

INFLUENCE DE L'INGESTION D'ANTIOXYGÈNES SUR LA COMPOSITION DE CERTAINS TISSUS ET SUR LA STABILITÉ DES GRAISSES DE RÉSERVE DU PORC ET DU POULET

PAR

A.-C. FRANÇOIS et Andrée PIHET

Avec la collaboration technique de Jacqueline THEVENOUX

Service de Biochimie et de Nutrition CNRZ, Jouy-en-Josas (S et O).

SOMMAIRE

L'influence de l'ingestion de divers antioxygènes sur leur accumulation éventuelle dans le muscle, les graisses de réserve (dorsale et périnéphrétique), le foie et le rein, ainsi que sur la résistance à l'oxydation des graisses de réserve, a été étudiée chez le porc et le poulet.

Les animaux recevaient dans leur ration soit 0,125 p. 100 de diphenyl-p-phénylènediamine (DPPD), soit 0,1 p. 100 de butylhydroxyanisole (BHA), de butylhydroxytoluène (BHT), de gallate de dodécyle, de gallate de propyle, ou d'acide nordihydroguaiarétique (NDGA).

Chez le porc, seul le DPPD est décelable dans les graisses de réserve (taux maximum trouvé : 0,0025 p. 100), et dans le rein (maximum 0,0006 p. 100). Chez le poulet, le DPPD s'accumule également dans les graisses de réserve, mais la concentration est plus faible (0,0007 p. 100) que dans la graisse de porc. En revanche, le BHT est stocké dans la graisse de poulet au taux de 0,006 p. 100.

L'étude de la stabilité des graisses de réserve des animaux témoins et des animaux traités confirme le résultat du dosage direct des antioxygènes. En effet, les graisses provenant des porcs ayant ingéré du DPPD et celles des poulets ayant reçu du BHT présentent une période d'induction beaucoup plus longue que celle des graisses d'animaux témoins.

Les conséquences technologiques et hygiéniques de ces observations sont discutées.

Certains antioxygènes naturels tels que les tocophérols, contenus normalement dans le régime alimentaire des animaux, sont capables d'accroître la résistance à l'oxydation des graisses de réserve. Ce fait a été démontré chez le rat (BARNES et al. 1943 ; LUNDBERG et al. 1944 ; HANSON et al. 1944 ; BURR, LUNDBERG et CHIPAULT 1946 ; LUNDBERG et al. 1947), le lapin (MAJOR et WATTS, 1948), le porc (CARPENTER et LUNDBERG 1949 ; CHIPAULT, LUNDBERG et BURR, 1945 ; WATTS, CUNHA et MAJOR, 1946), le poulet (MECCHI et al. 1956, a b ; HOOD, WHEELER et McGLAMERY, 1950), le dindon (MECCHI, POOL et KLOSE, 1953 ; CRIDDLE et MORGAN, 1951).

Les recherches portant sur d'autres antioxygènes et notamment sur les produits de synthèse sont peu nombreuses. Lorsque le présent travail a été entrepris, en 1957, l'un des rares travaux publiés portait sur le métabolisme de la diphényl-p.-phénylènediamine chez le poulet (PUDELIKIEWICZ et al. 1956). Un peu plus tard une courte étude sur le porc a été publiée (LYNCH, ANDERSON et LEWIS, 1958). Antérieurement BARNES et al. (1943) avaient montré que l'hydroquinone ingérée, loin de stabiliser les graisses de réserve du rat, provoquait au contraire une accélération de l'oxydation. Or, l'utilisation des antioxygènes en alimentation animale est le corollaire obligatoire de l'incorporation des graisses aux aliments. Ces substances peuvent être également utilisées pour la stabilisation des aliments contenant des graisses oxydables tels que les farines de poisson. On sait en effet, que l'oxydation des graisses alimentaires risque de provoquer, chez les animaux qui les ingèrent, des accidents nutritionnels dont l'origine résulte directement ou indirectement de la présence des produits d'oxydation. Ainsi, afin de prévenir certains de ces accidents tels que l'encéphalomalacie, on incorpore certains antioxygènes à la ration alimentaire des animaux.

Le présent travail a pour objet d'étudier chez le porc et le poulet quelles sont les conséquences de l'ingestion de divers antioxygènes sur la composition des tissus animaux consommés par l'homme.

MATÉRIEL et MÉTHODES

Antioxygènes utilisés — animaux

Les antioxygènes suivants ont été étudiés : gallate de propyle ; gallate de dodécyle ; butylhydroxytoluène (BHT) (ou dibutylparacrésol : DBPC) ; acide nordihydroguaiarétique (NDGA) ; butylhydroxyanisole (BHA) ; diphénylparaphénylènediamine (DPPD). La dose incorporée aux aliments était de 0,1 p. 100 pour tous les produits, sauf pour le DPPD qui était incorporé au taux de 0,125 p. 100. Ce taux correspond à dix fois

celui qui est généralement recommandé pour stabiliser les graisses alimentaires.

Pour les porcs, la durée d'administration du régime enrichi d'antioxygènes était de quatre mois environ (poids de 50 à 100 kg). Chacun des lots, dont un lot témoin, comprenait 6 animaux. Pour les poulets, l'expérience avait une durée de huit semaines. Chacun des lots comprenait 15 oiseaux.

Organes et tissus étudiés

Chez le porc, le lard dorsal était prélevé dès l'abattage. Les deux couches qui constituent ce tissu étaient séparées et analysées séparément. En outre, on prélevait les graisses périnéphrétiques (panne). Ces tissus gras étaient fondus sous atmosphère de CO₂, filtrés et centrifugés. Les déterminations suivantes étaient effectuées sur ces graisses : taux d'antioxygènes, indice d'iode, indice de peroxydes, test de stabilité. Ce dernier test était effectué à l'étuve 60°C, éclairée, selon une méthode recommandée par DESNUELLE et par WOLFF. Le muscle semi-tendineux, le foie et le rein faisaient également l'objet de prélèvements à des fins d'analyses. Chez le poulet, les graisses de réserve étaient souvent absentes, bien que nous ayons conduit les animaux jusqu'à 16 semaines, afin d'obtenir un engraissement suffisant. Nous n'avons donc pu étudier les réserves individuelles. Pour obtenir une quantité suffisante de graisses, nous avons dû réunir les prélèvements correspondant à deux ou trois animaux. Pour le tissu musculaire, les muscles pectoraux et les muscles de la patte ont été prélevés.

Dosage

Graisses

Les indices d'iode étaient déterminés selon la méthode de WIJS et les indices de peroxydes (Lea) par iodométrie.

Antioxygènes

La méthode de KAHAN (1954) à l' α - α' dipyridyl a été utilisée pour doser le NDGA et le BHA. Elle a été également appliquée au dosage des gallates. En effet, la ration de chacun des lots ne contenait qu'un seul antioxygène et, en conséquence, le manque de spécificité de la réaction, qui est un obstacle lorsque l'on a affaire à un mélange, ne présentait pas d'inconvénient. Il est nécessaire de tracer une courbe d'étalonnage pour chacune des séries de dosages mettant en œuvre cette réaction, quel que soit l'antioxygène dosé. Les lectures étaient effectuées au spec-

trophotomètre à 515 m μ ; le temps de réaction était de 30 mn pour le BHA et les gallates, et de 3 mn pour le NDGA. La modification introduite par ANGLIN, MAHON et CHAPMAN était appliquée pour le dosage du BHT (addition de n-butanol).

Pour le DPPD on préparait le dérivé nitré qui est dosé par colorimétrie (BUNNEL, 1954). Dans le cas du dosage de cet antioxygène dans les graisses, nous avons dû procéder à une saponification préalable, après avoir vérifié que celle-ci ne modifiait pas la validité du dosage (5 g de graisse, 2 g de KOH, 50 ml d'alcool, pendant une demi-heure à l'ébullition).

L'extraction des antioxygènes à partir des tissus et organes pose certains problèmes. En particulier, le BHT doit être entraîné par la vapeur surchauffée, selon la méthode de ANGLIN, MAHON et CHAPMAN (1956). Nous avons cependant trouvé que la température de distillation proposée par ces auteurs ne convenait pas ; elle doit être portée à 180°C afin d'obtenir une récupération quantitative de l'antioxygène.

Dans le cas des tissus gras, ceux-ci sont dissous dans l'éther de pétrole. L'antioxygène (BHA, NDGA, gallates) est réextrait par l'alcool 72 p. 100. Pour le muscle, l'extraction du BHA et des gallates s'effectue à l'aide d'éther de pétrole, au blender, selon la méthode de HANLEY (1954). Par ailleurs, la présence de gallates à des concentrations extrêmement faibles peut être détectée par addition de quelques gouttes d'ammoniaque concentré (WENGER, 1954).

RÉSULTATS

Validité des méthodes de dosage

Des tests de surcharge ont été effectués avec les différents antioxygènes étudiés, afin de déterminer la limite inférieure de sensibilité, ainsi que la validité du dosage. Ces surcharges ont été effectuées sur le tissu gras, sur le muscle, sur le foie et sur le rein. Les concentrations étudiées variaient de 0,001 p. 100 à 0,1 p. 100.

a) GRAISSE.

Les taux de récupération atteignent pour plusieurs antioxygènes des valeurs de l'ordre de 95 p. 100, même pour des concentrations aussi faibles que 0,001 p. 100.

Toutefois, la récupération est plus faible (90 p. 100 environ) pour ce qui concerne le gallate de propyle et le BHT. Dans ce dernier cas, la succession des opérations de dosage, qui comporte notamment un entraînement à la vapeur surchauffée, est vraisemblablement responsable de ce taux relativement faible. En aucun cas, il n'a été possible de

confirmer les résultats de ANGLIN, MAHON et CHAPMAN. En appliquant strictement la méthode proposée par ces auteurs, sans modifier la température de distillation, les taux de récupération ne dépassaient pas 50 à 60 p. 100.

b) MUSCLE ET ORGANES.

Les récupérations des surcharges sont également de l'ordre de 95 p. 100 pour ce qui concerne le muscle. Pour le rein et le foie, certaines difficultés se présentent pour le DPPD et le gallate de propyle. Enfin, nous avons dû renoncer à doser le BHT dans ces tissus au moyen de la méthode de ANGLIN, MAHON et CHAPMAN. En effet, la vapeur surchauffée entraîne des substances volatiles réductrices qui rendent impossible le dosage spécifique du BHT.

L'application de ces méthodes nous a permis d'obtenir les résultats réunis dans les tableaux I à IV. On a indiqué, pour le porc, les valeurs extrêmes et les valeurs individuelles. Pour le poulet, on trouve les teneurs moyennes et les teneurs correspondant aux graisses provenant de plusieurs animaux, pour la raison déjà mentionnée.

Passage des antioxygènes dans les tissus

Les méthodes étudiées ont été appliquées aux différents tissus et organes prélevés dans les conditions décrites ci-dessus.

Porc

TABLEAU I
Teneur en antioxygènes des tissus du porc

	Lard externe	Lard interne	Panne	Muscle	Foie	Rein	Sang
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100
Gallate de propyle	o	o	o	o	o	o	o
Gallate de dodécyle	c	o	o	o	o	o	o
BHA	o	o	o	o	o	o	o
NDGA	o	o	o	o	o	o	o
BHT	o	o	o	o	o	o	o
DBPC	o	o	o	o	o	o	o
DPPD	o à 0,0025	o à 0,0024	0,0012 à 0,0024	o	o	o à 0,0005	o

Les résultats du tableau I montrent que les antioxygènes qu'il est possible de doser dans de bonnes conditions ne s'accumulent pas dans le tissu adipeux, ni dans le muscle, ni dans le foie, ni dans le rein, ni dans le sang. L'acide gallique a été également recherché, car un essai effectué in-vitro a montré que les gallates sont rapidement hydrolysés par le contenu intestinal du porc. Par exemple, après incubation dans ce milieu, il est possible de retrouver quantitativement le BHA, alors que les gal-

lates disparaissent complètement. Or, les tests qualitatifs de l'acide gallique (Fe Cl_3) appliqués aux tissus gras et aux organes ont toujours été négatifs.

Un seul antioxygène, toutefois, fait exception à cette règle : il s'agit de la diphénylparaphénylènediamine (DPPD).

Les taux de DPPD trouvés dans le lard et dans la panne sont toutefois faibles en valeur absolue : 0,0025 p. 100 au maximum, soit 25 mg par kg de graisse. Notons que cette faible concentration suffit néanmoins à communiquer, dans certains cas, à la graisse une faible coloration rose. Nous verrons par ailleurs que cette concentration suffit également à en retarder considérablement l'oxydation.

TABLEAU II
Teneur de divers tissus du porc en DPPD
Valeurs individuelles

Porc	Lard externe	Lard interne	Panne	Foie	Muscle	Rein	Sang
	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p. 100
A	0,0022	0,0024	0,0024	0	0	0,0006	0
B	0	0,0014	0,0016	0	0	0,0006	0
C	0,0025	0,0024	0,0023	0	0	0	0
D	0,00094	0,00094	0,0012	0	0	0,0005	0
T	0	0	0,0023	0	0	0,0005	0
U	0,0022	0,0015	0,0024	0	0	0,0006	0

Il existe des variations individuelles dans la quantité d'antioxygènes contenue dans la graisse (tableau II). Enfin, parmi les autres tissus et organes, le rein est capable de retenir du DPPD ; la concentration trouvée est de l'ordre de 0,0005 p. 100, alors que ni le muscle, ni le foie, ni le sang ne contiennent de quantités dosables de cet antioxygène.

Poulet.

L'étude des tissus du poulet, résumée dans les tableaux III et IV

TABLEAU III
Teneurs moyennes en antioxygènes des tissus de poulets

	Graisse	Muscle	Foie
	p. 100	p. 100	p. 100
Gallate de propyle	0	0	0
Gallate de dodécyle	0	0	0
BHA	0	0	0
NDGA	0	0	0
BIIT	0,006	0	0
DPPD	0,0007	0	0

TABLEAU IV

Teneur des divers tissus du poulet en DPPD.

	Graisse	Muscle	Foie
	p. 100	p. 100	p. 100
Groupe 9 (3 poulets)	0,001	0	0
Groupe 10 (3 poulets)	0,0005	0	0
Groupe 11 (3 poulets)	0,0007	0	0
Groupe 12 (4 poulets)	0,0005	0	0

montre que deux antioxygènes sont capables de s'accumuler dans les graisses de ces oiseaux : le DPPD et le BHT.

Toutefois, le taux de DPPD retrouvé chez le poulet (0,0007 p. 100) est inférieur à celui qui a été trouvé chez le porc. Les concentrations sont deux à trois fois plus faibles dans le premier cas que dans le second. Ces résultats ont été confirmés par le fait que les graisses des oiseaux traités ne sont pas stabilisées, alors que la période d'induction est notablement accrue dans le cas du porc.

En revanche, le BHT (ou DBPC) qu'il n'avait pas été possible de mettre en évidence dans les graisses du porc, existe ici à une concentration aisément dosable (0,006 p. 100). Il s'agit bien de BHT ou de corps voisins, car la graisse d'animaux témoins ne donnait pas la réaction colorée du BHT. Enfin, comme dans le cas de DPPD chez le porc, ces dosages ont été confirmés par l'étude de la stabilité des graisses de réserve. La période d'induction des graisses des animaux ayant reçu du BHT était notablement augmentée.

Influence de l'ingestion d'antioxygènes sur la stabilité des graisses vis-à-vis de l'oxydation

La stabilité des graisses vis-à-vis de l'oxydation est fonction de deux facteurs principaux qui agissent en sens opposé : d'une part le taux d'acides gras insaturés et, d'autre part le taux d'antioxygènes.

Pour ce qui concerne le premier de ces facteurs, nous avons déterminé sur chacun des échantillons l'indice d'iode qui, en première approximation, donne une mesure de la quantité d'acides gras insaturés présents dans la graisse.

Les indices d'iode moyens des graisses de porc étudiées sont résumés dans le tableau V.

Les indices ne sont pas notablement modifiés dans la plupart des lots. En conséquence, l'addition d'antioxygènes aux rations ne risque donc pas de modifier considérablement le point de fusion des graisses.

TABLEAU V
Indice d'iode des tissus adipeux du porc

	Lard externe	Lard interne	Panne
Témoin	62,3	55,5	48,4
BHT (1)	62,5	50,9	47,5
BHT (2)	64,2	58,7	49,4
BHA	62,7	50,6	49,6
Gallate de Propyle.....	61,4	55,5	49,3
Gallate de Dodécyle	65,2	61,1	51,8
NDGA.....	62,8	57,0	49,2
DPPD.....	64,7	57,3	47,7

Toutefois, il existe une différence significative entre l'indice d'iode moyen du lot témoin et celui du lot DPPD. Il y aurait donc « épargne » des acides gras insaturés chez les animaux ayant ingéré l'antioxygène. Cette observation a déjà été faite par BRATZLER et al. (1950) qui étudiaient la composition des graisses de porcs. Chez les animaux recevant des tocophérols, il y avait accumulation d'acide oléique aux dépens des acides gras saturés. Toutefois, GARTON et al. (1958) n'ont pas confirmé ces résultats, et JOHNSON, O'HALLORAN et HEGWILL (1958) ont constaté une influence variable selon le taux de BHA contenu dans la ration.

Pour les antioxygènes, nous avons effectué le dosage direct dont les résultats sont mentionnés dans les tableaux I à IV. En outre, nous avons utilisé une méthode indirecte qui consiste à étudier la stabilité des graisses vis-à-vis d'une oxydation accélérée artificiellement. On étudie ainsi la cinétique de l'évolution du taux des peroxydes des graisses. Ces échantillons qui ont été prélevés sur des animaux ayant reçu des antioxygènes sont comparés d'une part aux graisses d'animaux témoins (sans antioxygènes) et, d'autre part à des échantillons de graisse de porcs témoins, additionnés de quantités connues de chacun des antioxygènes. Par comparaison de la durée des périodes d'induction, il est ainsi possible de déterminer l'ordre de grandeur de la teneur en antioxygènes du tissu gras.

Porc.

La figure 1 montre l'évolution de l'indice de peroxydes des graisses maintenues à 60°C. Nous avons calculé la moyenne des durées (en heures) nécessaires pour atteindre des indices de peroxydes égaux à 5, 10 et 20. Cette courbe concerne le lard interne.

Par ailleurs, les figures 2 et 3 indiquent l'évolution de graisses témoins enrichies de quantités données d'antioxygènes : 0,001 p. 100 et 0,0001 p. 100.

La figure 1 (1) montre très clairement que le DPPD ingéré par l'animal stabilise considérablement les graisses de réserve vis-à-vis de

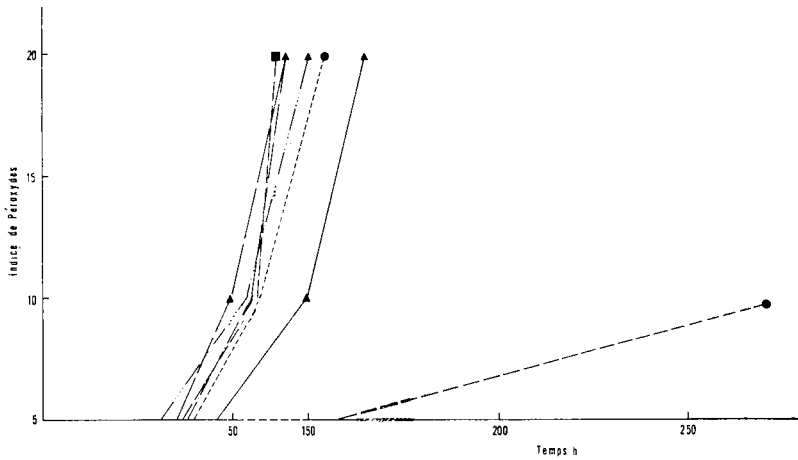


FIG. 1. — Évolution de l'indice de peroxydes d'échantillons de lard interne de porc (animaux ayant ingéré les différents antioxygènes).

- — — — — — témoin
- ▲ — · · · · · NDGA
- ▲ — — — — — BHA
- ▲ — · · · · · Gallate de dodecyle
- — · · · · · Gallate de oylpre
- ▲ — — — — — BHT
- — — — — — DPPD

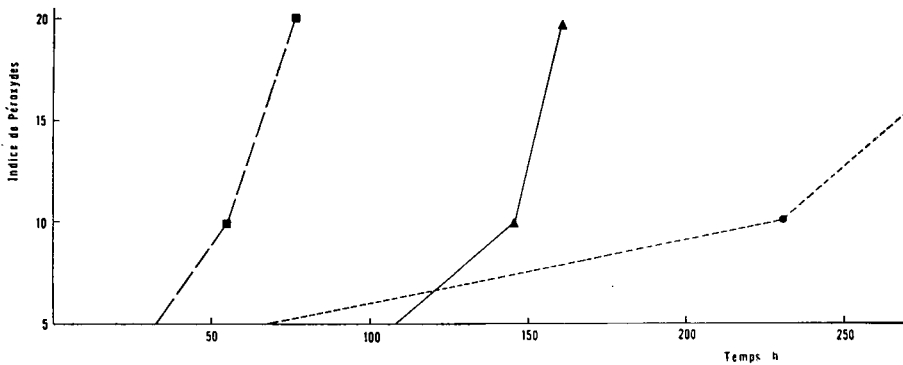


FIG. 2. — Évolution de l'indice de peroxydes de lard interne de porc additionné de 0,001 p. 100 de DPPD ou de BHT.

- — — — — — témoin
- ▲ — — — — — BHT
- — · · · · · DPPD

l'oxydation. Par ailleurs, la figure 2 montre que l'addition de 0,001 p. 100 de DPPD permet d'atteindre un indice de peroxydes égal à 10 en 200 heures environ ; la valeur 20 est atteinte en 300 heures. Or, c'est l'ordre de grandeur des valeurs relevées sur la figure 1. On peut en conclure que l'ordre de grandeur de la concentration en DPPD est 0,001 p.100, alors que le dosage direct aboutit à un taux compris entre 0,0012 et 0,0025 p. 100. L'étude de la cinétique du taux de peroxydes confirme donc le résultat du dosage direct.

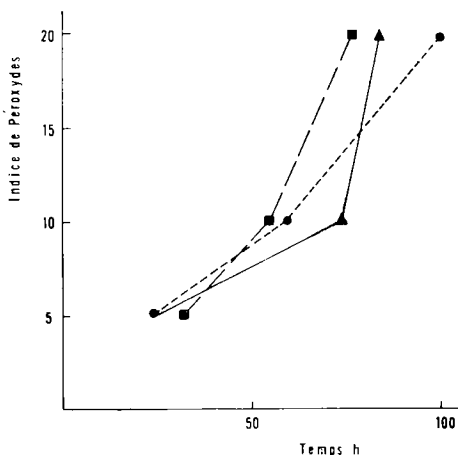


Fig. 3 — Évolution de l'indice de peroxydes de lard interne de porc additionné de 0,0001 p.100 de DPPD ou de BHT.

■ — — — ténion
 ▲ — — — BHT
 ● — — — DPPD

Les lards internes du lot ayant reçu le BHT semblent légèrement stabilisés par rapport aux autres lots. L'étude de la figure 2 montre également que le BHT ajouté aux graisses à la dose de 0,001 p. 100 conduit à l'apparition d'un indice de peroxydes égal à 20 après environ 160 heures. Toutefois, la comparaison des figures 1 et 3 permet de conclure que le taux d'antioxygènes éventuellement stocké dans la graisse serait inférieur à 0,001 p. 100, et vraisemblablement voisin de 0,0001 p. 100 (indice 20 après 80 heures). En conséquence, on peut présumer un léger passage de BHT, mais en quantité trop faible pour qu'il puisse être mis en évidence au moyen d'un dosage chimique.

Pour les autres antioxygènes, il est impossible de mettre en évidence une stabilisation significative des graisses. Le gallate de propyle, toutefois, accroît la période d'induction, bien qu'il soit impossible de le mettre en évidence par dosage. Ceci peut être dû à la sensibilité du dosage, ou bien à un effet indirect ; en effet, l'antioxygène de synthèse ajouté au régime pourrait provoquer une « épargne » d'antioxygènes naturels tels

que les tocophérols. Toutefois, dans la plupart des cas, le dosage direct dans le tissu permet d'écartier cette hypothèse. Dans le cas du gallate de propyle, il pourrait s'agir de la présence d'un produit de transformation de cette substance, différent de l'acide gallique, puisque la réaction avec FeCl_3 était négative.

Poulet.

L'indice d'iode des graisses de poulet est notablement plus élevé (67 à 72) que celui des graisses de porc. Par ailleurs, le taux du DPPD est 3 à 4 fois plus faible que celui qui correspond aux graisses de porc. Or, ces deux caractéristiques modifient l'efficacité de l'antioxygène. En effet, les graisses des poulets du lot DPPD ne sont pratiquement pas stabilisées. En revanche, le BHT, que nous avons par ailleurs dosé au taux de 0,006 p. 100, stabilise considérablement les graisses du poulet (fig. 4). Les deux méthodes, directe et indirecte, donnent ainsi par recoupement un renseignement comparable.

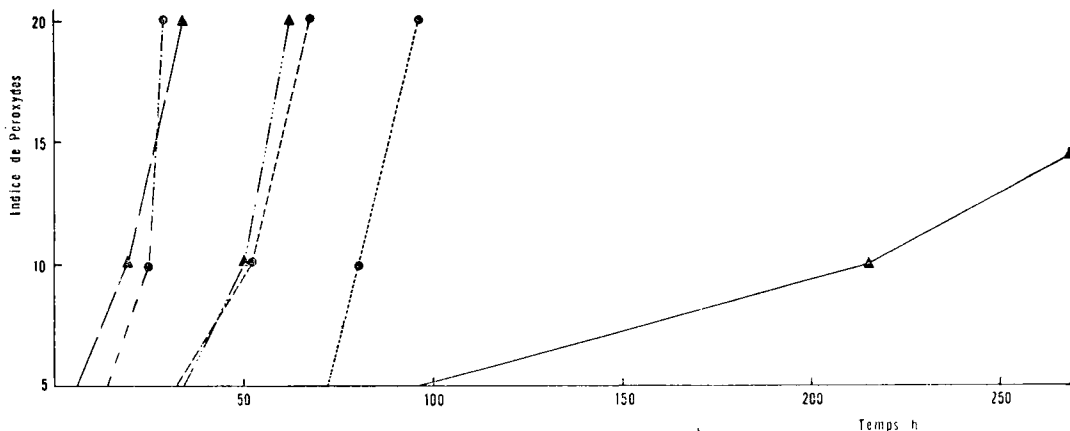


FIG. 4. — Évolution de l'indice de peroxydes d'échantillons de graisse de poulets (animaux ayant ingéré les différents antioxygènes).

- | | |
|----------------------------|---------------------------|
| ▲..... NDGA | ▲..... Gallate de propyle |
| ▲---- BHA | ●..... BHT |
| ●..... Gallate de dodecyle | ●----- DPPD |

DISCUSSION

Les résultats obtenus au cours de ces recherches ont ainsi permis de mettre en évidence le passage de certains antioxygènes dans les productions animales. Ce passage concerne essentiellement le tissu gras dans lequel, chez le porc, le DPPD est seul pratiquement capable de se stocker. Chez le poulet, le DPPD est également capable de franchir la barrière intestinale et de s'accumuler dans les graisses. Il en est de même pour le BHT, mais la concentration de cet antioxygène atteint

des valeurs très supérieures à celles qui correspondent au DPPD. Les taux trouvés sont toutefois faibles en valeur absolue : l'ordre de grandeur est au maximum de 0,005 p. 100.

Il convient également de souligner que le taux de 0,1 ou de 0,125 p. 100 d'antioxygène incorporé aux régimes expérimentaux est dix fois plus élevé que celui qui est recommandé pour stabiliser les graisses. Toutefois, la stabilisation de certains aliments (farines animales notamment) peut exiger des concentrations élevées d'antioxygènes. De même, le taux d'incorporation d'antioxygènes aux aliments destinés aux volailles, afin de prévenir l'encéphalomalacie peut être relativement élevé. Néanmoins, les concentrations que nous avons utilisées dans ces régimes constituent un maximum qui ne serait pas atteint dans la pratique. En conséquence, on peut présumer que les taux retrouvés dans les tissus seraient notablement plus faibles que ceux que nous avons observés.

Néanmoins, l'utilisation des antioxygènes dans l'alimentation des animaux pose un problème qui présente un double aspect. Du point de vue de la technologie des produits animaux, l'accumulation de certains antioxygènes dans les tissus, et notamment dans les tissus gras, constitue un facteur favorable puisqu'elle a pour corollaire une meilleure résistance à l'oxydation de ces graisses. Toutefois, pour l'hygiéniste, il est indispensable d'exiger que l'antioxygène présent dans les tissus ne présente aucun inconvénient pour le consommateur de viande de porc ou de poulet. Or, on connaît maintenant la toxicité du DPPD (AMES et al., 1956) ; OSER et OSER (1956) ont montré que cet antioxygène provoque un accroissement de la durée de la gestation chez la rate, et qu'il en résulte une forte mortalité chez les mères et les jeunes. En revanche, il paraît bien établi que le BHT est un corps très peu toxique (DEICHMAN et al., 1955).

Compte tenu de la stabilité soit du DPPD, soit du BHT, vis-à-vis des agents chimiques, il y a de fortes présomptions pour que la molécule de ces corps n'ait pas été modifiée au cours de l'absorption intestinale, et du transport.

Par ailleurs, la bonne concordance qui existe entre le dosage direct des antioxygènes et la période d'induction des graisses permet de renforcer cette opinion. Toutefois, le problème des produits de transformation des produits ingérés ne doit pas être minimisé. JOHNSON, O'HALLORAN et HEGWILL (1959) ont souligné les difficultés qui s'attachent à l'identification de ces produits.

SUMMARY

The influence of the ingestion of various antioxidants on their final accumulation in muscle, reserve fats (dorsal and perinephric), liver and kidney, and on the resistance to oxidation of the reserve fats, has been studied in the pig and the chicken.

The animals received in the ration either 0,125 p. 100 diphenyl-p. phenyl-

lenediamine (DPPD) or 0,1 p. 100 butylated hydroxyanisole (B. H. A.), butylated hydroxytoluene (BHT), dodecyl gallate, propyl gallate, or nordihydroguaiaretic acid (NDGA).

The experiment lasted four months for the pig and eight weeks for the chicken. The BHA, NDGA and gallates were extracted with petroleum ether and reextracted with 72 p. 100 alcohol. They were determined by means of the FeCl_3 -dipyridyl reaction (KAHAN, 1954). The BHT was distilled over with superheated steam, at 180°C (modification of the method of ANGLIN, MAHON, CHAPMAN, 1956) and also determined colorimetrically. The DPPD was extracted after saponification of the fatty tissue and its nitrated derivative determined by colorimetry. (BUNNEL, 1954).

In the pig, only DPPD is detectable in the reserve fats (maximum amount found : 0,0025 p. 100, (Tables I and II), and in the kidney (maximum 0,0006 p. 100). In the chicken, DPPD also accumulates in the reserve fats, but the concentration is lower (0,0007 p. 100) than in the fat of the pig (Table III). On the other hand, BHT is stored in the fat of the chicken at a level of 0,006 p. 100.

The study of the stability of reserve fats (development of the peroxide index, in an oven regulated at 60°C and illuminated) of control and treated animals confirms the result of direct determination of the antioxidants. Indeed, the fats of pigs which had ingested DPPD (fig. 1) and those of chickens which had received BHT (fig. IV) show an induction period which is much longer than that of the fats of control animals. However, one observes induction periods of the same order of magnitude on the addition of known quantities of BHT or DPPD (0,001 and 0,0001 p. 100) to the fats of control pigs (fig. 2 and 3).

The technological and hygienic consequences of these observations are discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMES S. R., LUDWIG M. I., SWANSON W. J. and HARRIS P. L., 1956. Effect of DPPD, methylene blue, BHT, and hydroquinone on reproductive process in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **93**, 39.
- ANGLIN C., MAHON J. H. and CHAPMAN R. A., 1956. Determination of antioxidants in edible fats. *Agric. Food Chem.*, **4**, 1018.
- BARNES R. H., LUNDBERG W. O., HANSON H. T. and BURR G. O., 1943. The effect of certain dietary ingredients on the keeping quality of body fat. *J. Biol. Chem.*, **149**, 313.
- BRATZLER J. W., LOOSLI J. K., KRUKOVSKI V. N. and MAYNARD L. A., 1950. Effects of the dietary level of tocopherol on their metabolism in swine. *J. Nutr.*, **42**, 59.
- BUNNEL R. H., 1954. The determination of diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) in feeds. Progress report 7 — July, Department of Poultry Science — Storrs Agricultural Experiment Station — Connecticut.
- BURR G. O., LUNDBERG W. O. and CHIPAULT J. R., 1946. The role of various substances in stabilizing animal tissues. *Oil and Soap*, **23**, 382.
- CARPENTER L. E. and LUNDBERG W. O., 1949. Effect of tocopherols on vitality of pigs in relation to « baby pig disease ». *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **52**, 269.
- CHIPAULT J. R., LUNDBERG W. O. and BURR G. O., 1945. The chemical determination of tocopherols in animal fats : the stability of hog fats in relation to fatty acid. Composition and tocopherol contents. *Arch. Biochem.*, **8**, 321.

- CRIDDLE J. E., and MORGAN A. F., 1951. Effect of tocopherol feeding on the composition of turkey tissues. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **78**, 41.
- DEICHMAN W. B., CLEMMER J. J., RAKOCZY R. and BIANCHINE J., 1955. Toxicity of ditertiarbutylmethylphenol. *Arch. Ind. Health*, **11**, 93.
- GARTON G. A., DUNCAN W. R. H., MARSDEN K. A., SHANKS P. L. and BEATTLE I. S., 1958. Observations on feeding pigs on a low-fat diet with and without supplementary tocopherol. *Brit. J. Nutr.*, **12**, 97.
- HANLEY J. W., 1953. Antioxidant treatment of bacon. *Food Techn.*, **7**, 429.
- HANSON H. T., BARNES R. H., LUNDBERG W. O. and BURR G. O., 1944. The deposition of antioxidants in the abdominal fat depots. *J. Biol. Chem.*, **156**, 673.
- HOOD M. P., WHEELER R. S. and MCGLAMERY J. B., 1950. Oxydative changes in estrogen stimulated fat and the influence of natural tocopherol on stability of fats in normal chickens. *Poult. Sci.*, **29**, 824.
- JOHNSON A. R., O'HALLORAN M. W. and HEWGILL F. R., 1959. Phenolic antioxidants and the stability of perirenal rat fat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **35**, 496.
- KAHAN S., 1954. Determination of nordihydroguaiaretic acid and butylated hydroxyanisole. *J. Ass. off. agric. Chem. Wash.*, **37**, 828.
- LUNDBERG W. O., BARNES R. H., CLAUSEN M. and BURR G. O., 1944. The deposition and storage of α -tocopherol in abdominal fats. *J. Biol. Chem.*, **153**, 265.
- LUNDBERG W. O., BARNES R. H., CLAUSEN M., LARSON N. and BURR G. O., 1947. The deposition and antioxygenic behavior of α , β , and γ -tocopherols in rat fats. *J. Biol. Chem.*, **168**, 379.
- LYNCH G. P., ANDERSON G. C. and LEWIS W. R., 1958. Stabilization of hog carcass fats by the addition of antioxidants to the ration. *J. Anim. Sci.*, **17**, 1151.
- MAJOR R. and WATTS B. M., 1948. The relation of fed and injected tocopherols to development of rancidity in the stored meat and utilization of carotene by the rabbit. *J. Nutr.*, **35**, 103.
- MECCHI E. P., POOL M. F. and KLOSE A. A., 1953. The role of tocopherol content in the stability of chicken and turkey fats. *Poult. Sci.*, **32**, 915.
- MECCHI E. P., POOL M. F., BEHMAN G. A., HAMACHI M. and KLOSE A. A., 1956 a. The role of tocopherol content in the comparative stability of chicken and turkey fat. *Poult. Sci.*, **35**, 1238.
- MECCHI E. P., POOL M. F., NONAKA N., KLOSE A. A., MARSDEN S. J., LILLIE R. J., 1956 b. Further studies on tocopherol content and stability of carcass fat of chickens and turkeys. *Poult. Sci.*, **35**, 1246.
- OSER B. L. and OSER M., 1956. Inhibitory effect of feed grade diphenyl-p-phenylenediamine (DPPD) on parturition in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **4**, 796.
- PUDELKIEWICZ W., POTTER L. M., MATTERSON L. D. and SINGSSEN E. P., 1956. A semi quantitative method for the determination of DPPD in chicken fat and eggs. *Poult. Sci.*, **35**, 959.
- WATTS B. M., CUNHA T. J. and MAJOR R., 1946. Effect of feeding and injecting hogs with tocopherols on the susceptibility of pork fat to rancidity. *Oil and Soap*, **23**, 254.
- WENGER von F., 1954. Antioxydantien in Fetten und Olen. Einfache Nachweismethoden für Antioxydantien. *Mitt. Gebensm. Hyg., Bern*, **45**, 383.