

Le lait de vache: qu'est-ce que c'est?



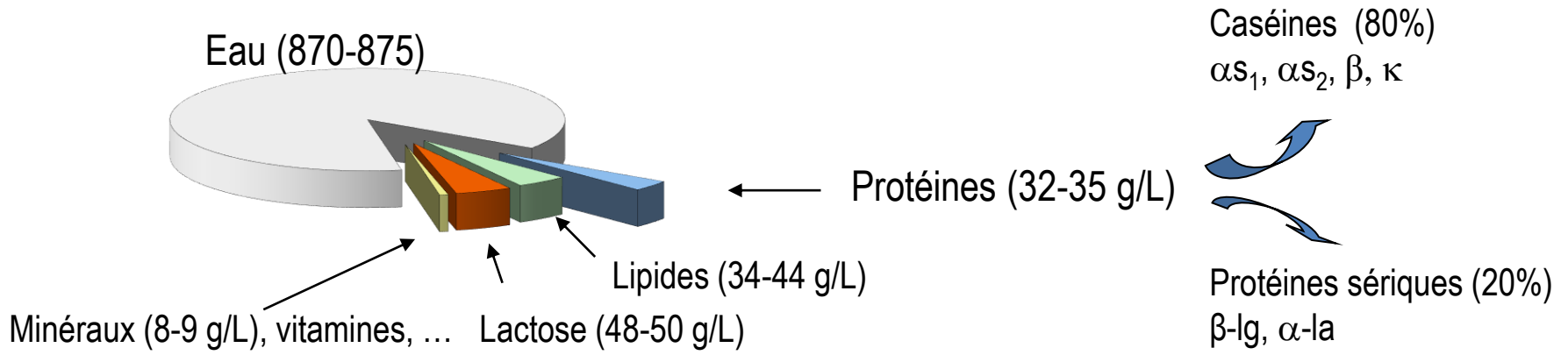
Dr Didier DUPONT

didier.dupont@inra.fr

INRA, UMR STLO Rennes, France



Le lait de vache



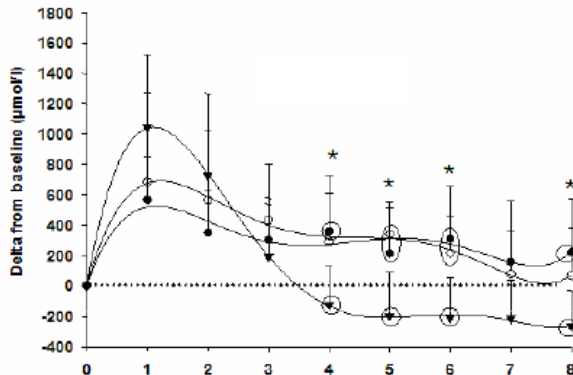
Caséines et protéines sériques sont:

- structurellement opposées (globulaire/flexible)
- différemment métabolisées (protéines rapides/lentes)
- très digestibles (>95%)
- d'excellentes sources d'acides aminés indispensables

Digestibilité des protéines alimentaires

	Blé	Riz	Soja	Mais	Lait	Boeuf	Oeuf
Fécale (humain)	86-96	75.0	86-95	87.0	96.6	94.0	91-97

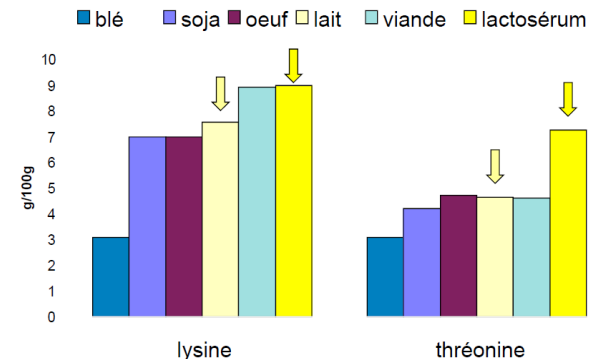
Total amino acid



- ▼ whey protein
- casein
- Total milk protein

(Lacroix et al, 2006)

Le lait et le lactosérum sont une source de lysine et de thréonine (strictement indispensables)

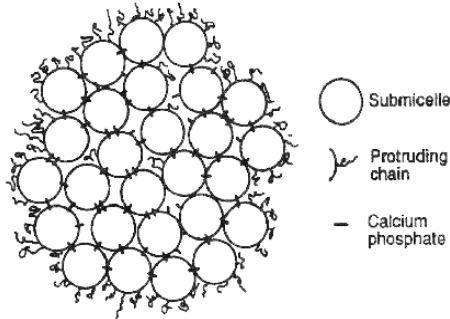


La micelle de caséines

➡ Plusieurs modèles théoriques de structure ont été proposés

The «submicellar model »

Walstra & Jenness
1984

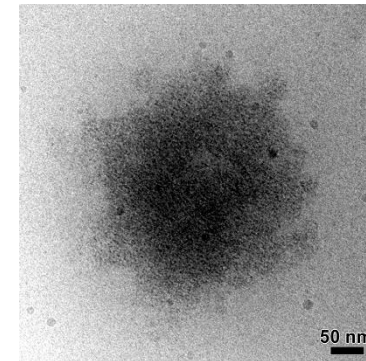
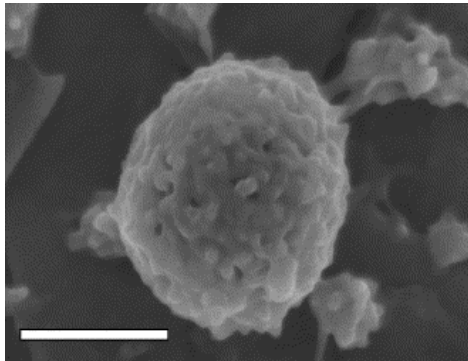


The «hard-sphere model »

Holt 1994



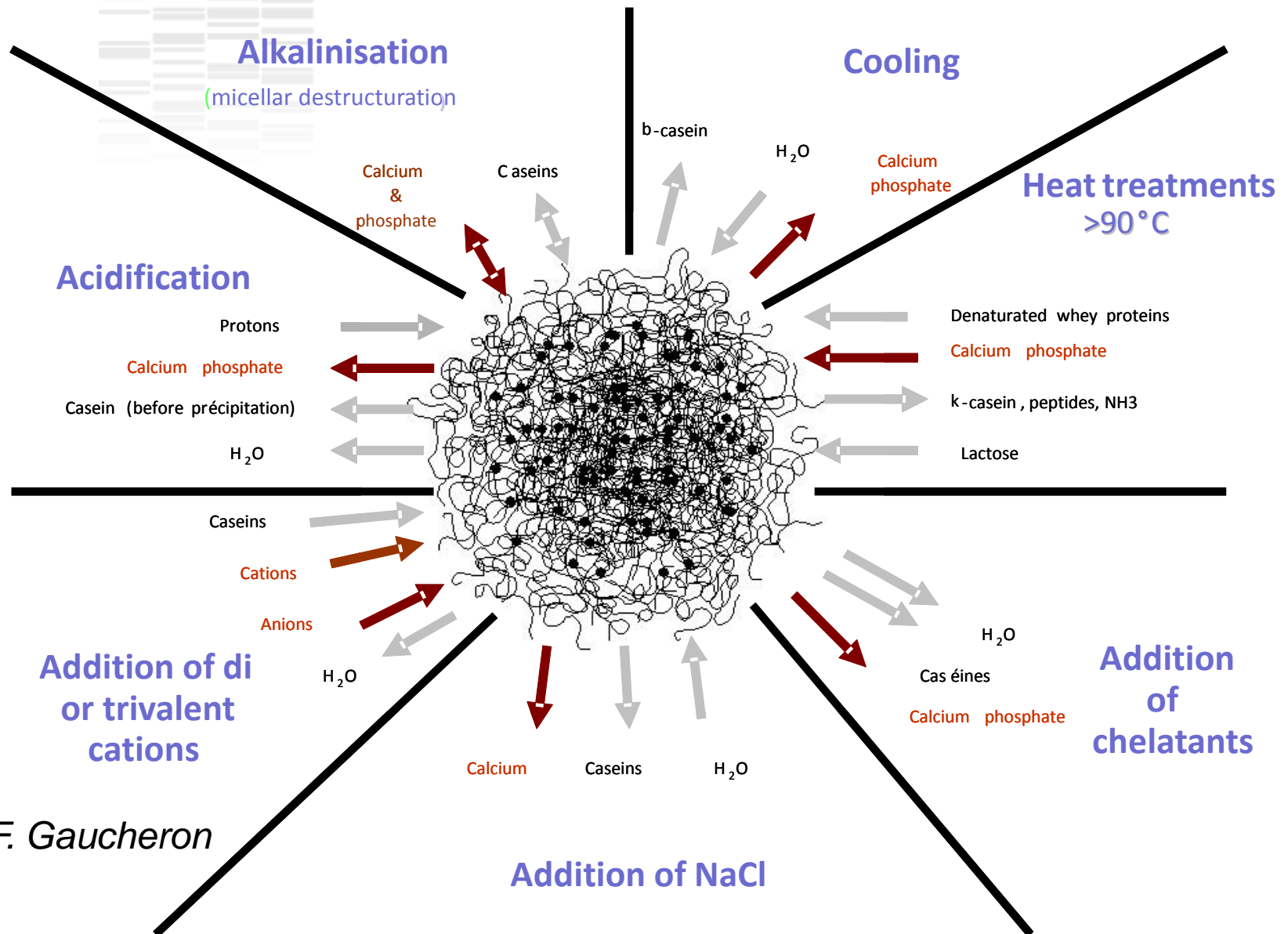
Dalgleish *et al.*
2004



Marchin *et al.*
2007

➡ Même après plus de 100 ans de recherches, l'organisation précise des caséines au sein de la structure demeure inconnue

La micelle de caséines: une structure réactive



From F. Gaucheron

Les caséines

Fort polymorphisme génétique

- * α_{s1} : 8 variants (A, B, C, D, E, F, G, H)
- * α_{s2} : 4 variants (A, B, C, D)
- * β : 12 variants (A1, A2, A3, B, C, D, E, F, H1, H2, I)
- * κ : 11 variants (A, B, C, E, F1, F2, G1, G2, H, I, J)

Table 4.9 Differences in the amino acid sequence of genetic variants of κ -casein compared to κ -CN A-1P

Variant	Position						
	10	97	104	135	136	148	155
A	Arg	Arg	Ser	Thr	Thr	Asp	Ser
B					Ile	Ala	
C		His					
E							Gly
F ¹						Val	
F ²	His				Ile	Ala	
G ¹		Cys			Ile	Ala	
G ²						Ala	
H					Ile		
I			Ala				
J					Ile	Ala	Arg

Protéines porteuses de modifications post-traductionnelles

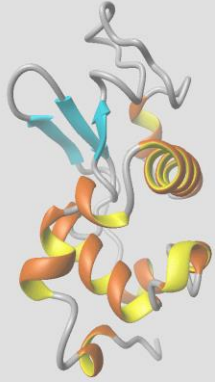
- * phosphorylations: α_{s1} -CN 8P/9P, α_{s2} -CN 10-13P, β -CN 4-5P, κ -CN 1P/2P
- * glycosylations: 60% de la κ -CN est glycosylée (galactose, N-acetylglucosamine et N-acetyl neuraminic acid)
- * lactosylation lors du traitement thermique

Source de peptides bioactifs

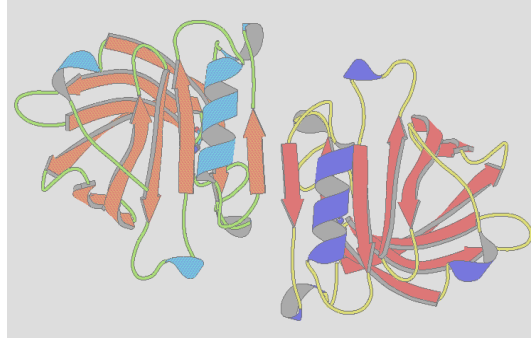
Présence de systèmes protéolytiques à l'état natif dans le lait (plasmine, cathepsine B & D, elastase, amino- & carboxypeptidase...)

↳ peptides anti-hypertensifs, antimicrobien, opioïd, antioxydant, immunomodulateur...

Protéines sériques



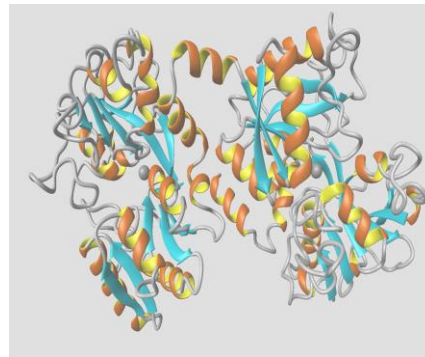
α -lactalbumine 14 kDa 1.2 g/L



β -lactoglobuline 18 kDa, 3.2 g/L



Sérum albumine 66 kDa 0.4 g/L



Lactoferrine 76 kDa 0.1 g/L

- Protéines globulaires
- Structures 3D connues
- Sensibles au chauffage (dénaturation)
- Résistance élevée à l'hydrolyse enzymatique

Protéines mineures

Plusieurs centaines de protéines sont présentes à faible concentration ou à l'état de traces:

- * Metal-binding proteins: phosph alc (Zn, Mg), lactoperox (Fe), catalase (Fe), cerulo-plasmine (Cu), glutathione peroxidase (Se)...
- * β 2-Microglobulin (syst immun), osteopontin (vectorisation du calcium)
- * Vitamin-binding proteins : liaison de rétinol, biotine, acide folique, cobalamine
- * Growth Factors: peptides, hormones (EGF, insulin, IGF...)
- * Indigenous milk enzymes: 70 enzymes identified
- * Proteins from the Milk Fat Globule Membrane: 120 protéines identifiées qui représentent 1% des protéines totales du lait (Reinhardt & Lippolis, 2006)

Contexte

L'allergie au lait de vache apparaît majoritairement au cours de la période néonatale



Recommandations:
Allaitement exclusif jusqu'à 6 mois



Quand impossible



- ☞ Le lait maternel présente des différences importantes de composition et de structure avec les formules infantiles
- ☞ Ces différences se traduisent par des différences de comportement dans le tube digestif du nouveau-né:
 - Temps de demi-vidange du lait maternel 36 min, des formules 74 min
 - Cinétiques d'hydrolyse des lipides et protéines différentes

Lait maternel / Formules infantiles

Composition protéique

(Nasirpour *et al*, 2005)

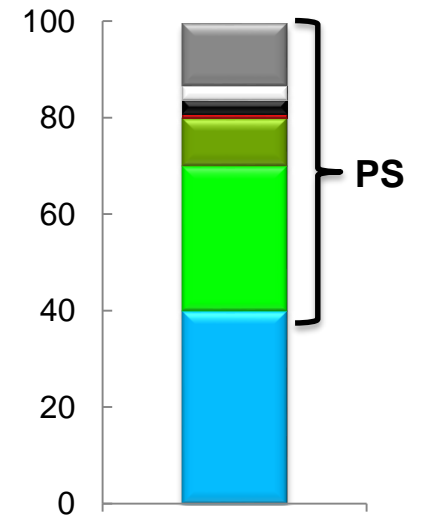
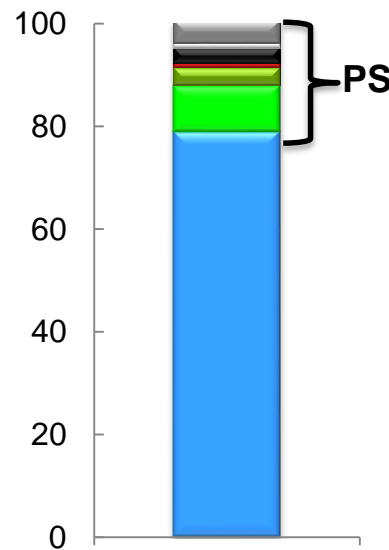
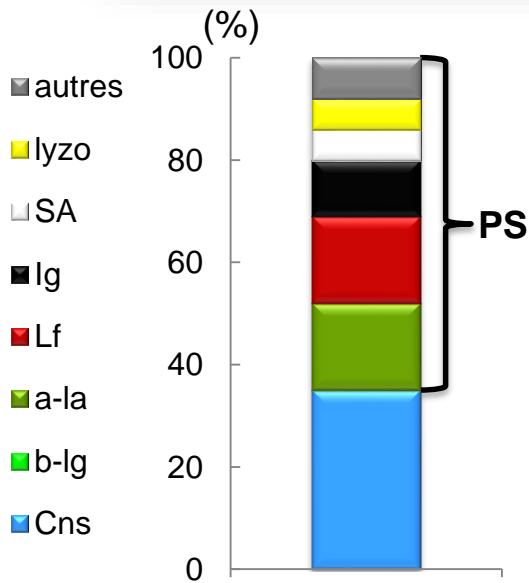
Lait de femme



Lait de vache



Formule infantile



Lait humain/ bovin / Formule infantile

Structures protéiques

(Turck *et al.* 2010)

Lait humain



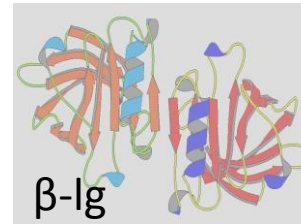
Lait bovin



Formule infantile



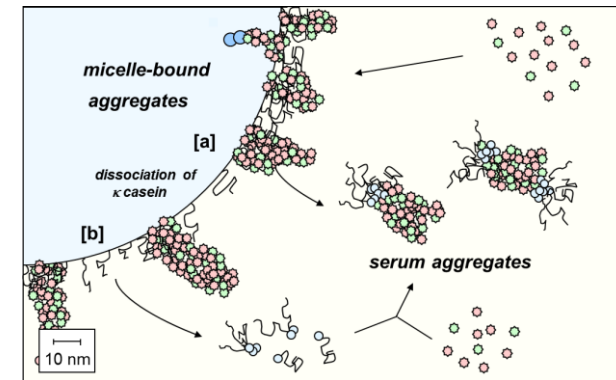
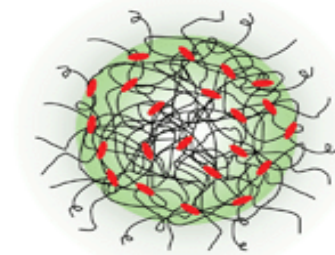
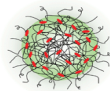
Protéines
sériques



$\varnothing = 64 \text{ nm}$
(caséine β, κ)

$\varnothing = 182 \text{ nm}$
(caséine α_1, β)

Micelle de
caséines



Lait maternel / Formules infantiles

Composition lipidique

(Malacarne *et al.* 2002)

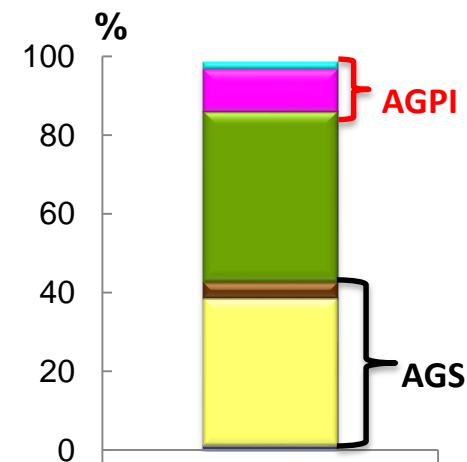
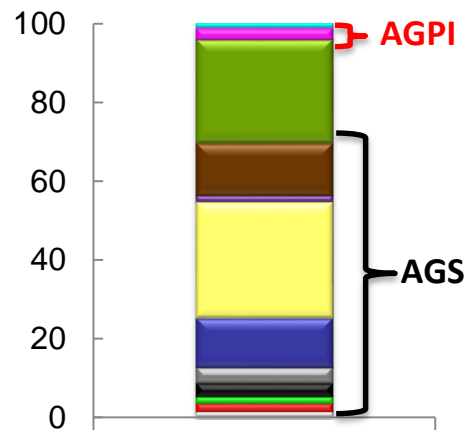
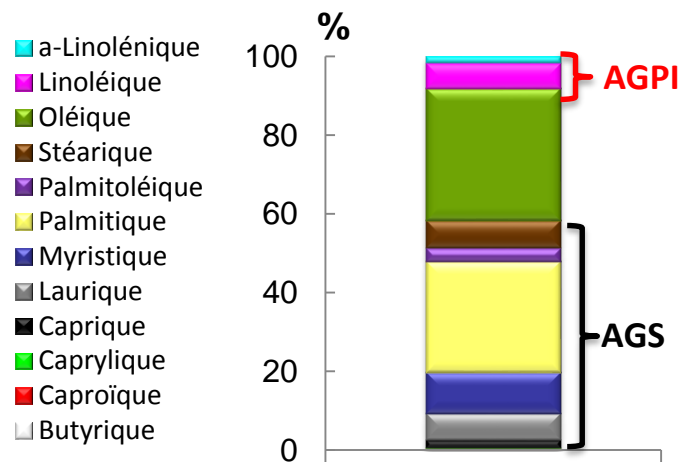
Lait de femme



Lait de vache



Formule infantile



Lait humain/ bovin / Formule infantile

Structure de la matière grasse

Lait humain

Lait bovin

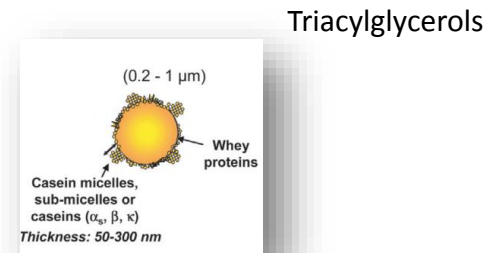
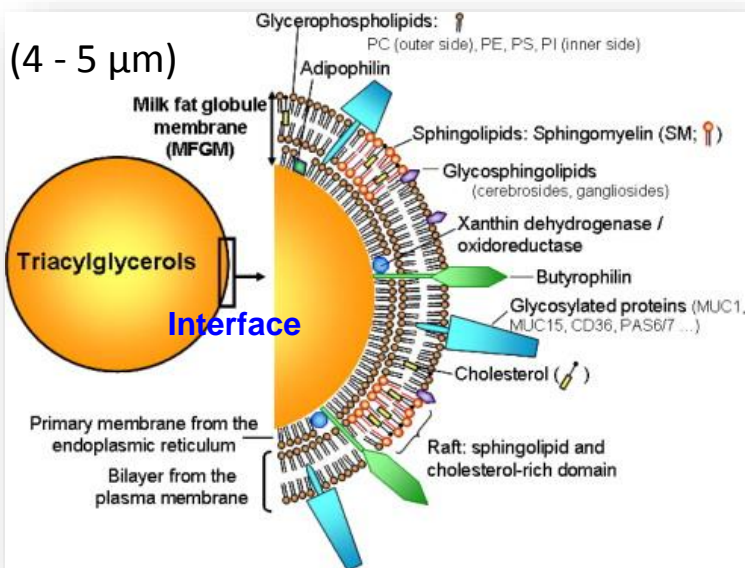
Formule infantile



Globule gras natif

Gouttelettes lipidiques

(4 - 5 μm)

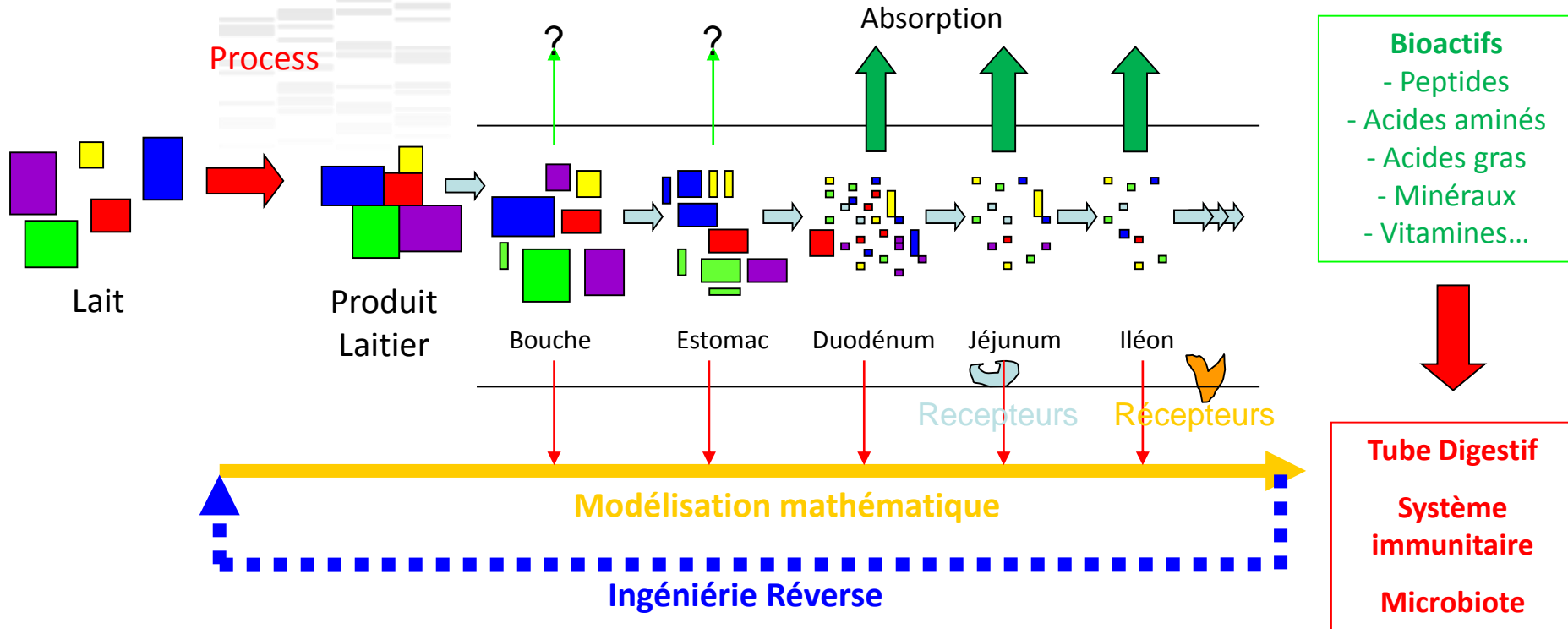


(Lopez, 2010)

(Lopez et Briard-Bion, 2007)

Nos objectifs

Adulte sain / Nouveau-né / Sénior



- ☞ Comprendre les mécanismes de dégradation des produits laitiers et leurs constituants dans le tube digestif et identifier les composés bénéfiques/délétères libérés lors de la digestion
- ☞ Déterminer l'impact de la structure des produits laitiers sur la biodisponibilité des nutriments
- ☞ Modéliser ces phénomènes pour développer une démarche d'ingénierie reverse et concevoir des aliments adaptés aux besoins nutritionnels de populations spécifiques

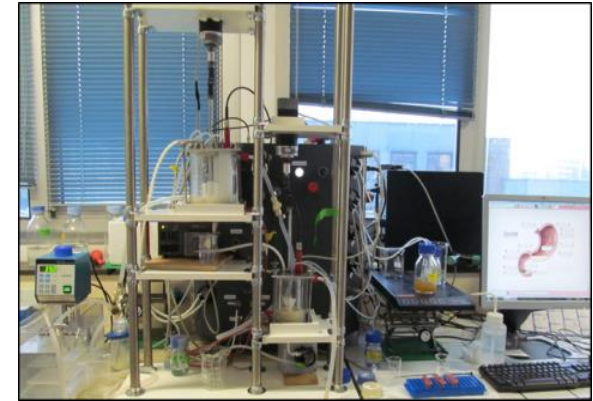
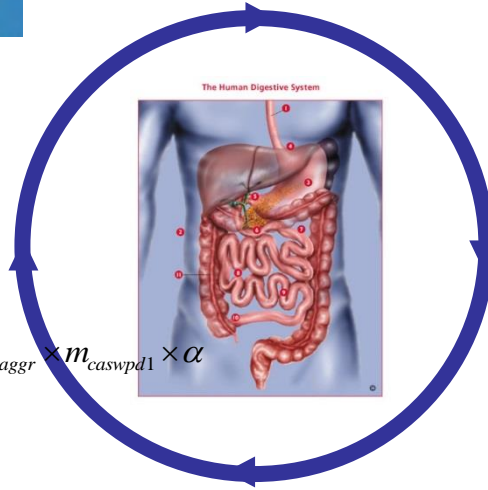
Les modèles de digestion disponibles à l'INRA

Modèles in vitro statiques



Modèles in silico

$$\Phi_{12} = k_{12whey} \times (V_1 - m_{caswpd1} \times \alpha) + k_{12aggr} \times m_{caswpd1} \times \alpha$$



Modèles in vitro dynamiques



Modèles Homme (CHU, CRNH)

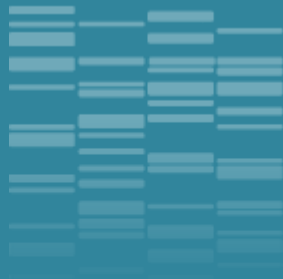


Modèles animaux



Une plateforme technologique pour concevoir tout type de produits laitiers en conditions contrôlées

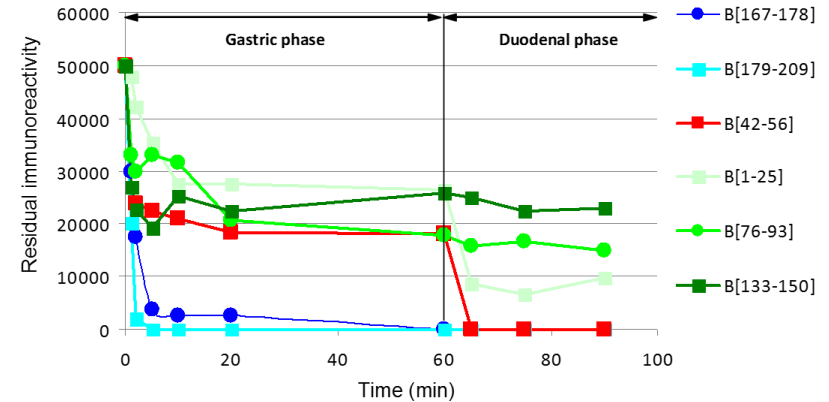
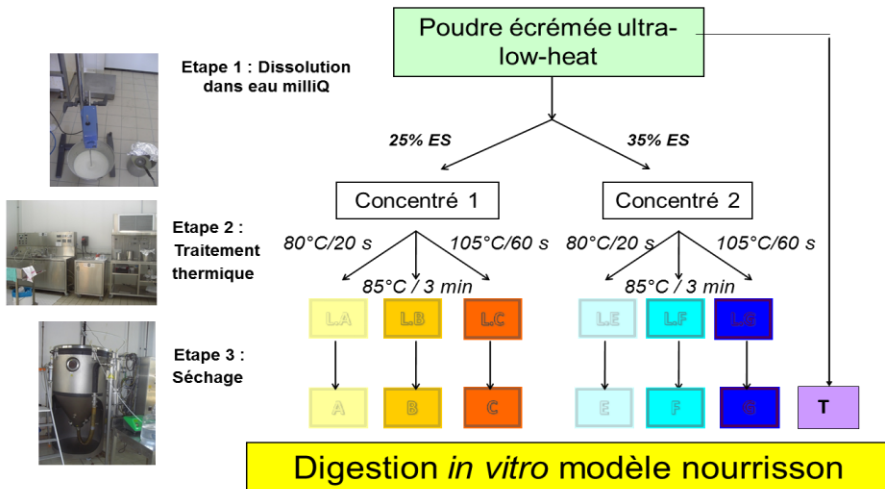




Effets des procédés technologiques sur la digestion des protéines du lait



Les traitements thermiques diminuent l'hydrolyse des caséines au cours de la digestion

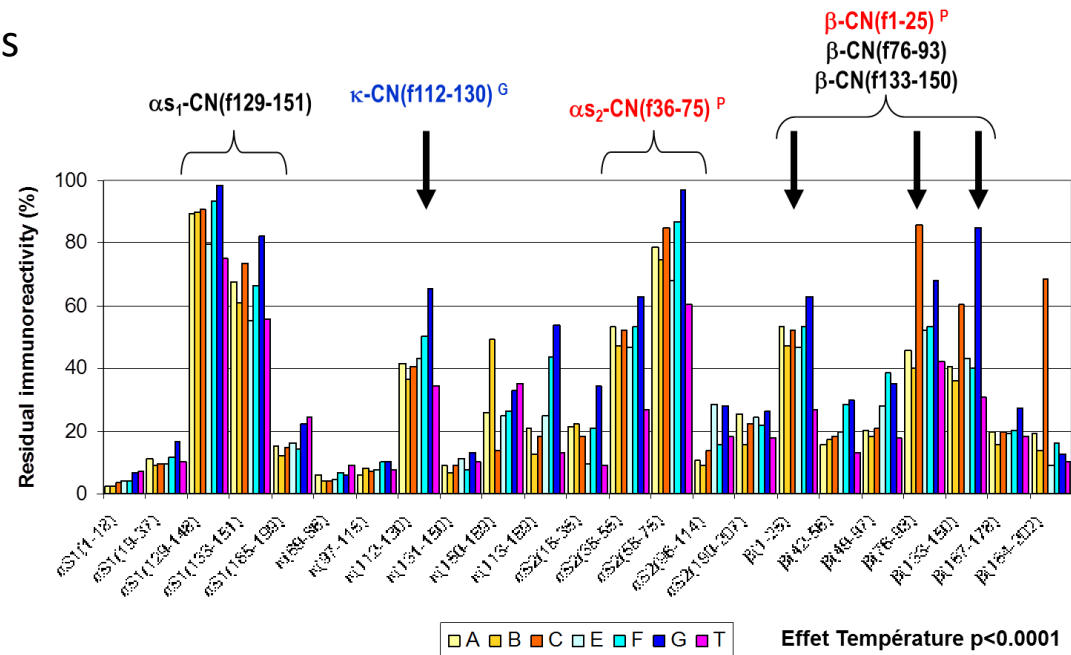


Cinétiques d'hydrolyse des différents domaines d'une même protéine

Conception de formules infantiles modèles et digestion *in vitro* modèle nouveau-né

Factor	p value	Significance
T	0.00001	***
% DM	0.00555	**
T:%DM	0.03262	*

Dupont et al.
Mol Nutr Food Res 2010a,b
Dupont et al.
Food Dig. 2010



Identification des zones résistantes

Prématurés hospitalisés
nourris toutes les 3h via une
sonde naso-gastrique

But: comparer des aliments de
composition similaire mais de
structure différente

Lait humain de leur **propre mère**

Lait humain d'une **donneuse anonyme**

GROUPE A

GROUPE B

Lait cru

Lait pasteurisé

Lait pasteurisé

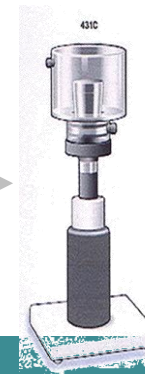
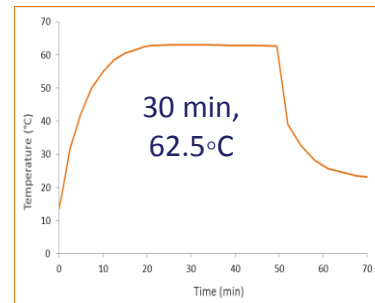
Lait pasteurisé-
homogénéisé

24h avant repas (4°C)

Stocké à -20°C
(banque lait)

Stocké à -20°C (banque lait)

Traitement thermique de Holder

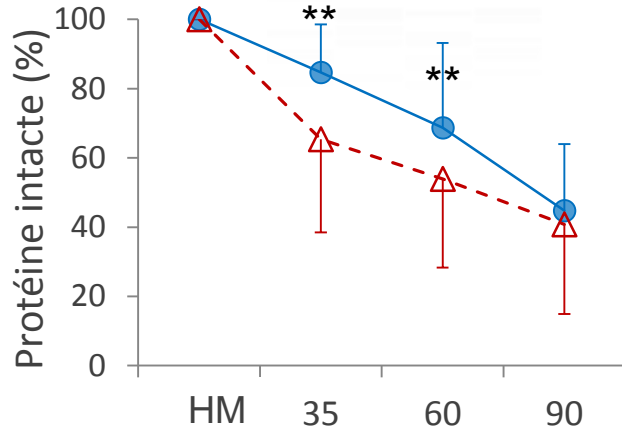


Homogénéisation
par sonication

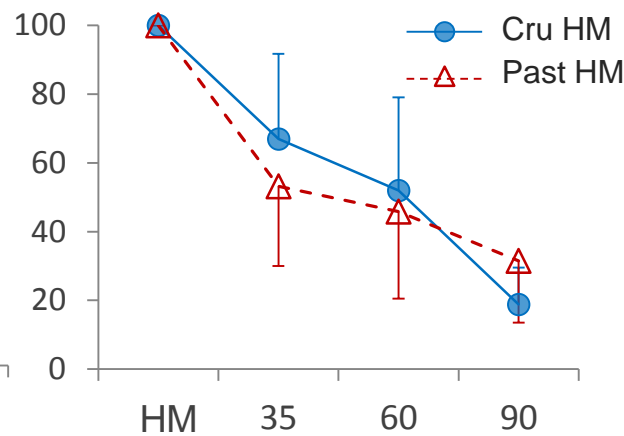
La pasteurisation impacte la protéolyse gastrique de façon sélective



Lactoferrine



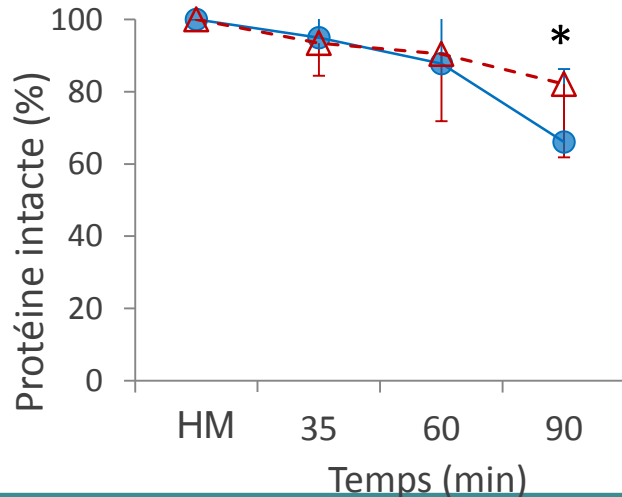
Sérumalbumine



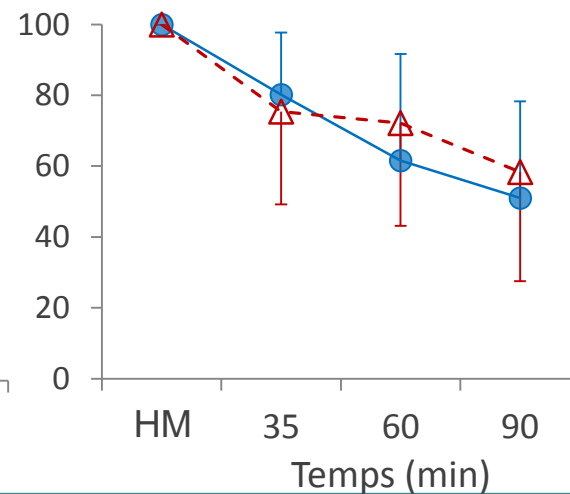
→ Hydrolyse plus rapide de la lactoferrine après pasteurisation

→ α -lactalbumine est la protéine la plus résistante à la digestion gastrique

α -lactalbumine



β -caséine

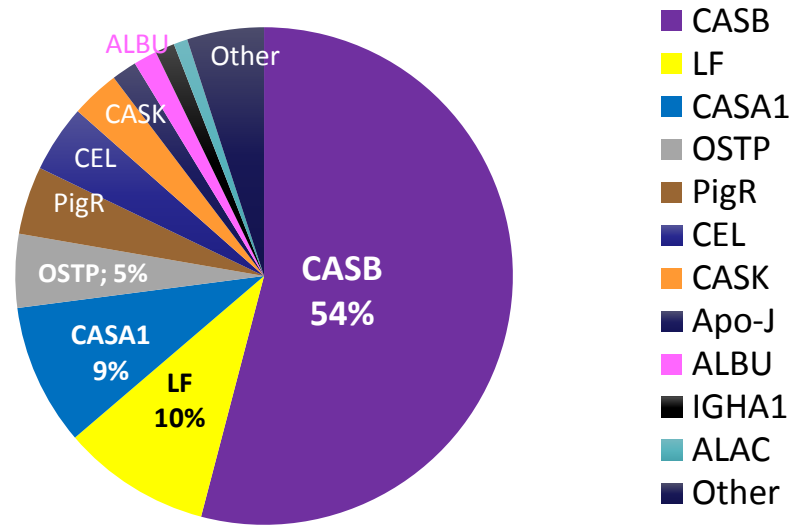


Quel est l'impact sur les qualités protectives de la lactoferrine native?

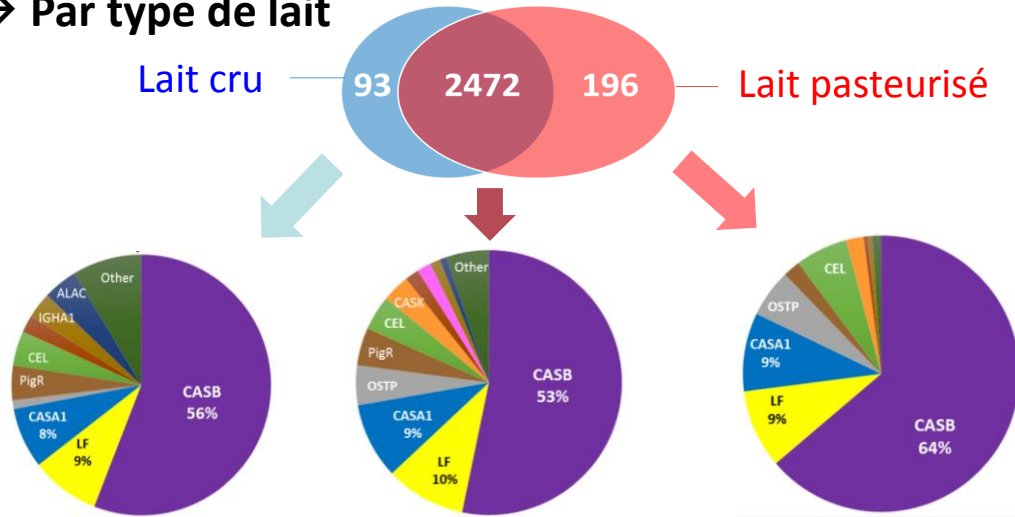
Effet de la pasteurisation sur le peptidome stomacal

→ Au total dans les laits et digestas
2761 peptides

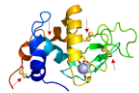
*Originaires de 18 protéines
avec 7 protéines qui contribuent
à moins de 1% des peptides*



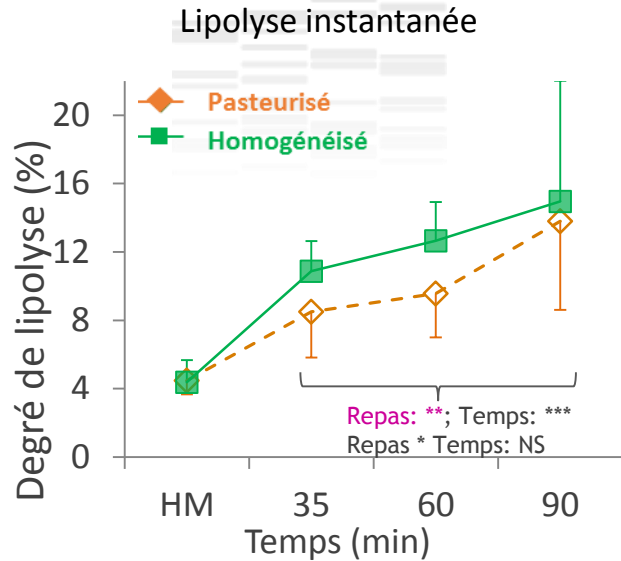
→ Par type de lait



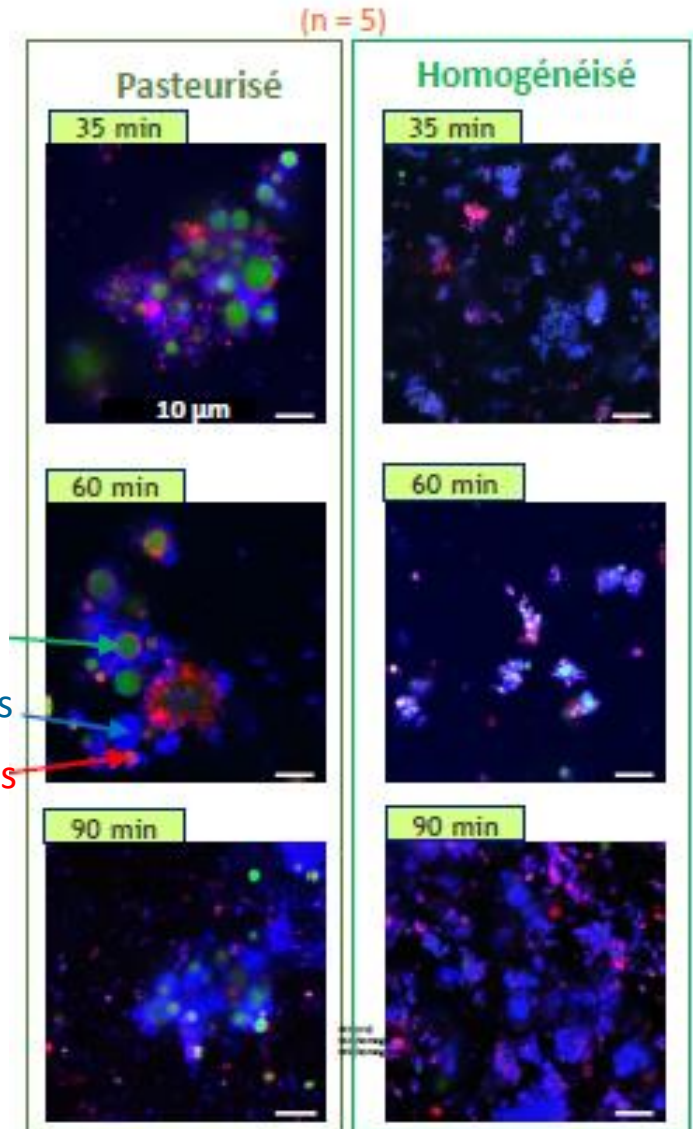
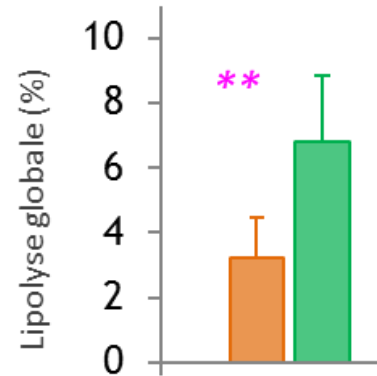
- Les peptides proviennent essentiellement de la caséine β
- L' α -lactalbumine (ALAC) : 1% des peptides
 - Résiste à la digestion stomacale
 - 4 ponts disulfure
- Plus de peptides spécifiques du lait pasteurisé



Impact de l'homogénéisation sur la lipolyse gastrique



Bilan postprandial



Homogénéisation

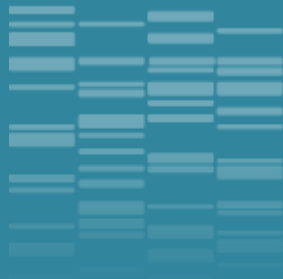
↳ Structure modifiée → Surface spécifique augmentée



Pasteurisé Homogénéisé

→ facilite l'adsorption de la lipase gastrique

(Bourlieu et al., Food Chem, 2015)

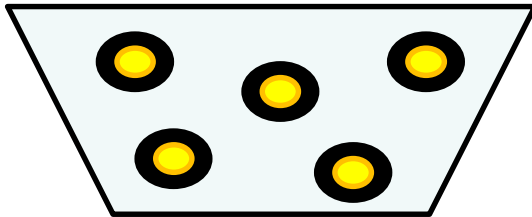


Formules infantiles
Peut-on créer des structures
lipidiques biomimétiques du globule
gras natif?



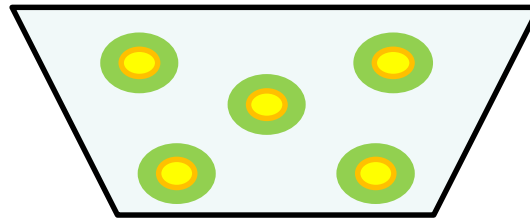
La structure et la composition des formules infantiles peut-elle moduler la réponse physiologique de l'hôte?

Formule T1



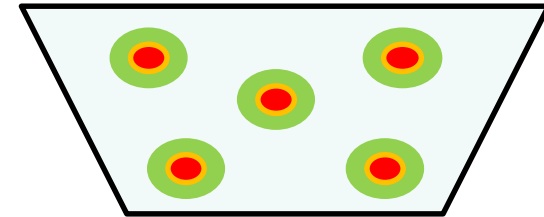
Interface 100 % Protéines
MG végétale

Formule T2

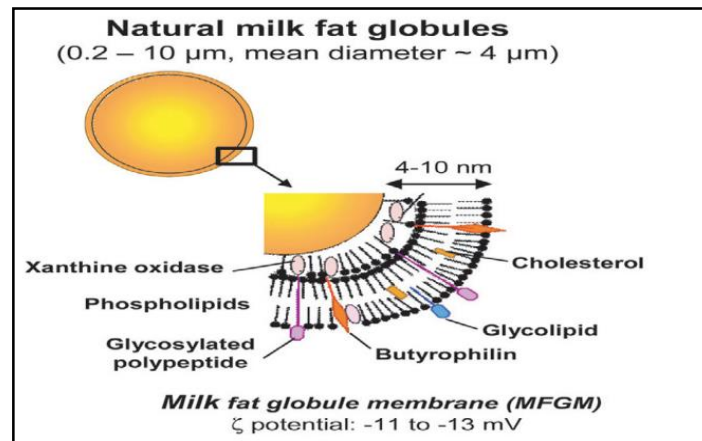


Interface 100 % phospholipides
MG végétale

Formule T3

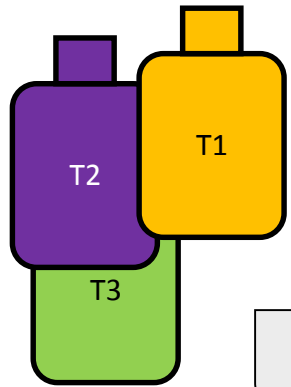


Interface 100 % phospholipides
MG végétale 40% + laitière 60%



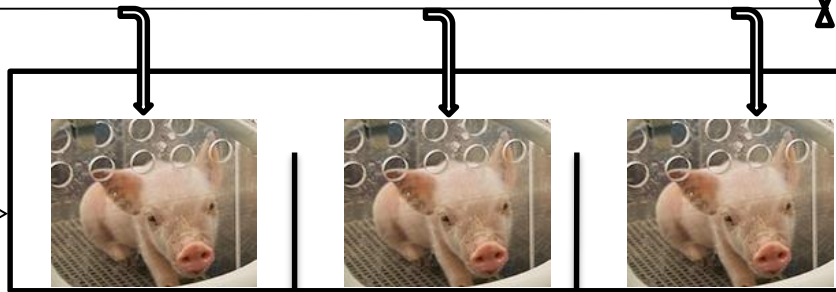
Lopez, (2007)

Protocole expérimental



- Lip. Veg
- Lip. Veg + PL
- Lip. Lait + PL

Alimentation automatique (10 repas/jour)



+
Porcelets sous la mère
(MF = + control)



Abattage à

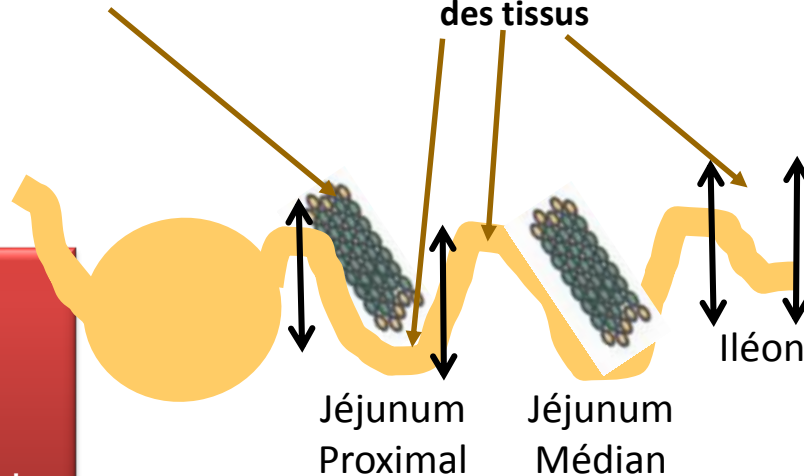
7 jours

28 jours

(90 min postprandiale)

Ganglions Mésentériques (MLN)

Collecte des effluents et des tissus



Effluents:
-SDS-PAGE
-Elisa

Tissus:

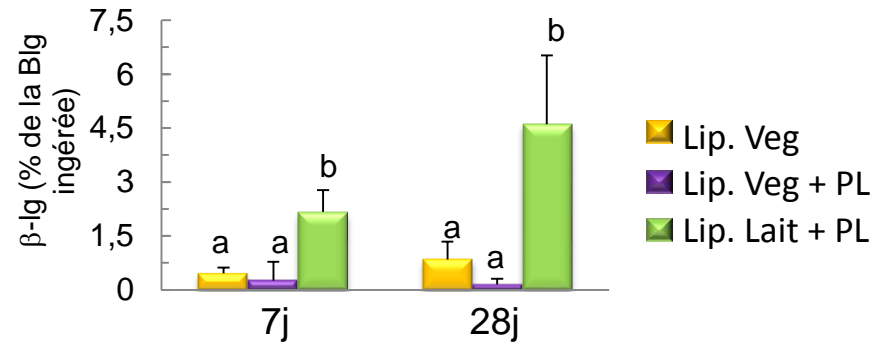
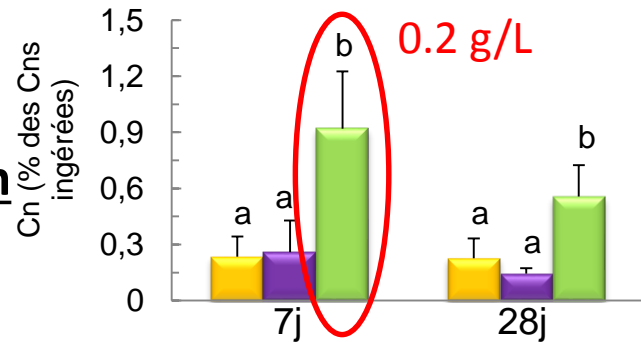
- Morphométrie
- Activités enzymatiques
- Perméabilité intestinale
- Réponse immunitaire locale

Digestion des protéines

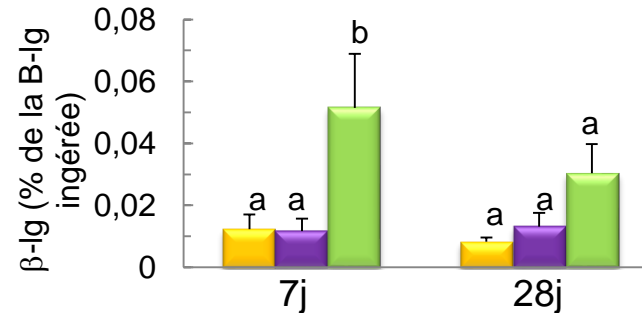
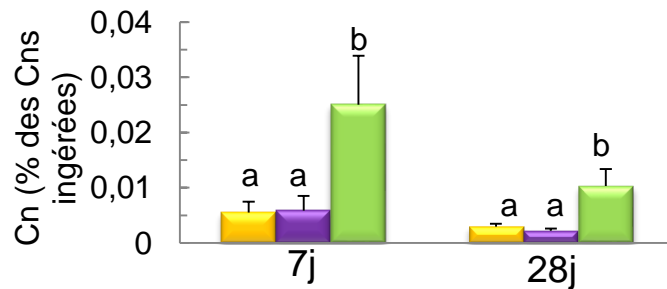
Caséines

β -lactoglobuline

Jéjunum



Iléon



Les protéines laitières résistent plus à la digestion intestinale en présence de lipides laitiers

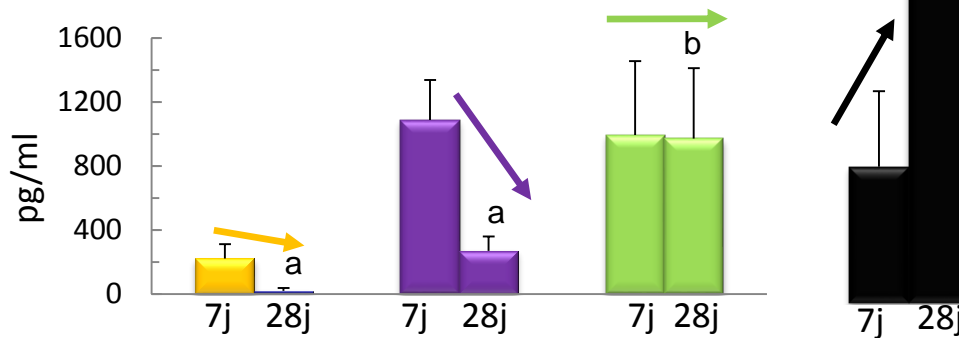
→ Modification de l'interface de la gouttelette lipidique?

(Granger *et al* 2005; Davies *et al*, 2001)

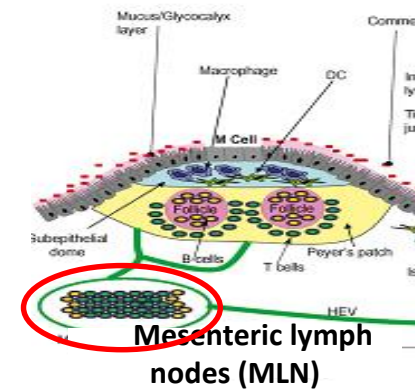
Maturation du système immunitaire en période post-natale

Activité sécrétoire des ganglions mésentériques

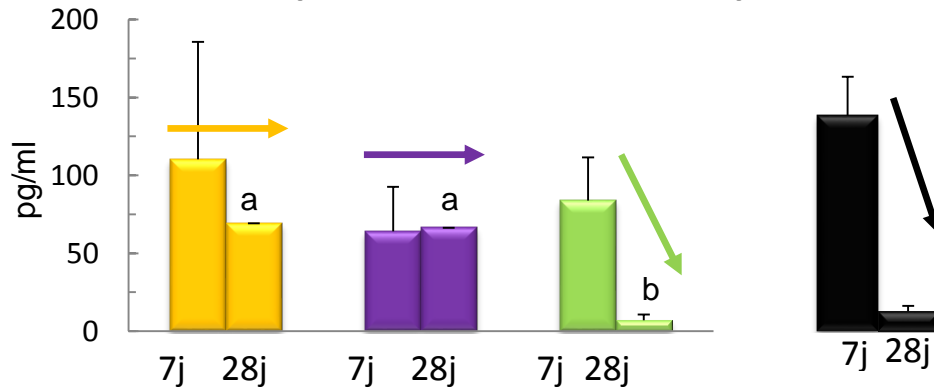
Interféron-g (Th1 pro-inflammatoire)



- Lip. Veg
- Lip. Veg + PL
- Lip. Lait + PL
- Porcelets SM



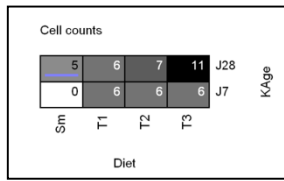
Interleukine-10 (Th2 anti-inflammatoire)



Lipides laitiers → maturation du système immunitaire similaire aux porcelets allaités

Le Huerou et al.
Eur J Nutr 2017

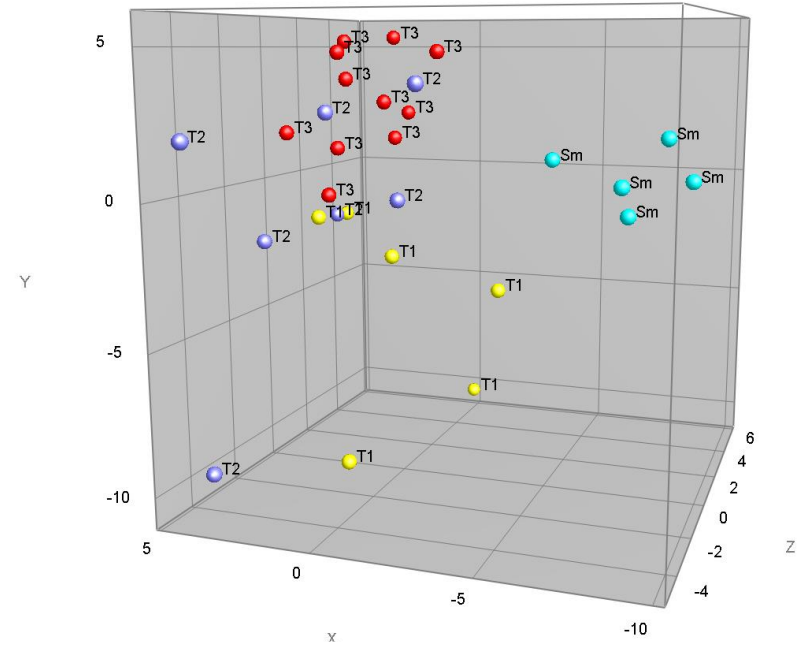
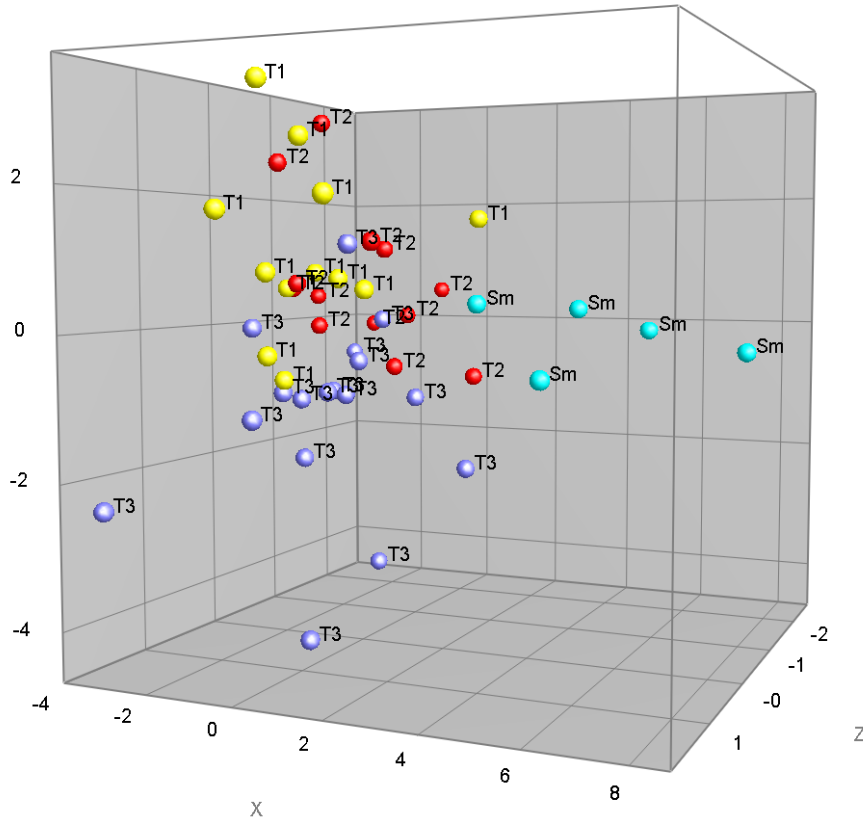
Microbiote par DHPLC



J7 & J28

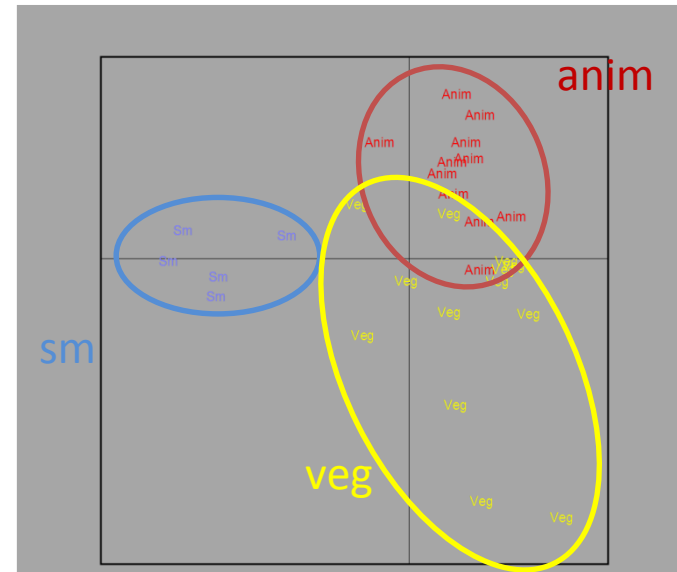


J28



La composition/structure de la formule « oriente » le microbiote

Bourlieu et al. Eur J Lipid Sci Technol 2016



CONCLUSION

- ☞ Le lait de vache est un aliment complexe renfermant une grande variété de protéines (caséines, protéines sériques, protéines mineures...) et de peptides
- ☞ Le traitement thermique du lait de vache tend à augmenter la résistance des caséines à la digestion
- ☞ Le lait maternel présente des structures natives (globule gras, micelle de caséines) qui sont différentes de celles présentes dans les formules infantiles.
- ☞ Ces modifications structurales influent sur les cinétiques d'hydrolyse des protéines et lipides dans le tube digestif.
 - ? Ces modifications ont-elles des conséquences physiologiques pour le nouveau-né?
- ☞ Pistes de recherche:
 - concevoir des formules infantiles de nouvelle génération, non, peu ou très traitées thermiquement et étudier leur devenir en digestion simulée

Véritable challenge technologique!!!

Projet NativIF (Carnot Qualiment 2018-20)

L'équipe Bioactivité & Nutrition de l'UMR STLO à Rennes



Head

Didier DUPONT - Senior Scientist

Scientists

Rachel BOUTROU – Junior Scientist

Amélie DEGLAIRE – Lecturer

Juliane FLOURY – Lecturer

Catherine GUERIN - Lecturer

Joëlle LEONIL – Senior Scientist

Françoise NAU – Professor

Frédérique PEDRONO – Lecturer

Ashkan MADADLOU – Post-doc

PhD students

Lucie LORIEAU (2016-2019)

Linda LEROUX (2016-2019)

Manon HIOLLE (2016-2019)

Yohan REYNAUD (2016-2019)

Amira HALABI (2017-2020)

Technicians

Gwenaële HENRY

Yann LE GOUAR

Nathalie MONTHEAN

Engineers

Julien JARDIN

Olivia MENARD

Jordane OSSEMOND

Masters students

Improving health properties of food by sharing our knowledge on the digestive process

International Network

Dr. Didier DUPONT, Senior Scientist, INRA, France

●
INFOGEST
●





Tech Univ Denmark Univ Aarhus Univ Copenhagen MTT Univ Oulu Univ Eastern Finland
 Norwegian Univ Life Sci Chalmers Univ Tech VTT Nofima Riga Stradin Univ Univ Ljubljana
 Univ Zagreb
 NIZO TNO Lund Univ

Wageningen UR Anabio
 Teagasc Univ Reading James Hutton Inst
 Univ College Cork Univ Birmingham
 Cent Rech Lippmann Univ Greenwich
 Univ Ghent Agroscope Posieux
 Inst Food Res Agrocampus Ouest
 Leatherhead Food Res ACW
 FIBL Univ Greifswald Univ Sevilla
 UNRA Max Rubner-Institut
 AgroParisTech CNRS Univ Basque Country
 Univ Murcia CTCPA
 CSIC Univ Granada
 NIH Ricardo Jorge
 Univ Alto Douro
 ITQB Milan State Univ
 FEM CNR
 Univ Milan Univ Naples



Canada
 Laval Univ
 Univ Guelph
 Czech Univ Prague
 Inst Chem Technol
 KTU Food Inst
 Lithuanian Univ HS
 Gdansk Univ Tech
 Maize Res Inst
 NGO
 Polish Academy of Sci
 Univ Belgrade
 Univ Novi Sad
 Aristote Univ Thessaloniki
 Centr Food Res Inst
 Ben Gurion Univ
 Technion
 Pom Med Univ



Argentina
 CONICET
 Univ Buenos Aires



Australia
 Deakin Univ
 Univ Queensland



Albania
 Agric Univ Tirana



Montenegro
 Ege Univ



USA
 Univ California Davis



New Zealand
 Riddett Inst
 Plant Food Res



China
 Soochow Univ

376 scientists - 140 institutes – 40 countries



Japan
 Nagoya Univ

Industry involvement

~ 40 private companies are following INFOGEST





We are pleased to announce the next 6th International Conference on Food Digestion



in Granada, Spain, 2-4 April 2019