oil, the highest digestibility coefficient of C18:3 n-3 of this study was observed in linseed diets (0.84). Another example is the high SID coefficient of C22:6 n-3 of the MAG diet (0.99) This reflects the result about ileal digestibility of C22:6 n-3 of fish oil (96.8 %) used in the experiment of Jørgensen *et al.*, 2000. This shows that the digestibility of FA in diets depends on their quantity in the diet.

The AID coefficient of sum of FA of our linseed diets (0.90) was close to the AID of the sum of FA measured in linseed oil diet (0.93) (Duran-Montgé *et al.*, 2007), but higher than the digestibility of the sum of FA of ground flaxseed diet (0.79) used in the experiment of Martínez-Ramírez *et al.*, 2013. These differences may be explained by the fiber content of the diet, the introduction level of the feedstuff in the diet (15 vs 6%) and the technological treatment applied to the linseed (extruded vs ground). Indeed, the extrusion process is known to enhance the digestibility of the linseed compared to grinding (Noblet *et al.*, 2008). However, no significant difference of AID and SID coefficient of FA were observed between EL and EL- diets. Contrary to some FA (C20:3 n-3, C20:5 n-3 and C22:5 n-6), no positive

Table 6. Basal endogenous amino acids and fatty acids losses (g/kg DM feed intake)

	Mean	SD ^t	P-value
No. of measurements	5	-	-
<i>Essential amino acids</i>			
Arginine	0.26	0.03	<0.01
Histidine	0.10	0.01	<0.01
Isoleucine	0.20	0.02	<0.01
Leucine	0.31	0.03	<0.01
Lysine	0.27	0.03	<0.01
Methionine	0.07	0.01	<0.01
Phenylalanine	0.20	0.02	<0.01
Threonine	0.27	0.02	<0.01
Tryptophan	0.07	0.03	0.04
Valine	0.28	0.03	<0.01
<i>Non-essential amino acids</i>			
Alanine	0.26	0.02	<0.01
Asparagine	0.48	0.05	<0.01
Cysteine	0.11	0.01	<0.01
Glutamate	0.55	0.06	<0.01
Glycine	0.31	0.03	<0.01
Proline	0.28	0.08	<0.01
Serine	0.27	0.02	<0.01
Tyrosine	0.19	0.03	<0.01
<i>Fatty acids</i>			
C16:0	0.219	0.107	0.01
C16:1 n-9	0.002	0.001	0.02
C16:1 n-7	0.007	0.005	0.02
C18:0	0.129	0.073	0.02
C18:1 n-9	0.075	0.047	0.02
C18:1 n-7	0.010	0.008	0.05
C18:2 n-6c	0.101	0.009	<0.01
C18:3 n-3	0.016	0.008	0.01
C20:0	0.012	0.004	<0.01
C20:1 n-9	0.012	0.002	<0.01
C20:2	0.003	0.000	<0.01
C20:3 n-6	0.004	0.001	<0.01
C20:4 n-6	0.004	0.002	0.021
C20:3 n-3	0.004	0.001	<0.01
C20:4 n-3	5.8 10 ⁻⁴	7.0 10 ⁻⁴	0.14
C20:5 n-3	9.7 10 ⁻⁴	6.9 10 ⁻⁴	0.04
C22:1 n-11	0.019	0.008	<0.01
C22:1 n-9	0.005	0.003	0.01
C22:5 n-6	0.010	0.007	0.04
C22:6 n-3	0.004	0.003	0.05
C24:1	0.006	0.003	0.02
SFA ^b	0.395	0.205	0.01
MUFA ^c	0.137	0.040	<0.01
PUFA ^d	0.157	0.033	<0.01
n-6 FA ^e	0.123	0.020	<0.01
n-3 FA ^f	0.030	0.013	<0.01

^tstandard deviation^usum of saturated fatty acids^vsum of monounsaturated fatty acids^wsum of polyunsaturated fatty acids^xsum of n-6 fatty acids^ysum of n-3 fatty acids^zsum of FA

effect of the dehulling on the ileal digestibility of C18:3 n-3 was observed, the ileal digestibility content of C18:3 n-3 of dehulled extruded linseed being slightly lower than extruded linseed. Among other factors, the ileal digestibility depends on the fiber content of the feedstuff. Indeed, the level of fiber and other components as mucilage, cyanogenic glycosides, goitrogen, allergens in linseed reduced FA digestibility (Bhatty, 1993; Bakker et al., 1995; Mroz et al., 1996; Wilfart et al., 2007). It was demonstrated that the extrusion improve nutrient digestibility because cell wall and fat globules were disrupted and heat-labile anti-nutritional factors of linseed were inactivated by the shearing effect of the process (O'Doherty and Keady, 2000; Mariscal-Landin et al., 2002). Consequently, lipase enzymes of the gut had an easier access to the fat and can improve its digestive utilization (Htoo et al., 2008). Thus, no difference was observed between dehulled extruded or only extruded linseed because the extrusion process was applied to linseed in both diets. Finally, the dehulling of the linseed had a limited interest for FA digestibility as much as the digestibility of only few FA was enhanced compared to the extrusion process.

Concerning feedstuff, the ileal digestible content of PUFA, n-6 and n-3 PUFA, especially n-3 PUFA derivatives of microalgae was better than oils and linseed. Indeed, 73% of digestible ether extract of microalgae was composed by digestible PUFA, whose 66% was due to C22:6 n-3. This means that 48% of the digestible ether extract was due to the content in C22:6 n-3, that is almost completely digestible (167 g/kg DM). Thus, the major FA of microalgae is highly digestible. In contrast, the digestible MUFA content of microalgae was low (0.7 g/kg of DM) compared to digestible MUFA content of oils (396.4 g/kg of DM) and linseed (65.0 g/kg of DM). Finally, 63% of digestible SFA content of microalgae was due to the C16:0, the second most important FA of microalgae. The C14:0 represented 34% of the digestible SFA content. Concerning linseed, 61% of digestible PUFA of extruded linseed was due to C18:3 n-3, whereas 51% of digestible PUFA of dehulled extruded linseed was due to this FA.

Ileal digestibility of amino acids

As for fat and FA, the SID coefficient of the sum of AA was higher than the SID coefficient of nitrogen. These results are in accordance with the studies of Cotten et al., 2016, whose diets contained linseed meal. As for fat, this result indicates that other N components might have lower digestibility than AA. Moreover, the SID coefficients of AA of SP and MAG diets were the highest, whereas the SID coefficients of AA of EL and EL- diets were the lowest. This may be explained by the low fiber content of the microalgae that should

Table 7. Standardized ileal digestibility coefficient of nitrogen and amino acids of experimental diets supplemented with extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae

	Diets ^a					Rsd	P-value	
	B	SP	EL	EL-	MAG		Diet	Period
No. of measurements	5	5	5	5	5	-	-	-
Nitrogen	0.780 ^a	0.793 ^a	0.755 ^b	0.741 ^b	0.784 ^a	0.018	0.002	0.486
<i>Essential amino acids</i>								
Arginine	0.839 ^{ab}	0.856 ^a	0.826 ^b	0.843 ^{ab}	0.842 ^{ab}	0.013	0.04	0.30
Histidine	0.812 ^b	0.844 ^a	0.778 ^c	0.791 ^{bc}	0.844 ^a	0.014	<0.01	0.10
Isoleucine	0.831 ^{ab}	0.847 ^a	0.794 ^c	0.817 ^b	0.843 ^a	0.016	<0.01	0.36
Leucine	0.833 ^{bc}	0.852 ^{ab}	0.806 ^d	0.821 ^{cd}	0.854 ^a	0.014	<0.01	0.28
Lysine	0.793 ^{bc}	0.827 ^a	0.767 ^c	0.787 ^{bc}	0.811 ^{ab}	0.021	<0.01	0.59
Methionine	0.812	0.842	0.825	0.819	0.825	0.027	0.54	0.29
Phenylalanine	0.838 ^{bc}	0.855 ^{ab}	0.810 ^d	0.827 ^{cd}	0.860 ^a	0.013	<0.01	0.26
Threonine	0.740 ^b	0.776 ^a	0.717 ^b	0.729 ^b	0.785 ^a	0.022	<0.01	0.43
Tryptophan	0.696 ^{ab}	0.747 ^a	0.652 ^b	0.748 ^a	0.753 ^a	0.042	<0.01	0.37
Valine	0.795 ^b	0.819 ^a	0.763 ^c	0.786 ^{bc}	0.821 ^a	0.016	<0.01	0.20
<i>Non-essential amino acids</i>								
Alanine	0.770 ^{bc}	0.798 ^{ab}	0.744 ^c	0.759 ^c	0.809 ^a	0.023	<0.01	0.70
Asparagine	0.795 ^b	0.817 ^a	0.770 ^c	0.787 ^{bc}	0.820 ^a	0.016	<0.01	0.34
Cysteine	0.778 ^{bc}	0.835 ^a	0.744 ^c	0.736 ^c	0.798 ^{ab}	0.033	<0.01	0.11
Glutamate	0.877 ^b	0.894 ^a	0.856 ^c	0.867 ^{bc}	0.880 ^b	0.011	<0.01	0.22
Glycine	0.731 ^{bc}	0.760 ^{ab}	0.697 ^c	0.718 ^c	0.767 ^a	0.023	<0.01	0.19
Proline	0.847 ^a	0.853 ^a	0.795 ^b	0.811 ^b	0.847 ^a	0.010	<0.01	0.22
Serine	0.797 ^b	0.825 ^a	0.780 ^b	0.787 ^b	0.829 ^a	0.013	<0.01	0.11
Tyrosine	0.843 ^{ab}	0.854 ^a	0.815 ^c	0.826 ^{bc}	0.862 ^a	0.015	<0.01	0.27
Σ AA ^z	0.820 ^{bc}	0.841 ^a	0.793 ^d	0.808 ^{cd}	0.838 ^{ab}	0.013	<0.01	0.19

^yB basal diet, SP soy + palm oil, EL extruded linseed, EL- dehulled extruded linseed, MAG microalgae, FP fat and protein free diet

^zsum of amino acids

For each trait, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the diet.

enhance the digestive utilization of other nutrients (Jondreville et al., 2001). Conversely, the high fiber content of the EL and EL- diets may enhance the secretion of endogenous N, thus decreasing the SID coefficient because a constant AA composition of endogenous N was considered.

Except for arginine, lysine, methionine and glutamate, pigs fed with dehulled extruded linseed exhibited higher SID coefficients of AA than pigs fed with extruded linseed. This was especially true for essential AA. The dietary fibre physically increases the flow of indigestible AA via an accelerated transit rate (Jørgensen et al., 1996). According to Régnier et al., 2012, this effect is emphasized for a fibrous diet rich in lignin. The higher fibre content, expressed by the ADF and ADL residue, of the extruded linseed than the dehulled extruded linseed may contribute to this low ileal digestible content of AA in feedstuffs. Additionally, the presence of anti-nutritional factors in the extruded linseed (escaping the extrusion process) may have been removed with the hulls or diluted in the mix with wheat bran, in case of dehulled extruded linseed.

Concerning feedstuff, approximately 100% of AA of microalgae were digestible. It was especially true for arginine, lysine, tryptophan, asparagine and glutamate whose ileal digestible content was slightly higher than the total content in microalgae. In contrast, the proline is poorly digestible. Moreover, the content in ileal digestible AA of microalgae was the highest (threonine, alanine, tyrosine) or close to the digestibility of arginine, histidine, methionine, asparagine, serine of dehulled linseed. However, contrary to digestible AA content of microalgae, the ileal digestible content of each AA of the linseed was lower than 81%. Two hypotheses can explain these observations. First, although microalgae contained two fold less AA (except for lysine, methionine, threonine and alanine) than linseed, we could think that marine AA are more accessible than AA contained in linseed. Second, a higher endogenous protein loss (digestive enzymes, mucus or desquamated cells) in digesta could explain a lower ileal digestibility of AA in linseed than in other feedstuffs (Regnier et al., 2012). Finally, it is the presence of anti-nutritional factors in the hulls which could explain the lower ileal digestibility of AA of linseed than other feedstuffs because these negative effects were mitigated when dehulling was applied prior to extrusion. Indeed, the low accessibility of AA of linseed is due to the presence of anti-nutritional factors as cyanogen (hydrogen cyanide, HCN) in hulls of linseed (Martínez-Ramírez et al., 2013). Enhancement of the nutritive value of these ingredients and reduction of anti-nutritional factors can thus be attempted by processing. As explained earlier, the extrusion cooking is a process which could destroy anti-nutritional factors (Noblet et al., 2008). However, for some AA as lysine,

Table 8. Standardized ileal digestibility coefficient of fatty acids of experimental diets supplemented with extruded linseed, dehulled extruded linseed and microalgae

	Diets ^t					Rsd	P-value	
	B	SP	EL	EL-	MAG		Diet	Period
No. of measurements	5	5	5	5	5	-	-	-
Ether extract	0.612 ^c	0.843 ^a	0.683 ^b	0.691 ^b	0.831 ^a	0.024	<0.01	0.57
C16:0	0.471 ^d	0.862 ^a	0.745 ^b	0.782 ^b	0.600 ^c	0.044	<0.01	0.07
C16:1 n-9	0.330 ^c	0.857 ^a	0.692 ^b	0.745 ^{ab}	-	0.084	<0.01	0.37
C16:1 n-7	0.082 ^d	0.897 ^a	0.679 ^b	0.720 ^{ab}	0.466 ^c	0.156	<0.01	0.39
C18:0	0.557 ^b	0.834 ^a	0.817 ^a	0.865 ^a	0.463 ^b	0.099	<0.01	0.62
C18:1 n-9	0.501 ^c	0.927 ^a	0.779 ^b	0.807 ^b	0.524 ^c	0.029	<0.01	0.28
C18:1 n-7	0.310 ^d	0.894 ^a	0.708 ^b	0.753 ^b	0.516 ^c	0.047	<0.01	0.20
C18:2 n-6c	0.644	0.672	0.696	0.703	0.682	0.055	0.50	0.16
C18:3 n-3	0.710 ^b	0.610 ^c	0.823 ^a	0.855 ^a	0.717 ^b	0.052	<0.01	0.57
C20:0	0.521 ^c	0.876 ^a	0.727 ^b	0.776 ^b	0.533 ^c	0.054	<0.01	0.39
C20:1 n-9	0.309 ^b	0.913 ^a	0.671 ^a	0.789 ^a	-0.171 ^c	0.185	<0.01	0.23
C20:2	-	-	-	-	0.877	0.108	-	-
C20:3 n-6	-	1.146 ^a	-	-	0.989 ^b	0.064	<0.01	-
C20:3 n-3	0.708 ^b	0.959 ^a	0.923 ^a	0.885 ^a	0.910 ^a	0.065	<0.01	0.73
C20:4 n-3	0.733 ^b	0.971 ^a	-	-	0.978 ^a	0.045	<0.01	0.51
C20:5 n-3	0.912 ^{bc}	0.895 ^c	0.965 ^{ab}	0.946 ^{abc}	0.986 ^a	0.050	0.07	0.60
C22:1 n-11	0.296 ^b	0.597 ^a	0.596 ^a	0.648 ^a	0.034 ^c	0.079	<0.01	0.80
C22:1 n-9	0.672	0.989	-	-	-	0.196	0.06	-
C22:5 n-6	0.067 ^c	0.797 ^b	0.868 ^b	0.773 ^b	0.995 ^a	0.102	<0.01	0.16
C22:6 n-3	-	1.021 ^a	-	-	0.990 ^b	0.027	<0.01	-
C24:1	-	0.944 ^a	-	-	0.534 ^b	0.162	0.02	-
SFA ^u	0.481 ^d	0.861 ^a	0.762 ^b	0.801 ^{ab}	0.659 ^c	0.041	<0.01	0.07
MUFA ^v	0.480 ^c	0.924 ^a	0.775 ^b	0.805 ^b	0.497 ^c	0.031	<0.01	0.26
PUFA ^w	0.648 ^c	0.714 ^b	0.753 ^b	0.757 ^b	0.936 ^a	0.043	<0.01	0.53
n-6 FA ^x	0.644 ^b	0.678 ^b	0.698 ^b	0.703 ^b	0.862 ^a	0.046	<0.01	0.29
n-3 FA ^y	0.716 ^d	0.886 ^b	0.830 ^c	0.859 ^{bc}	0.984 ^a	0.033	<0.01	0.96
ΣFA ^z	0.566 ^d	0.872 ^a	0.763 ^c	0.784 ^c	0.830 ^b	0.031	<0.01	0.54

^tstandard deviation

^usum of saturated fatty acids

^vsum of monounsaturated fatty acids

^wsum of polyunsaturated fatty acids

^xsum of n-6 fatty acids

^ysum of n-3 fatty acids

^zsum of FA

For each trait, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the diet.

threonine, alanine and tyrosine, it did not allow reaching the same ileal digestibility value of AA of microalgae. The lysine is the first limiting AA in swine nutrition (Sève, 1994), which could explain that average daily gain of pig fed with linseed was lower than of pigs fed with oils or microalgae. According to Cozannet et al., 2010, the lysine is one of the main AA affected by the Maillard reaction which could occur during heating that accompany extrusion of linseed. This shows that extrusion is an encouraging method but still improvable to optimize ileal digestion of all AA. In contrast, the dehulling process allowed to supply enough sulfur AA (Meth + cyst > 60), tryptophan (170), threonine (73), isoleucine (125), leucine (184), phenylalanine (136), histidine (51), and valine (125) according to calculation of ideal protein with the lysine as the base 100 (Sève, 1994). To improve the profile of the ideal protein of the extruded linseed diet, it would be necessary to bring at least 5 g of synthetic amino acids per kg of diet. Finally, contrary to the digestible FA content, the dehulling process highly enhanced the digestible AA content of linseed compared to the extrusion process.

Conclusion

Apparent and standardized ileal digestibility coefficients of diets containing feedstuffs with high n-3 FA level were calculated to deduce the content of apparent and standardized digestible AA and FA of oils (soy and palm), linseed (extruded or dehulled) and DHA rich microalgae. The ileal digestible content of C18:3 n-3 was the highest in the linseed (> 32 g/kg DM), whereas the highest ileal digestible content of C22:6 n-3 was obtained in microalgae (166 g/kg DM). Consequently, ileal digestible C22:6 n-3 accounted for 48% of the supply of digestible ether extract in the microalgae. In the same way, ileal digestible C18:3 n-3 accounted for 61 and 51% of the supply of digestible n-3 PUFA in extruded and in the dehulled extruded linseed respectively. However, this study showed that the ileal digestibility of the fat and FA of linseed was not enhanced with the dehulling compared to the extrusion process.

Concerning AA, it was hypothesized that the AA contained in microalgae were more accessible than AA of linseed. Indeed, AA of microalgae were more digestible (~100%) than AA of linseed (<81%). The SID content in AA of linseed was penalized due to anti-nutritional factors in hulls. Indeed, a lower ileal digestible content in AA, especially for essential AA except lysine, of extruded linseed than dehulled extruded linseed was observed and showed that extrusion was not sufficient to obtain a good digestibility of AA contained in linseed.

Table 9. Apparent (AD) and standardized digestible (SD) amino and fatty acids content (g/kg DM) of soy and palm oils, extruded linseed , dehulled extruded linseed and microalgae in the ileum of growing pigs

	Soy + palm oil		Extruded linseed		Dehulled extruded linseed		Microalgae	
	AD	SD	AD	SD	AD	SD	AD	SD
Σ AA	-	-	78.94	81.11	128.87	131.04	109.68	111.87
<i>Essential amino acids</i>								
Arginine	-	-	11.08	11.19	13.92	14.03	13.53	13.63
Histidine	-	-	1.68	1.72	2.62	2.66	2.65	2.69
Isoleucine	-	-	3.25	3.35	6.45	6.55	2.93	3.03
Leucine	-	-	5.53	5.66	9.49	9.61	7.00	7.13
Lysine	-	-	1.01	1.16	5.07	5.22	7.32	7.48
Methionine	-	-	2.93	2.96	2.21	2.25	1.94	1.98
Phenylalanine	-	-	4.73	4.80	7.02	7.09	5.05	5.13
Threonine	-	-	2.26	2.46	3.59	3.79	6.35	6.55
Tryptophan	-	-	5.11	5.27	8.73	8.90	5.51	5.68
Valine	-	-	1.14	1.19	6.48	6.53	2.11	2.16
<i>Non-essential amino acids</i>								
Alanine	-	-	3.59	3.74	6.14	6.30	8.40	8.56
Asparagine	-	-	4.42	4.68	11.06	11.33	11.37	11.64
Cysteine	-	-	1.67	1.74	1.28	1.35	1.55	1.62
Glutamate	-	-	18.10	18.12	26.96	26.98	20.09	20.11
Glycine	-	-	4.60	4.83	7.23	7.45	4.13	4.35
Proline	-	-	-0.59	-0.47	0.51	0.63	-2.03	-1.91
Serine	-	-	4.23	4.39	5.10	5.26	5.86	6.02
Tyrosine	-	-	2.55	2.65	3.36	3.46	4.38	4.47
<i>Ether extract</i>	581.92	582.36	100.23	100.68	84.25	84.71	344.12	344.57
<i>Fatty acids</i>								
C14 :0	6.33	6.35	0.33	0.34	0.33	0.35	28.00	28.01
C16:0	261.44	261.64	37.89	38.09	40.07	40.28	51.96	52.16
C16:1 n-9	0.33	0.33	0.11	0.11	0.13	0.13	-0.01	-0.02
C18:0	38.37	38.50	14.75	14.88	14.44	14.58	0.48	0.61
C18:1 n-9	358.07	358.11	56.48	56.52	56.66	56.70	-0.72	-0.68
C18:1 n-7	12.13	12.14	2.42	2.43	2.52	2.53	0.32	0.33
C18:2 n-6c	23.01	23.01	20.11	20.12	28.77	28.77	6.83	6.84
C18:3 n-3	0.16	0.17	36.04	36.05	32.05	32.06	0.67	0.68
C18:4 n-3	0.44	0.46	0.23	0.24	0.25	0.26	0.96	0.97
C20:0	9.33	9.34	0.82	0.83	0.93	0.95	0.29	0.30
C20:1 n-9	9.89	9.90	1.92	1.93	2.58	2.59	-0.33	-0.31
C20:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.36
C20:3 n-6	0.22	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	5.63	5.65
C20:3 n-3	6.06	6.07	1.09	1.10	1.19	1.19	0.25	0.25
C20:4 n-3	4.47	4.47	-0.18	-0.19	-0.18	-0.19	3.19	3.19
C20:5 n-3	0.25	0.25	0.95	0.95	0.99	0.99	3.40	3.40
C22:1 n-11	2.34	2.36	0.50	0.52	0.56	0.58	-0.08	-0.06
C22:1 n-9	1.94	1.95	-0.04	-0.07	-0.04	-0.07	-0.04	-0.06
C22:5 n-6	1.11	1.12	0.51	0.52	0.36	0.37	60.92	60.93
C22:5 n-3	1.15	1.18	0.31	0.33	0.50	0.52	0.99	1.01
C22:6 n-3	1.68	1.71	0.00	0.00	0.00	0.00	166.65	166.68
C24:0	1.62	1.62	0.63	0.63	0.59	0.59	0.89	0.89
C24:1	0.87	0.92	0.00	0.00	0.00	0.00	1.62	1.65
SFA ^u	319.22	319.60	54.96	55.34	56.97	57.35	83.50	83.89
MUFA ^v	396.30	396.40	64.66	64.76	65.38	65.49	0.68	0.78
PUFA ^w	40.02	40.06	59.14	59.19	63.80	63.85	250.41	250.47
n-6 FA ^x	25.66	25.68	20.67	20.70	29.04	29.07	73.81	73.84
n-3 FA ^z	14.37	14.39	38.48	38.50	34.80	34.82	176.20	176.22

^usum of saturated fatty acids ^vsum of monounsaturated fatty acids ^wsum of polyunsaturated fatty acids ^xsum of n-6 fatty acids ^ysum of n-3 fatty acids ^zsum of FA

Finally, the dehulling of linseed was an innovative technology to enhance ileal digestibility of AA but not FA.

Acknowledgements

This work was supported by the National Research Agency and conducted within the framework of the national Agralid Program (Project ANR 12-ALID-003). The authors wish to acknowledge the technical or temporary staff of INRA laboratory (Jaguelin-Peyrault, Y; Perrier, C; Robin, G and Carré, J) for their skilled assistance. We also thank Valorex for providing the linseed. All authors read and approved the final version of the manuscript. The authors have no financial or personal conflicts of interest to declare.

References

- Afnor, 1977. Aliments des animaux - Dosage des cendres brutes, NF V18-101.
- Afnor, 1980. Aliments des animaux - Détermination de l'extrait à l'oxyde diéthylique, NF V18-104, Afnor.
- Afnor, 1982. Animal feed. Determination of water content., NF V18-109, p. 5.
- Afnor, 1993. Animal feeding stuffs and animal products - Determination of crude cellulose method, NF V03-040, p. 12.
- Afnor, 2005. Aliments des animaux - Détermination de la teneur en acides aminés, NF EN ISO 13903.
- AOAC, 1990. Animal Feed - Protein, In: Helrich, K. (Ed.), Official Methods of Analysis, AOAC, Arlington, p. 1230.
- Bakker, G.C.M., Jongbloed, R., Verstegen, M.W.A., Jongbloed, A.W., Bosch, M.W., 1995. Nutrient apparent digestibility and the performance of growing fattening pigs as affected by incremental additions of fat to starch or nonstarch polysaccharides. *Anim. Sci.* 60, 325-335.
- Bhatty, R.S., 1993. Further Compositional Analyses of Flax: Mucilage, Trypsin Inhibitors and Hydrocyanic Acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70, 899-904.
- Cera, K.R., Mahan, D.C., Reinhart, G.A., 1988. Weekly digestibilities of diets supplemented with corn oil, lard or tallow by weanling swine. *J. Anim. Sci.* 66, 1430-1437.
- Cera, K.R., Mahan, D.C., Reinhart, G.A., 1989. Apparent fat digestibilities and performance responses of postweaning swine fed diets supplemented with coconut oil, corn oil or tallow. *J. Anim. Sci.* 67, 2040-2047.
- Cohen, S.A., Michaud, D.P., 1993. Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-n-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application for the analysis of hydrolysate amino-acids via high-performance liquid-chromatography. *Anal. Biochem.* 211, 279-287.
- Cotten, B., Ragland, D., Thomson, J.E., Adeola, O., 2016. Amino acid digestibility of plant protein feed ingredients for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 94, 1073-1082.
- Cozannet, P., Primot, Y., Gady, C., Métayer, J.P., Callu, P., Lessire, M., Skiba, F., Noblet, J., 2010. Ileal digestibility of amino acids in wheat distillers dried grains with solubles for pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158, 177-186.
- Doreau, M., Fievez, V., Troegeler-Meynadier, A., Glasser, F., 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant : le point des connaissances récentes. *INRA Prod. Anim.* 25, 361-374.
- Duran-Montgé, P., Lizardo, R., Torrallardona, D., Esteve-Garcia, E., 2007. Fat and fatty acid digestibility of different fat sources in growing pigs. *Livest. Sci.* 109, 66-69.
- Flanzy, J., Rerat, A., François, A.-C., 1968. Etude de l'utilisation digestive des acides gras chez le porc. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 8, 537-548.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497-509.
- Hess, V., Sève, B., 1999. Effects of body weight and feed intake level on basal ileal endogenous losses in growing pigs. *J. Anim. Sci.* 77, 3281-3288.

- Htoo, J.K., Meng, X., Patience, J.F., Dugan, M.E., Zijlstra, R.T., 2008. Effects of coextrusion of flaxseed and field pea on the digestibility of energy, ether extract, fatty acids, protein, and amino acids in grower-finisher pigs. *J Anim Sci* 86, 2942-2951.
- ISO, 1998. Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method, ISO 9831:1998, p. 23.
- ISO, 2008. Food products-Determination of total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of crude protein content. Part 1: oilseeds and animal feed, ISO 16634-1:2008 p. 30.
- Jondreville, C., van den Broecke, J., Gatel, F., Grosjean, F., van Cauwenberghe, S., Seve, B., 2001. Ileal digestibility of amino acids and estimates of endogenous amino acid losses in pigs fed wheat, triticale, rye, barley, maize and sorghum. *Anim. Res.* 50, 119-134.
- Jondreville, C., van den Broecke, J., Grosjean, F., van Cauwenberghe, S., Gatel, F., 2000. Ileal true digestibility of amino acids in wheat milling by-product for pigs. *Ann. Zootech.* 49, 55-65.
- Jørgensen, H., Gabert, V.M., Hedemann, M.S., Jensen, S.K., 2000. Digestion of fat does not differ in growing pigs fed diets containing fish oil, rapeseed oil or coconut oil. *J. Nutr.* 130, 852-857.
- Jørgensen, H., Jakobsen, K., Eggum, B.O., 1993. Determination of endogenous fat and fatty acids at the terminal ileum and on faeces in growing pigs. *Acta Agric. Scand. Sect. A. Anim. Sci.* 43, 101-106.
- Jørgensen, H., Zhaoy, X.Q., Eggum, B.O., 1996. The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs. *Br. J. Nutr.* 75.
- Laplace, J.P., Souffrant, W.B., Hennig, U., Chabeauti, E., Fevrier, C., 1994. Measurement of precaecal dietary protein and plant cell wall digestion in pigs; comparison of four surgical procedures for ileo-rectal anastomosis. *Livest. Prod. Sci.* 40, 313-328.
- Li, S., Sauer, W.C., 1994. The effect of dietary fat content on amino acid digestibility in young pigs. *J. Anim. Sci.* 72, 1737-1743.
- Mariscal-Landin, G., Lebreton, Y., Seve, B., 2002. Apparent and standardised true ileal digestibility of protein and amino acids from faba bean, lupin and pea, provided as whole seeds, dehulled or extruded in pig diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 97, 183-198.
- Martínez-Ramírez, H.R., Kramer, J.K.G., de Lange, C.F.M., 2013. Ileal flows and apparent ileal digestibility of fatty acids in growing gilts fed flaxseed containing diets. *J. Anim. Sci.* 91, 2729-2739.
- Mourot, J., Hermier, D., 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41, 109-118.
- Mroz, Z., Bakker, G.C.M., Jongbloed, A.W., Dekker, R.A., Jongbloed, R., van Beers, A., 1996. Apparent Digestibility of Nutrients in Diets with Different Energy Density, as Estimated by Direct and Marker Methods for Pigs With or Without Ileo-Cecal Cannulas. *J. Anim. Sci.* 74, 403-412.
- Noblet, J., Jaguelin-Peyraud, Y., Quemeneur, B., Chesneau, G., 2008. Valeur énergétique de la graine de lin chez le porc : impact de la technologie de cuisson-extrusion. *Journées Rech. Porcine* 40, 203-208.

- O'Doherty, J., Keady, U., 2000. The nutritive value of extruded and raw peas for growing and finishing pigs. *Anim. Sci.* 70, 265-274.
- Regnier, C., Jaguelin, Y., Noblet, J., Renaudeau, D., 2012. Ileal digestibility of amino acids of cassava, sweet potato, cocoyam and erythrina foliages fed to growing pigs. *Animal* 6, 586-593.
- Sauvant, D., Bas, P., 2001. La digestion des lipides chez le ruminant. *INRA Prod. Anim.* 14, 303-310.
- Sève, B., 1994. Alimentation du porc en croissance : intégration des concepts de protéine idéale, de disponibilité digestive des acides aminés et d'énergie nette. *INRA Prod Anim* 7, 275-291.
- Stein, H.H., Fuller, M.F., Moughan, P.J., Sève, B., Mosenthin, R., Jansman, A.J.M., Fernández, J.A., de Lange, C.F.M., 2007. Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Livest. Sci.* 109, 282-285.
- Van Soest, P.J., Wine, R.H., 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV-Determination of plant cell walls constituents. *J. Assoc. Agric. Chem* 50, 50-55.
- Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, P.H., van Milgen, J., Noblet, J., 2007. Sites of nutrient digestion in growing pigs: effect of dietary fiber. *J. Anim Sci* 85, 976-983.
- Wiseman, J., Cole, D.J.A., Hardy, B., 1990. The dietary energy values of soybean oil, tallow and their blends for growing finishing pigs. *Anim. Prod.* 50, 513-518.

PARTIE 2

Effet de l'ingestion de différentes doses d'ALA et de DHA sur le devenir des acides gras dans les tissus et leur répartition au sein des fractions neutres et polaires des lipides musculaires et sur le métabolisme des lipides. Conséquences sur la qualité de la viande de porc (volets 1 et 2, essais 1 et 2)

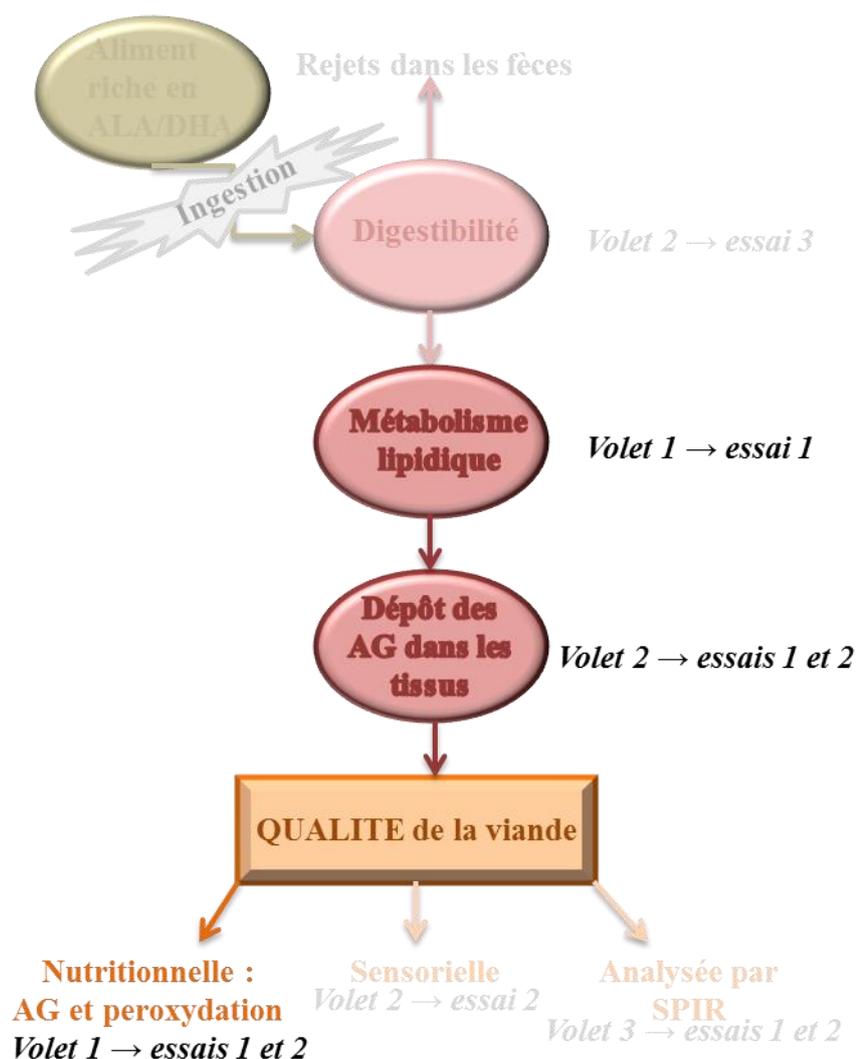


Tableau 20. Taux d'introduction (%) des matières premières dans les régimes et composition en acides gras n-3

	SP	COL	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG
Blé	24,364	25,953	24,581	24,879	25,170	25,454	25,715
Maïs	24,364	15,849	15,011	15,193	15,371	15,545	15,704
Orge	24,364	25,308	23,970	24,261	24,544	24,822	25,076
Son de blé	2,500	5,923	4,977	4,943	4,909	4,876	4,907
Tourteau de soja 48	17,881	18,821	17,826	18,042	18,253	18,459	18,648
Huile de soja	0,189	-	-	-	-	-	-
Huile de palme	0,189	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	-	1,750	-	-	-	-	-
Graine de lin extrudée	-	-	7,570	5,610	3,700	1,830	-
Microalgue	-	-	-	0,940	1,850	2,740	3,610
Mélasses de canne	3,000	2,972	2,815	2,849	2,882	2,915	2,944
Carbonate de calcium	0,540	1,274	1,207	1,221	1,235	1,249	1,262
Phosphate bicalcique	1,013	0,495	0,469	0,475	0,480	0,486	0,491
Sel	0,450	0,446	0,422	0,427	0,432	0,437	0,442
L-Lysine-HCl	0,290	0,330	0,312	0,316	0,320	0,324	0,327
DL-Méthionine	0,050	0,042	0,039	0,040	0,040	0,041	0,041
L-Thréonine	0,093	0,030	0,028	0,028	0,029	0,029	0,029
L-Tryptophane	0,014	-	-	-	-	-	-
Vitamines, minéraux et additifs	0,700	0,804	0,772	0,779	0,786	0,793	0,799
<i>Acides gras (% des acides gras totaux)</i>							
C18:2 n-6		36,6	34,3	32,1	31,0	29,2	27,3
ARA, C20:4 n-6		0,0	0,0	0,1	0,1	0,2	0,3
ALA, C18:3 n-3	3,51	6,60	29,19	22,68	16,13	9,21	2,69
EPA, C20:5 n-3	0,10	0,03	0,02	0,20	0,38	0,56	0,74
DPA, C22:5 n-3	0,00	0,00	0,00	0,06	0,12	0,17	0,22
DHA, C22:6 n-3	0,03	0,00	0,00	5,26	10,07	15,28	19,90

Les résultats de cette partie sont issus de l'essai 1. Elle traite de l'effet de doses décroissantes de graines de lin et donc d'ALA dans les régimes et de doses croissantes de microalgues et donc de DHA sur les paramètres technologiques de la viande, la composition en acides gras des lipides totaux, neutres et polaires des tissus et sur le métabolisme lipidique. Une dernière sous partie émettra des hypothèses quant au devenir des acides gras dans les tissus principaux du porc, à savoir le foie, le muscle LD et le tissu adipeux sous cutané dorsal (TAD).

Matériel et méthode

Elevage et abattage des animaux

L'étude a été réalisée sur 60 porcs mâles castrés et femelles de race croisée (Large White × Landrace) × Piétrain à un poids initial de $64,6 \pm 5,5$ kg en croissance-finition (Essai 1). Les animaux ont été nourris *ad libitum* et avaient un accès à l'eau en continu. Ils ont été élevés en loges individuelles et répartis dans six lots selon leur poids et leur sexe. Un lot a reçu un régime contrôle supplémenté en huile de colza (COL), le deuxième lot a reçu un régime supplémenté en graines de lin extrudées (Tradilin®, Valorex, France) contenant 29,2% d'ALA (lot GLE), les trois lots suivants ont reçu des régimes supplémentés en graines de lin extrudées et microalgues riches en DHA (DHA Gold®, DSM, Belgique) à des teneurs allant de 22,7 à 2,7% d'ALA et 5,3 à 15,3% de DHA (lots 3GLE/1MAG, 2GLE/2MAG, 1GLE/3MAG). Le dernier lot a reçu un régime supplémenté en microalgues contenant 19,9% de DHA (lot MAG) (Tableau 20, sans la première colonne). Les régimes ont été formulés de façon à répondre aux besoins des animaux. Les porcs ont été abattus à l'abattoir expérimental de Saint-Gilles après étourdissement par électroanesthésie et selon les normes en vigueur.

Extraction de lipides et analyse de la composition en acides gras

Les lipides ont été extraits selon la méthode de Folch *et al.* (1957) et les esters d'acides gras méthylés ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse comme décrit dans la partie matériel et méthodes de ce mémoire.

Analyses statistiques

De façon générale, les données ont été analysées avec le logiciel SAS® 9.4, suivant une ANOVA de type III (Porc GLM) avec le régime comme effet principal. Les résultats présentent les LSMéans par régime. L'erreur standard et la valeur de test de significativité ($P < 0,05$) sont également présentées. Une comparaison de moyenne deux à deux a été réalisée à l'aide du test de Bonferroni.

Effet de doses variables d'ALA et de DHA alimentaires sur la composition en acides gras de divers tissus de porc et les caractéristiques technologiques de la viande

Introduction

La qualité de la viande est très dépendante des facteurs d'élevage et notamment de l'alimentation des animaux (Mourot 2015). Ainsi, afin de proposer au consommateur une viande riche en acides gras n-3, aussi bien en acide α -linoléique (ALA) qu'en acide docosahexaénoïque (DHA), les animaux de cette étude ont été nourris avec les sources adéquates, à savoir respectivement des graines de lin et des microalgues riches en DHA. Par le passé, une étude a démontré l'effet bénéfique de l'apport de graines de lin sur les propriétés techno-fonctionnelles (de Broucker *et al.* 2012) et sur la qualité nutritionnelle des lipides de la viande de porc (Corino *et al.* 2008; Guillevic *et al.* 2009b). Cependant, aucune étude à ce jour n'a été menée afin de démontrer l'effet d'un apport alimentaire de microalgues riches en DHA sur les qualités technologiques et nutritionnelles de la viande de porc.

Objectif

L'objectif de cette partie est d'évaluer l'effet de l'ingestion de doses décroissantes d'ALA et de doses croissantes de DHA sur la composition en acides gras de différents tissus et les conséquences sur les caractéristiques technologiques de la viande de porc.

Matériel

Les tissus étudiés dans cette sous partie ont été prélevés après l'abattage des animaux sur du muscle *longissimus dorsi* (LD), du semi-membraneux (SM), du muscle du diaphragme (hampe), du tissu adipeux sous cutané du dos (TAD), du cou (TAC), de la gorge (TAG) et du jambon (TAJ), du tissu adipeux intermusculaire du jambon (JI) et un tissu adipeux interne, la panne et le foie. Le taux de muscle des pièces (TMP) a été mesuré à l'aide d'un Fat-O-Meter ou capteur de gras et maigre (CGM, Syleps, France) entre la 3^{ème} et la 4^{ème} dernière vertèbre lombaire, à 8 cm de la ligne médiane dorsale ainsi qu'entre la 3^{ème} et 4^{ème} dernière côte, à 6 cm de la ligne médiane dorsale. Les épaisseurs de tissus adipeux sous cutanés du cou, du dos et du jambon ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. Enfin, le taux de perte en eau (ressuage) a été déterminé sur des côtes selon la méthode de Honikel 1998. Les lipides ont été extraits et la composition en acides gras étudiée sur l'ensemble de ces dix tissus. La cinétique du potentiel de lipoperoxydation des acides gras a été déterminée par la méthode à d'acide 2-

Tableau 21. Effet du régime sur la carcasse et la qualité technologique de la viande

	COL ^a	GLE ^b	3GLE 1MAG ^c	2GLE 2MAG ^c	1GLE 3MAG ^c	MAG ^d	Rsd ^e	Effet
TMP (%) ^f	59,20	59,84	60,11	60,18	59,24	59,19	2,14	NS
Rendement de carcasse (%)	77,95	79,08	76,83	78,65	78,19	78,49	1,90	NS
Epaisseur TASC ^g jambon (mm)	17,40	16,00	17,20	18,30	18,30	17,70	3,79	NS
Epaisseur TASC ^g dos (mm)	22,70	19,00	20,00	19,60	22,10	20,80	3,49	NS
Epaisseur TASC ^g cou (mm)	39,30	36,90	38,50	39,30	38,70	40,00	4,84	NS
pH ₂₄ LD ^h	5,45 ^x	5,48 ^{xy}	5,49 ^{xy}	5,46 ^{xy}	5,60 ^y	5,46 ^x	0,07	***
Perte en eau après 48h (%)	4,67	5,43	4,59	5,30	4,12	5,60	2,12	NS
Perte en eau après cuisson (%)	24,56	25,29	25,46	25,63	24,95	25,00	1,98	NS

^aRégime contrôle à base d'huile de colza

^bRégime 100% graines de lin extrudées

^cRégimes à base d'un mélange de graines de lin et de microalgues (75%GLE/25%MAG, 50%GLE/50%MAG, 25%GLE/75%MAG)

^dRégime 100% microalgues

^eResidual standard deviation

^fTMP, taux de muscle des pièces

^gTASC, tissu adipeux sous cutané

^hLD, muscle *longissimus dorsi*

Les valeurs d'une même ligne affectées de lettres identiques (x, y, z) ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. NS, non significatif, *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$

thiobarbiturique (TBARS) réadaptée par (Kornbrust et Mavis 1980) et détaillée dans la partie matériel et méthodes de ce mémoire.

Résultats

Effet des régimes sur la carcasse et la qualité technologique de la viande

L'apport de doses croissantes de DHA par l'apport de microalgues conjointement à une diminution des doses d'ALA par une diminution des doses de graines de lin dans les régimes a eu un effet sur le pH de la viande 24 heures après abattage ($P = 0,02$), mais pas sur les autres caractéristiques mesurées ($P > 0,05$) (Tableau 21).

Effet des régimes sur la teneur en lipides des tissus

Excepté celle du TAC, la nature des lipides des régimes n'a pas eu d'effet sur la teneur en lipides des autres tissus ($P > 0,05$) (Tableaux 1 à 10 de l'Annexe 1).

Effet du régime sur la composition en acides gras des tissus

Les résultats des teneurs en acides gras retrouvées dans les différents tissus sont regroupés dans les tableaux 1 à 10 de l'Annexe 1 (% des acides gras totaux, AGT). L'apport de doses croissantes de DHA (microalgues) dans les régimes n'a pas eu d'effet sur les teneurs en C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 et sur la somme des acides gras saturés (AGS) de la plupart des tissus. En revanche, le SM, le TAC et le TAJ ont vu leur teneur en C16:0, C18:0 et AGS augmenter d'en moyenne de trois points avec l'apport de microalgues dans le régime, par rapport aux teneurs trouvées dans les lots contrôle et GLE.

Les teneurs de C18:1 n-9, de C20:1 n-9, de C18:1 n-7 et les acides gras monoinsaturés (AGMI) totaux du TAC et du TAJ diminuent avec les doses d'ALA puis augmentent avec l'accroissement des doses de DHA dans les régimes. Les teneurs en C16:1 n-7 du TAC et du TAJ du lot MAG augmentent respectivement de 25 et 21% par rapport aux teneurs des lots contrôle et GLE. A l'inverse, les teneurs en AGMI de la famille n-9 et les AGMI totaux des muscles, du TAD, de la gorge, du JI, de la panne et du foie diminuent avec l'apport d'acides gras n-3 ou de DHA dans les régimes.

La teneur en C18:2 n-6 diminue en moyenne de 25% dans tous les tissus avec l'apport de DHA dans les régimes. La teneur en C22:4 n-6 diminue également, mais dans les muscles et le TAJ uniquement. A contrario, les teneurs en C20:3 n-6 et C20:4 n-6 augmentent dans certains tissus, notamment les muscles, avec l'accroissement des doses de microalgues et donc de DHA dans les régimes. La teneur en C22:5 n-6 augmente de plus de 500% dans tous

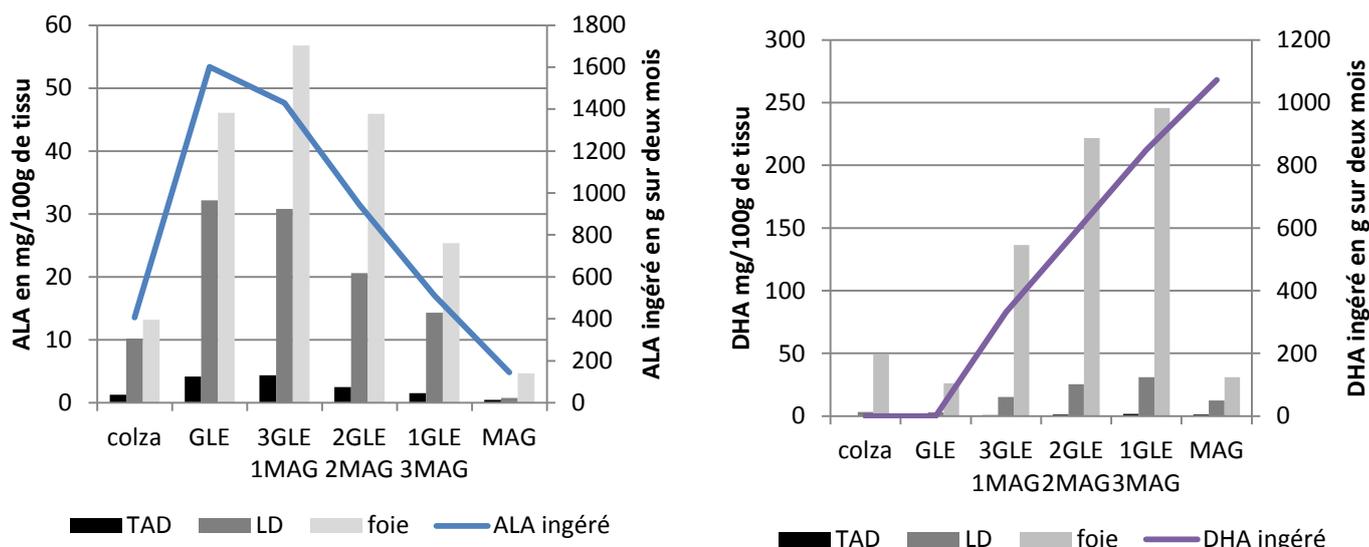


Figure 18. Quantité (mg/100g de tissu) d'ALA et de DHA dans le TAD, le muscle LD et le foie et consommation totale (g) d'ALA ou de DHA pendant deux mois. Les quantités de ALA et de DHA dans le TAD sont à multiplier par 1000.

Tableau 22. Régression linéaire entre la quantité (g) d'ALA^a ou de DHA^b ingérée pendant deux mois sur la quantité d'ALA ou de DHA en g retrouvée dans le tissu entier (a) ou en mg dans 100 g de tissu (b)

(a) en g dans tissu entier	Effet d'un apport en	Effet d'un apport en
	ALA	DHA
LD ^c	+ 0,002***	+ 0,003***
Foie	+ 0,001***	+ 0,002***
TAD ^d	+ 0,068***	+ 0,064***
Hampe	+ 0,001***	+ 0,0004***
Panne	+ 0,030***	+ 0,025***
(b) en mg dans 100 g de tissu		
SM ^e	+ 0,027***	+ 0,035***
TAC ^f	+ 1,701***	+ 0,498***
TAJ ^g	+ 1,962***	+ 0,234***
JJ ^h	+ 1,458***	+ 1,019***
Gorge	+ 1,382***	+ 1,594***

^aALA, acide α -linolénique

^bDHA, acide docosahexaénoïque

^cLD, muscle *longissimus dorsi*

^dTAD, tissu adipeux sous cutané dorsal

^eSM, muscle semi-membraneux

^fTAC, tissu adipeux sous cutané du cou

^gTAJ, tissu adipeux sous cutané du jambon

^hJJ, tissu adipeux interne du jambon

NS, non significatif, *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$

les tissus avec l'accroissement de la dose de microalgues dans les régimes en raison de leur forte teneur (14 % des aides gras totaux) en C22:5 n-6. *In fine*, le foie voit sa teneur en acides gras n-6 totaux diminuer avec l'ajout d'acides gras n-3 dans les régimes, alors que le TAC voit cette même teneur diminuer non pas à cause des acides gras n-3 des régimes, mais du DHA.

Excepté la teneur en C18:4 n-3 de la plupart des tissus adipeux, les teneurs des autres acides gras n-3 de tous les tissus varient en fonction du régime lipidique des animaux. Ainsi, les teneurs en C18:3 n-3 et en C20:3 n-3 sont maximales dans les tissus des animaux ayant ingéré le régime GLE. Les teneurs en C20:4 n-3 et en C22:6 n-3 augmentent dans les tissus avec l'apport de doses croissantes de DHA dans les régimes. La teneur en C20:5 n-3 est minimale dans les tissus des animaux ayant ingéré le régime contrôle. Enfin, la teneur en C22:5 n-3 est maximale dans le LD, le SM, le TAJ et le foie des animaux ayant ingéré le régime GLE. Elle augmente dans le tissu adipeux de la gorge, le TAD et le JI avec l'augmentation des doses de DHA dans les régimes. La panne est le seul tissu dont seules les teneurs en C18:3 n-3 et en C22:6 n-3 varient en fonction du régime. En effet, la teneur en C18:3 n-3 décroît avec la diminution des doses de graines de lin dans les régimes, alors que la teneur en C22:6 n-3 augmente avec l'accroissement des doses de microalgues dans les régimes. *In fine*, la teneur en acides gras n-3 du muscle SM, LD, de la panne et du tissu adipeux de la gorge augmente avec la hausse de ces mêmes acides gras dans les régimes. En revanche, elle est maximale dans le JI, le TAJ, le TAC et le TAD des animaux ayant ingéré le régime GLE et elle augmente dans la hampe et le foie avec l'accroissement de la dose de DHA dans les régimes. La teneur en AGPI des tissus suit quasiment la même tendance que celle des acides gras n-3. Les quantités (mg/100g de tissu) d'ALA et de DHA dosées dans le TAD, le muscle LD et le foie sont données dans la Figure 18. La quantité d'ALA dosée dans les trois tissus est représentative de la quantité d'ALA ingérée pendant deux mois. Il en va de même pour le DHA.

Comme le montre le Tableau 22, l'ingestion d'ALA ou de DHA entraîne une augmentation de type linéaire de la teneur (% des AGT) en C18:3 n-3 et en C22:6 n-3 dans les tissus. En effet, quand l'animal ingère 1 g d'ALA ou de DHA, les teneurs en ces acides gras augmentent de 0,0004 g (hampe) à 0,068 g (TAD) dans les tissus entiers ou de 0,027 mg (SM) à 1,701 mg (TAC) dans 100 g de tissu. Ces valeurs de pentes sont appuyées par des coefficients de corrélation allant de 0,39 pour ALA dans la panne à 0,82 pour le TAC et de 0,29 pour DHA dans le JI à 0,92 pour le tissu adipeux de la gorge.

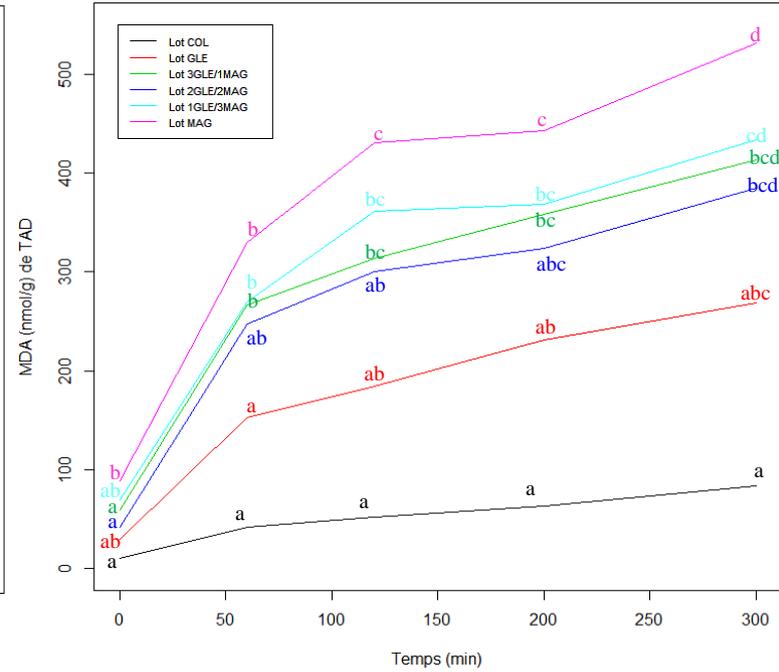
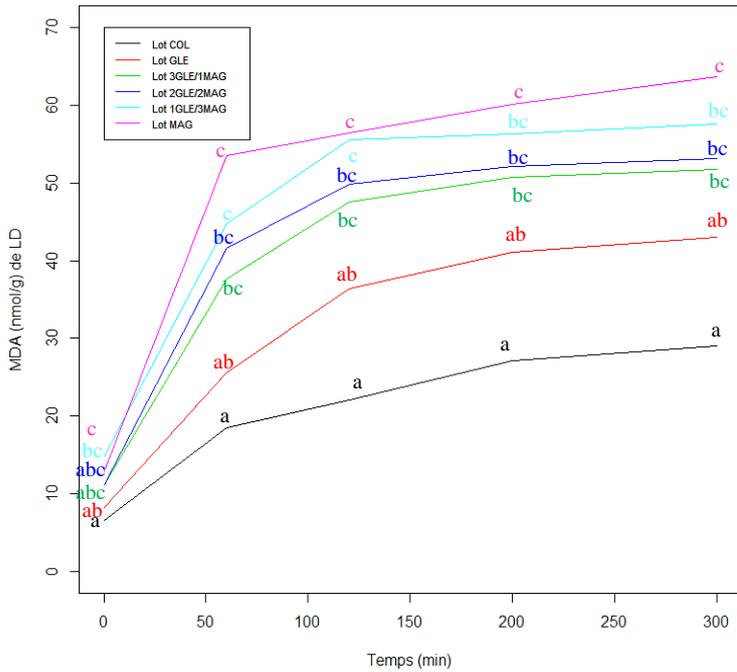


Figure 19. Potentiel de lipoperoxydation (de 0 à 5 heures) des acides gras dans le muscle *longissimus dorsi* (LD) et le tissu adipeux sous cutané dorsal (TAD) des porcs (N=10 porcs par lot). Les valeurs à un temps t affectées de lettres identiques (a, b, c) ne sont pas significativement différentes entre elles au seuil de 5%

Effet du régime sur la lipoperoxydation des acides gras

Les résultats de peroxydation à l'acide thio-barbiturique montrent que le muscle LD et le TAD des animaux ayant ingéré des microalgues peroxydent significativement plus que ceux issus des autres lots (Figure 19, $P < 0,05$). En revanche, les acides gras des échantillons d'animaux ayant ingéré les régimes mixtes de graines de lin et de microalgues peroxydent de façon non significativement différente. De même, les acides gras des échantillons issus du lot GLE peroxydent autant que ceux des lots contrôle et 3GLE/2MAG mais à des taux plus faibles que tous les autres échantillons. En effet, la peroxydation des acides gras des échantillons de muscle des lots mixtes et MAG entraîne la production de respectivement 2,00 et 1,25 fois plus de MDA que ceux des lots contrôle et GLE. De la même manière, la peroxydation des acides gras des échantillons de TAD des lots mixtes et MAG entraîne la production de respectivement 11,6 et 1,75 fois plus de MDA que ceux des lots contrôle et ALA.

Discussion*Effet de l'alimentation lipidique sur les caractéristiques technologiques de la viande et la teneur en lipides des tissus*

Cette étude n'a pas permis de montrer d'effet significatif du régime lipidique sur les performances des porcs (voir publication n°2), le taux de muscle des pièces, le rendement de carcasse et l'épaisseur de lard au niveau du cou, du dos et du jambon. Contrairement à l'étude de (de Broucker *et al.* 2012), cette étude n'a pas non plus montré d'effet du régime sur le ressuage en eau 48 heures après abattage ou après cuisson de la viande. Ils avaient en effet montré une diminution des pertes en eau du muscle LD après cuisson, d'animaux ayant ingéré des graines de lin par rapport à des animaux ayant ingéré un régime à base d'huile de tournesol. Contrairement aux graines de lin, l'incorporation de doses croissantes de microalgues dans les régimes ne permet pas de réduire les pertes en eau de la viande cuite. En revanche, l'effet du régime sur le pH_{24} s'explique par une variabilité individuelle élevée, les valeurs de pH variant de 5,3 à 5,7.

La composition en acides gras des régimes n'a pas d'effet sur la teneur en lipides des tissus dosés. Ce résultat concordant avec la bibliographie (Guillevic *et al.* 2009b). Les différences de teneur en lipides du TAC, nomment entre les lots 3GLE/2MAG et GLE/MAG sont expliqués par une forte variabilité entre les ces deux lots (min = 50%, max = 66%).

Effet de l'alimentation lipidique sur la composition en acides gras et la lipoperoxydation des tissus

Les résultats de cette étude montrent que les teneurs (% des AGT) en C16:0 et AGS totaux du muscle SM et du TAC et les teneurs en C16:0, C18:0 et AGS totaux du TAJ augmentent avec un apport de doses croissantes de microalgues dans les régimes. De même, les teneurs (% des AGT) en AGMI, en certains acides gras n-6 (C20:3 et C20:4) et n-3 (C20:4, C22:6 et C22:5 dans certains tissus) augmentent avec l'accroissement des doses de microalgues dans les régimes et à l'inverse, les teneurs en C18:2 et C22:4 n-6 diminuent dans les tissus. L'essai 1 a démontré une diminution des activités de la fatty acid synthase (FAS), de l'enzyme malique et de la glucose-6-déhydrogénase dans le foie et celle de la FAS dans le TAD avec l'apport de microalgues dans le régime. Ces enzymes étant impliquées dans la synthèse de l'acide palmitique, une diminution de la teneur en C16:0 du TAD et du foie était attendue or elle augmente significativement. L'explication pourrait venir du fait que l'activité de la Δ 9-désaturase serait également diminuée avec l'apport de microalgues et donc de DHA dans les régimes comme le laisse supposer la diminution du C16:1 n-9 dans les tissus. Ainsi, moins de C16:0 serait transformé en C16:1 n-9 ou C16:1 n-7 et s'accumulerait alors dans le foie et le TAD. Il est possible aussi que la teneur élevée en C16:0 des microalgues du régime (31,9% des AGT) compense la diminution du C16:0 venant de la baisse de l'activité lipogénique. La plupart des teneurs en AG dosées dans les tissus trouvent leur origine dans la composition en acides gras des régimes. Ainsi les teneurs en AGMI de la famille n-9 et les AGMI totaux diminuent dans les tissus avec l'apport de graines lin et de microalgues dans les régimes car l'acide gras majoritaire du régime colza est le C18:1 n-9. Les teneurs les plus élevées en C18:2 n-6 et C18:3 n-3 sont retrouvées dans les tissus issus respectivement des lots colza ou contenant des graines de lin, du fait de la richesse de ces matières premières en ces acides gras. A contrario, les teneurs les plus élevées en C20:3 n-6, C20:4 n-6, C20:5 n-3 et encore plus C22:5 n-6 et C22:6 n-3 sont davantage trouvées dans les tissus issus des lots contenant des microalgues. Le C22:6 n-3 est en effet l'acide gras polyinsaturé majoritaire des microalgues (37% des AGT), suivi par le C22:5 n-6 (14% des AGT). Ces résultats sont confirmés par une régression qui montre que quand l'animal ingère de l'ALA ou du DHA, ces acides gras se déposent linéairement dans les tissus.

Comme expliqué par (Monahan *et al.* 1992; Guillevic *et al.* 2009a) plus un acide gras contient de carbones et de doubles liaisons, plus il est susceptible de s'oxyder. C'est ce qui explique que quel que soit le temps de mesure, le taux de MDA dans le LD et le TAD est plus

important dans les échantillons issus d'animaux nourris avec les régimes contenant des microalgues que dans ceux nourris avec des régimes à base de colza ou de graines de lin. Le DHA est en effet un acide gras plus long et plus insaturé que l'ALA contenu dans les graines de lin ou le C18:1 n-9 contenu dans le colza et est donc plus susceptible de se dégrader par oxydation. Ce résultat montre qu'il est important de maîtriser la peroxydation de la viande, soit en ajoutant des antioxydants dans le régime, soit en minimisant les doses d'acides gras n-3 et en particulier de DHA, soit en compilant les deux solutions. Afin d'éviter une oxydation des acides gras qui pourrait être délétère pour la qualité sensorielle et a termes pour la santé du consommateur, il est nécessaire de compléter le régime des animaux avec des antioxydants. Une dose de 80 mg d' α -tocophérol par kg d'aliment a été utilisée dans le cadre de cette étude entraînant des quantités maximales de MDA de respectivement 50 et 350 nmol/g de muscle LD et TAD. Ces valeurs permettront de limiter la lipoperoxydation des tissus crus, mais pas cuits (Mairesse *et al.* 2010).

Conclusion

La composition en acides gras des régimes n'a pas d'effet sur les caractéristiques technologiques de la viande et la teneur en lipides des tissus. En revanche, les acides gras des régimes se retrouvent dans l'ensemble des tissus étudiés dont la teneur en ALA est maximale chez les animaux qui ont ingéré la plus forte dose de graines de lin et en DHA quand ils ont ingéré des microalgues. Le dépôt de ces acides gras est de type linéaire par rapport aux doses ingérées. Toutefois la conséquence de cette linéarité est une augmentation de la quantité de MDA produit dans le muscle LD et le TAD avec l'ajout des doses croissantes de DHA dans les régimes et donc une plus forte sensibilité à l'oxydation des échantillons d'animaux issus de ces lots. Il est donc nécessaire de maîtriser les doses de microalgues dans les régimes tout en les complétant avec des antioxydants.

Références

- Corino, C., Musella, M., Mourot, J. (2008). Influence of extruded linseed on growth, carcass composition, and meat quality of slaughtered pigs at one hundred ten and one hundred sixty kilograms of liveweight. *J. Anim. Sci.* **86**:1850-1860.
- de Broucker, T., Le Minous, A.A., Blochet, J.E., Guillevic, M., Mourot, J. (2012). Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie. 14èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes", Tours, pp. 75-76.
- Guillevic, M., Kouba, M., Mourot, J. (2009a). Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat. Sci.* **81**: 612-618.

- Guillevic, M., Kouba, M., Mourot, J. (2009b). Effect of a linseed diet or a sunflower diet on performances, fatty acid composition, lipogenic enzyme activities and stearoyl-CoA-desaturase activity in the pig. *Livest. Sci.* **124**: 288-294.
- Honikel, K.. (1998). Reference Methods for the Assessment of Physical Characteristics of Meat. *Meat. Sci.* **49**: 447-457.
- Kornbrust, D.J., Mavis, R.D. (1980). Relative Susceptibility of Microsomes from Lung, Kidney, Brain and Testes to Lipid Peroxidation: Correlation with Vitamin E Content. *Lipids* **15**: 315-322.
- Mairesse, G., Benet, M., Mourot, J. (2010). Prevention de l'oxydation des lipides de la viande de porc enrichie en acides gras n-3 par l'ajout d'antioxydants naturels dans la ration. 13èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes", pp. 55-56.
- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Lynch, P.B., Gray, J.I. (1992). Influence of Dietary Fat and alpha-Tocopherol Supplementation on Lipid Oxidation in Pork. *Meat. Sci.* **31**: 229-241.
- Mourot, J. (2015). Évolution de la qualité des produits animaux au cours des cinquante dernières années. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **50**: 6S30-36S35.
- Mourot, J., Arturo-Schaan, M., Foret, R. (2010). Effet de la durée de distribution dans le régime d'antioxydants végétaux sur l'oxydation des acides gras de la viande de porc et des produits transformés. 13èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes", pp. 57-58.

Publication 2 : Effet de doses variables d'ALA et de DHA alimentaires sur les activités lipogéniques et l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique du porc en croissance-finition

*Acceptée pour publication dans British Journal of Nutrition
(doi:10.1017/S0007114516001392)*

Objectif

L'objectif de ce travail était d'évaluer l'impact de doses alimentaires décroissantes d'acide α -linoléique (ALA) et de doses croissantes d'acide docosahexaénoïque (DHA) sur l'activité des enzymes de la lipogenèse (Fatty acid synthase, FAS ; gluco-6-déhydrogénase, G6PDH et enzyme malique, EM) et l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides chez le porc en croissance.

Matériel et Méthodes

Le protocole d'élevage des porcs est détaillé précédemment. Des échantillons de foie, de muscle *longissimus dorsi* (LD) et de tissu adipeux dorsal (SCAT) ont été prélevés à l'abattoir. Les profils en acides gras de l'aliment et des tissus ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse. L'activité des enzymes et l'expression de 25 gènes impliqués dans le métabolisme lipidique ont respectivement été mesurées par spectrométrie d'absorbance au Konélab 20i et RT-PCR dans les trois tissus.

Résultats

L'apport d'acides gras (AG) n-3 dans le régime diminue linéairement l'activité de FAS et G6PDH dans le foie. L'apport de doses croissantes de DHA dans le régime diminue également de façon linéaire l'activité de FAS et EM dans le foie et de FAS dans SCAT. L'expression des gènes va dans le même sens. L'apport d'AG n-3 dans les régimes entraîne une diminution de l'expression de FADS2 et dans une moindre mesure de FAS dans le foie. Enfin, l'accroissement des doses de DHA dans les régimes a pour effet de diminuer l'expression de FAS, EM, FADS2, DECR2 et SREBF1 dans le foie, ainsi que de SREBF1 dans le LD et GNPAT dans SCAT. Hormis l'expression de FADS2 dans le foie qui est de nature quadratique, l'expression des autres gènes suit une régression linéaire. En revanche, aucune relation n'a pu être mise en évidence entre l'activité des enzymes de la lipogenèse et l'expression de leur gène.

Conclusion

L'introduction d'AG n-3 dans le régime entraîne la diminution, particulièrement au niveau hépatique, des activités et de l'expression des gènes des enzymes impliquées dans la lipogénèse et/ou le métabolisme lipidique. Un apport alimentaire d'AG n-3 régule la synthèse de ces acides gras en exerçant vraisemblablement un rétrocontrôle négatif sur le foie.

Effect of α -linolenic acid and DHA intake on lipogenesis and gene expression involved in fatty acid metabolism in growing-finishing pigs

A. De Tonnac^{1,2}, E. Labussière^{1,2*}, A. Vincent^{1,2} and J. Mouroit^{1,2}

¹INRA, UMR1348 PEGASE, 35590 Saint-Gilles, France

²Agrocampus Ouest, UMR1348 PEGASE, 35000 Rennes, France

(Submitted 22 January 2016 – Final revision received 3 March 2016 – Accepted 10 March 2016 – First published online 16 May 2016)

Abstract

The regulation of lipogenesis mechanisms related to consumption of *n*-3 PUFA is poorly understood. The aim of the present study was to find out whether α -linolenic acid (ALA) or DHA uptake can have an effect on activities and gene expressions of enzymes involved in lipid metabolism in the liver, subcutaneous adipose tissue and *longissimus dorsi* (LD) muscle of growing–finishing pigs. Six groups of ten pigs received one of six experimental diets supplemented with rapeseed oil in the control diet, extruded linseed, microalgae or a mixture of both to implement different levels of ALA and DHA with the same content in total *n*-3. Results were analysed for linear and quadratic effects of DHA intake. The results showed that activities of malic enzyme (ME) and fatty acid synthase (FAS) decreased linearly in the liver with dietary DHA. Although the expression of the genes of these enzymes and their activities were poorly correlated, ME and FAS expressions also decreased linearly with DHA intake. The intake of DHA down-regulates the expressions of other genes involved in fatty acid (FA) metabolism in some tissues of pigs, such as *fatty acid desaturase 2* and *sterol-regulatory element binding transcription factor 1* in the liver and *2,4-dienoyl CoA reductase 2* in the LD muscle. FA oxidation in the LD muscle and FA synthesis decreased in the liver with increasing amount of dietary DHA, whereas a retroconversion of DHA into EPA seems to be set up in this last tissue.

Key words: Linolenic acid: DHA: Pigs: Lipogenic enzymes

In mammals, malic enzyme (ME) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) are the main enzymes involved in supplying NADPH₂ for the first step of lipid synthesis⁽¹⁾. Subsequently, NADPH₂ is used by fatty acid synthase (FAS) in order to synthesise palmitic acid from malonyl CoA. However, pigs are unable to synthesise the precursor of long-chain PUFA from palmitic acid because they are deficient in Δ 12 and Δ 15 desaturases⁽²⁾. The precursor of PUFA *n*-3 named α -linolenic acid (ALA) must be provided to animals in their feed in order to synthesise the main fatty acids (FA) of the *n*-3 family. These are EPA and DHA, which are synthesised from a sequence of desaturations with Δ 6-desaturase and Δ 5-desaturase and elongations with elongases. This latter step essentially takes place in the liver. However, it has been shown that feeding animals with different dietary FA has an effect on the gene expressions and activities of the key enzymes involved, first, in lipogenesis and, second, in de novo synthesis of long-chain FA. Indeed, PUFA *n*-6 promotes lipogenic activity in the subcutaneous adipose tissue (SCAT) of pigs^(3,4) or rats⁽⁵⁾. Likewise, a diet containing *n*-3 FA increases FAS activity in SCAT, whereas ME activity is decreased in the liver and adipose tissue of pigs⁽⁶⁾. The results of the studies

that were conducted on the effect of dietary *n*-3 FA on the gene expressions of lipogenic enzymes are in contrast, even if it was demonstrated that the response is tissue specific. Indeed, Duran-Montge *et al.*⁽⁷⁾ found that FAS expression decreased in the liver and the SCAT of pigs, respectively, with a supply of fish oil or linseed oil, whereas Meadus *et al.*⁽⁸⁾ found that FAS expression increased in the liver and muscle with a supply of DHA in the diet. Benitez *et al.*⁽⁹⁾ showed that ME expression decreased in the liver of pigs when animals were fed PUFA such as C18 : 2*n*-6 and C18 : 3*n*-3, whereas its expression was not modified in the muscle and SCAT. Regarding the expressions of genes encoding for the enzymes involved in long-chain FA synthesis, it was shown that a supply of *n*-3 or *n*-6 FA in the diet decreased mRNA abundance of Δ 6-desaturase and Δ 5-desaturase in the liver of mammals^(10,11) and increased the transcript level of elongation of very long-chain FA 2 (*ELOVL2*) but not *ELOVL5* corresponding to the elongases⁽¹²⁾. In contrast, an *n*-3-deficient diet increased the mRNA levels of Δ 6-desaturase and Δ 5-desaturase in the liver of rats⁽¹³⁾. Finally, according to the source of the long-chain FA that is ingested by animals, the effect on the gene expressions and activities of enzymes involved in lipid metabolism is different.

Abbreviations: ALA, α -linolenic acid; CON, control diet; DECR2, 2,4-dienoyl CoA reductase 2; ELOVL, elongation of very long chain fatty acid 5; FA, fatty acid; FADS2, fatty acid desaturase 2; FAS, fatty acid synthase; G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase; LD, *longissimus dorsi*; LPL, lipoprotein lipase; ME, malic enzyme; RXR α , retinoid X receptor alpha; SCAT, subcutaneous adipose tissue; SREBP1, sterol-regulatory element binding transcription factor 1.

* **Corresponding author:** E. Labussière, email etienne.labussiere@rennes.inra.fr

The aim of this study was to determine whether PUFA *n-3* supplementation of the diet has an effect on lipogenic activities and expressions of the genes involved in PUFA synthesis and other lipid metabolism in growing–finishing pigs. In addition, the effect of varying composition of PUFA *n-3* supplementation was assessed through different ALA:DHA ratios.

Methods

Animals were raised and slaughtered at Saint-Gilles INRA experimental site according to a protocol in accordance with the French legislation, and all procedures were conducted under the responsibility of J. M., approval number 04738.

Animals and diets

In total, thirty castrated male and thirty female cross-breed pigs (Large white × Landrace) sows × Pietrain boar) with initial body weight (BW) of 64.6 (SEM 5.5) kg were raised from 16 to 24 weeks of age. All animals received feed and water ad libitum in individual crates with concrete floor.

Five pigs from each sex were assigned to one of six diets according to their initial BW. All diets contained 4 % of fat and were supplemented with wheat bran to be isoenergetic on a net energy basis⁽¹⁴⁾ (Table 1). Diets followed nutritional recommendations for pigs, so that the amino acid content was not a limiting factor for growth. The FA composition of the diets varied in order to implement different levels of ALA and DHA, which was achieved by the differential inclusion of extruded linseed (EL; Tradilin®, Valorex) or microalgae (MA) (Schizochytrium sp. DHA Gold®; DSM). Animals of the first diet, which served as control (CON), did not receive ALA and DHA. Two groups of animals received either 100 % of ALA (diet ALA) or 100 % of DHA (diet DHA). Others three groups of animals were fed mixtures of ALA and DHA (diets 2ALA/1DHA, ALA/DHA, 1ALA/2DHA). According to the experimental design, dietary ALA and DHA contents varied consistently with inclusion level of EL and MA. The ALA concentration decreased in the diets from 29.2 to 2.7 % of total FA, and DHA increased from 0 to 19.9 % of total FA (Table 1). All the diets were supplemented with 80 parts per million vitamin E to prevent PUFA oxidation. Feed consumption per animal was measured twice a week throughout the rearing phase by subtracting feed refusal from distributed feed quantities. Animals were weighed once a week, in the morning and before feed distribution.

Slaughter and carcass measurements

The pigs were fasted for 16 h before slaughter. They were stunned by electronarcosis before slaughter by bleeding at 114.9 (SEM 6.9) kg of BW on average. After evisceration, the liver, heart and kidney were removed from the carcass and weighed. Subsequently, the carcass was split into two parts and weighed in order to obtain total hot weight. The point of the second liver lobe was sampled. The longissimus dorsi (LD) and SCAT were sampled at the level of the third last rib on the right side of the

carcass. Tissue samples were individually packed and frozen at -20°C until analyses of FA composition. For enzyme activity and PCR analyses, samples were cut into small pieces, snap-frozen in liquid N₂ and stored at -80°C . Carcasses were cooled at 1°C for 24 h and then the pH was measured on LD muscle with a mobile pH-meter (Metrohm 826) at the level of the third last rib. Meat colour (l, a and b parameters) of LD was evaluated using a calibrated colorimeter (CR 300; Konica Minolta). The entire LD muscle and SCAT were collected to estimate their total weight in the carcass.

Chemical analyses

Diets were analysed based on feed samples obtained after manufacturing. The DM of the diets was measured according to AFNOR NF V 18-109 (October 1982) method⁽¹⁵⁾, the amount of crude protein according to NF ISO 16634-1 (December 2008) and Dumas principle⁽¹⁶⁾, and crude energy was measured in an adiabatic calorimeter according to the ISO 9831:1998 method⁽¹⁷⁾ (Table 1).

Lipids were cold-extracted from 10 g of LD, 5 g of feed sample and liver and 1 g of SCAT. The weight of the test sample was determined from previous experiences to be representative of the sample taken from the animal and to obtain at least 15 mg of fat for further assays. Samples of diets and LD were ground twice, especially with a Retsch DR100 equipped with a 1-mm mesh for diets and a Retsch Grindomix GM200 for LD. Samples of diets and tissues were then ground using a Polytron grinder equipped with a spindle (Kinematica) before extraction using chloroform–methanol (2:1, v/v)⁽¹⁸⁾. FA methyl esters were saponified with methanolic sodium hydroxide solution in the presence of C17 : 0 (margaric acid) as the internal FA standard. Next, they were methylated with boron trifluoride⁽¹⁹⁾. FA methyl esters were recovered using pentane plus distilled water solution and analysed by GC (Agilent Technologies 7890 GC system). The chromatograph was equipped with a capillary column of 0.25 mm × 30 m polysiloxane polymer filled with dimethylpolysiloxane and 50 % cyanopropylphenyl in stationary phase. Temperature programme was initiated at 150°C and increased by $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ up to 220°C . The temperature was maintained at 220°C for 10.5 min. Injector and flame ionisation detector temperatures were kept constant at 220 and 280°C , respectively. Hydrogen was used as the carrier gas. Retention times and peaks were determined using chromatography software ChemStation Agilent. The identity of the peaks was verified by comparison with the retention time of standard FA methyl esters. Results were expressed as the percentage of total FA in diets and in mg per 100 g of tissue.

Enzyme activities

Depending on the concentrations of FAS, ME and G6PDH enzymes and activities in the tissues, dosages were assessed in 0.4 g of non-crushed backfat or liver and in 1.2 g of non-crushed LD muscle diluted in homogenisation buffer containing 0.25 M-ice-cold sucrose solution, EDTA (1 mM) and DTT (1 mM). Mixtures were ultracentrifuged at 100 000 g for 1 h at 4°C . The supernatant

Table 1. Ingredients and chemical composition of the diets

%	CON	ALA	2ALA/1DHA	ALA/DHA	1ALA/2DHA	DHA
Ingredient composition						
Wheat	25.953	24.581	24.879	25.170	25.454	25.715
Maize	15.849	15.011	15.193	15.371	15.545	15.704
Barley	25.308	23.970	24.261	24.544	24.822	25.076
Wheat bran	5.923	4.977	4.943	4.909	4.876	4.907
Soyabean meal	18.821	17.826	18.042	18.253	18.459	18.648
Rapeseed oil	1.750	–	–	–	–	–
Extruded linseed	–	7.570	5.610	3.700	1.830	–
Microalgae	–	–	0.940	1.850	2.740	3.610
Molasses	2.972	2.815	2.849	2.882	2.915	2.944
Calcium carbonate	1.274	1.207	1.221	1.235	1.249	1.262
Dicalcium phosphate	0.495	0.469	0.475	0.480	0.486	0.491
Salt	0.446	0.422	0.427	0.432	0.437	0.442
L-Lysine-HCl	0.330	0.312	0.316	0.320	0.324	0.327
D,L-Methionine	0.042	0.039	0.040	0.040	0.041	0.041
L-Threonine	0.030	0.028	0.028	0.029	0.029	0.029
Vitamins, minerals and additives	0.804	0.772	0.779	0.786	0.793	0.799
Chemical composition						
DM (%)	88.05	88.06	88.32	88.00	87.12	88.34
Gross energy (MJ/kg of DM)	14.40	14.48	14.59	14.48	14.39	14.52
Crude protein (% of DM)	17.77	17.12	16.89	16.13	16.25	16.38
Fat (% of DM)	3.72	3.85	3.79	3.64	3.68	3.50
Fatty acids (% of total fatty acids)						
C16 : 0	13.04	12.67	14.69	16.58	18.63	20.89
C18 : 0	2.28	3.00	2.67	2.27	1.92	1.66
C18 : 1 <i>n</i> -9 <i>c</i>	37.08	18.65	16.67	14.75	12.72	11.01
C18 : 2 <i>n</i> -6 <i>c</i>	36.64	34.27	32.11	30.96	29.24	27.32
C18 : 3 <i>n</i> -3	6.60	29.19	22.68	16.13	9.21	2.69
C22 : 6 <i>n</i> -3	0.00	0.00	5.26	10.07	15.28	19.90
SFA	16.24	16.35	19.10	21.60	24.38	27.50
MUFA	40.41	20.07	18.15	16.09	14.12	12.34
PUFA	43.35	63.57	62.75	62.30	61.50	60.16
<i>n</i> -6	36.64	34.27	34.43	35.42	36.01	36.25
<i>n</i> -3	6.64	29.24	28.27	26.83	25.44	23.83
<i>n</i> -6: <i>n</i> -3	5.52	1.17	1.22	1.32	1.42	1.52

CON, control diet; ALA, α-linolenic acid; 2ALA/1DHA, diet containing 75 % of EL and 25 % of microalgae (MA); ALA/DHA, diet containing 50 % of EL and 50 % of MA; 1ALA/2DHA, diet containing 25 % of EL and 75 % of MA; DHA, diet containing MA.

containing enzymes was aliquoted and stored at -80°C before being analysed. The activity of enzymes was determined by spectrometry at 340 nm absorbance⁽²⁰⁾ using a KoneLab 20i apparatus (Thermo Scientific). Activities were expressed in nanomoles of NADPH formed per minute and per gram of tissue for ME and G6PDH and in nanomoles of NADP formed per minute and per gram of tissue for FAS.

Total RNA extraction and complementary DNA synthesis

For total RNA extraction, samples of frozen SCAT, LD muscle or liver (80–120 mg) were homogenised in TRIZOL[®] reagent (Invitrogen) using Precellys homogenizer (Ozyme) and treated according to the manufacturer's instructions. Next, RNA was purified using silica-membrane technology (NucleoSpin RNA II kit; Macherey-Nagel) and quantified using a NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Scientific). The integrity of total RNA was assessed using the Agilent RNA 6000 Nano kit with an Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies). For later analyses, RNA with RNA Integrity number > 5.1 ; A260:280 ratio > 2.0 and A260:230 ratio > 1.0 were considered. Complementary DNA (cDNA) was synthesised using the high-capacity RNA-to-cDNA kit (Applied Biosystems) in 20 μl total reaction volume including 1 μg total RNA, 1 \times RT buffer and 1 \times RT enzyme mix

at 37°C for 60 min. The reaction was terminated at 95°C for 5 min.

Quantitative real-time PCR

The expressions of twenty-seven target genes and three reference genes were measured by PCR in the three tissues (Table 2). Primers were designed from porcine sequences with Primer Express[®] software 3.0 (Applied Biosystems) (Table 2).

For each primer pair, the amplification efficiency of quantitative real-time PCR (qPCR) reaction was determined using calibration curves generated with six decreasing cDNA concentrations of a pool of samples (10 to 10E^{-03} ng RNA). The efficiency was calculated using Data Analysis Gene Expression software (version 1.0.5.6)⁽²¹⁾ and values ranged from 61 to 124 %. For all samples, amplification reaction was performed in duplicate in 10 μl with 2 ng of reverse-transcribed RNA, both forward and reverse primers (200 nM) in 1X PCR buffer (Fast SYBRGreen[®] Mastermix; Applied Biosystem) containing Uracil DNA glycosylase to prevent any DNA contamination in a 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Thermal cycling conditions were as follows: 50°C during 2 min, 95°C during 20 s, followed by forty cycles of denaturation at 95°C during 3 s and annealing at 60°C for 30 s. Specificity of the amplification products was

Table 2. Primer sequences used for quantitative real-time PCR

Gene names: gene descriptions	Gene ID	Primer sequence (5'–3')	AL (bp)
PUFA synthesis			
<i>ELOVL5: elongation of very long-chain FA 5</i>	ENSSSCT00000032492	F: TCTATGAGTTAGTGACGGGAGTATGG R: TGCGTGTGCCCTGACAGA	79
<i>FADS2: FA desaturase 2</i>	ENSSSCT00000014289	F: ATGGCATTGAGTACCAGGAAAAG R: CTCAGGGACCCGATGATGTC	64
<i>FADS3: FA desaturase 3</i>	ENSSSCT00000014290	F: GCTGGTCAAGGCGTTGTGT R: CCAGACTTCTTCAGGGACCTAATG	99
<i>FAS: FA synthase</i>	AY183428	F: AGCCTAACTCCTCGCTGCAAT R: TCCTTGGAAACCGTGTGTTC	196
<i>G6PDH: glucose-6-dehydrogenase</i>	ENSSSCT00000027501	F: GGCAACAGATACAAGAACGTGAAG R: GCAGAAGACGTCCAGGATGAG	66
<i>ME: malic enzyme</i>	X93016	F: TGGTGACTGATGGAGAACGTATTC R: CAGGATGACAGGCAGACATTCTT	96
Peroxisomal oxidation			
<i>ACAA1: acetyl-CoA acyltransferase 1</i>	ENSSSCT00000012317	F: AAGCAGGGCTGACAGTTGATG R: AGAGGGCCTGACTTGCAAAG	69
<i>ACOX1: acyl-CoA oxidase 1</i>	ENSSSCT00000018723	F: GCGTGCCTCCAGACTAGTAAAT R: TGGCTCGGACGAGGTCAA	113
<i>DECR2: 2,4-dienoyl CoA reductase 2</i>	ENSSSCT00000008752	F: GGCTGCCACACGGTCAATC R: CTTTCTAGCAGCCGTCGACACT	60
<i>EHHADH: enoyl-CoA, hydratase/3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase</i>	ENSSSCT00000024873	F: CCATGCAGAGGCTCAAGTTG R: CCTCTTGACCAGGAAGGATT	63
<i>SCP2: sterol carrier protein 2</i>	ENSSSCT00000004265	F: TCTTACAATGCTGTCTACTTCAGATG R: CTGAACAAACACTTCACTAGCCAAA	68
Lipid catabolism			
<i>LPL: lipoprotein lipase</i>	X62984	F: CCCGACGACGCAGATTTTC R: GGATGGCTTCCCCAATGTTA	151
Incorporation of PUFA in PL			
<i>GNPAT: glyceronephosphate O-acyltransferase</i>	ENSSSCT00000011141	F: GAAGAAATGCTTGGCTGTAAGACA R: TTGGCAATCATTAAAGCTTTGC	67
Transcription factors			
<i>LXRα: nuclear receptor subfamily 1, group H, member 3</i>	ENSSSCT00000014461	F: CTGCAACTAAATGATGCTGAGTTTG R: GCCGGTCTGCAGAGAAGATG	64
<i>LXRβ: nuclear receptor subfamily 1, group H, member 2</i>	ENSSSCT00000003566	F: CATCCACCATTGAGATCATGCT R: CCTTGCTGTAGGTGAAGTCTTTCA	96
<i>PPARα: peroxisome proliferator-activated receptor α</i>	ENSSSCT00000000007	F: AAGGTTGCAAGGGCTTCTTTTC R: CTTACAGCTCCGATCACATTTGTC	74
<i>RXRα: retinoid X receptor, α</i>	DQ279926.1	F: GGAGCTGGTGTCCAAGATGAG R: CCTTGGAGTCCGGTTGAA	92
<i>SREBP1: sterol-regulatory element-binding protein 1</i>	AF102873	F: CGGACGGCTCACAATGC R: GCAAGACGGCGGATTTATTC	76
PUFA transport			
<i>CD36: FA translocase</i>	NM_001044622.1	F: GCACAGAAAAAGTTGTCTCCAAAAAT R: ATGTACACAGGTTTTCTTCTTTGC	124
<i>FABP3: FA binding protein 3, adipocyte</i>	AJ416019	F: GCACTTACGAGAAAGAGGCATGA R: GCTGAGTCCAGGAGTAGCCAATT	74
<i>LDLr: LDL receptor</i>	ENSSSCT00000029210	F: AAGCACAGATGCCAAGATATCG R: CCTCGAGGTTACGCGAGATC	73
<i>SCARB1: scavenger receptor class B, member 1</i>	ENSSSCT00000010699	F: TTTTGCCCGTGCATGGA R: GAAACAAGGGTGCATTGAACCT	67
<i>SLC27A1: solute carrier family 27 member 1</i>	ENSSSCT00000015165	F: GCCAGATCGGCGAGTTCTAC R: ACCAACCTTCCCATCCATGTT	71
<i>SLC27A4: solute carrier family 27 member 4</i>	ENSSSCT00000002720	F: CATAAAACAGGGACTTTCAAGCTACA R: TTTACGACTGCTGGGTCAA	72
<i>VLDLr: VLDL receptor</i>	ENSSSCT00000005763	F: ACCCAGCAATATCAGTTGTAAGCA R: TCAAAGGTGGTGACTTGTCTCAGA	70
Reference genes			
<i>B2M: β-2-microglobulin</i>	DQ178123	F: AACGGAAAGCCAAATTACC R: ATCCACAGCGTTAGGAGTGA	178
<i>TOP2B: topoisomerase II β</i>	ENSSSCG00000011213	F: AACTGGATGATGCTAATGATGCT R: TGGAAAACTCCGTATCTGTCTC	137

ID, gene identification in Ensembl or NCBI databases; AL, amplification length; FA, fatty acid; PL, phospholipids.

checked by dissociation curve analysis. No-template and no-reverse transcription controls were realised using H₂O or no-reverse RNA as template, respectively. Two reference genes (topoisomerase (DNA) II β 180 kDa and β -2-microglobulin) were

retained as the most stable reference genes for normalisation using geNorm algorithm⁽²²⁾. For each sample, a normalisation factor (NF) was calculated and used for subsequent normalisation. The normalised expression level (QrN) was calculated according to the following formula:

$QrN = \text{Eff}^{-Ct(\text{sample-calibrator})}/NF$, where Eff is the PCR efficiency for each gene calculated from the slope of the calibration curve, Ct the quantification cycle and the calibrator is a pool of samples⁽²³⁾. The lipoprotein lipase (*LPL*) gene was not detected in the liver, whereas the solute carrier family 27 member 1 (*SLC27A1*) and solute carrier family 27 member 4 (*SLC27A4*) genes were not detected in the SCAT. Finally, we have not managed to identify *ELOVL2* in the three tissues studied.

Statistical analyses

All data were analysed using SAS[®] 9.4 statistical software. Statistical comparisons were carried out by ANOVA type III (Proc GLM) with diet as the main factor. Results are presented as least squares means by diet. The standard error of the mean and the significance of the test are also presented. Multiple comparisons between groups were applied according to a t test. Moreover, for animal performances, enzyme activities and results of gene expressions by RT-qPCR, orthogonal contrasts between diets were calculated to determine the effects of a supplementation with n-3 PUFA. Comparisons were made between the CON diet and other diets containing ALA or DHA. The effects of the increasing dose of DHA were measured with a linear contrast according to dietary DHA concentration. Linear and quadratic regression measures between the enzymatic activities or the results of PCR and the total consumption of DHA were also calculated with the DMI in covariate. Finally, correlations between enzyme (FAS, ME and G6PDH) activities and relative gene expressions were calculated as Pearson's coefficient (Proc CORR). *P*-values lower than 0.05 were considered as significant, whereas *P*-values lower than 0.10 were considered as a trend.

Results

Growth performances and measurements at slaughter

The FA composition of the diets did not affect ($P > 0.05$) daily feed intake, final BW, average daily gain, feed conversion ratio and SCAT and LD weights (as % of the carcass weight). In contrast, it tended to impact liver weight ($P = 0.08$), because the mean was 2.43 % for all the diets, except for the liver of pigs fed the 2ALA/1DHA diet, which weighed 2.70 % of the carcass weight (Table 3). The total fat content of SCAT and LD did not change with the diets. However, the contrasts revealed that the DHA amount of the diets increased the total fat content of the liver from 3.8 % (mean of the CON and ALA diets) to 4.2 % in the diets containing DHA ($P = 0.02$).

Fatty acid composition of tissues

The quantities of ALA, EPA, DHA and total n-3 FA of the three tissues were affected by the FA composition of the diets ($P < 0.01$; Fig. 1). The quantities of EPA, DHA and total n-3 FA in the liver increased with a supply of DHA in the diet. On the one hand, EPA increased from 32 to 131 mg/100 g of liver between the CON diet and the diet with only a supply of DHA. In the same

Table 3. Effect of dietary fatty acid composition on growth performance, carcass traits and total fat of subcutaneous adipose tissue (SCAT), liver and longissimus dorsi (LD) muscle in growing-finishing pigs (n 60)

	CON	ALA	2ALA/1DHA	ALA/DHA	1ALA/2DHA	DHA	SEM	<i>P</i> *	<i>P</i> value contrast n-3	<i>P</i> value contrast DHA
<i>n</i>	10	10	10	10	10	10				
Initial BW (kg)	65.8	63.7	64.2	64.6	65.2	64.1	0.7	0.97	0.46	0.77
Final BW (kg)	117.6	113.4	112.7	115.0	116.2	114.9	0.9	0.65	0.20	0.35
Average daily gain (kg/d)	1.04	1.00	0.97	1.01	1.03	1.02	0.01	0.65	0.28	0.29
Daily feed intake (kg DM/d)	3.17	3.07	3.05	3.04	3.15	3.14	0.03	0.68	0.40	0.29
Feed conversion ratio (kg/kg)	3.49	3.50	3.52	3.43	3.50	3.52	0.04	0.99	0.95	0.95
Carcass weight (kg)	91.7	89.6	86.7	90.4	90.9	90.1	0.7	0.50	0.28	0.36
Liver weight (% of the carcass)	2.46	2.49	2.70	2.37	2.46	2.36	0.04	0.08	0.87	0.07
SCAT weight (% of the carcass)	3.1	2.8	3.0	3.1	3.1	3.0	0.1	0.78	0.62	0.31
LD weight (% of the carcass)	12.6	12.7	13.0	13.0	13.2	12.9	0.1	0.34	0.14	0.39
Fat content (%)										
Liver	3.9	3.7	4.1	4.2	4.2	4.3	0.1	0.12	0.24	0.02
SCAT	69.5	67.0	64.0	67.8	63.3	69.0	1.3	0.64	0.35	0.75
LD muscle	1.8	1.7	1.9	1.8	1.9	1.5	0.1	0.91	0.88	0.59

CON, control diet; ALA, diet containing extruded linseed (EL); 2ALA/1DHA, diet containing 75 % of EL and 25 % of microalgae (MA); ALA/DHA, diet containing 50 % of EL and 50 % of MA; 1ALA/2DHA, diet containing 25 % of EL and 75 % of MA; DHA, diet containing MA; BW, body weight.

* *P*-value of the GLM procedure.

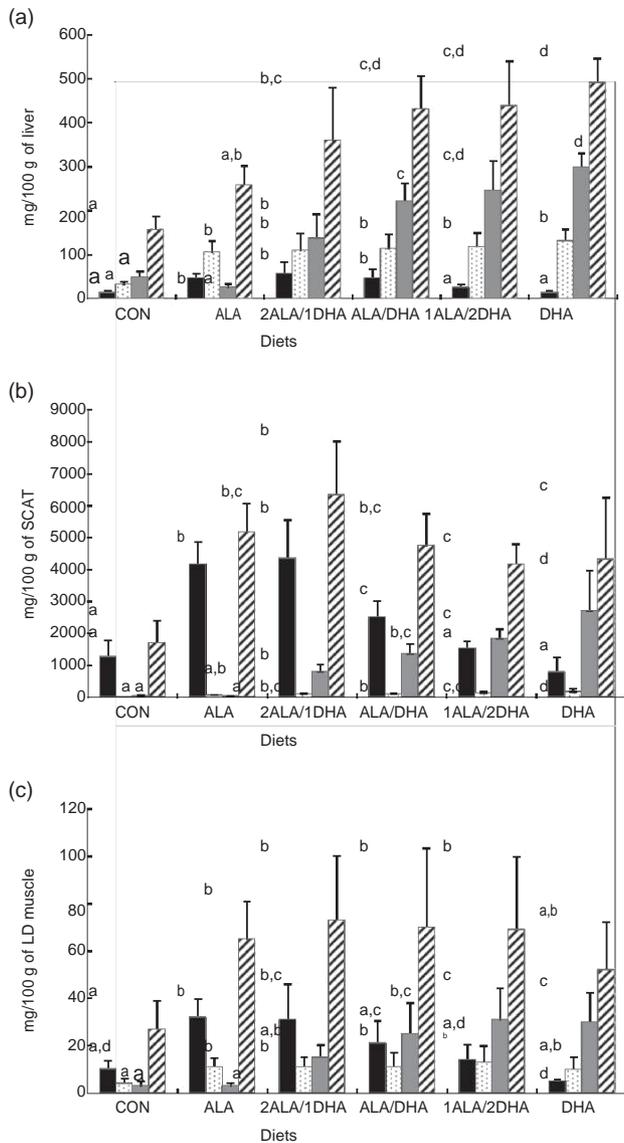


Fig. 1. Effect of dietary fatty acid (FA) composition on α -linolenic acid (ALA), EPA, DHA and *n*-3 FA quantities in the liver (a), subcutaneous adipose tissue (SCAT) (b) and longissimus dorsi (LD) muscle (c) of growing-finishing pigs. Results are least squares (LS)-mean values and standard deviations represented by vertical bars. Differences between LS means were evaluated using a *t* test. ^{a,b,c,d} Mean values with unlike letters were significantly different ($P < 0.05$). CON, control diet; 2ALA/1DHA, diet containing 75 % of EL and 25 % of microalgae (MA); ALA/DHA, diet containing 50 % of EL and 50 % of MA; 1ALA/2DHA, diet containing 25 % of EL and 75 % of MA; DHA, diet containing MA. ■, ALA; ■, EPA; ■, DHA; ■, *n*-3 FA.

way, DHA increased from 49 to 299 mg/100 g of liver between these two diets. The total content of *n*-3 FA increased from 157 with the CON diet to 491 mg/100 g of liver with the DHA diet. On the other hand, ALA decreased in this tissue from 46 (ALA diet) to 13 mg/100 g of liver (DHA diet). In the SCAT, EPA and DHA increased, respectively, from 12 to 171 mg/100 g and from 39 to 2701 mg/100 g of tissue between the CON diet and the DHA diet. Quantities of ALA in the SCAT decreased from 4167 in the ALA diet group to 786 mg/100 g of tissue in the DHA diet group. Total *n*-3 PUFA was lower in the SCAT of animals fed the CON diet. The quantity of *n*-3 FA in this tissue increased with a supply of ALA from 1705 mg/100 g in the CON diet to 6334

mg/100 g in the 2ALA/1DHA diet and decreased from 4745 mg/100 g to 4167 mg/100 g with a supply of DHA. As in other tissues, ALA content in the LD increased with the dietary supply of ALA, whereas DHA content in the LD increased with dietary supplementation of DHA. In this tissue, EPA and *n*-3 FA were lower in the CON diet group, respectively, 4 mg/100 g and 27 mg/100 g, compared with other diets. Quantities of EPA and *n*-3 FA seemed to reach a maximum threshold of 66 mg/100 g and 11 mg/100 g, respectively, when ALA or DHA were added to the diets. Finally, in the liver and LD muscle, EPA increased with a supply of PUFA *n*-3 as ALA and DHA compared with the CON diet. In the SCAT, EPA linearly increased with the increasing dose of PUFA *n*-3.

Enzyme activities and gene expressions

Diet composition did not affect activities of the three enzymes (ME, FAS and G6PDH) in the LD and the SCAT ($P > 0.05$). A supply of *n*-3 PUFA decreased FAS and G6PDH activity in the liver only, respectively, from 385 to 173 and from 3277 to 2577 nmol/min per g of tissue. In the same way, an increasing dose of DHA decreased FAS and ME activities in the liver from 352 to 173 and 855 to 671 nmol/min per g of tissue, respectively ($P < 0.05$). It also tended to decrease the FAS activity in the SCAT from 302 to 201 nmol/min per g ($P = 0.07$) (Table 4). The linear regression between enzyme activities and total ingestion of DHA showed that the activity of FAS decreased by 0.18 NADPH/min per g produced in the liver with the supplementary ingestion of 1 g of DHA. In the same way, the activities of G6PDH and ME in the liver decreased, respectively, by 0.45 and 0.17 NADPH/min per g ($P < 0.05$) per gram increase of DHA intake (Table 5). It means that the slope of the relationship decreased, respectively, by 17 and 18 % between the activity of ME or FAS in the liver and the intake of DHA, whereas it decreased by 45 % for G6PDH activity.

The results for the gene expressions of *ME*, *FAS*, *G6PDH* and the genes whose expressions were modified by the diets are presented in Table 5. The intake of *n*-3 PUFA in the diets decreased the expression level of fatty acid desaturase 2 (*FADS2*) in the liver (P -value contrast *n*-3 < 0.01). It also tended to decrease *FAS* expression in the same tissue (P -value contrast *n*-3 < 0.1). However, the DHA intake seems to have a stronger impact on gene expression than total *n*-3 PUFA. Indeed, the expression levels of *ME*, *FAS* and *FADS2* genes decreased in the liver when DHA was introduced in the diet. The expressions of *ME*, *FAS* and *FADS2* decreased, respectively, from 1.25, 1.32 and 1.99 in the ALA diet to 0.66, 0.48 and 0.55 in the diets with a mixture of ALA and DHA. Expressions of some other genes coding for transcription factors and enzymes implicated in peroxysomal oxidation and incorporation of PUFA in the phospholipids were affected by the FA composition of the diets, such as 2,4-dienoyl CoA reductase 2 (*DECR2*), which linearly decreased in the liver with dietary DHA supply.

The results of the linear regression analysis showed that the expressions of *FADS2*, *FAS*, *ME* and sterol-regulatory element

Table 4. Effect of dietary fatty acid composition on FAS, ME and G6PDH activities in the liver, subcutaneous adipose tissue (SCAT) and longissimus dorsi (LD) muscle of growing-finishing pigs (n 60)†

Tissue	Enzyme	Diet			SEM	P value contrast <i>n</i> -3	Effect of DHA intake		
		CON	ALA	DHA			P value contrast DHA	Linear regression	Quadratic regression
Liver	FAS	385	352	173	32.79	0.03	<0.01	-0.18***	-
	G6PDH	3277	2898	2577	84.68	<0.01	0.10	-0.45***	-
SCAT	ME	780	855	671	35.72	0.23	0.02	-0.17***	-
	FAS	281	302	201	19.98	0.62	0.07	-0.062†	-
LD	G6PDH	2160	2265	2027	77.33	0.91	0.11	-	-
	ME	5509	5940	4800	250.50	0.78	0.11	-	-
LD	FAS	2.09	1.51	0.59	0.50	0.44	0.97	-	-
	G6PDH	30	27	32	2.59	0.43	0.62	-	-
	ME	575	521	580	23.39	0.76	0.93	-	-

CON, control diet; ALA, diet containing extruded linseed; DHA, diet containing microalgae; contrast *n*-3, diet CON v. other diets; contrast DHA, diets CON and ALA v. diets containing a supply of DHA; FAS, fatty acid synthase; G6PDH, glucose-6-dehydrogenase; ME, malic enzyme; -, non-significant.

*** *P* < 0.001.

† *P* < 0.1.

‡ G6PDH and ME are expressed in nanomoles of NADPH; FAS is expressed in nanomoles of NADP per min and gram per tissue; The slope of the linear regression and the quadratic regression conducted between enzyme activities and total DHA intake (g, during 2 weeks).

binding transcription factor 1 (*SREBP1*) in the liver, respectively, decreased by 0.001, 0.0006, 0.0003 and 0.0005 when 1 supplementary g of DHA was ingested by pigs (*P* < 0.05). The *SREBP1* gene in the LD and glyceronephosphate O-acyltransferase in the SCAT, respectively, decreased by 0.0004 and 0.0001 (*P* < 0.05). In contrast to the enzyme activities, the slope was angled by <1 % for the expression of lipogenesis genes in the liver. However, the results of the quadratic regression showed that the expression of *FADS2* in the liver did not follow a linear decrease but followed an inverse logarithmic curve (*P* = 0.004) (Table 5, Fig. 2). In contrast, *LPL* expression in LD increased by 0.0002 with *n*-3 inclusion in the diet (*P* = 0.03). Finally, the linear regression between DHA intake and the expression of retinoid X receptor α (*RXR\alpha*) in the liver as well as *RXR\alpha* and *DECR2* in the LD was not significant, with the *P*-value being higher than 0.05 (Table 5). Correlations between FAS, ME, G6PDH activities and their gene expressions were low (*ME* and *G6PDH*) or almost non-existent (*FAS*). The correlation between ME activity and its gene expression in the liver was 0.26 (*P* = 0.06), whereas it was 0.27 (*P* < 0.05) for G6PDH and 0.23 (*P* = 0.10) for ME in the SCAT (Table 6).

Discussion

Effect of dietary *n*-3 PUFA on growth performances and lipid deposition in pigs

We hypothesised that feeding pigs with different dietary levels of ALA and DHA will have an impact on enzyme activities and gene expressions involved in lipid metabolism, especially lipogenesis, so that FA composition of the body compartments will be modified. Unlike classical feeding schemes in farms, pigs were housed individually and fed ad libitum in our experiment. This resulted in an average feed intake of 3.1 kg/d, which is 20 % higher than current feeding practices. This feeding method allowed pigs to exhibit the possible effects of ALA and DHA on feed intake and associated lipid metabolism.

We observed that the different levels of PUFA *n*-3 did not change feed intake, growth performances and carcass traits (Table 3), because all diets were formulated to provide the same amount of net energy per kilogram of diet⁽²⁴⁾. We have shown that FA composition of the tissues reflects partly the FA composition of the diets, in agreement with Wood *et al.*⁽²⁵⁾ and Mourou & Hermier⁽²⁶⁾. The FA composition of the three tissues (LD, liver and SCAT) varied according to the FA composition of the diets. The total *n*-3 PUFA content of the liver increased linearly when intake of *n*-3 PUFA increased, whereas a maximum threshold was reached in the LD and a decrease was observed in the SCAT. It was demonstrated that lipogenic enzymes activities could be impacted by different dietary levels of energy⁽²⁷⁾. However, as our diets were isoenergetic, only PUFA uptake was responsible for the inhibition effect of lipogenic activities in the SCAT.

Effect of dietary *n*-3 PUFA on the enzyme activities and gene expressions involved in lipogenesis

Pearson's coefficients between lipogenic enzyme activities and associated gene expressions were very low or almost non-existent,

Table 5. Relative quantity of gene expression involved in lipids metabolism in the liver, subcutaneous adipose tissue (SCAT) and longissimus dorsi (LD) muscle of growing-finishing pigs (arbitrary units)‡

Tissue	Genes	Diet			SEM	P value contrast <i>n</i> -3	P value contrast DHA	Effect of DHA intake	
		CON	ALA	DHA				Linear regression	Quadratic regression
PUFA synthesis									
Liver	<i>FADS2</i>	2.09	1.99	0.71	0.23	<0.01	0.01	- 0.001***	0.000003***
	<i>FAS</i>	1.17	1.32	0.66	0.16	0.09	0.06	- 0.0006*	0.000001†
	<i>G6PDH</i>	1.40	3.05	1.69	0.67	0.99	0.28	-	-
	<i>ME</i>	0.81	1.25	0.75	0.08	0.51	<0.01	- 0.0003*	-
SCAT	<i>FADS2</i>	2.37	2.23	1.84	0.14	0.38	0.08	- 0.0004†	-
	<i>FAS</i>	1.70	1.64	1.51	0.15	0.82	0.72	-	-
	<i>G6PDH</i>	1.21	1.13	0.91	0.09	0.51	0.44	-	-
	<i>ME</i>	1.04	1.48	1.15	0.13	0.14	0.47	-	-
LD	<i>FADS2</i>	1.40	1.59	1.46	0.09	0.93	0.55	-	-
	<i>FAS</i>	0.47	0.33	0.39	0.05	0.95	0.93	-	-
	<i>G6PDH</i>	0.79	0.82	0.80	0.04	0.73	0.69	-	-
	<i>ME</i>	0.75	0.76	0.84	0.05	0.80	0.63	-	-
Peroxisomal oxidation									
Liver	<i>DECR2</i>	1.09	1.23	0.94	0.13	0.42	0.21	- 0.0003†	-
SCAT	<i>DECR2</i>	1.94	1.84	1.84	0.10	0.92	0.96	-	-
LD	<i>DECR2</i>	1.25	1.74	1.32	0.08	0.10	0.04	-	-
Transcription factors and PUFA transport									
Liver	<i>RXRα</i>	1.35	1.81	1.48	0.11	0.08	0.06	-	-
	<i>SREBP1</i>	1.05	1.73	0.87	0.12	0.87	<0.01	- 0.0005*	-
SCAT	<i>LPL</i>	1.29	1.58	1.36	0.11	0.17	0.39	-	-
	<i>RXRα</i>	1.72	1.84	1.73	0.06	0.81	0.57	-	-
	<i>SREBP1</i>	1.61	1.71	1.47	0.08	0.98	0.38	-	-
LD	<i>LPL</i>	0.61	0.63	0.79	0.04	0.05	0.18	0.0002*	- 0.0000006*
	<i>RXRα</i>	1.15	1.42	1.15	0.04	0.43	0.07	-	-
	<i>SREBP1</i>	1.44	1.31	0.85	0.08	0.08	0.02	- 0.0004**	-
Incorporation of PUFA in PL									
Liver	<i>GNPAT</i>	0.95	0.97	0.90	0.04	0.80	0.41	-	-
SCAT	<i>GNPAT</i>	1.13	1.05	0.96	0.04	0.21	0.09	- 0.0001†	-
LD	<i>GNPAT</i>	0.77	0.88	0.83	0.03	0.42	0.51	-	-

CON, control diet; ALA, diet containing extruded linseed; DHA, diet containing microalgae; contrast *n*-3, diet CON v. other diets; contrast DHA, diets CON and ALA v. diets containing a supply of DHA; *FADS2*, fatty acid desaturase 2; *FAS*, fatty acid synthase; *G6PDH*, glucose-6-dehydrogenase; *ME*, malic enzyme; *DECR2*: 2,4-dienoyl CoA reductase 2; *RXRα*, retinoid X receptor alpha; *SREBP1*, sterol-regulatory element binding transcription factor 1; *LPL*, lipoprotein lipase; PL, phospholipid; *GNPAT*, glyceronephosphate O-acyltransferase; -, non-significant.

† P < 0.10; * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001.

‡ Slope of the linear regression and the quadratic regression conducted between enzyme activities and total DHA intake (g, during 2 months).

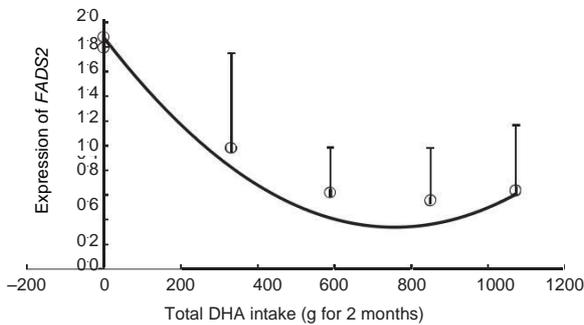


Fig. 2. Expression of the fatty acid desaturase 2 (*FADS2*) gene (arbitrary units) in the liver of growing-finishing pigs according to the six experimental diets. Results are least squares mean values and standard deviations. ○, Quadratic regression between the expression of the *FADS2* gene and the intake of DHA; —, trend line of the quadratic regression.

despite a similar effect of the supply of DHA in the diets (Table 6). As shown in some studies, enzyme activity is not bound with its gene expression^(28–30). Our experiment confirmed the difficulty to highlight a relationship between gene expression and the activity of its protein. This could be explained by the fact that our method to determine enzyme activity estimated a potential of activity and not the true activity of the enzyme in alive animals. Moreover, it is difficult to establish good correlations between gene expressions and enzymes activities for two other reasons. First, there exist others steps between both, which are not taken into consideration in the calculations. Second, the results of enzyme activities between the three tissues varied from 16 to 198, whereas the dispersion of gene expression values varied from 30 to 170 according to the CV, suggesting that a higher number of samples would be required to highlight differences between diets.

The experiment was designed to determine the effects of substituting ALA by DHA in the diets of growing-finishing pigs when they contained high levels of *n-3* PUFA. To account for the direct effects of dietary *n-3* PUFA on lipid metabolism, we also had a CON diet depleted in *n-3* PUFA. In agreement with Guillevic *et al.*⁽⁶⁾, Kouba *et al.*⁽³¹⁾ and Corino *et al.*⁽³²⁾, our study showed that ME, FAS and G6PDH activities in LD muscle of growing-finishing pigs were not affected by diets rich in PUFA *n-3*. In our study and in the study of Guillevic *et al.*⁽⁶⁾, G6PDH activity in the SCAT was also not affected by a supply of PUFA *n-3*. In contrast, in our study, we showed that *n-3* PUFA decreased FAS and G6PDH activities in the liver of pigs, but not ME. The activity of ME decreased linearly in the liver with increasing dose of ALA in the study of Guillevic *et al.*⁽⁶⁾. Enzyme activities in rabbits seem to behave in the same way as in pigs, because ME, FAS and G6PDH activities in the liver decreased with a supply of EL⁽³³⁾. In contrast, the expressions of the genes involved in lipogenesis were not affected in the three tissues by a supply of *n-3* PUFA in our experiment, except a trend for *FAS* to decrease in the liver. This trend is supported by the result of Dannenberger *et al.*⁽³⁴⁾, who showed that *FAS* expression decreased in the liver of pigs with a supply of linseed oil in the diet. According to the experiment conducted on monogastric animals, an increasing dose of *n-3* PUFA in animal diets seems to decrease the activity of enzymes involved in lipogenesis, suggesting that the longer-chain FA decrease their activities in the liver. About the gene

expression, Benitez *et al.*⁽⁹⁾ explained that PUFA down-regulate genes related to lipid synthesis contrary to SFA, because of the longer chain of PUFA than SFA. In our experiment, when we substituted ALA by DHA, we found that FAS and ME activities and their gene expressions in the liver decreased linearly. Moreover, the FAS activity tended to decrease in the SCAT as well with a supply of DHA. According to Clarke⁽³⁵⁾, PUFA *n-3* as EPA or DHA from menhaden fish oil decreased the transcription of the *FAS* gene in the liver, confirming that the activity of FAS and its expression in the liver of our pigs decreased because of a supply of DHA in the diets. This could also be explained by the fact that gene expression is impacted by the length of the carbon chain, the number and location of double bonds of the FA⁽³⁵⁾. This may explain why DHA, which is a longer FA than ALA, has a deeper impact on enzyme activities and gene expressions.

We showed that the activities of the enzymes and the expressions of the genes were impacted by DHA supply mainly in the liver, whereas the effects in other tissues were limited. The increasing dose of DHA in the diet induced the increase in lipid content in the liver, especially PUFA *n-3*, whereas it decreased in the SCAT and reached a threshold in the LD muscle. In addition, in our experiment, the liver contained up to 13 % of DHA of total fat, whereas the SCAT and LD muscle contained <4 % of total fat as DHA. The hepatic DHA was not exported to others tissues because dietary DHA decreases VLDL secretion by the liver⁽³⁶⁾. It was also demonstrated that a supply of DHA could inhibit the maturation of hepatic VLDL of rats⁽³⁷⁾. These observations could also explain that the liver was the tissue in which the lipogenic activity and gene expressions were the most influenced by the amounts of *n-3* FA or DHA in the diets. In contrast, the SCAT was less influenced by the diet composition; however, it is the major site of de novo lipogenesis after weaning⁽³⁸⁾. Our findings therefore suggest that, at whole-animal level, the effects of dietary DHA on lipogenesis were moderated.

Effect of dietary *n-3* PUFA on the gene expressions involved in fatty acid metabolism

In this study, we showed that a DHA supply in the pig diet decreased gene expressions and enzyme activities involved in the hepatic lipogenesis. Other gene expressions involved in long-chain FA synthesis also decreased in tissues with an increasing dose of DHA in the diets, except the *LPL* gene. The *LPL* gene is a target gene of *PPAR* γ and it can hydrolyse the lipoprotein TAG in the blood plasma to release NEFA for muscle uptake⁽³⁹⁾. It is directly involved in the deposition of FA in intramuscular fat. The *LPL* gene is also involved in the catabolism of FA in the LD muscle, and its expression in our experiment increased in this tissue. However, contrary to the *n-3* FA contrast, the contrast with DHA did not reveal a significant difference of the *LPL* gene expression between diets. According to the experiment of Luo *et al.*⁽⁴⁰⁾, *LPL* expression increased with PUFA *n-3* in the muscle of pigs, especially with increasing linseed feeding time, confirming the result of the *n-3* PUFA contrast. Nevertheless, Wang *et al.*⁽⁴¹⁾

Table 6. Correlations between fatty acid synthase (FAS), malic enzyme (ME) and glucose-6-dehydrogenase (G6PDH) activities and their gene expressions in the subcutaneous adipose tissue (SCAT), longissimus dorsi (LD) muscle and liver of growing-finishing pigs

	FAS			ME			G6PDH		
	Liver	SCAT	LD	Liver	SCAT	LD	Liver	SCAT	LD
r	-0.003	0.06	0.12	0.26	0.23	0.13	0.27	-0.03	-0.11
P	0.98	0.66	0.37	0.06	0.10	0.31	0.04	0.81	0.40

r, Pearson's coefficient of correlation.

explained that *LPL* expression increases with C18 : 1, but decreases with C16 : 0. It seems that the increased *LPL* expression in this experiment could be due to the *n*-3 FA content of the diets or to the amount of C18 : 1 of the LD muscle.

At the level of the cell nucleus, we showed that *SREBP1* expression linearly decreased in the liver with a supply of DHA in the diet. *SREBP1* is a transcription factor that binds to the DNA sequence of a sterol-regulatory element. It must be activated by proteolytic cleavage to be able to bind to the nuclear DNA, thereby activating the transcription of lipogenic genes such as FAS, acetyl-CoA carboxylase and stearoyl-CoA desaturase. The result regarding *SREBP1* in the pig liver is in accordance with others studies, which showed that mRNA of *SREBP1* decreased in the liver of pigs with supply of a DHA-rich oil extracted from algae^(42,43), which could also have an impact on the expressions of its target genes. It was also demonstrated that inactivation of *SREBF1* inhibits the synthesis of HDL and VLDL⁽⁴⁴⁾. We can assume that the liver will secrete less HDL and VLDL containing FA, including PUFA, according to the low transfer of DHA from the liver to the other tissues previously mentioned. We also showed that the dietary DHA decreased *SREBF1* expression in the LD muscle, whereas this was not demonstrated in the semimembranosus muscle of fattening pigs receiving fish oil with a high content of DHA⁽⁴⁵⁾. In addition, the *FADS2* gene was also decreased by the dietary FA in our study and is in agreement with other studies^(7,45,46). *FADS2* is a gene encoding Δ 6-desaturases, which makes it possible to transform ALA in the endoplasmic reticulum of cells into C18 : 4*n*-3 and then C24 : 5*n*-3 into C24 : 6*n*-3. The C24 : 6*n*-3 FA is finally transformed into DHA by peroxysomal β -oxidation. One of these two desaturations or both seem to have been down-regulated by the action of DHA in order to regulate the synthesis of this FA in the liver. However, in our experiment, the amount of EPA increased in the liver with the supply of PUFA *n*-3 in the diets, which did not contain EPA. Two hypotheses could explain this observation. First, only the second Δ 6-desaturase involved in PUFA synthesis was impacted by the dietary FA content, allowing the synthesis of EPA and C24 : 5*n*-3, but not C24 : 6*n*-3. Second, EPA can be derived from retroconversion of DHA, when DHA content in the tissue is high, because this possibility was demonstrated in studies on liver of rats⁽⁴⁷⁻⁴⁸⁾. In this case, both Δ 6-desaturases were impacted by the diets, which could explain that PUFA *n*-6 content in our experiment decreased in the liver of pigs with an increased intake of dietary PUFA *n*-3. Indeed, the long-chain PUFA *n*-6 and *n*-3 competes with the Δ 6-desaturase^(12,50). With the decrease in the

expression of *FADS2*, we could also expect to see a decrease in *FADS1* and *ELOVL5*. As *FADS1* and *ELOVL5* were not affected by diets, we can assume that the synthesis of C24 : 5 was potentially feasible. Finally, if both Δ 6-desaturases were impacted by the diet, the synthesis of C24 : 6*n*-3 would decrease. In this case, it could partly explain that, in the peroxisome, the expressions of the genes involved in PUFA oxidation such as acetyl-CoA acyltransferase 1, acyl-CoA oxidase 1, *DECR2*, enoyl-CoA hydratase/3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase, sterol carrier protein 2, *SLC27A1* or *SLC27A4* in the liver of pigs of our study were not increased in order to oxidise C24 : 6*n*-3 into DHA. In contrast, the expression of *RXR α* tended to decrease quadratically in the liver and the LD muscle with increasing dose of dietary DHA. The *RXR α* is a nuclear receptor that mediates the biological effect of retinoid. More precisely, it binds to the *PPAR α* transcription factor and indirectly activates peroxysomal β -oxidation of the FA. As the expression of *RXR α* decreased in the LD muscle, this could explain the plateau of PUFA *n*-3 in this tissue. In the same way, even if the decrease was not linear, the intake of DHA inhibits the expression of *DECR2* in the LD muscle, which encodes for a peroxysomal protein involved in the degradation of unsaturated fatty enoyl-CoA esters having 4 double bonds such as C24 : 6*n*-3 or DHA. However, there was a plateau of EPA, an increase of DHA and no decrease of PUFA *n*-3 as in the SCAT in this tissue. Its means that the inhibition of *DECR2* suppresses the oxidation of the small amount of dietary DHA introduced in the peroxisome, preventing the retroconversion of this dietary DHA into EPA.

Conclusion

In our experiment, we tested the effect of dietary *n*-3 PUFA from EL (mainly ALA) and MA (mainly DHA) on the activities and the expressions of enzyme involved in lipogenesis in the liver, SCAT and LD muscle of growing-finishing pigs. We also tested their effects on the expressions of genes involved in FA metabolism in the same tissues. The gene expressions and the activities of lipogenic enzymes such as malic enzyme, FA synthase and glucose-6-dehydrogenase in the liver decreased with an increasing dose of DHA in the diets. In contrast, gene expressions and enzyme activities of lipogenesis were unaffected by the dietary FA composition in the LD muscle and the SCAT. In the same way, DHA inhibited the expression of a gene involved in FA synthesis – namely, *SREBP1* – in the liver and in the LD muscle. It also inhibited the expression of the gene encoding for the Δ 6-desaturases, that is, *FADS2*, in the liver. Finally, MA decreased

the expression of the *DECR2* gene in the LD muscle, which participates in the degradation of unsaturated fatty enoyl-CoA esters having double bonds in the peroxisome. Thus, the PUFA oxidation in the LD muscle and their synthesis in the liver were limited with the introduction of DHA in the pigs' diet; however, this FA seems to be retroconverted into EPA in this last tissue.

Acknowledgements

The authors acknowledge the technical and temporary staff of INRA Laboratory involved in this experiment. They are gratefully thanked for their skilled assistance.

This work was supported by the National Agricultural Research Institute, but it received no specific grant from any funding agency, commercial or not-for-profit sectors.

A. D. T. formulated the research question, designed the study, carried out the study, analysed the data and wrote the article. E. L. assisted in the correction and developed the questions. J. M. designed the study and also assisted in the correction and developed the questions. A. V. was involved in the laboratory assessments and data analysis. All the authors read and approved the final version of the manuscript. The authors declare that there are no conflicts of interest.

References

- Lebret B & Mourot J (1998) Caractéristiques et qualité des tissus adipeux chez le porc. Facteurs de variation non génétiques (Characteristics and quality of pig adipose tissues. Influence of rearing factors). *INRA Prod Anim* **11**, 131–143.
- Lavialle M & Layé S (2010) Acides gras poly-insaturés (omega 3, omega 6) et fonctionnement du système nerveux central (Polyunsaturated fatty acids (omega 3, omega 6) and brain functions). *Innovations Agronomiques* **10**, 25–42.
- Kouba M & Mourot M (1999) Effect of a high linoleic acid diet on lipogenic enzyme activities and on the composition of the lipid fraction of fat and lean tissues in the pig. *Meat Sci* **52**, 39–45.
- Mourot J, Peiniau P & Mounier A (1994) Effets de l'acide linoléique alimentaire sur l'activité des enzymes de la lipogénèse dans les tissus adipeux chez le porc (Effect of dietary linoleic acid on lipogenesis in adipose tissue of pigs). *Reprod Nutr Dev* **34**, 213–220.
- Waterman RA, Romsos DR, Tsai AC, *et al.* (1975) Influence of dietary sunflower oil and tallow on growth, plasma lipids and lipogenesis in rats, pigs and chicks. *Proc Soc Exp Biol Med* **150**, 347–351.
- Guillevic M, Kouba M & Mourot J (2009) Effect of a linseed diet or a sunflower diet on performances, fatty acid composition, lipogenic enzyme activities and stearoyl-coa-desaturase activity in the pig. *Livestock Sci* **124**, 288–294.
- Duran-Montge P, Theil PK, Lauridsen C, *et al.* (2009) Dietary fat source affects metabolism of fatty acids in pigs as evaluated by altered expression of lipogenic genes in liver and adipose tissues. *Animal* **3**, 535–542.
- Meadus J, Aalhus J, Uttaro B, *et al.* (2011) DHA reduces triglycerides and stimulates fat metabolism in pigs. *Can J Anim Sci* **91**, 475–521.
- Benitez R, Nunez Y, Fernandez A, *et al.* (2015) Effects of dietary fat saturation on fatty acid composition and gene transcription in different tissues of iberian pigs. *Meat Sci* **102**, 59–68.
- Cho HP, Nakamura MT & Clarke SD (1999) Cloning, expression, and fatty acid regulation of the human $\Delta 5$ desaturase. *J Biochem Chem* **274**, 37335–37339.
- Cho HP, Nakamura MT & Clarke SD (1999) Cloning, expression, and nutritional regulation of the mammalian d-6 desaturase. *J Biol Chem* **274**, 471–477.
- Smink W, Gerrits WJ, Gloaguen M, *et al.* (2012) Linoleic and alpha-linolenic acid as precursor and inhibitor for the synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in liver and brain of growing pigs. *Animal* **6**, 262–270.
- Igarashi M, Ma K, Chang L, *et al.* (2007) Dietary n-3 PUFA deprivation for 15 weeks upregulates elongase and desaturase expression in rat liver but not brain. *J Lipid Res* **48**, 2463–2470.
- Sauvant D, Perez JM & Tran G (2004) Tables of Composition and Nutritional Value of Raw Materials for Livestock. Versailles: INRA.
- AFNOR (1982) Animal feed. Determination of water content. In NF V18-109. Paris: AFNOR.
- ISO (2008) ISO 16634-1:2008. Food products - determination of total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of crude protein content. Part 1: Oilseeds and animal feeding stuffs. http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=4638
- ISO (1998) ISO 9831:1998. Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - determination of gross calorific value - bomb calorimeter method. [http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_detail.htm?csnumber=17702](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=17702)
- Folch J, Lees M & Sloane Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* **226**, 497–509.
- Morrison WR & Smith LM (1964) Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol. *J Lipid Res* **5**, 600–608.
- Bazin R & Ferré P (2001) Assays of lipogenic enzymes. *Methods Mol Biol* **155**, 121–127.
- Ballester M, Cordon R & Folch JM (2013) Dag expression: high-throughput gene expression analysis of real-time PCR data using standard curves for relative quantification. *PLOS ONE* **8**, e80385.
- Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, *et al.* (2002) Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol* **3**, 2–12.
- Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* **29**, 2002–2007.
- Quiniou N & Noblet J (2012) Effect of the dietary net energy concentration on feed intake and performance of growing-finishing pigs housed individually. *J Anim Sci* **90**, 4362–4372.
- Wood JD, Enser MB & Macfie HJH (1978) Fatty acid composition of backfat in large white pigs selected for low backfat thickness. *Meat Sci* **2**, 289–296.
- Mourot J & Hermier D (2001) Lipids in monogastric animal meat. *Reprod Nutr Dev* **41**, 109–118.

27. Bee G, Messikommer R & Gebert S (1999) Dietary fats and energy levels differently affect tissue lipogenic enzyme activity in finishing pigs. *Fett/Lipid* **9**, 336–342.
28. Cherfaoui M (2012) La synthèse et/ou la lipoperoxydation des acides gras polyinsaturés à chaîne longue n-3 sont-elles les étapes limitantes de leur dépôt au niveau musculaire chez le bovin? (Are the synthesis and/or lipid peroxidation of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids the limiting steps of their deposition in the muscles of cattle?) PhD Thesis, University of Auvergne
29. Guillevic M, Ezanno H & Mourot J (2008) La nature des acides gras influence-t-elle l'adipoconversion des préadipocytes en culture primaire chez le porcelet ? (Does the nature of fatty acids influences the adipoconversion of preadipocytes in primary culture in piglets ?) *Nutr Clin Metab* **22**, S25-S53
30. Latchman DS (1997) Transcription factors: an overview. *Int J. Biochem. Cell. Biol.* **29**, 1305-1312
31. Kouba M, Enser M, Whittington FM, et al. (2003) Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig. *J Anim Sci* **81**, 1967–1979.
32. Corino C, Musella M & Mourot J (2008) Influence of extruded linseed on growth, carcass composition, and meat quality of slaughtered pigs at one hundred ten and one hundred sixty kilograms of liveweight. *J Anim Sci* **86**, 1850–1860.
33. Benatmane F, Kouba M, Youyou A, et al. (2011) Effect of a linseed diet on lipogenesis, fatty acid composition and stearoyl-coa-desaturase in rabbits. *Animal* **5**, 1993–2000.
34. Dannenberger D, Nuernberg K, Nuernberg G, et al. (2014) Impact of dietary protein level and source of polyunsaturated fatty acids on lipid metabolism-related protein expression and fatty acid concentrations in porcine tissues. *J Agric Food Chem* **62**, 12453–12461.
35. Clarke SD (1993) Regulation of fatty acid synthase gene expression: an approach for reducing fat accumulation. *J Anim Sci* **71**, 1957–1965.
36. Gladine C, Roy NC, Rigaudiere JP, et al. (2012) Increasing intake of long-chain n-3 PUFA enhances lipoperoxydation and modulates hepatic gene expression in a dose-dependent manner. *Br J Nutr* **107**, 1254–1273.
37. Maitin V, Andreo U, Guo L, et al. (2014) Docosahexaenoic acid impairs the maturation of very low density lipoproteins in rat hepatic cells. *J Lipid Res* **55**, 75–84.
38. O'Hea EK & Leveille GA (1969) Significance of adipose tissue and liver as sites of fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis. *Nutr* **99**, 338–344.
39. Goldberg IJ (1996) Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* **37**, 693–707.
40. Luo HF, Wei HK, Huang FR, et al. (2009) The effect of linseed on intramuscular fat content and adipogenesis related genes in skeletal muscle of pigs. *Lipids* **44**, 999–1010.
41. Wang W, Xue W, Jin B, et al. (2013) Candidate gene expression affects intramuscular fat content and fatty acid composition in pigs. *J Appl Genet* **54**, 113–118.
42. Hsu JM, Wang PH, Liu BH, et al. (2004) The effect of dietary docosahexaenoic acid on the expression of porcine lipid metabolism-related genes. *J Anim Sci* **82**, 683–689.
43. Liu BH, Wang YC, Kuo CF, et al. (2005) The effects of docosahexaenoic acid oil and soybean oil on the expression of lipid metabolism related mrna in pigs. *AJAS* **18**, 1451–1456.
44. Guesnet P, Alessandri JM, Astorg P, et al. (2005) Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (agpi) (Physiological functions of polyunsaturated fatty acids). *OCL* **12**, 333–343.
45. Duran-Montge P, Theil PK, Lauridsen C, et al. (2009) Fat metabolism is regulated by altered gene expression of lipogenic enzymes and regulatory factors in liver and adipose tissue but not in semimembranosus muscle of pigs during the fattening period. *Animal* **3**, 1580–1590.
46. Mirshekar R, Boldaji F, Dastar B, et al. (2015) Longer consumption of flaxseed oil enhances n-3 fatty acid content of chicken meat and expression of fads2 gene. *Eur J Lipid Sci Technol* **117**, 810–819.
47. Schlenk H, Gellerman JL & Sand DM (1967) Retroconversion of polyunsaturated fatty acids in vivo by partial degradation and hydrogenation. *Biochem Biophys Acta* **137**, 420–426.
48. Schlenk H, Sand DM & Gellekman JL (1969) Retroconversion of DHA in the rat. *Biochim Biophys Acta* **187**, 201–207.
49. Verdino B, Blank ML, Privett OS, et al. (1964) Metabolism of 4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid in the essential fatty acid deficient rat. *J Nutr* **83**, 234–238.
50. Guillou H, D'Andrea S, Rioux V, et al. (2004) The surprising diversity of delta 6-desaturase substrates. *Biochem Soc Trans* **32**, 86–87.

Effet de doses variables d'ALA et de DHA alimentaires sur la composition en acides gras des lipides neutres et polaires du cœur et du muscle *longissimus dorsi* de porcs

Introduction

Des études antérieures ont montré l'impact du tissu sur sa composition en acides gras (AG) (Bout et Girard 1988a; Girard *et al.* 1988). Deux tissus musculaires ou deux tissus adipeux n'auront pas la même teneur en lipides, ni la même composition en acides gras, du fait de leur rôle respectif. Dans le cas de l'étude présentée ci-après, deux muscles très distincts ont été comparés, à savoir le muscle *longissimus dorsi* (LD) et le cœur de porc. Le rôle de chacun de ces muscles dans l'organisme étant très différent, cela implique des structures appropriées et un métabolisme adapté. Le muscle LD qui se situe entre les vertèbres dorsales et la face postérieure des côtes a pour rôle conjoint à d'autres muscles d'agir comme un extenseur de l'épaule et des membres et de permettre la rotation du buste. C'est un muscle impliqué dans la posture de l'organisme. Physiologiquement, le muscle LD est constitué de fibres à contractions rapides (fibres blanches de type IIa ou IIb) utilisant un mécanisme glycolytique pour fonctionner sous le contrôle volontaire du système nerveux central. Le cœur est un muscle qui diffère du muscle LD par l'importance de son rôle dans l'organisme. Les contractions rapides et régulières des fibres striées cardiaques sont ainsi initiées par le système nerveux autonome et un système propre de contractions sensibles aux stimulations hormonales. Or, des études ont montré l'influence du métabolisme musculaire sur la composition en AG des lipides neutres (triacylglycérols) et polaires (phospholipides) (Muriel *et al.* 2002).

Objectif

La composition en AG des lipides des muscles et donc de la viande peut être modifiée à la fois par la composition lipidique du régime mais également par le métabolisme du tissu considéré. De ce fait, l'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet d'une alimentation riche en AG n-3 sur la composition des lipides neutres et polaires du cœur, choisit pour l'importance de son rôle dans l'organisme et du muscle LD choisit pour l'importance de son utilisation en nutrition humaine, dont les métabolismes respectifs peuvent également influencer la composition en AG.

Matériel

Le matériel et méthodes concernant l'élevage des animaux est explicité en début de partie 2. 100 g de muscle *longissimus dorsi* (LD) (au niveau de la 3^{ème} dernière côte du côté

Tableau 23. Teneur (%) en lipides totaux, neutres et polaires du muscle LD et du cœur

	LD	Cœur	Rsd	P-value
Lipides totaux	1,74	2,43	0,49	<0,001
Lipides neutres	1,33	1,00	0,42	<0,001
Lipides polaires	0,43	1,52	0,30	<0,001

Tableau 24. Répartition (%) des lipides neutres et polaires du muscle LD et du cœur

	LN	LP	Rsd	P-value
LD	75,7	24,3	7,2	<0,001
Cœur	39,6	60,4	8,1	<0,001

droit de la carcasse) et 100 g de cœur au niveau de la pointe du cœur ont été prélevés sur les carcasses. Environ 10 g de chaque échantillon ont été pesés de façon à obtenir un extrait lipidique suffisant pour étudier la composition en AG des lipides totaux, des lipides neutres et des lipides polaires extraits selon la méthode de Folch *et al.* (1957). 15 mg de cet extrait ont été méthylés selon la méthode de (Morrison et Smith 1964) puis analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) pour obtenir la composition en AG des lipides totaux (LT). En revanche, 100 mg ont été utilisés pour séparer les lipides neutres (LN) des lipides polaires (LP) selon la (Juaneda et Rocquelin 1985; Sebedio *et al.* 1986). Les extraits de lipides neutres et polaires ont également été méthylés selon la méthode de (Morrison et Smith 1964) puis analysés par CPG. La composition en AG (mg/100 g de tissu) des lipides totaux du muscle LD et du cœur sont données à titre indicatif en Annexe 2.

Résultats et discussion

Teneurs lipidiques des tissus musculaires

La teneur en LT, LN et LP et la répartition entre LN et LP du cœur et du muscle LD sont données respectivement dans les Tableaux 23 et 24. Le cœur contient 1,4 fois plus de lipides que le muscle LD. Les LT du cœur sont composés de 39,6% de LN et 60,4% de LP, tandis que les LT du muscle LD sont constitués de 75,7% de LN et 24,3% de LP. Ce dernier résultat est légèrement différent de celui trouvé par Enser *et al.* 2000, qui était de 67% de LN et 33% de LP dans le muscle *longissimus lumborum*. Comme le montre le Tableau 24, le muscle LD est donc composé davantage de LN que le cœur et inversement le cœur contient davantage de LP que le muscle LD, les valeurs étant significativement différentes ($P < 0,001$). Cela confirme l'hypothèse selon laquelle les muscles plus riches en fibres glycolytiques, de type IIb ou MyHc2b, qu'en fibres oxydatives comme le muscle LD, sont parallèlement moins riches en LP (Chang *et al.* 2003). Les différences de teneurs en LN et LP peuvent avoir des répercussions sur la structure cellulaire et donc sur le fonctionnement métabolique et anatomique des tissus (Singer et Nicolson 1972). Ces répercussions sont notamment influencées par la composition en AG des LN et LP, d'où l'intérêt d'étudier l'effet du tissu et du régime sur la composition de ces deux fractions lipidiques et de comparer les résultats entre les deux.

Tableau 25. Quantité (mg/100g) en acides gras des lipides neutres et polaires du muscle *longissimus dorsi* (LD)

	COL		GLE		3GLE/ 1MAG		2GLE/ 2MAG		1GLE/ 3MAG		MAG		Rsd	P-value
	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP		
C10:0	1,12 ^a	0,01 ^b	1,12 ^a	0,01 ^b	1,22 ^a	0,00 ^b	1,14 ^a	0,00 ^b	1,17 ^a	0,01 ^b	0,96 ^a	0,00 ^b	0,32	<0,001
C12:0	0,80 ^a	0,01 ^b	0,87 ^a	0,02 ^b	0,84 ^a	0,01 ^b	0,79 ^a	0,01 ^b	0,85 ^a	0,01 ^b	0,67 ^a	0,00 ^b	0,23	<0,001
C14:0	12,90 ^a	0,44 ^b	12,79 ^a	0,30 ^b	13,48 ^a	0,29 ^b	12,88 ^a	0,28 ^b	14,15 ^a	0,37 ^b	10,98 ^a	0,23 ^b	3,59	<0,001
C15:0	0,44 ^{ab}	0,32 ^{ab}	0,47 ^{ab}	0,27 ^{ab}	0,51 ^a	0,30 ^{ab}	0,44 ^{ab}	0,28 ^{ab}	0,48 ^a	0,31 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,19 ^b	0,18	0,001
C16:0	240,87 ^a	39,28 ^b	235,75 ^a	36,03 ^b	250,49 ^a	35,84 ^b	246,21 ^a	32,98 ^b	269,38 ^a	32,80 ^b	209,25 ^a	28,07 ^b	68,11	<0,001
C16:1 n-9	3,04 ^a	0,48 ^b	2,34 ^a	0,32 ^b	2,85 ^a	0,30 ^b	2,62 ^a	0,26 ^b	2,60 ^a	0,26 ^b	2,16 ^a	0,19 ^b	0,82	<0,001
C18:0	111,04 ^a	23,47 ^b	106,34 ^a	20,13 ^b	115,31 ^a	21,77 ^b	114,92 ^a	20,50 ^b	125,54 ^a	17,85 ^b	96,51 ^a	15,41 ^b	33,49	<0,001
C18:1 n-9	459,73 ^a	25,59 ^b	431,35 ^a	17,13 ^b	481,03 ^a	15,69 ^b	465,48 ^a	15,59 ^b	492,32 ^a	15,76 ^b	398,89 ^a	11,98 ^b	120,44	<0,001
C18:2 n-6	60,84	55,60	60,01	54,03	69,06	51,69	55,15	45,98	56,82	41,02	45,30	35,86	28,23	0,39
C18:3 n-6	0,48	0,61	0,37	0,53	0,41	0,50	0,40	0,45	0,40	0,46	0,29	0,40	0,27	0,52
C18:3 n-3	7,29 ^{ab}	1,97 ^{ac}	22,33 ^{de}	6,31 ^{af}	22,91 ^d	5,34 ^{ac}	14,05 ^{bfe}	4,07 ^{ac}	9,70 ^{bfc}	2,53 ^{ac}	4,32 ^{ac}	0,84 ^a	5,57	<0,001
C18:4 n-3	0,93 ^{ab}	0,24 ^a	0,92 ^{ab}	0,14 ^a	1,49 ^{bc}	0,18 ^a	1,99 ^b	0,19 ^a	1,49 ^{bc}	0,17 ^a	0,74 ^{ac}	0,07 ^a	0,79	<0,001
C20:0	1,74 ^a	0,16 ^b	1,85 ^a	0,06 ^b	1,79 ^a	0,08 ^b	1,75 ^a	0,07 ^b	1,97 ^a	0,13 ^b	1,64 ^a	0,29 ^b	0,53	<0,001
C20:1 n-9	12,18 ^a	0,71 ^b	11,49 ^a	0,37 ^b	11,27 ^a	0,38 ^b	9,75 ^a	0,30 ^b	10,50 ^a	0,31 ^b	9,17 ^a	0,18 ^b	3,45	<0,001
C20:3 n-6	1,18	2,26	1,04	1,88	1,34	2,17	1,30	2,37	1,48	2,31	1,40	2,06	1,04	0,02
C20:3 n-3	1,34 ^{abc}	0,43 ^{ab}	4,01 ^d	0,89 ^{ab}	3,97 ^d	0,94 ^{ab}	2,52 ^{cde}	0,71 ^{ab}	1,79 ^{ae}	0,48 ^{ab}	0,61 ^{ab}	0,22 ^b	0,94	<0,001
C20:4 n-6	5,52 ^a	17,25 ^b	3,88 ^a	11,85 ^{ab}	4,55 ^a	13,52 ^{ab}	4,12 ^a	12,99 ^{ab}	4,38 ^a	12,28 ^{ab}	4,17 ^a	12,41 ^{ab}	6,67	<0,001
C20:4 n-3	0,07 ^a	0,28 ^{ab}	0,41 ^{ab}	0,30 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,60 ^b	0,25 ^{ab}	0,66 ^b	0,31 ^{ab}	0,50 ^{ab}	0,40 ^{ab}	0,34 ^{ab}	0,34	0,02
C20:5 n-3	1,01 ^a	2,16 ^{ab}	2,56 ^{ab}	5,71 ^b	2,91 ^{ab}	5,94 ^b	2,70 ^{ab}	5,50 ^b	2,67 ^{ab}	5,40 ^b	2,64 ^{ab}	5,68 ^b	2,60	<0,001
C22:4 n-6	1,29 ^{ab}	2,14 ^b	0,88 ^a	1,08 ^a	0,77 ^a	0,73 ^a	0,69 ^a	0,58 ^a	0,94 ^a	0,42 ^a	0,69 ^a	0,35 ^a	0,63	<0,001
C22:5 n-6	0,15 ^a	0,36 ^{ab}	0,50 ^{ac}	0,56 ^{ac}	1,50 ^{abcd}	1,50 ^{abcd}	2,07 ^{bcd}	2,06 ^{bcd}	2,98 ^d	2,04 ^{acd}	3,27 ^d	2,19 ^{bc}	1,22	<0,001
C22:5 n-3	2,19 ^{ab}	3,47 ^{ab}	3,32 ^{ab}	5,00 ^a	3,14 ^{ab}	3,62 ^{ab}	2,49 ^{ab}	2,60 ^{ab}	2,57 ^{ab}	2,12 ^{ab}	2,24 ^{ab}	1,46 ^b	1,92	0,02
C22:6 n-3	1,53 ^a	1,66 ^a	2,27 ^{ab}	2,21 ^{ab}	6,40 ^{abc}	6,66 ^{abc}	9,14 ^{bc}	9,32 ^{bc}	11,14 ^c	10,05 ^c	13,57 ^c	10,84 ^c	4,65	<0,001
AGS	368,90 ^a	63,68 ^b	359,20 ^a	56,81 ^b	383,64 ^a	58,29 ^b	378,13 ^a	54,12 ^b	413,55 ^a	51,49 ^b	320,39 ^a	44,19 ^b	105,55	<0,001
AGMI	550,27 ^a	33,95 ^b	519,87 ^a	23,11 ^b	578,16 ^a	21,45 ^b	555,19 ^a	20,85 ^b	590,29 ^a	21,26 ^b	476,65 ^a	16,28 ^b	146,10	<0,001
AGPI	88,56	89,69	106,88	91,56	125,04	94,31	101,27	88,43	101,17	80,76	83,78	73,56	50,63	0,73
n-6	70,92	78,23	68,11	69,93	79,22	70,11	65,21	64,44	68,61	58,51	56,30	53,28	36,92	0,92
n-3	14,37	10,21	35,81	20,57	41,18	23,28	33,13	23,04	29,67	21,25	23,71	19,46	13,86	<0,001
n-6/n-3	4,93 ^a	7,54 ^b	2,01 ^c	3,43 ^d	1,99 ^c	3,07 ^{de}	1,99 ^c	2,83 ^{df}	2,31 ^{cf}	2,76 ^{df}	2,53 ^{cef}	2,75 ^{df}	0,43	<0,001

Comparaison de la composition en acides gras des lipides neutres et polaires dans le muscle LD

Les quantités en mg d'AG pour 100g de tissu des LN et LP du muscle LD sont données dans le Tableau 25. Ce tableau montre que quel que soit le régime, les LN du muscle LD contiennent davantage d'acides gras saturés (AGS) individuels ou totaux que les LP. Les LN contiennent respectivement 30, 7 et 5 fois plus de C14:0, C16:0 et C18:0 que les LP. De la même façon, les LN du muscle LD sont davantage pourvu en acides gras monoinsaturés (AGMI) que les LP. Ils contiennent en outre environ 10, 23 et 33 fois plus de C16:1, C18:1 et C20:1 respectivement que les LP. Ces résultats sont accord avec ceux de Óvilo *et al.* 2014. Dans le muscle, les LN principalement constitués de triacylglycérols, sont le lieu de stockage des lipides comme source d'énergie (Högberg *et al.* 2003). Les LN présentent les mêmes quantités en acides gras polyinsaturés totaux (AGPI) que les LP, avec toutefois des différences en AGPI n-3 et n-6 individuels. Les LN du muscle LD contiennent en effet plus de C18:3 n-3 et de C20:3 n-3 que les LP. A contrario, les LP contiennent plus de C20:4 n-6 et C20:5 n-3 que les LN et cela quel que soit les régimes. Enfin, des différences non significatives sont également observées pour le C18:2 n-6, dont la quantité est supérieure dans les LN, ainsi que pour le C20:3 n-6, dont les quantités sont supérieures dans les LP. Ces résultats sont accord avec ceux de Wood *et al.* 2004. Selon eux, les LP musculaires contiennent plus d'AGPI (excepté pour le C18:3 n-3) que les LN, avec selon Warnants *et al.* 1999, une plus forte proportion d'AGPI n-6. Ces résultats confirment également les observations de Kriketos *et al.* 1995. Des quantités plus fortes de C20:4 n-6, mais moins fortes de C18:2 n-6 dans les LP mettent en avant les phénomènes d'élongation et de désaturation du C18:2 n-6. D'après ces auteurs, ces phénomènes sont augmentés dans les muscles avec une plus forte proportion de fibres glycolytiques de type IIb, comme le muscle LD. La plus forte quantité de C20:3 n-6 dans les LP tend à renforcer cette hypothèse. Cependant, il est possible d'envisager que les désaturations du C18:2 n-6 sont en compétition avec celles du C18:3 n-3 dans la mesure où ses quantités sont plus faibles dans les LP alors que celles de C20:5 n-3 sont plus fortes dans les LP que dans les LN. Des effets de compétitions pour les désaturases entre les familles d'AGPI n-3 et n-6 ont en effet été mis en évidence (de Antueno *et al.* 2001). Toutefois, la mise en évidence de phénomènes de désaturation et d'élongations au niveau musculaires par l'étude des quantités ou des teneurs en AG des tissus est à relativiser, dans la mesure où les dosages d'activités des désaturases et

Tableau 26. Quantité (mg/100g) en acides gras des lipides neutres et polaires du cœur

	COL		GLE		3GLE/ 1MAG		2GLE/ 2MAG		1GLE/ 3MAG		MAG		Rsd	P-value
	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP	LN	LP		
C10:0	0,63 ^{abc}	0,10 ^{ade}	0,59 ^{abcf}	0,16 ^{abde}	0,68 ^{bc}	0,16 ^{abde}	0,70 ^c	0,00 ^d	0,73 ^c	0,06 ^{df}	0,061 ^{ce}	0,00 ^d	0,33	<0,001
C12:0	0,46 ^{ab}	0,08 ^{ac}	0,45 ^{ab}	0,12 ^{acd}	0,55 ^b	0,11 ^{acd}	0,52 ^b	0,00 ^c	0,56 ^b	0,07 ^{ac}	0,49 ^{bd}	0,00 ^c	0,25	<0,001
C14:0	6,09 ^{abd}	1,92 ^{ad}	5,97 ^{abd}	2,20 ^{acd}	7,81 ^{bce}	2,26 ^{acd}	7,28 ^{abe}	0,82 ^d	8,24 ^b	1,19 ^{df}	6,68 ^{abef}	0,85 ^d	3,61	<0,001
C15:0	0,63 ^a	1,13 ^{ab}	0,73 ^a	1,17 ^{ab}	0,79 ^a	1,39 ^b	0,78 ^a	1,11 ^{ab}	0,85 ^a	1,17 ^{ab}	0,70 ^a	1,02 ^{ab}	0,34	<0,001
C16:0	135,79	138,92	132,28	129,05	165,44	153,28	156,80	108,93	174,84	111,66	140,62	108,18	72,66	0,57
C16:1 n-9	3,21 ^a	1,16 ^{bcd}	2,63 ^{ab}	1,22 ^{bcd}	3,00 ^{ad}	0,94 ^{bcd}	2,91 ^{ad}	0,46 ^c	3,02 ^{ae}	0,53 ^c	2,62 ^{adf}	0,44 ^c	1,19	<0,001
C18:0	88,71	126,41	89,08	127,55	107,57	136,68	109,30	97,56	119,96	101,31	97,52	88,30	48,49	0,35
C18:1 n-9	235,07	137,16	214,32	132,22	256,56	141,58	248,10	87,42	272,85	90,92	221,99	91,27	121,69	<0,001
C18:2 n-6	131,18 ^a	258,46 ^b	129,00 ^a	257,37 ^{bc}	129,89 ^a	278,56 ^b	131,49 ^a	213,28 ^{bc}	125,17 ^a	219,11 ^{bc}	110,08 ^a	180,10 ^{ac}	48,90	<0,001
C18:3 n-6	0,69 ^a	0,72 ^a	0,62 ^a	1,11 ^{bc}	0,64 ^a	1,17 ^b	0,56 ^a	0,78 ^{ac}	0,70 ^a	0,71 ^a	0,62 ^a	0,47 ^a	0,25	<0,001
C18:3 n-3	10,00 ^{ab}	8,24 ^a	39,93 ^c	31,77 ^{cd}	34,91 ^{ce}	27,82 ^{bc}	25,91 ^{bc}	15,17 ^{abd}	21,03 ^{abde}	12,07 ^{ab}	6,31 ^a	3,65 ^a	11,25	<0,001
C18:4 n-3	0,74	0,79	0,95	0,84	0,99	0,69	0,86	0,54	1,01	0,56	0,71	0,44	0,41	0,05
C20:0	1,16 ^{ab}	0,77 ^{ab}	1,23 ^{ab}	0,70 ^{ab}	1,45 ^{ab}	0,68 ^{ab}	1,29 ^{ab}	0,39 ^a	1,61 ^b	0,46 ^a	1,25 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,68	<0,001
C20:1 n-9	6,40 ^a	2,93 ^{ab}	5,12 ^b	2,21 ^{ab}	6,19 ^a	2,13 ^{ab}	5,58 ^{ac}	0,72 ^b	6,16 ^a	1,02 ^{bc}	5,09 ^{ab}	0,68 ^{bc}	3,10	<0,001
C20:3 n-6	3,68 ^{ab}	5,98 ^{cd}	3,11 ^a	5,64 ^{bcd}	3,91 ^{ab}	7,09 ^c	4,70 ^{ad}	6,14 ^{cd}	4,78 ^{ad}	6,52 ^{cd}	5,16 ^{ac}	6,43 ^{cd}	1,27	<0,001
C20:3 n-3	1,81 ^{ab}	1,88 ^{ab}	5,94 ^c	5,52 ^{cd}	5,94 ^c	5,39 ^{cd}	4,71 ^{bcd}	3,24 ^{ac}	3,81 ^{ac}	2,78 ^{ad}	1,47 ^a	1,31 ^a	1,86	<0,001
C20:4 n-6	46,51 ^{ab}	98,08 ^c	25,83 ^d	62,39 ^{ae}	26,91 ^d	79,01 ^f	33,37 ^{bd}	70,36 ^{ef}	28,93 ^d	73,49 ^{ef}	39,01 ^{bd}	85,81 ^{cf}	10,65	<0,001
C20:4 n-3	0,11 ^a	0,12 ^a	0,81 ^{bc}	0,52 ^{acd}	1,05 ^{bde}	0,54 ^{acef}	1,07 ^{bf}	0,44 ^{ac}	1,11 ^b	0,38 ^{ac}	0,98 ^{adf}	0,16 ^a	0,35	<0,001
C20:5 n-3	5,97 ^a	8,63 ^a	17,79 ^b	30,85 ^c	16,86 ^b	33,21 ^c	18,14 ^b	26,92 ^{cd}	16,70 ^b	29,01 ^c	19,37 ^{bd}	30,34 ^c	4,96	<0,001
C22:4 n-6	3,03 ^a	4,43 ^b	1,44 ^c	1,85 ^c	1,79 ^c	1,80 ^c	1,63 ^c	1,08 ^c	1,76 ^c	1,11 ^c	1,51 ^c	0,93 ^c	0,69	<0,001
C22:5 n-6	0,56 ^a	1,33 ^{ab}	0,06 ^a	0,20 ^a	4,39 ^{bc}	8,86 ^d	6,67 ^{cd}	9,43 ^d	7,50 ^{cd}	9,79 ^d	9,60 ^d	9,96 ^d	2,11	<0,001
C22:5 n-3	9,78 ^{abcd}	11,00 ^{abc}	14,14 ^{acf}	18,65 ^e	9,39 ^{abcd}	12,49 ^{bf}	8,25 ^{bcd}	7,35 ^{cdg}	8,36 ^{bg}	7,76 ^{bg}	6,78 ^{cg}	5,38 ^{dg}	3,25	<0,001
C22:6 n-3	4,47 ^a	5,69 ^a	3,84 ^a	5,08 ^a	20,51 ^b	28,11 ^{bc}	31,93 ^{bcd}	32,46 ^{bcd}	33,62 ^{bcd}	35,47 ^{cd}	44,42 ^d	42,34 ^d	8,64	<0,001
AGS	233,46	269,49	230,33	261,29	284,29	294,72	276,67	209,09	306,79	216,19	247,96	198,70	125,84	0,68
AGMI	275,85	181,91	248,42	168,69	299,78	181,17	288,95	115,21	315,97	120,53	259,39	117,99	139,33	0,003
AGPI	223,61 ^a	410,30 ^b	248,29 ^{ac}	426,98 ^b	262,79 ^{acd}	490,07 ^b	274,56 ^{acde}	391,12 ^{bd}	259,91 ^{ac}	402,81 ^{be}	250,97 ^{ac}	371,29 ^{bc}	83,51	<0,001
n-6	186,16 ^a	369,11 ^b	160,45 ^a	328,68 ^b	168,06 ^a	376,62 ^b	178,89 ^a	301,09 ^b	169,36 ^a	310,73 ^b	166,47 ^a	283,70 ^b	58,77	<0,001
n-3	32,88 ^a	36,36 ^a	83,39 ^b	93,24 ^b	89,68 ^b	108,26 ^b	90,87 ^b	86,11 ^b	85,65 ^b	88,03 ^b	80,03 ^b	83,62 ^b	24,52	<0,001
n-6/n-3	5,66 ^a	10,28 ^b	1,92 ^c	3,68 ^d	1,89 ^c	3,58 ^d	1,99 ^c	3,51 ^d	1,94 ^c	3,54 ^d	2,10 ^c	3,41 ^d	0,42	<0,001

des élongases n'ont pas été réalisés. Il est envisageable de penser que les AGPI du muscle ont été captés dans le sang après avoir été remaniés au niveau hépatique.

Comparaison de la composition en acides gras des lipides neutres et polaires dans le cœur

Le Tableau 26 présente les quantités (mg pour 100 g de tissu) d'AG des LN et LP du cœur. Il montre qu'il n'y a pas de différence significative dans les quantités d'AGS totaux entre les LN et les LP du cœur et cela malgré des différences pour le C10:0, le C12:0, le C14:0 et le C20:0 dont les quantités sont plus importantes dans les LN quel que soit le régime. Les quantités d'AGMI individuelles ou totales peuvent être significativement différentes entre les LN et les LP ($P < 0,003$). Ces derniers contiennent moins de C16:1, de C18:1 et de C20:1 que les LN. Ces résultats sont concordants avec ceux trouvés dans le muscle LD. En revanche, les LP du cœur sont deux fois plus riches en AGPI que les LN. Cette différence est principalement due aux AGPI n-6 (C18:2, C20:3, C20:4, C22:5) et dans une moindre mesure aux AGPI n-3 (C20:5 et C22:6). Les quantités de C18:3 n-3 et de C20:3 n-3 sont plus fortes dans les LN.

Comparaison entre les muscles de la composition en acides gras des lipides neutres et polaires

La composition en AG (% des acides gras totaux, AGT) des LN du muscle LD et du cœur est comparée dans le Tableau 27. Ce tableau montre que les teneurs en AGS et AGMI sont plus élevées dans les LN du muscle LD que dans ceux du cœur. En effet, les LN du cœur contiennent environ 32% d'AGS et 34% AGMI contre 36 et 53% respectivement pour le muscle LD (proportionnellement aux AGT). Ces différences sont dues essentiellement au C16:0 et au C18:1 dont les teneurs sont plus fortes dans le muscle LD. A l'inverse, les LN du cœur sont davantage pourvus en AGPI (34% des AGT) que le muscle LD (10% des AGT), et cela notamment grâce au C18:2 n-6, C20:4 n-6, C18:3 n-3, C20:5 n-3 et C22:6 n-3. Ces résultats sont vrais quel que soit les régimes. Les LN du muscle LD sont donc davantage monoinsaturés alors que ceux du cœur sont davantage polyinsaturés du fait d'échanges cellulaires plus importants dans le cœur.

La composition en AG (% des AGT) des LP du muscle LD et du cœur est comparée dans le Tableau 28. Ce tableau montre que la teneur en AGS est supérieure dans les LP du muscle LD (33% vs 30% dans le cœur) ($P < 0,001$). A l'inverse, la teneur en AGMI est plus élevée dans les LP du cœur (environ 17%) que du muscle LD (environ 13%) ($P < 0,001$). Ces résultats principalement dus au C16:0 et au C18:1, sont vrais quel que soit les régimes. En

Tableau 27. Teneur des acides gras (% des acides gras totaux) des lipides neutres du cœur (C) et du muscle *longissimus dorsi* (LD)

Lipides neutres	COL		GLE		3GLE/1MAG		2GLE/2MAG		1GLE/3MAG		MAG		Rsd	P-value		
	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C		Régime	Tissu	Int
C12:0	0,08 ^a	0,06 ^b	0,09 ^a	0,06 ^b	0,08 ^a	0,06 ^b	0,07 ^a	0,06 ^b	0,08 ^a	0,06 ^b	0,07 ^a	0,06 ^b	0,01	0,09	<0,001	0,18
C14:0	1,29 ^a	0,80 ^b	1,29 ^a	0,82 ^b	1,24 ^{ba}	0,87 ^b	1,23 ^a	0,81 ^b	1,28 ^a	0,89 ^b	1,24 ^a	0,83 ^b	0,11	0,63	<0,001	0,45
C15:0	0,04 ^a	0,09 ^b	0,05 ^a	0,10 ^b	0,05 ^a	0,10 ^b	0,04 ^a	0,10 ^b	0,04 ^a	0,10 ^b	0,04 ^a	0,09 ^b	0,01	0,53	<0,001	0,94
C16:0	23,99 ^a	18,00 ^b	23,82 ^a	18,11 ^b	23,18 ^a	18,98 ^b	23,56 ^a	17,92 ^b	24,40 ^a	19,31 ^b	23,69 ^a	17,91 ^b	1,46	0,19	<0,001	0,43
C16:1 n-9	0,30 ^{ab}	0,44 ^c	0,24 ^a	0,37 ^{bc}	0,26 ^a	0,36 ^{bc}	0,26 ^{ad}	0,35 ^b	0,23 ^a	0,34 ^{bd}	0,24 ^a	0,34 ^{bd}	0,05	<0,001	<0,001	0,57
C18:0	10,98 ^{ac}	11,87 ^{abc}	10,69 ^{ad}	12,19 ^{abc}	10,72 ^a	12,53 ^{bcd}	11,15 ^{ac}	12,70 ^{bc}	11,34 ^{ac}	13,30 ^b	10,93 ^a	12,60 ^{bc}	1,13	0,13	<0,001	0,76
C18:1 n-9	45,64 ^a	30,89 ^b	43,83 ^a	29,12 ^b	44,38 ^a	28,77 ^b	44,99 ^a	28,00 ^b	44,67 ^a	29,63 ^b	45,51 ^a	28,13 ^b	3,09	0,46	<0,001	0,63
C18:2 n-6	5,93 ^a	18,78 ^b	6,16 ^a	17,94 ^{bc}	6,24 ^a	16,43 ^{bc}	5,61 ^a	16,78 ^{bc}	5,04 ^a	14,55 ^c	5,06 ^a	15,36 ^{bc}	2,20	0,002	<0,001	0,20
C18:3 n-6	0,05 ^a	0,10 ^b	0,04 ^a	0,09 ^b	0,04 ^a	0,08 ^b	0,04 ^a	0,08 ^b	0,03 ^a	0,08 ^b	0,03 ^a	0,09 ^b	0,02	0,03	<0,001	0,53
C18:3 n-3	0,69 ^{ab}	1,39 ^{acd}	2,30 ^{ef}	5,35 ^g	1,99 ^{ce}	4,26 ^h	1,41 ^{ac}	3,11 ^f	0,86 ^{ab}	2,28 ^e	0,47 ^b	0,82 ^{abd}	0,52	<0,001	<0,001	<0,001
C20:0	0,17	0,15	0,19	0,16	0,17	0,16	0,17	0,15	0,18	0,18	0,18	0,16	0,03	0,22	0,007	0,91
C20:1 n-9	1,18 ^a	0,83 ^{bcd}	1,16 ^a	0,71 ^{defg}	1,01 ^{ac}	0,71 ^{bde}	0,92 ^{aceg}	0,63 ^{dffh}	0,97 ^{abg}	0,71 ^{bdgh}	1,05 ^{ac}	0,65 ^{df}	0,17	0,001	<0,001	0,54
C20:3 n-6	0,12 ^a	0,55 ^{bc}	0,11 ^a	0,44 ^b	0,12 ^a	0,50 ^{bc}	0,13 ^a	0,61 ^{cd}	0,13 ^a	0,60 ^{cd}	0,16 ^a	0,73 ^d	0,10	<0,001	<0,001	0,006
C20:3 n-3	0,13 ^{ab}	0,24 ^{ac}	0,42 ^{cg}	0,82 ^d	0,35 ^{ceg}	0,73 ^d	0,25 ^{ae}	0,57 ^f	0,16 ^{ab}	0,43 ^{fg}	0,07 ^b	0,20 ^{ab}	0,09	<0,001	<0,001	<0,001
C20:4 n-6	0,54 ^a	7,13 ^b	0,39 ^a	3,68 ^c	0,40 ^a	3,68 ^c	0,40 ^a	4,59 ^c	0,39 ^a	3,89 ^c	0,47 ^a	5,66 ^{bc}	1,27	<0,001	<0,001	<0,001
C20:4 n-3	0,01 ^a	0,02 ^a	0,05 ^a	0,11 ^b	0,03 ^a	0,13 ^b	0,02 ^a	0,13 ^b	0,02 ^a	0,13 ^b	0,04 ^a	0,13 ^b	0,02	<0,001	<0,001	<0,001
C20:5 n-3	0,08 ^a	0,91 ^a	0,26 ^a	2,58 ^b	0,27 ^a	2,29 ^b	0,27 ^a	2,48 ^b	0,24 ^a	2,23 ^b	0,29 ^a	2,80 ^b	0,61	<0,001	<0,001	<0,001
C22:4 n-6	0,13 ^a	0,44 ^b	0,09 ^{ac}	0,20 ^d	0,06 ^c	0,21 ^d	0,07 ^{ac}	0,19 ^d	0,09 ^{ac}	0,21 ^d	0,08 ^{ac}	0,20 ^d	0,04	<0,001	<0,001	<0,001
C22:5 n-6	0,03 ^a	0,08 ^a	0,05 ^a	0,01 ^a	0,15 ^a	0,54 ^b	0,21 ^a	0,87 ^c	0,27 ^a	0,95 ^c	0,37 ^b	1,33 ^d	0,16	<0,001	<0,001	<0,001
C22:5 n-3	0,22 ^a	1,48 ^b	0,34 ^a	1,99 ^c	0,29 ^a	1,22 ^{bd}	0,24 ^a	1,06 ^{bd}	0,23 ^a	1,02 ^d	0,25 ^a	0,95 ^d	0,28	<0,001	<0,001	<0,001
C22:6 n-3	0,15 ^a	0,67 ^{ab}	0,21 ^a	0,56 ^{ab}	0,60 ^{ab}	2,62 ^c	0,89 ^{ab}	4,20 ^d	1,01 ^{ab}	4,42 ^d	1,52 ^{cb}	6,21 ^e	0,80	<0,001	<0,001	<0,001
AGS	36,67 ^{ab}	31,06 ^c	36,24 ^{ab}	31,53 ^c	35,54 ^{ab}	32,78 ^{ac}	36,34 ^{ab}	31,81 ^c	37,42 ^b	33,93 ^{bc}	36,26 ^{ab}	31,75 ^c	2,45	0,17	<0,001	0,56
AGMI	54,68 ^a	36,37 ^b	52,81 ^a	33,89 ^b	53,17 ^a	33,73 ^b	53,45 ^a	32,78 ^b	53,56 ^a	34,53 ^b	54,26 ^a	33,03 ^b	3,35	0,27	<0,001	0,74
AGPI	8,65 ^a	32,58 ^b	10,95 ^a	34,58 ^b	11,29 ^a	33,49 ^b	10,21 ^a	35,41 ^b	9,02 ^a	31,55 ^b	9,48 ^a	35,23 ^b	5,02	0,44	<0,001	0,86
n-6	6,94 ^a	27,15 ^b	6,98 ^a	22,41 ^{bc}	7,16 ^a	21,50 ^{bc}	6,60 ^a	23,16 ^{bc}	6,09 ^a	20,34 ^c	6,29 ^a	23,43 ^{bc}	3,49	0,04	<0,001	0,09
n-3	1,38 ^a	4,81 ^b	3,67 ^{ab}	11,55 ^c	3,64 ^{ab}	11,38 ^c	3,31 ^{ab}	11,66 ^c	2,66 ^{ab}	10,63 ^c	2,73 ^{ab}	11,20 ^c	1,65	<0,001	<0,001	<0,001
n-6/n-3	5,05 ^a	5,66 ^b	2,01 ^c	1,96 ^c	1,99 ^c	1,89 ^c	1,99 ^c	1,99 ^c	2,31 ^c	1,94 ^c	2,32 ^c	2,10 ^c	0,31	<0,001	0,68	<0,001

revanche, aucune différence significative de teneur en AGPI des LP n'est mise en évidence entre le muscle LD et le cœur et cela malgré des différences entre les teneurs en AGPI n-6 et n-3. Numériquement, les LP du cœur contiennent plus d'AGPI n-6 totaux (42% des AG totaux) et moins d'AGPI n-3 totaux (10% des AGT) que le muscle LD (40% et 12% des AGT respectivement) quel que soit les régimes. Les différences de teneur, entre les deux tissus, des trois catégories d'AG (AGS, AGMI et AGPI) des LP sont donc moins importantes que celles des LN.

Effet de l'alimentation sur la composition en acides gras des lipides neutres et polaires

Les régimes n'ont pas eu d'effet sur la composition en AGS, AGMI et AGPI des LN du cœur et du LD ($P > 0,10$). En revanche, l'ajout de graines de lin et/ou de microalgues dans les régimes a eu pour conséquence de diminuer la teneur en AGPI n-6 des LN du cœur, dû au C18:2 n-6 et au C20:4 n-6 et d'augmenter la teneur en AGPI n-3 totaux dans les LN des deux tissus ($P < 0,05$). L'apport de microalgues dans les régimes a également eu pour conséquence d'augmenter la teneur en C22:5 n-6 des LN des deux tissus ($P < 0,001$). Ces résultats sont en accord avec ceux de Enser *et al.* 2000, qui ont montré que l'apport de graines de lin concassées dans les régimes avait un effet mineur sur la composition en AG des LN du muscle *longissimus lumborum* malgré une diminution de la teneur (% des AGT) en C18:2 n-6 et une augmentation en C18:3 n-3. Contrairement au cœur, notre étude ne met pas évidence de diminution du C18:2 n-6 des LN du muscle LD avec l'apport de graines de lin extrudées. Seule l'augmentation des doses de microalgues dans les régimes semble avoir cet effet sur cet AG dans le muscle LD ainsi que sur la teneur en C22:5 n-6 des LN des deux tissus. La richesse en C22:5 n-6 des microalgues (14% des lipides) explique l'augmentation de cet AG à la fois dans les LN, mais également dans les LP.

La teneur en AGS des LP des deux tissus n'a pas été modifiée par les régimes. En revanche, les teneurs en AGMI, C16:1 et C18:1 ont été diminuées dans les LP des deux tissus, tandis que la teneur en AGPI a été augmentée de quatre points avec les régimes expérimentaux par rapport au régime colza. Cette augmentation est due à une hausse de plus de 50% des AGPI n-3 dans les LP des deux tissus suite à une alimentation aux graines de lin et microalgues. Le régime à base de graines de lin contenant 29% de C18:3 n-3, a en effet permis de passer de 1,5% de C18:3 n-3 en moyenne entre les deux tissus (régime COL) à 3,7%. L'effet concernant le C22:6 n-3 fut plus marqué puisque la teneur moyenne entre les deux tissus issus du régime COL est passée de 0,8% à 7,2% avec 19,9% de DHA dans le

Tableau 28. Teneur des acides gras (% des acides gras totaux) des lipides polaires du cœur (C) et du muscle *longissimus dorsi* (LD)

Lipides polaires	COL		GLE		3GLE/1MAG		2GLE/2MAG		1GLE/3MAG		MAG		Rsd	P-value		
	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C	LD	C		Régime	Tissu	Int
C14:0	0,22	0,15	0,17	0,18	0,17	0,16	0,20	0,12	0,24	0,15	0,18	0,12	0,11	0,78	0,01	0,65
C15:0	0,17 ^{ab}	0,13 ^a	0,16 ^{ab}	0,15 ^{ab}	0,18 ^{ab}	0,15 ^{ab}	0,17 ^{ab}	0,16 ^{ab}	0,20 ^b	0,16 ^{ab}	0,15 ^{ab}	0,15 ^{ab}	0,04	0,15	0,001	0,48
C16:0	21,12 ^a	15,56 ^b	20,76 ^a	14,66 ^b	20,35 ^a	15,39 ^b	20,66 ^a	15,28 ^b	21,34 ^a	15,09 ^b	20,98 ^a	15,71 ^b	1,47	0,67	<0,001	0,72
C16:1 n-9	0,27 ^a	0,11 ^{bc}	0,19 ^d	0,11 ^{bc}	0,17 ^d	0,08 ^c	0,17 ^{bd}	0,06 ^c	0,16 ^{bd}	0,07 ^c	0,14 ^{bd}	0,06 ^c	0,04	<0,001	<0,001	0,01
C18:0	12,24 ^{ab}	14,64 ^{cd}	11,47 ^a	15,15 ^c	12,48 ^{ae}	14,26 ^{cde}	11,91 ^{ab}	13,69 ^{bcd}	11,29 ^a	13,72 ^{cde}	11,31 ^a	12,83 ^{ad}	1,20	0,002	<0,001	0,07
C18:1 n-9	13,93 ^a	13,66 ^a	10,13 ^{ab}	13,48 ^a	8,98 ^{bc}	12,80 ^{ac}	10,02 ^{ac}	12,19 ^{ac}	10,16 ^{ac}	12,25 ^{ac}	8,93 ^{bc}	13,30 ^{ac}	2,86	0,02	<0,001	0,15
C18:2 n-6	29,55 ^{ab}	31,58 ^{ac}	31,79 ^{ac}	31,48 ^{acd}	30,15 ^{ab}	30,38 ^{ae}	27,59 ^{bde}	29,73 ^{bce}	26,97 ^{be}	29,54 ^{bce}	26,67 ^{be}	26,21 ^b	2,58	<0,001	0,03	0,24
C18:3 n-6	0,34 ^a	0,09 ^{bc}	0,30 ^a	0,14 ^b	0,29 ^a	0,13 ^b	0,28 ^a	0,11 ^{bc}	0,30 ^a	0,09 ^{bc}	0,30 ^a	0,07 ^c	0,04	0,03	<0,001	<0,001
C18:3 n-3	1,95 ^{ab}	0,94 ^{ac}	3,86 ^d	3,54 ^d	3,14 ^{de}	2,81 ^{ef}	2,28 ^{fg}	2,11 ^g	1,69 ^{bg}	1,63 ^{bcg}	0,61 ^a	0,53 ^a	0,46	<0,001	0,02	0,90
C20:0	0,09	0,07	0,02	0,07	0,03	0,07	0,05	0,05	0,07	0,06	0,28	0,05	0,17	0,21	0,35	0,11
C20:1 n-9	0,36 ^a	0,25 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,19 ^{ab}	0,25 ^{ab}	0,15 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,10 ^b	0,20 ^{ab}	0,13 ^b	0,13 ^b	0,10 ^b	0,14	0,002	0,003	0,84
C20:3 n-6	1,21 ^{ab}	0,74 ^{cd}	1,08 ^{bce}	0,70 ^d	1,33 ^{afg}	0,77 ^{de}	1,50 ^{af}	0,86 ^{de}	1,58 ^f	0,88 ^{bde}	1,56 ^f	0,94 ^{bde}	0,22	<0,001	<0,001	0,23
C20:3 n-3	0,23 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,54 ^{cd}	0,54 ^d	0,57 ^{cd}	0,62 ^{cd}	0,47 ^{ce}	0,45 ^{cf}	0,32 ^{af}	0,38 ^{ef}	0,16 ^b	0,19 ^{ab}	0,09	<0,001	0,20	0,27
C20:4 n-6	9,08 ^{ab}	12,44 ^c	6,92 ^a	7,95 ^{ade}	7,68 ^{ae}	8,73 ^{ab}	7,85 ^{ab}	9,86 ^{be}	8,04 ^{ab}	10,00 ^{bd}	9,32 ^{be}	12,43 ^c	1,41	<0,001	<0,001	0,04
C20:4 n-3	0,11 ^{ab}	0,02 ^a	0,19 ^{abe}	0,05 ^{ab}	0,42 ^{cd}	0,05 ^{ab}	0,44 ^c	0,06 ^{ab}	0,35 ^{ce}	0,05 ^{ab}	0,23 ^{bde}	0,02 ^{ab}	0,13	<0,001	<0,001	0,002
C20:5 n-3	1,17 ^a	1,08 ^a	3,30 ^b	3,81 ^{bc}	3,36 ^b	3,65 ^{bd}	3,48 ^b	3,79 ^{bc}	3,53 ^{bd}	3,96 ^{bc}	4,18 ^{cd}	4,41 ^e	0,42	<0,001	<0,001	0,34
C22:4 n-6	1,17 ^a	0,54 ^{bc}	0,66 ^b	0,23 ^{df}	0,42 ^{ce}	0,18 ^d	0,32 ^{ef}	0,15 ^d	0,27 ^{df}	0,15 ^d	0,27 ^{df}	0,13 ^d	0,09	<0,001	<0,001	<0,001
C22:5 n-6	0,18 ^a	0,17 ^a	0,34 ^a	0,03 ^a	0,82 ^b	0,97 ^{bc}	1,27 ^{cd}	1,31 ^{de}	1,37 ^{de}	1,33 ^{de}	1,65 ^e	1,44 ^{de}	0,22	<0,001	0,11	0,02
C22:5 n-3	1,85 ^{ab}	1,38 ^{ac}	2,92 ^d	2,28 ^b	2,03 ^{be}	1,30 ^{acg}	1,60 ^{aef}	1,03 ^{cg}	1,37 ^{ac}	1,05 ^{cfg}	1,12 ^{cfg}	0,78 ^g	0,36	<0,001	<0,001	0,39
C22:6 n-3	0,86 ^a	0,71 ^a	1,31 ^a	0,63 ^a	3,73 ^{bc}	3,05 ^b	5,93 ^{de}	4,52 ^c	6,70 ^d	4,83 ^{ce}	8,21 ^d	6,13 ^f	0,77	<0,001	<0,001	<0,001
AGS	33,86 ^a	30,59 ^{bcd}	32,59 ^{ab}	30,25 ^{abd}	33,21 ^{ac}	30,04 ^{bd}	33,00 ^{abc}	29,34 ^d	33,15 ^{abc}	29,23 ^d	32,90 ^{abc}	28,87 ^d	2,04	0,40	<0,001	0,80
AGMI	18,41 ^{ab}	18,85 ^a	13,55 ^{cde}	17,61 ^{ac}	12,29 ^d	16,76 ^{acd}	13,38 ^{cd}	16,06 ^{acd}	13,71 ^{bcd}	16,25 ^{acd}	12,13 ^{de}	17,19 ^{ac}	3,06	<0,001	<0,001	0,20
AGPI	47,73 ^a	50,56 ^{ab}	53,86 ^b	52,13 ^{ab}	54,51 ^b	53,20 ^{ab}	53,62 ^{ab}	54,61 ^b	53,14 ^{ab}	54,52 ^b	54,97 ^b	53,94 ^b	3,88	<0,001	0,79	0,37
n-6	41,53 ^{ab}	45,56 ^a	41,10 ^{ab}	40,53 ^{ab}	40,69 ^b	41,16 ^{ab}	38,83 ^b	42,02 ^{ab}	38,52 ^b	42,00 ^a	39,77 ^b	41,23 ^a	3,47	0,03	0,002	0,23
n-3	5,52 ^a	4,44 ^a	12,20 ^{bc}	11,03 ^b	13,35 ^{cd}	11,49 ^b	14,30 ^d	12,04 ^{bc}	14,05 ^d	11,97 ^{bc}	14,56 ^d	12,13 ^{bc}	1,09	<0,001	<0,001	0,26
n-6/n-3	7,55 ^a	10,28 ^b	3,41 ^{cd}	3,68 ^c	3,07 ^{cd}	3,58 ^c	2,74 ^d	3,51 ^c	2,76 ^d	3,54 ^c	2,75 ^d	3,41 ^{cd}	0,47	<0,001	<0,001	<0,001

régime. De la même manière, la teneur en C20:5 n-3 a triplé voire quadruplé dans les LP des deux tissus entre le régime COL et les régimes supplémentés.

Contrairement à ce qui semble être rapporté dans la bibliographie, notre étude ne met pas en évidence d'impact plus fort des régimes sur la composition en AG des LN que des LP (Warnants *et al.* 1999; Wood *et al.* 2004). Les AGPI (AGPI n-3 et C22:5 n-6) provenant des régimes à base de graines de lin et de microalgues semblent en effet aussi bien s'intégrer dans les LP que les LN des deux muscles. Cela signifie, contrairement à ce que pensait Lopez-Bote *et al.* 1997, que les LP des muscles n'ont pas de propension à stabiliser leur degré d'insaturation et cela malgré l'absence d'effet des régimes sur les teneurs en AGS. Cette observation indique que la composition en AGPI des LP constitutifs de la membrane des cellules musculaires peut être fortement modifiée par les régimes. Par conséquent, les fonctionnalités des tissus sont susceptibles d'être modifiées. Les membranes cellulaires sont des structures dynamiques formées d'une bicouche de phospholipides dans laquelle viennent s'insérer des protéines de transport (canaux ioniques). Or l'incorporation des AGPI n-3 et du C22:6 n-3 dans les LP constitutifs des membranes a pour conséquence de modifier la fluidité membranaire. Les canaux ioniques subissent alors des changements allostériques quand les AGPI sont intégrés dans leur microenvironnement. L'activité des canaux à sodium et/ou à calcium (type L) voltage-dépendant est inhibée au niveau du cœur (Xiao *et al.* 1995). Les flux de Na⁺ ou de K⁺ sont stoppés, empêchant notamment la sortie des ions K⁺ du milieu intracellulaire et entraînant ainsi une augmentation du seuil de dépolarisation de la membrane et donc une hausse de la stabilité électrique des cellules. Dans le cas du cœur, cet effet est positif dans la mesure où les AGPI jouent un rôle anti-arythmique des cardiomyocytes, la fonction cardiaque étant alors améliorée (Xiao *et al.* 1995; Xiao *et al.* 2005). Toutefois, la forme estérifiée des AGPI n-3 et du DHA notamment ne protège pas les cardiomyocytes de l'arythmie (Glück et Alter 2016). L'inhibition des canaux sodiques voltage-dépendant a pour conséquence d'augmenter la concentration d'ions Na⁺ et K⁺ dans le milieu intracellulaire. Le Na⁺ étant un facteur favorisant la rétention en eau, cela peut expliquer que certaines études ont montré une plus faible perte en eau à la cuisson de viande issue de muscle LD ou de *semi-membranosus* de porcs nourris aux graines de lin extrudées (De Broucker *et al.* 2008). Cette explication provient de l'hypothèse que ce qui est vrai dans le cœur sur les canaux ioniques, peut-être vrai également dans le muscle. Ainsi, dans le cas de produits transformés secs tel que le jambon ou les saucissons, l'incorporation des AGPI est susceptible de faciliter l'étape de séchage par une meilleure pénétration du sel. En revanche, l'augmentation des AGPI dans

les LN par le biais des régimes entraîne une hausse de la susceptibilité des produits à la peroxydation. De fortes teneurs en AGPI dans les produits transformés favorisent les problèmes de rancissement dus à l'oxydation au cours de la transformation et du stockage (Muriel *et al.* 2002; Musella *et al.* 2009).

Conclusion

Ce travail avait pour objectif d'étudier la composition en lipides neutres et polaires du cœur et du muscle LD de porcs ayant reçu une alimentation pourvue en AGPI n-3 précurseur ou dérivé. Ainsi, cette étude a montré que le cœur est plus riche en lipides que le muscle LD avec une prépondérance des LP. Le muscle LD en revanche contient trois fois plus de LN que de LP. Les LN du muscle LD sont plus riches en AGS et AGMI que les LP. En revanche, les LN contiennent autant d'AGPI que les LP, avec des différences en AGPI n-3 et n-6. Concernant le cœur, les LN contiennent autant d'AGS, mais plus d'AGMI et moins d'AGPI que les LP. Des différences sont également observées entre tissus. Les LN du muscle LD sont en effet plus riches en AGS et AGMI, mais moins riches en AGPI que ceux du cœur. En revanche, les résultats ont montré que les LP du muscle LD sont plus riches en AGS, mais moins riches en AGMI que ceux du cœur. Aucune différence de teneur n'a été observée pour les AGPI des LP entre les deux tissus. Ce travail a également permis de montrer que les quantités ou les teneurs en AG des LN et LP des deux tissus étaient soumises à la composition lipidique des régimes. L'enrichissement en AGPI n-3 précurseur ou dérivé a eu pour conséquence une diminution des AGPI n-6 totaux du cœur et une augmentation des AGPI n-3 totaux des LN des deux tissus. Les régimes expérimentaux ont également eu pour conséquence de diminuer les AGMI et d'augmenter les AGPI des LP des deux tissus par rapport au régime colza. La teneur en AGPI n-3 totaux des LP a été augmentée de 50% dans les deux tissus grâce à un apport dans les régimes. Cet effet est dû à une augmentation de 4 points du C20:5 n-3 et de 6 points du C22:6 n-3 avec l'apport de microalgues.

L'apport d'AGPI n-3 dans les régimes confirme les résultats des études qui ont montré l'effet bénéfique de ces molécules sur le fonctionnement du cœur, notamment grâce à l'introduction du C20:5 n-3 et du C22:6 n-3 dans les LP constitutifs des cardiomyocytes. Il est donc intéressant pour le consommateur de consommer des produits animaux riches en ces AG. Toutefois, l'introduction des AGPI n-3 dans les LN et LP du muscle, suite à une alimentation animale riche en graines de lin et microalgues pourrait avoir un effet néfaste sur la conservation de la viande et donc la flaveur perçue par le consommateur. C'est la raison pour laquelle la qualité de la viande a été évaluée à travers l'étude de la composition en AG

de divers tissus et les conséquences sur la cinétique de lipoperoxydation des AG dans les tissus maigres et gras.

Références

- Bout, J. and J. P. Girard (1988). "Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 2ème partie : Lipides et qualités du tissu musculaire." Journées Rech. Porcine **20**: 255-278.
- Chang, K. C., N. da Costa, R. Blackley, O. Southwood, G. Evans, G. Plastow, J. D. Wood and R. I. Richardson (2003). "Relationships of myoin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs." Meat. Sci. **64**: 93-103.
- de Antueno, R. J., L. C. Knickle, H. Smith, M. L. Elliot, S. J. Allen, S. Nwaka and M. D. Winther (2001). "Activity of human Delta5 and Delta6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids." FEBS Letters **509**: 77-80.
- De Broucker, T., A. E. Le minous, J. E. Blochet, M. Guillevic and J. Mourot (2008). Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie. Partie 3 : Effet sur les propriétés fonctionnelles des viandes. 12èmes "Journées Sciences et Technologie du Muscle et des Viandes". Tours.
- Enser, M., R. I. Richardson, J. D. Wood, B. P. Gill and P. R. Sheard (2000). "Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages." Meat Sci. **55**: 201-212.
- Girard, J. P., J. Bout and J. Salort (1988). "Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 1ère partie : Lipides et qualités du tissu adipeux." Journées Rech. Porcine **20**: 255-278.
- Glück, T. and P. Alter (2016). "Marine omega-3 highly unsaturated fatty acids: From mechanisms to clinical implications in heart failure and arrhythmias." Vascul. Pharmacol. **82**: 11-19.
- Högberg, A., J. Pickova, B. Andersson and K. Lundströma (2003). "Fatty acid composition and tocopherol content of muscle in pigs fed organic and conventional feed with different n6/n3 ratios, respectively." Food Chem. **80**: 177-186.
- Juaneda, P. and G. Rocquelin (1985). "Rapid and Convenient Separation of Phospholipids and Non Phosphorus Lipids from Rat Heart Using Silica Cartridges." Lipids **20**: 40-41.
- Kriketos, A. D., D. A. Pan, J. R. Sutton, J. F. Hoh, L. A. Baur, G. J. Cooney, A. B. Jenkins and L. H. Storlien (1995). "Relationships between muscle membrane lipids, fiber type, and enzyme activities in sedentary and exercised rats." Am. J. Physiol.: R1154-R1162.
- Lopez-Bote, C. J., M. Sanz, B. Isabel, P. Perez de Ayal and A. Flores (1997). "Effect of dietary lard on performance, fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation in growing-finishing female and entire male pigs." Can. J. Anim. Sci. **77**: 301-306.
- Morrison, W. R. and L. M. Smith (1964). "Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol." J. Lipid Res. **5**: 600-608.
- Mourot, J., N. Robert, L. Raynaud, M. Arturo-Schaan and L. Roger (2012). Effect of plant antioxidant in n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched diet on fatty acid composition and sensorial attributes of dry-cured ham. Journées Rech. Porcine **44**: 51-52.

- Muriel, E., J. Ruiz, J. Ventanas and T. Antequera (2002). "Free-range rearing increases (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles." *Food Chem.* **78**: 219-225.
- Musella, M., S. Cannata, R. Rossi, J. Mourot, P. Baldini and C. Corino (2009). "Omega-3 polyunsaturated fatty acid from extruded linseed influences the fatty acid composition and sensory characteristics of dry-cured ham from heavy pigs." *J. Anim. Sci.* **87**(11): 3578-3588.
- Óvilo, C., R. Benítez, A. Fernández, B. Isabel, Y. Núñez, A. I. Fernández, C. Rodríguez, A. Daza, L. Silió and C. López-Bote (2014). "Dietary energy source largely affects tissue fatty acid composition but has minor influence on gene transcription in Iberian pigs." *J. Anim. Sci.* **92**: 939-954.
- Sebedio, J. L., C. Septier and A. Grandgirard (1986). "Fractionation of Commercial Frying Oil Samples using Sep-Pak Cartridges." *J. Am. Oil Chem. Soc.* **63**: 1541-1543.
- Singer, S. J. and G. L. Nicolson (1972). *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Membranes and Viruses in Immunopathology.* S. Day and R. Good. Minneapolis: 7-47.
- Warnants, N., M. J. Van Oeckel and C. V. Boucqué (1999). "Incorporation of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids into Pork Fatty Tissues." *J. Anim. Sci.* **77**: 2478-2490.
- Wood, J. D., G. R. Nute, R. I. Richardson, F. M. Whittington, O. Southwood, G. Plastow, R. Mansbridge, N. da Costa and K. C. Chang (2004). "Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs." *Meat Sci.* **67**(4): 651-667.
- Xiao, Y. F., J. X. Kang, J. P. Morgan and A. Leaf (1995). "Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes." *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92**: 11000-11004.
- Xiao, Y. F., D. C. Sigg and A. Leaf (2005). "The antiarrhythmic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids: modulation of cardiac ion channels as a potential mechanism." *J. Membr. Biol.* **206**(2): 141-154.

Hypothèses du devenir des acides gras n-3 dans les tissus de porcs ayant reçu des régimes à base de graines de lin ou de microalgues riches en DHA

Cette sous partie permet d'avancer un certain nombre d'hypothèses préliminaires concernant la répartition des AGPI n-3 au sein des trois tissus principaux du porc, le foie, le muscle LD et le TAD.

Introduction

De nombreuses études ont montré à l'Homme l'importance pour sa santé de consommer des aliments pourvus en acides gras n-3 (Anses 2011a). Or les ressources étant limitées, les scientifiques se sont appliqués à trouver des solutions alternatives, permettant également à l'Homme de ne pas modifier ses habitudes de consommation. Pour cela, des animaux destinés à la consommation ont été nourris avec des sources riches en acides gras n-3 telles que de l'huile de poisson, du colza ou du lin (González-Esquerra et Leeson 2001; Alberti *et al.* 2014; Corino *et al.* 2014). Ainsi, une relation a été mise en évidence : la composition en acides gras des tissus animaux reflète la composition lipidique de l'aliment ingéré (Mourot et Hermier 2001). Cependant, même si certains processus comme la synthèse de dérivés d'acides gras n-3 sont limités, ces derniers subissent un ensemble de mécanismes ayant pour but leur stockage dans les tissus ou leur utilisation par les cellules.

Ainsi, les processus de synthèse des acides gras n-3 au sein des organismes sont étudiés depuis longtemps (Sprecher et Careaga 1986). L'acide α -linoléique (ALA) est le précurseur des acides gras n-3. Des désaturases et des élongases vont respectivement lui ajouter des doubles liaisons et lui retirer les carbones pour former des dérivés que sont l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosapentaénoïque (DPA) (Barcelo-Coblijn et Murphy 2009). L'acide docosahexaénoïque (DHA), qui est l'acide gras final de la chaîne d'élongations et de désaturations, est synthétisé à la suite d'une β -oxydation du C24:6 n-3 (Voss *et al.* 1991). Il peut lui-même être rétro-converti en EPA par la β -oxydation (Schlenk *et al.* 1969; Gronn *et al.* 1991). Les élongases et les désaturases agissent au niveau des réticulum endoplasmiques, tandis que la β -oxydation est effectuée dans les peroxysomes (Osmundsen *et al.* 1991a; Hiltunen *et al.* 1993; Samulin *et al.* 2009). Les questions alors posées sont : quelle est l'importance de ces processus métaboliques mis en jeu pour permettre au consommateur d'avoir accès à une viande de porc de qualité ? Dans quels tissus ont-ils lieu ?

Sachant que la synthèse de dérivés d'acides gras n-3 à partir de leur précurseur est faible (Brenna, J. T. 2002), les porcs ont été nourris avec des graines de lin dont l'acide gras

n-3 majoritaire est l'ALA et des microalgues riches en DHA afin de compléter les apports en dérivés.

Objectif

L'objectif de cette partie est d'appréhender au sein du foie, du muscle LD et du TAD, les processus métaboliques de l'acide α -linoléique (ALA) et de l'acide docosahexaénoïque (DHA) contenus respectivement dans des graines de lin et des microalgues ingérés par les porcs.

Méthode

Régimes

Cette sous partie compile les résultats des essais 1 et 2 menés pendant la thèse. Les données issues des 60 porcs de l'essai 1 ont été utilisées dans les calculs afin d'avoir le maximum de lots mixant graines de lin et microalgues. Toutefois, le lot contrôle ayant été formulé avec de l'huile de colza, les résultats issus des animaux du lot contrôle de l'essai 2 ont été rajoutés afin d'avoir un régime basal ne contenant pas d'acides gras n-3. Ce régime avait été formulé avec des huiles de soja et de palme et distribué comme expliqué dans le matériel et méthodes du mémoire (Tableau 20). Les données de 72 porcs ont donc été utilisées dans cette sous partie.

Calculs et statistiques

Par l'intermédiaire de calculs, nous avons voulu regarder l'évolution du dépôt des dérivés d'acides gras n-3 dans les tissus en fonction des quantités d'ALA et de DHA ingérées et comparativement à un régime de base. Dans le premier cas, le régime composé d'huiles de soja et de palme a servi de base 100. En revanche, le régime GLE à servit de base 100 dans le second cas. Les figures concernant le foie sont présentées.

Un calcul nous a permis d'estimer l'efficacité de dépôt par lot dans les trois tissus de chacun des acides gras n-3 en fonction de sa quantité ingérée par les porcs (*cf* Tableau 2) :

$$\text{Efficacité de dépôt des acides gras (\%)} = \frac{\text{quantité totale en acide gras dans le tissu (g)}}{\text{quantité de ce même acide gras ingérée (g)}}$$

Un second calcul nous a également permis d'estimer l'origine de l'EPA dosée dans le foie (EPA_{hép}, %). La quantité d'EPA qui provient d'ALA a été calculée en prenant le régime GLE comme base et en supposant que 100% de l'EPA trouvée dans les foies de ce lot était issu d'une synthèse d'ALA.

Tableau 29. Efficacité de dépôt des acides gras n-3 selon les régimes dans le foie, le TAD et le LD

	SP	COL	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	P-val
N	12	10	10	10	10	10		
Conso. totale d'aliment (kg)	185,9	179,2	173,6	171,6	172,1	177,7	177,1	0,25
Conso. totale d'ALA (g)	39,2 ^a	406,8 ^b	1600,6 ^c	1429,4 ^d	944,8 ^e	511,7 ^f	145,2 ^g	<0,001
Conso. totale d'EPA (g)	4,5 ^a	1,79 ^b	1,74 ^b	12,01 ^c	22,37 ^d	32,0 ^e	39,0 ^f	<0,001
Conso. totale de DPA (g)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	3,4 ^b	6,9 ^c	8,9 ^d	12,4 ^e	<0,001
Conso. totale de DHA (g)	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	331,2 ^b	588,6 ^c	849,2 ^d	1071,5 ^e	<0,001
Conso. totale d'AG n-3 (g)	49,5 ^a	408,6 ^b	1604,1 ^c	1781,3 ^d	1571,3 ^e	1414,2 ^f	1284,1 ^g	<0,001
<i>Foie</i>								
Poids tissu (g)	2013,5	2246,7	2219,9	2316,2	2139,8	2226,7	2124,4	0,05
Quantité d'ALA (g)	0,2 ^a	0,3 ^a	1,0 ^b	1,3 ^b	0,9 ^{bc}	0,6 ^{ac}	0,3 ^a	<0,001
Quantité d'EPA (g)	0,3 ^a	0,7 ^a	2,4 ^b	2,5 ^b	2,4 ^b	2,6 ^b	2,7 ^b	<0,001
Quantité de DPA (g)	1,0 ^a	1,4 ^b	1,6 ^b	1,0 ^a	0,9 ^a	1,0 ^a	1,0 ^a	<0,001
Quantité de DHA (g)	0,8 ^a	1,1 ^a	0,6 ^a	3,1 ^b	4,7 ^c	5,4 ^{cd}	6,3 ^d	<0,001
Quantité d'AG n-3 (g)	2,4 ^a	3,5 ^{ab}	5,8 ^b	8,2 ^c	9,2 ^c	9,7 ^c	10,4 ^c	<0,001
Efficacité de dépôt d'ALA	0,005 ^a	0,001 ^b	0,001 ^b	0,001 ^b	0,001 ^b	0,001 ^b	0,002 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt d'EPA	0,062 ^a	0,406 ^b	1,384 ^c	0,211 ^{ab}	0,109 ^a	0,083 ^a	0,071 ^a	<0,001
Efficacité de dépôt de DPA	-	-	-	0,304 ^a	0,134 ^b	0,110 ^b	0,008 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt de DHA	-	-	-	0,010 ^a	0,008 ^{ab}	0,006 ^b	0,006 ^b	0,003
Efficacité de dépôt d'AG n-3	0,048 ^a	0,009 ^b	0,004 ^b	0,005 ^b	0,006 ^b	0,007 ^b	0,008 ^b	<0,001
<i>TAD</i>								
Poids tissu (g)	2876,2	2858,8	2541,2	2590,2	2829,2	2869,0	2726,4	0,75
Quantité d'ALA (g)	12,4 ^a	35,0 ^a	106,8 ^b	118,5 ^b	70,0 ^c	41,6 ^{ac}	20,9 ^a	<0,001
Quantité d'EPA (g)	0,0 ^a	0,3 ^{ab}	1,5 ^{bc}	2,7 ^{cd}	2,8 ^{cd}	3,6 ^{de}	4,6 ^e	<0,001
Quantité de DPA (g)	1,2 ^a	2,8 ^{ab}	4,4 ^{bc}	7,4 ^{cd}	7,1 ^{cd}	7,9 ^d	9,8 ^d	<0,001
Quantité de DHA (g)	1,9 ^a	1,3 ^a	0,9 ^a	21,7 ^b	38,1 ^{bc}	50,4 ^c	72,8 ^d	<0,001
Quantité d'AG n-3 (g)	19,7 ^a	47,6 ^a	132,6 ^{bc}	172,5 ^c	132,6 ^{bc}	113,8 ^c	116,1 ^c	<0,001
Efficacité de dépôt d'ALA	0,321 ^a	0,086 ^b	0,066 ^b	0,073 ^b	0,074 ^b	0,066 ^b	0,131 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt d'EPA	0,000	0,182	0,844	0,200	0,126	0,091	0,106	<0,001
Efficacité de dépôt de DPA	-	-	-	1,900 ^a	1,036 ^b	0,721 ^b	0,714 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt de DHA	-	-	-	0,058	0,064	0,048	0,061	0,57
Efficacité de dépôt d'AG n-3	0,401 ^a	0,116 ^b	0,081 ^b	0,085 ^b	0,084 ^b	0,065 ^b	0,081 ^b	<0,001
<i>LD</i>								
Poids tissu (g)	11814,7	11589,6	11387,4	11292,0	11747,2	12024,2	11605,8	0,66
Quantité d'ALA (g)	0,6 ^a	1,2 ^a	3,6 ^b	3,5 ^b	2,4 ^{bc}	1,7 ^{ac}	0,6 ^a	<0,001
Quantité d'EPA (g)	0,2 ^a	0,4 ^a	1,2 ^b	1,3 ^b	1,3 ^b	1,5 ^b	1,2 ^b	<0,001
Quantité de DPA (g)	0,5 ^a	0,9 ^{ab}	1,4 ^b	1,0 ^{ab}	0,8 ^a	0,8 ^a	0,5 ^a	<0,001
Quantité de DHA (g)	0,3 ^a	0,4 ^a	0,3 ^a	1,8 ^{ab}	3,0 ^{bc}	3,7 ^c	3,5 ^c	<0,001
Quantité d'AG n-3 (g)	1,8 ^a	3,2 ^{ab}	7,3 ^c	8,3 ^c	8,3 ^c	8,3 ^c	6,1 ^{bc}	<0,001
Efficacité de dépôt d'ALA	0,015 ^a	0,003 ^b	0,002 ^b	0,002 ^b	0,003 ^b	0,003 ^b	0,004 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt d'EPA	0,040 ^a	0,243 ^b	0,644 ^c	0,096 ^{ab}	0,061 ^{ab}	0,049 ^{ab}	0,031 ^a	<0,001
Efficacité de dépôt de DPA	-	-	-	0,257 ^a	0,122 ^b	0,091 ^b	0,041 ^b	<0,001
Efficacité de dépôt de DHA	-	-	-	0,005	0,005	0,004	0,003	0,32
Efficacité de dépôt d'AG n-3	0,036 ^a	0,008 ^b	0,004 ^b	0,004 ^b	0,005 ^b	0,006 ^b	0,005 ^b	<0,001

$$EPA_{hép} = \frac{\text{quantité totale d'EPA du foie (g)} - \text{quantité d'EPA du foie provenant d'ALA (g)}}{\text{quantité totale d'EPA du foie (g)}}$$

Enfin, un dernier calcul nous a permis d'estimer la teneur en DHA hépatique qui s'est rétroconvertit en EPA (DHA_{epa} , %). La quantité d'EPA provenant d'ALA est estimée de la même manière que dans le calcul précédent.

$$DHA_{epa} = \frac{\text{quantité totale d'EPA du foie (g)} - \text{quantité d'EPA du foie provenant d'ALA (g)}}{\text{quantité de DHA ingérée (g)}}$$

Les données d'efficacité de dépôt ont été analysées avec le logiciel SAS® 9.4, suivant une ANOVA de type III (Porc GLM) avec le régime comme effet principal. Les résultats présentent les LSmean par régime. La valeur de test de significativité (P -val < 0,05) est également présentée. Une comparaison de moyenne deux à deux a été réalisée à l'aide du test de Bonferroni.

Résultats et discussion

Dépôt des acides gras n-3 dans les tissus porcins

Le foie, le TAD et le LD issus des animaux ayant ingérés des graines de lin (1,8 à 7,6 %) contiennent davantage d'ALA que ceux des animaux ayant ingéré des huiles de soja et de palme ou de colza et uniquement des microalgues. De la même façon, les tissus des animaux ayant ingéré des microalgues (0,9 à 3,6 %) contiennent davantage de DHA que ceux des animaux issus des lots contrôle et GLE ($P < 0,001$; Tableau 29). Par conséquent, les tissus des animaux ayant ingérés des matières premières riches en ALA ou DHA sont plus riches en acides gras n-3 totaux que ceux des animaux ayant ingéré des huiles de soja et de palme (3,4 à 8 g de plus dans le foie ; 94,1 à 125,8 g de plus dans le TAD ; 4,3 à 5,5 g de plus dans le LD) ou de colza (2,3 à 6,9 g de plus dans le foie ; 68,5 à 124,9 g de plus dans le TAD ; 2,9 à 5,1 g de plus dans le LD). Ces résultats sont donc concordant à ceux d'une étude similaire menée par Baéza *et al.* 2015b chez le poulet de chair. Il est alors possible, en prenant un régime qui servira de base 100, de regarder l'évolution du dépôt des acides gras n-3 dans les différents tissus en fonction des différents lots. Par exemple, le taux d'augmentation du DHA dans le foie des animaux issus du régime 2GLE/3MAG, correspondant à une ingestion de 512 g d'ALA en deux mois, est de 600,7% par rapport au régime SP qui sert de base 100 (Figure 20). En revanche, le taux d'augmentation du DHA dans le foie des animaux issus de ce même lot, correspondant alors à une consommation de 849 g de DHA en deux mois, est de 900,3% en prenant le régime GLE comme base 100 (Figure 21). Le résultat de ces calculs est l'obtention respectivement de courbes polynomiale de type $y = ax^2 + bx + 1$ ($P = 0,03$) et

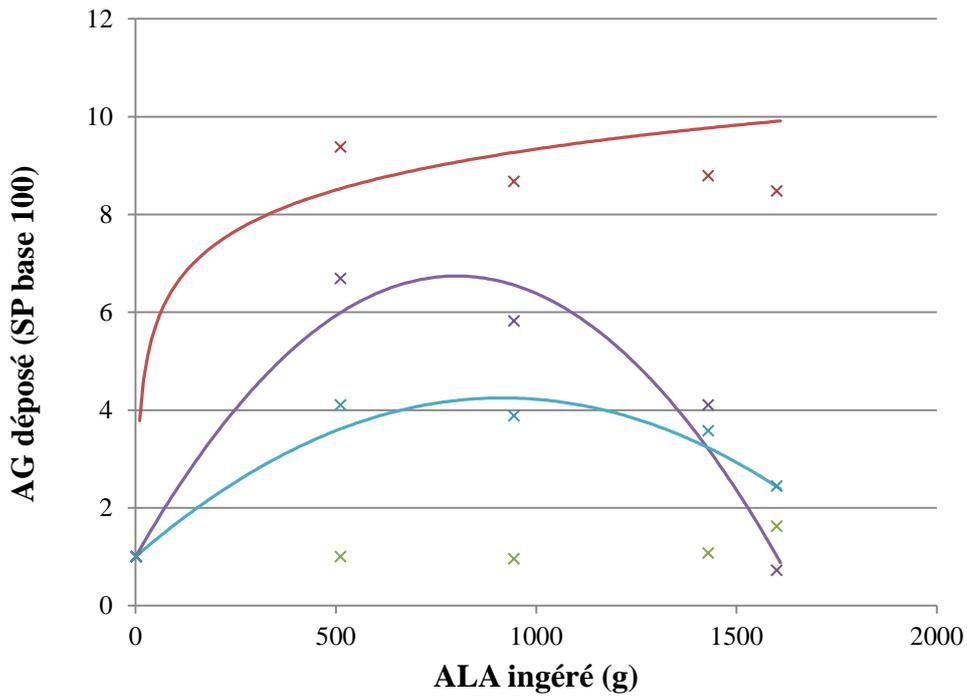
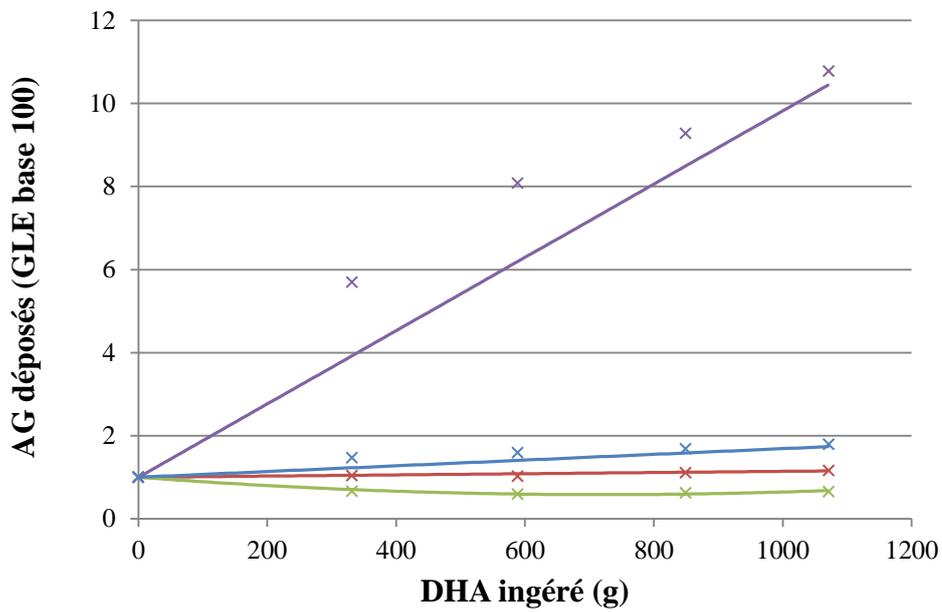


Figure 20. Acides gras déposés dans le foie en fonction de la quantité d'ALA ingérée (régime soja-palme = base 100) (cf légende sous la Figure 21)



- | | |
|--------------------------|-----------------------------|
| × epa | × dpa |
| × dha | × n-3 |
| — Courbe de tendance EPA | — Courbe de tendance DPA |
| — Courbe de tendance DHA | — Courbe de tendance AG n-3 |

Figure 21. Acides gras déposés dans le foie en fonction de la quantité de DHA ingérée (régime GLE = base 100)

linéaire de type $y = cz + 1$ ($P < 0,05$), avec x la consommation totale d'ALA, z la consommation totale de DHA, $a = -8,9.10^{-6}$, $b = 0,014$ $c = 0,009$. Des courbes similaires ont été obtenues pour le dépôt total d'acides gras n-3. Ces courbes montrent un dépôt en hausse du DHA et des acides gras n-3 avec l'augmentation des quantités de DHA consommées, mais un dépôt en baisse avec l'augmentation des quantités d'ALA ingérées.

L'efficacité de dépôt de ces acides gras a été calculée en divisant la quantité dosée dans le tissu par la quantité totale consommée. Ainsi, l'efficacité de dépôt des acides gras n-3 totaux dans les trois tissus est meilleure quand les animaux ont ingéré des huiles de palme et de soja (0,036 à 0,401) que d'autres matières premières ($< 0,116$). Ce résultat, relativement surprenant puisque le régime soja-palme est le moins pourvu en acides gras n-3, semble être la conséquence d'une meilleure efficacité de dépôt du précurseur que des dérivés (Tableau 29). Cela signifie également qu'il existe un effet de levier important du dépôt des acides gras n-3 dans les tissus. Autrement dit, moins l'apport est important, plus le dépôt est conséquent. Cette hypothèse peut être appuyée par le fait que quel que soit le tissu, l'efficacité de dépôt de l'EPA et du DPA est supérieure à celle de l'ALA et du DHA dans les trois tissus (Tableau 30).

Devenir des acides gras n-3 dans les tissus porcins

L'ingestion d'ALA ou de DHA a pour conséquence d'augmenter les quantités de dérivés d'acides gras n-3, tels que EPA dans les trois tissus et DPA essentiellement dans le TAD (Tableau 29). En effet, la quantité de DPA dans le foie diminue de 1,6 g (régime GLE) à 1 g (régimes SP, mixtes et MAG) et de 1,4 g (régime GLE) à 0,5 g (régimes SP et MAG) dans le LD. De la même façon que pour le calcul des équations de dépôt du DHA, le dépôt de DPA dans le foie diminue avec l'augmentation de DHA dans les régimes en suivant une courbe polynomiale (Figure 21). A contrario, la quantité de DPA du TAD augmente de 2 g en moyenne dans les régimes SP et GLE à 9,8 g dans le TAD du lot MAG. Cela se traduit par une augmentation linéaire avec l'augmentation de la quantité de DHA ingérée mais qui comparativement à la quantité déposée dans le lot GLE (base 100) reste faible (pente de + 0,00075) (figure non présentée). Ces résultats semblent montrer que contrairement au TAD, le foie et le muscle LD n'ont pas de propension à synthétiser du DPA.

Concernant l'EPA, sa quantité augmente dans le foie de 0,3 g (régime SP) à 2,5 g en moyenne (régimes GLE, MAG et mixtes). Ainsi, le taux d'EPA déposé dans le foie augmente de façon linéaire avec l'augmentation de DHA ingéré (Figure 21) ou en suivant une courbe logarithmique avec l'augmentation de la quantité d'ALA ingérée (Figure 20). Le dépôt

Tableau 30. Comparaison de l'efficacité de dépôt^a entre acides gras n-3 dans les tissus

	ALA	EPA	DPA	DHA	AG n-3	Rsd	P-value
Foie	0,002 ^a	0,325 ^b	0,157 ^c	0,007 ^{ac}	0,013 ^a	0,240	<0,001
TAD	0,122 ^a	0,215 ^a	1,093 ^b	0,058 ^a	0,138 ^a	0,313	<0,001
LD	0,005 ^a	0,163 ^b	0,128 ^b	0,004 ^a	0,011 ^a	0,129	<0,001

^a Pour un même tissu, l'efficacité pour chaque acide gras est calculée en faisant la moyenne des sept lots

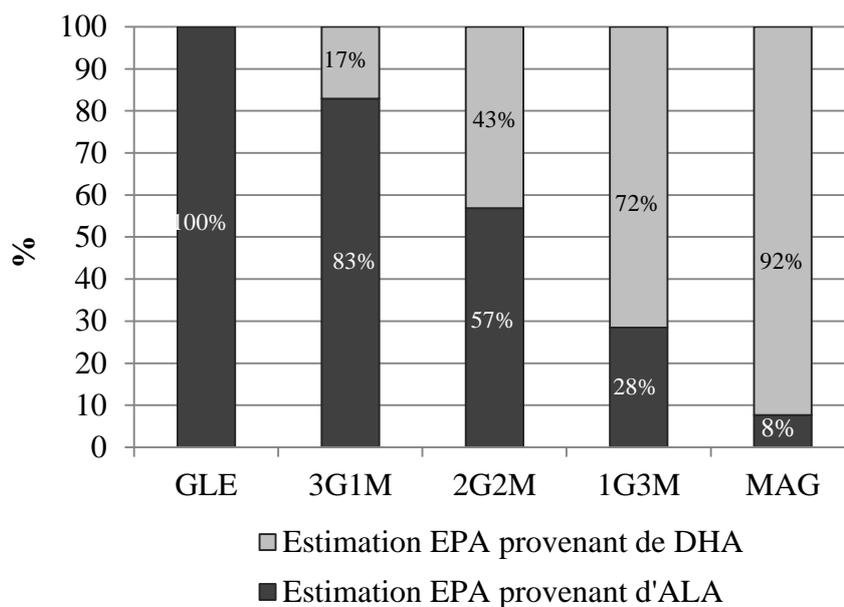


Figure 22. Provenance de l'EPA du foie ($EPA_{hép}$) des porcs ayant ingéré des graines de lin et/ou des microalgues

d'EPA, dans un foie moyen de 2,2 kg, semble donc atteindre un plateau dont la valeur maximale est fixée à 2,5 g. Les quantités d'EPA dans les régimes pouvant être considérées comme négligeable ($< 0,8$ % des acides gras totaux), cela démontre d'une part que l'EPA provient d'une succession de désaturations et d'élongations de l'ALA (Sprecher *et al.* 1995; Sprecher 1996) ou dans une moindre mesure d'une β -oxydation du DHA (Osmundsen *et al.* 1991a) et d'autre part que le foie exporte une partie de l'EPA présent dans ses cellules vers d'autres tissus. Les quantités d'ALA et de DHA apportées aux porcs variant avec les régimes, nous pouvons supposer que l'origine de l'EPA des foies issus de chacun de ces régimes varie également. Pour le savoir, nous avons estimé la provenance de l'EPA hépatique en soustrayant la quantité d'EPA provenant de l'ALA à la quantité totale d'EPA du foie, puis en divisant le tout par la quantité totale d'EPA hépatique. La quantité d'EPA hépatique provenant de l'ALA alimentaire a été estimée en prenant le lot GLE comme référence et en supposant que 100% de l'EPA du lot GLE provenait d'ALA. Les résultats de ces calculs ont montré que 83% de l'EPA des foies issus du lot 3G1M provenait de l'ALA ingéré, puis que cette valeur atteignait 57, 28 puis 8% respectivement dans les lots 2G2M, 1G3M et MAG. A contrario, 17% de l'EPA hépatique provenait du DHA alimentaire dans les foies du lot G3M1, puis cette valeur a atteint 43, 72 et 92% dans les foies des autres lots (Figure 22). Ces calculs font suite à l'hypothèse que le DHA β -oxydé était d'origine alimentaire, la néo-synthèse de DHA à partir d'ALA étant supposée faible ($< 1\%$) (Brenna, J. T. 2002).

Les résultats d'une précédente publication (De Tonnac *et al.* 2016), permettent de supposer que la synthèse des acides gras n-3 dans le muscle est quasiment inexistante. En effet, l'expression du gène de l'élongase 5 (ELOVL5) est 3 à 3,5 fois moindre dans le LD et celle du gène de la $\Delta 6$ -désaturase (FADS2) est 1,5 à 1,7 fois moindre respectivement par rapport au TAD et au foie (Tableau 31). Pour faire ces calculs, nous avons considéré l'expression mesurée dans les tissus issus du lot huile de colza, régime qui se rapproche le plus de ce qui est fait en élevage porcins. De cette hypothèse, nous pouvons donc affirmer que l'EPA retrouvé dans le muscle LD est principalement capté dans le système sanguin et est d'origine hépatique. En revanche, des comparaisons entre tissus permettent de constater que les teneurs, exprimées en % des acides gras totaux, en EPA et DPA du TAD sont plus faibles (significativement ou non selon les lots) que les teneurs retrouvées dans le foie et le muscle LD (Tableau 32) et cela malgré des expressions de gènes similaires entre TAD et foie. Cela confirme l'hypothèse selon laquelle les acides gras n-3 à chaîne longue semble s'introduire préférentiellement dans les phospholipides que dans les triglycérides (Wood *et al.* 2004; Óviló

Tableau 31. Expression des gènes de la $\Delta 6$ -désaturase et de l'élongase 5 dans le foie, le TAD et le muscle LD de porcs ayant ingérés le régime à base d'huile de colza

enzyme	gène	Foie	TAD	LD	Rsd	P-value
Elongase 5	ELOVL5	1,38 ^a	1,17 ^a	0,40 ^b	0,44	<0,001
$\Delta 6$ -désaturase	FADS2	2,16 ^a	2,37 ^a	1,40 ^b	0,60	<0,001

Tableau 32. Comparaison des teneurs en EPA et DPA (% des AGT) entre le foie, le LD et le TAD selon les lots

	Foie	LD	TAD	Rsd	P-value
<i>Lot colza</i>					
EPA	1,55 ^a	0,26 ^b	0,01 ^c	0,15	<0,001
DPA	2,91 ^a	0,54 ^b	0,13 ^c	0,19	<0,001
<i>Lot GLE</i>					
EPA	5,41 ^a	0,98 ^b	0,09 ^c	0,62	<0,001
DPA	3,62 ^a	1,08 ^b	0,28 ^c	0,32	<0,001
<i>Lot G3M1</i>					
EPA	5,01 ^a	0,91 ^b	0,14 ^b	0,72	<0,001
DPA	2,07 ^a	0,71 ^b	0,35 ^b	0,31	<0,001
<i>Lot G2M2</i>					
EPA	5,22 ^a	0,90 ^b	0,16 ^b	0,70	<0,001
DPA	2,00 ^a	0,54 ^b	0,39 ^b	0,21	<0,001
<i>Lot G1M3</i>					
EPA	5,27 ^a	0,86 ^b	0,21 ^b	0,67	<0,001
DPA	1,94 ^a	0,45 ^b	0,46 ^b	0,23	<0,001
<i>Lot MAG</i>					
EPA	5,51 ^a	0,96 ^b	0,23 ^c	0,47	<0,001
DPA	2,01 ^a	0,41 ^b	0,49 ^b	0,24	<0,001

et al. 2014). Ces acides gras servent en effet de structure aux membranes cellulaires qui constituent les fibres musculaires, le tissu adipeux étant avant tout composé d'adipocytes riches en lipides neutres.

Un dernier calcul a permis d'estimer le taux de DHA alimentaire arrivant au foie qui a pu s'oxyder en EPA (DHA_{epa}). Pour cela, la quantité d'EPA hépatique originaire d'ALA alimentaire a été retranchée à la quantité totale d'EPA du foie, puis le tout a été divisée par la quantité totale de DHA ingérée. Ces calculs ont montré qu'à priori, 8% du DHA présent dans les foies des animaux issus des lots 2G2M et 1G3M et 11% du DHA présent dans les foies des animaux des lots 1G3M et MAG se transformait en EPA. Cela démontre que plus les quantités de DHA croissent dans le foie, plus elles se transforment en EPA mais suivant des paliers relativement faibles. Cela peut s'expliquer par un ralentissement des phénomènes d'élongations et de désaturations de l'ALA, mis en place afin de ne pas dépasser le seuil maximal de teneur en EPA hépatique.

Conclusion

Ce travail, qui s'est appuyé sur le fait que les tissus porcins ont été enrichis en ALA et DHA grâce à l'ingestion de graines de lin et de microalgues, a permis de déterminer l'évolution du dépôt des acides gras n-3 et leur devenir dans les tissus. Ainsi, les teneurs déposées dans le foie, le muscle LD et le TAD, s'accroissent ou au contraire diminuent par rapport à un régime servant de base aux calculs (régimes à base d'huile de soja et de palme ou de graines de lin). Ces évolutions, en hausse ou en baisse, suivent une tendance linéaire, de type polynomial ou logarithmique en fonction de l'acide gras ingéré considéré (ALA ou DHA). Les résultats ont également montré que moins un acide gras est contenu dans le régime, plus il semble s'en déposer dans les tissus. C'est le cas notamment de l'EPA. Cela se traduit par une meilleure efficacité de dépôt de l'EPA ou du DPA par rapport à l'ALA ou au DHA.

Le DPA semble être synthétisé par le TAD. L'EPA hépatique, synthétisé en plus ou moins grande partie à partir de l'ALA ou du DHA alimentaire en fonction du régime, est très vite exporté vers les tissus musculaires incapables de synthétiser leur propre EPA. Quant au TAD, il ne semble être ni un lieu de synthèse, ni un lieu de dépôt préférentiel de l'EPA. Le dosage des lipides neutres et polaires de ces deux tissus pourrait permettre d'appuyer l'hypothèse selon laquelle les acides gras n-3 à longue chaîne s'orientent préférentiellement vers les lipides polaires, qui constituent les fibres musculaires et non vers les lipides neutres (triglycérides) qui constituent la majeure partie du tissu adipeux. Malheureusement, le devenir

des acides gras au sein des tissus n'est sujet qu'à interprétation dans la mesure où aucune vérification technique par un marquage de l'aliment et donc des acides gras de la mangeoire à l'animal n'a été effectué.

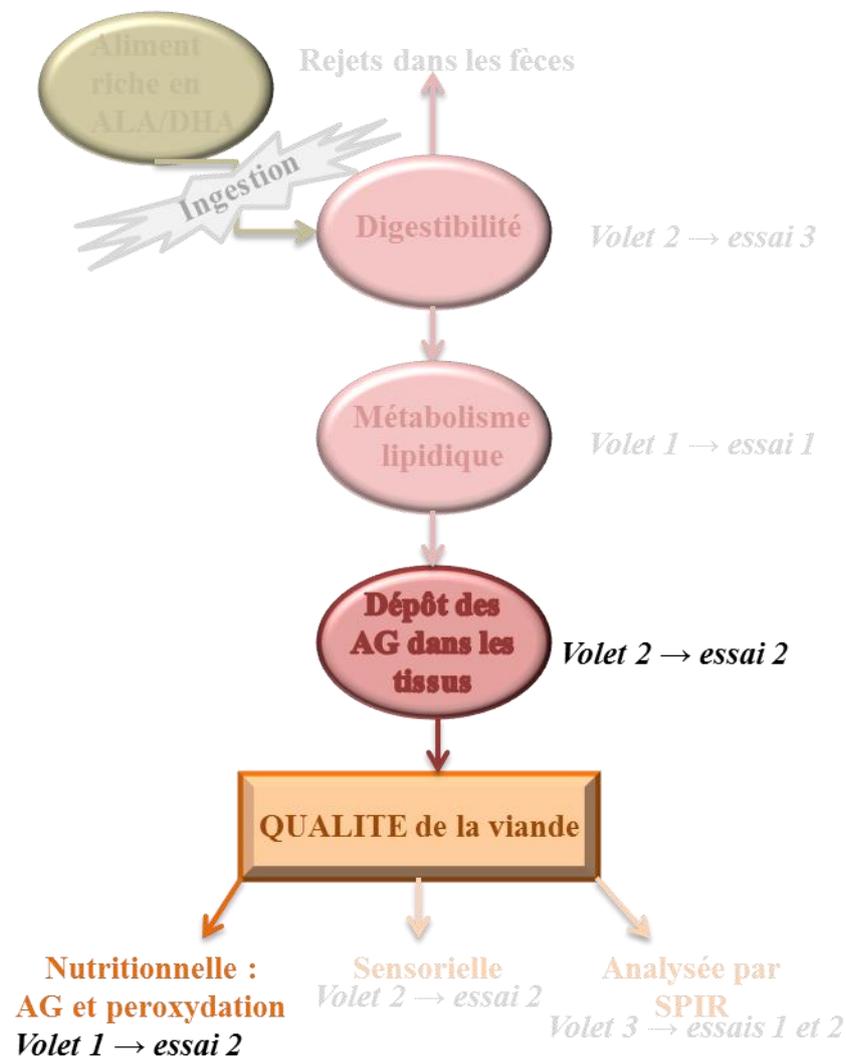
Références

- Alberti, P., Beriain, M.J., Ripoll, G., Sarries, V., Panea, B., Mendizabal, J.A., Purroy, A., Olleta, J.L., Sanudo, C. (2014). Effect of including linseed in a concentrate fed to young bulls on intramuscular fatty acids and beef color. *Meat. Sci.* **96**: 1258-1265.
- Anses, 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras, p. 323.
- Baéza, E., Chartrin, P., Lessire, M., Meteau, K., Chesneau, G., Guillevic, M., Mourot, J. (2015). Is it possible to increase n-3 fatty acid content of meat without affecting its technological and/or sensory quality and the growing performance of chickens? *Br. Poult. Sci.* **56**(5):543-550.
- Barcelo-Coblijn, G., Murphy, E.J. (2009). Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels. *Prog. Lipid. Res.* **48**: 355-374.
- Brenna, J.T. (2002). Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **5**: 127-132.
- Corino, C., Rossi, R., Cannata, S., Ratti, S. (2014). Effect of dietary linseed on the nutritional value and quality of pork and pork products: systematic review and meta-analysis. *Meat. Sci.* **98**: 679-688.
- De Tonnac, A., Labussiere, E., Vincent, A., Mourot, J. (2016). Effect of alpha-linolenic acid and DHA intake on lipogenesis and gene expression involved in fatty acid metabolism in growing-finishing pigs. *Br. J. Nutr.* **116**: 7-18.
- González-Esquerra, R., Leeson, S. (2001). Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids. *Can. J. Anim.Sci.* **81**: 295-305.
- Gronn, M., Christensen, E., Hagve, T.A., Christophersen, B.O., 1991. Peroxisomal retroconversion of docosahexaenoic acid to EPA studied in isolated rat liver cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1081**: 85-91.
- Hiltunen, J., Filppula, S., H-yriinen, H., Koivuranta, K., Hakkola, E., 1993. Peroxisomal beta-oxidation of polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* **75**: 175-182.
- Mourot, J., Hermier, D., 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.* **41**: 109-118.
- Osmundsen, H., Bremer, J., Pedersen, J.I., 1991. Metabolic aspects of peroxisomal Beta-oxidation. *Biochim. Biophys. Acta* **1085**: 141-158.
- Óvilo, C., Benítez, R., Fernández, A., Isabel, B., Núñez, Y., Fernández, A.I., Rodríguez, C., Daza, A., Silió, L., López-Bote, C., 2014. Dietary energy source largely affects tissue fatty acid composition but has minor influence on gene transcription in Iberian pigs. *J. Anim. Sci.* **92**: 939-954.
- Samulin, J., Berget, I., Grindflek, E., Lien, S., Sundvold, H., 2009. Changes in lipid metabolism associated gene transcripts during porcine adipogenesis. *Comp. Biochem. Physiology. B. Biochem. Mol. Biol.* **153**: 8-17.

- Schlenk, H., Sand, D.M., Gellekman, J.L. (1969). Retroconversion of DHA in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* **187**: 201-207.
- Sprecher, H., 1996. New advances in fatty-acid biosynthesis. *Nutr. Res.* **12**: S5-S7.
- Sprecher, H., Careaga, M.M. (1986). Metabolism of (n-6) and (n-3) polyunsaturated fatty acids by human platelets. *Prostaglandins Leukot. Med.* **23**: 129-134.
- Sprecher, H., Luthria, D.L., Mohammed, B.S., Baykousheva, S.P. (1995). Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* **36**: 2471-2477.
- Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S., Sprecher, H. (1991). The metabolism of 7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. *J. Biol. Chem.* **266**: 19995-20000.
- Wood, J.D., Nute, G.R., Richardson, R.I., Whittington, F.M., Southwood, O., Plastow, G., Mansbridge, R., da Costa, N., Chang, K.C., 2004. Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat. Sci.* **67**: 651-667.

PARTIE 3

Effet du traitement technologique des graines de lin et de la localisation anatomique des tissus sur la composition en acides gras chez le porc (volet 2, essai 2)



Publications n°3 : Effet d'un régime à base de graines de lin plus ou moins riches en fibres et de la localisation anatomique des tissus de porc sur la composition en acides gras

Soumis dans Livestock Science le 16 septembre 2016

Objectif

Etudier l'effet d'un régime supplémenté en graines de lin plus ou moins riches en fibres (extrusion uniquement ou extrusion + suppression de la pellicule des graines) et de la localisation anatomique des tissus sur le dépôt d'acides gras de porcs en croissance-finition.

Matériel et Méthodes

L'étude a été réalisée sur 36 porcs mâles entiers ou castrés en croissance-finition. Les porcs du premier lot ont reçu un régime supplémenté en huile de palme et de soja. Ceux du deuxième lot ont reçu un régime supplémenté en graines de lin extrudées, tandis que les porcs du troisième lot ont reçu un régime supplémenté en graine de lin pauvres en fibres. Des échantillons de tissus musculaires (LD, semi-membraneux et diaphragme), de tissus adipeux sous cutanés (du cou, SCN, du dos, SCB, du jambon, SCH et de la poitrine), intermusculaires (du jambon, IH) et internes (panne), le foie et le sang ont été prélevés à l'abattoir. Les profils en acides gras de l'aliment et de ces tissus ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse.

Résultats

L'apport de graines de lin a permis d'augmenter significativement la teneur en C18:3 n-3 (ALA) de tous les tissus comparativement au régime témoin. Il a également permis d'augmenter significativement la teneur en C20:5 n-3 du foie, du sang et des muscles, mais pas la teneur en C22:6 n-3 des tissus. L'apport de graines de lin dépelliculées a permis d'augmenter de 0,19% la teneur en ALA du muscle LD et du diaphragme, de 0,09% celle des tissus adipeux sous cutanés et de 0,18% celle de la panne par rapport aux graines extrudées. Le dépelliculage améliore donc faiblement les dépôts en ALA par rapport à l'extrusion. De plus, les muscles LD et SM contenaient davantage d'AGPI et d'AGPI n-3, mais moins de ALA que le diaphragme quel que soit les régimes. Les lipides de la panne étaient les plus saturés, confirmant l'augmentation du degré de saturation vers l'intérieur de la carcasse, tandis que les tissus adipeux sous cutanés du cou et du jambon étaient les plus insaturés, montrant une augmentation du degré d'insaturation vers les extrémités de la carcasse.

Néanmoins, le tissu adipeux sous cutané du dos contenait la plus forte teneur en DHA (0,1% des acides gras totaux), alors que celui du jambon contenait la plus forte teneur en EPA (0,2% des acides gras totaux) quel que soit les régimes.

Conclusion

Cette étude a montré que le dépelliculage a un effet très limité sur l'amélioration du dépôt en ALA dans les tissus par rapport à l'extrusion des graines de lin. En revanche, elle a montré que quel que soit les régimes (faible ou fort apport en ALA), les tissus tels que la panne, le tissu adipeux sous cutané du dos et dans une moindre mesure la poitrine étaient les plus aptes à synthétiser des acides gras saturés, alors que les tissus adipeux sous cutanés du cou et du jambon étaient plus aptes à capter ou à synthétiser des AGPI.

Tissue location and linseed diet effect on fatty acids composition of tissues of pigs

De Tonnac, A^{1,2}, Karim-Luisset, S¹, Mourot, J^{1,†}

¹*PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France*

²*Valorex, La Messayais, 35210 Combourtille, France*

Short title: Tissue location and diet effect on fatty acid composition of pigs tissues

Key words: tissue location; linseed; fatty acids; pig

[†]Corresponding author: jacques.mourot@inra.fr

Abstract

The aim of this study is to compare the effect of diets containing extruded linseed +/- concentrate in fiber and the tissue location on the deposit of fatty acids in pigs. Thirty-six crossbreed growing-finishing male pigs (51 kg initial live weight, LW) received one of three experimental diets including a control diet (C), extruded linseed diet (EL) and EL poor fiber diet (EL-). Diets respectively contained 0.57, 3.90 and 4.35 g of α -linolenic acid (ALA) per kg of feed. Pigs were stunned at 115 kg LW and some tissues were sampled to determine their fatty acids (FA) composition. Results were expressed in g/100g of total FA. EL- diet increased the α -linolenic acid (ALA) content by 18% in the *longissimus dorsi* muscle (LD) and by 19% in the diaphragm, by 9% in subcutaneous adipose tissues and by 17% in flare fat compared to EL diet. The n-3 polyunsaturated FA (PUFA) content significantly increased between both linseed diets in the diaphragm, the subcutaneous adipose tissues of the back (SCB) and ham (SCH) and the flare fat. The LD and *semimembranosus* (SM) muscles contained more PUFA and n-3 PUFA derivatives but less C18:3 n-3 than the diaphragm. Adipose tissues such as SCB and the belly were more saturated than other fat tissues, and the flare fat was the most saturated tissue. In contrast, the subcutaneous adipose tissue of the neck (SCN) and the SCH were the most polyunsaturated fat tissues. The SCN, SCH and the intermuscular adipose tissue of the ham (IH) contained more C18:3 n-3 than the belly, the SCB and the flare fat. Nevertheless, the SCB was the tissue the richest in C22:6 n-3, whereas the SCH was the tissue the richest in C20:5 n-3. These results revealed the better capacity of the flare fat, the SCB and in a lesser extent the belly to synthesize saturated FA and the better capacity of the SCN, the SCH and the IH to store PUFA. This study confirmed the interest of well feeding animals for humans in order to improve their health.

Introduction

The European population under consume n-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA) compared to n-6 PUFA (Anses, 2011). Indeed, people consume an average of fifteen n-6 PUFA for one n-3 PUFA, when the health public policies recommends a ratio of five between both. However, the n-3 PUFA are involved in many body functions like the vision or the development of the brain and their low consumption is the cause of health problems as cardiovascular disease or metabolic disorder. For this reason, consumers must rebalance their ratio of PUFA by feeding more n-3 PUFA, whose 2 g per day of α -linolenic acid (ALA) (Anses, 2011).

Table 1. Ingredient (% fresh), chemical composition (% DM) and fatty acids profile (% total fatty acids) of the diets

	C	EL	EL-
<i>Ingredient composition</i>			
Wheat	24.4	23.0	22.8
Maize	24.4	23.0	22.8
Barley	24.4	23.0	22.8
Soya meal 48	17.9	18.6	18.7
Wheat bran	2.5	2.5	2.6
Palm oil	0.2	-	-
Soya oil	0.2	-	-
Extruded linseed	-	3.6	-
Extruded and dehulled linseed	-	-	4.1
Cane molasses	3.0	3.0	3.0
L-Lysine HCL	0.3	0.3	0.3
L-Threonine	0.1	0.1	0.1
L-Tryptophane	0.01	0.01	0.01
DL-Methionine	0.05	0.05	0.05
Salt	0.5	0.5	0.5
Calcium carbonate	0.5	0.5	0.5
Dicalcium phosphate	1.0	1.0	1.0
Premix	0.7	0.7	0.7
<i>Chemical composition</i>			
DM (%)	84.35	85.39	85.50
Gross energy (MJ/kg of DM)	18.04	18.11	18.31
Net energy (MJ/kg)	9.82	11.61	11.67
Crude protein	20.29	18.65	19.37
Fat	2.05	2.90	3.29
Crude fiber	3.50	3.51	3.57
NDF	13.76	14.11	14.02
ADF	4.40	4.22	4.47
ADL	0.68	0.62	0.66
Total sugars	2.67	2.56	4.64
<i>Fatty acids</i>			
C16:0	16.05	12.38	12.09
C18:0	2.18	2.49	2.51
C18:1 n-9	22.54	18.22	18.03
C18:2 n-6	52.65	44.01	43.69
C18:3 n-3	3.51	20.72	21.59
C20:5 n-3	0.10	0.08	0.06
C22:5 n-3	0.00	0.00	0.00
C22:6 n-3	0.03	0.01	0.01
SFA	19.24	15.65	15.34
MUFA	24.18	19.39	19.20
PUFA	56.58	64.95	65.47
n-3	3.86	20.90	21.73
n-6	52.68	44.01	43.69
n-6/n-3	13.67	2.11	2.01

C = control diet, EL = extruded linseed diet, EL- = EL poor fiber diet, DM dry matter, NDF neutral detergent fiber, ADF acid detergent fiber, ADL acid detergent lignin, SFA = sum of saturated fatty acids, MUFA = sum of monounsaturated fatty acids, PUFA = sum of polyunsaturated fatty acids, n-6/n-3 = sum of n-6 fatty acids/sum of n-3 fatty acids ratio.

Livestock could be used to serve as a vector of n-3 PUFA, because there exist a very good relation between dietary fatty acids ingested by animals and those deposited in animal tissues (Mourot and Hermier, 2001). For instance, the French Bleu Blanc Coeur path provides rich ALA animal products for human derived from animals fed with linseed (Mourot and de Tonnac, 2015). However, the deposition efficiency of fatty acids (FA) depends on different factors. First, it depends on the raw material used in diets. It also depends on the digestibility of the fat of the diet. An experiment has already been conducted on the digestibility of linseed, crushed or extruded linseed according to different technology methods (Noblet et al., 2008). Second, the FA composition also depends on the anatomical tissue location on the carcass (Kloareg et al., 2007; Monziols et al., 2007). In France, except some parts of the carcass, all pigs' pieces are consumed as fresh meat (30%) or transformed (70%) without consequence on its FA profile (Guillevic et al., 2009a). It is important to know if some tissues catch or synthesized more healthy FA than the other. In the present experiment, we hypothesized that pigs receiving extruded linseed poor fiber diets will deposit more ALA in their tissues than extruded linseed due to a higher digestibility of these seeds. The aim of this work is to study the FA composition of different muscles and adipose tissue of pigs fed with a control diet or extruded linseed \pm concentrated in fiber.

Material and methods

Animals were raised and slaughtered at Saint-Gilles INRA experimental site according to a protocol in accordance with French legislation and conducted under the responsibility of J. Mourot, approval number 04738. The ministerial reference experiment is 02279.04.

Animals and diets

Thirty six growing-finishing crossbreed [(Large white \times Landrace) sows \times Pietrain boar] male pigs were equally allotted in three groups according to their initial body weight. Pigs were reared at an initial live weight (LW) of $50.9 \text{ kg} \pm 2.4 \text{ kg}$ from 14 to 22 weeks of age and receiving feed and water *ad libitum* in individual crates with concrete floor. They were feed with one of three experimental diets including a control diet (C) containing palm and soya oil and diets containing linseed, extruded (EL) or EL poor fiber (EL-, extruded and dehulled linseed) according to process developed by Valorex (Tradilin®, Combourtillé, France). Diets respectively contained 0.57, 3.90 and 4.35 g of ALA per kg of feed. In contrast, the three diets contained a range of 2-3% of fat, 18-20% of proteins and were supplemented with wheat to be isoenergetic on a net energy basis (Sauvant et al., 2004; Table 1). Diets followed nutritional recommendations for pigs so that the amino acid content was not a

limiting factor for growth. They were supplemented with 0.2% of a premix which supplies vitamin E to prevent PUFA from oxidation. Feed consumption per animal was measured twice a week throughout the rearing phase by subtracting feed refusal from distributed feed quantities. Animals were weighed once a week, in the morning and before feed distribution. Before the end of the experiment, a pig on diet EL- was removed from the experiment because of health problem.

Slaughter and carcass measurements

At 114.5 kg LW \pm 7.4 kg after 16 hours fasted period, pigs were stunned by electronarcosis and slaughter by bleeding according to the European rules. After evisceration, liver, heart and kidney were removed from the carcass and weighed. Then, the carcass was split into two parts and weighed in order to know total hot weight. Blood and 100 g \pm 30 g of each tissue were sampled to determine their fatty acids composition. Blood was collected during the bleeding. The liver was sampled at the point of the second lobe, the *longissimus dorsi* muscle (LD) and the subcutaneous backfat (SCB) were sampled at the level of the third last rib on the right side of the carcass. The belly was also sampled on the right side of the carcass at the same level of LD and SCB. Other tissues were sampled along the carcass: subcutaneous adipose tissue of the neck (SCN) and ham (SCH) (around the tail), internal adipose tissue of ham (IH) situated between the *gracilis* and *semitendinosus* muscles, a part of the flare fat, the *semimembranosus* muscle (SM) and the diaphragm muscle. Blood and tissues samples were individually packed and frozen at -20°C until analyses. Carcasses were cooled at 1°C for 24 hours and then the pH was measured on LD muscle with a mobile pH-meter at the level of the third last rib. Meat colour (L, a and b) of LD was evaluated with a calibrated colorimeter (CR 300, Konica Minolta, France).

Chemical analyses

Diets were analyzed based on feed sampled each week and pooled to obtain a sham feeding. The dry matter of the diets was measured according to an AFNOR norm (Afnor, 1982), the amount of crude protein according to an ISO norm (ISO, 2008) and crude energy was measured in an adiabatic bomb calorimeter according to an ISO method (ISO, 1998). Finally, crude fiber was measured according to the Weende method (Henneberg and Stohman, 1860) and the AFNOR norm (Afnor, 1993) and acid detergent (ADF), neutral detergent (NDF) fiber and acid detergent lignin (ADL) were determined by the Van Soest Method (Van Soest and Wine, 1967).

Table 2. Effect of dietary fatty acid composition on growth performance and carcass trait in growing-finishing pigs

	C	EL	EL-	Rsd	Effect
N	12	12	12		
Initial body weight (kg)	50.5	51.3	50.9	2.6	NS
Final body weight (kg)	114.3	114.1	115.2	7.7	NS
Total feed consumption (kg)	185.9	179.2	182.2	16.9	NS
Feed ratio (kg/kg)	1.6	1.6	1.6	0.1	NS
ADG (kg/day)	1.1	1.1	1.1	0.1	NS
Hot carcass weight (kg)	91.4	90.6	92.5	6.3	NS
Carcass muscle (%)	59.9	60.2	60.6	1.6	NS
Carcass yield (%)	80.0	79.4	80.2	1.1	NS

C = control diet, EL = extruded linseed diet, EL- = EL poor fiber diet, Rsd = Residual standard deviation, ADG = average daily gain, NS = not significant.

Fatty acid composition

Lipids of the blood were extracted according to the method of Morrison and Smith, 1964. Lipids of other tissues were cold extracted using chloroform/methanol (v/v 2:1) (Folch et al., 1957). FA methyl esters were saponified with a methanolic sodium hydroxide solution in the presence of C17:0 as the internal FA standard. Then, they were methylated with boron trifluoride (BF₃) (Morrison and Smith, 1964). FA methyl esters were recovered with pentane plus distilled water solution and analysed by gas chromatography (7890 GC system, Agilent technologies, USA). Chromatograph was equipped with capillary column of 0.25 mm × 30 m in polysiloxane polymer filled with dimethylpolysiloxane and 50% of cyanopropylphenyl in stationary phase. Temperature program began at 150°C and increased by 4°C per minute up to 220°C. The temperature was maintained at 220°C for 10.5 minutes. Injector and flame ionization detector temperatures were kept constant at 220 and 280°C, respectively. Hydrogen was the carrier gas. Retention times and peaks were determined using chromatography software ChemStation Agilent. The identity of the peaks was verified by comparison with the retention time of standard FA methyl esters. Results were expressed as the percentage of the total FA in diets and in mg per 100 g of tissue. Total SFA was the sum of C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0 and C24:0. Total MUFA was the sum of C14:1, C16:1 (n-7 and n-9), C18:1 (n-7 and n-9), C20:1 n-9, C22:1 (n-9 and n-11) and C24:1. Total PUFA was the sum of n-6 PUFA (C18:2, C18:3, C20:3, C20:4, C22:4 and C22:5), n-3 PUFA (C18:3, C18:4, C20:3, C20:4, C20:5, C22:5 and C22:6) and C20:2.

Statistical analyses

Data was analyzed by ANOVA type III (Proc GLM) procedure of SAS® 9.4 with the diet or the tissue as main factor. Results were presented as LSmean. To compare tissues, only multiple comparisons Bonferroni-test results were presented, when P-values were lower than 0.05. Results were expressed in percentage of total FA.

Results

Growth and slaughter performances

The diet did not have any effect on growth and carcass performances (Table 2).

Diet effect on fatty acid composition

The diet had a statistical effect on the FA composition. A significant increase ($P < 0.05$) of C18:3 n-3 and n-3 PUFA content was observed between the C, EL and EL- diets in some tissues (Tables 3, 4, 5).

Table 3. Total fat (%) and fatty acid composition (% of total FA) of blood and liver of pigs fed experimental diets (N=36)

	plasma					erythrocytes					liver				
	diet			Rsd	Effect	diet			Rsd	Effect	diet			Rsd	Effect
	C	EL	EL-			C	EL	EL-			C	EL	EL-		
Total fat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.90	3.87	3.74	0.53	NS
C16:0	15.58	15.90	16.34	1.09	NS	19.01	19.08	18.81	2.83	NS	13.84	13.88	14.51	1.34	NS
C18:0	10.62	10.53	10.57	1.37	NS	18.29	17.56	18.30	2.33	NS	27.62	28.04	26.16	3.48	NS
C18:1	28.26	26.96	26.37	2.51	NS	32.59	31.30	29.54	2.95	NS	15.89	14.80	15.01	2.83	NS
C18:2n-6	28.06	27.81	27.45	3.31	NS	13.53	14.78	15.34	4.01	NS	15.23 ^a	16.97 ^b	17.31 ^b	1.56	**
C18:3n-3	0.90 ^a	4.20 ^b	4.51 ^b	0.56	***	0.58 ^a	1.73 ^b	1.82 ^b	0.49	***	0.40 ^a	2.03 ^b	2.25 ^b	0.52	***
C20:5n-3	0.52 ^a	1.61 ^b	1.38 ^b	0.45	***	0.39 ^a	0.55 ^{ab}	0.68 ^b	0.24	*	0.59 ^a	3.02 ^b	2.87 ^b	0.52	***
C22:6n-3	0.53	0.41	0.72	0.45	NS	0.58	0.79	0.69	0.42	NS	1.75	1.46	1.78	0.99	NS
n-3	2.785 ^a	7.48 ^b	7.86 ^b	0.72	***	3.31 ^a	5.43 ^b	5.52 ^b	1.40	***	4.94 ^a	10.16 ^b	10.88 ^b	1.34	***
n-6	35.86 ^a	32.50 ^b	32.03 ^b	3.23	*	20.06	19.78	21.03	4.93	NS	33.59 ^a	29.39 ^b	29.68 ^b	2.45	***
SFA	28.14	28.54	29.09	1.86	NS	39.52	38.90	39.58	4.45	NS	42.05	42.52	41.26	2.77	NS
MUFA	33.07	31.23	30.74	2.76	NS	36.92	35.70	33.69	3.47	NS	19.04	17.54	17.73	3.26	NS
PUFA	38.79	40.24	40.17	3.47	NS	23.56	25.40	26.73	5.93	NS	38.92	39.94	41.01	3.07	NS
n-6/n-3	13.75 ^a	4.38 ^b	4.08 ^b	1.95	***	6.12 ^a	3.80 ^b	3.99 ^b	1.02	***	7.22 ^a	2.93 ^b	2.77 ^b	1.06	***
LA/ALA	31.40 ^a	6.83 ^b	6.13 ^b	2.50	***	27.33 ^a	8.96 ^b	8.54 ^b	7.96	***	42.95 ^a	9.41 ^b	8.18 ^b	9.32	***

C = control diet, EL = extruded linseed diet, EL- = poor fiber extruded linseed diet, Rsd = residual standard deviation, SFA = sum of saturated fatty acids, MUFA = sum of monounsaturated fatty acids, PUFA = sum of polyunsaturated fatty acids, n-6/n-3 = sum of n-6 fatty acids/sum of n-3 fatty acids ratio, LA/ALA = linoleic acid/linolenic acid ratio. For each trait, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the diet.

NS = not significant, *P< 0.05, **P< 0.01 and ***P< 0.001

There is a significant difference between the C diet vs extruded linseed diets for FA also in some muscles and adipose tissues ($P < 0.05$). The three subcutaneous adipose tissues (SCN, SCB and SCH) of pigs fed with linseed diets contain less C16:0 than those of pigs fed with the C diet. The total SFA content of the SCN of pigs fed with linseed was lower than those of pigs fed with the C diet. As SFA, the C18:1 content of the diaphragm and the IH of pigs fed with linseed was lower than those of pigs fed with C. In the same way, the total MUFA content of the diaphragm, the SCB, the SCH, the belly and the IH of pigs fed with the EL- and EL diets was lower than the C diet. The total n-6 PUFA content was lower in the plasma and the liver of pigs fed with linseed. In contrast, the extruded linseed diets increased the content of C18:2 n-6 of the liver of pigs. The C18:3 n-3 content of the SM muscle, the SCN, the belly, the IH, the liver and the blood (plasma + erythrocytes) increased with linseed diets. It was also the case for other n-3 FA, such as the C20:5 n-3 content and the n-3 PUFA content. Consequently, the n-6/n-3 and the C18:3 n-6/C18:3 n-3 (LA/ALA) ratios decreased in all the tissues assayed compared to the C diet. The total PUFA content of the diaphragm, the three subcutaneous adipose tissues, the belly and the IH was also higher when pigs were fed with linseed compared to pigs fed the C diet (Tables 3, 4, 5).

Tissue location effect on the total fat content

The diaphragm contains respectively three and four times more fat than SM and LD muscle whatever the diet (Table 4). Subcutaneous fat (SCN, SCB and SCH) contain three times more fat (63.7%) than the belly (24.6%), whereas there is no total fat difference between IH and flare fat whatever the diet (Fig. 1).

Muscles location effect on the fatty acid composition

The diaphragm is more saturated and less monounsaturated than the SM and to a lesser extent than the LD muscle whatever the diet. There is no statistical difference of C18:2 n-6 content between tissues, but the diaphragm contained less n-6 PUFA than SM and LD muscle. The diaphragm had more C18:3 n-3, but less n-3 derivatives (C20:5, C22:5 and C22:6) content than SM and LD muscle whatever the diet. The diaphragm contained less total n-3 PUFA than the SM and LD muscle when pigs were fed with C diet. It was also less polyunsaturated than SM and LD muscle whatever the diet (Table 4).

Adipose tissue location on fatty acid composition

The belly was more saturated than the SCH and the SCN, but not the SCB whatever the diet. These three tissues contain the same MUFA content whatever the diet. In contrast, the

Table 4. Total fat (%) and fatty acid (% of total FA) content of pigs' muscle (*semimembranosus*, *longissimus dorsi* and diaphragm) fed experimental diets (N=36)

	diet	SM	LD	diaphragm
Total fat	C	2.36 ^{ax}	1.48 ^a	6.83 ^b
	EL	1.85 ^{ay}	1.52 ^a	6.19 ^b
	EL-	1.99 ^{axy}	1.68 ^a	5.57 ^b
C16:0	C	22.22 ^a	23.45 ^a	25.00 ^b
	EL	21.60 ^a	23.02 ^b	24.25 ^b
	EL-	21.50 ^a	22.79 ^{ab}	23.82 ^b
C18:0	C	11.45 ^a	11.87 ^a	16.69 ^b
	EL	10.98 ^a	12.37 ^b	17.08 ^c
	EL-	10.89 ^a	12.08 ^b	16.79 ^c
C18:1	C	40.39 ^a	38.56 ^{ab}	38.09 ^{bx}
	EL	39.01 ^a	37.79 ^a	36.06 ^{by}
	EL-	39.61 ^a	37.12 ^{ab}	34.93 ^{by}
C18:2 n-6	C	11.18	11.21	9.86 ^x
	EL	12.39	11.36	10.59 ^{xy}
	EL-	12.15	12.20	11.96 ^y
C18:3 n-3	C	0.58 ^{abx}	0.48 ^{ax}	0.60 ^{bx}
	EL	1.92 ^{ay}	1.68 ^{ay}	2.48 ^{by}
	EL-	2.03 ^{ay}	1.99 ^{az}	2.96 ^{bz}
C20:5 n-3	C	0.15 ^{ax}	0.16 ^{ax}	0.05 ^{bx}
	EL	0.52 ^{ay}	0.51 ^{ay}	0.18 ^{by}
	EL-	0.48 ^{ay}	0.55 ^{ay}	0.22 ^{by}
C22:5 n-3	C	0.34 ^{ax}	0.41 ^{ax}	0.15 ^{bx}
	EL	0.70 ^{ay}	0.76 ^{ay}	0.36 ^{by}
	EL-	0.66 ^{ay}	0.83 ^{ay}	0.39 ^{by}
C22:6 n-3	C	0.22 ^a	0.28 ^a	0.07 ^b
	EL	0.20 ^a	0.27 ^b	0.08 ^c
	EL-	0.20 ^a	0.29 ^b	0.09 ^c
n-3	C	1.56 ^{ax}	1.49 ^{ax}	1.09 ^{bx}
	EL	3.91 ^y	3.62 ^y	3.56 ^y
	EL-	3.96 ^y	4.09 ^y	4.19 ^z
n-6	C	14.30 ^{ab}	14.97 ^a	11.32 ^b
	EL	15.07 ^a	14.15 ^{ab}	11.79 ^b
	EL-	14.64	15.13	13.24
SFA	C	35.40 ^a	36.83 ^a	43.36 ^b
	EL	34.08 ^a	36.89 ^b	42.97 ^c
	EL-	33.82 ^a	36.29 ^b	42.17 ^c
MUFA	C	48.35 ^a	46.41 ^{ab}	43.86 ^{bx}
	EL	46.53 ^a	45.00 ^a	41.29 ^{by}
	EL-	47.16 ^a	44.15 ^a	39.96 ^{by}
PUFA	C	16.25 ^{ab}	16.76 ^a	12.78 ^{bx}
	EL	19.40 ^a	18.10 ^{ab}	15.74 ^{by}
	EL-	19.02	19.56	17.87 ^y
n-6/n-3	C	9.18 ^{ax}	10.10 ^{abx}	10.42 ^{bx}
	EL	3.84 ^{ay}	3.91 ^{ay}	3.30 ^{by}
	EL-	3.71 ^{ay}	3.69 ^{ay}	3.16 ^{by}
LA/ALA	C	19.31 ^{ax}	23.76 ^{bx}	16.46 ^{ax}
	EL	6.48 ^{ay}	6.80 ^{ay}	4.27 ^{by}
	EL-	6.03 ^{ay}	6.14 ^{ay}	4.07 ^{by}

C = control diet, EL = extruded linseed diet, EL- = poor fiber extruded linseed diet, SFA = saturated fatty acids, MUFA = monounsaturated fatty acids, PUFA = polyunsaturated fatty acids, SFA = sum of SFA, MUFA = sum of MUFA, PUFA = sum of PUFA, n-6/n-3 = sum of n-6 fatty acids/sum of n-3 fatty acids ratio, LA/ALA = linoleic acid/linolenic acid ratio. For each line, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the tissue. For each column, results with different superscripts letters (x, y, z) differ (P<0.05) according to the diet.

belly contained as much C18:2 n-6 and n-6 PUFA as the SCB, but less than SCH and SCN whatever the diet. The belly also contained less C18:3 n-3 than the three others tissues whatever the diet. The C20:5 n-3 content of the SCH was 20 to 30 times more than in the other tissues according to the diet. In contrast all the tissues contained the same amount of C22:5 and C22:6 n-3 whatever the diet. The SCH and the SCN contained between 2 and 3 percentage points more PUFA than the SCB and 3 to 6 percentage points more PUFA than the belly according to the diet (Table 5).

The flare fat was the most saturated and the least monounsaturated subcutaneous adipose tissue whatever the diet. The IH was as much saturated as subcutaneous adipose tissues. The belly, the SCB and the flare fat contained less PUFA than the other tissues (Figs. 1, 2). The flare fat contained as much C18:2 n-6, total n-6 PUFA and C18:3 n-3 as the belly and the SCB, but less than IH, SCN and SCH whatever the diet. The SCH always contained the highest content of C20:5 n-3. Indeed, the SCH contained 30 times more C20:5 n-3 than other tissues in the C diet, 3 times more than the others tissues when pigs were fed with EL diet and 3 times more than SCB and flare fat when feeding with EL- diet. The SCB contained more of C22:6 n-3 than other tissues whatever the diet. The belly, the SCB and the flare fat contained less total n-3 PUFA and PUFA than the other tissues. The UFA/SFA (unsaturated/saturated FA) revealed that the SCH and the SCN are the tissues the most polyunsaturated with a ratio equal to 1.65 in the C diet, range 1.72-1.82 in the EL diet and 1.82 in the EL- diet, whereas the flare fat was the tissue the most saturated with a ratio equal to 1.04 with the C diet, 1.07 with EL diet and 1.08 with the EL- diet. However, the highest n-6/n-3 ratio gap between the C and the EL diets takes place in the SCB and the flare fat from 10 (C diet) to 2.5 (EL diets) (Table 5).

Discussion

Dietary fatty acids effect on growth and carcass performances

The growth and carcass performances were not affected by the lipid quality of the diet, which is in agreement with some studies (Guillevic et al., 2009b; Della Casa et al., 2010; Okrouhlá et al., 2013).

Tissue location and dietary fatty acids effect on lipid content of tissues

With this experiment, we showed that the diaphragm contained more fat than the SM and the LD muscle whatever the diet that pigs received. This confirmed the result of Allen et al., (1967). This difference is explained by the nature of the muscle fiber and the

Table 5. Total lipid (%) and fatty acid (% of total FA) content of subcutaneous adipose tissue of pigs fed experimental diets

	diet	SCH	IH	SCN	SCB	belly	flare fat
C16:0	C	23.13 ^x	24.79 ^a	23.18 ^x	24.20 ^x	24.96	27.29 ^b
	EL	21.96 ^{ay}	23.56 ^a	21.59 ^{ay}	22.98 ^{ay}	26.12 ^b	26.47 ^b
	EL-	21.50 ^{ay}	23.50 ^{bc}	21.78 ^{ay}	22.81 ^{aby}	23.80 ^b	26.13 ^d
C18:0	C	13.01 ^a	14.10 ^{ab}	13.01 ^a	15.96 ^b	14.76 ^b	19.83 ^c
	EL	13.23 ^a	13.90 ^{ab}	12.38 ^a	15.58 ^b	16.48 ^b	19.98 ^c
	EL-	12.58 ^a	13.85 ^{ab}	12.14 ^a	15.38 ^{ab}	14.69 ^b	20.18 ^c
C18:1	C	38.94 ^x	36.22 ^{bx}	39.37	38.70 ^x	38.66	33.49 ^{cx}
	EL	37.58 ^{aby}	33.78 ^{by}	38.29 ^b	37.24 ^{abxy}	34.66 ^a	31.97 ^{bxy}
	EL-	38.07 ^{xy}	33.49 ^{by}	37.81	36.99 ^y	37.27	30.76 ^{by}
C18:2 n-6	C	13.87 ^a	13.82 ^a	13.85 ^a	11.94 ^{ab}	11.03 ^b	11.14 ^b
	EL	14.17 ^a	14.84 ^a	14.50 ^a	12.22 ^b	10.63 ^b	10.68 ^c
	EL-	14.27 ^a	14.96 ^a	14.50 ^a	12.39 ^b	11.34 ^b	11.72 ^c
C18:3 n-3	C	1.04 ^{ax}	0.98 ^{ax}	0.98 ^{ax}	0.73 ^{bx}	0.75 ^{bx}	0.73 ^{bx}
	EL	3.87 ^{ay}	4.01 ^{ay}	3.80 ^{ay}	3.68 ^{ay}	2.96 ^{by}	3.48 ^{aby}
	EL-	4.19 ^{az}	4.32 ^{ay}	4.10 ^{ay}	4.03 ^{az}	3.35 ^{by}	4.06 ^{az}
C20:5 n-3	C	0.35 ^a	0.00 ^{bx}	0.01 ^{bx}	0.00 ^{bx}	0.08 ^b	0.05 ^b
	EL	0.18 ^a	0.11 ^{aby}	0.06 ^{aby}	0.05 ^{by}	0.13 ^{ab}	0.07 ^{ab}
	EL-	0.27 ^a	0.08 ^{bxy}	0.11 ^{by}	0.05 ^{by}	0.11 ^b	0.06 ^b
C22:5 n-3	C	0.09 ^{abx}	0.09 ^{abx}	0.08 ^{aby}	0.07 ^{bx}	0.10 ^{ax}	0.07 ^{ax}
	EL	0.18 ^y	0.18 ^{aby}	0.18 ^y	0.16 ^y	0.16 ^y	0.15 ^{ay}
	EL-	0.21 ^z	0.21 ^z	0.21 ^y	0.17 ^y	0.20 ^z	0.17 ^y
C22:6 n-3	C	0.08 ^{ab}	0.06 ^a	0.06 ^a	0.11 ^b	0.07 ^a	0.07 ^a
	EL	0.07 ^{ab}	0.07 ^a	0.06 ^b	0.10 ^a	0.09 ^a	0.06 ^a
	EL-	0.08	0.08 ^{ab}	0.06	0.11	0.09	0.08 ^{ab}
n-3	C	2.13 ^{ax}	1.55 ^{bcx}	1.74 ^{abx}	1.14 ^{cx}	1.34 ^{bcx}	1.07 ^{dx}
	EL	5.08 ^{ay}	5.14 ^{ay}	4.98 ^{ay}	4.71 ^{ay}	3.94 ^{by}	4.29 ^{bcy}
	EL-	5.61 ^{az}	5.53 ^{ay}	5.42 ^{ay}	5.13 ^{az}	4.38 ^{by}	4.94 ^{abz}
n-6	C	14.64 ^a	14.55 ^a	14.51 ^a	12.41 ^{ab}	11.79 ^b	11.56 ^b
	EL	14.70 ^a	15.46 ^a	15.05 ^a	12.56 ^b	11.13 ^b	10.95 ^b
	EL-	14.92 ^a	15.58 ^a	15.03 ^a	12.77 ^b	11.87 ^b	12.03 ^c
SFA	C	37.84 ^{ax}	40.74 ^b	37.79 ^{ax}	41.74 ^{bx}	41.57 ^b	48.98 ^c
	EL	36.77 ^{axy}	39.26 ^{ab}	35.52 ^{ay}	40.12 ^{abxy}	44.36 ^b	48.25 ^c
	EL-	35.57 ^{ay}	39.07 ^b	35.48 ^{ay}	39.70 ^{by}	40.25 ^b	48.08 ^c
MUFA	C	44.75 ^x	42.44 ^{ax}	45.33	44.08 ^x	44.81 ^x	37.97 ^{bx}
	EL	42.78 ^y	39.34 ^{acy}	43.78	41.98 ^y	39.92 ^y	36.11 ^{cexy}
	EL-	43.17 ^y	38.89 ^{by}	43.40	41.77 ^y	42.94 ^{xy}	34.52 ^{cy}
PUFA	C	17.41 ^{ax}	16.81 ^{abx}	16.88 ^{abx}	14.17 ^{bcx}	13.62 ^{cx}	13.05 ^{dx}
	EL	20.44 ^{ay}	21.40 ^{ay}	20.70 ^{ay}	17.90 ^{by}	15.72 ^{by}	15.64 ^{cxy}
	EL-	21.25 ^{ay}	22.03 ^{ay}	21.11 ^{aby}	18.53 ^{bcy}	16.81 ^{cy}	17.40 ^{dy}
n-6/n-3	C	7.19 ^{ax}	9.44 ^{bcx}	8.68 ^{bx}	10.90 ^{cx}	8.86 ^{bx}	10.75 ^{bdx}
	EL	2.90 ^{ay}	3.02 ^{ay}	3.04 ^{ay}	2.66 ^{by}	2.83 ^{aby}	2.55 ^{cy}
	EL-	2.66 ^{ay}	2.81 ^{ay}	2.77 ^{ay}	2.48 ^{by}	2.70 ^{ay}	2.42 ^{by}
LA/ALA	C	13.42 ^{ax}	14.09 ^{abx}	14.26 ^{acx}	16.63 ^{bx}	14.79 ^{cx}	15.19 ^{cx}
	EL	3.68 ^{ay}	3.71 ^{ay}	3.83 ^{ay}	3.33 ^{by}	3.62 ^{ay}	3.07 ^{cy}
	EL-	3.41 ^{ay}	3.45 ^{ay}	3.55 ^{ay}	3.07 ^{by}	3.38 ^{ay}	2.88 ^{by}
UFA/SFA	C	1.65 ^a	1.46 ^b	1.66 ^a	1.40 ^b	1.41 ^b	1.04 ^c
	EL	1.72 ^{ab}	1.55 ^{ac}	1.82 ^b	1.50 ^c	1.30 ^d	1.07 ^e
	EL-	1.82 ^a	1.58 ^b	1.82 ^a	1.53 ^b	1.49 ^b	1.08 ^c

SCH = subcutaneous adipose tissue of ham; SCN = subcutaneous adipose tissue of neck; SCB = subcutaneous adipose tissue of back, C = control diet, EL = extruded linseed diet, EL- = poor fiber extruded linseed diet, SFA = saturated fatty acids, MUFA = monounsaturated fatty acids, PUFA = polyunsaturated fatty acids, SFA = sum of SFA, MUFA = sum of MUFA, PUFA = sum of PUFA, n-6/n-3 = sum of n-6 fatty acids/sum of n-3 fatty acids ratio, LA/ALA = linoleic acid/linolenic acid ratio. For each line, results with different superscripts letters (a, b, c) differ (P<0.05) according to the tissue. For each column, results with different superscripts letters (x, y, z) differ (P<0.05) according to the diet.

physiological role of the muscle. Indeed, it was demonstrated that the LD as some ham muscle are white glycolytic fast and slow contractile muscles, whereas muscle of the anterior part of the body and deep muscles are considered as red oxidative low tensing muscle as the diaphragm (Lefaucheur et al., 1992). This confirmed past results who showed that oxidative muscles contained more fat than glycolytic muscle (Cassens and Cooper, 1971; Essén-Gustavsson et al., 1994). The flare fat of our experiment contained 68% of lipids which is significantly different from the SCH (58.7%), but not from the SCB (64.1%) when pigs consumed C and EL diets. We found the same total fat content of the flare fat than Monziols et al., (2007), despite the use of different breeds. The IH contained more lipids (68.2%) than the SCH (56.6%) when pigs were only fed with EL diet and its content was not significantly different from other tissues whatever the diet.

Contrary to the SM muscle, the fatty acid composition of the diet did not have effect on the lipid content of the LD muscle and the diaphragm, which is confirmed by other studies in pigs and cows (Mourot et al., 1995; Habeanu et al., 2014). Except the SCH, the diet did not have any effect on the lipid content of other subcutaneous adipose tissues. This result was confirmed for the SCB in other pig studies (Kouba et al., 2003; Wilfart et al., 2004; Corino et al., 2008). In the same way, the FA composition of the diet did not have effect on the lipid content of the flare fat and the IH. Results confirmed the studies on pig and rabbit flare fat composition of Kouba et al., (2008) and Benatmane et al., (2011) and ham of Musella et al., (2009).

Tissue location and dietary fatty acids effect on fatty acids composition of tissues

The FA of the diaphragm were more saturated but less monounsaturated and polyunsaturated than FA of the SM and LD muscle whatever the diet. This result disagreed with the study of Malmfors et al. (1978), who found that *Quadriceps femoris*, a red muscle contained 6 to 7 % more PUFA than LD muscle (Bout and Girard, 1988a). The diaphragm is a skeletal muscle, which is capable of adapting its metabolism to the environment such as nutrient availability. For example, it could replace glucose by long chain FA (LCFA) to provide energy during short-term (24-48h) starvation. Pigs during our experiment were fasting 16 hours before slaughter, which seems being sufficient to decrease the MUFA and PUFA content of the diaphragm. Monounsaturated and polyunsaturated FA, which are considered as LCFA, supplied diaphragm energy. According to its specific function, we could hypothesized that these n-3 PUFA are more introduced in diaphragm muscle cells as phospholipids than neutral lipids permitting to increase nutrients exchange in the diaphragm

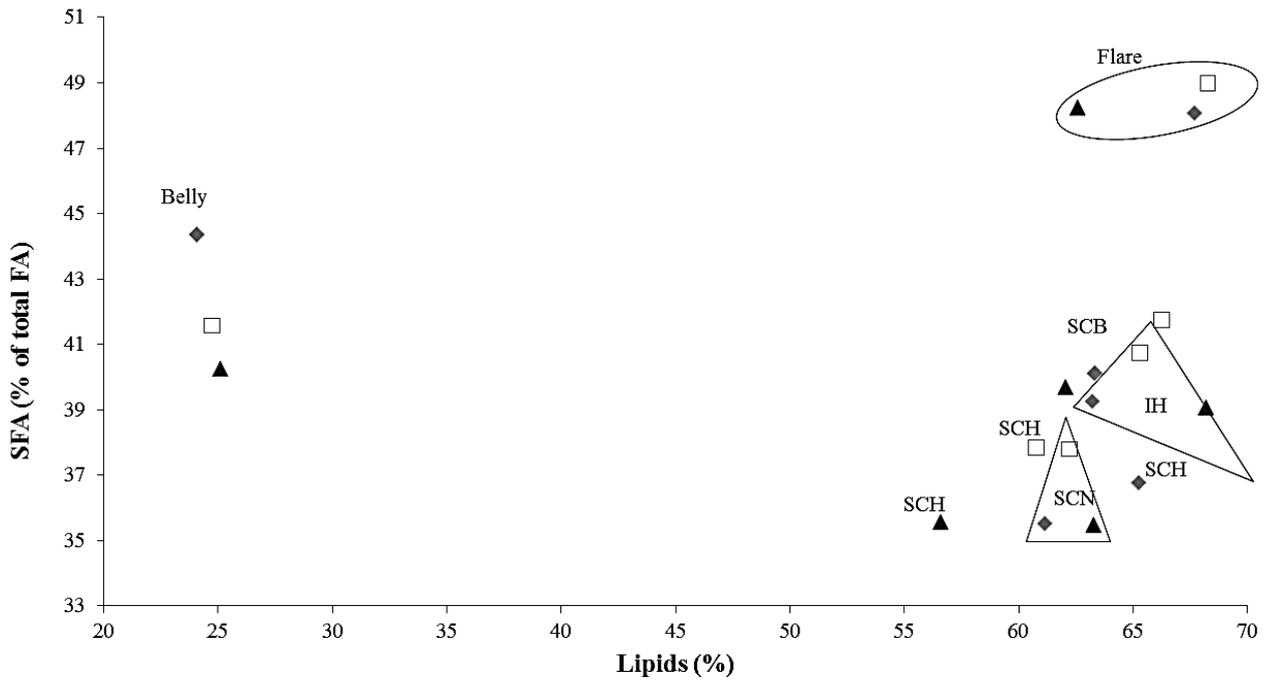


Fig 1. Relationship between lipid content and proportion of saturated fatty acids according to tissues and diet (□ C diet, ◆ EL diet, ▲ EL- diet)

(Bout and Girard, 1988b). Diaphragm seems also be less able to catch the n-3 PUFA derivatives than the other two muscles. Indeed, it contained more C18:3 n-3 but less C20:5, C22:5 and C22:6 n-3 than the LD and SM muscle whatever the considered diet.

The analysis of the FA composition of the subcutaneous adipose tissue revealed a higher degree of saturation in the middle of the carcass represented by the SCB and the belly. In contrast, the FA of the front and back end of the carcass, represented by the SCN and the SCH, were more polyunsaturated, especially with n-3 and n-6 FA than the middle. This could be explained by the fact that SCB and the belly are tissues of SFA synthesis, whereas the SCN and in a lesser extent the SCH are tissues of FA storage. Indeed, the review of Mourot et al., (1999), explained that the lipogenesis capacity is higher in the SCB and the belly than the SCN. The FA of the flare fat were the most saturated compared to other fat tissues whatever the diet. This confirmed the result of Girard et al., (1988), who showed that the FA of the flare fat was more saturated (52%) than the SCB (42%). According to Mourot et al., (1999), the intensity of the lipogenesis varied in fat tissues depending on the anatomical location. It is the highest in the flare fat compared to other fat tissues (SCH, SCB, belly, IH, intermuscular fat of shoulder, SCN and subcutaneous fat of the throat). Lipids of the flare fat were also the less monounsaturated, which is also confirmed by Girard et al., (1988). Indeed, the MUFA content of fat tissues follows a gradient, which is the highest in the outer layer of the subcutaneous adipose tissue followed by the inner layer, the intermuscular fat and the flare fat (Monziols et al., 2007). The flare fat, the belly and the SCB contained less C18:2 n-6, n-6 PUFA, C18:3 n-3, n-3 PUFA and PUFA than the other tissues (IH, SCN and SCH), confirming that the lipids of flare fat are poorly polyunsaturated. Moreover, the SCH seems to be the preferred tissue of C20:5 n-3 storage, whereas the SCB contained more of C22:6 n-3 than the other fat tissues.

The diet had also an effect on the fatty acids composition of the tissues. The deposition of C18:3 n-3 has been improved by 18% with EL poor fiber compared to extruded linseed in the LD muscle. In France, the LD muscle is consumed as fresh meat as roast or with the rib. As an example, this performance of EL poor fiber to bring a higher content of C18:3 n-3 correspond to a supply of 13.1% of ALA needs by 100g of a cooked pork rib. In contrast, this supply is lower (11.6%) with pork rib derived from pigs fed extruded linseed. So, there is a nutritional interest to consume muscles products from pigs fed with EL poor fiber compared to extruded linseed. The deposition of C18:3 n-3 has also been improved by EL poor fiber compared to extruded linseed in the diaphragm (19%), but not in the SM muscle. The C20:5 n-3 (EPA) content, which is a C18:3 n-3 derivative, of these three muscles was increased by linseed diets. The low content of C22:6 n-3 (DHA) is in accordance with the results of

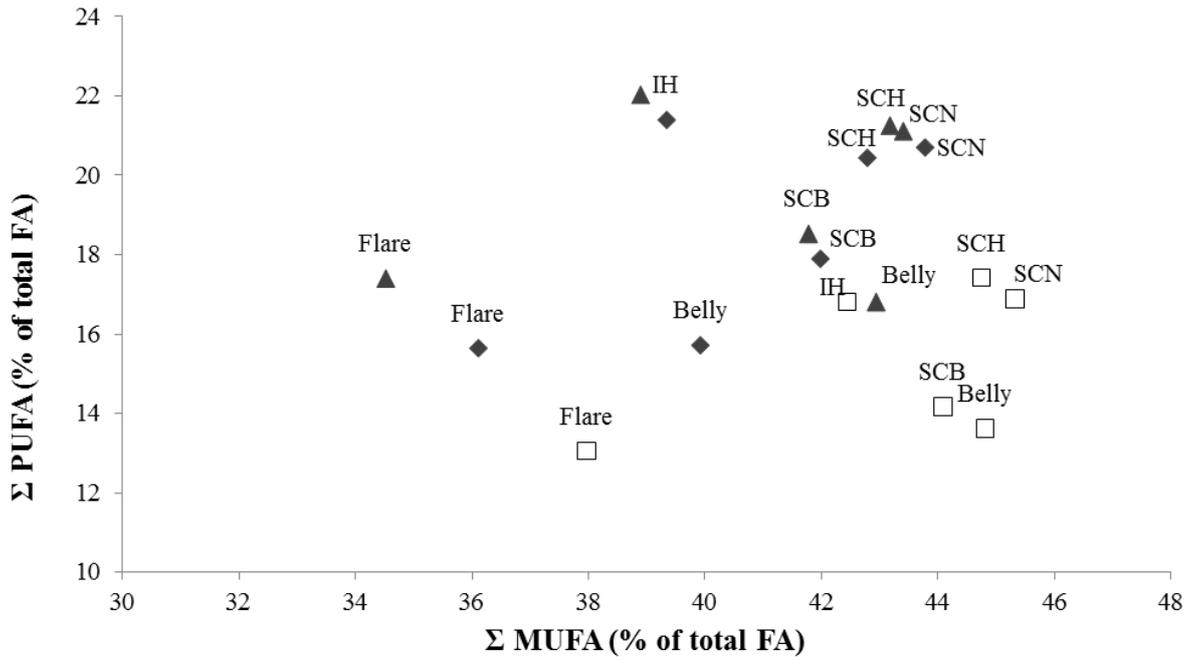


Fig 2. Relationship between proportion of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids according to tissues and diet (□ C diet, ◆ EL diet, ▲ EL- diet)

Brenna, 2002; Burdge and Calder, 2005. It was explained that the conversion ratio of C18:3 n-3 to DHA is lesser than 1%. Unlike, the ALA-EPA conversion is higher ($\approx 5\%$) than ALA-DHA (Plourde and Cunnane, 2007).

Feeding pigs with linseed decreased the C16:0, the SFA and the MUFA content and in contrast increased the C20:5 n-3 and the PUFA content but not the C22:6 n-3 of the three dorsal subcutaneous adipose tissues. In the same way, feeding pigs with linseed decreased the MUFA and increased the C18:3 n-3, the n-3 PUFA and the PUFA content of the belly, whereas other FA content was not impacted by the diet. Concerning the SFA content, the decreasing activity of fatty acid synthase, which is involved in lipogenesis, in the SCB with a supply of dietary n-3 PUFA could explain the lower deposition of these FA in adipose tissue (De Tonnac et al., 2016). Indeed, the lipogenic activity, which mainly takes place in fat tissues after the weaning of pigs, is decreased with the supply of linseed as described by other studies (Guillevic et al., 2009b; Benatmane et al., 2011). However, according to our experiment, this seems to be true for dorsal but not for ventral adipose tissues. Concerning the MUFA content, the decreasing activity of $\Delta 9$ -desaturase, which generates MUFA from SFA, after a supply of linseed in the diet of pigs could explain the lower amount of these FA in dorsal subcutaneous adipose tissues (Kouba et al., 2003; Guillevic et al., 2009b). Decreasing the fiber content of the linseed increased by 9% the C18:3 n-3 and n-3 PUFA deposition in the SCB and the SCH of pigs compared with EL diet. The high n-3 PUFA content of the SCB, SCH and the belly of pigs fed linseed is due to the significant high content of C18:3 n-3. The C20:5 and C22:6 n-3 content of the SCB and SCH were not different between the two diets, showing a limited capacity of these tissues to catch or synthesize n-3 PUFA derivatives. The C16:0 and the SFA content of the IH and the flare fat were not impacted by the diet (Guillevic et al., 2009). In contrast, the C18:3 n-3 content of the flare fat and the IH was significantly increased with the introduction of linseed in diet. However, the C18:3 n-3 and n-3 PUFA content of flare fat but not the IH of pigs fed EL- was significantly higher than pigs fed EL. Indeed, the C18:3 n-3 content of the flare fat increased by 17% with EL linseed poor fiber compared to extruded linseed. Moreover, the increasing content of C18:3 n-3 in the flare fat did not permit to increase the content of its n-3 PUFA derivatives such as C20:5 and C22:6. This result disagreed with Guillevic et al., 2009, who found that, C20:5 n-3 content of leaf fat was increased with linseed. In contrast, the C20:5 n-3 but not C22:6 n-3 content of the IH was significantly increased with a supply of linseed in diets which is confirmed by the study of Musella et al., 2009. The IH seems to have a higher capacity than the flare fat to catch the C20:5 n-3 probably coming from the liver.

Metabolism of fatty acids

There was no significant differences in FA composition between EL and EL- diet of blood (plasma and erythrocytes) and liver. However, the linseed diets decreased the n-6 PUFA of the liver, due to the decrease of C18:3, C20:4, C22:4 and C22:5 n-6 (data not presented) (Matthews et al., 2000; D'Arrigo et al., 2002; Duran-Montge et al., 2009). They also decreased the n-6 PUFA of the plasma (Kouba et al., 2003). These result confirmed the competition between n-6 and n-3 families for the $\Delta 6$ desaturase (de Antueno et al., 2001). In our experiment, this enzyme is monopolized to synthesize the C20:5 n-3 from C18:3 n-3 at the expense of n-6 PUFA derivatives from C18:2 n-6. In contrast, the linseed diets increased the C18:3 n-3 of the blood (Matthews et al., 2000; Kouba et al., 2003). This result is observed whereas pigs were fasted 16 hours before slaughter. This means that the transport from the blood to the tissues of exogenous FA, coming from diets, takes place a long time after feeding. The linseed diets also increased the C20:5 n-3 and the n-3 PUFA content of the blood (Matthews et al., 2000; Kouba et al., 2003) and the liver (Matthews et al., 2000; D'Arrigo et al., 2002; Duran-Montge et al., 2009). Nonhepatic tissues catch endogenous fatty acids coming from the liver. Because of a low activity of the $\Delta 6$ -desaturase in these tissues, the liver is the primary site for the production of long chain polyenoic fatty acids for peripheral tissue utilization (Scott and Bazan, 1989; Bourre et al., 1990; Cho et al., 1999). This explains that peripheral tissues had a similar fatty acids composition of the liver. It was also demonstrated that hepatic $\Delta 6$ -desaturase activity was suppressed by diets rich in vegetable or marine oil (Peluffo et al., 1976; Melin and Nilsson, 1997). The gene expression of this enzyme was also decreased by a supply of a n-3 PUFA rich diet (De Tonnac et al., 2016). This could explain the limited capacity of n-3 PUFA derivatives synthesis such as C22:6 n-3 from the C18:3 n-3. In contrast, linseed diets had no effect on the C16:0, C18:0 and SFA content of blood and liver. This result is surprising in the liver, because it was demonstrated that lipogenic enzyme activities (fatty acid synthase, malic enzyme and glucose-6-dehydrogenase) were decreased in this pig and rabbit tissue by a dietary supply of n-3 PUFA (Guillevic et al., 2009b; Benatmane et al., 2011; De Tonnac et al., 2016).

Conclusion

In this study, we compared the effect of extruded and poor fiber linseed diets on the FA deposition, especially C18:3 and n-3 PUFA, in various tissues of pigs. The objective was to enrich tissues with n-3 PUFA with dietary n-3 PUFA. Some tissues will bring more PUFA than other as the LD and SM muscle compared to the diaphragm or the SCN and SCH

compared to the flare fat. This was true if pigs were fed with a low or a high level of ALA. However, for a same tissue, the n-6/n-3 ratio is lower when pigs are fed with linseed than with a control diet. We also demonstrated that the diaphragm contained more C18:3 n-3 but less n-3 PUFA derivatives than the LD and SM muscle, showing it lesser capacity to catch the n-3 PUFA derivatives than LD and SM. In the same way, adipose tissues such as SCN, SCH and the IH contained more C18:3 n-3 than the belly, the SCB and the flare fat. Nevertheless, the SCB was the fat tissue the richest in C22:6 n-3, whereas the SCH was the fat tissue the richest in C20:5 n-3. The SCB and the belly were more saturated than other fat tissues, but the flare fat was the most saturated tissue, revealing their high lipogenesis capacity. Depending on the FA composition, these results confirmed the interest of well feeding animals for humans in order to improve their health.

The supply of extruded linseed poor fiber compared to extruded linseed significantly increases the deposition of C18:3 and n-3 PUFA in some muscle (LD and diaphragm), subcutaneous (SCB and SCH) and internal (flare fat) fat tissues, whereas the results between both diets are not significantly different between blood and liver. This permitted to increase the deposition of the derivatives of C18:3 n-3 such as C20:5 n-3, but not C22:6 n-3 in muscles (LD, SM and diaphragm), fat tissues (SCN, SCB and IH), blood and liver comparatively to the control diet. Consequently, there is a nutritional interest to feed pigs with extruded linseed poor fiber. This interest is not thwarted by the economic objective. Indeed, the diet formulated with EL poor fiber had a total extra cost of only 2 euros per ton compared to the diet formulated with extruded linseed.

Acknowledgements

This work was supported by the National Research Agency and conducted within the framework of the national Agralid Program (Project ANR 12-ALID-003). The authors wish to acknowledge the technical or temporary staff of INRA laboratory for their skilled assistance, especially Sihem Karim-Lhuisset. We also thank Valorex for providing the linseed. All authors read and approved the final version of the manuscript. The authors have no financial or personal conflicts of interest to declare.

References

- Afnor, 1982. Animal feed. Determination of water content., NF V18-109, p. 5.
- Afnor, 1993. Animal feeding stuffs and animal products - Determination of crude cellulose method. NF V03-040, p. 12.
- Allen, E., Cassens, R.G., Bray, R.W., 1967. Comparative lipid content of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.* 32, 20-25.
- Anses, 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras [Updating recommended dietary intakes for fatty acids]. p. 323.
- Benatmane, F., Kouba, M., Youyou, A., Mourot, J., 2011. Effect of a linseed diet on lipogenesis, fatty acid composition and stearoyl-CoA-desaturase in rabbits. *Animal* 5, 1993-2000.
- Bourre, J.M., Picotli, M., Dumont, O., 1990. $\Delta 6$ Desaturase in Brain and Liver During Development and Aging. *Lipids* 25, 354-356.
- Bout, J., Girard, J.P., 1988a. Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 2ème partie : Lipides et qualités du tissu musculaire. *Journées Rech. Porcine* 20, 255-278.
- Bout, J., Girard, J.P., 1988b. Lipides et qualité du tissu musculaire, facteurs de variation [Lipids and muscle tissue quality, variation factors]. *Journées Rech. Porcine* 20, 271-278.
- Brenna, J.T., 2002. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 5, 127-132.
- Burdge, G.C., Calder, P.C., 2005. Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults. *Reprod. Nutr. Dev.* 45, 581-597.
- Cassens, R.G., Cooper, C.C., 1971. Red and white muscle. *Adv. Food Res.* 19, 1-74.
- Cho, H.P., Nakamura, M.T., Clarke, S.D., 1999. Cloning, Expression, and Nutritional Regulation of the Mammalian D-6 Desaturase. *J. Biol. Chem.* 274, 471-477.
- Corino, C., Musella, M., Mourot, J., 2008. Influence of extruded linseed on growth, carcass composition, and meat quality of slaughtered pigs at one hundred ten and one hundred sixty kilograms of liveweight. *J. Anim. Sci.* 86, 1850-1860.
- D'Arrigo, M., Hoz, L., Lopez-Bote, C.J., Cambero, I., Pin, C., Ordonez, J.A., 2002. Effect of dietary linseed oil on pig hepatic tissue fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation. *Nut. Res.* 22, 1189-1196.
- de Antueno, R.J., Knickle, L.C., Smith, H., Elliot, M.L., Allen, S.J., Nwaka, S., Winther, M.D., 2001. Activity of human v5 and v6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *FEBS Letters* 509, 77-80.
- De Tonnac, A., Labussiere, E., Vincent, A., Mourot, J., 2016. Effect of alpha-linolenic acid and DHA intake on lipogenesis and gene expression involved in fatty acid metabolism in growing-finishing pigs. *Br. J. Nutr.* 116, 7-18.
- Della Casa, G., Bochicchio, D., Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Rossi, A., Panciroli, A., Mordenti, A.L., Brogna, N., 2010. Performance and fat quality of heavy pigs fed maize differing in linoleic acid content. *Meat Sci.* 84, 152-158.
- Duran-Montge, P., Theil, P.K., Lauridsen, C., Esteve-Garcia, E., 2009. Fat metabolism is regulated by altered gene expression of lipogenic enzymes and regulatory factors in liver and

adipose tissue but not in semimembranosus muscle of pigs during the fattening period. *Animal* 3, 1580-1590.

Essén-Gustavsson, B., Karlsson, A., Lundström, K., Enfält, A.-C., 1994. Intramuscular Fat and Muscle Fibre Lipid Contents in Halothane-Genotype-Free Pigs Fed High or Low Protein Diets and its Relation to Meat Quality. *Meat Sci.* 38, 269-277.

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

Girard, J.P., Bout, J., Salort, J., 1988. Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 1ère partie : Lipides et qualités du tissu adipeux. *Journées Rech. Porcine* 20, 255-278.

Guillevic, M., Kouba, M., Mourot, J., 2009a. Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats. *Meat Sci.* 81, 612-618.

Guillevic, M., Kouba, M., Mourot, J., 2009b. Effect of a linseed diet or a sunflower diet on performances, fatty acid composition, lipogenic enzyme activities and stearoyl-CoA-desaturase activity in the pig. *Livest. Sci.* 124, 288-294.

Habeanu, M., Thomas, A., Bispo, E., Gobert, M., Gruffat, D., Durand, D., Bauchart, D., 2014. Extruded linseed and rapeseed both influenced fatty acid composition of total lipids and their polar and neutral fractions in longissimus thoracis and semitendinosus muscles of finishing Normand cows. *Meat Sci.* 96, 99-107.

Henneberg, W., Stohman, F., 1860. Begründung einer rationellen Fütterung des Wiederkäuer, In: sohn, C.A.S.u. (Ed.).

ISO, 1998. Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method. ISO 9831:1998, p. 23.

ISO, 2008. Food products-Determination of total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of crude protein content. Part 1: oilseeds and animal feed. ISO 16634-1:2008 p. 30.

Kloareg, M., Noblet, J., van Milgen, J., 2007. Deposition of dietary fatty acids, de novo synthesis and anatomical partitioning of fatty acids in finishing pigs. *Br. J. Nutr.* 97, 35-44.

Kouba, M., Benatmane, F., Blochet, J.E., Mourot, J., 2008. Effect of a linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat. *Meat Sci.* 80, 829-834.

Kouba, M., Enser, M., Whittington, F.M., Nute, G.R., Wood, J.D., 2003. Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig. *J. Anim. Sci.* 81, 1967-1979.

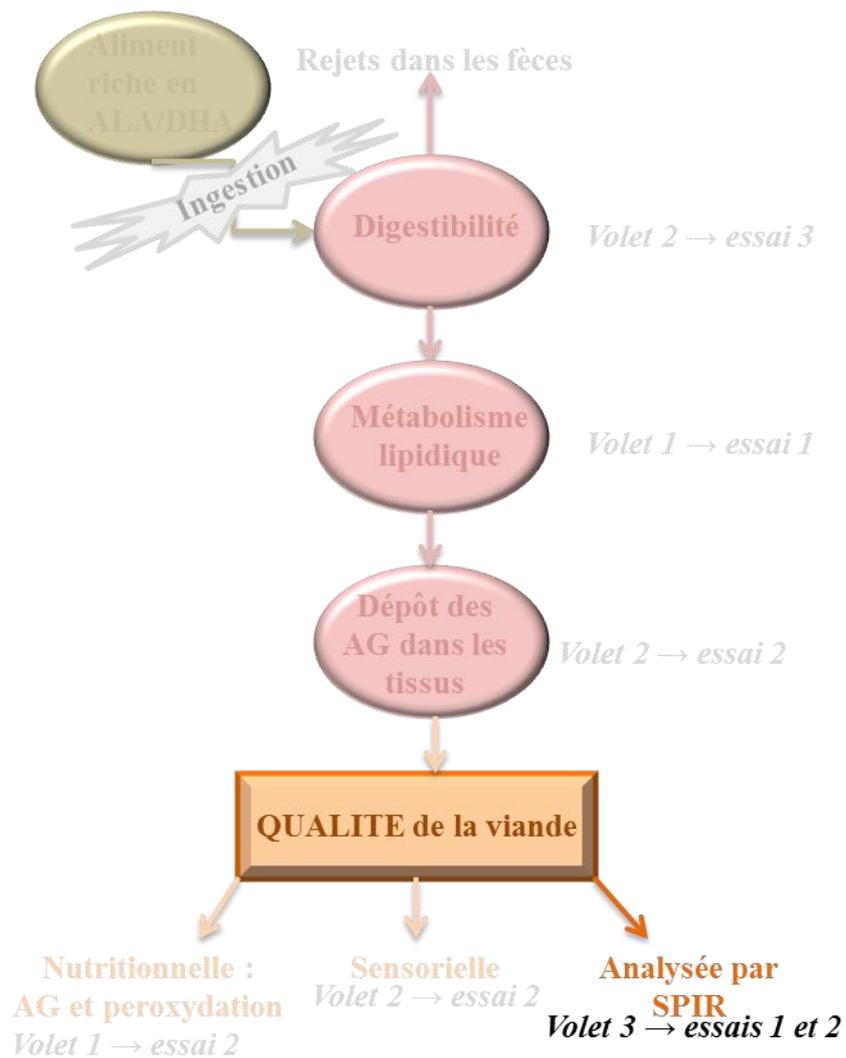
Lefaucheur, L., Missohou, A., Ecolan, P., Monin, G., Bonneau, M., 1992. Performance, Plasma Hormones, Histochemical and Biochemical Muscle Traits, and Meat Quality of Pigs Administered Exogenous Somato tropin Between 30 or 60 Kilograms and 100 Kilograms Body Weight. *J. Anim. Sci.* 70, 3401-3411.

Matthews, K.R., Homer, D.B., Thies, F., Calder, P.C., 2000. Effect of whole linseed (*Linum usitatissimum*) in the diet of finishing pigs on growth performance and on the quality and fatty acid composition of various tissues. *Br. J. Nutr.* 83, 637-643.

- Melin, T., Nilsson, A., 1997. Delta-6-desaturase and delta.5. desaturase in human Hep G2 cells are both fatty acid interconversion rate limiting and are upregulated under essential fatty acid deficient conditions. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 56, 437-442.
- Monziols, M., Bonneau, M., Davenel, A., Kouba, M., 2007. Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses. *Meat Sci.* 76, 54-60.
- Morrison, W.R., Smith, L.M., 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol. *J. Lip. Res.* 5, 600-608.
- Mourot, J., de Tonnac, A., 2015. The Bleu Blanc Coeur path: impacts on animal products and human health. *OCL* 22, D610.
- Mourot, J., Hermier, D., 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41, 109-118.
- Mourot, J., Kouba, M., Peiniau, P., 1995. Comparative study of in vitro lipogenesis in various adipose tissues in the growing domestic pig (*Sus domesticus*). *Comp. Biochem. Phys.* 111B, 379-384.
- Mourot, J., Kouba, M., Salvatori, G., 1999. Facteurs de variation de la lipogenèse dans les adipocytes et les tissus adipeux chez le porc. *INRA Prod. Anim.* 12, 311-318.
- Musella, M., Cannata, S., Rossi, R., Mourot, J., Baldini, P., Corino, C., 2009. Omega-3 polyunsaturated fatty acid from extruded linseed influences the fatty acid composition and sensory characteristics of dry-cured ham from heavy pigs. *J. Anim. Sci.* 87, 3578-3588.
- Noblet, J., Jaguelin-Peyraud, Y., Quemeneur, B., Chesneau, G., 2008. Valeur énergétique de la graine de lin chez le porc : impact de la technologie de cuisson-extrusion. *Journées Rech. Porcine* 40, 203-208.
- Okrouhlá, M., Stupka, R., Čítek, J., Šprysl, M., Brzobohatý, L., 2013. Effect of dietary linseed supplementation on the performance, meat quality, and fatty acid profile of pigs. *Czech J. Anim. Sci.* 58, 279-288.
- Peluffo, R.O., Nervi, A.M., Brenner, R.R., 1976. Linoleic acid desaturation activity of liver microsomes of essential fatty acid deficient and sufficient rats. *Biochim. Biophys. Acta* 441, 25-31.
- Plourde, M., Cunnane, S.C., 2007. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 32, 619-634.
- Sauvant, D., Perez, J.M., Tran, G., 2004. Tables of composition and nutritional value of raw materials for livestock. p. 304.
- Scott, B.L., Bazan, N.G., 1989. Membrane docosahexaenoic is supplied to the developing brain and retina by the liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2903-2907.
- Van Soest, P.J., Wine, R.H., 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV-Determination of plant cell walls constituents. *J. Assoc. Agric. Chem.* 50, 50-55.
- Wilfart, A., Ferreira, J.M., Mounier, A., Robin, G., Mourot, J., 2004. Effet de différentes teneurs en acides gras n-3 sur les performances de croissance et la qualité nutritionnelle de la viande de porc [Effect of different n-3 fatty acid content on the nutritional quality of pork]. *Journées Rech. Porcine* 36, 195-202.

PARTIE 4

Prédiction spectrale de la teneur en acides gras du muscle et du tissu adipeux de porc ayant ingérés différentes sources lipidiques plus ou moins riches en acides gras n-3 (volet 3, essais 1 et 2)



Publication n°4 : Prédiction par spectrométrie proche infrarouge des teneurs en acides gras des tissus de porcs ayant reçu un régime supplémenté en graines de lin ou en microalgues riches en DHA

Soumis dans Meat Science le 21 septembre 2016

Objectif

L'objectif de cette étude était de déterminer la capacité de la spectrométrie en proche infrarouge (SPIR) à prédire la composition en acides gras, notamment ceux de la famille n-3 (AG n-3), du muscle longissimus dorsi, renommé ici par *longissimus thoracis et lumborum* (LTL) et du tissu adipeux sous cutané dorsal (SCAT) issus de porcs charcutiers.

Matériel et Méthodes

Les spectres ont été établis sur les échantillons de muscle et de tissu adipeux prélevés au cours de deux expérimentations sur 132 porcs au total. Dans un cas, les porcs avaient reçus les régimes de l'essai 1, sinon ils avaient ingéré les régimes de l'essai 2. Les spectres ont été établis avec un spectrophotomètre monochromateur DS2500 de FOSS. Les calibrations ont été obtenus après avoir testé différents traitement des spectres puis validées par la méthode de validation croisée. Les résultats de calibration des teneurs en acides gras ont été comparés aux valeurs chimiques, obtenues par chromatographie en phase gazeuse après extraction des lipides par la méthode de Folch et al., 1957.

Résultats

Malgré les différents pré-traitements testés, la SPIR n'a pas permis de prédire précisément les teneurs en AG, spécifiquement les n-3, du muscle LTL. En revanche, de bons résultats de calibration ont été obtenus dans le SCAT quand l'unité de dosage utilisé fut en % des AG totaux. Les valeurs statistiques informant de la robustesse des équations spectrales étaient faibles pour la teneur en lipides, les AG n-6, les AG saturés et monoinsaturés (RPD < 1,61 and R²CV < 0,61), mais fortes (R²CV = 0,79; RPD = 2,19) pour les AG polyinsaturés et très fortes (R²CV = 0,79-0,94; RPD = 2,20-3,97) pour les AG n-3. Le calcul d'ellipses dans une analyse en composantes principales a permis de mettre en évidence une discrimination des échantillons selon le régime reçu par l'animal. Il est en effet ressortit que les spectres des échantillons de SCAT des animaux ayant ingéré les régimes contenant de l'huile de soja et palme ou de colza étaient statistiquement différents entre eux. Enfin, la suppression dans la base de données des échantillons d'animaux n'ayant pas ingéré de graines de lin ou de

microalgues, ne permet pas d'améliorer les prédictions des teneurs respectives en ALA et en DHA, par rapport à une base de données comprenant tous les échantillons.

Conclusion

La forte teneur en lipides du SCAT et la supplémentation en graines de lin riches en ALA et/ou en microalgues riches en DHA dans les régimes a permis à la SPIR de prédire précisément les teneurs (exprimées en % des AG totaux) en AG n-3 et AG polyinsaturés du tissu adipeux. En revanche, les prédictions spectrales n'ont abouti à aucun résultat concluant dans le LTL. Dans les conditions expérimentales et après des calculs de discrimination, des différences entre échantillons d'origine différentes ont pu être mises en évidence. Toutefois, les mesures restent limitées puisqu'elles ne permettent pas de savoir quels échantillons étaient issus des animaux ayant ingérés des graines de lin ou des microalgues. Pour finir, cette étude a montré l'intérêt de la variabilité de la base de données initiale pour obtenir de bons résultats de prédiction. Ce résultat a en effet été mis en évidence à l'issue de la suppression d'une partie des données afin de mieux prédire à priori, les teneurs en ALA et en DHA des échantillons.

Near infrared spectroscopy predicts the fatty acids content of subcutaneous backfat but not *Longissimus thoracis and lumborum* muscle of pigs fed linseed and microalgae

Auriane de Tonnac^{a,b}, Jacques Mourot^a, Emmanuelle Certenais^b, Guillaume Mairesse^b,
Etienne Labussière^{a,*}

^a*Agrocampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France*

^b*Valorex, La Messayais, 35210 Combourtille, France*

*Corresponding author : etienne.labussiere@inra.fr

Abstract

Fatty acids (FA) profile determination is important for knowing meat quality and that is mainly through n-3 family. The present study tested the ability of NIRS to estimate n-3 FA content of subcutaneous backfat (SCAT) and *longissimus thoracis and lumborum* muscle (LTL) from samples of pigs fed extruded linseed (EL) or *Schizochytrium* microalgae (MA), which supply α -linolenic (ALA) and docosahexaenoic (DHA) acid respectively. The NIRS was not suitable to predict total fat and FA content of LTL. The NIRS calibration was also not suitable to predict the total fat, the n-6 polyunsaturated FA (PUFA), saturated FA and monounsaturated FA content but was adequate to predict the PUFA and n-3 PUFA content of SCAT. This tissue contains a high amount of fat and was rich in n-3 FA explaining these results. Finally, through the spectral analysis of SCAT, NIRS could indicate if pigs received n-3 FA in their diet.

Key words: fatty acid, NIRS, pig

1. Introduction

The determination of the fatty acid (FA) profile has a high relevance to determine the nutritional lipid quality of meat products. Fat quality is classically characterized by polyunsaturated FA (PUFA), especially the n-3 family which is under-consumed in human diets (Simopoulos, 2016). Thus, animals can be fed with diets rich in n-3 PUFA in order to find these FA in their products which are then consumed by humans. However, official procedures used for the determination of FA content in meat involves the extraction of fat with chemical solvent followed by derivatization of the FA to their methyl esters and then determination by capillary gas chromatography. This procedure is expensive, time-consuming, it generates chemical wastes which are potentially hazardous for human health and environment. It cannot also be used for rapid on-line analysis of FA profiles in meat in order to evaluate its nutritional quality. On the contrary, the Near Infra-Red Spectroscopy (NIRS) is a rapid, objective and a non-destructive technology of analysis of food, meat and other organic matter because it is chemical-free. It is environmentally friendly because it does not require reagents and does not produce waste. It requires little or no sample preparation, it is less expensive to run than conventional methods and it is applicable to multiproduct and multicomponent analysis (Perez-Marin, De Pedro Sanz, Guerrero-Ginel, & Garrido-Varo, 2009; Zamora-Rojas, Garrido-Varo, De Pedro-Sanz, Guerrero-Ginel, & Perez-Marin, 2013; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012). Because of its advantages, this tool is being used for large-scale evaluation of the meat parameters as chemical and nutritional values (moisture,

protein, total fat...), technological parameters (pH, water loss...) and sensorial quality (texture, color) (Andueza, Mourot, Aït-Kaddour, Prache, & Mourot, 2015). Thus, some studies evaluated the capacity of NIRS to predict FA content of meat (Fernández-Cabanás, Polvillo, Rodríguez-Acuña, Botella, & Horcada, 2011; Gonzalez-Martin, Gonzalez-Perez, Hernandez-Mendez, & Alvarez-Garcia, 2003; Guy, Prache, Thomas, Bauchart, & Andueza, 2011; Prieto et al., 2014; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012; Zomeno, Juste, & Hernandez, 2012). Nevertheless, the NIRS better predicts the main FA amount (represented by the C16:0 and the C18:1 in monogastric) than the n-3 PUFA content. For instance, by feeding pigs with extruded linseed which is rich in the precursor of n-3 PUFA named α -linolenic acid (ALA), Chesneau et al. (2011) were able to estimate the amount of saturated FA (SFA), monounsaturated FA (MUFA) and ALA in pig adipose tissues with the NIRS but they failed to predict the content of n-3 PUFA derivatives named eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). This could be explained by a lower amount of the n-3 PUFA derivatives than the other FA and a low variability of EPA and DHA content between samples (Mourot et al., 2015). Therefore the development of a calibration equation for these n-3 PUFA derivatives requires the implementation of a database that contains samples with higher and more variable contents in these FA which can be obtained by supplementing pig diets with specific feedstuffs. For this reason, diets of this study were supplemented with linseed rich in ALA or microalgae rich in DHA. The aim of the present study is to determine by NIRS the derivatives PUFA n-3 content of the *longissimus thoracis and lumborum* muscle (LTL) and subcutaneous backfat (SCAT) of pigs fed high amount of ALA and DHA. A secondary objective of this study is to determine the dietary characteristics of animals samples in order to assess the accordance between feeding practices and specifications of high-quality product labels.

2. Material and Methods

2.1. Animals and diets

Animals were raised and slaughtered at Saint-Gilles INRA experimental site according to a protocol conducted in accordance with French legislation under the responsibility of J. Mourot, approval number 04738.

One hundred and thirty two crossbred pigs [(Large White \times Landrace) sows \times Pietrain boar] received one of seven experimental diets between 14 (corresponding to an initial live weight (LW) of 57.1 ± 8.1 kg) and 24 weeks of age. Pigs were raised according to two similar protocols with diets containing between 2 and 4% of fat. Diets consisted of a cereals and soybean meal based diet supplemented with soya and palm oil (diet 1) in an experiment or

Table 1 Fatty acids content of the diets (% of total fatty acids) and number of pigs per diet^a (N=130)

	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5	Diet 6	Diet 7
	Soya and palm oil	Rapeseed oil	Extruded Linseed (EL)	75%EL+ 25%microalgae	50%EL+ 50%microalgae	25%EL + 75%microalgae	Microalgae
N	12	10	33	22	22	10	21
16:0	16.05	13.04	12.38	14.56	16.55	18.63	19.83
18:0	2.18	2.28	2.66	2.34	2.26	1.92	1.40
18:1	22.54	37.08	18.30	15.80	14.34	12.72	10.27
18:2 n-6	52.65	36.64	40.66	35.25	32.10	29.24	27.77
18:3 n-3	3.51	6.60	23.83	18.78	12.90	9.21	2.50
20:3 n-3	0.18	0.00	0.04	0.04	0.06	0.08	0.09
20:4 n-3	0.04	0.00	0.02	0.07	0.14	0.00	0.21
20:5 n-3	0.10	0.03	0.05	0.24	0.38	0.56	0.56
22:0	0.25	0.04	0.14	0.10	0.11	0.06	0.10
22:5 n-3	0.00	0.00	0.00	0.05	0.09	0.17	0.15
22:6 n-3	0.03	0.00	0.01	6.61	11.72	15.28	21.68
24:0	0.13	0.16	0.13	0.15	0.19	0.22	0.19
SFA	19.24	16.24	15.78	18.96	21.90	24.38	26.33
MUFA	24.18	40.41	19.55	17.15	15.68	14.12	11.41
PUFA	56.58	43.35	64.66	63.88	62.42	61.50	62.26
n-6 PUFA	52.68	36.64	40.66	38.01	37.01	36.01	36.91
n-3 PUFA	3.86	6.64	23.96	25.82	25.35	25.44	25.31

^a Diet 1 was used during the first experiment, whereas diets 2 and 6 were used during the second experiment. Diets 4, 5 and 7 were used in both experiments. Diet 3 was used during both experiments and was supplemented with extruded linseed with varying content in fiber.

rapeseed oil (diet 2) in the other experiment. These two diets served as a control for each experiment. Experimental diets were formed to supply n-3 PUFA. Thus, extruded linseed (EL; Tradilin®, Valorex, France; diet 3), microalgae (MA; *Schizochytrium* sp. DHA Gold®, DSM, Belgium; diet 7) or a mixture of EL and microalgae (75%, 50% or 25%; diets 4, 5 and 6) were added in diets in order to implement different levels of dietary ALA supplied by linseed and DHA supplied by microalgae. Animals received feed and water *ad libitum* in individual crates with concrete floor. Diets were designed to provide 9.5 MJ NE.kg⁻¹ of diet on a dry matter basis (Sauvant, Perez, & Tran, 2004) and followed nutritional recommendations for pigs so that the amino acid content was not a limiting factor for growth (Quiniou & Noblet, 2012; Table 1).

2.2. Slaughter and meat sample collection

At 115.0 ± 7.3 kg LW, animals were slaughtered at the experimental slaughterhouse of INRA (Saint-Gilles, France) after 16 h of fasting. Samples of LTL and SCAT (~ 100 g) were collected at the level of the third last rib on the right side of the carcass 30 min *post mortem*. Tissue samples were individually packed and frozen at -20°C pending analyses of FA composition.

2.3. Reference fatty acid analysis

Lipids were cold extracted from 10 g of LTL and 1 g of SCAT. The weight of the test sample was determined from previous experiences to obtain at least 15 mg of fat for further assays. Samples of LTL were firstly minced with a blender (Grindomix GM200, Retsch, Germany). All samples were then ground with a Polytron grinder equipped with a spindle (PT3100, Kinematica, Switzerland) before extraction using chloroform/methanol mixture (2:1 v/v) (Folch, Lees, & Sloane Stanley, 1957). The FA methyl esters were then saponified with a methanolic sodium hydroxide solution in the presence of C17:0 as the internal FA standard. Then, they were methylated with boron trifluoride (BF₃) (Morrison & Smith, 1964) and recovered with pentane plus distilled water solution and analyzed by gas chromatography (7890 GC system, Agilent technologies, USA). Chromatograph was equipped with capillary column of 0.25 mm × 30 m in polysiloxane polymer filled with dimethylpolysiloxane and 50% of cyanopropylphenyl in stationary phase. Temperature program began at 150°C and increased by 4°C per minute up to 220°C. The temperature was then maintained at 220°C for 10.5 minutes. Injector and flame ionization detector temperatures were kept constant at 220 and 280°C, respectively. Hydrogen was the carrier gas. Retention times and peaks were determined using chromatography software ChemStation Agilent. The identity of the peaks

was verified by comparison with the retention time of standard FA methyl esters. Results were expressed as the percentage of total FA (TFA) in diets and in mg per 100 g of tissue.

2.4. NIRS spectra collection of tissues

The NIRS spectra (400-2500 nm) were measured on minced LTL and entire SCAT sample thawed at room temperature for 1 h. The samples of LTL muscle were minced because of the non-homogenized presentation of this tissue comparatively to the SCAT. Approximately 5 g of sample were used in order to fill the entire area of a circular transparent glass cup (diameter 50 mm, depth 10 mm). Samples were scanned once in the reflectance mode with a monochromator NIRS (DS2500, FOSS, Nanterre, France) using MosaicSolo operating system (FOSS Analytical, version 6.6.2.142). Reflectance data were recorded at 8.5 nm intervals and stored as $\log(1/\text{reflectance})$.

2.5. Missing samples

Two pigs were removed from the experiment because of health problem. Moreover, during lab analyses, two samples of LTL muscle and one sample of SCAT were not properly extracted and one sample of SCAT was not analyzed by NIRS because of a lack of quantity. Finally, 128 samples of each tissue were available with both chemical and NIRS analysis.

2.6. Method of calibration and validation

Calibrations were performed using WinISI software (version 4.4.0, Infracsoft International, USA). The detection of anomalous spectra was accomplished using the Global Mahalanobis (GH) distance between the center of the population and each sample in the space defined by a Principal Component Analysis (PCA) and based on the spectra information. According to the experiment of our lab, we build our model of calibration with samples having a GH statistic lower than 10.0. We performed calibration to predict the content of n-3 PUFA and other FA in order to compare our results with the bibliography. Calibrations checked with a cross-validation were performed in LTL muscle and then in the SCAT firstly with 128 samples and secondly without animals fed control diets. This allowed us to verify if prediction of ALA and DHA content were better with animals only fed with EL or MA.

The cross-validation was performed to estimate the content of total fat, the main saturated FA (SFA) in pigs (C16:0), the main monounsaturated FA (MUFA; C18:1), the main n-6 PUFA (C18:2 and C20:4), the main n-3 PUFA (C18:3; C20:5; C22:5 and C22:6), the total SFA, MUFA, PUFA, n-6 PUFA and n-3 PUFA in SCAT samples expressed in percentage of TFA. To performed the cross-validation, the calibration set was partitioned in four randomly groups; each group was then predicted using a calibration developed on the other samples. The model of calibration was obtained by a partial least square (PLS) regression or by a

modified PLS regression (MPLS) (Shenk & Westerhaus, 1991) using the range 400-1900 nm or 800-1900 nm from preliminary calculations. The PLS regression predicted FA concentration using NIRS absorbance as independent variables (Prieto et al., 2012). To optimize the accuracy of the calibration, different combinations of scattering corrections and mathematical pre-treatments were applied to the spectra. Thus, no correction or Standard Normal Variate (SNV), SNV De-trending (SNVD), standard Multiplicative Scatter Correction (MSC) or Scale and offset mathematical pre-treatment were used to correct scatter phenomena. The MSC corrects the dispersion effects of the light and of variation of particle size. The SNV pre-treatment removes the multiplicative effects and the offsets of spectra compared to the baseline, whereas the detrend of SNV avoids a curvilinear trend of spectra. Derivatives mathematical treatments were also used to increase the accuracy of the prediction. The characteristics of the derivative are identified by a four-digit number, whose the first digit corresponds to the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in the first smoothing segment and the fourth is the number of data points in the second smoothing segment (Shenk, Westerhaus, & Abrams, 1989). According to the bibliography and our past experience, we usually used 1,4,4,1; 2,6,4,1 and 2,10,10,1 combinations (Mourot et al., 2015; Mourot et al., 2014).

Finally, validation errors are combined to validate the best spectral pre-treatment. The main calibration statistics of the prediction are the standard error of calibration (SEC), the coefficient of determination of the calibration (R^2), the coefficient of determination of cross-validation (R^2CV), the standard error of cross-validation (SECV) and the RDP which is the ratio of the standard deviation (SD) of the original data to SECV (Williams, 2001). The best calibration of cross-validation was selected in order of importance based on the highest RPD and then the highest R^2 . The best pre-treatment was also chosen when SECV was close to SEC. When different pre-treatment obtained same results (very close statistical values), we chose the pre-treatment which has the least wavelength range and the lower number of principal components. Quantifications were considered to be poor if the values of R^2CV were under 0.66, approximate between 0.66 and 0.81, good between 0.82 and 0.90 and excellent above 0.91 (Karoui et al., 2005). Value of RPD higher than 10 is considered as indicative of a method equivalent to the reference method (Williams & Sobering, 1993). However, it is suggested that RPD values above 2.5 are considered adequate for routine analysis according to AACC International approved method 39-00.01 (Guy, Prache, Thomas, Bauchart, & Andueza, 2011; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012).

Table 2 Descriptive statistics of total fat (%) and fatty acids (% of total fatty acids) content of ground LTL^a (N=128)

	Mean	Minimum	Maximum	CV ^b ,%
Total fat (%)	1.62	0.42	3.78	38.32
FA ^c (% of TFA ^d)				
16:0	23.00	20.55	26.09	5.01
18:1	37.47	29.41	43.60	8.27
18:2 n-6	10.95	5.63	18.50	24.02
20:4 n-6	2.17	0.49	5.31	37.77
18:3 n-3	1.31	0.29	3.74	57.36
20:5 n-3	0.72	0.07	1.76	53.59
22:5 n-3	0.59	0.20	1.59	46.13
22:6 n-3	1.41	0.10	4.55	83.77
n-3 PUFA	4.37	0.83	8.50	38.46
n-6 PUFA	14.28	6.46	24.73	24.83
SFA ^e	36.08	31.64	40.77	5.13
MUFA ^f	44.96	34.87	51.86	8.06
PUFA ^g	18.97	10.01	29.74	24.45

^a LTL: *longissimus thoracis and lumborum* muscle

^b CV: coefficient of variation = (SD×100/Mean)

^c FA: fatty acid

^d TFA: total fatty acids

^e SFA: saturated fatty acid

^f MUFA: monounsaturated fatty acid

^g PUFA: polyunsaturated fatty acid

Table 3 Descriptive statistics of total fat (%) and fatty acids (% of total fatty acids) content of fresh intact SCAT^a (N=128)

	Mean	Minimum	Maximum	CV ^b ,%
Total fat (%)	65.08	29.25	93.81	12.76
FA ^c (% of TFA ^d)				
16:0	22.87	19.27	26.94	5.77
18:1	37.35	32.21	43.79	5.74
18:2 n-6	11.79	8.30	18.70	14.60
20:4 n-6	0.21	0.09	0.38	32.45
18:3 n-3	2.97	0.51	8.43	60.58
20:5 n-3	0.13	0.01	0.29	58.79
22:5 n-3	0.29	0.05	0.58	49.22
22:6 n-3	1.55	0.03	6.17	102.50
n-3 PUFA	5.55	0.90	10.28	38.79
n-6 PUFA	12.83	9.53	19.21	13.48
SFA ^e	38.76	29.60	47.01	6.90
MUFA ^f	42.29	35.98	49.28	5.89
PUFA ^g	18.95	11.15	30.25	16.66

^a SCAT: subcutaneous backfat

^b CV: coefficient of variation = (SD×100/Mean)

^c FA: fatty acid

^d TFA: total fatty acids

^e SFA: saturated fatty acid

^f MUFA: monounsaturated fatty acid

^g PUFA: polyunsaturated fatty acid

2.7. Statistical analyses

Statistics were performed using the R software (version 3.0.3). A scatterplot was used to show the relationship between chemical and predicted content of ALA and DHA in 128 samples of SCAT and then compared to the graph with samples of pigs only fed EL or MA. A PCA with ellipses performed with the FactoMineR package was conducted on spectral information (at each wavelength) to determine if NIRS could discriminate samples according to pig diets. An ANOVA with the diet as main effect was achieved on absorbance according to the mixed procedure of SAS® 9.4 software and completed by a Bonferroni test to confirm the results of the PCA.

3. Results and discussion

3.1. Descriptive statistics of fatty acids content

The results about descriptive statistics of absolute FA content of LTL and SCAT samples used for the calibrations are respectively shown in Table 2 and 3. The variability of total fat and FA was higher than 38% in the LTL muscle. The results about SCAT revealed a wide variability of ALA (18:3 n-3), EPA (20:5 n-3), docosapentaenoic acid (DPA, 22:5 n-3) and DHA (22:6 n-3) content, whose CV were close to or higher than 50%. The results about the other FA were equivalent to those of the study of Chesneau et al. (2011) and showed a low variability. These two results in SCAT confirmed that the composition of the FA deposited in pigs' tissues largely reflects that of ingested lipids (J. Mourot & Hermier, 2001).

3.2. Spectral information

Fig. 1 shows the average NIR spectrum per diet of SCAT (a) and LTL muscle (b) samples. An absorption band is observed at 930 nm in the SCAT and at 984 nm in the LTL muscle respectively corresponding to CH₂ bond and OH second overtone (Fernández-Cabanás, Polvillo, Rodríguez-Acuña, Botella, & Horcada, 2011; Prieto et al., 2014; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012). Average spectrum of LTL muscle and SCAT samples presented the same peaks at 1210 nm corresponding to the second C-H overtone. Their absorption bands at 1452 and 1938 nm are respectively related with OH stretch first overtone and OH bend second overtone. In contrast, the SCAT had five additional peaks compared to LTL at approximately 1726, 1751, 2150-2190, 2308 and 2348 nm. The absorption bands at 1700 nm correspond to first C-H overtone. At 2150-2190 nm, absorption bands were related to *cis* double bonds (Fernández-Cabanás, Polvillo, Rodríguez-Acuña, Botella, & Horcada, 2011; Prieto et al., 2014; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012). The absorption band at 2308 nm corresponds to a combination of C-H stretch and CH₂ deformation, whereas the absorption band at 2348 nm corresponds to a combination of CH₂ symmetric stretch and

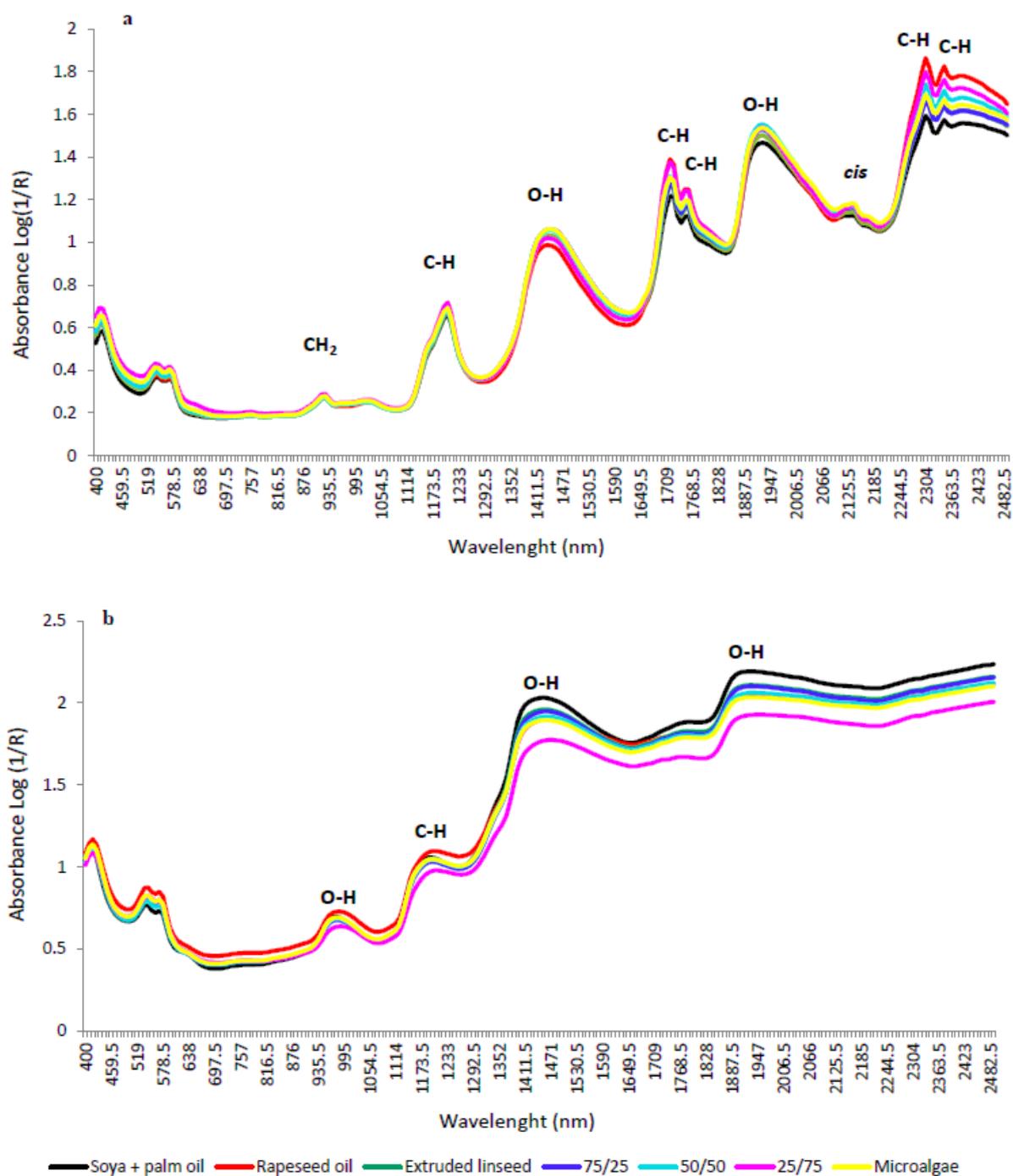


Fig 1. Average spectra (visible + NIRS) per diet of *longissimus thoracis* and *lumborum* muscle (LTL) and subcutaneous backfat (SCAT)

=CH₂ bend of HC=CHCH₂ (equivalent to a C-H combination overtone). The O-H absorption bands are associated to the water content of the samples due to H₂O molecules, whereas other peaks corresponded to absorption bands of lipids (Fernández-Cabanás, Polvillo, Rodríguez-Acuña, Botella, & Horcada, 2011; Prieto et al., 2014; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012). The LTL muscle presented more O-H bands than the SCAT, which could be explained by the fact that the LTL muscle contains approximately 75% of water whereas water content in SCAT used to vary from 5 to 15% in pigs (Lebret, Lefaucheur, & Mourot, 1999; Lebret, Lefaucheur, Mourot, & Bonneau, 1996; Lebret & Mourot, 1998). The NIRS is sensitive to water content of the sample. This could explain that more inaccuracies called “noise” or disturbance were revealed in the spectra of LTL muscle than the SCAT. This result suggests that, at least for muscle sample, a drying pre-treatment should be applied to increase the accuracy of spectra acquisition. Moreover, the peaks of the average spectrum of LTL muscle were smoother than the peaks of SCAT. This could show the high information content of SCAT spectra and the high accuracy of the elements included into spectra of this tissue.

3.3. Feasibility of NIRS to predict the FA content of LTL muscle sample

The statistical values of the cross-validation concerning total fat, ALA and DHA in LTL muscle were very low. The statistical parameters of the calibration set showed that the R²CV equaled 0.07 for total fat and was closed to zero for ALA and DHA. The RPD was close to 1.0 for both FA and total fat. These bad results were confirmed by the R² of the calibration, which was inferior to 0.3 for total fat, ALA and DHA. These results showed that it is not possible to reliably predict the total fat and the n-3 PUFA content in the LTL muscle of these pigs, whatever the pre-treatment, the unit (% of TFA or mg/100g) and the method of validation used. Unlike us, Gonzalez-Martin, Gonzalez-Perez, Alvarez-Garcia, and Gonzalez-Cabrera (2005) obtained good results of prediction of FA composition, especially for C18:3 n-3, analyzed by NIRS with a remote reflectance fibre optic probe in intact pork loin samples of Iberian pigs. Indeed, their measurements revealed a R-square statistics (RSQ) of 0.88 for ALA, whereas the RSQ of others FA (but not DHA) was higher than 0.6 (except for 20:0). Nevertheless, we used a lean breed which LTL muscle contains lesser than 2% of total fat (Table 2) contrary to the fatty Iberian pigs whose muscle contains 8% of lipids (Robina et al., 2013). A muscle with 8% of lipids seems sufficient to well predict its FA composition by NIRS. In contrast, the amount of lipids in muscle samples can also be artificially increased through drying to allow NIRS determination in samples from lean breeds.

3.4. Feasibility of NIRS to predict the FA composition of SCAT sample

Calibrations used to determine the amount of n-3 PUFA and other FA, expressed in percentage of TFA, were performed only with the spectra of SCAT, because of the unsatisfactory results of the LTL muscle calibration. Calibrations results expressed in mg/100 g of SCAT were also unsatisfactory and were not presented.

3.4.1. Cross-validation on complete database

The FA content of SCAT was first determined from calibrations established with all samples (N=128). The characteristics of the best pretreatments developed to determine the FA content of SCAT are shown in Table 4. In this study, the PLS regression was better than the MPLS regression to predict the amount of FA. This result disagrees with (Shenk & Westerhaus, 1993) who reported that MPLS is more stable and accurate than PLS for agricultural applications such as forage. According to this experiment, the PLS regression seems to be a better procedure than the MPLS to predict FA content in pig tissues. The best calibration statistics showed the use of different scatter corrections depending on the FA. The spectra were not corrected to predict the amount of total fat, C18:1, C20:4 n-6, C18:3 n-3, C22:6 n-3, total n-3 and n-6 PUFA and MUFA. The MSC correction was used only for C18:2 n-6 and C20:5 n-3 and the SNV correction was used for C16:0, C22:5 n-3, SFA and PUFA prediction, whereas SNVD was not selected. Contrary to the results of (Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012) in broiler breast meat and Sierra et al. (2008) in ground beef, the SNVD correction did not give the most accurate prediction for the majority of the FA. Our results also demonstrated that the predictions were more efficient with a second derivative than with only one. Indeed, only total fat was better predicted with a first derivative, confirming the improvement of the robustness with a second derivative as has been tested in the study of Fernández-Cabanás, Garrido-Varo, Olmo, Pedro, and Dardenne (2007).

These mathematical spectra pretreatments are currently used in our laboratory to predict the content of long chain FA in animal tissues. However, for each FA, it is impossible to know beforehand which pre-treatment will obtain the most accurate prediction, due to the structure and composition of the database Mouro et al. (2015). For example, the lowest gap of RPD between the best and the worst pre-treatment equaled 0.11 for n-6 PUFA. In contrast, the highest gap of RPD equaled 2.7 for DPA. It shows that pre-treatment tested for each FA conducted to very different statistic values. Indeed, the SECV varied from 0.03 for 20:5 n-3 to 6.72 for total fat, whereas the RPD varied from 1.01 for C18:2 n-6 to 3.97 for 22:6 n-3. The SEC and SEVC were very similar for all the FA. According to the RPD, the predictions were bad with RPD lower than 2.0 for total fat, individual and total SFA, MUFA and n-6 PUFA. In

Table 4 Statistical parameters of the cross-validation for the selected equations of NIRS of the total fat and fatty acids expressed in % of total fatty acids of the SCAT^a (N=128)

	Math treatment	Spectra correction	Derivative ^b	Wavelength	T ^c	SEC ^d	SECV ^e	R ^{2f}	R ^{2CVg}	RPD ^h
Total fat (%)	PLS ⁱ	No correction	1.4.4.1	800-1900 nm	9	6.17	6.72	0.45	0.34	1.24
FA ^j (% of TFA ^k)										
16:0	PLS ⁱ	SNV ^j	2.6.4.1	800-1900 nm	8	0.69	0.79	0.73	0.64	1.67
18:1	PLS ⁱ	No correction	2.6.4.1	800-1900 nm	7	1.33	1.57	0.62	0.46	1.37
18:2 n-6	MPLS ^k	MSC ^l	2.6.4.1	400-1900 nm	7	0.88	1.15	0.74	0.55	1.01
20:4 n-6	PLS ⁱ	No correction	2.6.4.1	800-1900 nm	8	0.03	0.04	0.76	0.64	1.68
18:3 n-3	PLS ⁱ	No correction	2.6.4.1	800-1900 nm	9	0.69	0.82	0.85	0.79	2.20
20:5 n-3	PLS ⁱ	MSC ^l	2.6.4.1	800-1900 nm	9	0.03	0.03	0.88	0.84	2.48
22:5 n-3	MPLS ^k	SNV ^j	2.6.4.1	400-1900 nm	6	0.04	0.05	0.91	0.88	2.95
22:6 n-3	PLS ⁱ	No correction	2.10.10.1	800-1900 nm	9	0.34	0.40	0.96	0.94	3.97
n-3 PUFA	PLS ⁱ	No correction	2.6.4.1	800-1900 nm	9	0.80	0.95	0.86	0.80	2.26
n-6 PUFA	PLS ⁱ	No correction	2.10.10.1	800-1900 nm	3	1.16	1.22	0.55	0.50	1.42
SFA ^m	MPLS	SNV ^j	2.6.4.1	800-1900 nm	2	1.59	1.66	0.65	0.61	1.61
MUFA ⁿ	PLS ⁱ	No correction	2.6.4.1	800-1900 nm	9	1.46	1.73	0.66	0.51	1.30
PUFA ^o	PLS ⁱ	SNV ^j	2.6.4.1	800-1900 nm	8	1.27	1.44	0.84	0.79	2.19

^a SCAT: subcutaneous backfat

^b Characteristic of the spectra's derivative, which first digit corresponds to the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running first average or smoothing segment and the fourth is the number of data points in the second smoothing segment.

^c T: number of PLS terms utilized in the calibration equation

^d SEC: standard error of the calibration

^e SECV: standard error of the cross-validation or standard error of prediction

^f R²: coefficient of determination of the calibration

^g R^{2CV}: coefficient of determination of cross validation

^h RPD: (standard deviation of reference data)/(standard error of prediction)

ⁱ PLS: partial least square regression

^j FA: fatty acid

^k TFA: total FA

^l SNV: standard normal variate

^k MPLS: modified PLS

^l MSC: multiplicative scatter correction

^m SFA: saturated fatty acid

ⁿ MUFA: monounsaturated fatty acid

^o PUFA: polyunsaturated fatty acid

the same way, the R²CV of total fat, n-6 PUFA, individual and total SFA and MUFA was poor (lower than 0.66). Moreover, the R² of our study about individual and total SFA and MUFA were lower than the RSQ of the studies of Gonzalez-Martin, Gonzalez-Perez, Hernandez-Mendez, and Alvarez-Garcia (2003) and Zamora-Rojas, Garrido-Varo, De Pedro-Sanz, Guerrero-Ginel, and Perez-Marin (2013). Our experimental diets were not designed on the content of SFA and MUFA but especially on the content of n-3 PUFA, explaining a low variability of the data for the content in SFA and MUFA and a lower accuracy of the prediction. In contrast, the calibration obtained very good statistic results for individual and total n-3 PUFA as shown in the Table 4. Indeed, some studies reported the importance of having a high content of FA in tissues and a high variability of FA content in the database in order the SPIR succeeds to predict their concentration (Berzaghi, Dalle Zotte, Jansson, & Andrighetto, 2005; Zhou, Wu, Li, Wang, & Zhang, 2012). When diets are highly concentrated in ALA, it is possible to predict ALA content in adipose tissue by NIRS with R² close to 1.0, but not n-3 PUFA derivatives (Chesneau et al., 2011; Mairesse et al., 2012). Contrary to the study of Chesneau et al., the design of our experiment allows to reliably predict the content of EPA, DPA and DHA, with RPD better than 2.20 and R² better than 0.85.

3.4.2. *Cross-validation on incomplete database*

With a comparison between results obtained from GC, we observed that FA contents in samples from animals that received diets depleted in n-3 PUFA were not accurately predicted by NIRS. Therefore, we determined the ALA and DHA content of the SCAT from calibrations performed only with the samples of pigs fed EL (N=86; diet 3, 4, 5 and 6) or MA (N=74; diets 4, 5, 6, and 7; Fig. 2). Nevertheless, statistic values were better when calibration was performed with data containing samples from seven diets especially to predict the amount of ALA. Indeed, the R²CV of the prediction of ALA content equaled 0.79 with all samples against 0.38 with only animals fed EL. In the same way, the RPD was equal to 2.20 with all samples against 1.28 in the contrary. In a lesser extent, the R²CV and the RPD of the DHA content calibration were also higher when the calibration database contained samples from seven diets. The values of the calibration with only animals fed MA equaled 0.75 for R²CV and 2.03 for RPD. Thus, the equation is less robust because the variability of the database is decreased. This shows the importance to work with database containing a large number of data in order to increase its variability and the accuracy of the prediction (Prieto, Roehe, Lavin, Batten, & Andres, 2009).

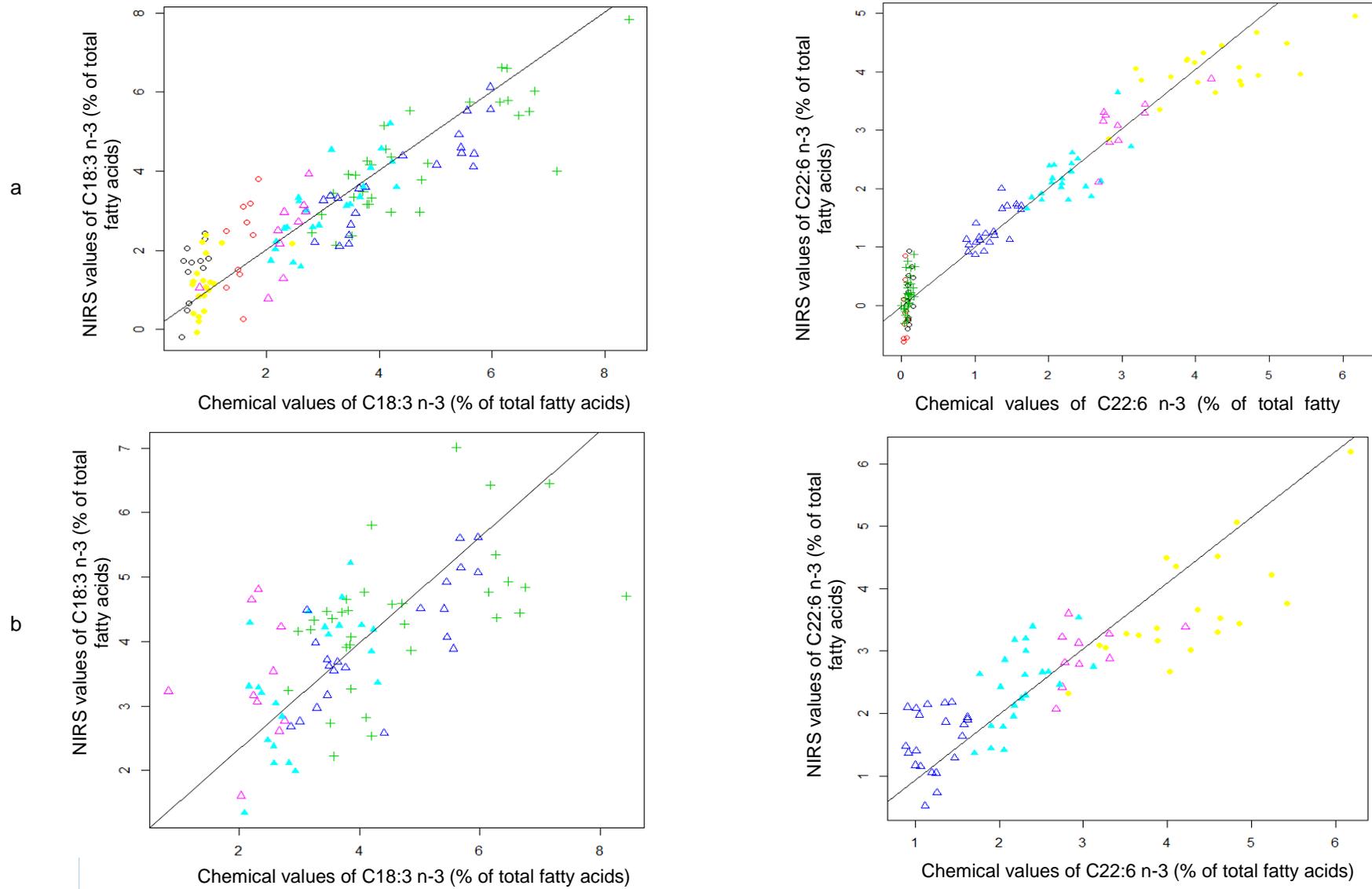


Fig. 2. Plot of NIRS predicted values versus GC method values for ALA and DHA content of SCAT pigs samples (%) according to a cross-validation method with animals fed extruded linseed (EL) or/and microalgae (MA) (a) or without animals fed EL or/and MA (b) ○Diet 1 soya and palm oil ○ Diet 2 rapeseed oil + Diet 3 EL △ Diet 4 75% EL + 25% MA ▲ Diet 5 50 % EL + 50 % MA △ Diet 6 25 % EL + 75 % MA ● Diet 7 MA

3.5. Determination of pigs diet with the NIRS

Fig. 3 shows the result of the PCA performed on results from the SCAT spectral analysis. The first axis accounts for 58% of the variability of the spectral information. It is very well correlated with the wavelength between 2244.5 and 2491.0 ($r > 0.90$), between 1683.5 and 1836.5 ($0.74 < r < 0.90$), 1972.5 to 1998.0 ($0.65 < r < 0.74$) and 1190.5 to 1207.5 ($0.63 < r < 0.64$). The second axis accounts for 31% of the variability of the spectral information. It is very well correlated with the wavelength between 1360.5 and 1641.0 ($r > 0.90$), between 1853.5 and 1887.5 ($0.62 < r < 0.83$), between 1981.0 and 2066.0 ($0.63 < r < 0.86$) and between 2108.5 and 2244.5 nm ($0.65 < r < 0.80$). The wavelength of the second axis corresponds to O-H bonds, excepted between 2108.5 and 2244.5 which corresponds to *cis* bond (cf Fig. 1 (a)). The first axis of the PCA discriminates the samples of pigs fed soya and palm oil (diet 1) from pigs fed rapeseed (diet 2). In the same way, it discriminates samples of pigs fed diets containing 25% of extruded linseed and 75% of microalgae (diet 6) from samples of pigs fed with soya and palm oil (diet 1).

Spectral information of SCAT samples was significantly different according to the diet ($P < 0.001$). Indeed, spectral information from samples of pigs fed soya and palm oil were significantly different ($P < 0.01$) from spectral information of samples of pigs fed rapeseed oil. The differences between samples of pigs fed these two diets are explained by significant differences observed at wavelength 1190.5, 1199.0, 1207.5, from 1683.5 to 1828.0 and from 2236.0 to 2491.0 nm. Significant differences ($P = 0.02$) of spectral information at wavelength 1199, 1207.5, 1692 to 1819.5 and 2253 to 2491 nm were also confirmed by the anova. This corresponds to a difference between samples derived from pigs fed soya/palm oil (diet 1) or extruded linseed (diet 3). In the same way, significant differences of spectral information were observed between rapeseed oil diet (diet 2) and mix of 25% EL/75%MA (diet 6; $P = 0.02$) and between rapeseed oil (diet 2) and MA (diet 7; $P = 0.02$). These results correspond to wavelengths correlated with the first axis of the PCA and the absorbance of C-H bonds (cf. figure 1 (a)). The NIRS could make a difference between samples of pigs fed rapeseed oil or soya and palm oil. It could also make a difference between samples of pigs fed with rapeseed oil or MA and fed soya/palm oil or EL. Nevertheless, the NIRS could not make a difference between samples of pigs fed EL or MA.

4. Conclusion

The objective of the study was to predict by NIRS the FA content, especially n-3 PUFA, of samples of subcutaneous backfat (SCAT) and *longissimus thoracis and lumborum* muscle (LTL) of pigs fed different fat source. The spectra of SCAT contained more

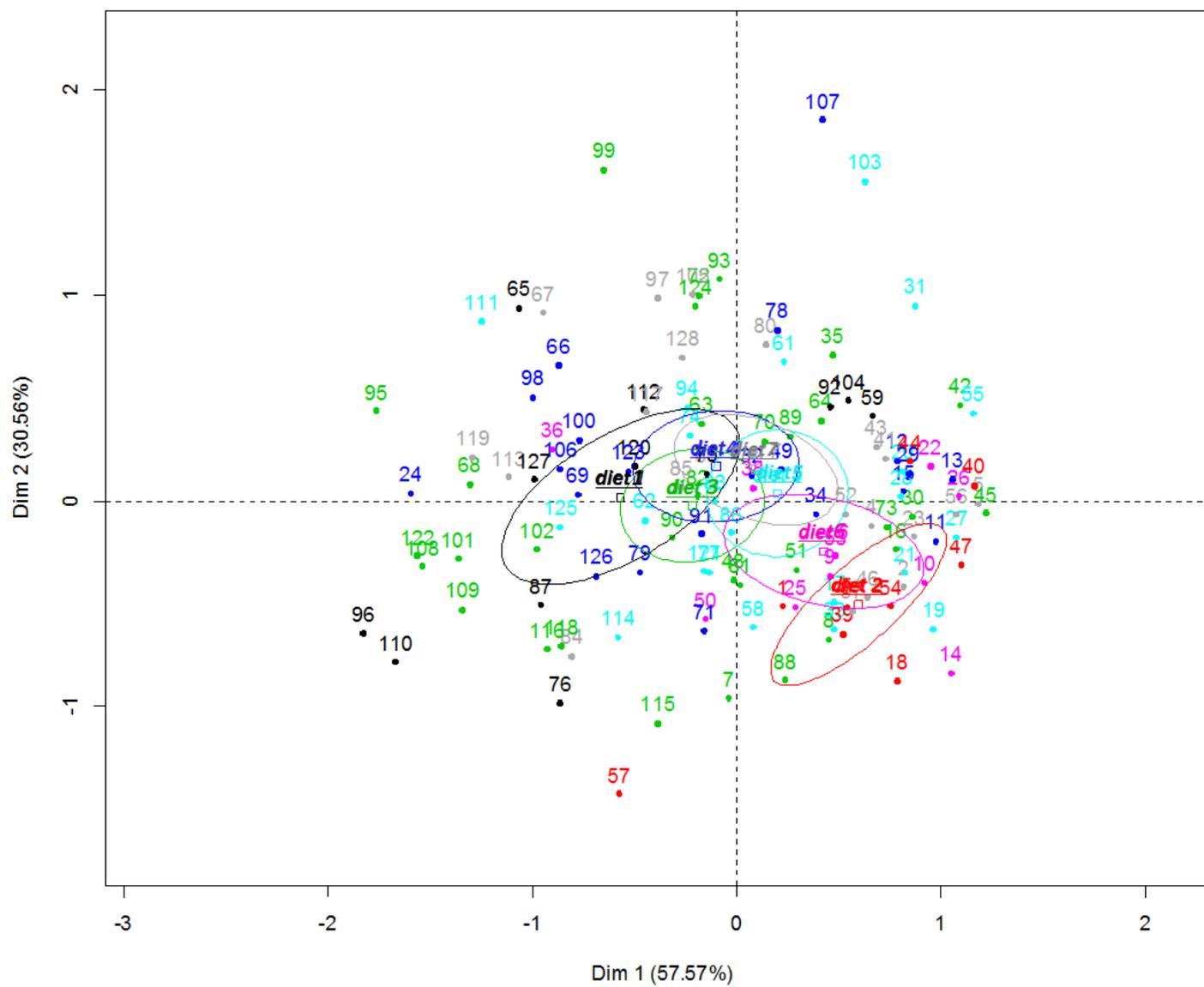


Fig. 3. Principal component analysis of spectra information of SCAT

information than spectra of LTL, maybe due to lower water content and higher lipid content of SCAT than LTL samples. Consequently the NIRS allowed predicting the FA content of SCAT samples when expressed in percentage of total FA, but not FA content of LTL. The predictions of ALA and DHA content in the SCAT were better when the database contained samples obtained from pigs that were fed or not with these FA. Finally, samples of pigs fed soya and palm oil or rapeseed oil could be discriminated, whereas those from pigs fed EL or MA were not differentiated by the method. To conclude, NIRS could indicate if pigs received n-3 FA in their diet. With the equations developed in this experiment, it is possible to quantify the n-3 FA content in fat tissues using NIRS in order to characterize carcass quality. This tool could be use in slaughterhouse to evaluate the quality of lipids of the carcass from an analysis of the subcutaneous backfat.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the technical staff of INRA laboratory involved in this experiment. They are gratefully thanked for their skilled assistance. None of the authors has any financial or personal conflict of interest to disclose. A.T formulated the research question, designing the study, carrying it out, analyzing the data and wrote the article. E.L assisted in the correction and developed the question. J.M designed the study and also assisted in the correction and developed the question. C.P and G.R were involved in the laboratory part and the data analysis. All authors read and approved the final version of the manuscript. This work was supported by the National Agricultural Research Institute, but it received no specific grant from any funding agency, commercial or not-for-profit sectors. The authors have no financial or personal conflicts of interest to declare.

References

- Andueza, D., Mourot, B. P., Aït-Kaddour, A., Prache, S., & Mourot, J. (2015). Utilisation de la spectroscopie dans le proche infrarouge et de la spectroscopie de fluorescence pour estimer la qualité et la traçabilité de la viande. *INRA Prod. Anim.*, 28(2), 197-208.
- Berzaghi, P., Dalle Zotte, A., Jansson, L. M., & Andrighetto, I. (2005). Near-infrared reflectance spectroscopy as a method to predict chemical composition of breast meat and discriminate between different n-3 feeding sources. *Poultry Sci.*, 84, 128-136.
- Chesneau, G., Mourot, J., Douzenel, P., Lahaye, E., Mairesse, G., & Sire, O. (2011). Fast analysis by near infrared spectroscopy of fatty acids from adipose tissue of swine. In *Journées Rech. Porcine*. Paris.
- Fernández-Cabanás, V. M., Garrido-Varo, A., Olmo, J. G., Pedro, E. D., & Dardenne, P. (2007). Optimisation of the spectral pre-treatments used for Iberian pig fat NIR calibrations. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.*, 87(1), 104-112.
- Fernández-Cabanás, V. M., Polvillo, O., Rodríguez-Acuña, R., Botella, B., & Horcada, A. (2011). Rapid determination of the fatty acid profile in pork dry-cured sausages by NIR spectroscopy. *Food Chem.*, 124(1), 373-378.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- Gonzalez-Martin, I., Gonzalez-Perez, C., Alvarez-Garcia, N., & Gonzalez-Cabrera, J. M. (2005). On-line determination of fatty acid composition in intramuscular fat of Iberian pork loin by NIRs with a remote reflectance fibre optic probe. *Meat Sci.*, 69(2), 243-248.
- Gonzalez-Martin, I., Gonzalez-Perez, C., Hernandez-Mendez, J., & Alvarez-Garcia, N. (2003). Determination of fatty acids in the subcutaneous fat of iberian breed swine by near infrared spectroscopy (NIRS) with fibre-optic probe. *Meat Sci.*, 65, 713-719.
- Guy, F., Prache, S., Thomas, A., Bauchart, D., & Andueza, D. (2011). Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chem.*, 127(3), 1280-1286.
- Karoui, R., Mouazen, A. M., Dufour, É., Pillonel, L., Picque, D., Bosset, J.-O., & De Baerdemaeker, J. (2005). Mid-infrared spectrometry: A tool for the determination of chemical parameters in Emmental cheeses produced during winter. *Le Lait*, 86(1), 83-97.
- Lebret, B., Lefaucheur, L., & Mourot, J. (1999). The quality of pork-Influence of rearing factors on the characteristics of the muscle tissue. *INRA Prod. Anim.*, 12 (1), 11-28.
- Lebret, B., Lefaucheur, L., Mourot, J., & Bonneau, M. (1996). Influence of rearing factors on the quality of pork. In *Journées Rech. Porcine*, vol. 28 (pp. 137-156). Paris.
- Lebret, B., & Mourot, J. (1998). Caractéristiques et qualité des tissus adipeux chez le porc. Facteurs de variation non génétiques [Characteristics and quality of pig adipose tissues. Influence of rearing factors]. *INRA Prod. Anim.*, 11(2), 131-143.
- Mairesse, G., Douzenel, P., Mourot, J., Vautier, A., Le Page, R., Goujon, J. M., Poffo, L., Sire, O., & Chesneau, G. (2012). Measurement at slaughterhouse of fatty acid composition of the backfat of pig using a portable nearinfrared spectrometry. In V. e. P. carnés (Ed.), *14èmes Journées Sciences du Muscle et Technologies des Viandes*, vol. Hors série (pp. 39-40). Caen.
- Morrison, W. R., & Smith, L. M. (1964). Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol. *J. Lipid Res.*, 5, 600-608.
- Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Mairesse, G., & Andueza, D. (2015). Breeds and muscle types modulate performance of near-infrared reflectance spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat. *Meat Sci.*, 99, 104-112.

- Mourot, B. P., Gruffat, D., Durand, D., Chesneau, G., Prache, S., Mairesse, G., & Andueza, D. (2014). New approach to improve the calibration of main fatty acids by near-infrared reflectance spectroscopy in ruminant meat. *Anim. Prod. Sci.*, *54*(10), 1848.
- Mourot, J., & Hermier, D. (2001). Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.*, *41*, 109-118.
- Perez-Marin, D., De Pedro Sanz, E., Guerrero-Ginel, J. E., & Garrido-Varo, A. (2009). A feasibility study on the use of near-infrared spectroscopy for prediction of the fatty acid profile in live Iberian pigs and carcasses. *Meat Sci.*, *83*(4), 627-633.
- Prieto, N., Dugan, M. E., Lopez-Campos, O., McAllister, T. A., Aalhus, J. L., & Uttaro, B. (2012). Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. *Meat Sci.*, *90*(1), 43-51.
- Prieto, N., López-Campos, Ó., Aalhus, J. L., Dugan, M. E. R., Juárez, M., & Uttaro, B. (2014). Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed. *Meat Sci.*, *98*(2), 279-288.
- Prieto, N., Roehe, R., Lavin, P., Batten, G., & Andres, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Sci.*, *83*(2), 175-186.
- Prieto, N., Uttaro, B., Mapiye, C., Turner, T. D., Dugan, M. E., Zamora, V., Young, M., & Beltranena, E. (2014). Predicting fat quality from pigs fed reduced-oil corn dried distillers grains with solubles by near infrared reflectance spectroscopy: fatty acid composition and iodine value. *Meat Sci.*, *98*(4), 585-590.
- Quiniou, N., & Noblet, J. (2012). Effect of the dietary net energy concentration on feed intake and performance of growing-finishing pigs housed individually. *J. Anim. Sci.*, *90*, 4362-4372.
- Robina, A., Viguera, J., Perez-Palacios, T., Mayoral, A. I., Vivo, J. M., Guillen, M. T., & Ruiz, J. (2013). Carcass and meat quality traits of Iberian pig as affected by sex and crossbreeding with different Duroc genetic lines. *Span. Agric. Res.*, *11*(4), 1057.
- Sauvant, D., Perez, J. M., & Tran, G. (2004). Tables of composition and nutritional value of raw materials for livestock. In INRA ed., vol. 2 (pp. 304).
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1991). Population Definition, Sample Selection, and Calibration Procedures for Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Crop Sci.*, *31*, 469-474.
- Shenk, J. S., & Westerhaus, M. O. (1993). Analysis of agriculture and food products by near infrared reflectance spectroscopy. Monograph. In *Infrasoft International*). Port Matilda, P.A., USA.
- Shenk, J. S., Westerhaus, M. O., & Abrams, S. M. (1989). Protocol for IR calibrations: Monitoring analysis results and recalibration. In M. G.C., J. S. Shenk & F. E. E. Barton II (Eds.), *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*, vol. 643 (pp. 104-110). Washington, DC: US Government Printing Office: USDA-ARS agriculture handbook.
- Sierra, V., Aldai, N., Castro, P., Osoro, K., Coto-Montes, A., & Olivan, M. (2008). Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Sci.*, *78*(3), 248-255.
- Simopoulos, A. P. (2016). An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*, *8*(3).
- Williams, P. C. (2001). Implementation of near-infrared technology. In K. Williams & K. Norris (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industry*, vol. 2 (pp. 145-171). St Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc.

- Williams, P. C., & Sobering, D. C. (1993). Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. *J. Near Infrared Spectrosc.*, *1*, 25-32.
- Zamora-Rojas, E., Garrido-Varo, A., De Pedro-Sanz, E., Guerrero-Ginel, J. E., & Perez-Marin, D. (2013). Prediction of fatty acids content in pig adipose tissue by near infrared spectroscopy: at-line versus in-situ analysis. *Meat Sci.*, *95*(3), 503-511.
- Zhou, L. J., Wu, H., Li, J. T., Wang, Z. Y., & Zhang, L. Y. (2012). Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Sci.*, *90*(3), 658-664.
- Zomeno, C., Juste, V., & Hernandez, P. (2012). Application of NIRS for predicting fatty acids in intramuscular fat of rabbit. *Meat Sci.*, *91*(2), 155-159.

DISCUSSION GENERALE

Les AGPI n-3, qu'ils soient précurseurs ou dérivés sont essentiels à la santé de l'Homme. En participant à la structure des membranes cellulaires et à la synthèse de molécules dérivées, ils contribuent au maintien des fonctions cérébrales et visuelles ainsi qu'à la prévention de nombreuses pathologies (Morris *et al.* 1993; Harbige 2003; Morris *et al.* 2003). Cependant, les ressources riches en EPA, DPA et DHA, constituées essentiellement par les poissons gras ne sont que partiellement renouvelables (Botsford 1997). L'utilisation des animaux terrestres d'élevage (porc, bœuf, mouton, volaille, lapins) comme vecteur d'AG n-3 est donc devenue une stratégie prometteuse. Les produits de ces animaux (viande, lait, œufs) sont en effet fortement consommés par l'Homme et les enrichir en AG n-3 permettrait de ne pas modifier les habitudes de consommation de produits animaux, tout en augmentant le niveau de consommation d'AGPI n-3. Cette problématique est depuis longtemps développée dans de nombreuses équipes de recherche au niveau national et international dont l'équipe Alinut dans laquelle cette thèse a été effectuée. La plupart des travaux en matière d'alimentation animale ont consisté à introduire dans la ration des animaux l'acide gras précurseur de la famille des n-3 (ALA), généralement par le biais de colza ou de graines de lin. Dans l'un des essais de la thèse, des graines de lin ayant subies un traitement de dépelliculage avant extrusion ont été introduites dans des régimes en partant de l'hypothèse que cela augmenterait les dépôts d'ALA par rapport à une graine de lin seulement extrudée, du fait d'une meilleure utilisation digestive des acides gras. La technologie mise en place est issue d'un process industriel développé par l'entreprise Valorex. Les résultats issus de la littérature et de notre laboratoire ont cependant montré que l'ingestion de graines de lin augmente significativement les dépôts d'ALA dans les tissus, mais qu'elle ne permet pas d'augmenter les dépôts de dérivés tels que le DHA (Guillevic *et al.* 2009b; Tanghe *et al.* 2015). C'est la raison pour laquelle, des microalgues riches en DHA ont été utilisées dans les régimes des porcs des essais de cette thèse. L'utilisation de cette matière première en nutrition animale est innovante. Les données de la littérature concernant ses effets sur la qualité de la viande sont peu nombreuses tandis que seuls deux articles à ce jour relatent ses effets sur le métabolisme des lipides chez le porc (Meadus *et al.* 2011; Meadus *et al.* 2011).

La problématique de la thèse était donc de tester l'effet de cette nouvelle ressource alimentaire qu'est la microalgue *Schizochytrium sp.* (DHA Gold®) et son association avec des graines de lin extrudées ou dépelliculées et extrudées sur 1- le métabolisme des lipides et 2- les quantités d'acides gras n-3 déposées dans la viande de porc et sa qualité, afin de proposer *in fine* des pistes pour arriver à construire un modèle de prédiction du dépôt de ces acides gras

Tableau 33. Effet du lot, du sexe et de l'interaction sur les performances de croissance des porcs dans le cas de l'essai 1 et celui de l'essai 2

Essai 1	sexe	COL	GLE	G3M1	G2M2	G1M3	MAG	Rsd	P-value			Données de GTE 2015
									lot	sexe	lot*sexe	
Poids final	F	120	111	115	115	118	114	7,06	0,66	0,67	0,49	121
	MC	116	116	110	115	114	116					
Conso jour	F	3,5	3,3	3,4	3,3	3,5	3,4	0,22	0,55	<0,001	0,88	2,3
	MC	3,7	3,7	3,5	3,6	3,6	3,7					
GMQ	F	1,1	1,0	1,0	1,0	1,1	1,0	0,08	0,55	0,01	0,12	0,8
	MC	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0					
IC	F	3,2	3,4	3,3	3,3	3,2	3,3	0,26	0,97	<0,001	0,47	2,9
	MC	3,8	3,6	3,7	3,6	3,8	3,8					

Essai 2	sexe	SP	GLE	GLE-	G3M1	G2M2	MAG	Rsd	P-value			Données de GTE 2015
									lot	sexe	lot*sexe	
Poids final	ME	115	117	117	121	117	117	7,88	0,84	0,03	0,94	121
	MC	114	111	114	115	111	113					
Conso jour	ME	3,0	3,1	3,0	3,3	3,2	3,1	0,32	0,72	0,0003	0,30	2,3
	MC	3,6	3,3	3,5	3,4	3,3	3,3					
GMQ	ME	1,1	1,1	1,1	1,2	1,1	1,1	0,14	0,79	0,10	0,89	0,8
	MC	1,1	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0					
IC	ME	2,6	2,6	2,6	2,6	2,7	2,6	0,17	0,73	<0,001	0,47	2,9
	MC	3,2	3,1	3,1	3,0	3,0	3,1					

GMQ, gain moyen quotidien, ; IC, indice de consommation ; F, femelles ; MC, mâles castrés ; ME, mâles entiers
Données de Gestion Technico-Economique issus de l'Institut Technique du Porc 2015 (IFIP).

Tableau 34. Quantité (g) d'ALA et de DHA par kg d'aliment des essais expérimentaux menés dans le cadre de la thèse

	ALA	DHA
Colza ¹	2,27	0,00
GLE ¹	9,22	0,00
3GLE/1MAG ¹	8,33	1,93
2GLE/2MAG ¹	5,49	3,42
1GLE/3MAG ¹	2,88	4,78
MAG ¹	0,82	6,05
Soja + palme ²	0,55	0,01
GLE ²	3,97	0,00
GLE- ²	4,23	0,00
3GLE-/1MAG ²	3,22	1,72
2GLE-/2MAG ²	2,43	3,34
MAG ²	0,69	7,03

¹ = essai 1 ; ² = essai 2

dans les tissus. Une partie de la thèse avait également pour objectif de tester la capacité de la spectrométrie en proche infrarouge à prédire la composition en AGPI n-3 de la viande afin dans le futur de s'affranchir des dosages de laboratoire longs et coûteux.

Dans les essais 1 et 2 de cette thèse, les porcs ont été nourris *ad libitum* avec des régimes formulés sur une base de blé, maïs, orge et tourteau de soja, supplémentés en graines de lin riches en ALA et en microalgues riches en DHA. L'objectif des formulations, en plus d'apporter des quantités non négligeables d'AGPI n-3 à des doses variables, était que les régimes soient iso-protéiques (18%), iso-énergétiques (9,4 MJ/kg d'énergie nette) et iso-lipidiques (4%) afin de s'assurer que les éventuels effets observés soient dû à la composition en acides gras alimentaires. Les lots d'animaux ont ainsi été mis en place de façon à être homogènes entre eux sur la base du poids vif des animaux. Le schéma expérimental ainsi établi n'a donc pas montré d'effet d'une alimentation riche en acides gras n-3 sur les performances de croissance des porcs (poids vif final, indice de consommation, gain moyen quotidien, consommation journalière, Tableau 33). L'interaction sexe×lot n'a pas eu d'effet sur les performances de croissance. Ces résultats ont permis de valider le schéma expérimental mis en place dans le cas des deux essais, caractérisés par une ingestion d'aliment et un indice de consommation plus élevé que les données issues de la Gestion Technico-Economique des porcs en engraissement (IFIP 2015).

1. Facteurs de variation de la qualité nutritionnelle des tissus porcins et conséquences sur les qualités technologique et sensorielle de la viande

1.1. Identification des facteurs de variation du dépôt des AGPI n-3

Différents facteurs favorisent ou limitent le captage et le stockage des AGPI dans les tissus porcins. Parmi eux se trouvent l'alimentation, l'animal et la localisation anatomique des tissus eux-mêmes. Une partie de cette thèse s'est attachée à vérifier certains de ces éléments chez des animaux en croissance et finition (facteur de l'âge non vérifié) issus du croisement [(Large White × Landrace) × Piétrain] (facteur race non vérifié), c'est-à-dire dans des situations proches de celles rencontrées en élevage conventionnel.

1.1.1. Effet du niveau alimentaire

Cette thèse a confirmé l'effet important de l'alimentation sur les quantités d'AGPI n-3 dosées dans les tissus maigres et gras des carcasses. Pour cela, les régimes ont été formulés avec des doses décroissantes d'ALA et des doses croissantes de DHA à teneur constante en énergie nette (9,4 MJ/kg) (Tableau 34). De ce fait, les consommations totale et journalière

d'aliment ont été identiques entre lots, la teneur en énergie nette des régimes étant un déterminant important de la consommation volontaire chez le porc (Quiniou et Noblet 2012). Les régimes ont été distribués *ad libitum* aux animaux, rendant alors difficile l'extrapolation des résultats dans les élevages non expérimentaux dans lesquels les animaux sont alimentés à un niveau restreint. Ainsi, le niveau de consommation journalière dans le cas de notre étude était supérieur d'environ 1 kg/j à la consommation journalière relevée en élevage (Tableau 33). La diminution de l'apport alimentaire se répercute principalement sur le dépôt lipidique (Quiniou *et al.* 1995) et donc sur la composition en acides gras des tissus (Eichhorn *et al.* 1986; Wiecek *et al.* 2011).

1.1.2. Digestibilité des acides gras

Un des premiers facteurs impactant le stockage des acides gras au niveau tissulaire est leur absorption digestive. Leur utilisation digestive, calculée au niveau iléal pour s'affranchir des remaniements ayant lieu dans les compartiments distaux du tube digestif, varie en fonction de la matrice qui contient les acides gras. A ce jour, très peu d'études ont porté sur la digestibilité des acides gras contenus dans la graine de lin ou ses dérivés telle que l'huile (Duran-Montgé *et al.* 2007; Noblet *et al.* 2008; Martínez-Ramírez *et al.* 2013) et aucune à notre connaissance concernant la microalgue *Schizochytrium sp.* chez le porc. De même, les publications concernant la digestibilité des AGPI LC tels que les dérivés de la famille des n-3 chez le porc sont rares. A ce jour, un seul article recense de résultats de la digestibilité du C22:6 n-3 en espèce porcine (Jørgensen *et al.* 2000) à partir de l'utilisation d'huile de poisson. Il était donc nécessaire dans le cadre de cette thèse d'étudier la digestibilité des acides gras contenus dans les différentes matières premières utilisées dans les essais 1 et 2 (Publication 1). Les résultats ont montré que le coefficient d'utilisation digestive standardisé du C18:3 n-3 était de 82 et 86% lorsque cet acide gras était apporté par des graines de lin extrudées ou dépelliculées et extrudées. Les CUD standardisés du C22:5 n-6 et du C22:6 n-3 issus des microalgues étaient très élevés (> 99%), indiquant que les AGPI n-3 longues chaînes sont presque totalement absorbés par le porc. Ces résultats seront utilisés dans les calculs de prédiction des dépôts d'AGPI n-3. La digestibilité iléale des acides gras étant d'autant plus élevée avec de plus fortes quantités dans les régimes, cela explique la relation positive entre acides gras ingérés et acides gras déposés dans les tissus des animaux. Malgré l'obtention de coefficients de digestibilité élevés de l'ALA contenus dans les graines de lin, ce travail a montré que le dépelliculage des graines n'améliorait pas la digestibilité des acides gras et de l'ALA en particulier par rapport à l'extrusion seule. Le process d'extrusion semble expliquer

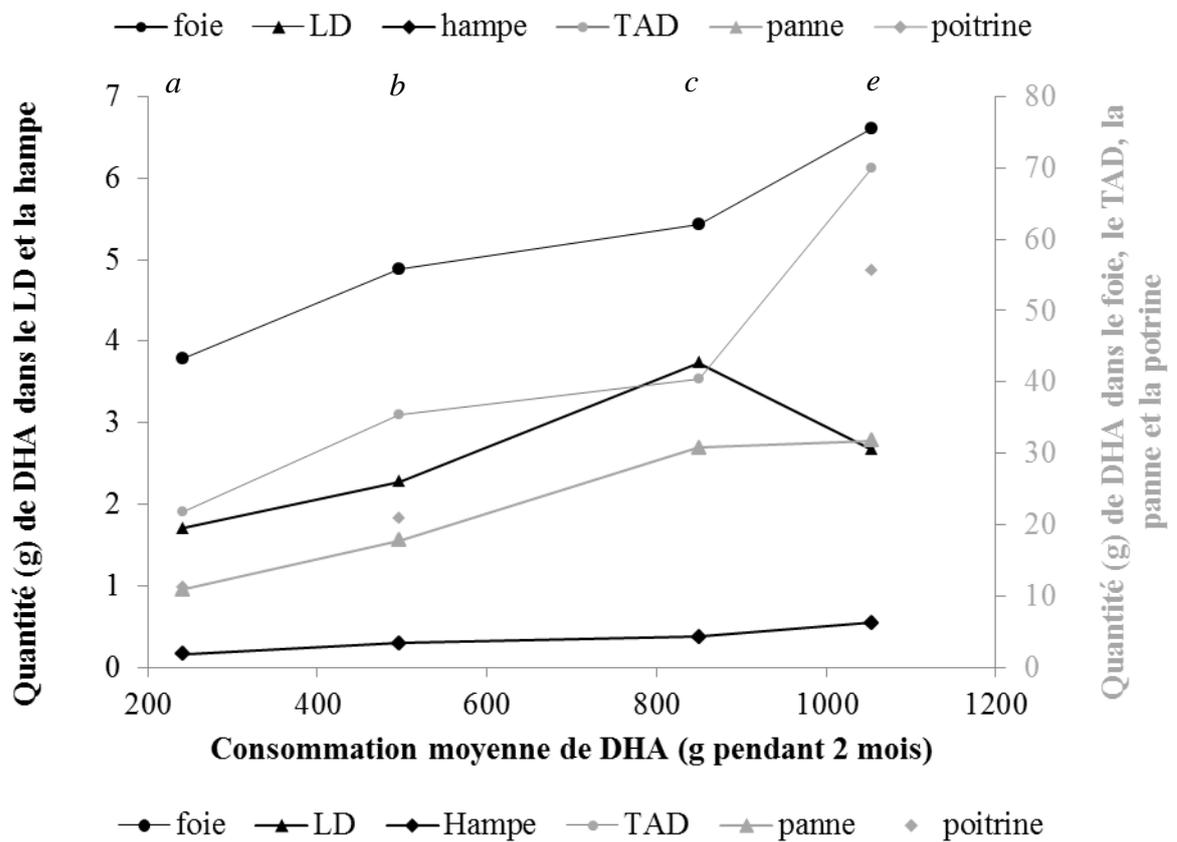
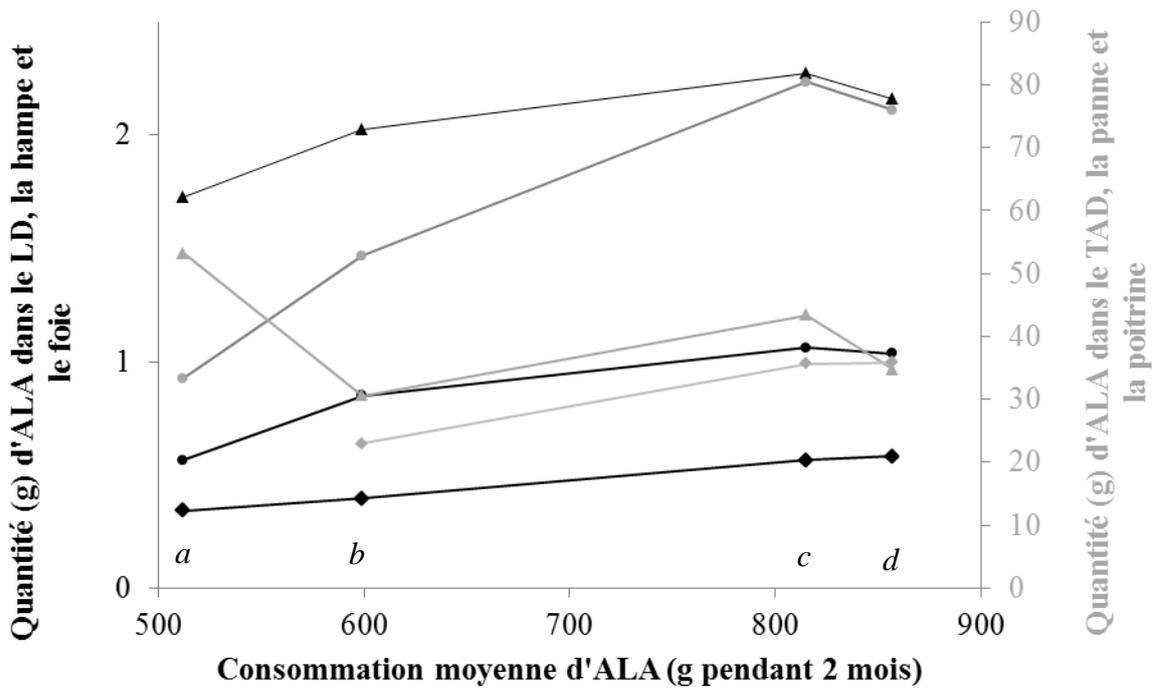


Figure 23. Dépôt d'ALA et de DHA (g) dans le foie, les tissus musculaires et adipeux en fonction de la quantité ingérée pendant deux mois par les porcs

La lettre a correspond à la consommation moyenne des régimes G1M3 des deux essais ; b = moyenne G2M2 ; c = moyenne G3M1 ; d = moyenne GLE et GLE- ; e = moyenne MAG des deux essais

ce résultat. Afin d'extruder les graines, ces dernières doivent être accompagnées d'un support permettant de fixer leur matière grasse au cours du process. Pour cela, les graines de lin sont associées à du son de blé. Dans le cas des graines extrudées, le ratio est de 40/60, tandis que dans le cas des graines dépelliculées et extrudées, ce ratio est de 50/50. De ce fait, les teneurs en NDF, ADF et ADL du régime à base de graines de lin dépelliculées et extrudées n'étaient pas plus faibles que celles des teneurs en ces mêmes composés du régime à base de graines extrudées seulement. C'est cet effet qui pourrait avoir eu pour conséquence de ne pas améliorer significativement la digestibilité des acides gras des graines dépelliculées et extrudées comparativement aux graines extrudées seulement. Pour ce faire, il conviendrait de trouver une méthode alternative permettant de fixer et de protéger la matière grasse des graines dépelliculées à un support non fibreux.

1.1.3. Composition en acides gras de l'aliment

Des essais précédents menés au sein de l'équipe Alinut avaient laissé penser que la relation entre l'acide gras ingéré et son dépôt dans les tissus n'était pas systématiquement linéaire. En effet, selon les tissus et les acides gras, un seuil maximal de dépôt, en particulier pour le DHA, semblait être atteint. C'est la raison pour laquelle l'essai 1 a été mis en place. Les différents paliers des doses d'introduction de graines de lin et/ou de microalgues avaient pour objectif d'amener les doses décroissantes de C18:3 n-3 (ALA) et au contraire les doses croissantes de C22:6 n-3 (DHA) dans les régimes afin d'étudier l'évolution des dépôts d'AGPI n-3 dans divers tissus maigres, gras ou organes tel que le foie. Comme le montre la Figure 23, l'ingestion de doses croissantes d'ALA par les porcs entraîne un stockage croissant de cet acide gras dans le foie et les tissus musculaires et adipeux. La quantité d'ALA dans un tissu entier maigre contenant 2% de lipides tel que le LD et pesant environ 11 kg peut ainsi aller jusqu'à 2 g à et jusqu'à 80 g dans un tissu gras comme le TAD contenant 68% de lipides et pesant environ 3 kg. Le dépôt semble donc atteindre un seuil (hampe, foie et poitrine) voire diminuer (muscle *longissimus dorsi*, LD ; tissu adipeux dorsal, TAD et panne) au-delà de 815 grammes ingérés pendant deux mois. Les quantités (g) de DHA totales augmentent linéairement dans tous les tissus entiers avec la hausse des doses ingérées (Figure 23). Un foie entier à 4% de lipides peut ainsi contenir jusqu'à 5 g de DHA, alors qu'un tissu gras comme le TAD peut en contenir jusqu'à 70 g. Les résultats de cette thèse confirment une fois de plus les observations de la bibliographie concernant la relation existante entre acides gras ingérés et quantité d'acides gras dosée dans les tissus (Mourot et Hermier 2001), la relation étant vraie également pour le C22:6 n-3 contenu dans les microalgues. En revanche comme cela a pu être

supposé, la relation ne semble pas systématiquement linéaire en ce qui concerne les dérivés d'AGPI n-3 dosés comparativement aux doses de C18:3 ou de C22:6 n-3 ingérées. En effet, une partie des résultats a montré que la quantité de C20:5 n-3 (acide docosapentaénoïque, EPA) dans le foie suivait une courbe asymptotique avec l'augmentation des quantités de C18:3 n-3 consommées (Figure 20). Une valeur seuil de 2,5 g pour un foie de 2,2 kg semble en effet être atteinte dans ce tissu. Deux points ont ainsi été mis en évidence : 1- Le stockage limité d'EPA dans le foie a suggéré que cet organe exportait les dérivés à longue chaîne vers les tissus cibles 2- les doses d'EPA dans les régimes étant négligeables (<0,8% des AGT), il apparaissait évident que des mécanismes de synthèse se mettaient en place dans cet organe. Concernant la synthèse d'EPA, il a été estimé au vu de la dose de DHA retrouvée dans le foie, qu'une rétroconversion de cet acide gras pouvait se mettre en place au niveau hépatique. Par méthode de calcul, il a ainsi été estimé que 8% du DHA alimentaire étaient rétroconvertis en EPA dans le foie après une consommation de 332 g à 589 g de DHA pendant deux mois et 11% après une consommation de 850 à 1072 g de DHA pendant deux mois.

1.1.4. Régulation du métabolisme

Pour essayer d'étayer notre hypothèse sur le processus de rétroconversion et avoir une idée plus précise du métabolisme des acides gras, les mécanismes enzymatiques tels que l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme lipidique et les activités de lipogénèse ont été étudiés plus en détail, notamment au niveau hépatique mais également au niveau musculaire et adipeux (Publication n°2). Le tissu adipeux est en effet connu pour sa régulation lipogénique chez le porc en croissance-finition et sa capacité de synthèse d'AGPI LC n-3. Une q-PCR sur de l'ADN de foie, de tissus adipeux dorsal et de muscle LD a ainsi permis de constater que les gènes des désaturases et des élongases étaient plus fortement exprimés dans le foie et le tissu adipeux que dans le muscle. Par ailleurs, les analyses de q-PCR ont montré que l'apport de fortes doses de DHA entraînant alors le stockage massif de cet acide gras dans les tissus pouvait inhiber la synthèse hépatique de dérivés de la famille des n-3 en diminuant l'expression génique de FADS2, le gène codant pour la $\Delta 6$ -désaturase. De la même façon, l'apport croissant de DHA a entraîné la diminution de l'expression du facteur de transcription SREBP1 au niveau hépatique et musculaire. Ce récepteur est impliqué dans la synthèse de nombreuses enzymes du métabolisme lipidique tel que acétyl-CoA synthase, acétyl-CoA carboxylase, Fatty Acid Synthase, les enzymes de bioconversion des AGPI ($\Delta 9$, $\Delta 6$ et $\Delta 5$ -désaturases) et les enzymes de synthèse des triglycérides. Ce résultat confirme les éléments de la bibliographie qui expliquent que les AGPI en inactivant le récepteur SREBP1, inhibent

Tableau 35. Effet des régimes sur les quantités (mg/l) de triglycérides, cholestérol total et HDL cholestérol du sang - Essais 1 et 2

Essai 1	HC	GLE	G3M1	G2M2	G1M3	MAG	Rsd	P-value
Trig.	470,8	417,6	480,3	405,8	450,4	427,3	123,8	0,71
Chol. tot	1077,6	1031,3	965,2	1020,5	961,8	940,6	125,9	0,15
HDL	418,2 ^a	366,4 ^{ab}	341,8 ^{bc}	336,9 ^{bc}	280,6 ^c	276,9 ^c	54,5	< 0,001
Essai 2	SP	GLE	GLE-	G3M1	G2M2	MAG	Rsd	P-value
Trig.	388,82	428,56	487,43	381,21	380,09	385,47	96,25	0,06
Chol. tot	970,64	908,27	877,45	906,45	880,40	792,96	150,85	0,13
HDL	359,40 ^a	330,87 ^a	332,99 ^a	303,63 ^{ab}	296,94 ^{ab}	244,33 ^b	66,11	0,0019

ainsi la synthèse d'acides gras, de triglycérides ou lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de haute densité (HDL) (Guesnet *et al.* 2005). Cette dernière observation pourrait en outre constituer un élément d'explication de la baisse du HDL cholestérol circulant avec l'augmentation des doses de microalgues dans les régimes (Tableau 35). Pour confirmer ce résultat, il aurait été nécessaire d'étudier les mécanismes de synthèse et d'excrétion des HDL hépatiques. Il aurait été intéressant d'étudier notamment l'activité de l'enzyme de synthèse du HDL cholestérol, à savoir la Lécithine Cholestérol Acyl Transférase (LCAT) pour savoir si l'apport de microalgues l'aurait diminuée. En outre, l'explication de la baisse du HDL cholestérol circulant pourrait également provenir de la teneur en acides gras saturés de la microalgue. En effet, le deuxième acide gras principal de la microalgue *Schizochytrium sp.* est l'acide palmitique contenu à hauteur de 32% des AGT, tandis que le C14:0 est contenu à hauteur de 12% des AGT. Ces deux acides gras sont en effet connus pour leur capacité à diminuer le HDL cholestérol et à augmenter le LDL cholestérol (Kris - Etherton 1993). Des dosages de LDL cholestérol sanguin auraient alors pu compléter les mesures effectuées.

Enfin, il a été montré que l'apport des doses croissantes de microalgues diminuait également l'expression génique de l'enzyme malique et dans une moindre mesure de la Fatty Acid Synthase du foie mais pas du TAD ni du muscle LD. Ce résultat a été confirmé avec le dosage des activités de ces enzymes dans les mêmes tissus et démontre une fois de plus l'effet des AGPI n-3 sur la baisse des activités de lipogénèse. Les résultats sur le métabolisme démontrent également que les quantités d'acides gras sont régulées différemment selon les tissus et que les acides gras eux-mêmes ont la capacité d'inhiber l'activité des enzymes ou d'inhiber l'expression des gènes de certaines protéines du métabolisme lipidique mais uniquement dans le foie. En revanche, l'étude des quantités d'ARNm du foie n'a pas montré que l'expression des gènes impliqués dans la β -oxydation responsable aussi bien de la synthèse que de la rétroconversion de DHA, à savoir DECR2, ACOX1, EHHADH et SLC27A était limitée par l'apport de DHA dans les régimes. De ce fait, il est possible de penser que la rétroconversion du DHA au niveau des peroxyosomes hépatiques a bien lieu, ce qui va dans le même sens que l'hypothèse émise précédemment concernant l'estimation du taux de DHA se rétro-convertissant en EPA dans le foie.

1.1.5. Traitement technologique de la matière première

Parmi les autres facteurs alimentaires pouvant influencer la composition en acides gras des tissus se trouve le traitement de la matière première. Dans le cadre de cette thèse, l'emploi de graines de lin a permis de tester l'effet du dépelliculage couplé à l'extrusion (graines de lin

pauvres en fibres) sur la digestibilité des acides gras et sur la composition lipidique des tissus. Cet effet a fait l'objet des publications 1 et 3 respectivement. L'hypothèse de départ était de considérer que les quantités d'ALA dosées dans les tissus seraient augmentées avec ce traitement comparativement à un apport en graines de lin extrudées. Or, l'étude de digestibilité n'a pas montré d'amélioration significative du CUD standardisé des acides gras et de l'ALA en particulier entre les deux régimes à base de graines de lin. En revanche, les effets sur la composition en AGPI n-3 des tissus ont été plus marqués. Le dépelliculage a significativement augmenté le stockage de l'ALA dans les tissus par rapport à l'extrusion seule. Le dépelliculage a en effet augmenté de 19% la teneur de ALA dans le muscle *longissimus dorsi* et la hampe (diaphragme), de 9% dans les tissus adipeux sous cutanés (sauf au niveau du cou) et de 17% dans la panne par rapport à l'extrusion seule (Tables 3, 4, 5 et 6 p 164-167). Les teneurs en AGPI n-3 totaux ont significativement été augmentées dans la hampe (19%), les tissus adipeux sous cutanés (sauf au niveau du cou) (9%) et la panne (15%). L'effet positif du dépelliculage sur la composition en acides gras et donc l'amélioration des dépôts en ALA et en AGPI n-3 totaux par rapport à l'extrusion seule a été mis en avant ; il s'expliquerait plutôt par une meilleure digestibilité des nutriments des graines de lin après le dépelliculage que par une meilleure absorption digestive de l'ALA.

1.1.6. Localisation anatomique et rôle des tissus

Le dernier facteur influençant la composition en acides gras des tissus qui n'est pas d'ordre alimentaire est la localisation anatomique dans la carcasse ou le rôle des tissus dans l'organisme. La localisation anatomique a un effet direct sur la composition en acides gras des lipides totaux des tissus, tandis que le rôle des tissus induit un effet sur la composition des lipides neutres et polaires. Ainsi, les lipides totaux des muscles *longissimus dorsi* et *semi-membranosus* contenaient davantage d'AGPI (18% des AGT en moyenne) que la hampe (16% des AGT). Ces deux muscles contenaient également plus de C20:5, C22:5 et C22:6 n-3 (respectivement 0,50% ; 0,80% et 0,25% des AGT) que la hampe (0,20 ; 0,37 et 0,09 % des AGT). La panne était le tissu adipeux présentant le plus d'AGS avec un ratio AGPI/AGS inférieur à 1,08 quel que soit les régimes alors que les autres tissus adipeux présentaient un ratio compris entre 1,30 et 1,82 selon les régimes. Il a également été montré que le tissu adipeux sous cutané du dos était le plus riche en C22:6 n-3, alors que le tissu adipeux sous cutané le plus riche en C20:5 n-3 était celui du jambon. Ces résultats ont été vérifiés suite à l'ingestion par les porcs des régimes à base d'huiles de soja et de palme, de graines de lin extrudées ou dépelliculées (Publication n°3). Ils ont permis de confirmer que certains tissus

Tableau 36. Moyenne et écart type (ET) entre lots du poids de carcasse (kg) et du poids des pièces de découpe (g) selon les essais expérimentaux

	Essai 1		Essai 2	
	Moyenne	ET	Moyenne	ET
Carcasse chaude	90	1,7	91	1,5
Panne	1270	75,0	1050	49,7
Cœur	428	7,2	474	12,5
Rognons (×2)	473	128,4	427	24,4
Hampe	353	8,1	334	21,8
Pieds (×2)	1088	20,2	1294	379,7
Jambon	10386	193,8	10367	209,0
Tête	4847	60,0	5297	142,0
Poitrine	5369	224,4	5569	110,2
Queue	215	17,7	168	10,8
Longe	14349	387,2	14610	384,5
Bardière	2736	142,0	2755	121,0
Rein	10146	264,8	10381	163,9
Épaupe	11608	261,3	11850	283,6

Jambon : jambon avec peau et os, tête entière, poitrine avec muscle et tissu gras, longe : muscle *longissimus*, bardière : tissu adipeux sous cutané dorsal, rein : longe + bardière (cf Figure 17), épaupe avec peau et os

Tableau 37. Moyenne et écart type (ET) entre lots des caractéristiques de la viande mesurées à l'abattoir au cours des deux essais

	Essai 1		Essai 2	
	Moyenne	ET	Moyenne	ET
TMP (%)	59,6	0,5	60,2	0,4
Poids côte à 24h (g)	109,44	1,4	104,8	1,8
Poids côte à 48h (g)	104,00	1,0	100,3	2,1
Poids côte après cuisson (g)	77,84	1,3	82,9	2,3
Perte eau à 24h (%)	4,95	0,4	4,2	0,6
Perte eau après cuisson (%)	25,15	0,7	17,4	0,7
Perte totale eau (%)	28,84	0,8	20,9	0,9
l	-	-	54,6	0,9
a	-	-	6,6	0,4
b	-	-	3,4	0,3
Ep, Jambon (mm)	17,5	0,9	15,2	0,7
Ep, Dos (mm)	20,7	1,5	21,1	0,8
Ep, Cou (mm)	38,8	1,1	38,5	1,1
pH₂₄ SM	-	-	5,5	0,0

TMP, taux de muscle des pièces; l, a et b, paramètres de couleur pH₂₄, Epaisseur de tissu adipeux sous cutané mesuré à l'abattoir avec un pied à coulisse; pH du muscle *semi membraneux* (SM) 24 heures après abattage.

comme la panne étaient plus aptes à synthétiser et à stocker les acides gras saturés alors que d'autres comme les tissus adipeux sous cutanés étaient plus aptes à synthétiser et/ou à stocker les AGPI n-3. Cela a donc conforté l'idée que les lipides des tissus situés à l'intérieur de la carcasse sont plus saturés que les lipides des tissus plus externes et plus polyinsaturés. Cette observation concernant le stockage des acides gras est d'autant plus vraie qu'il dépend du rôle du tissu au sein de l'organisme.

Pour cette raison, la composition en acides gras des fractions neutres et polaires des lipides de deux muscles a été étudiée et comparée : le muscle LD et le cœur. Ainsi, un apport croissant de microalgues dans les régimes a eu pour conséquence de diminuer la teneur en AGPI n-6 et d'augmenter la teneur en AGPI n-3 des lipides neutres (LN) des deux muscles. Cela a également eu pour conséquence de diminuer la teneur en AGMI et d'augmenter de 50% la teneur en AGPI n-3 des lipides polaires (LP) des deux muscles. Malgré cela, le cœur est plus riche en lipides que le muscle LD avec une prépondérance des lipides polaires. Le muscle LD contient quant à lui trois fois plus de LN riches en AGS et AGMI que de LP. D'après la bibliographie, il a été déduit que ces résultats pouvaient avoir des conséquences métaboliques expliquant certaines observations en termes de qualité de la viande, notamment sur les pertes en eau (Xiao *et al.* 1995; Xiao *et al.* 2005).

1.2. Qualités de la viande

En plus d'étudier la qualité nutritionnelle des lipides des tissus par le biais de l'analyse de leur composition en acides gras, il était nécessaire d'étudier l'impact d'un apport alimentaire de graines de lin extrudées ou dépelliculées et de microalgues sur les qualités technologique et sensorielle des tissus et de la viande.

1.2.1. Paramètres mesurés à l'abattoir

En termes de carcasse, aucun des deux essais n'a montré d'effet de la composition en acides gras des régimes sur le poids des tissus ni sur les critères technologiques présentés respectivement dans les Tableaux 36 et 37. En revanche, d'après l'essai 1, l'apport de DHA a eu tendance à impacter le poids du foie, alors que cela a été largement démontré dans l'essai 2. L'apport de microalgues dans les régimes de l'essai 2 a en effet induit une augmentation du poids de foie (Tableau 38). Or il a été montré que les régimes n'avaient pas d'effet sur la teneur en lipides totaux du foie. L'explication proviendrait donc de la possibilité d'un stockage hépatique soit d'eau soit de composés issus de la microalgue autres que les lipides entraînant alors l'augmentation du poids des foies. Des nutriments tels que les glucides issus des microalgues seraient donc susceptibles de s'accumuler dans cet organe. Pour le savoir, il

Tableau 38. Effet des régimes sur le poids de foie de l'essai 2

Poids (g)	SP	GLE	GLE-	G3M1	G2M2	MAG	Rsd	Effet
Foie	2013,5 ^{ab}	1934,3 ^a	1990,8 ^{ab}	2155,8 ^{ab}	2085,2 ^{ab}	2260,7 ^b	229,0	0,02

SP, régime huiles soja et palme ; GLE, régime avec 100% de graines de lin extrudées ; GLE-, régime avec 100% de graines de lin dépelliculées et extrudées (pauvres en fibres) ; G3M1, régime avec 75% des graines de lin dépelliculées et extrudées et 25% de microalgues ; G2M2, régime 50% GLE- et 50% microalgues ; MAG, régime avec 100% de microalgues

aurait fallu mesurer la teneur en matière sèche des foies et doser les glucides hépatiques, mais cette hypothèse n'a pas été vérifiée dans le cadre de cette thèse.

Par ailleurs, l'explication indiquant que l'apport en AGPI n-3 pouvait induire un blocage intracellulaire des Na^+ et une augmentation de la rétention en eau de la viande à la suite de l'insertion de ces acides gras dans les lipides polaires, n'a pas été confirmée dans le cadre de cette thèse. Les pertes en eau de la viande après cuisson ont en effet été les mêmes entre lots dans les deux essais.

1.2.2. Lipoperoxydation des acides gras et analyse sensorielle de la viande

L'étude de la lipoperoxydation au cours du temps des acides gras du muscle *longissimus dorsi* et du tissu adipeux sous cutané dorsal par la méthode des Tbars a permis de constater une hausse significative du malonaldéhyde (composé représentatif de la lipoperoxydation des acides gras) avec l'apport de microalgues et dans une moindre mesure de graines de lin. Ce résultat confirme donc l'intérêt de compléter les régimes en antioxydants afin d'éviter que les lipides des tissus ne s'oxydent au cours de la transformation ou du stockage des produits.

Une étude sensorielle menée à l'INRA du Magneraud à partir des tissus animaux obtenus dans le cadre de l'essai 2 est venue compléter ces résultats afin de vérifier que l'augmentation du potentiel de lipoperoxydation n'entraînait pas de rejet de la viande de la part des consommateurs. Des rôtis issus des porcs ayant ingéré des régimes à base d'huile de soja et de palme, de graines de lin dépelliculées, de microalgues ou un mélange (75/25) des deux ont été dégustés par un jury entraîné afin d'en évaluer la texture, la tendreté, la jutosité, la flaveur et l'odeur. L'évaluation de la texture, de la tendreté, de la jutosité et de la flaveur n'a révélé aucune différence entre lots. Ainsi, aucun critère négatif de dégustation en lien avec l'oxydation des acides gras (flaveur) n'a été relevé, ce qui doit s'expliquer par l'ajout de 40 mg de vitamine E par kg d'aliment dans les régimes de cet essai. L'utilisation de microalgues, conjointement ou pas à l'utilisation de graines de lin dans les régimes des animaux n'a pas eu de conséquence négative en termes de qualité organoleptique de la viande, sauf au niveau de l'odeur. En effet, une odeur anormale des rôtis du lot microalgues a été notée significativement plus forte que celle des rôtis du lot témoin à base d'huiles. Cette odeur jugée « négative » par le jury a été associée à une odeur d'abat ou de poisson, sans toutefois que cela soit un rejet. Les viandes issues des régimes GLE- et 75% GLE- et 25% MAG ont donc été bien appréciées.

Tableau 39. Apport en LA, ALA, EPA et DHA de 100 g de côte cuite en pourcentage des besoins journaliers pour un adulte consommant 2000 kcal par jour, en fonction des quantités distribuées dans les régimes des porcs

	Apport dans l'aliment en g/kg				Apports par 100 g de viande en % des besoins			
	C18:2 n-6	C18:3 n-3	C20:5 n-3	C22:6 n-3	C18:2 n-6	C18:3 n-3	C20:5 n-3	C22:6 n-3
Essai 2 SP	3,44	0,21	0,02	0,00	9	2	3	2
Essai 2 GLE	6,64	2,64	0,05	0,00	10	11	6	3
Essai 2 GLE -	7,70	3,27	0,05	0,00	10	12	5	4
Essai 1 colza	12,60	2,27	0,01	0,00	17	17	27	39
Essai 1 GLE	10,83	9,22	0,01	0,00	17	38	26	52
Essai 2 G3M1	4,55	1,60	0,02	0,89	10	10	9	38
Essai 1 G3M1	11,79	8,33	0,07	1,93	18	36	29	60
Essai 2 G2M2	6,37	1,72	0,06	2,33	10	8	10	72
Essai 1 G2M2	10,53	5,49	0,13	3,42	17	30	39	83
Essai 1 G1M3	9,14	2,88	0,18	4,78	18	23	27	133
Essai 2 MAG	7,23	0,54	0,04	5,74	9	3	12	123
Essai 1 MAG	8,31	0,82	0,22	6,05	15	13	30	166
Besoin (g/j)					8,8	2,2	0,25	0,25

Chiffres grisés : < 20% des besoins journaliers, case jaune : 20-46 % des besoins, case verte : 47-100% des besoins, case rouge > 100% des besoins.

Essai 1 : colza, régime à base d'huile colza ; GLE, régime avec 100% des graines de lin extrudées ; G3M1, régime avec 75% de graines de lin extrudées ; G2M2, régime avec 50% de GLE et 25% de microalgues ; G1M3, régime 25% GLE et 75% microalgues ; MAG, régime avec 100% de microalgues

Essai 2 : voir tableau 38

1.3. Recommandations nutritionnelles

Afin de proposer des aliments qui permettrait à la population de rééquilibrer les apports en AGPI n-3 et AGPI n-6, les porcs utilisés dans le cadre de cette thèse ont été alimentés avec les graines de lin pour leur teneur élevée (55% des AGT) en précurseur des AGPI n-3 (ALA) et avec des microalgues pour leur teneur élevée en DHA (35% des AGT), le dérivé de l'ALA le plus faiblement synthétisé par les mammifères. En termes de recommandations nutritionnelles en AGPI, l'utilisation de tels régimes en alimentation animale conduit à répondre pour tout ou partie des besoins publiés par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses 2011a). Le Tableau 39 montre que la consommation de 100 g de côtes cuites extraites des régimes SP, GLE et GLE- de l'essai 2 ne permettent pas de répondre aux besoins en LA, ALA, EPA et DHA. En outre, aucun des régimes ne permet d'apporter suffisamment d'acide linoléique (< 20% des besoins). La consommation de côtes issues de porcs des régimes G1M3 de l'essai 1 et MAG des deux essais permet en revanche de répondre au besoin en DHA au-delà des recommandations. Finalement, les régimes GLE, G3M1 et G2M2 de l'essai 1 semblent adéquats pour répondre pour partie aux besoins en ALA (2,2 g/j), EPA (250 mg/j) et DHA (250 mg/j). Ainsi, une quantité de C18:3 n-3 comprise entre 5,5 et 9,2 g par kg d'aliment complété ou pas avec 1,9 g à 3,4 g de C22:6 n-3 par kg, soit 25 à 50% de microalgues, permet d'atteindre entre 20 et 40% des besoins journaliers en ALA et EPA et entre 50 et 80% ceux en DHA. Ces trois régimes semblent donc être un bon compromis en termes d'apports en AGPI car c'est l'ensemble du menu et des repas qui permettront de répondre à la totalité des besoins journaliers en ces acides gras. En revanche, en considérant qu'un porc d'élevage alimenté à un niveau restreint consomme en moyenne 2,5 kg d'aliment par jour entre 50 et 115 kg de poids vif pendant 80 jours (données IFIP GTE 2015), alors un aliment contenant 25% de microalgues dans le régime coûtera à l'éleveur entre 65 et 78 euros par animal selon le prix du marché alors qu'un régime à base de 100% graines de lin lui coûtera entre 42 et 55 euros par porc. Cela fait un surcoût alimentaire de 23 euros par porc qui s'explique par le prix encore élevé de cette espèce de microalgues produite industriellement (13 000€/ tonne en 2016). Outre l'effet bénéfique que peut avoir l'apport de microalgues dans les régimes en termes d'apport en DHA pour le consommateur, il est important de ne pas négliger le coût cette matière première et les effets négatifs qu'elle semble engendrer à forte dose (> 5 g/kg d'aliment).

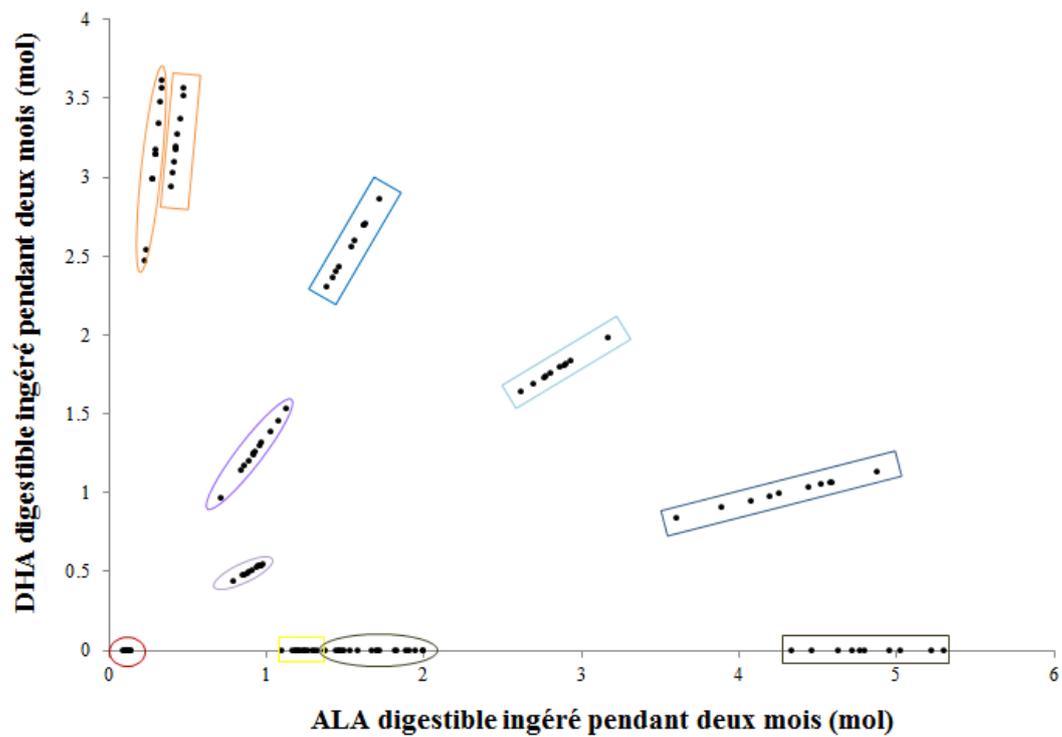


Figure 24. Consommation totale d'ALA et de DHA digestibles entre les différents régimes des deux essais

Pour la signification des régimes, voir tableau 38 et 39

Essai 1 : □ colza, □ GLE, □ G3M1, □ G2M2, □ G1M3, □ MAG

Essai 2 : ○ SP, ○ GLE + GLE-, ○ G3M1, ○ G2M2, ○ MAG

2. Prédiction du dépôt des AGPI n-3 dans les tissus porcins

2.1. Construction du modèle

L'objectif de la thèse était de regrouper l'ensemble des informations récoltées dans les différents essais pour identifier les principaux facteurs de variation du dépôt des AGPI n-3 dans les tissus porcins suite à une alimentation riche en ALA et DHA, afin d'établir des modèles de prédiction de ce dépôt. Dans cette partie, le dépôt est défini comme étant la différence entre les quantités d'acides gras dosées dans les tissus après abattage des animaux à 110-115 kg et à celle présente dans les animaux en début d'expérience à 50 kg de poids vif (PV). Pour estimer la composition des animaux initiaux, quatre animaux issus du même troupeau expérimental que les porcs des deux essais ont été abattus à 50 kg de PV, alors qu'ils n'avaient pas reçu de régimes expérimentaux. La composition de leurs tissus a ainsi constitué le niveau basal au début de l'expérience. Les principaux facteurs expliquant le dépôt des AGPI n-3 est la composition en acides gras des aliments et la quantité digestible ingérée de chacun des acides gras. Les deux acides gras n-3 principaux utilisés dans les régimes au cours de cette thèse étant l'ALA et le DHA, leurs quantités totales digestibles ingérées par porc pendant les deux mois d'expérimentation ont été calculées à partir des teneurs des aliments, du niveau d'alimentation et des CUD de la publication n°1 (Figure 24). Un coefficient de 0,84 a été appliqué à l'ALA apporté par la graine de lin ce qui correspond au CUD moyen entre graines extrudées et graines dépelliculées et extrudées. Un coefficient de 0,99 a été appliqué au DHA apporté par la microalgue. De même, les dépôts dans les tissus ont été calculés à partir du poids total du tissu et de sa composition. N'ayant pas de données disponibles pour des animaux qui auraient reçu des AGPI n-3 pendant des durées différentes, un modèle statique a été construit pour permettre de prédire les dépôts d'acides gras à partir des consommations totales calculées sur deux mois d'expérimentation ainsi qu'à partir du poids des tissus de porcs abattus à 115 kg.

Un modèle linéaire a ainsi été utilisé pour établir une relation entre chaque AGPI n-3 déposé (ALA, C20:4, EPA, DPA et DHA) dans le muscle LD et le TAD et les quantités digestibles molaires d'ALA et de DHA ingérées. Ce travail est venu compléter ce qui avait auparavant été fait par (Kloareg *et al.* 2007) pour prédire le dépôt des acides gras essentiels (C18:2 n-6 et C18:3 n-3) à partir de la consommation de ces mêmes acides gras digestibles sur la période 90-150 kg de PV des animaux. Comme les mâles castrés ont été utilisés dans les deux essais de cette thèse et qu'ils représentaient le plus grand nombre d'individus par rapport aux femelles et mâles entiers, les modèles linéaires ont été établis en ne prenant en compte

Tableau 40. Equations de prédiction du dépôt des AGPI n-3 dans le muscle LD et le TAD de porc abattus à 115 kg de poids vif

Tissu	AG déposé	N	Estimation				Prédiction							
			Equation	Effet lot	Rsd	P-value			Mâles entiers ^a		Femelles ^a		Régime G3M1	
						intercept	ALA _d	DHA _d	Moy res.	ET res.	Moy res.	ET res.	Moy mesuré	Moy prédit
LD	ALA	65	$1,325 \times \text{ALA}_d + 3,31$	non	3,23	***	***	-	-1,50**	2,89	0,08*	4,67	10,85	9,15
LD	C20:4	63	$0,025 \times \text{ALA}_d + 0,037 \times \text{DHA}_d + 0,14$	non	0,10	***	**	**	0,04*	0,19	0,05*	0,21	0,35	0,28
LD	EPA	64	$0,263 \times \text{DHA}_d + 2,06$	non	1,15	***	-	*	0,20*	1,97	1,65**	2,44	2,83	2,33
LD	DPA	65	$-0,187 \times \text{DHA}_d + 1,66$	non	0,95	***	-	*	-0,48***	0,64	0,77*	1,54	1,62	1,47
LD	DHA	65	$1,841 \times \text{DHA}_d + 2,32$	non	4,07	**	-	***	2,79*	6,26	1,79*	4,62	4,10	4,20
TAD	ALA	64	$208,709 \times \text{ALA}_d - 55,25$	oui	37,78	*	***	-	-	-	-	-	-	-
TAD	ALA	64	$71,058 \times \text{ALA}_d - 19,271 \times \text{DHA}_d + 79,00$	non	54,23	***	***	**	-13,32*	53,88	-62,52**	107,83	361,68	392,37
TAD	C20:4	65	$7,737 \times \text{DHA}_d - 17,29$	oui	1,18	***	***	-	-	-	-	-	-	-
TAD	C20:4	65	$2,478 \times \text{DHA}_d + 1,26$	non	1,56	***	-	***	0,28*	1,66	-0,24*	3,57	4,09	3,80
TAD	EPA	65	$10,867 \times \text{DHA}_d - 24,44$	oui	2,08	***	***	-	-	-	-	-	-	-
TAD	EPA	65	$0,764 \times \text{ALA}_d + 3,544 \times \text{DHA}_d + 0,99$	non	2,43	†	***	***	0,98*	2,42	1,56*	6,05	7,35	4,62
TAD	DPA	65	$7,961 \times \text{ALA}_d - 19,825 \times \text{DHA}_d - 45,43$	oui	3,91	***	*	***	-	-	-	-	-	-
TAD	DPA	65	$2,105 \times \text{ALA}_d - 5,897 \times \text{DHA}_d + 5,08$	non	4,59	***	***	***	2,36*	8,03	-0,28*	16,94	19,28	28,11
TAD	DHA	65	$192,047 \times \text{DHA}_d - 442,94$	oui	25,72	***	-	***	-	-	-	-	-	-
TAD	DHA	65	$64,799 \times \text{DHA}_d + 6,93$	non	32,26	x	-	***	9,91*	35,37	-17,75*	73,16	56,83	73,27

^at-test result (5% of confidence interval) : *, non significatif ; †P<0,10 ; * P<0,05 ; **P<0,01. ALA_d = consommation totale d'ALA digestible en quantité molaire ; DHA_d = consommation totale de DHA digestible en quantité molaire ; *, non significatif ; †P<0,10 ; * P<0,05 ; **P<0,01 ; ***P<0,001. L'effet du lot a été retiré des calculs pour généraliser les modèles.

que ces individus. L'effet du lot expérimental sur la valeur de l'ordonnée à l'origine des régressions a été testé à l'aide de la proc GLM de SAS. Les modèles ont ensuite été simplifiés en ne prenant en compte que les effets significatifs. Afin de tester les hypothèses d'atteinte d'un dépôt maximum d'AGPI n-3 dans certains tissus, des modèles curvilinéaires-plateau et linéaires-plateau ont également été testés, sans qu'il ait été possible d'estimer précisément le point de rupture dans les relations, compte-tenu de la variabilité du jeu de données. Celles-ci se sont finalement limitées à des modèles linéaires en fonction des consommations en ALA et DHA digestibles (respectivement ALA_d et DHA_d).

2.2. Estimation des dépôts des mâles castrés

Alors que les consommations d'acides gras constituaient les facteurs explicatifs principaux des dépôts, dans la moitié des cas le lot avait également un effet significatif sur ces derniers. Des facteurs inclus dans les lots mais non pris en compte dans les modèles parce que non identifiés devaient donc avoir également un impact sur les dépôts. Les valeurs de pente et d'ordonnée à l'origine sont données dans un tableau récapitulatif (Tableau 40).

Dans le muscle LD, les équations de prédiction ont systématiquement été généralisées en supprimant l'effet du lot. Les résultats montrent que l'ordonnée à l'origine des estimations des dépôts de mâles castrés sont significativement différentes de zéro y compris quand le prédicteur du dépôt est le DHA digestible. Cela montre, d'après la Figure 24, qu'une partie des faibles valeurs d'ALA digestibles sont caractérisées par un fort apport de DHA digestible. De plus, le dépôt de l'ALA dans le muscle ne dépend que de l'ALA digestible ingéré, alors qu'à partir du C20:4 cela dépend également du DHA. La pente de la régression diminue en effet de 1,325 à 0,025 avec l'apport d'ALA dans les régimes et au contraire la pente de la régression augmente de 0,037 à 1,841 avec l'apport de DHA. Une exception toutefois s'observe pour le dépôt de DPA dans le muscle LD qui semble augmenter avec la baisse de l'apport de DHA (pente négative de -0,187).

Dans le TAD, l'effet du lot a toujours été significatif conjointement à l'effet de la consommation d'ALA ou de DHA dans les modèles de prédiction des dépôts des différents AGPI n-3. C'est la raison pour laquelle des modèles plus généralistes ont été construits en retirant l'effet du lot. Sauf pour l'estimation du dépôt de DHA à partir du modèle ne contenant pas l'effet du lot, l'ordonnée à l'origine était significativement différente de zéro. L'ordonnée à l'origine de la prédiction du dépôt de C20:4 avec et sans effet du lot, de l'EPA et du DHA avec l'effet du lot est différente de zéro alors que seule la consommation de DHA digestible est le prédicteur. Cela montre donc qu'un facteur non identifié dans le lot a un impact sur le

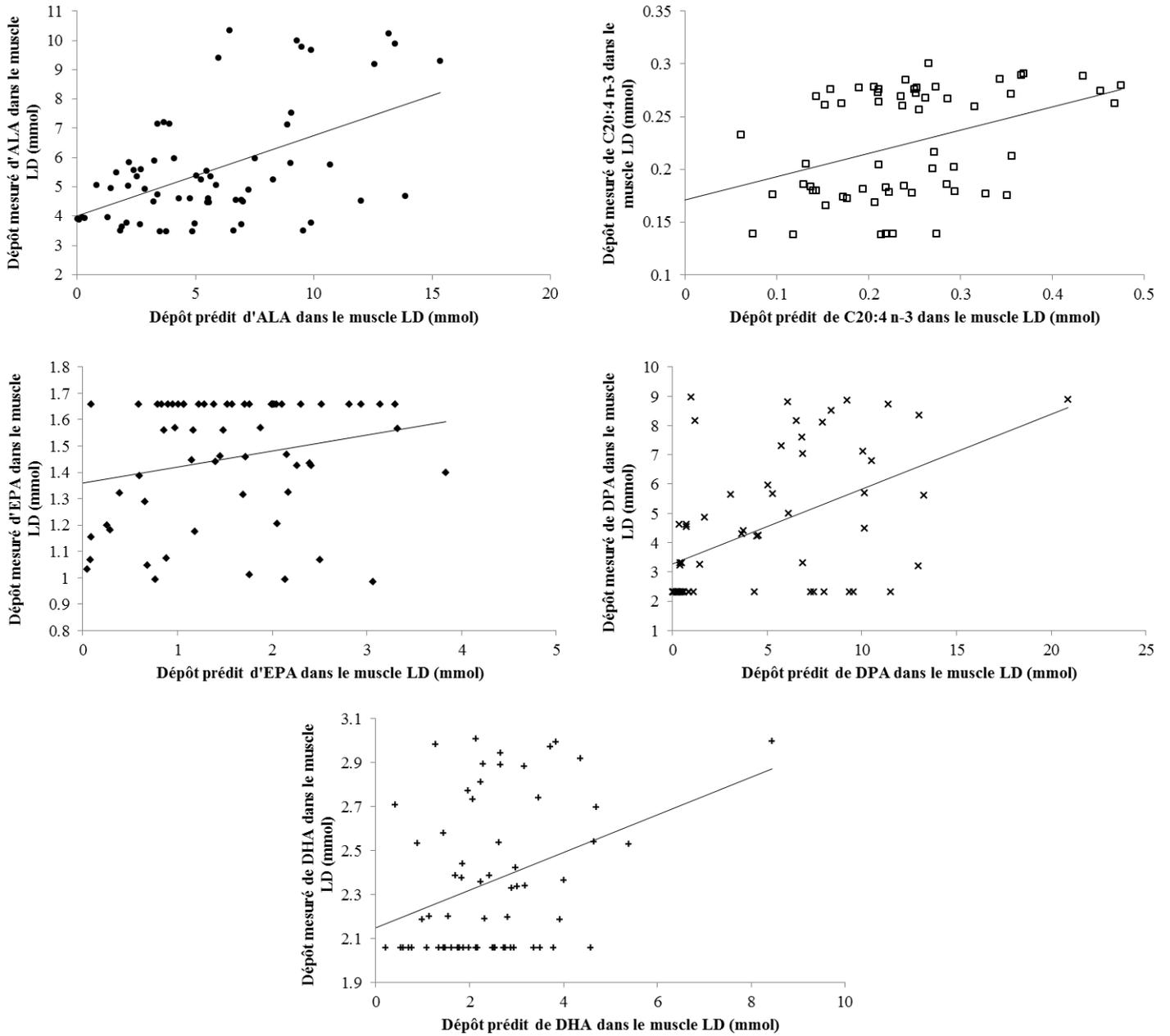


Figure 25. Dépôt mesuré d'AGPI n-3 (mmol) en fonction de du dépôt prédit dans le muscle LD de mâles castrés, sans effet du lot.

dépôt de ces acides gras conjointement à la consommation de DHA digestible. Dans les modèles, les dépôts d'AGPI n-3 sont estimés à partir de la consommation d'ALA ou de DHA uniquement. Or, il se pourrait que le C18:2 n-6 et le C22:5 n-6 contenus dans les rations à hauteur de 0 à 12 g/kg d'aliment aient un effet sur le dépôt des AGPI n-3. En ce qui concerne les pentes, les résultats montrent, en avançant dans la chaîne de synthèse des AGPI n-3, que le dépôt dépend de moins en moins de la consommation d'ALA, la valeur des pentes allant de 208,71 à 7,96 dans le cas des prédictions avec effet du lot et de 71,06 à 0,76 dans les cas des prédictions sans effet du lot. En revanche, le dépôt des AGPI n-3 à longues chaînes semble dépendre de plus en plus de la consommation de DHA, la valeur des pentes allant de -19,27 à 64,80 avec effet du lot et de 7,74 à 192,05 sans effet du lot. En outre, les résultats indiquent que la synthèse d'EPA et de DPA dans le TAD dépend à la fois de la consommation d'ALA et de la consommation de DHA. Ce résultat semble ainsi compléter ce qui a été montré par le modèle de (Kloareg *et al.* 2007), à savoir qu'un tiers de l'ALA déposé dans l'organisme des porcs se trouve sous forme d'EPA, de DPA et de DHA. Par ailleurs, le modèle développé dans cette thèse semble indiquer qu'un effet conjoint d'élongations et de désaturations du précurseur et d'une β -oxydation du DHA se met en place dans le TAD avec l'apport d'ALA et de DHA dans les régimes. Or il a été démontré dans le cadre de cette thèse que l'expression d'aucun des gènes codant pour les élongases et les oxydases n'avait été diminuée dans le TAD avec l'apport d'AGPI n-3 dans les régimes. Ces résultats vont donc sans le même sens. Contrairement à l'EPA et au DPA, les dépôts de C20:4 et de DHA ne dépendent que de la consommation de DHA. Ceci indique comme cela a été démontré notamment chez l'Homme, que la synthèse d'ALA en DHA est quasiment nulle ($< 1\%$ chez l'Homme ; Plourde et Cunnane 2007)) et que l'une des méthodes les plus efficaces pour stocker du DHA dans les tissus des porcs est de leur faire ingérer du DHA. De même, la synthèse de C20:4 n-3 à partir de l'ALA semble nulle alors que qu'au contraire sa synthèse à partir du DHA paraît plus efficace. Finalement, au vu des Figures 25 et 26, les prédictions dans les deux tissus montrent la linéarité des dépôts. Comme il n'a pas été possible de mettre en place des modèles linéaires ou curvilinéaires à plateau, il aurait fallu être encore plus précis sur les quantités d'AGPI n-3 ingérées, en intégrant par exemple des paliers supplémentaires de doses d'introduction, afin de déterminer ou pas l'existence d'un plateau.

Par ailleurs, la significativité de l'effet du lot sur les dépôts d'AGPI n-3 a indiqué qu'hormis les consommations d'ALA et de DHA digestibles, d'autres variables pourraient avoir également un effet, sans qu'elles aient toutefois pu être identifiées précisément dans

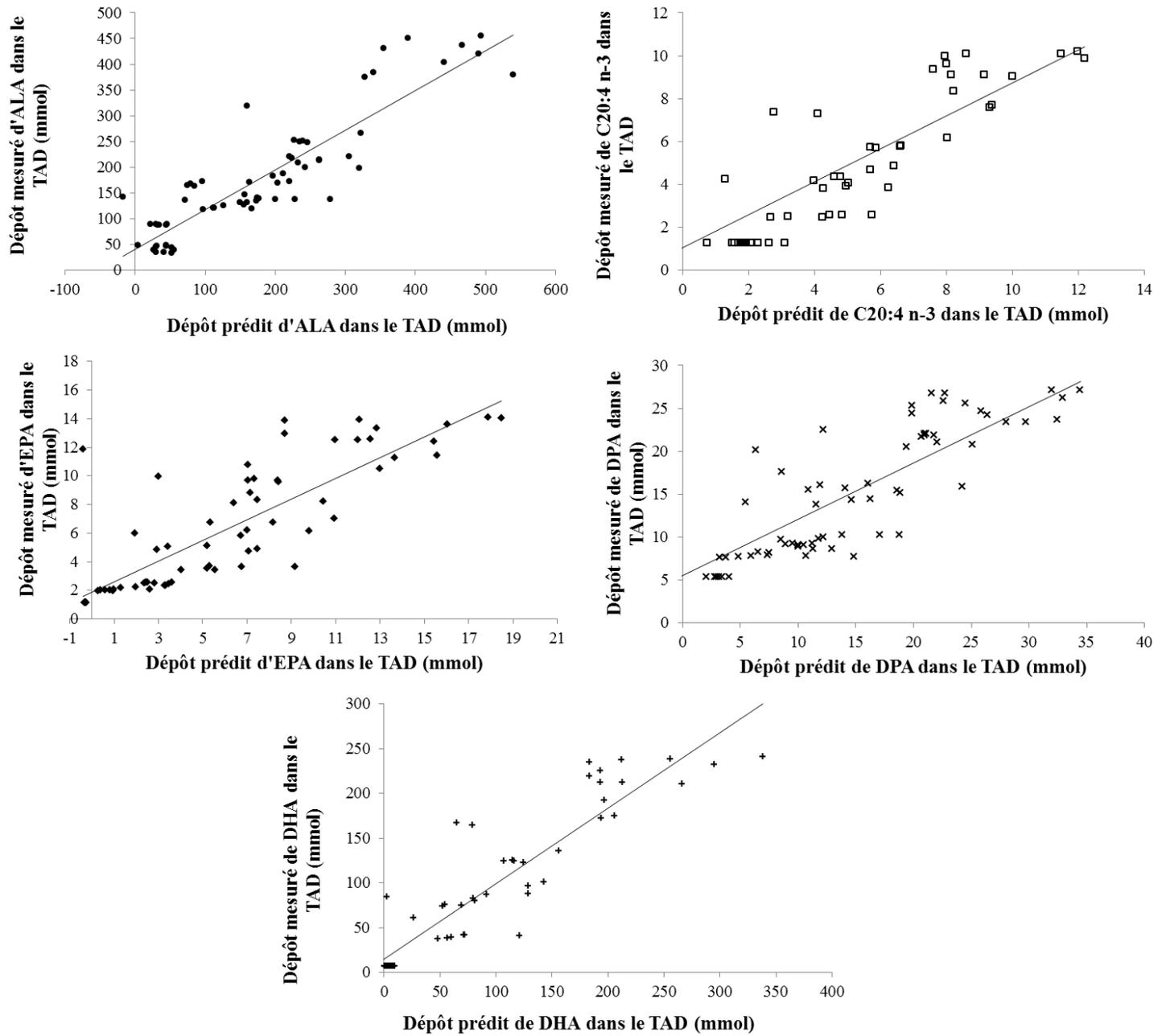


Figure 26. Dépôt mesuré d'AGPI n-3 (mmol) en fonction de du dépôt prédit dans le TAD de mâles castrés sans effet du lot

cette thèse. L'hypothèse d'un effet conjoint de la consommation d'AGPI n-3, de C18:2 n-6 et de C22:5 n-6 a déjà été avancée. Cependant, d'autres variables non prises en compte pourraient venir s'ajouter. Parmi les hypothèses émises se trouvent des différences dans les comportements alimentaires individuels induisant une utilisation différente des nutriments, ainsi que l'origine père et mère des individus et donc un effet « génétique » voire un effet race (Kloareg *et al.* 2007). Des différences dans l'incorporation des AGPI dans les phospholipides, le turn over du stockage des lipides et l'effet des hormones n'ont pas non plus été pris en compte dans le modèle (Lizardo *et al.* 2002). Enfin, l'effet du métabolisme à savoir la capacité plus ou moins élevée de chaque individu à désaturer et à allonger les chaînes d'acides gras ou à oxyder les AGPI LC n-3 peut également expliquer les variabilités observées. De même, pour améliorer encore le modèle, il aurait été nécessaire d'être plus précis sur le calcul des quantités d'acides gras dosées dans les tissus. En effet, seulement 100 g de chaque échantillon ont été prélevés, alors que le muscle LD et le TAD représentent approximativement 10% et 3% respectivement de la carcasse. L'extraction puis le broyage des tissus entiers auraient été nécessaires pour représenter au mieux le dépôt dans ces tissus. Toutefois, ceci aurait été peu réalisable en raison des masses d'échantillons à manipuler et cela aurait également limité le nombre de régimes testés. Cela implique de réitérer l'étude en ne prenant que les lots les plus représentatifs, à savoir GLE, 50/50 et MAG. De même, il serait plus pertinent au vu de la législation concernant la castration de réitérer l'expérience en prenant en compte les données des mâles entiers et des femelles uniquement puis de les traiter dans des modèles séparés.

2.3. Prédiction des dépôts des femelle et mâles entiers

Les équations de prédiction développées pour les mâles castrés ont ensuite été appliquées aux données des femelles et des mâles entiers afin de vérifier si ces modèles peuvent prédire les dépôts d'AGPI n-3 dans les tissus de ces individus. Les résultats montrent que les prédictions des dépôts des AGPI n-3 dans les tissus des mâles entiers sont meilleurs que les prédictions pour les femelles, en particulier dans le TAD. Les écarts types des résidus sont en effet plus faibles chez les mâles que chez les femelles. Les performances des animaux et en particulier leur niveau alimentaire ne semblent pas pouvoir expliquer ce résultat. Dans la mesure où il est généralement admis que les femelles ont un comportement alimentaire intermédiaire entre les mâles entiers et les mâles castrés (Tableau 40) et qu'elles sont donc plus proches de ces derniers en termes de performances que les mâles entiers (Drogoul *et al.* 2004), il aurait été plus attendu de trouver des résultats de prédiction meilleurs pour les

femelles que pour les mâles entiers. Un test de Student a été effectué sur la moyenne des résidus des femelles et des mâles entiers avec la procédure ttest de SAS. Les résultats ont montré que la moyenne des résidus de l'EPA, du DPA et du DHA du muscle et de l'ALA du TAD des femelles était significativement différente de zéro. Il en était de même pour l'ALA, le DPA et le DHA du muscle et l'EPA du TAD des mâles entiers. Ce résultat traduit ainsi l'existence d'un biais dans les prédictions ce qui implique de continuer à développer le modèle.

2.4. Prédiction des dépôts des mâles castrés issus du régime G3M1 (essai 1)

Dans la partie précédente, il a été montré que pour répondre pour partie aux recommandations nutritionnelles en AGPI n-3, les régimes GLE, G3M1 et G2M2 de l'essai 1 étaient satisfaisants. Afin d'apporter les besoins nécessaires en ces acides gras à un adulte consommant 2000 kcal par jour, le régime G3M1 formulé à partir de 75% de graines de lin et 25% de microalgues constitue un bon compromis. Cela correspond à un apport de 8 g d'ALA et de 2 g de DHA par kg d'aliment. De ce fait, les résultats de prédiction n'incluant pas l'effet du lot et concernant les dépôts des mâles castrés ayant ingéré ce régime (n=5) ont été recensés dans le tableau récapitulatif (Tableau 40). Hormis pour l'EPA, le DPA et le DHA du TAD, les dépôts de ces animaux sont bien prédits. Les moyennes prédites des dépôts des acides gras correspondent en effet aux moyennes mesurées avec un taux d'erreur se situant entre 2 (DHA dans le muscle) et 20% (C20:4 dans le muscle).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse avait pour objectif d'identifier les facteurs de variation du dépôt des acides gras polyinsaturés n-3 (AGPI n-3) dans les tissus de porcs ayant reçu une alimentation riche en acide α -linoléique (ALA) et acide docosahexaénoïque (DHA) et d'évaluer des prédicteurs de la qualité nutritionnelle de la viande, à l'aide notamment de l'utilisation de la spectrométrie en proche infra-rouge.

L'apport d'AGPI n-3 dans les régimes de porcs en phase de croissance-finition n'a pas eu d'effet sur les performances de croissance des animaux, les caractéristiques des carcasses mesurées à l'abattoir, notamment le poids des pièces de découpe ainsi que sur les teneurs en lipides totaux des tissus. La distribution pendant deux mois des aliments contenant des microalgues riches en DHA a montré le dépôt de cet acide gras dans la viande de porc. L'apport conjoint de microalgues et de graines de lin a permis de retrouver dans la viande des AGPI n-3 sous forme de précurseur et sous forme de dérivés à longue chaîne. Toutefois, des variations entre tissus ont été mises en évidence notamment en raison de la localisation anatomique et du rôle des tissus, mais également en raison du traitement technologique subi par la graine de lin (dépelliculage et extrusion *vs* extrusion). Il a en effet été démontré que le processus de dépelliculage permettait d'augmenter les teneurs, exprimées en pourcentage des acides gras totaux, d'ALA et d'AGPI n-3 totaux dans certains tissus des animaux abattus à 115 kg. Les travaux de cette thèse montrent bien l'intérêt en termes de qualité nutritionnelle de nourrir des porcs avec des régimes contenant à la fois des graines de lin et des microalgues pour permettre d'apporter des quantités non négligeables d'ALA et de DHA dans les tissus. Par ailleurs, la viande a été bien appréciée par un jury entraîné ayant évalué la qualité sensorielle de rôtis issus des animaux élevés pendant cette thèse.

En outre, ce travail a permis d'estimer la conversion de l'ALA et de rétroconversion du DHA au niveau du foie en acide eicosapentaénoïque (EPA). Il a également permis de montrer que le foie était capable de stocker une quantité limitée d'EPA avant de l'exporter vers les tissus cibles. Au niveau métabolique, les résultats ont montré que l'apport de microalgues dans les régimes avait pour conséquence de diminuer à la fois l'activité des enzymes de la lipogenèse du foie (enzyme malique et fatty acid synthase) mais également l'expression de leurs gènes, ainsi que l'expression du gène *FADS2* codant pour l'enzyme $\Delta 6$ -désaturase. Par ailleurs pour nous permettre de compléter ce dernier résultat et au vu de la faible relation existant entre le niveau d'ARNm d'un gène et l'activité de sa protéine, nous avons soumis l'idée de doser les activités des désaturases et des élongases. Ce travail pourrait être fait sur un nombre restreint d'animaux ayant ingéré des régimes à base de graine de lin ou de microalgues uniquement.

L'étude du muscle *longissimus dorsi* (LD) et du tissu adipeux sous cutané dorsal (TAD) nous a permis de construire dans un premier temps un modèle du dépôt des AGPI n-3 et d'évaluer dans un second temps la capacité de la spectrométrie en proche infra-rouge (SPIR) à prédire les quantités d'acides gras dans ces deux tissus. Les modèles de prédiction ont été établis à partir de régressions linéaires effectuées entre le dépôt de C18:3, C20:4, C20:5, C22:5, C22:6 n-3 et les consommations molaires d'ALA et de DHA digestibles des mâles castrés. Les résultats ont montré que le dépôt d'EPA, de DPA et de DHA dans le muscle ne dépendait que de la consommation de DHA digestible alors que le dépôt d'EPA et de DPA dans le TAD dépendait à la fois de l'ALA mais également du DHA. Ce dernier résultat nous a confirmé la mise en place d'une conversion d'ALA conjointement à une rétroconversion de DHA en EPA et DPA au niveau adipeux. Toutefois, nous avons montré que ces modèles étaient améliorables du fait de l'absence de prise en compte dans les calculs de nombreux paramètres induisant de la variabilité dans le jeu de données. En outre, les prédictions du dépôt des AGPI n-3 ont été plus satisfaisantes pour les mâles entiers que pour les femelles. Concernant les prédictions par SPIR, nous avons émis l'hypothèse qu'en enrichissant l'aliment avec une autre source d'AGPI n-3 que la graine de lin, il serait peut être possible de prédire les quantités de dérivés d'AGPI n-3 notamment la quantité du C22:6 n-3 dans les tissus de porcs. Cette hypothèse a montré une fois de plus l'intérêt d'utiliser des sources riches en DHA dans les régimes. Ainsi, nous avons montré que cette technique d'analyse innovante capable de prédire les teneurs (% des AGT) d'AGPI n-3, en particulier de l'ALA et du DHA, du TAD mais pas du muscle LD. La richesse en lipides du TAD et la richesse des régimes en ALA et DHA expliquent ce résultat. Les résultats de SPIR ont donc confirmé qu'en alimentant des porcs avec des régimes riche en ALA et DHA, il sera possible dès l'abattoir de connaître la composition de la carcasse en AGPI n-3 précurseur et dérivés. Pour cela, l'utilisation d'un spectromètre portatif sur du gras de bardière, s'avère être une solution envisageable pour classer les carcasses selon la qualité nutritionnelle de leur lipides.

La démarche développée au cours de cette thèse a donc permis d'améliorer la qualité nutritionnelle de la viande et de répondre davantage aux souhaits des nutritionnistes pour équilibrer les apports en acides gras n-3 et n-6 et combler les déficits d'apports en ALA, EPA et DHA. Pour cela, nous proposons d'insérer une dose de 8 g d'ALA et de 2 g de DHA par kg d'aliment dans les régimes des animaux, soit 5% de graines de lin et 1% de microalgues afin de répondre pour partie aux besoins en ALA, EPA et DHA de l'Homme. *In fine*, le menu du consommateur devra comprendre 100g de viande cuite issue d'animaux ayant reçu ce type de

régime pour avoir ces apports. Il faut tout de même noter que la viande de porc ne peut arriver seule à combler l'ensemble des besoins, la réflexion devant se faire au niveau global, c'est-à-dire en combinant différentes sources. La prise en compte de produits animaux provenant d'autres monogastriques (volailles, lapins, poissons) et dans une moindre mesure de produits (viande et produits laitiers) issus des ruminants est un bon compromis, dans la mesure où ils répondent très bien aux quantités d'AGPI ingérées. Cependant, concernant les produits enrichis en DHA, il est important au préalable de ne pas surdoser la quantité de microalgue dans les régimes, pour à la fois des raisons économiques, de santé (baisse du HDL circulant chez le porc et augmentation du poids des foies) et à cause du potentiel de lipoperoxydation du DHA plus élevé que celui des acides gras saturés (AGS) ou de l'ALA. En l'occurrence du travail reste encore à faire en ce qui concerne la protection des AGPI n-3 par des antioxydants d'origine végétale sous forme pure ou en cocktails. En espèce porcine, nous recommandons alors de ne pas dépasser 5 g de DHA par kg d'aliment. Cependant et avant toute chose, il serait nécessaire d'effectuer soit un plan de sélection de la microalgue *Schizochytrium sp.* soit de tester différentes conditions de culture qui favorisent la synthèse de DHA et au contraire ne favorisent pas la synthèse d'AGS. Au même titre que ses congénères *Ulkenia* ou les sous espèces de *Thraustochytrids*, l'espèce *Schizochytrium sp.* contient une quantité d'AGS non négligeable. Ces espèces de microalgues renferment en effet entre 20 et 40% d'AGS (% des AGT) dont 10 à 30% de C16:0 (% des AGT). Une sélection sur la diminution de la teneur en C16:0 qui ne pénaliserait pas la teneur en DHA permettrait de limiter l'effet hypercholestérolémiant que semble avoir la *Schizochytrium sp.* chez le porc. De plus, il faudrait améliorer la production de cette microalgue de façon à faire diminuer son coût de production, ce qui permettrait de rendre les produits enrichis en ALA, EPA et DHA accessibles à tous et de ne pas en faire des produits de niche.

Pour finir, il a été montré que le dépelliculage n'a pas amélioré la digestibilité des acides gras, mais a permis en revanche de multiplier par deux celle des acides aminés par rapport à l'extrusion seule. Ce traitement technologique peut donc avoir un intérêt dans un contexte de rareté des protéines, en particulier pour développer cette ressource à un niveau local et s'affranchir des importations massives de protéines végétales issues du soja. En outre, il serait intéressant de sélectionner également les graines de lin afin de diminuer la teneur en fibres de leur pellicule et d'améliorer parallèlement leur rendement de production.

Par ailleurs, il est nécessaire encore aujourd'hui de développer la communication autour des produits à valeur santé ajoutée pour inciter le consommateur à les inclure plus régulièrement dans ses repas. La filière lin ayant montré par des études cliniques des effets

positifs pour la santé de l'Homme, il faudrait confirmer l'intérêt nutritionnel de cette filière lin/microalgue pour la santé de l'Homme. La valorisation de ce travail passe aussi par cette communication.

REFERENCES

- Abumrad, N., C. Coburn and A. Ibrahimi (1999). "Membrane proteins implicated in long-chain FA uptake by mammalian cells CD36 FATP and FABPm." *Biochim. Biophys. Acta* **1441**: 4-13.
- Afnor (1980). *Aliments des animaux - Détermination de l'extrait à l'oxyde diéthylique*. NF V18-104, Afnor.
- Afnor (1982). *Animal feed. Determination of water content*. NF V18-109: 5.
- Afnor (1993). *Animal feeding stuffs and animal products - Determination of crude cellulose method*. NF V03-040: 12.
- Afnor (1997). *Aliments des animaux - Dosage de la matière grasse*. NF V 18-117, Afnor: 11.
- Afnor (1998). *Aliment des animaux - Dosage des acides aminés*. XP V 18-113.
- Afssa (2009). "Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'évaluation des risques liés à la consommation courante d'huile de lin vierge."
- Ahn, D. U., S. Lutz and J. S. Sim (1996). "Effects of dietary alpha linolenic acid on the fatty acid composition, storage stability and sensory characteristics of pork loin." *Meat Sci.* **43**(3-4): 291-299.
- Alberti, P., M. J. Beriain, G. Ripoll, V. Sarries, B. Panea, J. A. Mendizabal, A. Purroy, J. L. Olleta and C. Sanudo (2014). "Effect of including linseed in a concentrate fed to young bulls on intramuscular fatty acids and beef color." *Meat Sci.* **96**(3): 1258-1265.
- Allen, E., R. G. Cassens and R. W. Bray (1967). "Comparative lipid content of three porcine muscles." *J. Anim. Sci.* **32**: 20-25.
- Anses (2011a). *Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras*: 323.
- Anses (2011b). *Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras*: 323.
- AOAC (1990). *Animal Feed - Protein. Official Methods of Analysis*. K. Helrich. Arlington, AOAC. **1**: 1230.
- Arakawa, K. and M. Sagai (1986). "Species Differences in Lipid Peroxide Levels in Lung Tissue and Investigation of Their Determining Factors." *Lipids* **21**(12): 769-775.
- Ariel, A. and C. N. Serhan (2007). "Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation." *Trends Immunol.* **28**(4): 176-183.
- Astorg, P., N. Arnault, S. Czernichow, N. Noisette, P. Galan and S. Hercberg (2004). "Dietary Intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French Adult Men and Women." *Lipids* **39**(6): 527-535.
- Ayala, A., M. F. Muñoz and S. Argüelles (2014). "Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal." *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**: 1-31.
- Baéza, E., P. Chartrin, V. Gigaud, S. Tauty, K. Météau, M. Lessire and C. Berri (2013). "Effects of dietary enrichment with n-3 fatty acids on the quality of raw and processed breast meat of high and low growth rate chickens." *Br. Poult. Sci.* **54**(2): 190-198.
- Baéza, E., P. Chartrin, M. Lessire, K. Météau, G. Chesneau, M. Guillevic and J. Mourot (2015a). "Effects of different dietary sources of n-3 fatty acids on the laying performance and technological, nutritional and sensorial quality of eggs." *Br. Poult. Sci.* **56**(5):543-50.

- Baéza, E., P. Chartrin, M. Lessire, K. Meteau, G. Chesneau, M. Guillevic and J. Mourot (2015b). "Is it possible to increase n-3 fatty acid content of meat without affecting its technological and/or sensory quality and the growing performance of chickens?" *Br. Poult. Sci.* **56**: 748-754.
- Bang, H. O. and J. Dyeberg (1980). "The bleeding tendency in Greenland Eskimos." *Dan. Med. Bull.* **27**(4): 202-205.
- Barbut, S., A. A. Sosnicki, S. M. Lonergan, T. Knapp, D. C. Ciobanu, L. J. Gatcliffe, E. Huff-Lonergan and E. W. Wilson (2008). "Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat." *Meat Sci.* **79**(1): 46-63.
- Barcelo-Coblijn, G. and E. J. Murphy (2009). "Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n-3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n-3 fatty acid levels." *Prog. Lipid Res.* **48**(6): 355-374.
- Bazan, N. G. (2009). "Neuroprotectin D1-mediated anti-inflammatory and survival signaling in stroke, retinal degenerations, and Alzheimer's disease." *J. Lipid Res.* **50 Suppl**: S400-405.
- Bazin, R. and P. Ferré (2001). "Assays of lipogenic enzymes." *Methods Mol. Biol.* **155**: 121-127.
- Bee, G., S. Gebert and R. Messikommer (2002). "Effect of dietary energy supply and fat source on the fatty acid pattern of adipose and lean tissues and lipogenesis in the pig." *J. Anim. Sci.* **80**: 1564-1574.
- Benatmane, F., M. Kouba, A. Youyou and J. Mourot (2011). "Effect of a linseed diet on lipogenesis, fatty acid composition and stearoyl-CoA-desaturase in rabbits." *Animal* **5**(12): 1993-2000.
- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera and A. Nardone (2002). "Markers of Oxidative Status in Plasma and Erythrocytes of Transition Dairy Cows During Hot Season." *J. Dairy Sci.* **85**: 2173-2179
- Bézar, J., J. P. Blond, A. Bernard and P. Clouet (1994). "The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues." *Reprod. Nutr. Dev.* **34**: 539-568.
- Birlouez, E., Ed. (2013). *Tout est bon dans le cochon. Histoire, tradition, recettes...* Paris.
- Blasbalg, T. L., J. R. Hibbeln, C. E. Ramsden, S. F. Majchrzak and R. R. Rawlings (2011). "Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century." *Am. J. Clin. Nutr.* **93**(5): 950-962.
- Bono, P., A. Le Duc, M. Lozachmeur and A. Day (2015). "Matériaux : les nouveaux champs de recherche et développement pour la valorisation des fibres végétales techniques (lin fibres et chanvre)." *OCL.* **22**(6): D613.
- Botsford, L. W. (1997). "The Management of Fisheries and Marine Ecosystems." *Science* **277**(5325): 509-515.
- Bouderoua, K., J. Mourot, F. Benmehdi Tabet- Aoul and S.-A. G. (2011). " The Effects of Season and Site of Catch on Morphometric Characteristics, Mineral Content, and Fatty Acids of Sardines (*Sardina pilchardus*) Caught on the Algerian Coast. ." *J. Aquat. Food Prod. T.* **20**: 412-420.
- Bourre, J.-M. and P. Paquette (2007). "Apports en DHA (acide gras oméga-3) par les poissons et les fruits de mer consommés en France." *OCL.* **14**: 44-50.

- Bourre, J. M., M. Piciotli and O. Dumont (1990). " Δ 6 Desaturase in Brain and Liver During Development and Aging." *Lipids* **25**(6): 354-356.
- Bout, J. and J. P. Girard (1988a). "Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 2ème partie : Lipides et qualités du tissu musculaire." *Journées Rech. Porcine* **20**: 255-278.
- Bout, J. and J. P. Girard (1988b). "Lipides et qualité du tissu musculaire, facteurs de variation." *Journées Rech. Porcine* **20**: 271-278.
- Brenna, J. T. (2002). "Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man." *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2**: 127-132.
- Brenna, J. T. (2002). "Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man." *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **5**(2): 127-132.
- Brenner, R. R. (2003). "Hormonal modulation of D6 and D5 desaturases: case of diabetes." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **68**(151-162).
- Bretillon, L., N. Acar, A. Bron and C. Creuzot-Garcher (2010). "Acides gras polyinsaturés de la rétine : ont ils une origine alimentaire ?" *Bulletin d'Informations Scientifiques. ITERG*. **4**.
- Brossard, N., M. Croset, S. Normand, J. Pousin, J. Lecerf, M. Laville, J. Tayot and M. Lagarde (1997). "Human plasma albumin transports [13 C]docosahexaenoic acid in two forms to blood cells." *J. Lipid Res.* **38**: 1571-1582.
- Brossard, N., M. Croset, C. Pachiardi, J. P. Paul Riots and J. L. Tavot (1996). "Retroconversion and metabolism of DHA in humans and rats after intake of a single dose of DHA triacylglycerols." *Am. J. Clin. Nutr.* **64**: 577-586.
- Brown, A. J. and D. C. K. Roberts (1991). "Fish and fish oil intake: effect on haematological variables related to cardiovascular disease." *Thromb. Res.* **64**: 169-178.
- Brox, J., K. Olaussen, B. Østerud, E. O. Elvevoll, E. Bjørnstad, T. Brenn, G. Brattebø and H. Iversen (2001). "A Long-Term Seal- and Cod-Liver-Oil Supplementation in Hypercholesterolemic Subjects." *Lipids* **36**: 7-13.
- Buckley, D. J., P. A. Morrissey and J. I. Gray (1995). "Influence of Dietary Vitamin E on the Oxidative Stability and Quality of Pig Meat1." *J. Anim. Sci.* **73**: 3122-3130.
- Buege, J. A. and S. D. Aust (1978). "Microsomal lipid peroxidation." *Method. Enzymol.* **52**: 302-310.
- Bulliyya, G. (1999). "Differences in some haemostatic variables between fisheating and non-fish-eating populations." *Asia Pacific J Clin Nutr* **8**(4): 263-267.
- Burdge, G. C. and P. C. Calder (2005). "Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults." *Reprod. Nutr. Dev.* **45**(5): 581-597.
- Burdge, G. C. and S. A. Wootton (2002a). "Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women." *Br. J. Nutr.* **88**(4): 411-420.
- Burdge, G. C. and S. A. Wootton (2002b). "Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women." *Br. J. Nutr.* **88**(4): 411-420.
- Buzzi, M., R. J. Henderson and J. R. Sargent (1996). "The desaturation and elongation of linolenic acid and eicosapentaenoic acid by hepatocytes and liver microsomes from

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing fish oil or olive oil." *Biochem. Biophys. Acta* **1299**: 235-244.
- Calder, P. C. (2005). "Polyunsaturated fatty acids and inflammation." *Biochem. Soc. Trans.* **33**(Part 2): 423-427.
- Calder, P. C. (2012). "Mechanisms of action of (n-3) fatty acids." *J. Nutr.* **142**(3): 592S-599S.
- CALIPSO (2006). *Etude des Consommations ALimentaires de produits de la mer et Imprégnation aux éléments traces, Polluants et Oméga 3*: 161.
- Cameron, N. D. (1991). "Fatty Acid Composition of Lipid in Longissimus Dorsi Muscle of Duroc and British Landrace Pigs and its Relationship with Eating Quality." *Meat Sci.* **29**: 295-307.
- Cassens, R. G. and C. C. Cooper (1971). "Red and white muscle." *Adv. Food Res.* **19**: 1-74.
- Castro-Gomez, P., A. Garcia-Serrano, F. Visioli and J. Fontecha (2015). "Relevance of dietary glycerophospholipids and sphingolipids to human health." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **101**: 41-51.
- Chang, K. C., N. da Costa, R. Blackley, O. Southwood, G. Evans, G. Plastow, J. D. Wood and R. I. Richardson (2003). "Relationships of myosin heavy chain fibre types to meat quality traits in traditional and modern pigs." *Meat Sci.* **64**: 93-103.
- Chen, C. T., J. T. Green, S. K. Orr and R. P. Bazinet (2008). "Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **79**(3-5): 85-91.
- Chen, C. T., Z. Liu, M. Ouellet, F. Calon and R. P. Bazinet (2009). "Rapid β -oxidation of eicosapentaenoic acid in mouse brain: An in situ study." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **80**(2-3): 157-163.
- Cherfaoui, M. (2012). *La synthèse et/ou la lipoperoxydation des acides gras polyinsaturés à chaîne longue n-3 sont-elles les étapes limitantes de leur dépôt au niveau musculaire chez le bovin ? Thèse. Université d'Auvergne.*
- Chesneau, G., M. Guillevic and J. Mourot (2009). "Impact des paramètres technologiques de cuisson-extrusion des graines de lin sur la composition en acides gras des tissus musculaire et adipeux du porc charcutier." *Journées Rech. Porcine* **41**: 63-64.
- Childs, C. E., S. P. Hoile, G. C. Burdge and P. C. Calder (2012). "Changes in rat n-3 and n-6 fatty acid composition during pregnancy are associated with progesterone concentrations and hepatic FADS2 expression." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **86**(4-5): 141-147.
- Childs, C. E., M. Romeu-Nadal, G. C. Burdge and P. C. Calder (2008). "Gender differences in the n-3 fatty acid content of tissues." *Proc. Nutr. Soc.* **67**(1): 19-27.
- Chilliard, Y., D. Bauchart, M. Lessire, P. Schmidely and J. Mourot (2008). "Qualité des produits : modulation par l'alimentation des animaux de la composition en acides gras du lait et de la viande." *INRA Prod. Anim.* **21**(1): 95-106.
- Chisti, Y. (2007). "Biodiesel from microalgae." *Biotechnology Advances* **25**(3): 294-306.
- Cho, H. P., M. T. Nakamura and S. D. Clarke (1999). "Cloning, Expression, and Nutritional Regulation of the Mammalian D-6 Desaturase." *J. Biol. Chem.* **274**(1): 471-477.
- Christensen, M. C., C. E. Høy, C. C. Becker and T. G. Redgrave (1995). "Intestinal absorption and lymphatic transport of eicosapentaenoic (EPA) docosahexaenoic

- (DHA) and decanoic acids dependence on intramolecular triacylglycerol structure." *Am. J. Clin. Nutr.* **61**: 56-61.
- Colter, A. L., C. Cutler and K. A. Meckling (2008). "Fatty acid status and behavioural symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in adolescents: a case-control study." *J. Nutr.* **7**: 8.
- Combe, N. and C. Boue (2001). "Apports alimentaires en acides linoléique et alpha-linolénique d'une population d'Aquitaine." *OCL*. **8**(2): 118-121.
- Conquer, J. and J. Holub (1997). "Dietary Docosahexaenoic Acid as a Source of Eicosapentaenoic acid in vegetarians and omnivores." *Lipids* **32**: 341-345.
- Cooper, G. M. (2000). Structure of the Plasma Membrane. *The Cell: A Molecular Approach*, Am. Soc. Microbiology. **2**: 689.
- Corino, C., M. Musella and J. Mourot (2008). "Influence of extruded linseed on growth, carcass composition, and meat quality of slaughtered pigs at one hundred ten and one hundred sixty kilograms of liveweight." *J. Anim. Sci.* **86**(8): 1850-1860.
- Corino, C., R. Rossi, S. Cannata and S. Ratti (2014). "Effect of dietary linseed on the nutritional value and quality of pork and pork products: systematic review and meta-analysis." *Meat Sci.* **98**(4): 679-688.
- Cunnane, S. C. (2004). "Metabolism of polyunsaturated fatty acids and ketogenesis: an emerging connection." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **70**(3): 237-241.
- D'Andrea, S., H. Guillou, S. Jan, D. Catheline, J. N. Thibault, M. Bouriel, V. Rioux and P. Legrand (2002). "The same rat Delta6-desaturase not only acts on 18- but also on 24-carbon fatty acids in very long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis." *Biochem. J.* **364**: 49-55.
- D'Arrigo, M., L. Hoz, C. J. Lopez-Bote, I. Cambero, C. Pin and J. A. Ordonez (2002a). "Effect of dietary linseed oil on pig hepatic tissue fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation." *Nutr. Res.* **22**: 1189-1196.
- D'Arrigo, M., L. Hoz, C. J. Lopez-Bote, I. Cambero, C. Pin, A. I. Rey and J. A. Ordóñez (2002b). "Effect of dietary linseed oil and alpha tocopherol on selected properties of pig fat." *Can. J. Anim. Sci.* 339-346.
- de Antueno, R. J., L. C. Knickle, H. Smith, M. L. Elliot, S. J. Allen, S. Nwaka and M. D. Winther (2001). "Activity of human Delta5 and Delta6 desaturases on multiple n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids." *FEBS Letters* **509**: 77-80.
- de Broucker, T., A. A. Le Minous, J. E. Blochet, M. Guillevic and J. Mourot (2012). Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie. 14èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes", Tours.
- De Broucker, T., A. E. Le minous, J. E. Blochet, M. Guillevic and J. Mourot (2008). Impact de la nature des acides gras dans l'alimentation des porcs sur la qualité des produits de charcuterie. Partie 3 : Effet sur les propriétés fonctionnelles des viandes. 12èmes Journées Sciences et Technologie du Muscle et des Viandes. Tours.
- De Tonnac, A., E. Labussiere, A. Vincent and J. Mourot (2016). "Effect of alpha-linolenic acid and DHA intake on lipogenesis and gene expression involved in fatty acid metabolism in growing-finishing pigs." *Br. J. Nutr.* **116**: 7-18.

- Della Casa, G., D. Bochicchio, V. Faeti, G. Marchetto, E. Poletti, A. Rossi, A. Panciroli, A. L. Mordenti and N. Brogna (2010). "Performance and fat quality of heavy pigs fed maize differing in linoleic acid content." *Meat Sci.* **84**(1): 152-158.
- Descomps, B. (2003). "Les désaturases au cours du développement chez l'Homme." *Cahier de nutrition et de diététique* **38**: 384-391.
- Draper, H. H., L. G. McGirr and M. Hadley (1986). "The metabolism of malondialdehyde." *Lipids* **21**(4): 305-307.
- Drogoul, C., R. Gadoud, M. M. Joseph, R. Jussiau, M. J. Lisberney, B. Mangeol, L. Montméas and A. Tarrit (2004). *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage*, Educagri. Livre
- Du, M., K. C. Nam and D. U. Ahn (2001). "Cholesterol and Lipid Oxidation Products in Cooked Meat as Affected by Raw-Meat Packaging and Irradiation and by Cooked-Meat Packaging and Storage Time." *J. Food Sci.* **66**(9): 1396-1401.
- Duran-Montgé, P., R. Lizardo, D. Torrallardona and E. Esteve-Garcia (2007). "Fat and fatty acid digestibility of different fat sources in growing pigs." *Livest. Sci.* **109**(1-3): 66-69.
- Duran-Montge, P., P. K. Theil, C. Lauridsen and E. Esteve-Garcia (2009). "Fat metabolism is regulated by altered gene expression of lipogenic enzymes and regulatory factors in liver and adipose tissue but not in semimembranosus muscle of pigs during the fattening period." *Animal* **3**(11): 1580-1590.
- Eastwood, L., P. Kish, J. Patience and P. Leterme (2008). "Valeur alimentaire du tourteau de lin et ses effets sur la croissance des porcs et la composition de leur carcasse." *Journées Rech. Porcine* **40**: 197-202.
- Efsa (2012). "Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA)." *EFSA Journal* **10**(7): 1-48.
- Eichhorn, J. M., L. J. Coleman, E. J. Wakayama, G. J. Blomquist, C. M. Bailey and T. G. Jenkins (1986). "Effects of breed type and restricted versus ad libitum feeding on fatty acid composition and cholesterol content of muscle and adipose tissue from mature bovine females." *J. Anim. Sci.* **63**: 781-794.
- Elmadfa, I. and M. Kornsteiner (2009). "Dietary fat intake--a global perspective." *Ann. Nutr. Metab.* **54 Suppl 1**: 8-14.
- Emken, E. A., R. O. Adlof and R. M. Gulley (1994). "Dietary linoleic acid influences desaturation and acylation of deuterium-labeled linoleic and linolenic acids in young adult males." *Biochim. Biophys. Acta* **1213**: 277-288.
- Enser, M., R. I. Richardson, J. D. Wood, B. P. Gill and P. R. Sheard (2000). "Feeding linseed to increase the n-3 PUFA of pork: fatty acid composition of muscle, adipose tissue, liver and sausages." *Meat Sci.* **55**: 201-212.
- Essén-Gustavsson, B., A. Karlsson, K. Lundström and A.-C. Enfält (1994). "Intramuscular Fat and Muscle Fibre Lipid Contents in Halothane-Genotype-Free Pigs Fed High or Low Protein Diets and its Relation to Meat Quality." *Meat Sci.* **38**: 269-277.
- Extier, A., B. Langelier, M. H. Perruchot, P. Guesnet, P. P. Van Veldhoven, M. Lavalie and J. M. Alessandri (2010). "Gender affects liver desaturase expression in a rat model of n-3 fatty acid repletion." *J. Nutr. Biochem.* **21**(3): 180-187.

- FAO. (2008). "La Situation Mondiale des pêches et de l'aquaculture." from <http://www.fao.org/3/a-i0250f.pdf>.
- FAO. (2010). "La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture." from <http://www.fao.org/docrep/013/i1820f/i1820f01.pdf>.
- Fenton, J. P., K. L. Roehrig, D. C. Mahan and J. R. Corley (1985). "Effect of swine weaning age on body fat and lipogenic activity in liver and adipose tissue." *J. Anim. Sci* **60**: 190-199.
- Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane Stanley (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues." *J. Biol. Chem.* **226**: 497-509.
- Frankel, E. N. (1998). Lipid oxidation. Livre
- Gavino, G. R. and V. C. Gavino (1991). "Rat liver outer mitochondrial carnitine palmitoyltransferase activity towards long chain polyunsaturated fatty acids and their CoA esters." *Lipids* **26**(4): 266-270.
- Ghioni, C., D. R. Tocher, M. V. Bell, J. R. Dick and J. R. Sargent (1999). "Low C18 to C20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18:4(n-3), to eicosapentaenoic acid, 20:5(n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus*." *Biochim. Biophys. Acta* **1437**: 170-181.
- Girard, J. P., J. Bout and J. Salort (1988). "Lipides et qualité des tissus adipeux et musculaires de porc facteurs de variation. 1ère partie : Lipides et qualités du tissu adipeux." *Journées Rech. Porcine* **20**: 255-278.
- Gispert, M., M. Angels Oliver, A. Velarde, P. Suarez, J. Perez and M. Font i Furnols (2010). "Carcass and meat quality characteristics of immunocastrated male, surgically castrated male, entire male and female pigs." *Meat Sci.* **85**(4): 664-670.
- Givens, D. I. and R. A. Gibbs (2006). "Very long chain n -3 polyunsaturated fatty acids in the food chain in the UK and the potential of animal-derived foods to increase intake." *Nutr. Bull.* **31**: 104-110.
- Gladine, C. (2006). Intérêt des extraits végétaux riches en polyphénols dans la prévention de la lipoperoxydation chez le rat et le mouton recevant des régimes supplémentés en AGPI n-3, Thèse. Université d'Auvergne.
- Glück, T. and P. Alter (2016). "Marine omega-3 highly unsaturated fatty acids: From mechanisms to clinical implications in heart failure and arrhythmias." *Vasc. Pharm.* **82**: 11-19.
- Gobert, M. (2010). Prévention de la peroxydation des acides gras polyinsaturés par des antioxydants alimentaires chez le bovin en production, Thèse. Université d'Auvergne.
- González-Esquerria, R. and S. Leeson (2001). "Alternatives for enrichment of eggs and chicken meat with omega-3 fatty acids." *Can. J. Anim. Sci.* **81**(3): 295-305.
- Goyens, P. L., M. E. Spilker, P. L. Zock, M. B. Katan and R. P. Mensink (2005). "Compartmental modeling to quantify alpha-linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses." *J. Lipid Res.* **46**(7): 1474-1483.
- Goyens, P. L. L., M. E. Spilker, P. L. Zock, M. B. Katan and R. P. Mensink (2006). "Conversion of alpha-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio." *Am. J. Clin. Nutr.* **84**: 44-53.

- Gray, J. I., E. A. Gomaa and D. J. Buckley (1996). "Oxidative Quality and Shelf Life of Meats." *Meat Sci.* **43**: S111-S123.
- Gronn, M., E. Christensen, T. A. Hagve and B. O. Christophersen (1991). "Peroxisomal retroconversion of docosahexaenoic acid to EPA studied in isolated rat liver cells." *Biochim. Biophys. Acta* **1081**: 85-91.
- Gruffat, D., M. Gobert, D. Durand and D. Bauchart (2011). "Distinct metabolism of linoleic and linolenic acids in liver and adipose tissues of finishing Normande cull cows." *Animal* **5**(7): 1090-1098.
- Guesnet, P., J. M. Alessandri, P. Astorg, F. Pifferi and M. Laviolle (2005). "Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI)." *OCL*. **12**(5-6): 333-343.
- Guillevic, M. (2009). Effets des acides gras n-3 sur la construction de la qualité nutritionnelle de la viande de porc et sur le métabolisme des lipides, Thèse. Université de Rennes. Agrocampus-Ouest.
- Guillevic, M., M. Kouba and J. Mourot (2009a). "Effect of a linseed diet on lipid composition, lipid peroxidation and consumer evaluation of French fresh and cooked pork meats." *Meat Sci.* **81**(4): 612-618.
- Guillevic, M., M. Kouba and J. Mourot (2009b). "Effect of a linseed diet or a sunflower diet on performances, fatty acid composition, lipogenic enzyme activities and stearoyl-CoA-desaturase activity in the pig." *Livest. Sci.* **124**(1-3): 288-294.
- Guy, F., S. Prache, A. Thomas, D. Bauchart and D. Andueza (2011). "Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS)." *Food Chem.* **127**(3): 1280-1286.
- Haak, L., S. De Smet, D. Fremaut, K. Van Walleghem and K. Raes (2008). "Fatty acid profile and oxidative stability of pork as influenced by duration and time of dietary linseed or fish oil supplementation." *J. Anim. Sci.* **86**(6): 1418-1425.
- Habeanu, M., A. Thomas, E. Bispo, M. Gobert, D. Gruffat, D. Durand and D. Bauchart (2014). "Extruded linseed and rapeseed both influenced fatty acid composition of total lipids and their polar and neutral fractions in longissimus thoracis and semitendinosus muscles of finishing Normand cows." *Meat Sci.* **96**(1): 99-107.
- Hajri, T. and N. A. Abumrad (2002). "Fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology." *Annu. Rev. Nutr.* **22**: 383-415.
- Hamilton, J. A. (1999). "Transport of fatty acids across membranes by the diffusion mechanism." *Prostaglandins Leukot. Essent. fatty acids* **60**(5 et 6): 291-297.
- Hamilton, J. A. and K. Brunaldi (2007). "A model for fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology." *Annu. Rev. Nutr.* **22**: 383-415.
- Harbige, L. S. (2003). "Fatty acids, the immune response, and autoimmunity : a question of n-6 essentiality and the balance between n-6 and n-3." *Lipids* **38**(4).
- Henneberg, W. and F. Stohman (1860). Begründung einer rationellen Fütterung des Wiederkäuer. C. A. S. u. sohn. **2**.
- Henry, Y. (1977). "Développement morphologique et métabolique du tissu adipeux chez le porc : influence de la sélection, de l'alimentation et du mode d'élevage." *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* **17** (5B): 923-952.

- Hercberg, S., P. Galan, P. Preziosi, S. Bertrais, L. Mennen, D. Malvy, A. M. Roussel, A. Favier and S. Briancon (2004). "The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals." *Arch. Intern. Med* **164**: 2335-2342.
- Hiltunen, J., S. Filppula, H. H~yrinen, K. Koivuranta and E. Hakkola (1993). "Peroxisomal beta-oxidation of polyunsaturated fatty acids." *Biochimie* **75**: 175-182.
- Högberg, A., J. Pickova, B. Andersson and K. Lundströma (2003). "Fatty acid composition and tocopherol content of muscle in pigs fed organic and conventional feed with different n6/n3 ratios, respectively." *Food Chem.* **80**: 177-186.
- Högberg, A., J. Pickova, P. C. Dutta, J. Babol and A. C. Bylund (2001). "Effect of rearing system on muscle lipids of gilts and castrated male pigs." *Meat Sci.* **58**: 223-229.
- Honikel, K. (1998). "Reference Methods for the Assessment of Physical Characteristics of Meat " *Meat Sci.* **49**(4): 447-457.
- Hornstra, G. (1989). "Influence of dietary fish oil on arterial thrombosis and atherosclerosis in animal models and in man." *J. Intern. Med.* **225**(Suppl 1): 53-59.
- Howe, P., B. Meyer, S. Record and K. Baghurst (2006). "Dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources." *Nutrition* **22**(1): 47-53.
- Hoz, L., M. D'Arrigo, I. Cambero and J. A. Ordonez (2004). "Development of an n-3 fatty acid and alpha-tocopherol enriched dry fermented sausage." *Meat Sci.* **67**(3): 485-495.
- Hoz, L., C. J. Lopez-Bote, M. I. Camber, M. D'Arrigo, C. Pin, C. Santos and J. A. Ordonez (2003). "Effect of dietary linseed oil and alpha tocopherol on pork tenderloin muscle." *Meat Sci.* **65**: 1039-1044.
- Hu, M. L., E. N. Frankel, B. E. Leibovitz and A. L. Tappel (1989). "Effect of Dietary Lipids and Vitamin E on In Vitro Lipid Peroxidation in Rat Liver and Kidney Homogenates." *J. Nutr.* **119**(11): 1574-1582.
- Hulshof, K. F., M. A. Van Erp-Baart, M. Anttolainen, W. Becker, S. M. Church, C. Couet, E. Hermann-Kunz, H. Kesteloot, T. Leth, I. Martins, O. Moreiras, J. Moschandreas, L. Pizzoferrato, A. H. Rimestad, H. Thorgeirsdottir, J. M. Van Amelsvoort, A. Aro, A. G. Kafatos, D. Lanzmann-Petithory and G. Van Poppel (1999). "Intake of fatty acids in Western Europe with emphasis on trans fatty acids: The TRANSFAIR study." *Eur. J. Clin. Nutr.* **53**: 143-157.
- IFIP. (2015). from <http://www.ifip.asso.fr>.
- Igarashi, M., K. Ma, L. Chang, J. M. Bell and S. I. Rapoport (2007). "Dietary n-3 PUFA deprivation for 15 weeks upregulates elongase and desaturase expression in rat liver but not brain." *J. Lipid Res.* **48**(11): 2463-2470.
- Innis, S. M., Z. Vaghri and D. J. King (2004). "n-6 Docosapentaenoic acid is not a predictor of low docosahexaenoic acid status in Canadian preschool children1." *Am. J. Cli. Nutr.* **80**: 768-773.
- ISO (1998). Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method. ISO 9831:1998: 23.
- ISO (2008). Food products-Determination of total nitrogen content by combustion according to the Dumas principle and calculation of crude protein content. Part 1: oilseeds and animal feed. ISO 16634-1:2008 30.

- Jørgensen, H., V. M. Gabert, M. S. Hedemann and S. K. Jensen (2000). "Digestion of fat does not differ in growing pigs fed diets containing fish oil, rapeseed oil or coconut oil." *J. Nutr.* **130**: 852-857.
- Juaneda, P. and G. Rocquelin (1985). "Rapid and Convenient Separation of Phospholipids and Non Phosphorus Lipids from Rat Heart Using Silica Cartridges." *Lipids* **20**: 40-41.
- Kim, J., Y. J. Kim, Y.-O. Ahn, H.-Y. Paik, Y. Ahn, Y. Tokudome, N. Hamajima, M. Inoue and K. Tajima (2004). "Contribution of specific foods to fat, fatty acids, and cholesterol in the development of a food frequency questionnaire in Koreans." *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* **13**(3): 265-272.
- Kitson, A. P., C. K. Stroud and K. D. Stark (2010). "Elevated production of docosahexaenoic acid in females: potential molecular mechanisms." *Lipids* **45**(3): 209-224.
- Kloareg, M., J. Noblet and J. van Milgen (2007). "Deposition of dietary fatty acids, de novo synthesis and anatomical partitioning of fatty acids in finishing pigs." *Br. J. Nutr.* **97**(1): 35-44.
- Kontrová, K., J. Zidková, B. Bartoš, V. Skop, J. Sajdok, L. Kazdová, K. Mikulík, P. Mlejnek, V. Zídek and M. Pravenec (2007). "CD36 regulates FA composition and sensitivity to insulin in 3T3-L1 Adipocytes." *Physiol. Res.* **56**: 493-496.
- Kornbrust, D. J. and R. D. Mavis (1980). "Relative Susceptibility of Microsomes from Lung, Kidney, Brain and Testes to Lipid Peroxidation: Correlation with Vitamin E Content." *Lipids* **15**(5): 315-322.
- Kouba, M., F. Benatmane, J. E. Blochet and J. Mourot (2008). "Effect of a linseed diet on lipid oxidation, fatty acid composition of muscle, perirenal fat, and raw and cooked rabbit meat." *Meat Sci.* **80**(3): 829-834.
- Kouba, M., M. Enser, F. M. Whittington, G. R. Nute and J. D. Wood (2003). "Effect of a high-linolenic acid diet on lipogenic enzyme activities, fatty acid composition, and meat quality in the growing pig." *J. Anim. Sci.* **81**: 1967-1979.
- Kouba, M. and J. Mourot (2011). "A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids." *Biochimie* **93**(1): 13-17.
- Kouba, M., J. Mourot and P. Peiniau (1997). "Stearoyl-CoA desaturase activity in adipose tissues and liver of growing Large White and Meishan pigs." *Comp. Biochem. Physiol.* **118B**: 509-514.
- Kriketos, A. D., D. A. Pan, J. R. Sutton, J. F. Hoh, L. A. Baur, G. J. Cooney, A. B. Jenkins and L. H. Storlien (1995). "Relationships between muscle membrane lipids, fiber type, and enzyme activities in sedentary and exercised rats." *Am. J. Physiol.*: R1154-R1162.
- Kris - Etherton, P. M. (1993). "Effects of Chain Length of Saturated Fatty Acids on Plasma Total, LDL- and HDL-Cholesterol Levels." *Fat Sci. T.* **95**(12): 448-452.
- Kumar, A., Y. Takada, A. M. Boriak and B. B. Aggarwal (2004). "Nuclear factor-kappaB: its role in health and disease." *J. Mol. Med.* **82**(7): 434-448.
- Laplace, J. P., B. Darcy-Vrillon and M. Picard (1985). Evaluation de la disponibilité des acides aminés: choix raisonné d'une méthode. *Journées Rech. Porcine* **17**: 353-370.
- Lavialle, M. and S. Layé (2010). "Acides gras poly-insaturés (omega 3, omega 6) et fonctionnement du système nerveux central." *Innov. Agron.* **10**: 25-42.

- Lebret, B., L. Lefaucheur and J. Mourot (1999). "La qualité de la viande de porc-Influence des facteurs d'élevage non génétiques sur les caractéristiques du tissu musculaire." *INRA Prod. Anim.* **12** (1): 11-28.
- Lebret, B., L. Lefaucheur, J. Mourot and M. Bonneau (1996). "Influence des facteurs d'élevage sur la qualité de la viande de porc." *Journées Rech. Porcine. Paris* **28**: 137-156.
- Lefaucheur, L., A. Missohou, P. Ecolan, G. Monin and M. Bonneau (1992). "Performance, Plasma Hormones, Histochemical and Biochemical Muscle Traits, and Meat Quality of Pigs Administered Exogenous Somato tropin Between 30 or 60 Kilograms and 100 Kilograms Body Weight." *J. Anim. Sci.* **70**: 3401-3411.
- Lefis-Lacourtablaise, J. (2010). *Métabolisme et fonctions des acides gras oméga-3 à longue chaîne au niveau de l'adipocyte*, Thèse. Université Rhône-Alpes.
- Leray, C. (2013). *Les lipides : nutrition et santé*. Livre.
- Leszczynski, D. E., J. Pikult, R. A. Easter, F. K. McKeith, D. G. McLaren, J. Novakofsk, P. J. Bechtel and D. E. Jewel (1992). "Characterization of Lipid in Loin and Bacon from Finishing Pigs Fed Full-Fat Soybeans or Tallow." *J. Anim. Sci.* **70**: 2175-2181.
- Lichtenstein, A. H., L. J. Appel, M. Brands, M. Carnethon, S. Daniels, H. A. Franch, B. Franklin, P. Kris-Etherton, W. S. Harris, B. V. Howard, N. Karanja, M. Lefevre, L. Rudel, F. Sacks, L. Van Horn, M. Winston and J. Wylie-Rosett (2006). "Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee." *Circulation* **114**: 82-96.
- Lin, Y. H. and N. Salem, Jr. (2007). "Whole body distribution of deuterated linoleic and alpha-linolenic acids and their metabolites in the rat." *J. Lipid Res.* **48**(12): 2709-2724.
- Linseisen, J., M. B. Schulze, M. Saadatian-Elahi, A. Kroke, A. B. Miller and H. Boeing (2003). "Quantity and Quality of Dietary Fat, Carbohydrate, and Fiber Intake in the German EPIC Cohorts." *Ann. Nutr. Metab.* **47**(1): 37-46.
- Liu, Y., D. Zhang, J. Hu, G. Liu, J. Chen, L. Sun, Z. Jiang, X. Zhang, Q. Chen and B. Ji (2015). "Visible Light-Induced Lipid Peroxidation of Unsaturated Fatty Acids in the Retina and the Inhibitory Effects of Blueberry Polyphenols." *J. Agric. food chem.* **63**(42): 9295-9305.
- Lizardo, R., J. van Milgen, J. Mourot, J. Noblet and M. Bonneau (2002). "A nutritional model of fatty acid composition in the growing-finishing pig." *Livest. Prod. Sci.* **75**: 167-182.
- Lo Fiego, D. P., P. Macchioni, G. Minelli and P. Santoro (2010). "Lipid composition of covering and intramuscular fat in pigs at different slaughter age." *Ital. J. Anim. Sci.* **9**(2).
- Lopez-Bote, C. J., M. Sanz, B. Isabel, P. Perez de Ayal and A. Flores (1997). "Effect of dietary lard on performance, fatty acid composition and susceptibility to lipid peroxidation in growing-finishing female and entire male pigs." *Can. J. Anim. Sci.* **77**: 301-306.
- Madden, S. M., C. F. Garrioch and B. J. Holub (2009). "Direct diet quantification indicates low intakes of (n-3) fatty acids in children 4 to 8 years old." *Br. J. Nutr.* **139**(3): 528-532.

- Madsen, L., L. Frøyland, E. Dyrøy, K. Helland and R. K. Berge (1998). "Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids are differently metabolized in rat liver during mitochondria and peroxisome proliferation." *J. lipid Res.* **39**(583-593).
- Maillot, M., N. Darmon, F. Vieux and A. Drewnowski (2007). "Low energy density and high nutritional quality are each associated with higher diet costs in French adults." *Am. J. Clin. Nutr.* **86**: 690-696.
- Mairesse, G., M. Benet and J. Mourot (2010). Prevention de l'oxydation des lipides de la viande de porc enrichie en acides gras n-3 par l'ajout d'antioxydants naturels dans la ration. 13èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes".
- Marriott, D. T., P. Chevillon, P. T. Spencer-Phillips and O. Doran (2013). "Effect of breed on fatty acid composition and lipogenic enzyme abundance in the subcutaneous adipose tissue of pigs." *J. food Sci.* **78**(8): C1130-1135.
- Martínez-Ramírez, H. R., J. K. G. Kramer and C. F. M. de Lange (2013). "Ileal flows and apparent ileal digestibility of fatty acids in growing gilts fed flaxseed containing diets." *J. Anim. Sci.* **91**: 2729-2739.
- Mas, G., M. Llavall, D. Coll, R. Roca, I. Diaz, M. Gispert, M. A. Oliver and C. E. Realini (2010). "Carcass and meat quality characteristics and fatty acid composition of tissues from Pietrain-crossed barrows and gilts fed an elevated monounsaturated fat diet." *Meat Sci.* **85**(4): 707-714.
- Mas, G., M. Llavall, D. Coll, R. Roca, I. Diaz, M. A. Oliver, M. Gispert and C. E. Realini (2011). "Effect of an elevated monounsaturated fat diet on pork carcass and meat quality traits and tissue fatty acid composition from York-crossed barrows and gilts." *Meat Sci.* **89**(4): 419-425.
- Matthews, K. R., D. B. Homer, F. Thies and P. C. Calder (2000). "Effect of whole linseed (*Linum usitatissimum*) in the diet of finishing pigs on growth performance and on the quality and fatty acid composition of various tissues." *Br. J. Nutr.* **83**: 637-643.
- Meadus, J., J. Aalhus, B. Uttaro, M. Dugan and P. Duff (2011). DHA reduces triglycerides and stimulates fat metabolism in pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **91**: 475-521.
- Meadus, J., P. Duff, D. Rolland, J. Aalhus, B. Uttaro and M. Dugan (2011). "Feeding docosahexaenoic acid to pigs reduces blood triglycerides and induces gene expression for fat oxidation." *Can. J. Anim. Sci.* **91**(4): 601-612.
- Médale, F. (2009). "Teneur en lipides et composition en acides gras de la chair de poissons issus de la pêche et de l'élevage." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **44**(4): 173-181.
- Melin, T. and A. Nilsson (1997). "Delta-6-desaturase and delta.5. desaturase in human Hep G2 cells are both fatty acid interconversion rate limiting and are upregulated under essential fatty acid deficient conditions." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **56**(6): 437-442.
- Métayer, A. and G. Daumas (1998). Estimation, par découpe, de la teneur en viande maigre des carcasses de porcs. *Journées Rech. Porcine* **30**: 7-11.
- Meyer, B. J. (2011). "Are we consuming enough long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids for optimal health?" *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **85**(5): 275-280.

- Meyer, B. J., N. J. Mann, J. L. Lewis, G. C. Milligan, A. J. Sinclair and P. R. C. Howe (2003). "Dietary Intakes and Food Sources of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids." *Lipids* **38**(4): 391-398.
- Miller, M. R., P. D. Nichols and C. G. Carter (2008). "n-3 Oil sources for use in aquaculture--alternatives to the unsustainable harvest of wild fish." *Nutr. Res. Rev.* **21**(2): 85-96.
- Mitchell, R. W. and G. M. Hatch (2011). "Fatty acid transport into the brain: of fatty acid fables and lipid tails." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **85**(5): 293-302.
- Monahan, F. J., D. J. Buckley, P. A. Morrissey, P. B. Lynch and J. I. Gray (1992). "Influence of Dietary Fat and alpha-Tocopherol Supplementation on Lipid Oxidation in Pork." *Meat Sci.* **31**: 229-241.
- Monziols, M., M. Bonneau, A. Davenel and M. Kouba (2007). "Comparison of the lipid content and fatty acid composition of intermuscular and subcutaneous adipose tissues in pig carcasses." *Meat Sci.* **76**(1): 54-60.
- Morais, S., O. Monroig, X. Zheng, M. J. Leaver and D. R. Tocher (2009). "Highly unsaturated fatty acid synthesis in Atlantic salmon: characterization of ELOVL5- and ELOVL2-like elongases." *Marine Biotech.* **11**(5): 627-639.
- Mordenti, A. L., L. Sardi, A. Bonaldo, V. Pizzamiglio, N. Brogna, I. Cipollini, M. Tassinari and G. Zaghini (2010). "Influence of marine algae (*Schizochytrium* spp.) dietary supplementation on doe performance and progeny meat quality." *Livest. Sci.* **128**(1-3): 179-184.
- Morita, E., Y. Kumon, T. Nakahara, S. Kagiwada and T. Noguchi (2006). "Docosahexaenoic acid production and lipid-body formation in *Schizochytrium limacinum* SR21." *Marine Biotech.* **8**(3): 319-327.
- Morita, M. and T. Imanaka (2012). "Peroxisomal ABC transporters: structure, function and role in disease." *Biochim. Biophys. Acta* **1822**(9): 1387-1396.
- Morris, M. C., D. A. Evans, J. L. Bienias, C. C. Tangney, D. A. Bennett, R. S. Wilson, N. Aggarwal and J. Schneider (2003). "Consumption of fish and n 3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease " *Arch. Neurol.* **60**: 940-946.
- Morris, M. C., F. Sacks and B. Rosner (1993). "Does fish oil lower blood pressure ?" *Circulation* **88**(2): 523-533.
- Morrison, W. R. and L. M. Smith (1964). "Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron fluoride methanol." *J. Lipid Res.* **5**: 600-608.
- Mourente, G. and D. R. Tocher (1998). "The in vivo incorporation and metabolism of [1-14C] linolenate (18:3n-3) in liver, brain and eyes of juveniles of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* L and gilthead sea bream *Sparus aurata* L." *Fish Physiol. Biochem.* **18**: 149-165.
- Mourot, J. (2015). "Évolution de la qualité des produits animaux au cours des cinquante dernières années." *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **50**(6): 6S30-36S35.
- Mourot, J., M. Arturo-Schaan and R. Foret (2010). Effet de la durée de distribution dans le régime d'antioxydants végétaux sur l'oxydation des acides gras de la viande de porc et des produits transformés. 13èmes Journées "Sciences du Muscle et Technologie des Viandes".
- Mourot, J. and A. de Tonnac (2015). "The Bleu Blanc Coeur path: impacts on animal products and human health." *OCL.* **22**(6): D610.

- Mourot, J. and D. Hermier (2001). "Lipids in monogastric animal meat." *Reprod. Nutr. Dev.* **41**: 109-118.
- Mourot, J., M. Kouba and M. Bonneau (1996). "Comparative study of in vitro lipogenesis in various adipose tissues in the growing meishan pig : comparison with the large white pig (*Sus domesticus*)." *Comp. Biochem. Physiol.* **115B**: 383-388.
- Mourot, J., M. Kouba and P. Peiniau (1995). "Comparative study of in vitro lipogenesis in various adipose tissues in the growing domestic pig (*Sus domesticus*)." *Comp. Biochem. Physiol.* **111B**: 379-384.
- Mourot, J., M. Kouba and G. Salvatori (1999). "Facteurs de variation de la lipogenèse dans les adipocytes et les tissus adipeux chez le porc." *INRA Prod. Anim.* **12**(4): 311-318.
- Mourot, J. and B. Lebret (2009). "Modulation de la qualité de la viande de porc par l'alimentation." *INRA Prod. Anim.* **22**(1): 33-40.
- Mourot, J., P. Peiniau and A. Mounier (1994). "Effets de l'acide linoléique alimentaire sur l'activité des enzymes de la lipogenèse dans les tissus adipeux chez le porc." *Reprod. Nutr. Dev.* **34**: 213-220.
- Muriel, E., J. Ruiz, J. Ventanas and T. Antequera (2002). "Free-range rearing increases (n-3) polyunsaturated fatty acids of neutral and polar lipids in swine muscles." *Food Chem.* **78**: 219-225.
- Murray, C. S., B. Simpson, G. Kerry, A. Woodcock and A. Custovic (2006). "Dietary intake in sensitized children with recurrent wheeze and healthy controls: a nested case-control study." *Allergy* **61**(4): 438-442.
- Musella, M., S. Cannata, R. Rossi, J. Mourot, P. Baldini and C. Corino (2009). "Omega-3 polyunsaturated fatty acid from extruded linseed influences the fatty acid composition and sensory characteristics of dry-cured ham from heavy pigs." *J. Anim. Sci.* **87**(11): 3578-3588.
- Nagyová, A., M. Krajčovičová-Kudláčková and J. Klvanová (2001). "LDL and HDL Oxidation and Fatty Acid Composition in Vegetarians." *Ann. Nutr. Metab.* **45**: 148-151.
- Nakahara, T., T. Yokochi, T. Higashihara, S. Tanaka, T. Yaguchi and D. Honda (1996). "Production of Docosahexaenoic and Docosapentaenoic Acids by *Schizochytrium* sp. Isolated from Yap Islands." *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**(11): 1421-1426.
- Nakamura, M. T. and T. Y. Nara (2004). "Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases." *Ann. Rev. Nutr.* **24**: 345-376.
- Neubronner, J., J. P. Schuchardt, G. Kressel, M. Merkel, C. von Schacky and A. Hahn (2011). "Enhanced increase of omega-3 index in response to long-term n-3 fatty acid supplementation from triacylglycerides versus ethyl esters." *Eur. J. Clin. Nutr.* **65**(2): 247-254.
- Noblet, J., H. Fortune, S. Dubois and Y. Henry, Eds. (1989). *Nouvelles bases d'estimation des teneurs en énergie digestible, métabolisable et nette des aliments pour le porc*. Paris, INRA.
- Noblet, J., Y. Jaguelin-Peyraud, B. Quemeneur and G. Chesneau (2008). "Valeur énergétique de la graine de lin chez le porc : impact de la technologie de cuisson-extrusion." *Journées Rech. Porcine* **40**: 203-208.

- Nuernberg, K., K. Fischer, G. Nuernberg, U. Kuechenmeister, D. Klosowska, G. Eliminowska-Wenda, I. Fiedler and K. Ender (2005). "Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs." *Meat Sci.* **70**(1): 63-74.
- O'Hea, E. K. and G. A. Leveille (1969). "Significance of adipose tissue and liver as sites of fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis." *J. Nutr.* **99**: 338-344.
- Okrouhlá, M., R. Stupka, J. Čítek, M. Šprysl and L. Brzobohatý (2013). "Effect of dietary linseed supplementation on the performance, meat quality, and fatty acid profile of pigs." *Czech J. Anim. Sci.* **58**(6): 279-288.
- Oosthuizen, W., H. Vorster, J. Jerling, H. Barnard, C. Smuts, N. Silvis, A. Kruger and C. Venter (1994). "Both fish oil and olive oil lowered plasma fibrinogen in women with high baseline fibrinogen levels." *Thromb. Haemost.* **72**(4): 557-562.
- Oriani, G., C. Corino, G. Pastorelli, L. Pantaleo, A. Ritieni and G. Salvatori (2001). "Oxidative status of plasma and muscle in rabbits supplemented with dietary vitamin E." *Journal of Nutritional Biochemistry* **12**: 138-143.
- Osmundsen, H., J. Bremer and J. I. Pedersen (1991a). "Metabolic aspects of peroxisomal Beta-oxidation." *Biochim. Biophys. Acta* **1085**(2): 141-158.
- Osmundsen, H., J. Bremer and J. I. Pedersen (1991b). "Metabolic aspects of peroxisomal beta-oxidation." *Biochim. Biophys. Acta* **1085**: 141-158.
- Osterud, B., E. O. Elvevoll, H. Barstad, J. Brox, H. Halvorse, K. Lia, J. O. Olsen, R. L. Olsen, C. Sissener, O. Rekdal and E. Vognild (1995). "Effect of Marine Oils Supplementation on Coagulation and Cellular Activation in Whole Blood." *Lipids* **30**: 1111-1118.
- Ouellet, M., V. Emond, C. T. Chen, C. Julien, F. Bourasset, S. Oddo, F. LaFerla, R. P. Bazinet and F. Calon (2009). "Diffusion of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids through the blood-brain barrier: An in situ cerebral perfusion study." *Neurochem. Int.* **55**(7): 476-482.
- Óvilo, C., R. Benítez, A. Fernández, B. Isabel, Y. Núñez, A. I. Fernández, C. Rodríguez, A. Daza, L. Silió and C. López-Bote (2014). "Dietary energy source largely affects tissue fatty acid composition but has minor influence on gene transcription in Iberian pigs." *J. Anim. Sci.* **92**: 939-954.
- Owen, J. M., J. W. Adron, C. Middleton and C. B. Cowey (1975). "Elongation and Desaturation of Dietary Fatty Acids in Turbot *Scophthalmus maximus* L., and Rainbow Trout, *Solmo goirdoerfi* Rich." *Lipids* **10**(9): 528-531.
- Ozsahin, A. D., Z. Gokce, O. Yilmaz and O. A. Kirecci (2011). "The fruit extract of three strawberry cultivars prevents lipid peroxidation and protects the unsaturated fatty acids in the Fenton reagent environment." *Int. J. Food Sci. Nutr.* **63**(3): 353-357.
- Pawlosky, R. J., J. R. Hibbeln, J. A. Novotny and N. Salem (2001). "Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans." *J. Lipid Res.* **42**: 1257-1265.
- Pearson, A. M., J. I. Gray, A. M. Wolzak and N. A. Hornseain (1983). "Safety implications of oxidized lipids in muscle foods." *Food T.* **37**(7): 121-129.

- Peluffo, R. O., A. M. Nervi and R. R. Brenner (1976). "Linoleic acid desaturation activity of liver microsomes of essential fatty acid deficient and sufficient rats." *Biochim. Biophys. Acta* **441**: 25-31.
- Pereira, C., D. Li and A. J. Sinclair (2001). "The alpha-linolenic Acid Content of Green Vegetables Commonly Available in Australia " *Int. J. Vit. Nutr. Res.* **71**: 223-228.
- Petrović, M., M. Wähner, C. Radović, D. Radojković, N. Parunović, R. Savić and N. Brkić (2014). "Fatty acid profile of m. longissimus dorsi of Mangalitsa and Moravka pig breeds." *Archiv Tierzucht* **17**: 1-12.
- Pieroni, G. and T. Coste (2010). "Composition en acides gras des œufs. Intérêt nutritionnel et valeur santé." *Cahier de nutrition et de diététique* **45**: 261-266.
- Pierre, F., S. Taché, C. R. Petit, R. Van der Meer and D. E. E. Corpet (2003). "Meat and Cancer: haemoglobin and haemin in a low-calcium diet promote colorectal carcinogenesis at the aberrant crypt stage in rats." *Carcinogenesis* **24**(10): 1683-1690.
- Plourde, M., R. Chouinard-Watkins, M. Vandal, Y. Zhang, P. Lawrence, J. T. Brenna and S. C. Cunnane (2011). "Plasma incorporation, apparent retroconversion and beta-oxidation of ¹³C DHA in the elderly." *Nutr. Metab.* **8**(5): 1-9.
- Plourde, M. and S. C. Cunnane (2007). "Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements." *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **32**(4): 619-634.
- Polozova, A., E. Gionfriddo and N. Salem, Jr. (2006). "Effect of docosahexaenoic acid on tissue targeting and metabolism of plasma lipoproteins." *Prostaglandins Leuk. Essent. Fatty Acids* **75**(3): 183-190.
- Portolesi, R., B. C. Powell and R. A. Gibson (2007). "Competition between 24:5n-3 and ALA for Delta 6 desaturase may limit the accumulation of DHA in HepG2 cell membranes." *J. Lipid Res.* **48**(7): 1592-1598.
- Psota, T. L., S. K. Gebauer and P. Kris-Etherton (2006). "Dietary omega-3 fatty acid intake and cardiovascular risk." *Am. J. Cardiol.* **98**(4A): 3i-18i.
- Pulla Reddy, A. C. and B. R. Lokesh (1994a). "Dietary unsaturated fatty acids, vitamin E, curcumin and eugenol alter serum and liver lipid peroxidation in rats." *Nutr. Res.* **14**(9): 1423-1437.
- Pulla Reddy, A. C. and B. R. Lokesh (1994b). "Effect of dietary turmeric (curcuma longa) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver." *Fd Chem. Toxic. Vol. 32. No. 3*, pp. 279-283, 1994 **32**(3): 279-283.
- Quiniou, N. and J. Noblet (2012). "Effect of the dietary net energy concentration on feed intake and performance of growing-finishing pigs housed individually." *J. Anim. Sci.* **90**: 4362-4372.
- Quiniou, N., J. Noblet, J. van Milgen and J. Y. Dourmad (1995). "Effect of energy intake on performance, nutrient and tissue gain and protein and energy utilization in growing boars." *Anim. Sci.* **61**(1): 133-143.
- Raes, K., S. De Smet and D. Demeyer (2004). "Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review." *Anim. Feed Sci. Technol.* **113**(1-4): 199-221.

- Rapoport, S. I., M. Igarashi and F. Gao (2010). "Quantitative contributions of diet and liver synthesis to docosahexaenoic acid homeostasis." *Prostaglandins, Leuk. Essent. Fatty Acids* **82**(4-6): 273-276.
- Ratnayake, W. M. and C. Galli (2009). "Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper." *Ann. Nutr. Metab.* **55**(1-3): 8-43.
- Razanamahefa, L., L. Lafay, M. Oseredczuk, A. Thiébaud, L. Laloux, M. Gerber, P. Astorg and J.-L. Berta (2005). "Consommation lipidique de la population française et qualité des données de composition des principaux groupes d'aliments vecteurs " *Bulletin du Cancer* **92**(7): 647-657.
- Razmaité, V. (2012). "Comparison of fatty acid composition in different pig tissues." *Vet. Med. Zoot.* **58**(80): 77-82.
- Renault, A. (2015). "Margarines with linseed oil: nutritional interests, specificities and development." *OCL.* **22**(6): D609.
- Robina, A., J. Viguera, T. Perez-Palacios, A. I. Mayoral, J. M. Vivo, M. T. Guillen and J. Ruiz (2013). "Carcass and meat quality traits of Iberian pig as affected by sex and crossbreeding with different Duroc genetic lines." *Span. J. Agric. Res.* **11**(4): 1057.
- Romans, J. R., R. C. Johnson, D. M. Wulf, G. W. Libal and W. J. Costello (1995a). "Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and omega-3 fatty acid content of pork : I Dietary level of flaxseed." *J. Anim. Sci.* **73**: 1982-1986.
- Romans, J. R., D. M. Wulf, R. C. Johnson, G. W. Libal and W. J. Costello (1995b). "Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and Omega3 fatty acid content of pork: II. duration of 15% dietary flaxseed." *J. Anim. Sci.* **73**: 1987-1999.
- Russo, C., O. Olivieri, D. Girelli, P. Guarini, R. Pasqualini, M. Azzini and R. Corrocher (1997). "Increased membrane ratios of metabolite to precursor fatty acid in essential hypertension." *Hypertension* **29**: 1058-1063.
- Ruxton, C. H. S., S. C. Reed, M. J. A. Simpson and K. J. Millington (2004). "The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids : a review of the evidence." *J. Hum. Nutr. Diet.* **17**: 449-459.
- Samulin, J., I. Berget, E. Grindflek, S. Lien and H. Sundvold (2009). "Changes in lipid metabolism associated gene transcripts during porcine adipogenesis." *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* **153**(1): 8-17.
- Sanghvi, A. M. and Y. M. Lo (2010). "Present and potential industrial applications of macro- and microalgae." *Recent Pat. Food Nutr. Agric.* **2**(3): 187-194.
- Sardi, L, G. Martelli, L. Lambertini, P. Parisini, A. Mordenti (2006). "Effects of a dietary supplement of DHA-rich marine algae on Italian heavy pig production parameters". *Liv. Prod. Sci.* **103**(1-2): 95-103
- Sargent, J. R., R. J. Henderson and D. R. Tocher (1989). *The Lipids. Fish nutrition.* J. E. Halver. New York. **2**: 153-218.
- Sarraga, C., M. D. Guardia, I. Diaz, L. Guerrero, J. A. Garcia Regueiro and J. Arnau (2007). "Nutritional and sensory quality of porcine raw meat, cooked ham and dry-cured

- shoulder as affected by dietary enrichment with docosahexaenoic acid (DHA) and alpha-tocopheryl acetate." *Meat Sci.* **76**(2): 377-384.
- Sauvant, D., J. M. Perez and G. Tran, Eds. (2002). *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage*, INRA.
- Sauvant, D., J. M. Perez and G. Tran (2004). *Tables of composition and nutritional value of raw materials for livestock.* **2**: 304.
- Savoire, R., M.-a. Lazouk, E. Van-Hecke, R. Roulard, R. Tavernier, X. Guillot, L. Rhazi, E. Petit, F. Mesnard and B. Thomasset (2015). "Environmental and varietal impact on linseed composition and on oil unidirectional expression process." *OCL.* **22**(6): D605.
- Saynor, R. and T. Gillott (1992). "Changes in Blood Lipids and Fibrinogen with a Note on Safety in a Long Term Study on the Effects of n-3 Fatty Acids in Subjects Receiving Fish Oil Supplements and Followed for Seven Years." *Lipids* **27**: 533-538.
- Schlenk, H., J. L. Gellerman and D. M. Sand (1967). "Retroconversion of polyunsaturated fatty acids in vivo by partial degradation and hydrogenation." *Biochim. Biophys. Acta* **137**: 420-426.
- Schlenk, H., D. M. Sand and J. L. Gellekman (1969). "Retroconversion of DHA in the rat." *Biochim. Biophys. Acta* **187**: 201-207.
- Schulz, H. (1991). "Beta oxidation of fatty acids." *Biochim. Biophys. Acta* **1081**: 109-120.
- Schulz, H. and W.-H. Kunau (1987). "Beta-oxidation of unsaturated fatty acids: a revised pathway." *Trends Biochem. Sci.* **12**: 403-406.
- Schwenk, R. W., G. P. Holloway, J. J. Luiken, A. Bonen and J. F. Glatz (2010). "Fatty acid transport across the cell membrane: regulation by fatty acid transporters." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **82**(4-6): 149-154.
- Scott, B. L. and N. G. Bazan (1989). "Membrane docosahexaenoic is supplied to the developing brain and retina by the liver." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 2903-2907.
- Sebedio, J. L., C. Septier and A. Grandgirard (1986). "Fractionation of Commercial Frying Oil Samples using Sep-Pak Cartridges." *J. Am. Oil Chem. Sci.* **63**: 1541-1543.
- Sellier, P. (1983). "Effects of selection on pig fatness." *Revue Française des Corps Gras* **30**(3): 103-111.
- Serhan, C. N. (2008). "Systems approach with inflammatory exudates uncovers novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **79**(3-5): 157-163.
- Serhan, C. N., M. Arita, S. Hong and K. Gotlinger (2004). "Resolvins, Docosatrienes, and Neuroprotectins, novel omega-3 derived mediators and their endogenous aspirin triggered epimers." *Lipids* **39**(11).
- Serhan, C. N. and N. Chiang (2002). "Lipid-derived mediators in endogenous anti-inflammation and resolution: lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxins." *ScientificWorldJournal* **2**: 169-204.
- Serrano, M. P., L. Cámara, J. I. Morales, J. D. Berrocoso, C. J. López Bote and G. G. Mateos (2013). "Effect of gender, housing density and the interaction on growth performance and carcass and meat quality of pigs slaughtered at 110 kg body weight." *Span. J. Agric. Res.* **11**(1): 89.

- Sibbons, C. M., J. T. Brenna, P. Lawrence, S. P. Hoile, R. Clarke-Harris, K. A. Lillycrop and G. C. Burdge (2014). "Effect of sex hormones on n-3 polyunsaturated fatty acid biosynthesis in HepG2 cells and in human primary hepatocytes." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **90**(2-3): 47-54.
- Sigal, L. H. (2006). "NF- κ B-function, activation, control, and consequences." *J. Clin. Rheumatol.* **12**: 207-211.
- Simopoulos, A. P. (2010). "Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk." *Exp. Biol. Med.* **235**(7): 785-795.
- Singer, S. J. and G. L. Nicolson (1972). *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Membranes and Viruses in Immunopathology.* S. Day and R. Good. Minneapolis: 7-47.
- Sioen, I., I. Huybrechts, W. Verbeke, J. V. Camp and S. De Henauw (2007a). "n-6 and n-3 PUFA intakes of pre-school children in Flanders, Belgium." *Br. J. Nutr.* **98**(4): 819-825.
- Sioen, I., C. Matthys, G. De Backer, J. Van Camp and S. De Henauw (2007b). "Importance of seafood as nutrient source in the diet of Belgian adolescents." *J. Hum. Nutr. Diet.* **20**: 580-589.
- Sobol, M., A. Krawczyńska, G. Skiba, S. Raj, D. Weremko and A. P. Herman (2015). "The effect of breed and feeding level on carcass composition, fatty acid profile and expression of genes encoding enzymes involved in fat metabolism in two muscles of pigs fed a diet enriched in n-3 fatty acids. A preliminary study." *J. Anim. Feed Sci.* **24**: 31-40.
- Sprecher, H. (1996). "New advances in fatty-acid biosynthesis." *Nutr. Res.* **12**(1): S5-S7.
- Sprecher, H. and M. M. Careaga (1986). "Metabolism of (n-6) and (n-3) polyunsaturated fatty acids by human platelets." *Prostaglandins Leukot. Med.* **23**: 129-134.
- Sprecher, H., D. L. Luthria, B. S. Mohammed and S. P. Baykousheva (1995). "Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids." *J. Lipid Res.* **36**: 2471-2477.
- Stillwell, W., S. R. Shaikh, M. Zerouga, R. Siddiqui and S. R. Wassall (2005). "Docosahexaenoic acid affects cell signaling by altering lipid rafts." *Reprod. Nutr. Dev.* **45**(5): 559-579.
- Stillwell, W. and S. R. Wassall (2003). "Docosahexaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid." *Chem. Phys. Lipids.* **126**(1): 1-27.
- Tacon, A. G. and M. Metian (2008). "Aquaculture feed and food safety." *Ann. New York Academy of Sciences* **1140**: 50-59.
- Tam, P. S., R. Sawada, Y. Cui, A. Matsumoto and Y. Fujiwara (2008). "The metabolism and distribution of docosapentaenoic acid (n-6) in the liver and testis of growing rats." *Biosci. Biotech. Biochem.* **72**(10): 2548-2554.
- Tanghe, S., J. Missotten, K. Raes and S. De Smet (2015). "The effect of different concentrations of linseed oil or fish oil in the maternal diet on the fatty acid composition and oxidative status of sows and piglets." *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **99**(5): 938-949.

- Tavendale, R., A. J. Lee, S. W. Cairns Smith and H. Tunstall-Pedoe (1992). "Adipose tissue fatty acids in Scottish men and women: results from the Scottish Heart Health Study." *Artherosclerosis* **94**: 161-169.
- Tanon, T., D. Harvey, T. R. Larson and I. A. Graham (2002). "Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerols in four microalgae." *Phytochemistry* **61**: 15-24.
- Trautwein, E. A. (2001). "N-3 fatty acids physiological and technical aspects for their use in food." *Eur. J. Lipid Sci. T.* **103**: 45-55.
- Trinder, P. (1969). "Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor." *Ann. Clin. Biochem.* **6**(24): 24-27.
- Tu, W. C., B. S. Muhlhausler, L. N. Yelland and R. A. Gibson (2013). "Correlations between blood and tissue omega-3 LCPUFA status following dietary ALA intervention in rats." *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **88**(1): 53-60.
- Van Oeckel, M. J., M. Casteels, N. Warnants, L. Van Damme and C. V. Boucqué (1996). "Omega-3 fatty acids in pig nutrition implications for the intrinsic and sensory quality of the meat." *Meat Sci.* **44**(1-2): 55-63.
- Van Soest, P. J. and R. H. Wine (1967). "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV- Determination of plant cell walls constituents." *J. Assoc. Agric. Chem.* **50**: 50-55.
- Vandesompele, J., K. De Preter, F. Pattyn, B. Poppe, N. Van Roy, A. De Paepe and F. Speleman (2002). "Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes." *Genome Biol.* **3**(7): 2-12.
- Verdino, B., M. L. Blank, O. S. Privett and W. O. Lundberg (1964). "Metabolism of 4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid in the essential fatty acid deficient rat." *J. Nutr.* **83**: 234-238.
- Voss, A., M. Reinhart, S. Sankarappa and H. Sprecher (1991). "The metabolism of 7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid to 4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase." *J. Biol. Chem.* **266**(30): 19995-20000.
- Warnants, N., M. J. Van Oeckel and C. V. Boucqué (1996). "Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork tissues and its implications for the quality of the end products." *Meat Sci.* **44**(1-2): 125-144.
- Warnants, N., M. J. Van Oeckel and C. V. Boucqué (1999). "Incorporation of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids into Pork Fatty Tissues." *J. Anim. Sci.* **77**: 2478-2490.
- Wassall, S.R. and W. Stillwell (2009). "Polyunsaturated fatty acid-cholesterol interactions: domain formation in membranes". *Biochim. Biophys. Acta.*, 1788, 24-32. isine n° 2008-SA-0392-SA-0409
- Wiecek, J., A. Rekiel, M. Batorska and J. Skomial (2011). "Effect of restricted feeding and realimentation periods on pork quality and fatty acid profile of *M. longissimus thoracis*." *Meat Sci.* **87**(3): 244-249.
- Wilfart, A., J. M. Ferreira, A. Mounier, G. Robin and J. Mourot (2004). "Effet de différentes teneurs en acides gras n-3 sur les performances de croissance et la qualité nutritionnelle de la viande de porc." *Journées Rech. Porcine* **36**: 195-202.
- Williams, P. C. and D. C. Sobering (1993). "Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds." *J. Near Infrared Spectrosc.* **1**: 25-32.

- Wood, J. D. (1973). "Fatty-acid composition of backfat from pietrain and large white pigs " *Anim. Prod.* **17**: 281-285.
- Wood, J. D., P. J. Buxton, F. M. Whittington and M. Enser (1986). "The chemical composition of fat tissues in the pig: effects of castration and feeding treatment." *Livest. Prod. Sci.* **15**: 73-82.
- Wood, J. D., M. Enser, F. M. Whittington, C. B. Moncrieff and A. J. Kempster (1989). "Backfat Composition in Pigs: Differences Between Fat Thickness Groups and Sexes." *Livest. Prod. Sci.* **22**: 351-362.
- Wood, J. D., G. R. Nute, R. I. Richardson, F. M. Whittington, O. Southwood, G. Plastow, R. Mansbridge, N. da Costa and K. C. Chang (2004). "Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs." *Meat Sci.* **67**(4): 651-667.
- Xiao, Y. F., J. X. Kang, J. P. Morgan and A. Leaf (1995). "Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes." *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92**: 11000-11004.
- Xiao, Y. F., D. C. Sigg and A. Leaf (2005). "The antiarrhythmic effect of n-3 polyunsaturated fatty acids: modulation of cardiac ion channels as a potential mechanism." *J. Membr. biology* **206**(2): 141-154.
- Zemva, M., T. M. Ngapo, S. Malovrh, A. Levart and M. Kovac (2014). "Effect of sex and slaughter weight on meat and fat quality of the Krškopolje pig reared in an enriched environment." *Anim. Prod. Sci.* **55**: 1200-1206.
- Zhang, S., T. J. Knight, K. J. Stalder, R. N. Goodwin, S. M. Lonergan and D. C. Beitz (2007). "Effects of breed, sex, and halothane genotype on fatty acid composition of pork longissimus muscle." *J. Anim. Sci.* **85**: 583-591.
- Zhou, J., I. Stubhaug and B. E. Torstensen (2010). "Trans-membrane uptake and intracellular metabolism of fatty acids in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) hepatocytes." *Lipids* **45**(4): 301-311.
- Zhou, L. J., H. Wu, J. T. Li, Z. Y. Wang and L. Y. Zhang (2012). "Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy." *Meat Sci.* **90**(3): 658-664.
- Zhukova, N. V. and N. A. Aizdaicher (1995). "Fatty acid comp fatty acid composition of 15 species of marine microalgae " *Phytochemistry* **39**(2): 351-356.

ANNEXES

**Annexe 1. Teneur en lipides totaux (%) et composition en acides gras des tissus
(% des AGT). Essai 1**

Tableaux 1 et 2. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) des muscles *longissimus dorsi* (LD) et semi-membraneux (SM)

<i>LD</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet	<i>SM</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	1,78	1,71	1,79	1,77	1,85	1,54	0,63	ns	LT	2,13	2,07	1,61	1,92	2,05	2,24	0,49	ns
C16:0	22,91	22,39	22,73	22,86	23,51	23,06	1,06	ns	C16:0	21,58 ^{ab}	21,06 ^a	21,40 ^{ab}	21,74 ^{ab}	22,54 ^b	21,97 ^{ab}	0,88	*
C16:1 n-9	0,30 ^a	0,25 ^{ab}	0,24 ^b	0,26 ^{ab}	0,23 ^b	0,24 ^b	0,03	***	C16:1 n-9	0,36 ^a	0,31 ^{ab}	0,30 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,27 ^b	0,29 ^b	0,05	*
C16:1 n-7	2,72	2,59	2,81	2,69	2,94	2,78	0,31	ns	C16:1 n-7	2,91	2,75	2,98	2,93	3,16	2,97	0,29	ns
C18:0	11,16	11,11	11,05	11,40	11,43	11,13	0,96	ns	C18:0	9,54	9,36	9,34	9,74	10,12	9,68	0,80	ns
C18:1 n-9c	39,88	35,76	36,62	37,91	38,20	38,64	3,17	ns	C18:1 n-9c	42,65 ^a	38,98 ^b	38,51 ^b	39,87 ^{ab}	39,77 ^{ab}	40,36 ^{ab}	2,50	*
C18:1 n-7	4,02	3,77	3,87	3,76	3,94	3,87	0,25	ns	C18:1 n-7	4,18	3,88	4,00	3,99	4,06	4,03	0,30	ns
C18:2 n-6c	10,96 ^{ab}	12,87 ^a	11,48 ^{ab}	10,04 ^{ab}	9,17 ^b	9,31 ^{ab}	2,54	*	C18:2 n-6c	11,24 ^{ab}	12,71 ^a	12,15 ^{ab}	10,70 ^{ab}	9,83 ^b	10,04 ^{ab}	2,01	*
C18:3 n-3	0,75 ^{ab}	2,81 ^c	2,25 ^d	1,54 ^e	0,99 ^b	0,47 ^a	0,26	***	C18:3 n-3	0,97 ^a	3,49 ^b	2,77 ^{bc}	1,90 ^{cd}	1,48 ^{ad}	0,69 ^a	0,64	***
C18:4 n-3	0,07 ^{ab}	0,08 ^a	0,07 ^{ab}	0,07 ^{ab}	0,07 ^{ab}	0,06 ^b	0,01	*	C18:4 n-3	0,12 ^{ac}	0,14 ^a	0,12 ^{ac}	0,13 ^{ab}	0,10 ^{bc}	0,09 ^c	0,03	**
C20:0	0,16	0,15	0,15	0,15	0,17	0,15	0,03	ns	C20:0	0,17	0,15	0,15	0,15	0,17	0,16	0,03	ns
C20:1 n-9	0,87	0,78	0,71	0,71	0,75	0,69	0,14	*	C20:1 n-9	0,89 ^a	0,77 ^{ab}	0,69 ^b	0,69 ^b	0,71 ^b	0,71 ^b	0,10	***
C20:2	0,34 ^a	0,35 ^a	0,33 ^{ab}	0,29 ^{ab}	0,27 ^b	0,29 ^{ab}	0,04	***	C20:2	0,42 ^{ac}	0,44 ^a	0,40 ^{ab}	0,36 ^{bc}	0,34 ^b	0,36 ^{bc}	0,06	***
C20:3 n-6	0,34	0,35	0,36	0,39	0,40	0,45	0,12	ns	C20:3 n-6	0,26 ^a	0,25 ^a	0,30 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,32 ^b	0,39 ^b	0,07	***
C20:4 n-6	2,37	2,01	2,00	2,03	1,94	2,13	0,85	ns	C20:4 n-6	1,58	1,43	1,67	1,63	1,48	1,74	0,54	ns
C20:3 n-3	0,14 ^{ab}	0,47 ^c	0,39 ^d	0,27 ^e	0,18 ^a	0,09 ^b	0,04	***	C20:3 n-3	0,19 ^{ab}	0,55 ^c	0,45 ^d	0,32 ^e	0,25 ^{ae}	0,14 ^b	0,07	***
C20:4 n-3	0,00 ^a	0,07 ^b	0,08 ^b	0,07 ^b	0,07 ^b	0,07 ^b	0,02	***	C20:4 n-3	0,00 ^a	0,04 ^b	0,07 ^c	0,07 ^{bc}	0,07 ^{bc}	0,08 ^c	0,02	***
C20:5 n-3	0,26 ^a	0,98 ^b	0,91 ^b	0,90 ^b	0,86 ^b	0,96 ^b	0,32	***	C20:5 n-3	0,44 ^a	0,99 ^b	0,98 ^b	0,95 ^b	0,92 ^b	1,12 ^b	0,33	***
C22:0	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	ns	C22:0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	ns
C22:4 n-6	0,36 ^a	0,25 ^b	0,18 ^{bc}	0,15 ^c	0,14 ^c	0,13 ^c	0,05	***	C22:4 n-6	0,23 ^a	0,15 ^b	0,13 ^{bc}	0,11 ^{bc}	0,11 ^{bc}	0,10 ^c	0,03	***
C22:5 n-6	0,05 ^a	0,03 ^a	0,29 ^b	0,44 ^c	0,50 ^c	0,66 ^d	0,09	***	C22:5 n-6	0,08 ^a	0,06 ^a	0,31 ^b	0,42 ^c	0,49 ^c	0,68 ^d	0,08	***
C22:5 n-3	0,54 ^a	1,08 ^b	0,71 ^a	0,54 ^a	0,45 ^a	0,41 ^a	0,23	***	C22:5 n-3	0,43 ^{ac}	0,76 ^b	0,57 ^a	0,44 ^{ac}	0,40 ^c	0,38 ^c	0,12	***
C22:6 n-3	0,23 ^a	0,27 ^a	1,22 ^b	1,98 ^c	2,18 ^c	2,82 ^c	0,52	***	C22:6 n-3	0,19 ^a	0,22 ^a	1,16 ^b	1,66 ^c	1,79 ^c	2,44 ^d	0,34	***
AGS	35,51	34,91	35,21	35,69	36,43	35,65	1,95	ns	AGS	32,63 ^{ab}	31,88 ^a	32,21 ^{ab}	32,99 ^{ab}	34,25 ^b	33,19 ^{ab}	1,62	*
AGMI	47,87	43,25	44,30	45,40	46,14	46,28	3,57	ns	AGMI	51,03 ^a	46,71 ^b	46,50 ^b	47,80 ^{ab}	47,99 ^{ab}	48,36 ^{ab}	2,83	*
AGPI	16,61	21,84	20,49	18,91	17,43	18,07	4,67	ns	AGPI	16,34 ^a	21,41 ^b	21,29 ^b	19,22 ^{ab}	17,76 ^{ab}	18,45 ^{ab}	3,44	*
n-6	14,30	15,74	14,54	13,26	12,36	12,89	3,59	ns	n-6	13,59	14,78	14,76	13,39	12,43	13,16	2,51	ns
n-3	1,98 ^a	5,75 ^b	5,63 ^b	5,37 ^b	4,79 ^b	4,89 ^b	1,13	***	n-3	2,33 ^a	6,19 ^b	6,11 ^b	5,46 ^b	4,99 ^b	4,94 ^b	1,00	***
n6/n3	7,16 ^a	2,71 ^b	2,57 ^b	2,44 ^b	2,60 ^b	2,65 ^b	0,28	***	n6/n3	5,81 ^a	2,42 ^b	2,43 ^b	2,45 ^b	2,50 ^b	2,68 ^b	0,23	***
LA/ALA	14,59 ^a	4,56 ^b	5,14 ^b	6,50 ^b	9,30 ^c	20,11 ^d	2,75	***	LA/ALA	11,57 ^a	3,74 ^b	4,84 ^{bc}	5,70 ^{cd}	7,08 ^d	14,58 ^e	1,21	***

Tableau 3. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) de la hampe

<i>hampe</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	6,90	5,95	6,52	6,78	6,25	6,71	1,59	ns
C16:0	23,80	23,21	23,58	23,90	24,56	24,23	1,34	ns
C16:1 n-9	0,37 ^a	0,32 ^{ab}	0,32 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,28 ^b	0,30 ^{ab}	0,06	*
C16:1 n-7	1,66	1,68	1,77	1,69	1,85	1,81	0,22	ns
C18:0	15,73	15,20	14,96	15,87	15,62	15,60	1,39	ns
C18:1 n-9c	38,37 ^a	35,15 ^{bc}	34,36 ^b	35,30 ^{bc}	35,83 ^{bd}	36,55 ^{acd}	1,35	***
C18:1 n-7	2,70	2,48	2,50	2,42	2,26	2,52	0,38	ns
C18:2 n-6c	10,95	11,83	11,91	10,53	9,98	9,56	1,98	*
C18:3 n-3	1,33 ^a	4,50 ^b	4,17 ^b	2,73 ^c	1,73 ^d	0,75 ^a	0,57	***
C18:4 n-3	0,10 ^a	0,10 ^a	0,09 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,11 ^a	0,07 ^b	0,02	**
C20:0	0,18	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,03	ns
C20:1 n-9	0,82 ^a	0,70 ^a ^b	0,64 ^b	0,60 ^b	0,61 ^b	0,63 ^b	0,12	**
C20:2	0,42 ^{ab}	0,44 ^a	0,43 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,35 ^b	0,063	**
C20:3 n-6	0,18 ^{ab}	0,17 ^a	0,20 ^{ab}	0,24 ^{bc}	0,25 ^c	0,30 ^c	0,05	***
C20:4 n-6	0,95	0,68	0,75	0,86	0,89	0,93	0,27	ns
C20:3 n-3	0,18 ^{ab}	0,60 ^c	0,54 ^c	0,36 ^d	0,24 ^a	0,12 ^b	0,07	***
C20:4 n-3	0,01 ^a	0,06 ^b	0,08 ^{bc}	0,09 ^c	0,09 ^c	0,10 ^c	0,01	***
C20:5 n-3	0,14 ^a	0,36 ^b	0,38 ^b	0,42 ^b	0,42 ^b	0,45 ^b	0,12	***
C22:0	0,03	0,03	0,03	0,01	0,02	0,02	0,03	ns
C22:4 n-6	0,20 ^a	0,13 ^b	0,13 ^b	0,12 ^b	0,14 ^b	0,13 ^b	0,03	***
C22:5 n-6	0,01 ^a	0,03 ^a	0,23 ^b	0,49 ^c	0,64 ^d	0,86 ^e	0,11	***
C22:5 n-3	0,23 ^a	0,43 ^b	0,42 ^b	0,39 ^b	0,40 ^b	0,40 ^b	0,09	***
C22:6 n-3	0,13 ^a	0,20 ^a	0,75	1,48	1,92	2,55	0,30	***
AGS	41,11	40,01	40,17	41,38	41,85	41,48	2,65	ns
AGMI	43,93 ^a	40,34 ^{bc}	39,60 ^b	40,33 ^{bc}	40,83 ^{bc}	41,81 ^c	1,48	***
AGPI	14,96 ^a	19,64 ^b	20,23 ^b	18,29 ^{ab}	17,32 ^{ab}	16,71 ^{ab}	3,14	***
n-6	12,42	12,95	13,40	12,38	12,05	11,91	2,32	ns
n-3	2,12 ^a	6,26 ^b	6,41 ^{bc}	5,55 ^{cd}	4,91 ^d	4,45 ^d	0,89	***
n6/n3	6,10 ^a	2,07 ^b	2,09 ^b	2,23 ^b	2,45 ^b	2,69 ^b	0,54	***
LA/ALA	9,02 ^a	2,63 ^b	2,87 ^b	3,84 ^b	5,79 ^c	12,77 ^d	1,15	***

Tableaux 4 et 5. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) des tissus adipeux sous cutanés du cou (TAC) et dorsal (TAD)

<i>TAC</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet	<i>TAD</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	59,55ab	55,58ab	54,98a	61,49b	59,53ab	58,08ab	4,33	*	LT	69,47	67,02	63,97	67,80	63,28	68,95	9,91	ns
C16:0	21,48 ^{ab}	20,93 ^a	21,51 ^{ab}	22,47 ^{ab}	24,19 ^c	23,08 ^{bc}	1,19	***	C16:0	22,70	21,69	22,12	22,49	22,90	22,99	1,19	ns
C16:1 n-9	0,48	0,41	0,44	0,42	0,40	0,40	0,06	ns	C16:1 n-9	0,38 ^a	0,34 ^{ab}	0,32 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,27 ^b	0,29 ^{ab}	0,07	*
C16:1 n-7	2,07 ^{ab}	1,95 ^a	2,16 ^{ab}	2,01 ^{ac}	2,44 ^{bc}	2,45 ^b	0,32	**	C16:1 n-7	1,41 ^{ab}	1,43 ^{ab}	1,49 ^{ab}	1,38 ^a	1,65 ^b	1,58 ^{ab}	0,19	*
C18:0	9,84	10,45	10,15	11,30	11,05	10,29	1,48	ns	C18:0	13,68	13,47	13,34	14,39	13,27	13,65	1,68	ns
C18:1 n-9c	42,80 ^a	37,98 ^b	37,62 ^b	39,72 ^{bc}	40,99 ^{ac}	42,19 ^a	1,57	***	C18:1 n-9c	41,56 ^a	36,72 ^{bc}	36,06 ^b	37,10 ^{bc}	37,74 ^{bc}	38,24 ^c	1,48	***
C18:1 n-7	2,86 ^{ab}	2,50 ^{ab}	2,35 ^a	2,55 ^{ab}	2,84 ^{ab}	3,00 ^b	0,42	***	C18:1 n-7	2,35 ^a	2,08 ^b	2,10 ^{ab}	1,97 ^b	2,19 ^{ab}	2,14 ^{ab}	0,19	**
C18:2 n-6c	14,19 ^{ab}	14,71 ^{ab}	14,94 ^a	12,69 ^{bc}	10,79 ^c	11,06 ^c	1,55	***	C18:2 n-6c	11,92 ^{ab}	12,73 ^b	12,38 ^{ab}	10,93 ^{ab}	10,69 ^{ab}	10,18 ^b	1,63	**
C18:3 n-3	1,96 ^a	6,41 ^b	5,45 ^c	3,48 ^d	1,92 ^a	1,06 ^e	0,49	***	C18:3 n-3	1,58 ^a	6,60 ^b	5,76 ^c	3,81 ^d	2,26 ^a	1,08 ^a	0,55	***
C18:4 n-3	0,14	0,15	0,13	0,12	0,14	0,13	0,03	ns	C18:4 n-3	0,09 ^{ab}	0,10 ^a	0,09 ^{ab}	0,08 ^b	0,07 ^b	0,07 ^b	0,02	**
C20:0	0,16	0,15	0,15	0,15	0,14	0,15	0,04	ns	C20:0	0,28	0,27	0,27	0,28	0,26	0,28	0,05	ns
C20:1 n-9	0,91 ^a	0,70 ^b	0,66 ^b	0,68 ^b	0,80 ^{ab}	0,77 ^b	0,10	***	C20:1 n-9	1,23 ^a	0,92 ^b	0,89 ^b	0,89 ^b	0,82 ^b	0,84 ^b	0,18	***
C20:2	0,67 ^a	0,63 ^a	0,60 ^{ab}	0,54 ^b	0,48 ^b	0,49 ^b	0,06	***	C20:2	0,65 ^a	0,62 ^{ab}	0,62 ^{ab}	0,55 ^{bc}	0,51 ^c	0,49 ^c	0,07	***
C20:3 n-6	0,08 ^a	0,09 ^a	0,14 ^{ab}	0,14 ^{ab}	0,11 ^{ab}	0,18 ^b	0,04	***	C20:3 n-6	0,07 ^a	0,06 ^a	0,12 ^b	0,16 ^c	0,22 ^d	0,25 ^d	0,03	***
C20:4 n-6	0,24 ^a	0,19 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,18 ^{ab}	0,13 ^b	0,23 ^{ab}	0,08	*	C20:4 n-6	0,19 ^{ab}	0,14 ^a	0,19 ^{ab}	0,22 ^b	0,28 ^c	0,30 ^c	0,04	***
C20:3 n-3	0,28 ^{ab}	0,84 ^c	0,70 ^c	0,40 ^a	0,27 ^{ab}	0,16 ^b	0,10	***	C20:3 n-3	0,28 ^a	1,02 ^b	0,91 ^c	0,60 ^d	0,37 ^a	0,19 ^a	0,07	***
C20:4 n-3	0,00 ^a	0,03 ^{ab}	0,08 ^{bc}	0,09 ^c	0,18 ^d	0,16 ^d	0,04	***	C20:4 n-3	0,00 ^a	0,03 ^b	0,07 ^c	0,10 ^d	0,13 ^e	0,15 ^e	0,02	***
C20:5 n-3	0,00 ^a	0,06 ^a	0,13 ^b	0,18 ^b	0,32 ^c	0,19 ^b	0,08	***	C20:5 n-3	0,01 ^a	0,09 ^b	0,14 ^c	0,16 ^c	0,21 ^d	0,23 ^d	0,03	***
C22:4 n-6	0,06 ^a	0,05 ^{ab}	0,05 ^{ab}	0,04 ^{ab}	0,02 ^b	0,05 ^{ab}	0,03	*	C22:4 n-6	0,10 ^a	0,07 ^a	0,09 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,11 ^b	0,11 ^b	0,03	**
C22:5 n-6	0,06 ^a	0,04 ^a	0,24 ^{ab}	0,33 ^b	0,28 ^b	0,57 ^c	0,16	***	C22:5 n-6	0,00 ^a	0,00 ^a	0,36 ^b	0,72 ^c	1,07 ^d	1,31 ^e	0,10	***
C22:5 n-3	0,13 ^a	0,24 ^{ab}	0,24 ^{ab}	0,22 ^{ab}	0,15 ^a	0,27 ^b	0,08	**	C22:5 n-3	0,13 ^a	0,28 ^b	0,36 ^c	0,39 ^c	0,46 ^d	0,49 ^d	0,05	***
C22:6 n-3	0,05 ^a	0,04 ^a	0,51 ^{ab}	0,72 ^b	0,54 ^{ab}	1,38 ^c	0,43	***	C22:6 n-3	0,05 ^a	0,06 ^b	1,04 ^c	2,07 ^d	3,05 ^e	3,68 ^f	0,29	***
AGS	32,85 ^a	32,87 ^a	33,21 ^a	35,38 ^{ab}	37,03 ^b	35,07 ^{ab}	2,55	**	AGS	37,85	36,60	36,96	38,37	37,76	38,25	2,76	ns
AGMI	49,17 ^a	43,58 ^b	43,26 ^b	45,42 ^{bc}	47,53 ^{ac}	48,88 ^a	2,00	***	AGMI	47,00 ^a	41,53 ^b	40,87 ^b	41,70 ^b	42,72 ^b	43,13 ^b	1,71	***
AGPI	17,98 ^{ab}	23,55 ^c	23,53 ^c	19,20 ^a	15,44 ^b	16,04 ^{ab}	2,43	***	AGPI	15,15 ^a	21,86 ^{bcd}	22,17 ^{bc}	19,93 ^{cd}	19,53 ^{cd}	18,63 ^d	2,38	***
n-6	14,75 ^a	15,15 ^a	15,69 ^a	13,46 ^{ab}	11,45 ^b	12,21 ^b	1,72	***	n-6	12,36	13,07	13,19	12,19	12,47	12,25	1,72	ns
n-3	2,56 ^a	7,76 ^b	7,24 ^b	5,21 ^c	3,52 ^a	3,35 ^a	0,79	***	n-3	2,14 ^a	8,18 ^b	8,36 ^b	7,20 ^c	6,55 ^{cd}	5,89 ^d	0,66	***
n6/n3	5,79 ^a	1,96 ^b	2,17 ^b	2,61 ^c	3,26 ^d	3,80 ^d	0,32	***	n6/n3	5,76 ^a	1,59 ^b	1,57 ^b	1,70 ^b	1,90 ^c	2,08 ^c	0,13	***
LA/ALA	7,26 ^a	2,30 ^b	2,75 ^b	3,68 ^c	5,65 ^d	10,48 ^e	0,38	***	LA/ALA	7,54 ^a	1,92 ^b	2,15 ^b	2,89 ^b	5,15 ^c	10,41 ^d	1,28	***

Tableaux 6 et 7. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) des tissus adipeux sous cutanés du jambon (TAJ) et de la gorge

<i>TAJ</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet	<i>gorge</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	65,62	64,26	65,75	62,47	64,04	62,60	3,83	ns	LT	64,90	63,02	65,51	65,89	65,13	66,77	5,99	ns
C16:0	21,78 ^a	21,31 ^a	21,83 ^{ab}	23,30 ^b	25,76 ^c	25,79 ^c	1,18	***	C16:0	20,68	19,93	20,00	20,29	21,00	20,60	1,09	ns
C16:1 n-9	0,44	0,39	0,39	0,40	0,36	0,38	0,07	ns	C16:1 n-9	0,39 ^a	0,33 ^{ab}	0,36 ^{ab}	0,34 ^{ab}	0,30 ^b	0,31 ^b	0,10	**
C16:1 n-7	1,79 ^a	1,86 ^{ab}	2,12 ^{ac}	1,99 ^{ac}	2,22 ^c	2,18 ^{bc}	0,25	**	C16:1 n-7	2,10	2,20	2,35	2,31	2,34	2,24	0,26	ns
C18:0	10,74 ^a	10,92 ^a	10,44 ^a	11,90 ^{ab}	12,63 ^b	12,80 ^b	1,26	***	C18:0	9,27	9,22	8,82	9,08	9,24	9,01	1,05	ns
C18:1 n-9c	43,64 ^a	38,66 ^{bc}	38,33 ^b	40,44 ^{bc}	39,80 ^{bc}	40,79 ^c	1,75	***	C18:1 n-9c	44,32 ^a	41,00 ^{bc}	39,74 ^c	41,17 ^{bc}	40,22 ^{bc}	41,66 ^b	1,39	***
C18:1 n-7	2,73	2,49	2,62	2,56	2,69	2,73	0,20	*	C18:1 n-7	3,09	2,97	2,99	3,00	2,95	2,98	0,25	ns
C18:2 n-6c	12,69 ^a	13,68 ^a	13,43 ^a	11,06 ^b	8,95 ^{bc}	8,48 ^c	1,68	***	C18:2 n-6c	12,73 ^{ab}	12,66 ^{ab}	13,39 ^a	12,20 ^{ab}	11,74 ^{ab}	10,98 ^b	1,33	**
C18:3 n-3	1,55 ^a	5,85 ^b	5,06 ^c	2,82 ^d	1,53 ^a	0,70 ^e	0,55	***	C18:3 n-3	1,87 ^a	5,54 ^b	5,19 ^b	3,48 ^c	2,69 ^{ac}	1,63 ^a	0,87	***
C18:4 n-3	0,14	0,16	0,14	0,16	0,15	0,14	0,04	ns	C18:4 n-3	0,27	0,24	0,17	0,15	0,26	0,35	0,22	ns
C20:0	0,21	0,20	0,20	0,21	0,23	0,23	0,04	ns	C20:0	0,28	0,30	0,38	0,30	0,40	0,42	0,16	ns
C20:1 n-9	1,09 ^a	0,77 ^b	0,74 ^b	0,80 ^b	1,08 ^a	1,15 ^a	0,22	***	C20:1 n-9	1,36 ^a	1,18 ^{ab}	1,00 ^b	1,08 ^b	1,03 ^b	0,95 ^b	0,20	***
C20:2	0,67 ^a	0,61 ^{ab}	0,57 ^{bc}	0,50 ^c	0,44 ^{cd}	0,41 ^d	0,06	***	C20:2	0,91 ^a	0,79 ^{ab}	0,76 ^{ab}	0,75 ^{ab}	0,67 ^{ab}	0,66 ^b	0,18	*
C20:3 n-6	0,08 ^a	0,07 ^b	0,11 ^{ab}	0,10 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,12 ^b	0,03	*	C20:3 n-6	0,23 ^{ab}	0,17 ^a	0,29 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,37 ^b	0,39 ^b	0,13	**
C20:4 n-6	0,16	0,12	0,21	0,15	0,16	0,12	0,07	ns	C20:4 n-6	0,50	0,38	0,43	0,50	0,50	0,54	0,17	ns
C20:3 n-3	0,26 ^a	0,82 ^b	0,74 ^b	0,47 ^c	0,29 ^a	0,20 ^a	0,07	***	C20:3 n-3	0,41 ^a	0,99 ^b	0,85 ^{bc}	0,70 ^{cd}	0,57 ^{ad}	0,36 ^a	0,19	***
C20:4 n-3	0,04 ^a	0,07 ^a	0,11 ^a	0,18 ^{ab}	0,21 ^b	0,20 ^b	0,07	***	C20:4 n-3	0,00 ^a	0,06 ^{ab}	0,08 ^{abc}	0,18 ^{bc}	0,21 ^{bd}	0,25 ^{cd}	0,13	***
C20:5 n-3	0,11 ^a	0,15 ^a	0,21 ^{ab}	0,38 ^c	0,41 ^c	0,36 ^{bc}	0,12	***	C20:5 n-3	0,01 ^a	0,19 ^{ab}	0,26 ^{bc}	0,34 ^{bd}	0,38 ^{cd}	0,47 ^d	0,13	***
C22:4 n-6	0,06 ^a	0,02 ^{ab}	0,05 ^a	0,03 ^{ab}	0,01 ^b	0,01 ^b	0,03	**	C22:4 n-6	0,05	0,03	0,03	0,07	0,08	0,11	0,06	ns
C22:5 n-6	0,03 ^a	0,01 ^a	0,23 ^b	0,24 ^b	0,22 ^b	0,25 ^b	0,07	***	C22:5 n-6	0,00 ^a	0,05 ^a	0,33 ^b	0,56 ^c	0,85 ^d	1,09 ^e	0,11	***
C22:5 n-3	0,12 ^a	0,21 ^{bc}	0,27 ^b	0,19 ^{ac}	0,17 ^{ac}	0,17 ^{ac}	0,05	***	C22:5 n-3	0,11 ^a	0,29 ^b	0,33 ^{bc}	0,31 ^{bd}	0,42 ^{cd}	0,45 ^c	0,09	***
C22:6 n-3	0,03 ^a	0,03 ^a	0,56 ^b	0,57 ^b	0,50 ^b	0,59 ^b	0,19	***	C22:6 n-3	0,00 ^a	0,09 ^a	0,79 ^b	1,45 ^c	2,24 ^d	3,06 ^e	0,24	***
AGS	34,11 ^a	33,82 ^a	33,92 ^a	36,95 ^a	40,40 ^b	40,62 ^b	2,36	***	AGS	31,55	30,75	30,53	31,00	32,04	31,40	2,04	ns
AGMI	49,77 ^a	44,21 ^b	44,22 ^b	46,26 ^{bc}	46,23 ^{bc}	47,37 ^{ac}	1,96	***	AGMI	51,28 ^a	47,69 ^b	46,43 ^b	47,91 ^b	46,87 ^b	48,15 ^b	1,63	***
AGPI	16,12 ^{ab}	21,97 ^c	21,86 ^c	16,79 ^b	13,37 ^{ac}	12,02 ^c	2,37	***	AGPI	17,17 ^a	21,56 ^b	23,04 ^b	21,09 ^b	21,09 ^b	20,46 ^b	2,26	***
n-6	13,21 ^a	14,06 ^a	14,20 ^a	11,81 ^{ab}	9,68 ^b	9,26 ^b	1,76	***	n-6	13,60	13,38	14,61	13,73	13,65	13,24	1,42	ns
n-3	2,24 ^a	7,30 ^b	7,09 ^b	4,48 ^c	3,26 ^a	2,36 ^a	0,79	***	n-3	2,66 ^a	7,39 ^b	7,68 ^b	6,61 ^b	6,77 ^b	6,57 ^b	1,12	***
n6/n3	5,89 ^a	1,93 ^b	2,01 ^b	2,91 ^c	2,97 ^c	3,95 ^d	0,63	***	n6/n3	5,37 ^a	1,84 ^b	1,93 ^b	2,14 ^b	2,04 ^b	2,05 ^b	0,63	***
LA/ALA	8,24 ^a	2,34 ^b	2,67 ^b	3,87 ^c	5,82 ^d	12,33 ^e	0,40	***	LA/ALA	7,06 ^a	2,33 ^b	2,69 ^{bc}	3,70 ^{bc}	4,48 ^c	7,43 ^a	1,32	***

Tableaux 8 et 9. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) des tissus adipeux du jambon interne (JI) et de la panne

<i>Jl</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet	<i>panne</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	60,20	60,95	59,50	59,35	60,38	59,30	3,95	ns	LT	75,48	73,68	76,64	72,15	71,19	74,37	4,25	ns
C16:0	22,77	21,97	23,32	22,98	23,69	23,27	1,37	ns	C16:0	22,10	21,50	21,39	22,20	22,00	22,34	1,62	ns
C16:1 n-9	0,43	0,43	0,37	0,38	0,36	0,40	0,06	ns	C16:1 n-9	0,46	0,35	0,24	0,37	0,31	0,52	0,30	ns
C16:1 n-7	1,82	1,74	1,79	1,79	1,85	1,91	0,22	ns	C16:1 n-7	0,79	1,04	1,11	0,95	1,00	0,68	0,48	ns
C18:0	11,87	1138	12,82	12,50	12,51	12,15	1,47	ns	C18:0	15,39	14,92	15,14	16,16	15,91	16,23	1,59	ns
C18:1 n-9c	36,20 ^a	32,71 ^b	32,53 ^b	32,61 ^b	33,06 ^b	34,39 ^{ab}	2,27	**	C18:1 n-9c	32,56 ^a	27,89 ^b	26,61 ^b	27,79 ^b	27,57 ^b	28,69 ^b	2,58	***
C18:1 n-7	2,46	2,23	2,16	2,19	2,26	2,36	0,21	*	C18:1 n-7	2,24	2,14	1,99	1,85	2,15	2,10	0,48	ns
C18:2 n-6c	15,48	16,82	14,85	15,24	14,74	14,70	1,98	ns	C18:2 n-6c	11,92 ^a	12,97 ^a	11,90 ^a	11,68 ^{ab}	10,44 ^b	9,87 ^b	1,37	***
C18:3 n-3	3,62 ^a	6,45 ^b	5,56 ^{bc}	4,54 ^{bc}	3,32 ^{ac}	1,66 ^a	1,80	***	C18:3 n-3	2,93 ^a	7,85 ^b	6,96 ^{bc}	6,00 ^{cd}	5,00 ^d	2,80 ^a	1,08	***
C18:4 n-3	0,12	0,11	0,09	0,09	0,11	0,10	0,02	ns	C20:0	0,23	0,26	0,39	0,16	0,20	0,32	0,32	ns
C20:0	0,16	0,14	0,17	0,14	0,15	0,15	0,03	ns	C20:1 n-9	0,31	0,39	0,45	0,42	0,37	0,58	0,28	ns
C20:1 n-9	0,78 ^a	0,63 ^{ab}	0,61 ^b	0,58 ^b	0,64 ^{ab}	0,65 ^{ab}	0,11	**	C20:2	0,53	0,93	0,31	0,29	0,26	0,39	0,54	ns
C20:2	0,59	0,59	0,55	0,53	0,54	0,54	0,09	ns	C20:3 n-6	0,24	0,19	0,30	0,26	0,31	0,47	0,38	ns
C20:3 n-6	0,12 ^a	0,15 ^a	0,16 ^a	0,21 ^{ab}	0,22 ^b	0,26 ^b	0,07	***	C20:4 n-6	3,91	2,67	4,73	2,70	4,12	3,92	2,75	ns
C20:4 n-6	0,26 ^a	0,27 ^{ab}	0,26 ^a	0,32 ^{ab}	0,31 ^{ab}	0,36 ^b	0,07	**	C20:3 n-3	0,27	0,20	0,40	0,31	0,20	0,06	0,27	ns
C20:3 n-3	0,45 ^{ab}	0,74 ^c	0,67 ^{bc}	0,51 ^{bc}	0,41 ^a	0,22 ^a	0,20	***	C20:4 n-3	0,01	0,07	0,00	0,45	0,23	0,25	0,36	ns
C20:4 n-3	0,04 ^a	0,08 ^{ab}	0,09 ^{ab}	0,11 ^b	0,12 ^b	0,13 ^b	0,05	***	C20:5 n-3	1,46	1,85	1,77	1,36	2,26	2,36	1,64	ns
C20:5 n-3	0,11 ^a	0,18 ^{ab}	0,17 ^{ab}	0,22 ^b	0,21 ^b	0,24 ^b	0,08	**	C22:0	0,24	0,33	0,55	0,35	0,41	0,48	0,53	ns
C22:1 n-9	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	ns	C22:1 n-9	0,21	0,25	0,48	0,36	0,48	0,43	0,29	ns
C22:4 n-6	0,13	0,11	0,11	0,12	0,13	0,13	0,02	ns	C22:4 n-6	0,31	0,23	0,60	0,74	0,50	0,51	0,53	ns
C22:5 n-6	0,16 ^a	0,33 ^a	0,42 ^a	0,71 ^{ab}	0,80 ^b	1,07 ^b	0,43	***	C22:5 n-6	0,31	0,32	0,38	0,15	0,25	0,29	0,29	ns
C22:5 n-3	0,24 ^a	0,36 ^{ab}	0,35 ^{ab}	0,41 ^b	0,43 ^b	0,45 ^b	0,12	**	C22:5 n-3	0,72	0,40	0,77	0,65	0,95	1,00	0,76	ns
C22:6 n-3	0,54 ^a	1,02 ^{ab}	1,28 ^{ab}	2,10 ^{ab}	2,37 ^b	3,08 ^b	1,22	***	C22:6 n-3	0,89 ^a	1,12 ^{ab}	1,50 ^{abc}	2,65 ^{bcd}	2,77 ^{cd}	3,43 ^d	1,18	***
AGS	36,33	34,97	37,87	37,21	37,99	37,19	2,80	ns	AGS	39,39	38,59	39,09	40,64	40,23	40,97	2,95	ns
AGMI	41,70 ^a	37,74 ^b	37,48 ^b	37,56 ^b	38,19 ^{ab}	39,74 ^{ab}	2,61	**	AGMI	36,98 ^a	32,44 ^b	31,21 ^b	31,97 ^b	32,36 ^b	33,41 ^{ab}	2,75	***
AGPI	21,97 ^a	27,30 ^b	24,65 ^{ab}	25,23 ^{ab}	23,82 ^{ab}	23,07 ^{ab}	3,34	*	AGPI	23,64 ^a	28,97 ^{ab}	29,70 ^b	27,39 ^{ab}	27,41 ^{ab}	25,62 ^{ab}	4,39	*
n-6	16,27	17,78	15,89	16,71	16,33	16,64	2,01	ns	n-6	16,83	16,54	18,00	15,67	15,74	15,32	2,99	ns
n-3	5,11 ^a	8,93 ^b	8,22 ^{bc}	8,00 ^{bc}	6,95 ^{ab}	5,89 ^{ac}	1,85	***	n-3	6,27 ^a	11,50 ^b	11,39 ^b	11,42 ^b	11,42 ^b	9,90 ^b	2,34	***
n6/n3	4,32 ^a	2,02 ^a	1,94 ^a	2,10 ^a	2,56 ^a	3,21 ^{ab}	1,15	***	n6/n3	3,00 ^a	1,48 ^b	1,62 ^b	1,39 ^b	1,44 ^b	1,60 ^b	0,64	***
LA/ALA	5,66 ^a	3,88 ^a	2,82 ^a	3,82 ^a	4,87 ^a	9,49 ^b	2,23	***	LA/ALA	4,32 ^a	1,69 ^b	1,77 ^b	2,00 ^b	2,16 ^b	3,62 ^a	0,68	***

Tableau 10. Teneur en lipides totaux (LT, %) et en acides gras (% des acides gras totaux) du foie

<i>foie</i>	CON	GLE	3GLE 1MAG	2GLE 2MAG	1GLE 3MAG	MAG	Rsd	Effet
LT	3,87	3,72	4,13	4,21	4,18	4,28	0,49	ns
C16:0	13,34	11,97	13,23	14,09	14,02	13,97	2,08	ns
C16:1 n-9	0,36 ^a	0,26 ^{ab}	0,26 ^{ab}	0,18 ^b	0,24 ^{ab}	0,20 ^{ab}	0,12	*
C16:1 n-7	0,49	0,47	0,47	0,52	0,45	0,51	0,13	ns
C18:0	28,87	32,41	30,54	27,21	29,22	27,29	3,46	*
C18:1 n-9c	14,43 ^a	12,21 ^{ab}	10,47 ^{bc}	10,00 ^{bc}	9,04 ^c	9,98 ^{bc}	1,75	***
C18:1 n-7	1,46 ^a	1,29 ^a	1,12 ^b	1,00 ^b	1,03 ^b	1,07 ^b	0,12	***
C18:2 n-6c	14,97 ^{ab}	15,97 ^a	14,23 ^b	12,48 ^c	11,64 ^{cd}	11,06 ^d	0,86	***
C18:3 n-3	0,63 ^a	2,35 ^b	2,57 ^b	2,05 ^b	1,13 ^a	0,55 ^a	0,44	***
C20:0	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	ns
C20:1 n-9	0,13 ^a	0,10 ^{ab}	0,06 ^{ab}	0,01 ^b	0,03 ^{ab}	0,03 ^{ab}	0,08	*
C20:2	0,49 ^a	0,32 ^{ab}	0,35 ^{ab}	0,21 ^b	0,28 ^{ab}	0,18 ^b	0,17	**
C20:3 n-6	0,74	0,74	0,93	0,86	0,86	0,78	0,14	*
C20:4 n-6	16,14 ^a	10,42 ^b	10,37 ^b	11,37 ^b	11,23 ^b	11,50 ^b	1,35	***
C20:3 n-3	0,09 ^a	0,52 ^b	0,53 ^b	0,31 ^c	0,24 ^{ac}	0,03 ^a	0,15	***
C20:4 n-3	0,00	0,02	0,04	0,01	0,03	0,01	0,05	ns
C20:5 n-3	1,55 ^a	5,41 ^b	5,01 ^b	5,22 ^b	5,27 ^b	5,51 ^b	0,96	***
C22:0	0,02	0,02	0,03	0,00	0,02	0,00	0,05	ns
C22:4 n-6	0,53 ^a	0,17 ^b	0,18 ^b	0,13 ^b	0,20 ^b	0,19 ^b	0,11	***
C22:5 n-6	0,09 ^a	0,00 ^a	0,92 ^b	1,59 ^c	1,76 ^c	2,08 ^d	0,19	***
C22:5 n-3	2,91 ^a	3,63 ^b	2,07 ^c	2,00 ^c	1,94 ^c	2,00 ^c	0,37	***
C22:6 n-3	2,37 ^a	1,36 ^a	6,24 ^b	10,38 ^c	10,95 ^{cd}	12,67 ^d	1,45	***
AGS	42,53	44,65	44,15	41,67	43,66	41,63	2,92	ns
AGMI	16,88 ^a	14,37 ^{ab}	12,38 ^{bc}	11,70 ^{bc}	10,78 ^c	11,78 ^{bc}	2,05	***
AGPI	40,59 ^a	40,99 ^a	43,47 ^{ab}	46,64 ^b	45,56 ^b	46,58 ^b	3,19	***
n-6	32,55 ^a	27,37 ^b	26,65 ^b	26,45 ^b	25,71 ^b	25,63 ^b	1,81	***
n-3	7,55 ^a	13,30 ^b	16,46 ^c	19,97 ^d	19,57 ^d	20,77 ^d	2,03	***
n6/n3	4,34 ^a	2,07 ^b	1,66 ^c	1,33 ^d	1,35 ^{cd}	1,24 ^d	0,25	***
LA/ALA	24,57 ^a	6,85 ^b	5,90 ^b	6,53 ^b	10,75 ^b	22,16 ^a	3,85	***

Dans les tableaux 2 à 11, les valeurs d'une même ligne affectées de lettres identiques ne sont pas significativement différente entre elles au seuil de 5%. Pour la définition des régimes, voir partie « Matériel et Méthodes » du mémoire.
ns, non significatif, *** $P < 0,001$; ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$

**Annexe 2. Composition en acides gras du muscle LD et du cœur (mg/100g de tissu).
Essai 1**

Effet du régime sur la teneur en lipides (LT, %) et la composition en acides gras du muscle LD (mg/100g tissu)

	COL		GLE		3GLE 1MAG		2GLE 2MAG		1GLE 3MAG		MAG	
	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET
LT	1,8	0,5	1,7	0,3	1,8	0,7	1,8	0,9	1,8	0,7	1,5	0,5
C10:0	1,3	0,4	1,1	0,4	1,4	0,7	1,3	0,6	1,3	0,5	1,0	0,2
C12:0	0,9	0,2	0,8	0,3	0,9	0,5	0,9	0,5	1,0	0,4	0,7	0,1
C14:0	14,2	3,9	12,1	4,2	14,7	8,2	14,7	8,2	15,7	6,1	11,3	2,5
C14:1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1
C15:0	0,8	0,3	0,8	0,1	0,9	0,3	0,8	0,4	0,9	0,4	0,6	0,2
C16:0	305,9	83,5	261,8	64,1	308,9	142,9	313,7	162,2	334,7	123,0	242,0	54,3
C16:1 n-9	4,0	1,5	2,9	0,6	3,3	1,7	3,4	1,6	3,3	1,6	2,5	0,4
C16:1 n-7	36,5	10,7	30,9	10,9	39,1	19,8	38,5	24,7	42,1	16,1	29,0	6,3
C18:0	148,2	39,2	129,7	32,0	148,1	68,5	153,4	71,0	162,5	59,6	117,4	30,3
C18:1 n-9c	533,7	154,3	423,5	130,4	509,2	262,8	520,7	272,7	543,3	198,7	402,3	72,8
C18:1 n-7	54,1	16,3	44,4	12,3	52,9	24,8	52,2	29,7	56,4	21,6	40,6	9,8
C18:2 n-6t	1,7	0,5	1,4	0,5	1,8	1,0	1,7	1,0	1,8	0,7	1,3	0,3
C18:2 n-6c	150,3	65,0	144,3	35,1	146,8	51,2	131,6	65,0	131,4	55,0	98,8	38,0
C18:3 n-6	1,4	0,7	1,2	0,5	1,2	0,4	1,2	0,6	1,2	0,7	0,9	0,5
C18:3 n-3	10,2	3,6	32,2	7,8	30,8	14,9	20,6	9,5	14,3	6,3	4,8	0,8
C18:4 n-3	1,0	0,3	1,0	0,2	0,9	0,4	1,0	0,6	0,9	0,4	0,6	0,2
C20:0	2,0	0,5	1,8	0,6	2,0	0,9	2,1	1,0	2,3	0,7	1,6	0,4
C20:1 n-9	11,4	2,8	9,1	2,9	9,7	4,6	9,7	5,3	10,4	3,2	7,3	2,0
C20:2	4,6	1,6	4,0	0,9	4,6	2,2	3,8	1,9	3,9	1,5	3,0	0,7
C20:3 n-6	4,7	2,4	3,9	1,3	4,4	1,4	5,1	3,1	5,7	2,4	4,8	2,3
C20:4 n-6	32,8	19,1	22,2	7,6	24,2	9,3	25,9	15,7	27,9	13,1	23,1	12,6
C20:3 n-3	1,9	0,6	5,4	1,3	5,3	2,5	3,7	1,8	2,5	0,9	1,0	0,2
C20:4 n-3	0,0	0,1	0,8	0,2	1,0	0,4	1,0	0,6	1,0	0,4	0,7	0,2
C20:5 n-3	3,6	2,0	10,8	3,7	11,0	4,1	11,4	6,0	12,7	6,8	10,3	5,1
C22:0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,1
C22:1 n-11	0,5	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3	0,2	0,2
C22:4 n-6	4,8	1,9	2,8	0,8	2,2	0,6	2,0	1,0	2,0	0,9	1,3	0,5
C22:5 n-6	0,7	0,3	0,3	0,3	3,6	1,0	5,7	3,0	7,1	2,7	6,9	2,4
C22:5 n-3	7,5	3,9	12,1	4,5	8,5	2,1	7,1	4,1	6,6	3,4	4,4	1,8
C22:6 n-3	3,2	2,0	3,0	1,2	15,3	5,2	25,4	13,0	31,0	13,3	30,0	12,5
C24:1	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,5	0,6	0,7	0,6	0,5	0,3	0,4
AGS	473,3	127,1	408,1	100,2	476,8	220,7	486,9	243,2	518,4	190,4	374,5	87,1
AGMI	641,0	184,9	511,8	155,8	615,1	313,2	625,5	333,6	656,7	240,3	482,4	89,7
AGPI	228,2	102,0	245,5	60,4	261,6	90,7	247,2	123,0	250,1	107,1	192,2	76,7
n-6	196,3	88,8	176,3	44,8	184,2	62,1	173,2	88,0	177,1	74,9	137,2	55,8
n-3	27,3	11,9	65,1	15,9	72,9	27,1	70,1	33,4	69,0	30,9	51,9	20,3
n-6/n-3	7,2	0,5	2,7	0,3	2,6	0,2	2,4	0,2	2,6	0,3	2,6	0,1
LA/ALA	14,6	2,6	4,6	0,8	5,1	1,1	6,5	1,6	9,3	1,3	20,1	5,6

Effet du régime sur la teneur en lipides (LT, %) et la composition en acides gras du cœur (mg/100g tissu)

	COL		GLE		3GLE 1MAG		2GLE 2MAG		1GLE 3MAG		MAG	
	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET	m	ET
LT	2,5	0,4	2,5	0,3	2,6	0,4	2,5	0,3	2,4	0,3	2,2	0,3
C10:0	0,2	0,6	0,0	0,1	0,1	0,4	0,4	0,5	0,2	0,4	0,1	0,2
C12:0	0,1	0,3	0,0	0,1	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
C14:0	5,9	3,1	5,5	1,8	7,4	4,0	6,3	3,1	6,9	3,2	4,9	2,1
C14:1	0,1	0,3	0,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,0
C15:0	0,8	0,7	0,5	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8	0,7	0,5	0,5
C16:0	217,5	70,2	199,8	39,0	245,4	80,6	219,9	57,5	220,9	59,6	183,6	40,2
C16:1 n-9	3,2	1,5	2,3	1,0	3,0	0,9	2,5	1,0	2,4	1,4	1,6	1,2
C16:1 n-7	9,5	5,1	8,5	2,5	11,9	6,6	9,6	4,5	10,3	4,7	7,4	2,9
C18:0	174,7	45,5	171,6	32,2	192,4	51,9	172,9	41,1	171,6	40,8	139,8	22,2
C18:1 n-9c	291,8	121,2	253,4	65,0	311,0	141,4	276,9	103,2	282,0	102,5	228,4	69,2
C18:1 n-7	49,6	9,2	39,2	5,6	43,6	10,0	40,4	6,4	39,2	5,9	35,2	4,6
C18:2 n-6t	0,1	0,4	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1
C18:2 n-6c	337,5	55,4	337,8	49,6	332,1	39,1	310,1	36,1	284,7	52,3	240,4	37,2
C18:3 n-6	0,3	0,5	0,1	0,2	0,0	0,0	0,2	0,4	0,1	0,3	0,2	0,4
C18:3 n-3	14,7	3,6	55,9	10,2	48,9	13,1	35,8	6,4	26,7	15,2	7,4	2,4
C18:4 n-3	0,7	0,9	0,5	0,8	0,6	0,8	0,7	0,9	0,7	0,7	0,4	0,5
C20:0	0,9	1,1	0,4	0,7	1,0	1,3	0,8	1,0	0,8	0,9	0,4	0,5
C20:1 n-9	7,3	3,8	5,1	1,6	6,6	4,2	5,2	3,0	5,4	1,9	3,7	1,8
C20:2	8,2	2,0	7,5	1,1	8,2	1,7	7,6	1,8	7,2	1,5	6,7	1,2
C20:3 n-6	7,7	0,9	6,8	0,9	7,5	1,1	8,1	1,4	7,7	1,3	7,6	0,9
C20:4 n-6	123,0	11,8	76,4	13,5	82,6	4,4	91,3	12,1	83,4	12,9	103,9	10,3
C20:3 n-3	2,0	1,4	8,4	1,2	8,8	2,5	6,8	1,6	5,2	2,3	1,1	0,8
C20:4 n-3	0,0	0,0	0,3	0,7	0,4	0,7	0,6	0,7	0,5	0,7	0,2	0,3
C20:5 n-3	11,1	0,8	40,7	6,7	38,2	3,3	39,3	5,2	36,7	6,4	39,7	4,7
C22:4 n-6	5,8	1,2	1,9	1,4	1,9	1,2	1,3	1,2	1,1	1,2	0,8	0,8
C22:5 n-6	0,6	0,8	0,0	0,0	11,0	2,0	14,8	2,2	14,7	2,6	16,0	2,4
C22:5 n-3	18,5	2,4	28,8	3,7	17,7	2,8	14,2	1,1	13,7	4,7	10,2	1,7
C22:6 n-3	6,6	1,7	6,4	2,0	37,6	8,5	56,9	9,0	57,0	13,2	70,5	9,8
C24:0	0,3	1,1	0,4	0,8	0,0	0,0	0,4	0,9	0,3	1,0	0,8	1,1
AGS	400,5	120,7	378,2	72,0	447,2	138,0	401,6	102,5	401,5	103,4	330,0	63,3
AGMI	361,5	139,5	309,0	72,3	376,1	162,6	334,5	116,5	339,4	114,4	276,4	77,6
AGPI	536,7	72,9	571,4	75,3	595,5	55,4	587,9	51,1	539,4	77,5	505,2	57,5
n-6	475,0	64,4	423,0	58,3	435,1	40,4	425,9	40,2	391,7	57,4	369,1	43,9
n-3	53,5	7,4	140,9	16,2	152,2	17,2	154,4	13,9	140,5	22,0	129,4	15,0
n-6/n-3	8,9	0,5	3,0	0,1	2,9	0,2	2,8	0,2	2,8	0,3	2,9	0,2
LA/ALA	23,4	2,5	6,1	0,5	7,2	1,8	8,8	1,3	12,3	3,6	34,3	7,1

