



**HAL**  
open science

## Oxydation (des lipides ?) dans les matières grasses et les aliments : mécanismes et évaluation

Claude Genot

► **To cite this version:**

Claude Genot. Oxydation (des lipides ?) dans les matières grasses et les aliments : mécanismes et évaluation. Webinaire SFEL, Sep 2019, Nantes, France. 47p. hal-02390184

**HAL Id: hal-02390184**

**<https://hal.science/hal-02390184>**

Submitted on 5 Jun 2020

**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.



# Oxydation (*des lipides ?*) dans les MG et les aliments: mécanismes et évaluation



Claude GENOT [claud.genot@inra.fr](mailto:claud.genot@inra.fr)

Webinar SFEL 20 septembre 2019

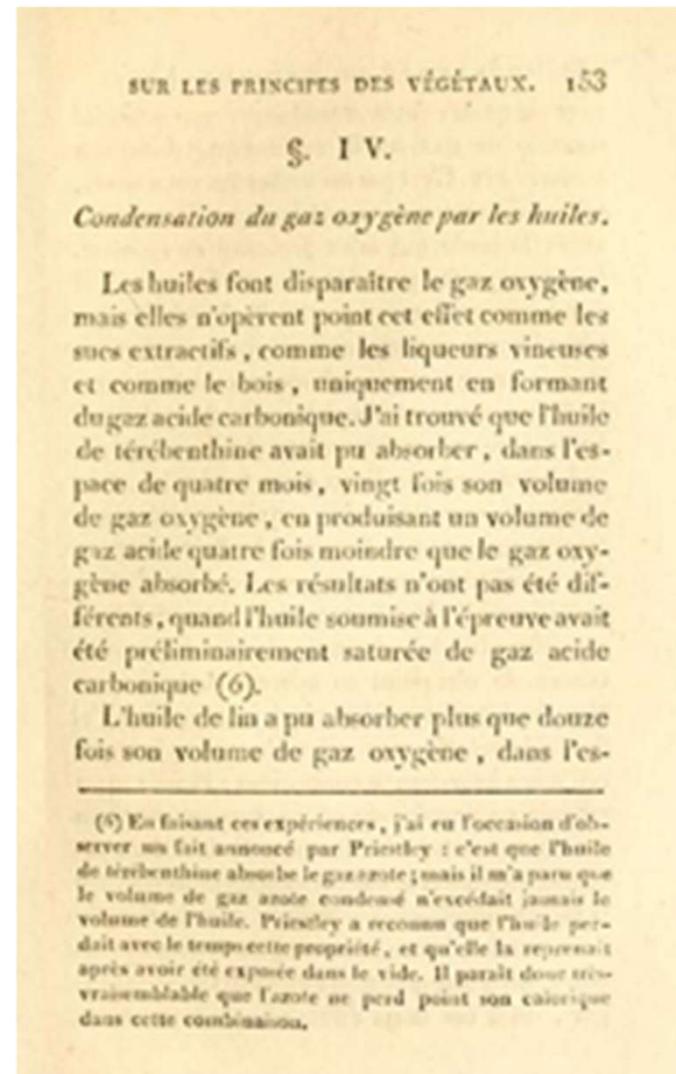
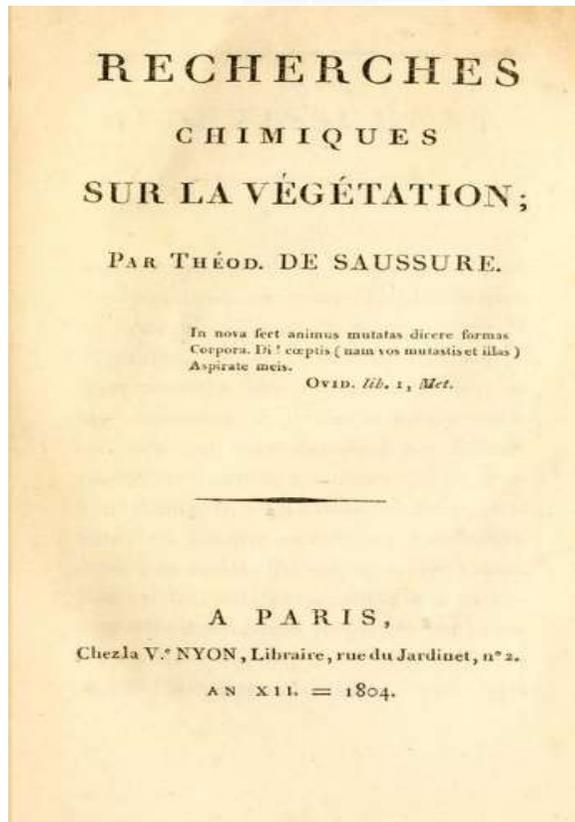
# SOMMAIRE

- ❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?
- ❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation
- ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG
- ❖ L'oxydation dans les aliments
- ❖ Conclusion ... *réductionisme ou vision holistique ?*

***Exemples : Quantification  
et suivi de l'oxydation  
dans différentes matrices***

# L'oxydation des lipides

... Un très vieux sujet....



*de Saussure, T., « Recherches chimiques sur la végétation », Paris, 1804*

❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?

## L'oxydation des lipides dans les aliments ... Un sujet d'actualité....

### Croissance exponentielle du nombre de publications scientifiques sur le sujet

*Voir dans la ref ci-contre, la figure 1 présentant les publications indexées dans la base de données SCOPUS de 1955 à 2015 sur la base d'une interrogation 'food AND lipid and oxidation' et 'AND NOT antioxidant'*

**Paradisio et al EJLST, 120, 7  
DOI: (10.1002/ejlt.201800103)**

*Everything Should Be as Simple as It Can Be. But Not Simpler. Does Food Lipid Oxidation Require an Omics Approach?*

- ❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?

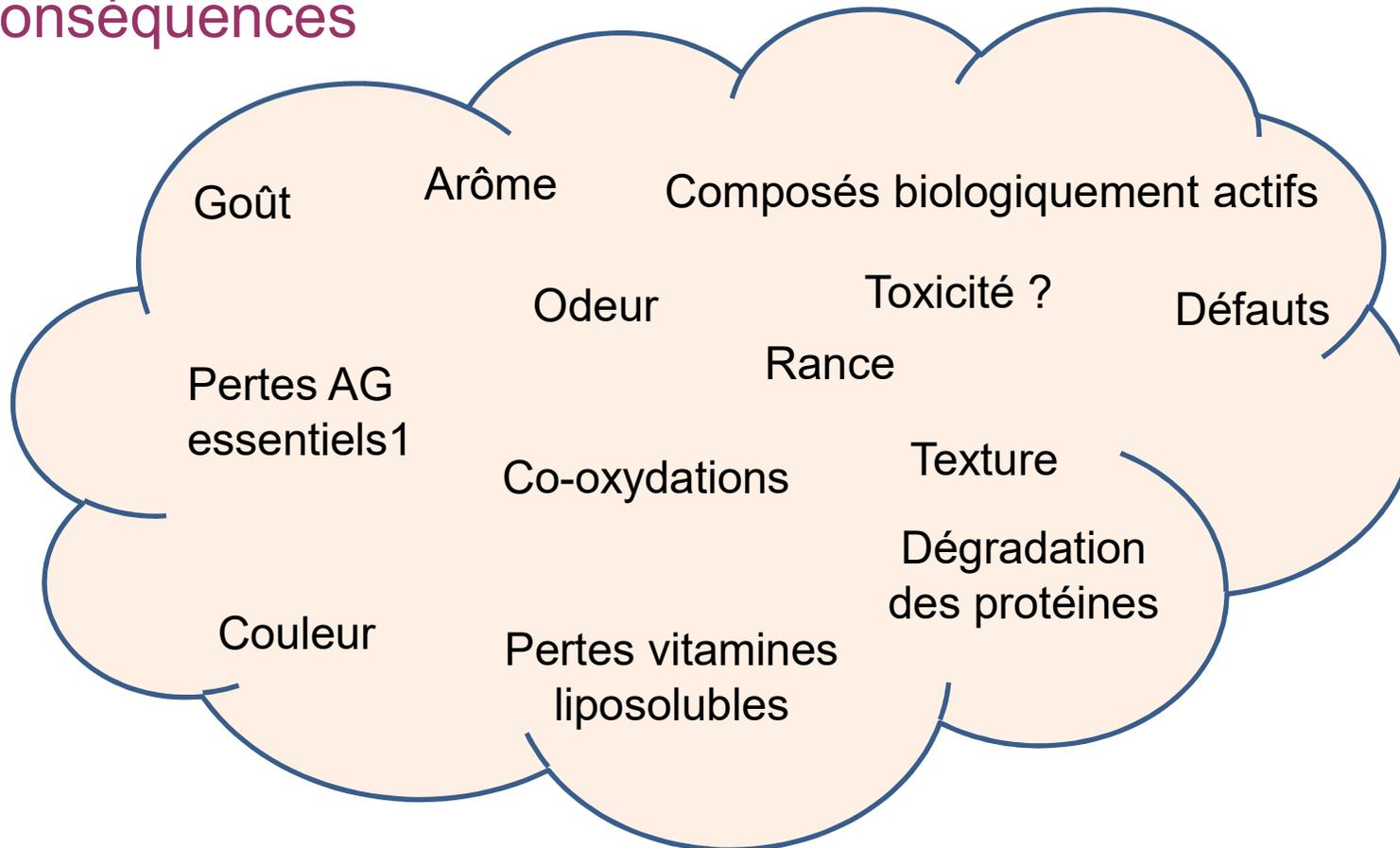
## L'oxydation des lipides, un phénomène inévitable...

- *In vivo* (MP agricoles): action catalytique des enzymes et  $^1\text{O}_3$  (oxygène singulet)
- Extraction, stockage, formulation, traitements mécaniques, thermiques, ...
- Préparation des aliments
- Digestion

❖ Pourquoi étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?

## L'oxydation (des lipides)

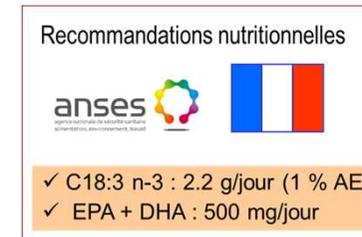
### Conséquences



❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?

... Enjeux actuels ....

## L'oxydation des lipides dans les aliments



- Enrichir les aliments en AGI et en oméga-3
- Diminuer les apports en AGS
- Réduire/bannir l'usage des additifs (antioxydants) de synthèse

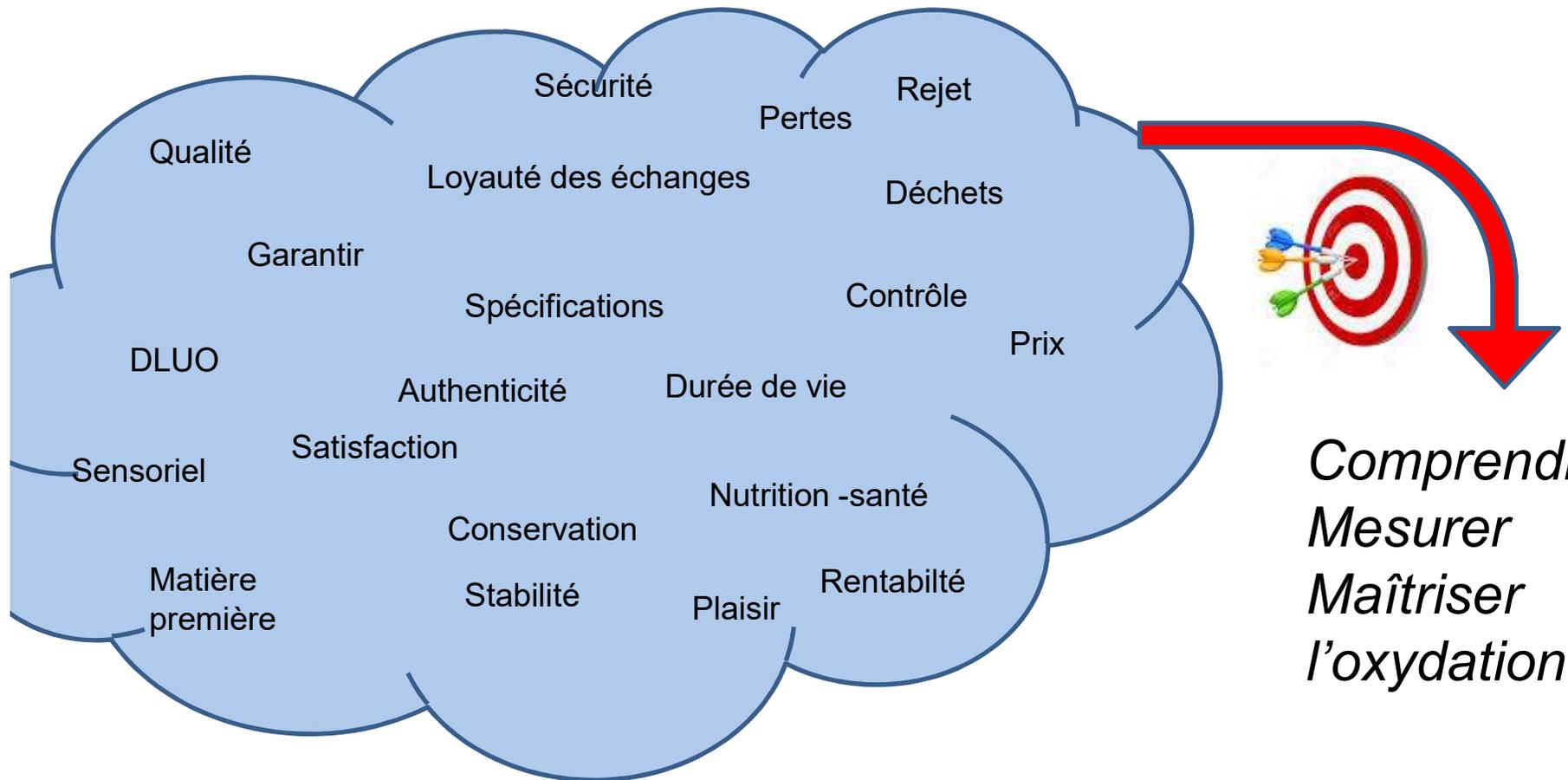
➔ **Augmentation des risques d'oxydation**

- ✓ Préserver la qualité des p. alimentaires
- ✓ Prévenir la perte d'effets bénéfiques pour la santé
- ✓ Limiter pertes et gaspillages

❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?

## L'oxydation des lipides dans les aliments ... Un sujet d'actualité....

- Demande de l'industrie et des consommateurs



# SOMMAIRE

- ❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?
- ❖ **Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation**
- ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG
- ❖ L'oxydation dans les aliments
- ❖ Conclusions

❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# Oxydation ou peroxydation ?

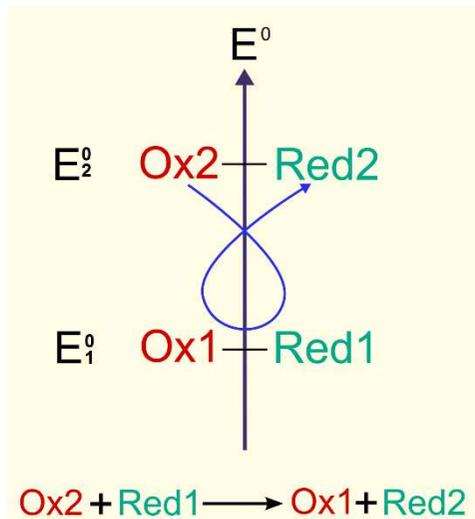
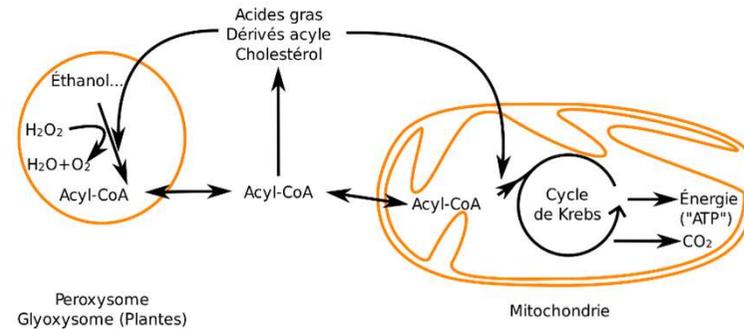
- Oxydation

Perte d'électron



Associée à une réduction

- $\beta$ -oxydation des AG



- Peroxydation

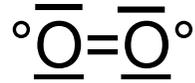
Réaction avec O<sub>2</sub>

Formation de peroxydes : ROOH

AGI, protéines ...

❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# • L'Oxygène, et l'oxydation, c'est la vie...



Free Radical Biology & Medicine 51 (2011) 327-336



Free Radical Biology & Medicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/freeradbiomed](http://www.elsevier.com/locate/freeradbiomed)

Review Article

Extending life span by increasing oxidative stress

Michael Ristow<sup>a,b,\*</sup>, Sebastian Schmeisser<sup>a</sup>



Respiration  
Energétique cellulaire



Stress oxydant  
Viellissement



Free Radical Biology and Medicine 124 (2018) 420-430



Contents lists available at ScienceDirect

Free Radical Biology and Medicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/freeradbiomed](http://www.elsevier.com/locate/freeradbiomed)

Review Article

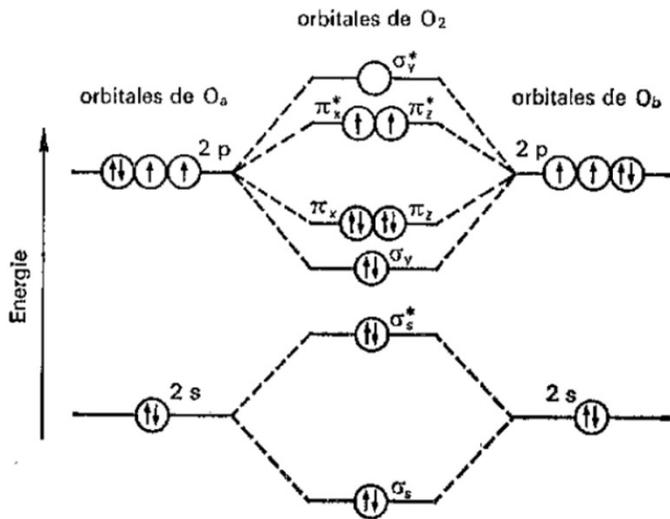
Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing

Laura C.D. Pomatto<sup>a,1</sup>, Kelvin J.A. Davies<sup>a,b,c,\*</sup>

... dans un  
monde aérobic

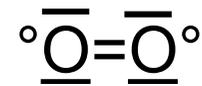
❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# Oxygène moléculaire = dioxygène



Orbitales moléculaires de liaison de la molécule d'oxygène ( $O_2$ )

2 électrons non appariés  
 → Spin =  $S = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1$   
 → Multiplicité de spin =  $2S + 1 = 3$



**Biradical**  
**Etat triplet**

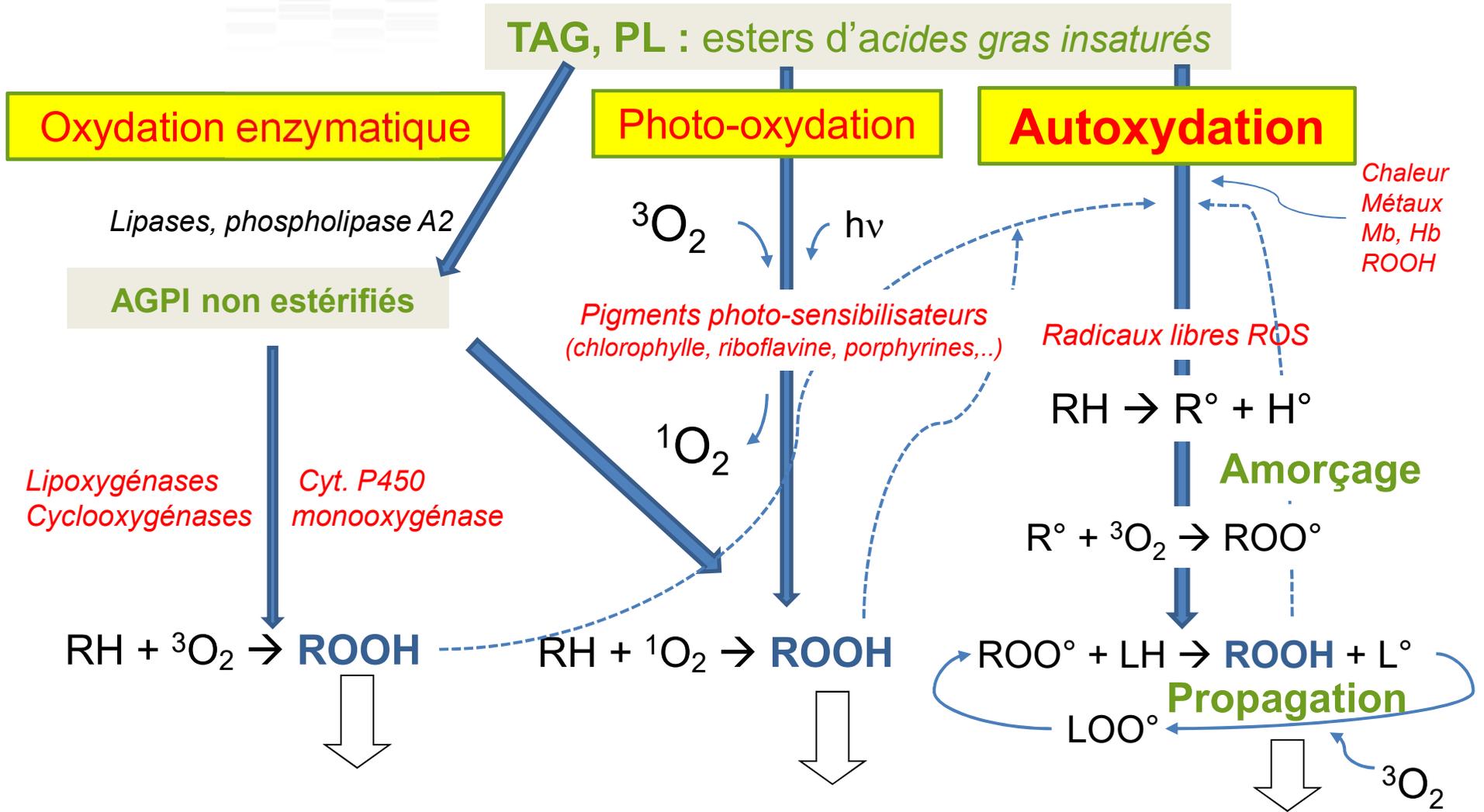


Règle de restriction (de conservation) de spin  
 (Wigner, 1929 ; Oppenheimer, 1931)

- Non réactif sur moléc. biologiques à l'état singulet
- Activation nécessaire :  $^1O_2$ ,  $OH^{\circ}$ , ... ROS

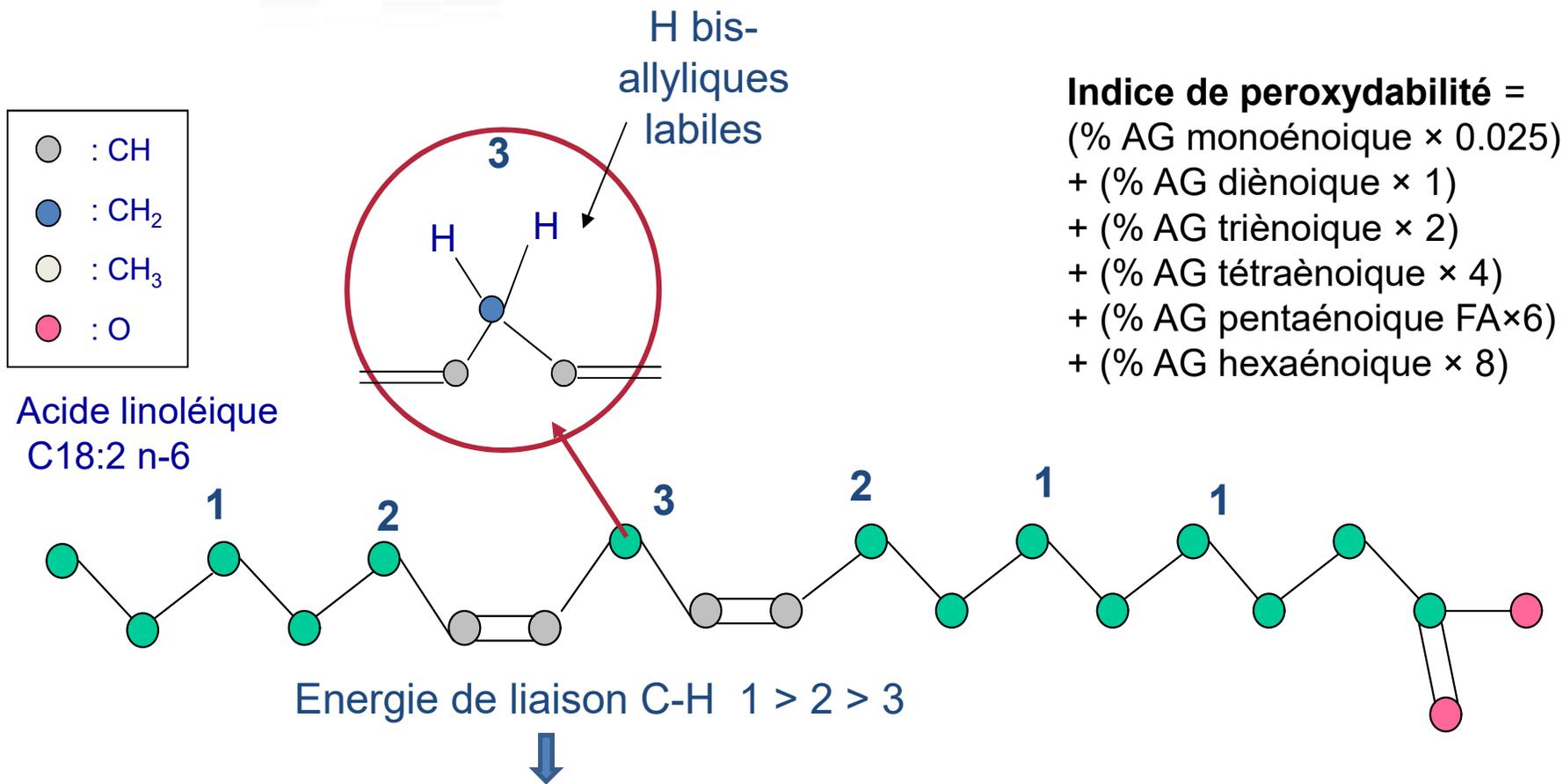
❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# 3 mécanismes d'oxydation des lipides



❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

## Les substrats : les acides gras (RH ou LH)

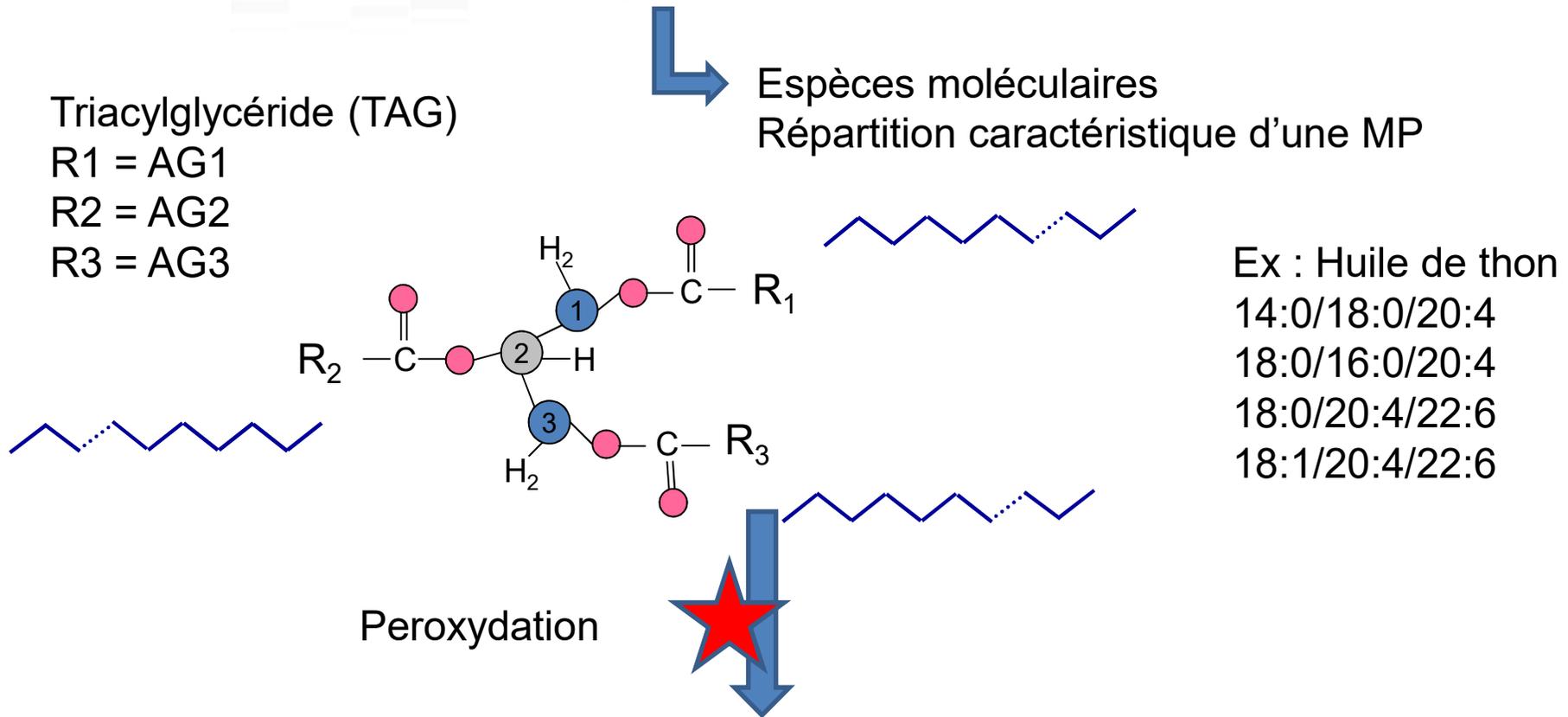


**Vitesses relatives d'oxydation en système homogène**

**C18:1 < C18:2 < C18:3 < EPA, DHA**

❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

Les huiles, MG et lipides des aliments, sont constitués d'esters d'acides gras (TAG, PL, ...).

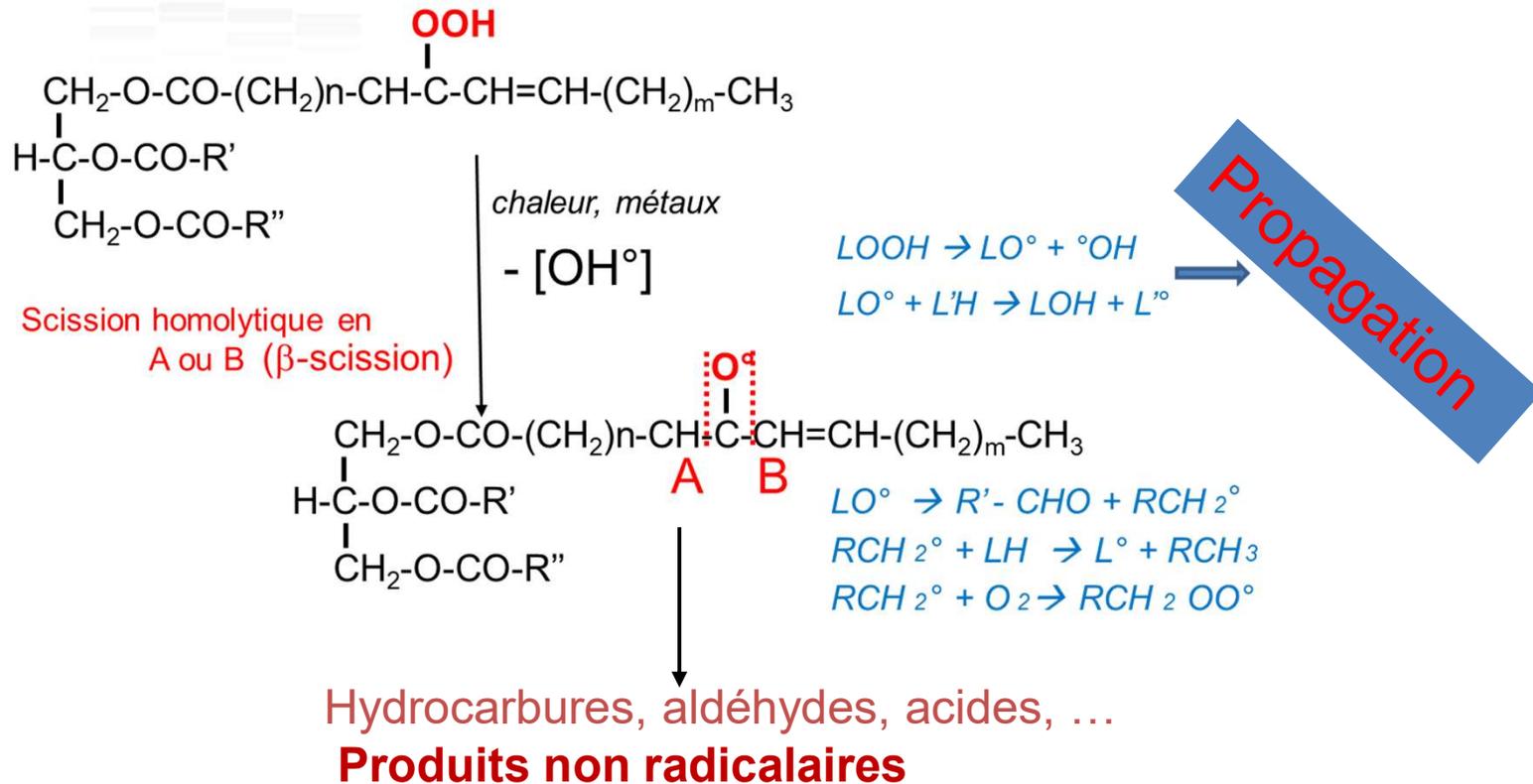


Une multitude de TAG-(mono, di, tri, ...)-OOH, ... possiblement formés

Molécules amphiphiles → Migrent vers les interfaces (H/E ; A/E)

❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

## Décomposition des hydroperoxydes



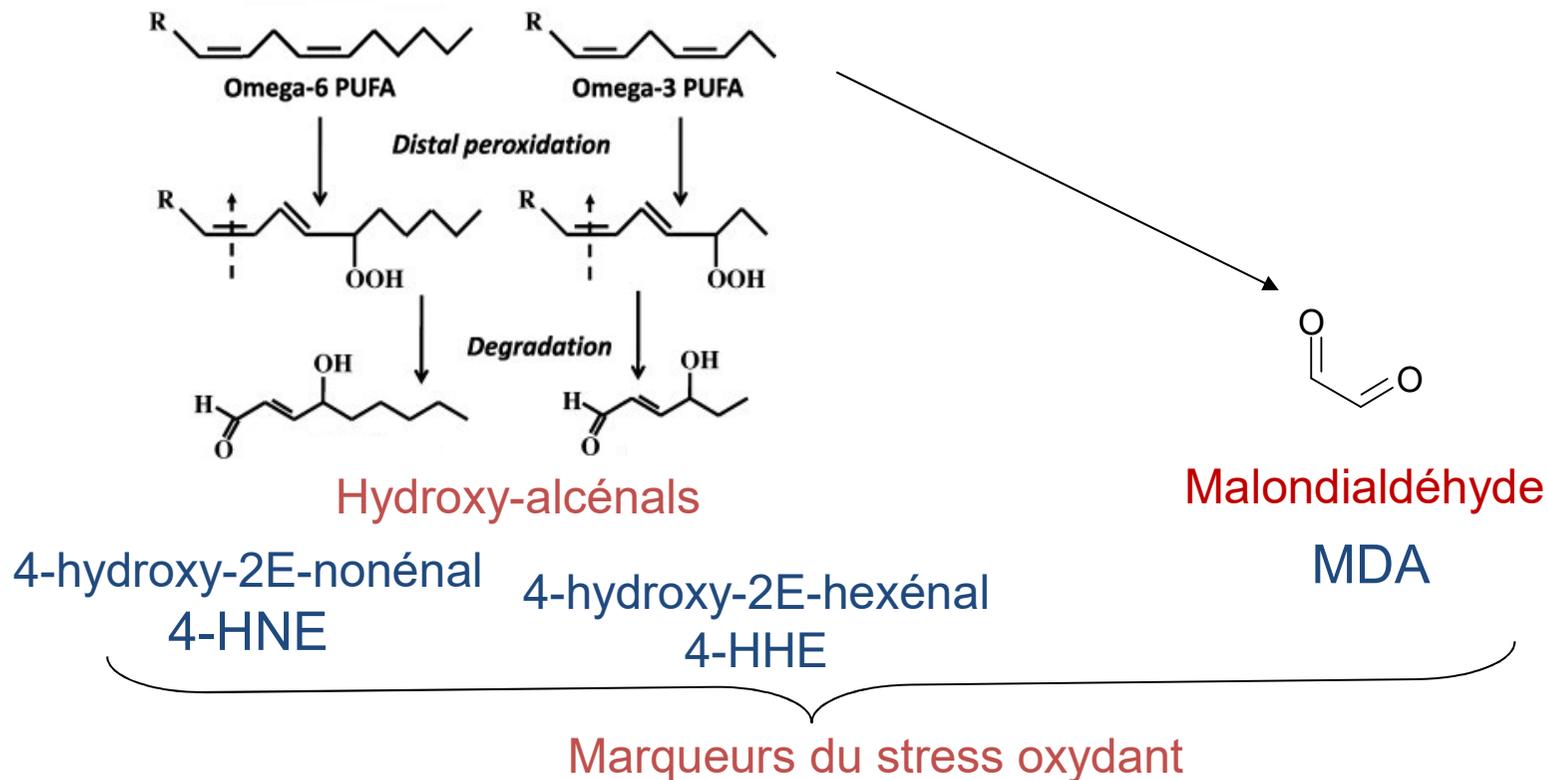
- MM  $\cong$  lipides
- Hydrophobes à amphiphiles
- Demeurent dans la matrice lipidique

- Faible MM
- +/- volatils ; +/- odorants
- hydrophobes à hydrophiles
- partitionnent entre phases eau/huile/air
- réactifs (ald.); biol. actifs (hydroxy-alcénals)

Ex: aldéhydes estérifiés (« core-aldehydes »)

❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

## Formation d'aldehydes réactives et cytotoxiques :



- Composés électrophiles
- Liaisons covalentes avec les nucléophiles : protéines, acides nucléiques, phospholipides

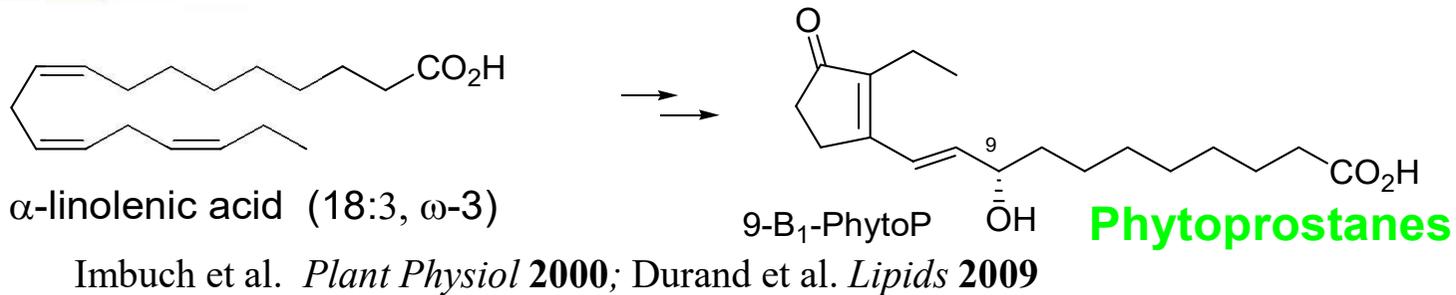


Effets toxiques (cytotoxiques) *in vivo*.

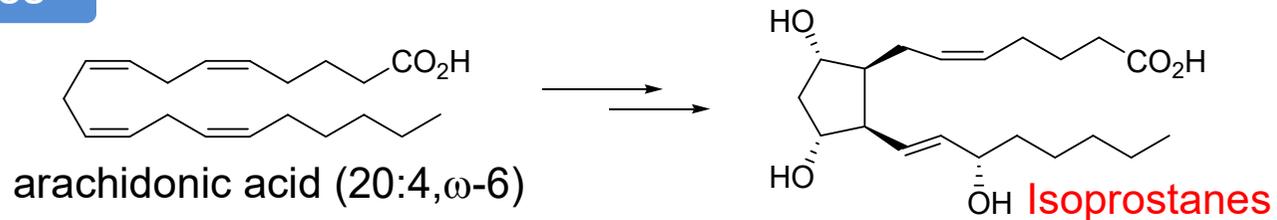
❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

## Mécanismes radicalaires non-enzymatiques *in vivo*

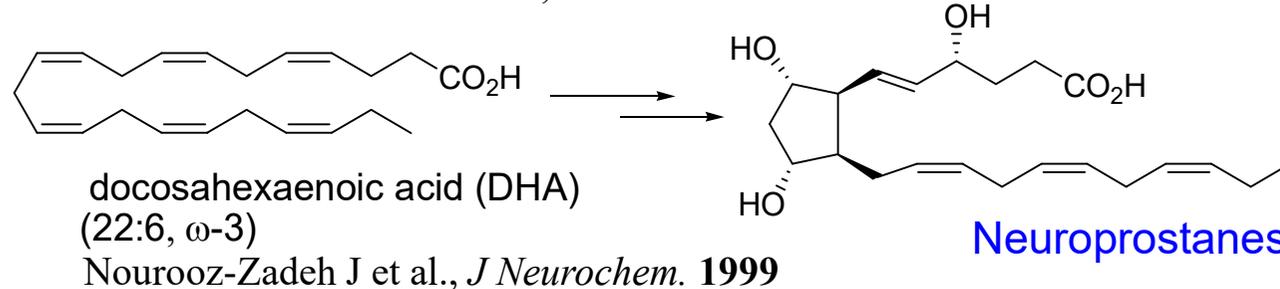
### Plantes



### Vertébrés

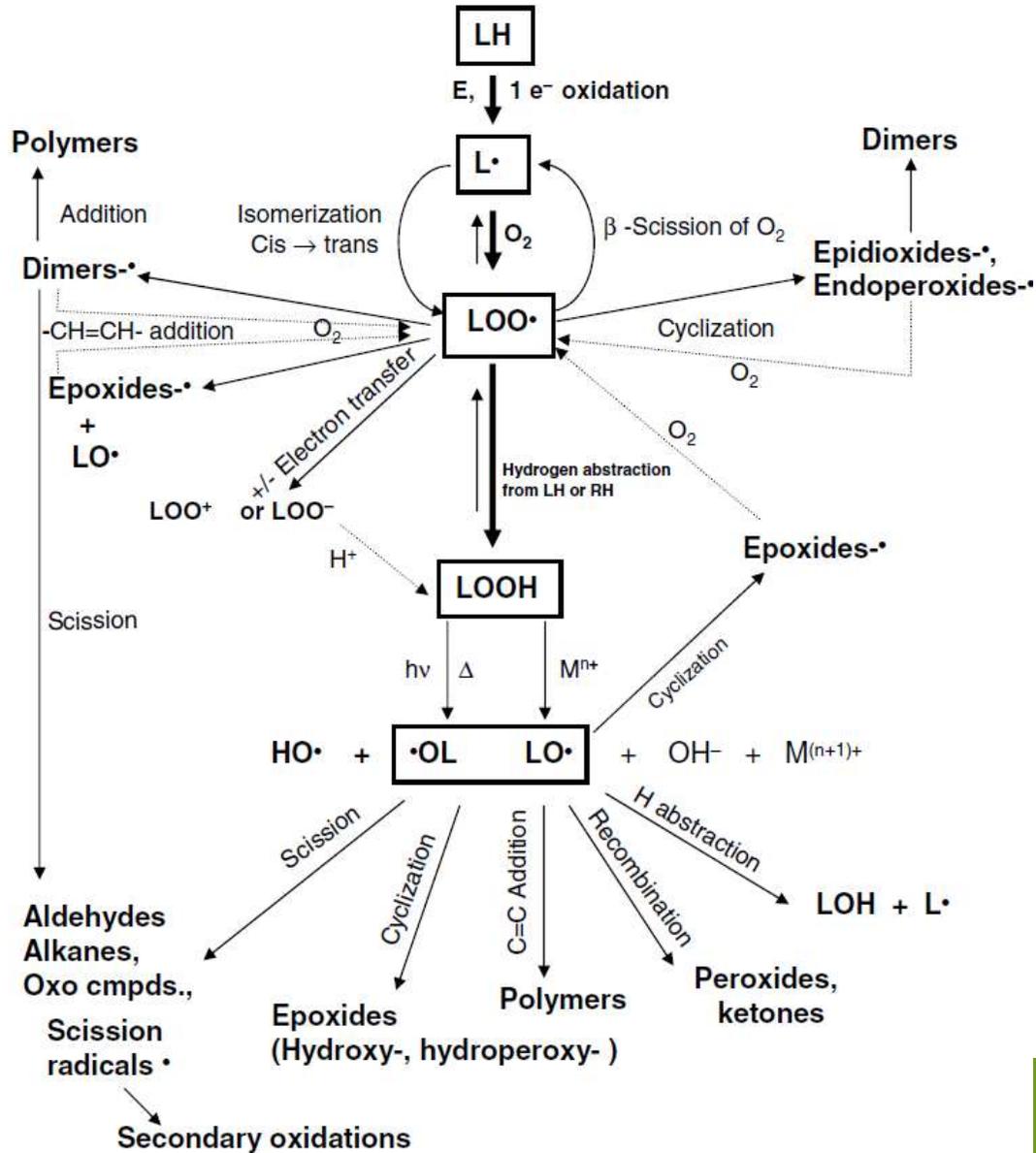


Morrow JD et al. *PNAS* **1990**; Montuschi P et al. *Curr Med Chem.* **2007**



❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# Schéma intégré des mécanismes de l'oxydation des lipides



Formation d'époxydes, par des voies réactionnelles en compétition avec le mécanisme classique d'abstraction d'hydrogène

## Lipid Oxidation: Theoretical Aspects

**K. M. Schaich**

Rutgers University,  
New Brunswick, New Jersey

# SOMMAIRE

- ❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?
- ❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation
- ❖ **Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG**
- ❖ L'oxydation dans les aliments
- ❖ Conclusions

❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

## Un défi

- Oxydation des lipides = réactions radicalaires en chaîne, consécutives et simultanées
- Diversité de produits de réaction, souvent instables

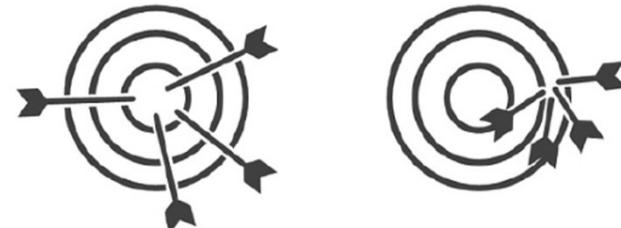
### Méthodes

- Précises
- Sensibles
- Normalisées
- **Pertinentes**



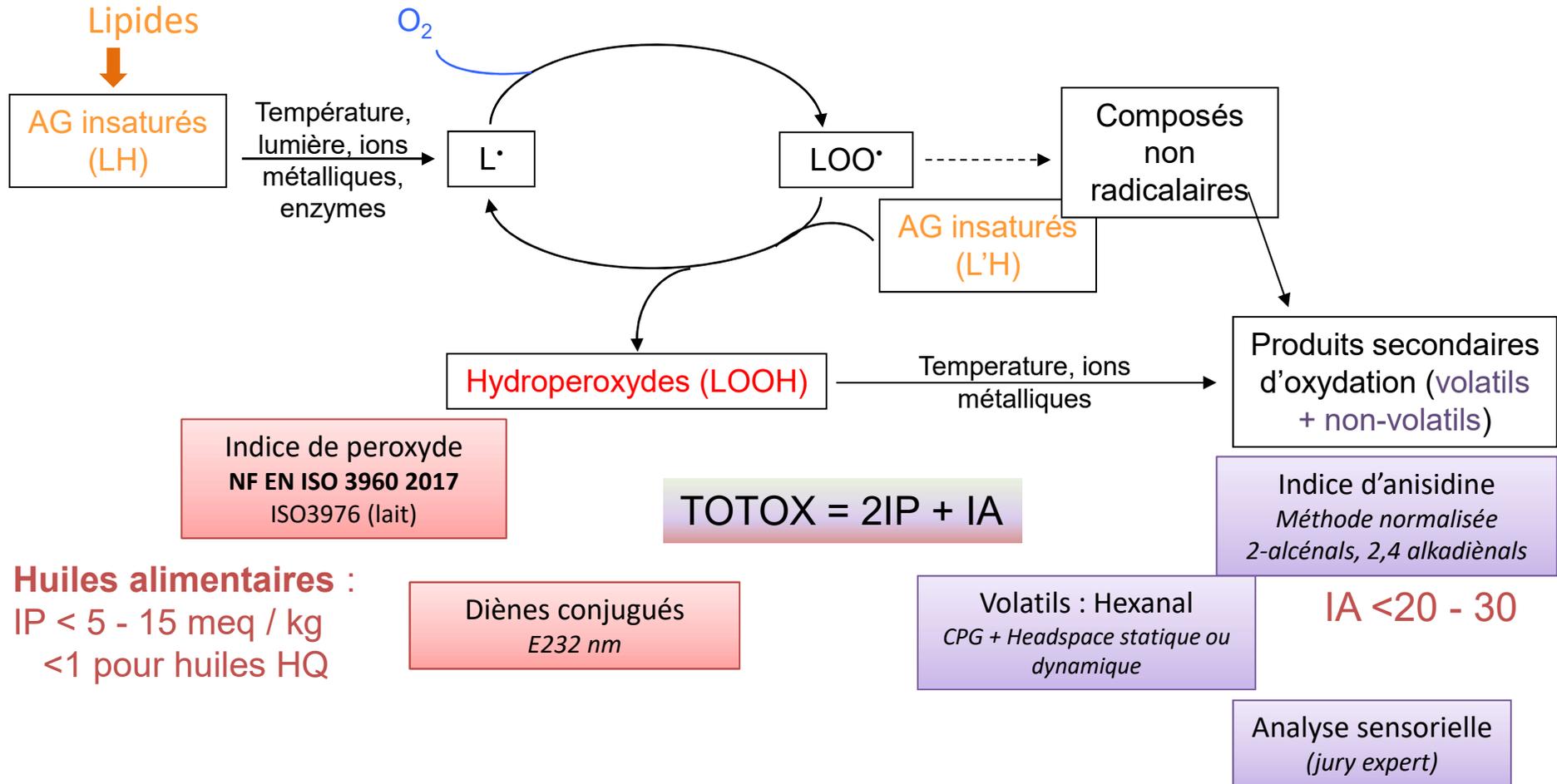
- Coût et mise en œuvre

Justesse et/ou précision



❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

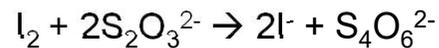
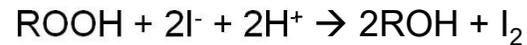
# Méthodes analytiques classiquement utilisées dans l'industrie



❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation

# Dosage des hydroperoxydes

- **Méthode normalisée = Titration iodométrique**



- Indice de peroxydes (meq ou mmole ou mg oxygène actif/kg)
- 5 à 10 g MG et IP <30 meq ox actif /kg ; simple mais peu reproductible (pbs techniques)
- → IP avec titration électrochimique ou colorimétrie

- **Fe<sup>2+</sup> + ROOH → Fe<sup>3+</sup> + ROH ; Complexation ions Fe<sup>3+</sup> ; colorimétrie ou spectro UV/vis**

Fe<sup>2+</sup> thiocyanate (Shanta & Decker JAOAC int 1994), FOX II (Xylénol orange) (Eymar et Genot; EJLST, 2003)

(! Pigments ; gamme validité)

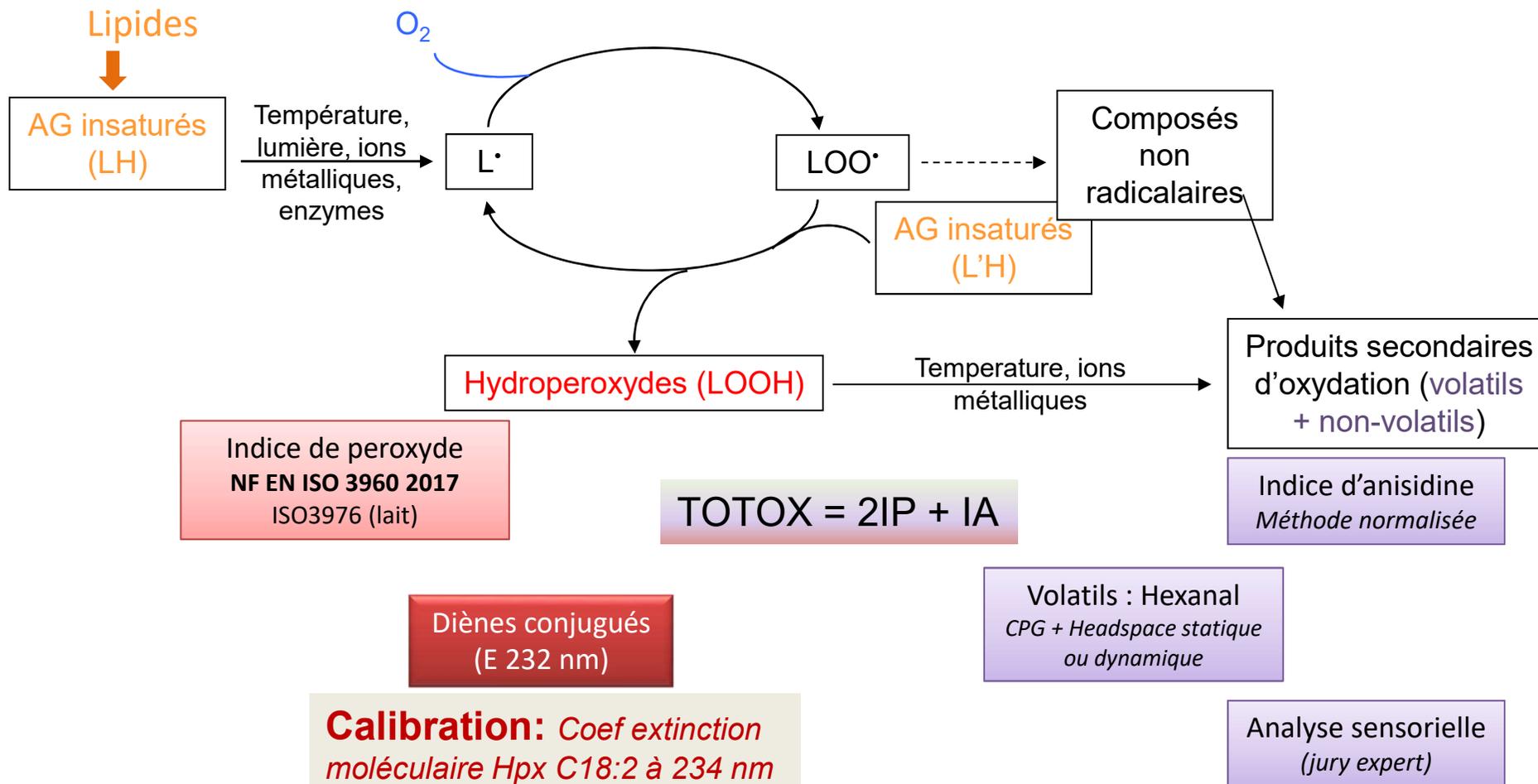
- **TPP + ROOH → TPPO + ROH ; détection UV** (Makamura et Maeda, 1991 Lipids, 26, 7651991)

<sup>1</sup>H RMN (Diehl et coll. Spectral service) OU FITR/ATR (Deyrieux et al. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2018, 120)

- Signification différente selon MG et nature des HPX formés
- Instabilité des HPX AGPI-LC (EPA, DHA)

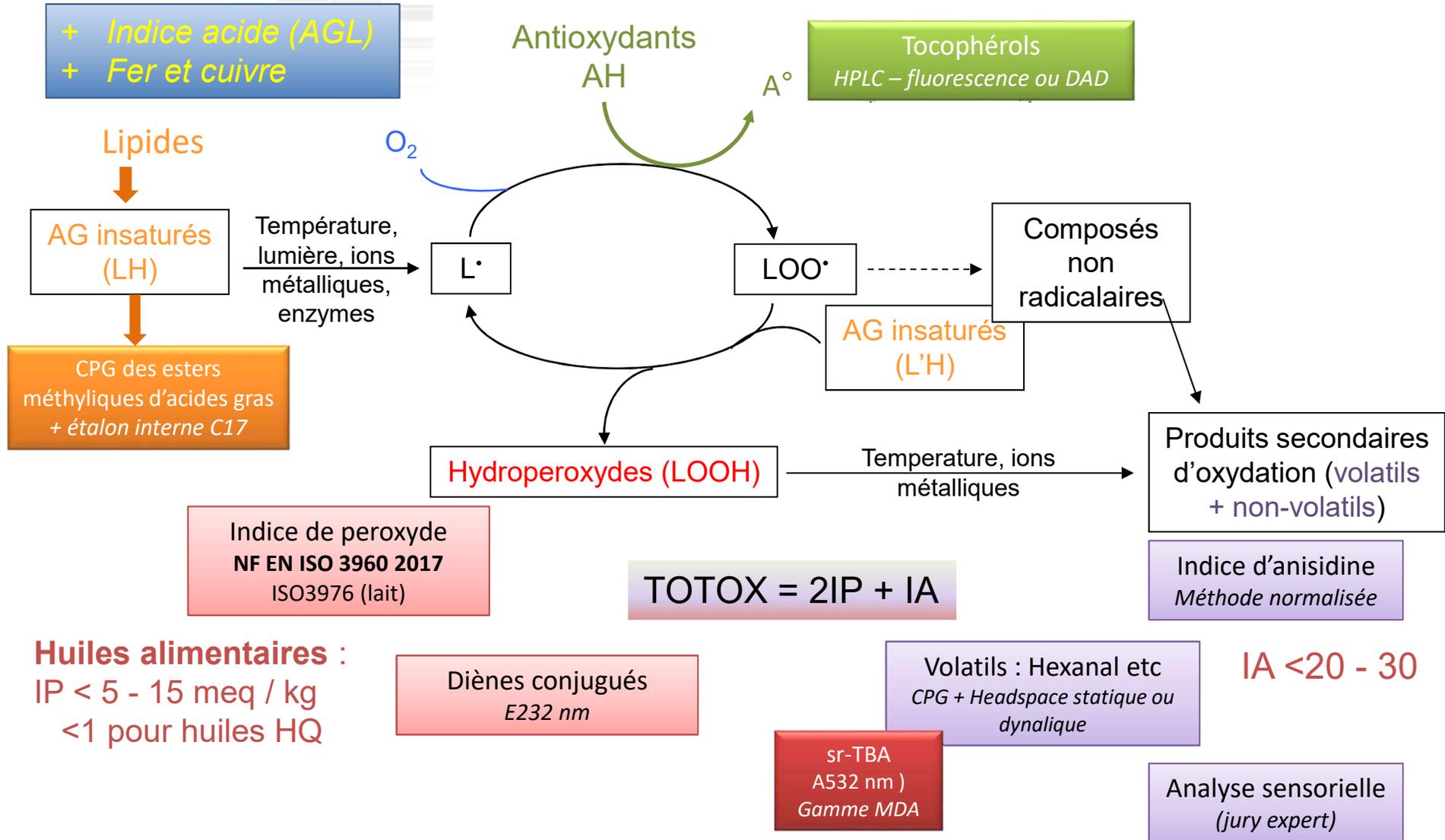
❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

# Méthodes analytiques classiquement utilisées dans l'industrie



❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

# Méthodes analytiques classiquement utilisées dans l'industrie



❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

Marqueurs de l'oxydation utilisés classiquement par:

les technologues

Indice peroxydes  
Indice d'anisidine  
sr-TBA

Dosages globaux

Méthodes semi-quantitatives

les biologistes

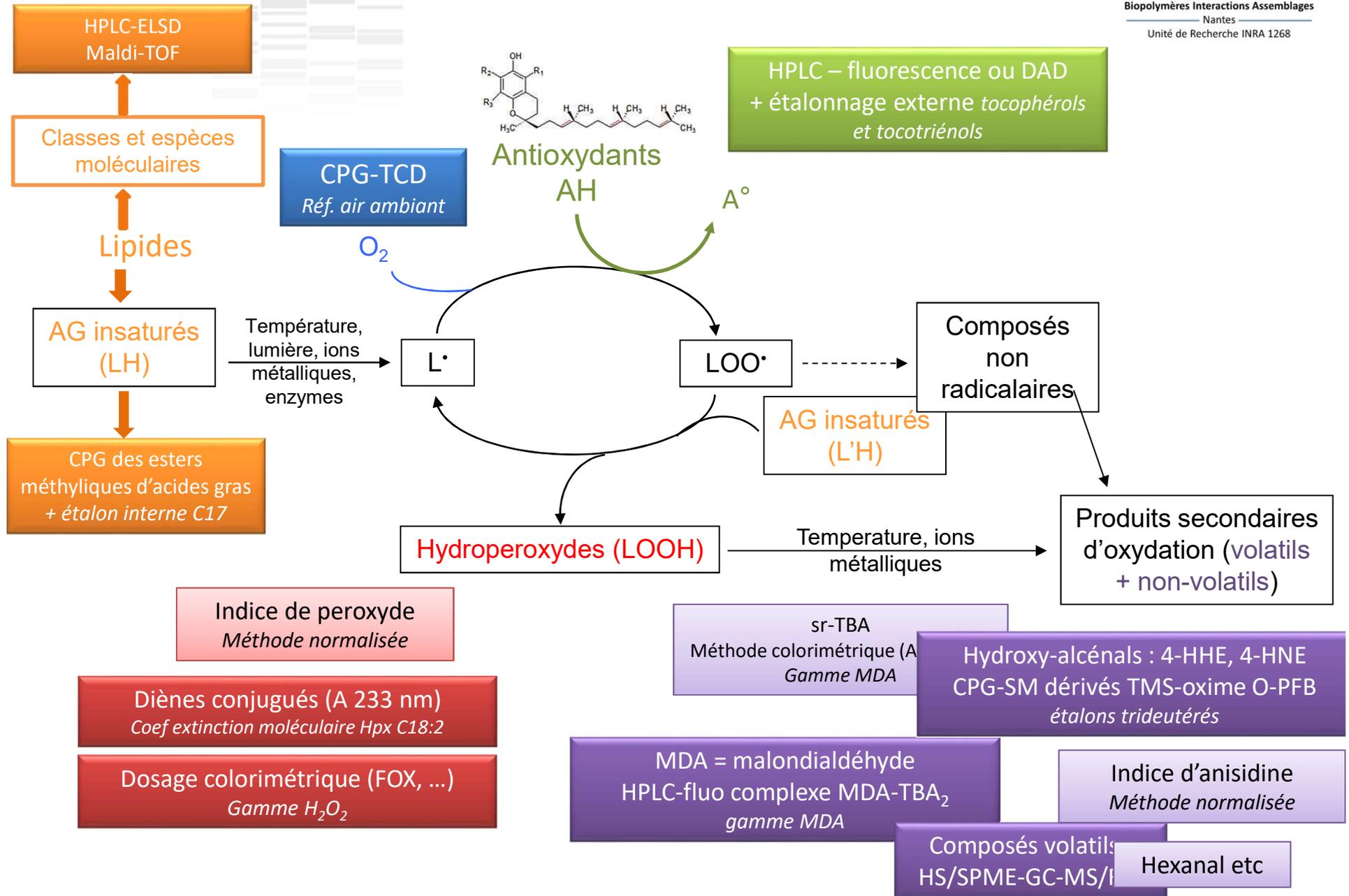
Pentane  
Hexanal  
Nonanal  
...

MDA  
4-HHE  
4-HNE

Dosages spécifiques

Méthodes quantitatives

# ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG



❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

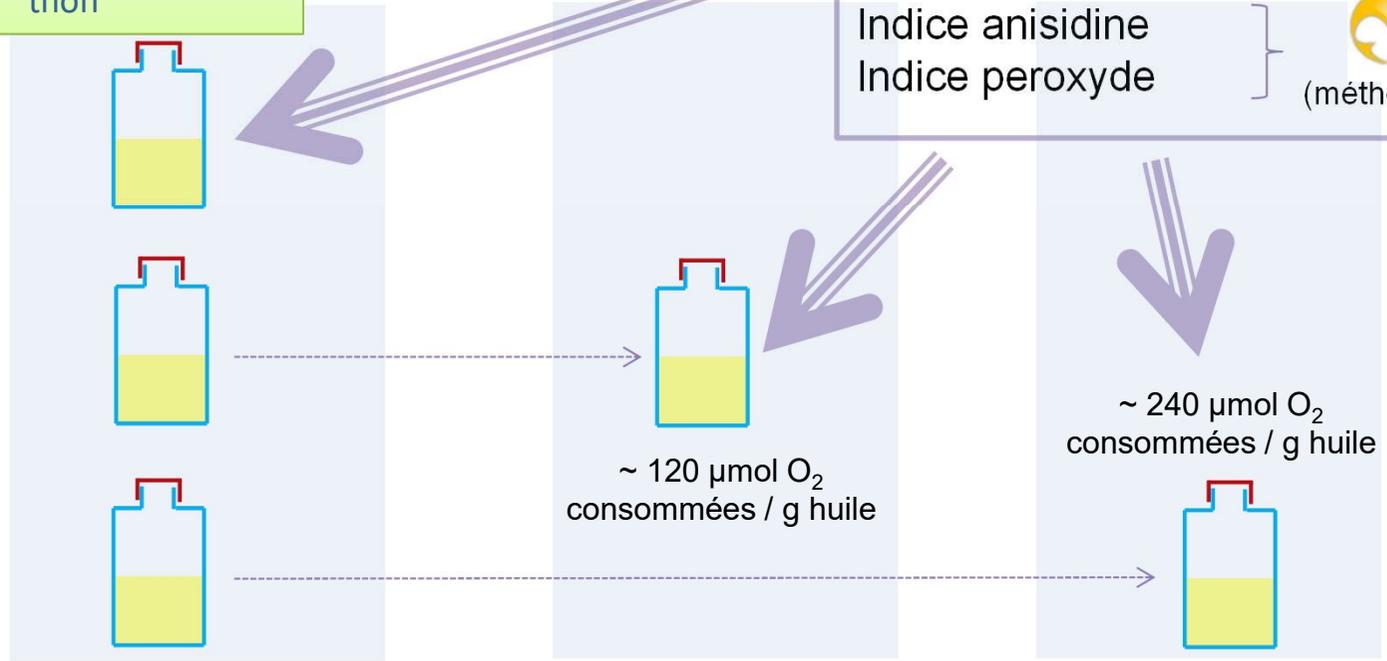
ANR AGEcaninox

Huiles de tournesol  
colza  
pépin de kiwi  
thon

Compo et teneur AG  
DC, HpX (FOX),  
sr-TBA, MDA,  
4-HHE, 4-HNE  
Indice anisidine  
Indice peroxyde

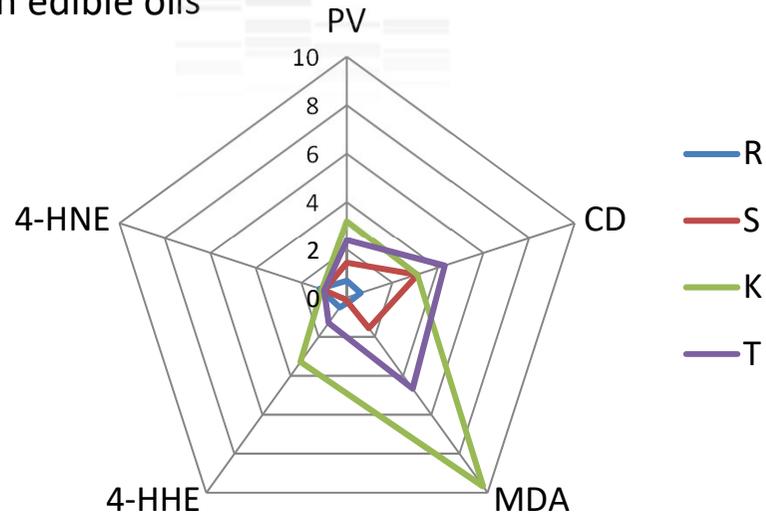
INRA-BIA-ISD

  
nutritional lipids  
(méthodes normalisées)

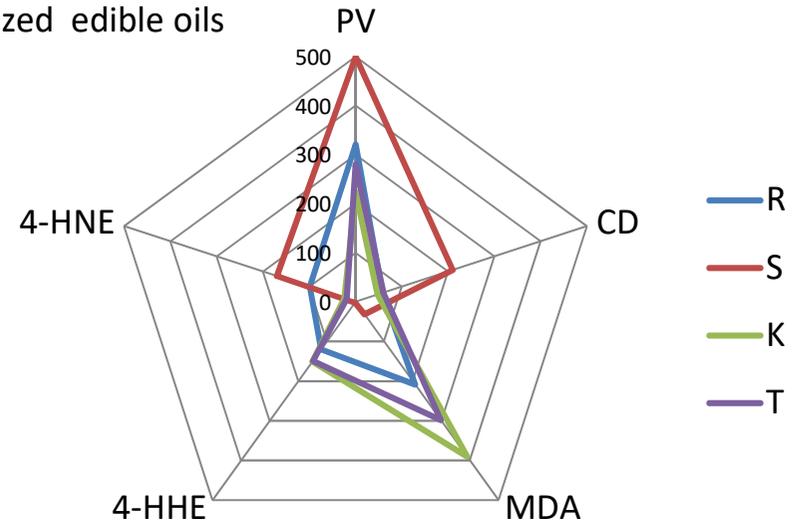


## ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

Fresh edible oils



Oxidized edible oils



European Journal of  
**Lipid Science** and Technology

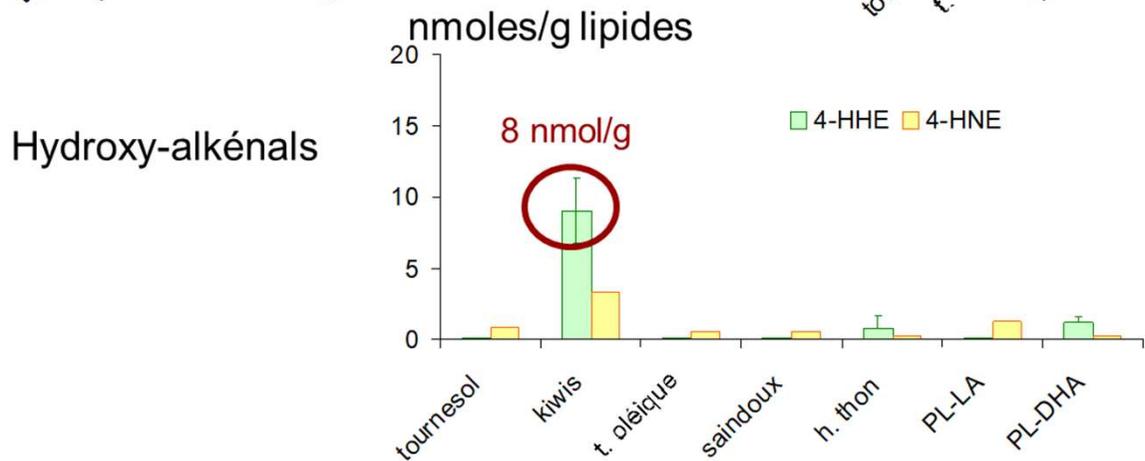
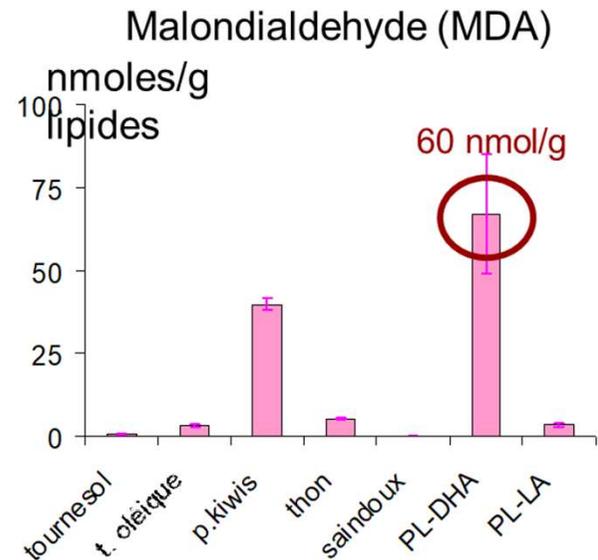
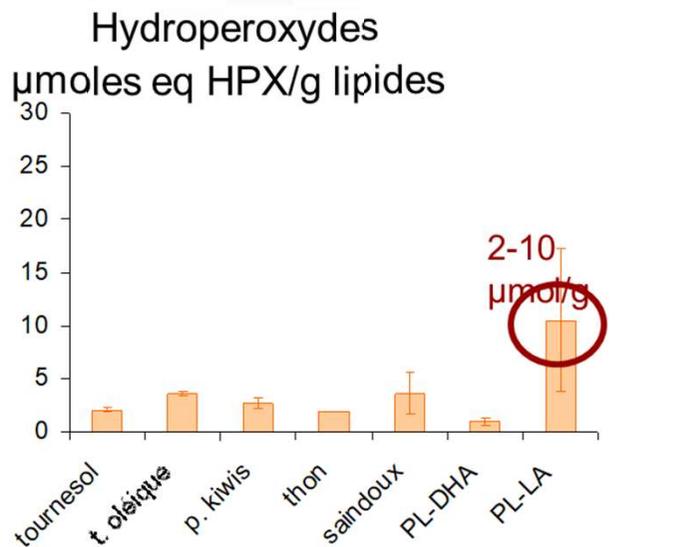


Research Article | [Full Access](#)

**Amounts of the reactive aldehydes, malonaldehyde, 4-hydroxy-2-hexenal, and 4-hydroxy-2-nonenal in fresh and oxidized edible oils do not necessary reflect their peroxide and anisidine values**

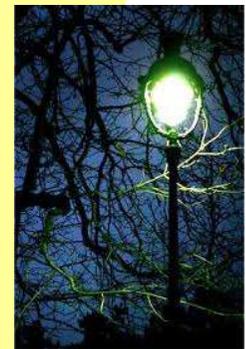
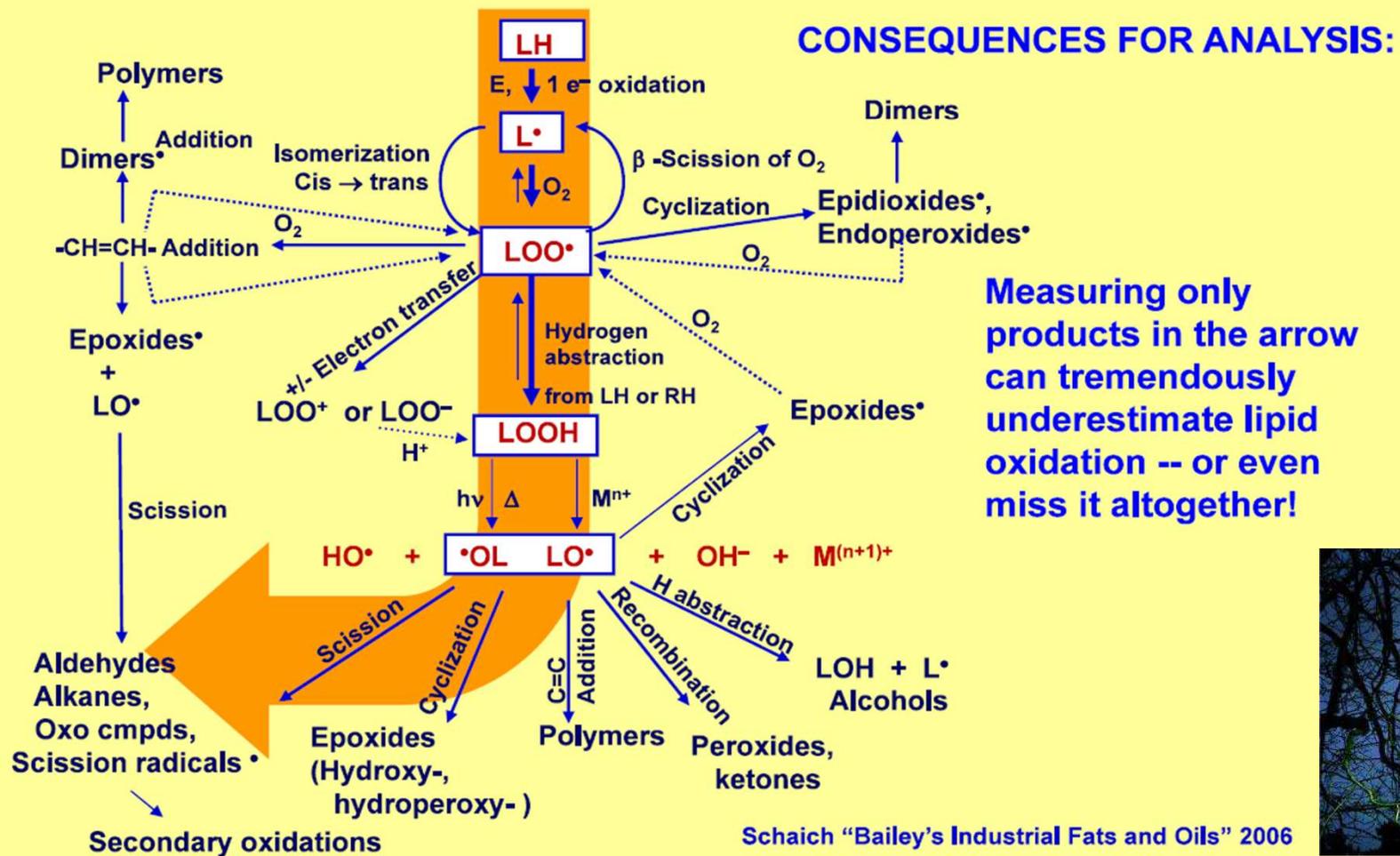
Michèle Viau, Claude Genot, Lucie Ribourg, Anne Meynier ✉

Ex : Marqueurs d'oxydation dans différentes huiles et lécithines

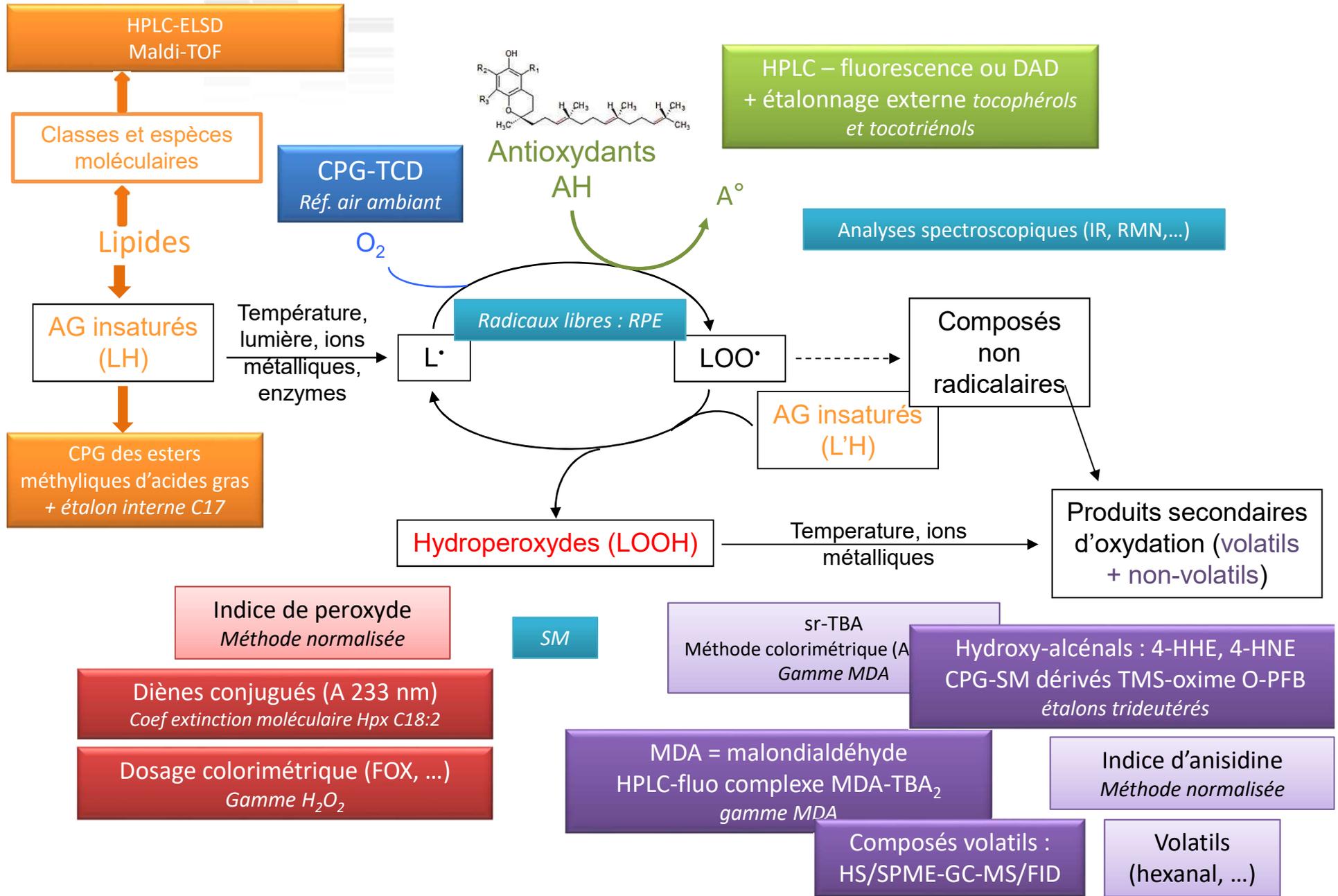




## Alternate pathways of LOO• and LO• compete with H abstraction in lipid oxidation



# ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG



- ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG



## $^1\text{H}$ RMN

Quantification directe d'aldehydes, hydroperoxides, and époxydes  
Sensibilité ? (LOD ? LOQ ?)  
Coût accessibilité ?

## Spectrométrie de Masse

Lourd (manip / interprétation (manque BdD))  
Manque de standards / ref  
Etalons deutérés à synthétiser à façon  
Ou semi quantitatif

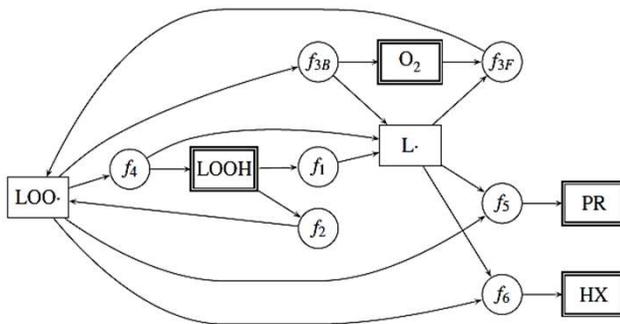
LC/MS ou GC/MS  
HP-TLC MALDI-TOF ???

❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG

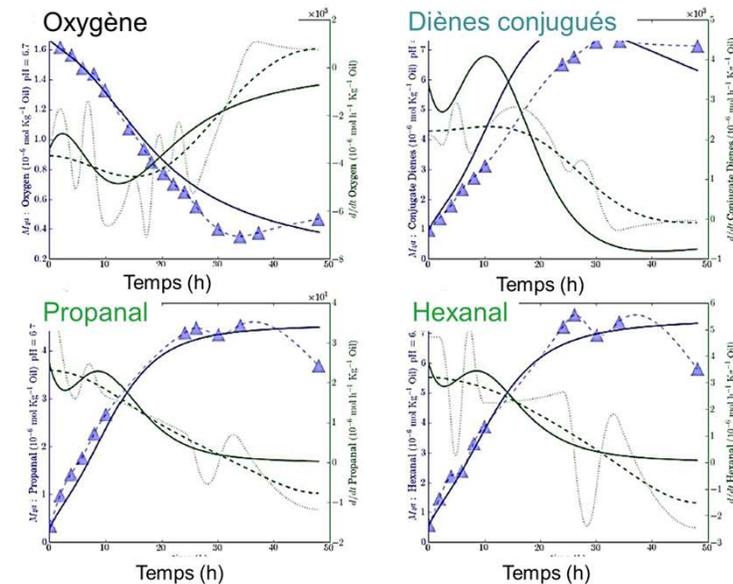
# Accéder à des molécules non analysées

## → apport potentiel de la modélisation

- Ex : construction sans *a priori* de réseaux de réactions chimiques et modélisation de données analytiques (système + ou – complexe)
- La dynamique du système est décrite par un système d'équations différentielles ordinaires (ODE) couplées, avec introduction éventuelle d'espèces chimiques non analysées



Vegar, Perrot & Genot 2015



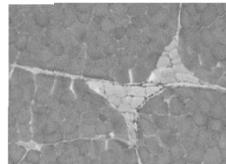
# SOMMAIRE

- ❖ Pourquoi vouloir étudier/mesurer l'oxydation dans les aliments ?
- ❖ Oxydation des lipides: substrats, mécanismes et produits d'oxydation
- ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG
- ❖ **L'oxydation dans les aliments**
- ❖ Conclusions

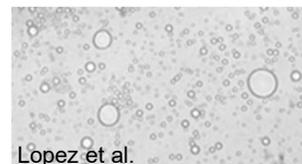
❖ L'oxydation dans les aliments

## Organisation des lipides alimentaires : structures supramoléculaires

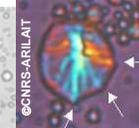
- Structures natives : membranes cellulaires, adipocytes, lipoprotéines, globules gras, ...



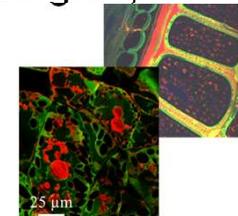
Anton et al.



Lopez et al.



©CNRS-ARLAI



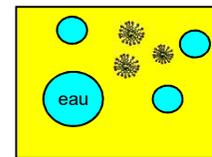
Plateforme BIBS BIA Nantes

### Tissus animaux terrestres : AGPI-LC dans PL des membranes

- Structures recomposées

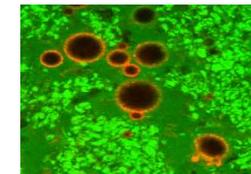
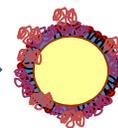
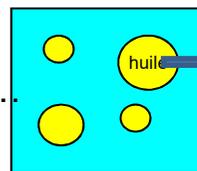
- Phase continue lipidique :

- Matière grasse libre : huiles et corps gras
- Emulsion eau/huile : beurre, margarine
- Particules dans MG solide : chocolat



- Phase continue aqueuse :

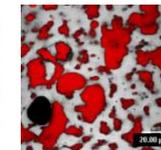
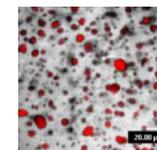
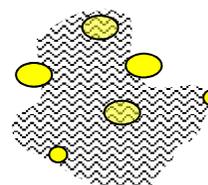
- Emulsion huile/eau : sauces, lait, ...
- Gels remplis : desserts lactés



+ Micelles  
Liposomes

- Structure solide complexe :

- Insertions lipidiques dans une matrice glucidique ou protéique : biscuits, fromages, charcuterie, ...



Lopez , Reprod. Nutr. Dev. 45 (2005)



*PL, MAG, DAG, AGL, ... localisés aux interfaces ou structures dans phase aqueuse*

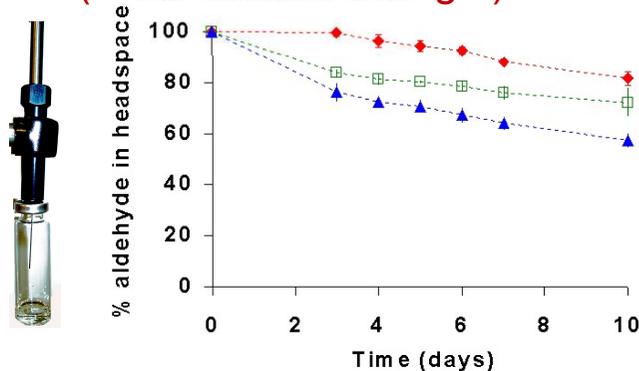
*Protéines partagées entre interfaces H/E et phase aqueuse ; action pro-et/ou antioxydantes*

❖ L'oxydation dans les aliments

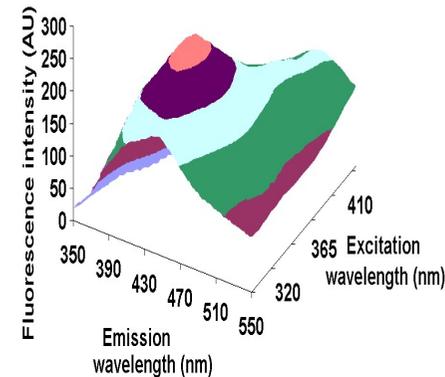
$f(a_w, \text{pH}, \dots)$

# Modifications des protéines liées à l'oxydation

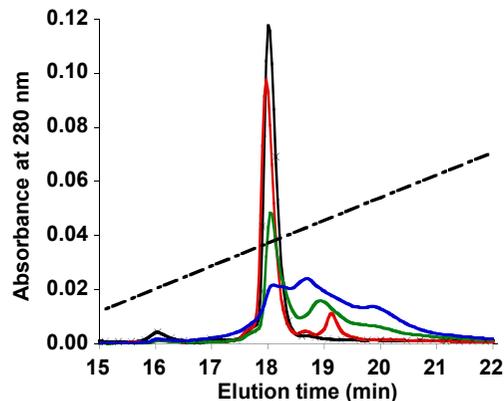
- Fixation des aldéhydes volatils et non volatils (faible et forte énergie)



- Formation de produits néoformés dont p. fluorescents (lipofuscin-like)

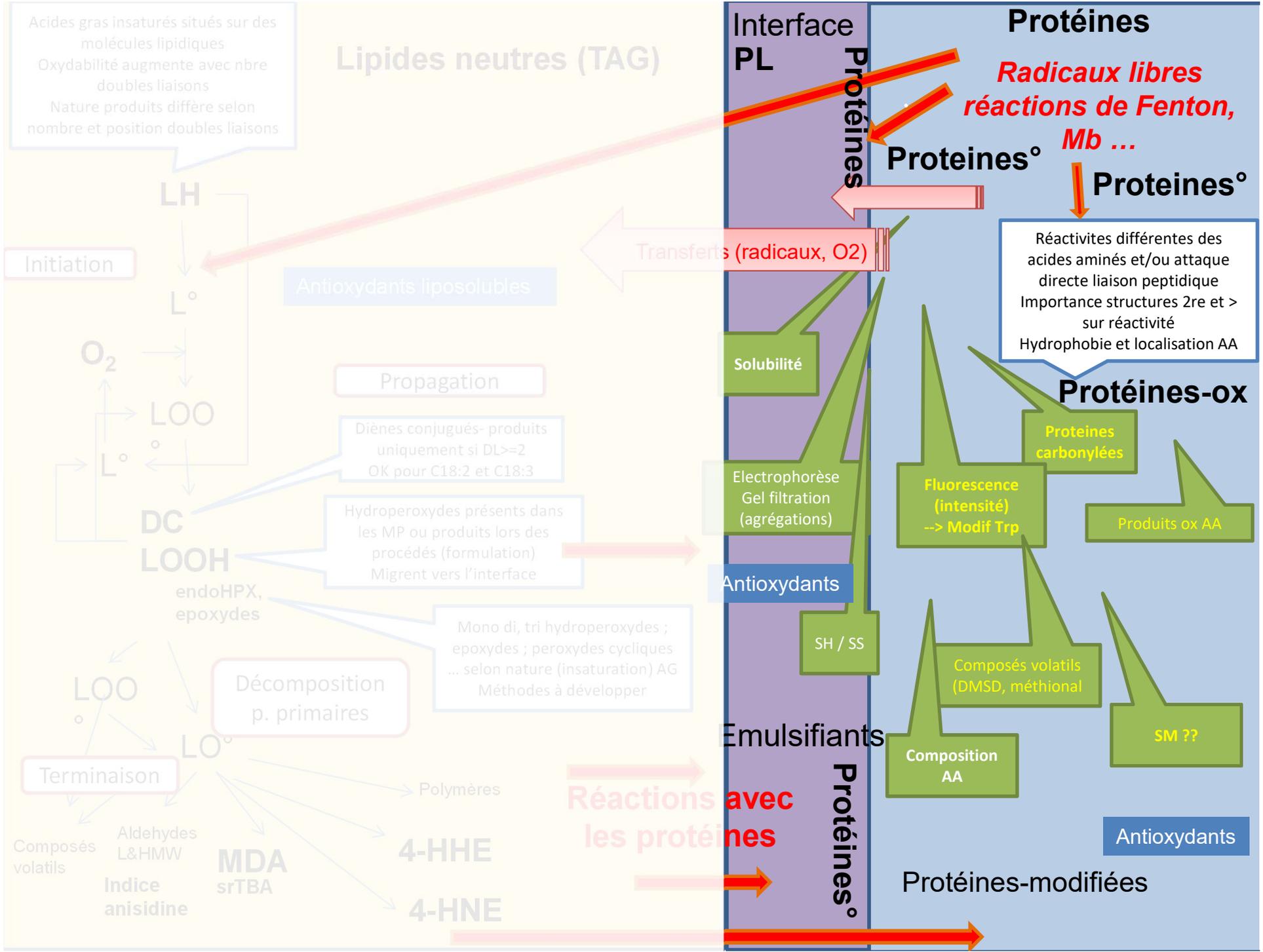


- Augmentation de l'hydrophobie



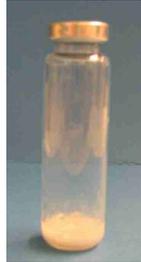
- Agrégation et/ou polymérisation (liaisons covalentes et faible énergie) ou scissions
- Perte de résidus Trp, Lys, His, ...
- Perte SH libres
- Apparition protéines modifiées (carbonylées)
- Composés volatils (lait-photox)
- Perte solubilité et fonctionnalités

Genot et al. *Sc. Aliments* 1990 Meynier et al., 2004, *IDJ* 14, 681; Genot et al. 2003 In: Kamal-Eldin Ed., Ch.9, 265



❖ L'oxydation dans les aliments

# Stratégie de mesure de l'oxydation (des lipides) dans les milieux complexes



**Adapter les méthodes au substrat**  
**pas de méthode 'universelle'**

**Choix des marqueurs selon:**

- Matrice / TT / Cible(s) de l'oxydation
- Objectif

**Combiner plusieurs méthodes**

→ Analyse sensorielle

Analyse instrumentale

**Extraction**  
**Délipidation**

Sans extraction

**Fluo F,**  
**Méthodes phys.**

Lipides / protéines / ... Extraits enrichis en produits d'oxydation

Totaux  
IP, DC, IA, ...

Fractions  
spécifiques

**TBA-rs, MDA**  
**Hpx/FOXII**  
**P. Volatils (HS ou spme)**

**Dérivatisation(s), fractionnement...**

**4-HHE, 4-HNE**

- **! Échantillonnage**
- **Conditions extractions**
- **Mode expression résultats**
- **Calibrage** (étalons int ou ext)

## ❖ L'oxydation dans les aliments

Enrichissement en oméga-3 et risques d'oxydation dans les aliments

**Tous les aliments enrichis en oméga-3 ne sont pas sensibles à l'oxydation**

### Lait et produits laitiers

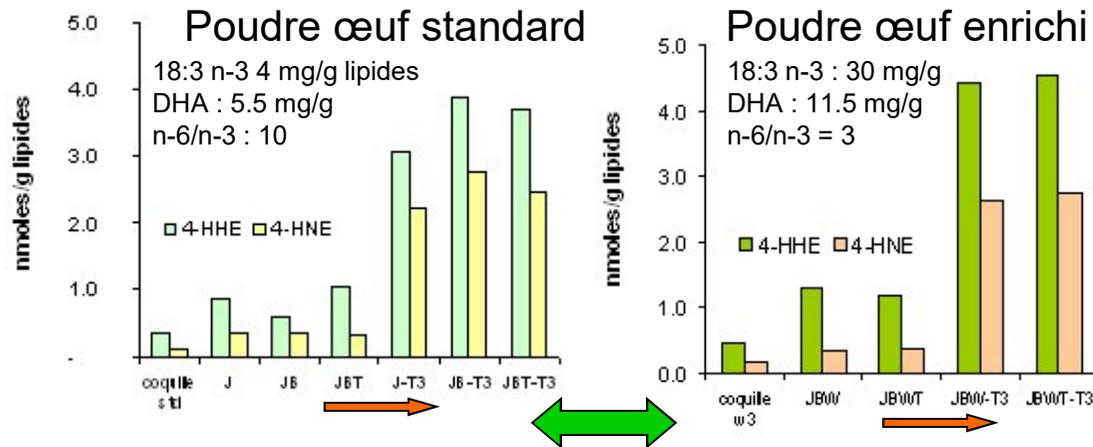
Naturellement enrichis en AG insaturés



Pas de formation significative de produits d'oxydation des lipides hors photooxydation

### Ovoproduits

Meynier, Anton et al.



Effets de la conservation

Pas d'effet de l'enrichissement

Peu d'effet du séchage

Programme Agilait



Programme LIPOVO

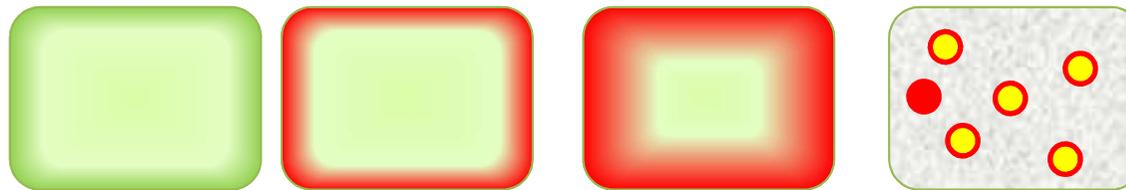


- ❖ (per)- Oxydation : substrats, mécanismes et produits d'oxydation

## Conclusion (1/4)

- Oxydation des lipides = réactions radicalaires en chaîne, consécutives et simultanées incluant des voies alternatives peu/pas prises en compte
- Nombreuses cibles de l'oxydation hors AGI (AOx, prot et AA)
- Produits de réaction nombreux, svt instables et réactifs
- Quantités produites (1 nmole/g → 10 μmole/g)
- ≠ produits non analysés
- Effets individuels, en mélanges et/ou cumulés ?

- Spacialité ?



- ❖ Mesurer la peroxydation (des lipides) dans les MG et les aliments

## Conclusion (2/4)

- Utilité (contrôle) mais limites des méthodes classiques
- Souvent globales
- Devt de méthodes quantitatives pour marqueurs spécifiques
- Pas de méthodologie 'clef-en main' utilisable pour tous les produits, dans toutes les situations ...
- **Utiliser / combiner plusieurs méthodes (>2 !)**
- Sélectionner/adapter méthodes analytiques et leur interprétation selon :
  - composition de la MP, - itinéraire technol, - objectif spécifique

Démarche 'classique' ...

*Approche réductionniste*

**insuffisante ??**

- ❖ Comprendre et mesurer la peroxydation dans les MG et les aliments

## Conclusion (3/4)

Vito M. Paradiso, A. Pasqualone, C. Summo, F. Caponio *Univ. Bari, Italy*

*“Everything Should Be as Simple as It Can Be.  
But Not Simpler. Does Food Lipid Oxidation  
Require an Omics Approach?”*

European Journal of Lipid Science and Technology, Volume: 120, Issue: 7, DOI: (10.1002/ejlt.201800103)

Cf E. Morin théorisation de la pensée  
complexe et des systèmes complexes

- ❖ Comprendre et mesurer la peroxydation dans les MG et les aliments

## Conclusion (4/4)

Pour l'avenir ...

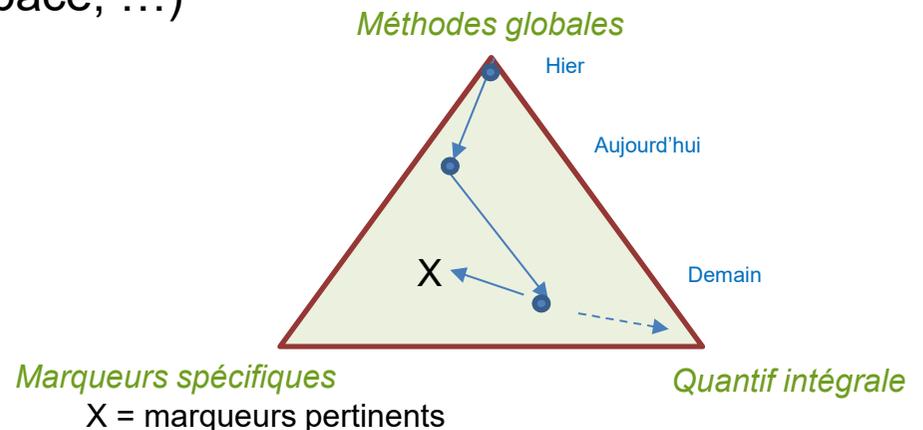
*Vers une approche holistique ?*

- Pister + systématiquement les différentes voies réactionnelles et produits de réaction y compris de co-oxydation des lipides (protéines, antioxydants, ...)  
Dans des produits réels (aliments)  
Dans des modèles physiques maîtrisés à ttes les échelles, de complexité variée
- Analyser et quantifier les espèces moléculaires individuelles (substrats et produits)
- Développer des méthodes (quantitatives, reproductibles, ...)
- Construire des bases de données partagées (+ Data mining)
- Modéliser – intégrer  $f(\text{temps, espace, ...})$
- Choisir les BONS marqueurs

*Approche 'omique' ?*

→ Lipido-réactomique / Réactomique

→ Oxydomique



# Personnes contact / ressource

bia

Biopolymères Interactions Assemblages

Nantes

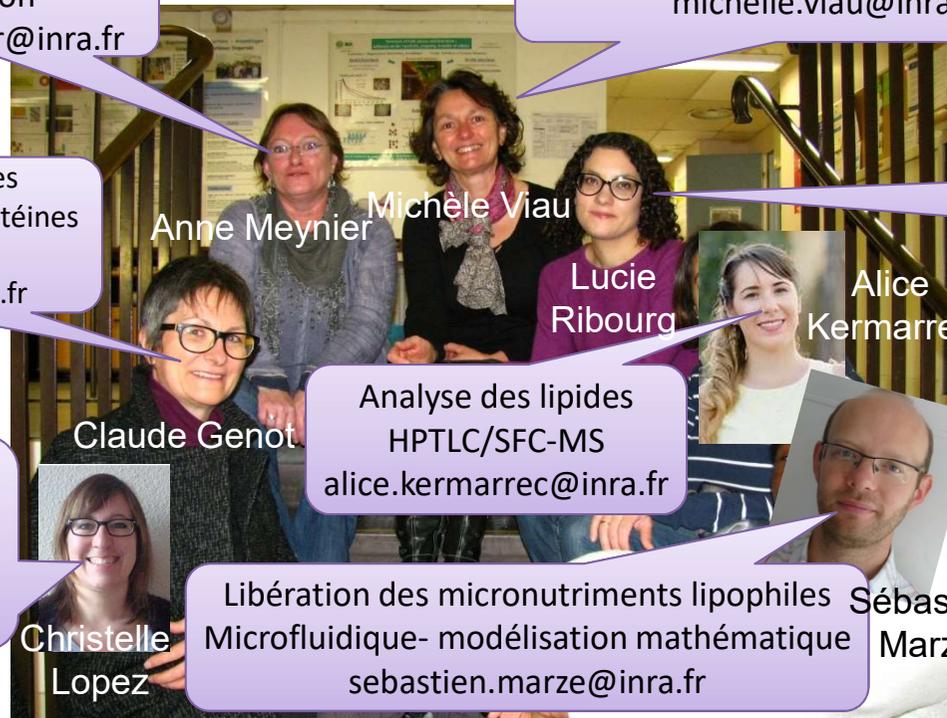
Unité de Recherche INRA 1268

Digestion des lipides et oxydation  
anne.meynier@inra.fr

Analyse des lipides/digestion in vitro  
michelle.viau@inra.fr

Lipides alimentaires  
Interactions lipides-protéines  
Oxydation  
claude.genot@inra.fr

Analyse des lipides,  
P. d'oxydation et antioxydants  
lucie.ribourg@inra.fr



Analyse des lipides  
HPTLC/SFC-MS  
alice.kerमारrec@inra.fr

Propriétés physiques des lipides (laitiers)/  
structures multiéchelles  
christelle.lopez@inra.fr

Libération des micronutriments lipophiles  
Microfluidique- modélisation mathématique  
sebastien.marze@inra.fr

Sébastien Marze



## Principaux équipements analytiques au service de nos thématiques

- 3 CPG-FID et 2 CPG-MS
  - Composition qualitative/quantitative AG
  - Quantification marqueurs spécifiques oxydation (MS)
  - Identification AG (Hydroxylés)
  - Analyse O<sub>2</sub> (TCD)
- 1 UHPLC-ELSD, 1 UHPLC-DAD, 1 UHPLC-Fluo
  - Classes lipides/Structures moléculaires TAG et PL
  - P. Oxydation ; Antioxydants
- 1 HPTLC
  - Classes lipides + collecte → MS



- 1 UPC<sup>2</sup> (CO<sub>2</sub> supercritique)/MS (2019)

- **UPLC-MS/MS, MALDI-TOF** : plateforme BIBS
  - Formulation et caractérisation à différentes échelles des interfaces et systèmes dispersés
  - Purification et caractérisation des protéines
- } **Équipe  
ISD**

Merci  
de votre aimable  
attention