HAL open science

Comment la structure des gels laitiers régule-t-elle la biodisponibilité des acides aminés ?

Didier Dupont, Olivia Ménard, Steven Le Feunteun, Didier Remond

To cite this version:

Didier Dupont, Olivia Ménard, Steven Le Feunteun, Didier Remond. Comment la structure des gels laitiers régule-t-elle la biodisponibilité des acides aminés ?. Innovations Agronomiques, 2014, 36, pp.57-68. 10.17180/tvsa-ks24 . hal-01195475

HAL Id: hal-01195475

https://hal.science/hal-01195475v1

Submitted on 27 May 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.

Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Innovations Agronomiques 36 (2014), 57-68

Comment la structure des gels laitiers régule-t-elle la biodisponibilité des acides aminés ?

Dupont D.[1,2], Ménard O.[1,2], Le Feunteun S.[3,4], Rémond D.[5,6]

[1] INRA, UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, F-35042 Rennes
[2] Agrocampus Ouest, UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, F-35042 Rennes
[3] INRA, UMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, F-78850 Thiverval Grignon
[4] AgroParisTech, UMR782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, F-78850 Thiverval Grignon
[5] INRA, UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, F-63122 Saint Genès Champanelle
[6] Clermont Université, Université d'Auvergne, UMR 1019 Unité de Nutrition Humaine, F-63000 Clermont Ferrand

Correspondance: didier.dupont@rennes.inra.fr

Résumé

L'impact de la structure de l'aliment sur ses propriétés nutritionnelles est encore mal connu. L'objectif de ce travail était de voir si des gels laitiers de composition identique obtenus par des procédés de gélification différents présentaient des cinétiques de digestion des protéines et de mise à disposition d'acides aminés plasmatiques différentes. A partir d'un lait écrémé traité thermiquement (90°C/10 min), un gel acide et un gel présure de composition identique ont été conçus. Ces deux gels présentent des microstructures similaires (diamètre des pores 0.8 µm) et des propriétés rhéologiques voisines (facteur de perte tan δ identiques). Ces deux matrices ont été données à des mini-porcs adultes équipés de canules duodénale et jéjunale et d'un cathéter sanguin. Il ressort que les cinétiques de digestion des protéines laitières dépendent directement du temps de résidence de ces aliments dans l'estomac, lui-même piloté par la structure du gel. Les gels acides présentent un temps de résidence plus court dans l'estomac que les gels présure. Le nombre de peptides identifiés dans la lumière intestinale tout au long des 7h de digestion était 3 fois supérieur pour le gel acide que pour le gel présure (4349 vs 1443). Le gel acide provoque l'apparition d'un pic précoce et massif d'acides aminés essentiels dans le plasma. Le gel présure semble induire plus de satiété que le gel acide. Des données supplémentaires obtenues *in vitro* et *in silico* ont permis de mettre en évidence une forte agglomération de particules de caséines dans l'estomac pour le gel présure entrainant un temps de séjour supérieur ainsi qu'une contraction du réseau protéique suivie d'une expulsion de lactosérum (synérèse) provoquant une vidange rapide des protéines sériques.

Mots-clés: produits laitiers, protéine, digestion, structure, satiété, sarcopénie

Abstract: Impact of food structure on digestion; the case of dairy products

Little is known about the effect of the structure on the nutritional properties of food. The objective of this work was to determine if dairy gels of identical composition but obtained through different gelation process exhibited different protein kinetics of digestion and amino acid release in plasma. Using a heat-treated milk (90°C/10 min), an acid and a rennet gel were manufactured. These two gels exhibited similar microstructure (mean pore diameter of 0.8µm) and rheological properties (identical loss factor tan δ). Multi-canulated (duodenum and jejunum) adult mini-pigs bearing blood catheters were fed these matrices. Milk protein kinetics of digestion were directly related to the time of residence of the matrices in the stomach that was driven itself by the gel structure. Acid gels showed a lower time of residence in the stomach than the rennet one.

Number of peptides identified in the intestinal lumen throughout the 7h of digestion was 3 times higher for the acid gel (4349 vs 1443). The acid gel caused a fast and sharp increase of essential amino acids in the plasma. Rennet gel induced more satiety than acid ones. Supplementary data obtained *in vitro* and *in silico* showed a strong casein particle aggregation in the stomach for rennet gel leading to a higher time of residence and a contraction of the protein network followed by an expulsion of whey (syneresis) causing a rapid gastric emptying of the whey proteins.

Keywords: Dairy, protein, digestion, structure, satiety, sarcopenia

1. L'impact de la structure de l'aliment sur ses propriétés nutritionnelles reste peu étayé

L'impact de la structure des aliments sur leurs propriétés biologiques et nutritionnelles est un sujet d'intérêt récent. La digestion est un processus complexe faisant intervenir plusieurs mécanismes, tels que l'hydrolyse des macronutriments, leur vidange gastrique et leur transit dans l'intestin, la libération de leurs produits d'hydrolyse et l'absorption finale de leurs constituants élémentaires. Tous ces mécanismes sont susceptibles d'être modifiés par la structure de l'aliment ingéré.

1.1 Que sait-on sur la digestion des protéines laitières ?

Le lait est l'un des aliments majeurs en nutrition humaine et les protéines laitières sont connues pour leur apport en acides aminés essentiels. Elles sont également réputées pour être très digestibles et apparaissent comme des sources intéressantes de nutriments (acides aminés) mais aussi de constituants porteurs d'activités biologiques tels que des peptides bioactifs.

Le lait renferme deux grands types de protéines : les caséines et les protéines solubles du lactosérum (β-lactoglobuline, α-lactalbumine, albumine sérique bovine, immunoglobulines). Ces deux familles de protéines sont opposées en termes de structure. Les caséines sont en effet des protéines peu structurées, très flexibles, non cristallisables et, de ce fait, leur structure tridimensionnelle demeure inconnue. A l'inverse, les protéines du lactosérum sont globulaires et leur structure 3D a été parfaitement établie. La coagulation des caséines dans l'estomac de l'homme adulte ralentit leur vidange et métabolisme ; on parle donc de protéines lentes à l'inverse des protéines sériques qui sont solubles, rapidement vidangées de l'estomac et métabolisées (Boirie *et al*., 1997).

Le lait peut être transformé et valorisé en de nombreux produits, tels que les yaourts ou les fromages. Les yaourts résultent d'une coagulation acide du lait par l'abaissement du pH via l'activité de bactéries lactiques. Les fromages eux résultent d'une transition liquide-gel opérée par les enzymes coagulantes (chymosine et pepsine) de la présure.

La plupart des études portant sur la digestion de gels laitiers se sont limitées à la comparaison des cinétique de digestion des gels avec celle d'équivalents liquides (Gaudichon *et al*., 1994 ; Barbé *et al*., 2013). Au vu de ces études, il apparait clairement que la gélification du lait entraine une plus longue rétention de l'aliment dans l'estomac ralentissant la vidange gastrique. Les cinétiques d'hydrolyse des protéines laitières et de mise à disposition des acides aminés dans le plasma sont ralenties par la transition liquide-gel. Toutefois, à ce jour, aucune étude n'a comparé l'impact du procédé de gélification sur la digestion des protéines du lait.

1.2 L'objectif du travail

Dans le contexte des études de nutrition visant à faire le lien entre la structure de l'aliment et la biodisponibilité des nutriments, les deux objectifs de ce travail étaient de :

1) élucider les cinétiques et les mécanismes sous-tendant plusieurs étapes de la digestion/absorption des protéines laitières, β-lactoglobuline prise comme modèle des protéines sériques et caséines, du compartiment gastrique au compartiment sanguin, en déterminant l'influence de la structure de gels laitiers sur les processus digestifs suivants: transit gastro-intestinal, hydrolyse des protéines, formation des peptides et absorption des acides aminés dans le compartiment sanguin

2) modéliser les phénomènes cités précédemment afin de reproduire les résultats observés *in vivo* et d'apporter des connaissances physiologiques concernant des paramètres difficilement mesurables expérimentalement, tels que l'influence de la structure de la matrice laitière sur la réponse physiologique de l'individu (par exemple la quantité de sécrétions gastriques) ou sur le devenir de l'aliment lui-même (par exemple la quantité de protéines restant dans l'estomac ou étant absorbées au niveau intestinal au cours du temps, déterminant ainsi la digestibilité). Le but à plus long terme de ce travail de modélisation est le développement d'un modèle mathématique prédictif permettant de simuler le transit (et donc la rétention gastrique) du bol alimentaire, la dégradation des protéines, et au bout de la chaîne digestive, la cinétique d'absorption et la biodisponibilité de certains acides aminés en fonction des paramètres de structure de l'aliment ingéré.

1.3 La stratégie développée

La stratégie employée est présentée Figure 1. Une poudre de lait écrémé Ultra Low Heat a été réhydratée avec 1 litre d'eau Milli-Q, puis le lait écrémé ainsi obtenu a été traité thermiquement par un chauffage à 90°C pendant 10 min. Le gel acide a été obtenu par coagulation pendant 24h à 20°C avec 3% (w/w) de glucono-δ-lactone. Le gel présure a été obtenu par coagulation pendant 24h à 20°C avec 0.3% (v/w) de présure commerciale (DSM Maxiren 180).

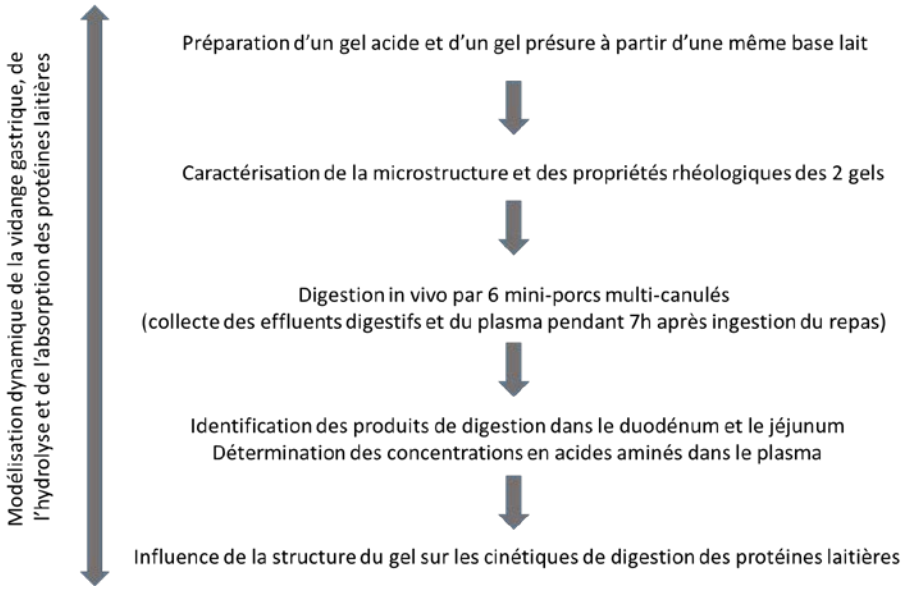

Figure 1 : Schéma de la stratégie adoptée dans l'étude et ses étapes-clés.

Lors de la préparation de ces deux gels, un marqueur non-absorbable et non-hydrolysable de la phase liquide du bolus (le chrome-EDTA) a été ajouté afin de mesurer la vidange gastrique du repas. Ces matrices ont ensuite été distribuées à 6 mini-porcs femelles adultes âgées de 18 mois et pesant 20 ± 1 kg. Trois semaines avant l'expérimentation, les porcs ont subi une opération chirurgicale afin de leur implanter deux canules en caoutchouc de silicone en forme de T (diamètre interne : 12 mm, diamètre externe : 17 mm) au niveau du duodénum (10 cm en aval du pylore) et du jéjunum moyen (environ 3 m

en aval du pylore), ainsi qu'un cathéter en chlorure de polyvinyle (diamètre interne : 1.1 mm, diamètre externe : 1.9 mm) dans l'aorte abdominale (7 cm à l'intérieur du vaisseau sanguin) (Figure 2).

Figure 2 : Mini-porcs multi-canulés

Les porcs étaient logés dans des cages individuelles (1×1.5 m) dans une pièce ventilée et à température contrôlée (21°C). Entre les jours de prélèvements, ils étaient nourris une fois par jour avec 400 g d'un aliment concentré contenant 16% de protéines, 1% de matière grasse, 4% de cellulose et 5% de matière minérale (Porcyprima, Sanders Centre Auvergne, Aigueperse, France) et avaient un accès libre à l'eau. Le protocole expérimental incluait deux périodes : la première pour le prélèvement des effluents digestifs et la seconde pour le prélèvement des plasmas sanguins. Dans chacune des périodes, les deux gels laitiers ont été testés sur chaque mini-porc et les jours de prélèvements étaient séparés d'au moins deux jours. Les repas fraîchement préparés (1 kg) ont été laissés pour ingestion pendant 10 min dans des gamelles en aluminium (Figure 2) et ont toujours été complètement ingérés dans ce laps de temps. Les porcs n'avaient pas accès à l'eau de 1h avant le repas jusqu'à 7h après sa distribution. Le prélèvement des effluents duodénaux et jéjunaux a été réalisé le même jour. Les effluents ont été prélevés dans des flacons en plastique plats accrochés à la canule (Figure 2) 30 min avant et 0 min (en cours d'ingestion de la matrice laitière), 20 min, 50 min, 1h45, 2h45, 3h45, 5h15 et 6h45 après le début de l'ingestion du repas pour le duodénum et 15 min avant et 15 min, 35 min, 1h05, 1h30, 2h30, 3h30, 5h et 6h30 après le début de l'ingestion du repas pour le jéjunum. Le prélèvement était arrêté lorsque 40 mL étaient collectés ou après 10 min de prélèvement maximum.

Les effluents prélevés ont été pesés, additionnés d'un inhibiteur de protéase (0.37 mg de phénylméthanesulfonylfluoride/mL) et homogénéisés avec une hélice. Une première fraction (environ 5 g) a été utilisée pour la détermination de la matière sèche, une seconde fraction (environ 20 g) a directement été congelée dans l'azote liquide et conservée à -20°C pour les analyses ultérieures (SDS-PAGE, ELISA, LC-MS/MS) et la fraction restante a été lyophilisée pour l'analyse de la concentration en chrome. Le prélèvement sanguin a été réalisé dans des seringues contenant de l'héparine lithium comme anticoagulant (S-monovettes, 2.7 mL, Sarstedt, Marnay, France) 60 et 30 min avant et 15 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 5h30 et 7h après le début de l'ingestion du repas. Trente mL de sang ont été prélevés par jour, soit 60 mL en une semaine, ce qui représente environ 4% du volume sanguin des animaux. Les échantillons sanguins ont ensuite été centrifugés à 3000g pendant 10 min à 4°C et les surnageants (plasmas) ont été congelés dans l'azote liquide et conservés à -80°C.

Sur les différents graphiques de présentation des résultats au niveau duodénum, le point 30 min avant ingestion est ramené à 0 min et le point 0 min est déplacé vers 4 min car il correspond à un prélèvement en cours d'ingestion du repas. La digestion des protéines laitières a été déterminée dans les effluents par l'analyse de la concentration en protéines résiduelles et la formation des peptides générés par l'hydrolyse et dans les plasmas par la concentration en acides aminés absorbés. La

vidange gastrique de l'aliment a été déterminée en parallèle par la mesure de la concentration en chrome dans les effluents duodénaux. Une première approche pour évaluer l'influence potentielle de la gélification présure sur la satiété a par ailleurs été menée en mesurant les concentrations en hormones orexigénique (ghréline) et anorexigénique (cholécystokinine) dans les plasmas.

L'approche originale de ce travail a consisté à construire un modèle mathématique de plus en plus complexe au fur et à mesure de l'acquisition des données biologiques expérimentales et en interaction avec celles-ci.

2. Caractérisation de la structure des matrices

2.1 Analyses rhéologiques

La formation des gels a été suivie en mesurant le module élastique (G'), le module visqueux (G'') et le facteur de perte tan δ comme décrit précédemment (Morand *et al*., 2011). Les propriétés rhéologiques des gels ont été suivies par des tests de compression comme précédemment décrit par Barbé *et al.* (2013). Après 24h de coagulation, le gel acide montre un module élastique de 450 Pa, plus élevé que celui du gel présure qui est à 110 Pa (Figure 3). Cependant, les deux gels présentent les mêmes valeurs de tan δ qui représente le ratio entre les propriétés visqueuses et élastiques du gel. La gélification commence après 2h pour le gel acide et 3h pour le gel présure. Les gels montrent un point de rupture à 625 mN pour le gel acide et 627 mN pour le gel présure et une profondeur à la rupture de 5.4 et 9.6 mm pour les gels acides et présure respectivement. Les 2 gels présentent donc des propriétés de viscoélasticité et de fermeté dans la même gamme de valeurs. Ils diffèrent toutefois de par leur pH : celui du gel acide diminue de 6.6 à 4 après 24h de gélification alors que le gel présure présente un pH constant de 6.6.

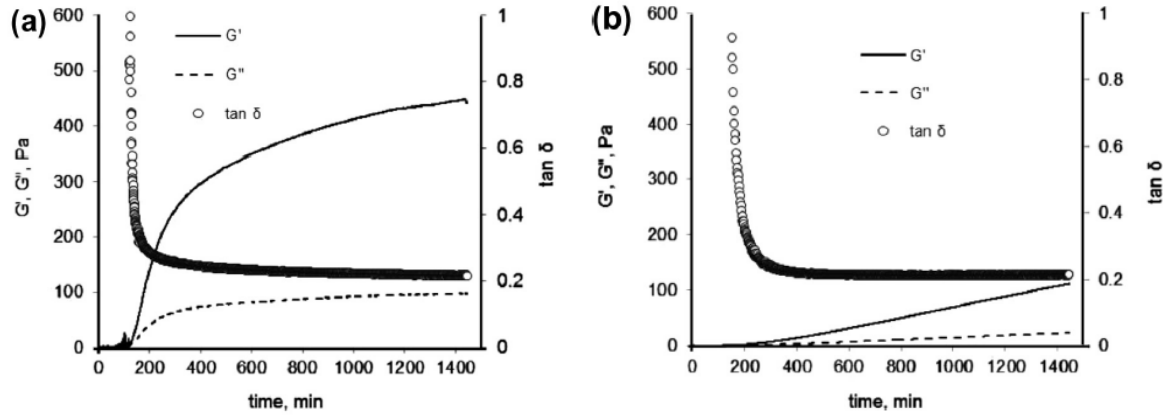

Figure 3: Mesure d'oscillation dynamique de faible amplitude des gels acide (a) et présure (b) au cours d'une coagulation de 24h

2.2 Analyse d'image de la microstructure des gels

La microstructure des gels a été visualisée par microscopie confocale comme décrit précédemment (Morand *et al*., 2012). La détermination du diamètre moyen des pores de chacun des deux gels a été réalisée selon Devaux *et al*. (2008). Les 2 gels présentent une microstructure similaire avec des tailles de pores de l'ordre de 0.8 µm (Figure 4).

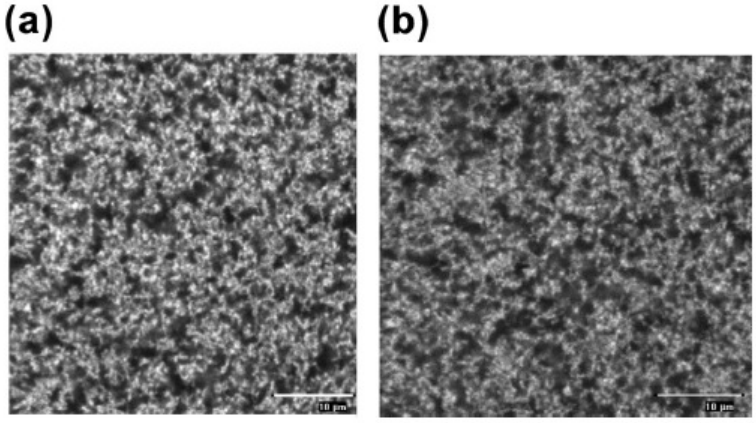

Figure 4 : Images en microscopie confocale des gels acide (a) et présure (b) après 24h de coagulation

3. La structure des produits laitiers conditionne les cinétiques de digestion des protéines laitières

La comparaison des cinétiques de concentration des caséines et de la β-lactoglobuline, quantifiées par ELISA pour chaque gel met en évidence l'apparition d'un pic beaucoup plus intense pour les caséines et la β-lactoglobuline avec le gel acide suivi d'une décroissance dans le temps. A l'inverse, le gel présure conduit à des valeurs très basses mais en augmentation (caséines) ou stables (β-lactoglobuline) tout au long de la digestion (Figure 5).

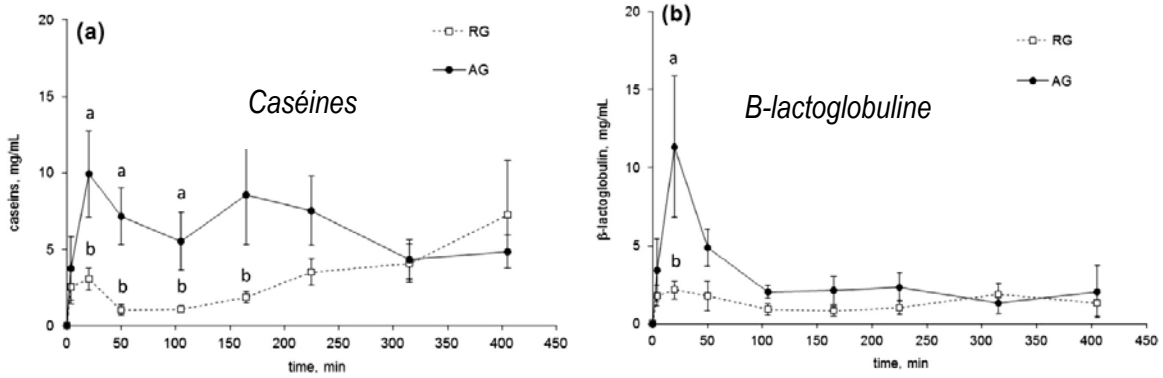

Figure 5 : Comparaison de la cinétique des concentrations en caséines et -lactoglobuline dans le duodénum déterminées par ELISA pour les gels présure (RG) et acide (AG). Les données sont représentées sous forme de moyennes normalisées ± SEM sur les 6 mini-porcs.

Le gel présure génère un comportement digestif spécifique, caractérisé par des quantités faibles de tous les paramètres mesurés au niveau duodénal et dans le sang. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce résultat, telle qu'une rétention gastrique très longue associée à des sécrétions digestives prolongées et à une résistance accrue à la protéolyse. Enfin, il convient de noter que les protéines laitières étaient complètement hydrolysées au niveau jéjunal, quelle que soit la structure de la matrice ingérée. Cela signifie donc que modifier la structure de la matrice permet de moduler les cinétiques d'hydrolyse des macronutriments et la mise à disposition des micronutriments, sans toutefois altérer la digestibilité des aliments.

4. La structure module le nombre mais pas la nature des peptides libérés dans le duodénum

Les peptides libérés dans le duodénum ont ensuite été identifiés par spectrométrie de masse. Plus de 16 000 peptides ont ainsi pu être identifiés. La digestion du gel acide conduisit à l'identification de 4349 peptides au niveau du duodénum tout au long des 7h de digestion alors que celle du gel présure de composition identique permit de n'en identifier que 1443. Parmi les peptides identifiés dans la lumière du tube digestif, nombre d'entre eux sont connus pour véhiculer une activité biologique. Un exemple de résultat généré est présenté dans les Tableaux 1 (gel acide) et 2 (gel présure). Il apparait que la structure de la matrice laitière influence la cinétique de formation des peptides issus de l'hydrolyse des protéines. Par contre, la nature des peptides générés reste quasi inchangée : la plupart des peptides identifiés lors de la digestion du gel présure sont identiques à ceux identifiés lors de la digestion du gel acide (Tableaux 1 et 2), les sites de clivage enzymatique étant conservés d'une matrice à l'autre quel que soit le traitement technologique étudié (Barbé *et al.,* 2014).

Tableau 1: Peptides bioactifs identifiés *in vivo* lors de la digestion d'un gel acide

Protein	Sequence	Activity	Reference
αs1	40-52	MB	Adamson et Reynolds (1996)
αs1	43-58	MB	Meisel et al. (1991)
αs1	99-109	MIC	McCann et al. (2006)
αs1	180-193	MIC	Hayes et al. (2006)
αs2	1-24	MB	Miquel et al. (2005)
αs2	183-206	TRAN	Kizawa et al. (1996)
αs2	183-207	MIC	Recio & Visser (1999)
αs2	189-197	HYP	Maeno et al. (1996)
αs2	189-207	TRAN	Kizawa et al. (1996)
β	33-52	MB	Miquel et al. (2005)
β	58-72	INH-ENZ	Smacchi et Gobbetti (1998)
β	59-67	INH-ENZ	Asano et al. (1992)
β	98-105	OXI	Rival et al. (2001)
β	130-140	HYP	Robert et al. (2004)
β	132-140	HYP	Robert et al. (2004)
β	166-175	HYP	Hayes et al. (2007)
β	192-209	IMM	Coste et al. (1992)
β	193-202	IMM	Kayser et Meisel (1996)
β	193-209	IMM	Coste et al. (1992)
κ	18-24	HYP	Lopez-Exposito et al. (2007)
κ	106-116	THR	Jolles et al. (1986)

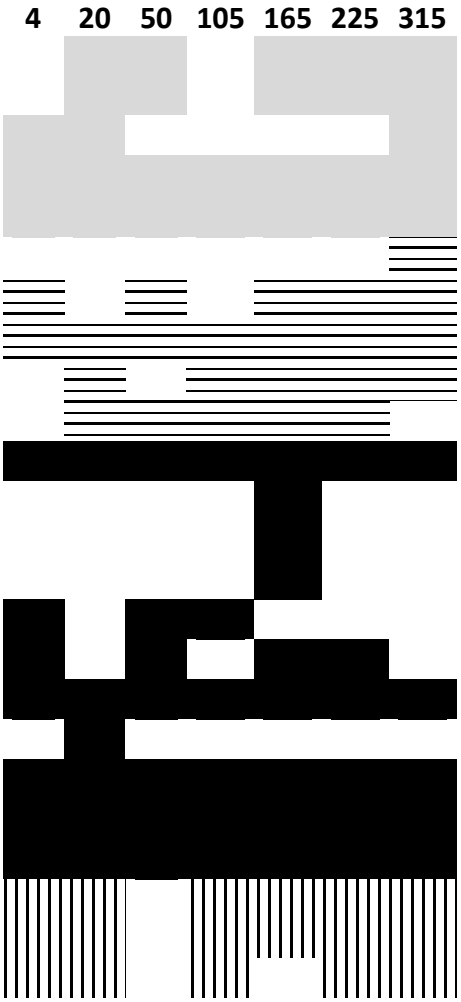

Tableau 2 : Peptides bioactifs identifiés *in vivo* lors de la digestion d'un gel présure. [Propriétés biologiques portées par les peptides identifiés : émulsifiante (EMUL), anti-hypertensive (HYP), anti-stress (STRE), antimicrobienne (MIC), de transport (TRAN), antioxydative (OXI), opioid agoniste (OPI), immunomodulatrice (IMM), anti-thrombotique (THR), inhibiteur de protease/peptidase (INH-ENZ) et fixation de minéraux (MB)].

Protein	Sequence	Activity	Reference	4	20	50	105	165	225	315
αs1	40-52	MB	Adamson & Reynolds (1996)							
αs1	43-58	MB	Meisel et al. (1991)							
αs1	99-109	MIC	McCann et al. (2006)							
αs1	167-180	MIC	Hayes et al. (2006)							
αs1	180-193	MIC	Hayes et al. (2006)							
αs2	1-24	MB	Miquel et al. (2005)							
αs2	189-197	HYP	Maeno et al. (1996)							
β	33-52	MB	Miquel et al. (2005)							
β	166-175	HYP	Hayes et al. (2007)							
β	193-202	IMM	Kayser & Meisel (1996)							
β–lg	92-100	MIC	Pellegrini et al. (2001)							
β–lg	142-148	HYP	Mullaly et al. (1997)							

5. La structure régule les cinétiques de libération des acides aminés dans le plasma

La Figure 6 présente les concentrations en leucine quantifiées dans le plasma de mini-porcs alimentés avec un gel acide (AG) et un gel présure (RG). La leucine est choisie comme exemple car c'est un acide aminé « signal » qui permet de restaurer la synthèse protéique musculaire chez des personnes souffrant de sarcopénie, mais tous les acides aminés conduisaient au même type de cinétique. Deux comportements très différents ont pu être observés entre les deux types de gels. Le gel acide provoque l'apparition d'un pic de concentration d'acides aminés très élevé par rapport au gel présure ce qui coïncide parfaitement avec les concentrations en protéines laitières élevées observées dans le duodénum après ingestion du gel acide. A l'inverse les concentrations en acides aminés observées dans le plasma pour le gel présure sont très faibles, à l'image des concentrations protéiques observées dans le duodénum après ingestion de ce gel. Ces différences sont à relier avec les différences de temps de séjour de ces deux matrices dans l'estomac. Estimés par modélisation mathématique, les temps de résidence des gels acide et présure sont de 159 et 352 min respectivement (Le Feuteun *et al*., 2013). On remarque que, quelle que soit la matrice, la concentration en leucine ne revient jamais à la ligne de base ; il est donc probable que 6h après l'ingestion du repas, des protéines laitières ou des peptides sont encore présents dans le tube digestif. L'aire sous la courbe demeure plus faible pour les gels présure et il est possible qu'une fuite de nutriments s'effectue au niveau de l'aire splanchnique.

Nous avons ainsi montré que la phase gastrique joue un rôle déterminant dans le contrôle de la biodisponibilité des acides aminés, leur absorption étant en effet fortement liée à la vitesse d'apparition des protéines dans le duodénum.

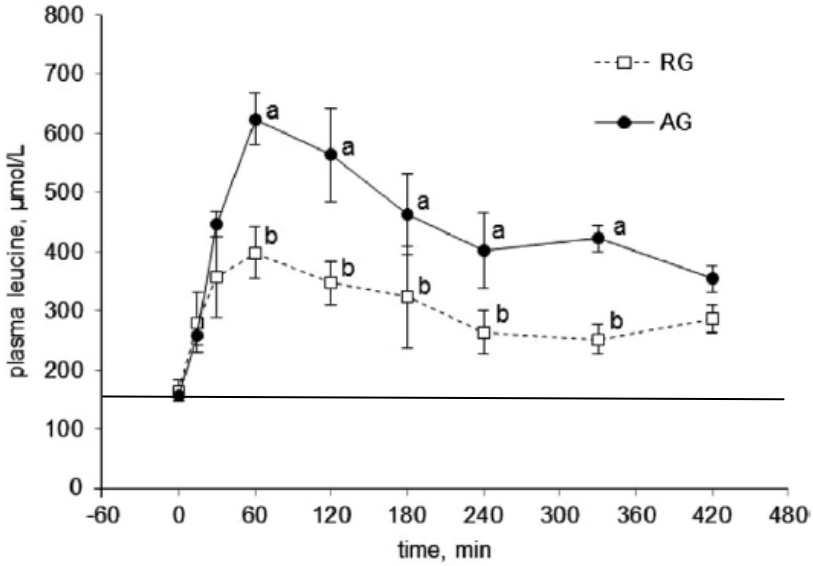

Figure 6 : Concentration de leucine dans le plasma de mini-porcs (µmol/L) pendant 7h après ingestion d'un gel acide (AG) et d'un gel présure (RG). Les valeurs représentent les moyennes ± SEM (n=4) analysées par ANOVA. L'interaction temps*matrice est significative (P<0.001) et à un temps donné, les différences entre matrices sont mises en évidence par des lettres différentes (P<0.05).

6. Les gels présure ont un effet satiétogène par rapport aux gels acides

Les cinétiques des concentrations circulantes de CCK (anorexigénique) et de ghréline (orexigénique) suite à l'ingestion de gels acide et présure sont présentées Figure 7. Bien que l'interaction temps*matrice ne soit pas significative, il semble que l'augmentation de la concentration de CCK soit plus rapide avec le gel acide qu'avec le gel présure cru et que celui-ci permette de maintenir une concentration élevée plus longtemps. La diminution post-prandiale de la concentration en ghréline était significativement plus prononcée avec le gel présure qu'avec le gel acide. On peut donc émettre l'hypothèse que le gel présure, qui reste plus longtemps dans l'estomac, démontre des propriétés satiétogènes supérieures au gel acide.

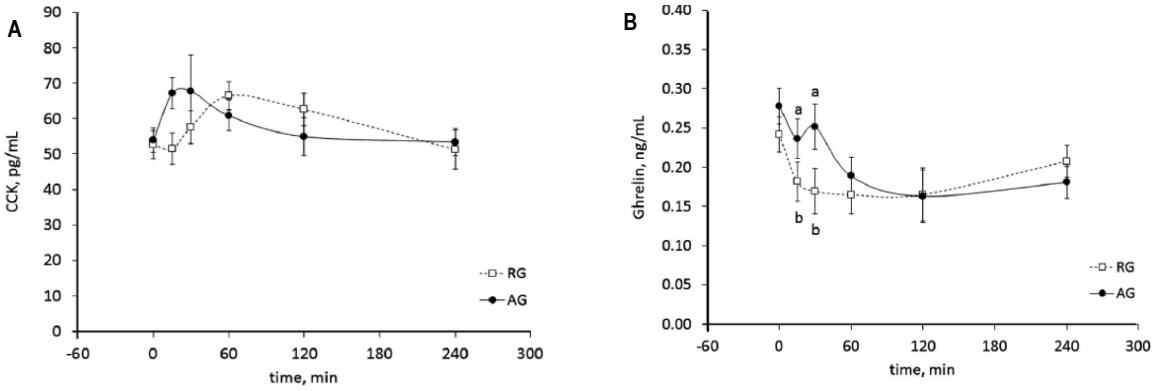

Figure 7: Concentrations plasmatiques de la CCK et de la ghréline mesurées chez le mini-porc au cours d'une période de 7h après ingestion de gel acide (AG) ou gel présure (RG). Les valeurs représentent des moyennes ± SEM (n=4). Les données ont été analysées par un modèle mixte d'ANOVA.

7. Compréhension du comportement des deux gels en conditions stomacales

Afin de mieux comprendre les différences de comportement des deux gels dans l'estomac, nous les avons soumis à un protocole de digestion in vitro en conditions dynamiques (Menard *et al*., 2014) en utilisant les paramètres mesurés sur l'animal (temps de ½ vidange, évolution du pH stomacal). La Figure 8 montre l'aspect des contenus stomacaux 30 min après l'ingestion des gels. Il apparait que le gel acide (a) entraine la formation d'un précipité peu dense formé de flocons protéiques en suspension. A l'inverse, le gel présure conduit à la formation de particules beaucoup plus denses et plus grosses qui se contractent et expulsent le lactosérum par un phénomène de synérèse. On voit très bien la sédimentation de ces particules au fond du compartiment stomacal qui doit être à l'origine du temps de résidence plus long des gels présure dans l'estomac.

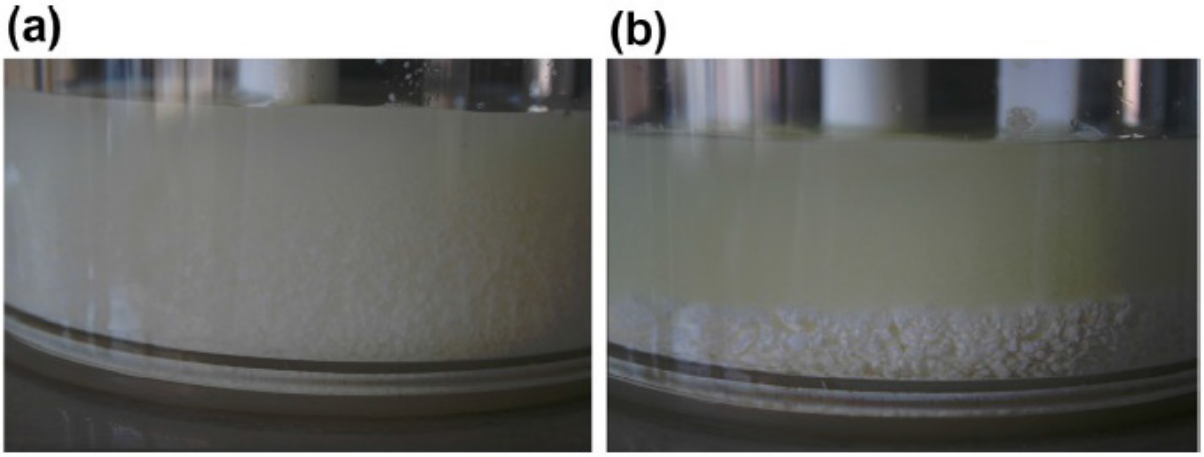

Figure 8: Photos d'un gel acide (a) et d'un gel présure (b) en conditions stomacales lors d'une digestion *in vitro*.

8. Modéliser la digestion pour mieux en comprendre ses mécanismes

Enfin, dans une dernière partie de l'étude, une approche mécanistique de modélisation mathématique a été développée de manière complémentaire aux analyses biologiques. Un modèle à compartiments, basé sur des équations différentielles, a été construit de manière à reproduire les données *in vivo* en intégrant les processus de vidange et de sécrétions gastriques, de transit intestinal et d'absorption des acides aminés exogènes. Ce modèle était capable de simuler correctement les données expérimentales et d'estimer différents paramètres, principalement liés au transit le long du tractus digestif. Les simulations du modèle ont montré que les différences de cinétiques d'absorption des acides aminés étaient étroitement liées au comportement des matrices laitières dans l'estomac. Ce modèle offre des perspectives intéressantes pour l'intégration de paramètres décrivant la structure des aliments, et plus spécifiquement des produits laitiers, dans un but de prédiction de la biodisponibilité en fonction de la structure de l'aliment ingéré. Les approches *in vivo* et *in silico* menées en interaction dans ce projet ont ainsi mis en évidence le rôle majeur de la matrice alimentaire dans la biodisponibilité des nutriments.

Cette étude suggère donc de considérer la modulation de la structure des aliments comme un outil de régulation lors de stratégies nutritionnelles ciblées, notamment pour des populations spécifiques (personnes âgées, en surpoids…).En effet, nous avons pu clairement mettre en évidence que des matrices laitières liquides permettent de procurer à l'hôte un flux massif et précoce d'acides aminés tels que la leucine. Cet acide aminé est connu pour son effet signal qui permet de restaurer la synthèse protéique musculaire chez des personnes âgées souffrant de sarcopénie (fonte musculaire liée au vieillissement). Cette information est donc d'intérêt majeur en vue de concevoir des aliments ciblés bénéfiques pour la santé de cette population spécifique.

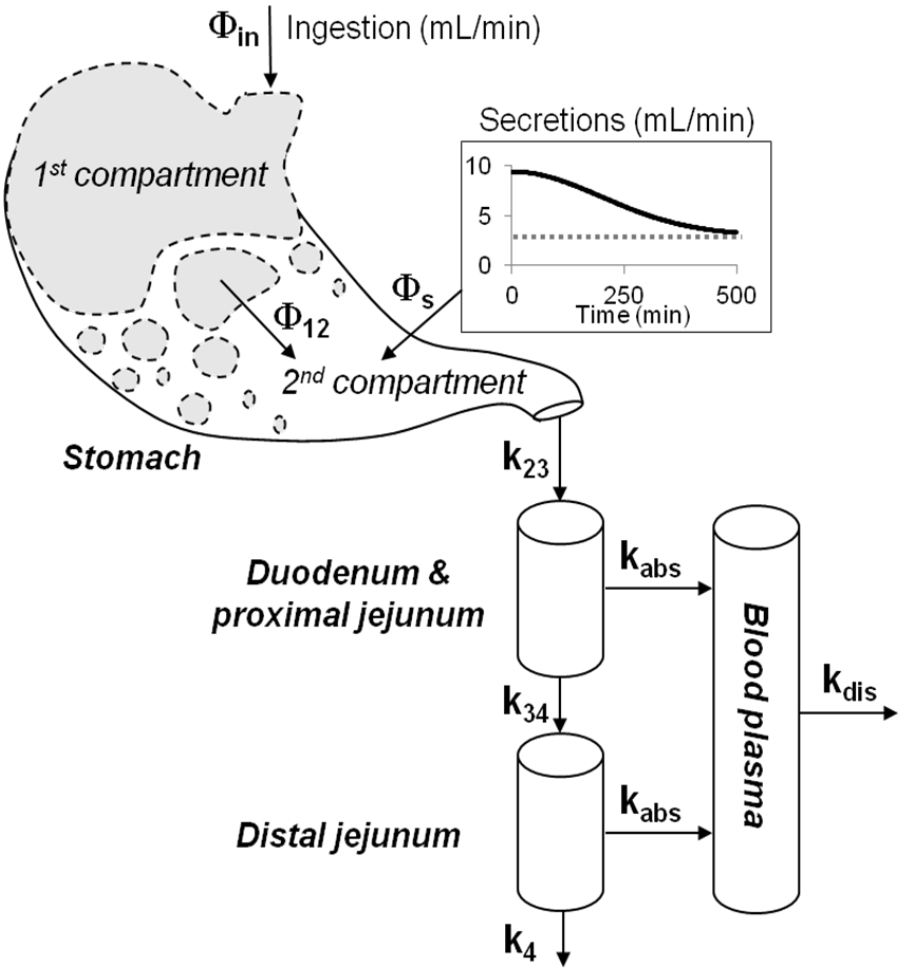

Figure 9 : Schéma général du modèle mathématique développé

Ce projet a impliqué différents laboratoires pour les parties expérimentation animale, analyses biologiques et modélisation. Le laboratoire INRA UMR Agrocampus Ouest-STLO (Science et Technologie du Lait et de l'Oeuf), Rennes a pris en charge la préparation et la caractérisation des matrices et les analyses biologiques concernant les protéines et les peptides. L'expérimentation *in vivo* chez les mini-porcs a été réalisée au laboratoire INRA UMR Université d'Auvergne-UNH (Unité de Nutrition Humaine), Clermont-Ferrand/Theix qui a aussi mesuré les concentrations en chrome dans les effluents duodénaux et en acides aminés et hormones gastro-intestinales (ghréline et cholécystokinine) dans les plasmas sanguins. Enfin la modélisation a fait intervenir trois laboratoires : le laboratoire CNRS UMR université Paris Sud-Supélec L2S (Laboratoire des Signaux et Systèmes), Gif-Sur-Yvette, le laboratoire INRA UR MIA (Mathématiques et Informatique Appliquées), Jouy-en-Josas et le laboratoire INRA UMR AgroParisTech-GMPA (Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires), Thiverval-Grignon.

Références bibliographiques

Barbé F., Ménard O., Le Gouar Y., Buffière C., Famelart M.-H., Laroche B., Le Feunteun S., Dupont D., Rémond D., 2013. The heat treatment and the gelation are strong determinants of the kinetics of

milk proteins digestion and of the peripheral availability of amino acids. Food Chemistry 136, 1203-1212.

Barbé F., Le Feunteun S., Rémond D., Ménard O., Jardin J., Henry G., Laroche B., Dupont D., 2014. Tracking the in vivo release of bioactive peptides in the gut during digestion: Mass spectrometry peptidomic characterization of effluents collected in the gut of dairy matrix fed mini-pigs. Food Research International in Press (http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.015).

Boirie Y., Dangin M., Gachon P., Vasson M.P., Maubois J.L., Beaufrere B., 1997. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94, 14930-14935.

Devaux M.-F., Bouchet B., Legland D., Guillon F., Lahaye M., 2008. Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure. Postharvest Biology and Technology 47, 199-209.

Gaudichon C., Roos N., Mahe S., Sick H., Bouley C., Tome, D., 1994. Gastric-emptying regulates the kinetics of nitrogen absorption from N-15-labeled milk and N-15-labeled yogurt in miniature pigs. Journal of Nutrition 124, 1970-1977.

Gaudichon C., Mahe S., Roos N., Benamouzig R., Luengo C., Huneau J.F., Sick H., Bouley C., Rautureau J., Tome D., 1995. Exogenous and endogenous nitrogen flow-rates and level of protein hydrolysis in the human jejunum after [N-15]milk and [N-15]yogurt ingestion. British Journal of Nutrition 74, 251-260.

Le Feunteun S., Barbe F., Remond D., Menard O., Le gouar Y., Dupont D., Laroche B., 2014. Impact of the dairy matrix structure on milk protein digestion kinetics: mechanistic modelling based on mini-pig in vivo data. Food Bioprocess Technology 7, 1099-1113.

Menard O., Cattenoz T., Guillemin H., Souchon I., Deglaire A., Dupont D., Picque D., 2014. Validation of a new in vitro dynamic system to simulate infant digestion. Food Chemistry 145, 1039-1045.

Morand M., Guyomarc'h F., Legland D., Famelart M.-H., 2012. Changing the isoelectric point of the heat-induced whey protein complexes affects the acid gelation of skim milk. International Dairy Journal 23, 9-17.

Mullally M.M., Meisel H., FitzGerald R.J., 1997. Identification of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide corresponding to a tryptic fragment of bovine beta-lactoglobulin. FEBS Letters 402, 99-101.

Pellegrini A., Dettling C., Thomas U., Hunziker P., 2001. Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine beta-lactoglobulin. Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects 1526, 131-140.