

Variabilité de la teneur des laits en constituants d'intérêt nutritionnel selon la nature des fourrages consommés par les vaches laitières

B.MARTIN (1), A.FERLAY (1), P.PRADEL (2), E. ROCK (3), P. GROLIER (3), D. DUPONT (4), D. GRUFFAT (1), J.M BESLE (1),
N. BALLOT (5), Y.CHILLIARD (1), J.B. COULON (1)
(1) INRA Theix, Unité de Recherches sur les Herbivores, 63122 Saint-Genès-Champanelle
(2) INRA Marcenat, Domaine de la Borie, 15330 Marcenat
(3) INRA Theix, Unité Maladies Métaboliques et Micronutriments, 63122 Saint-Genès-Champanelle
(4) INRA Poligny, Station de Recherches en Technologie et Analyses laitières, 39800 Poligny
(5) Pôle Fromager AOC Massif Central, rue du Château Saint-Étienne, 15000 Aurillac

RESUME - Afin de tester la possibilité de faire varier la teneur des laits en micronutriments par le biais de l'alimentation des troupeaux, un essai a été mis en place en conditions expérimentales. Six rations couvrant une large gamme de situations alimentaires (rations « riche en concentrés » (65 %), « ensilage de maïs », « ensilage de ray-grass », « foin de ray-grass », « foin de prairie naturelle », et « herbe de prairie naturelle pâturée ») ont été offertes pendant 6 semaines à des lots de 8 vaches laitières (4 de race Tarentaise et 4 de race Montbéliarde) en phase descendante de lactation. A l'issue de la période expérimentale, les teneurs des laits en calcium, en phosphore, en caroténoïdes, en vitamines A et E, en acides gras majeurs et mineurs (dont les isomères des C18:1 et des CLA (acide linoléique conjugué)), ainsi que le potentiel antioxydant, ont été dosés sur des laits individuels. Les teneurs en polyphénols et en composés à activité antimicrobienne (lactoferrine, thiocyanate) ont été dosés sur les laits de mélange des différents lots.

Les régimes « riche en concentré » ou « ensilage de maïs » s'opposent aux régimes à base d'herbe, en particulier sous forme pâturée. Les rations riches en concentré et en ensilage de maïs induisent des laits plus riches en phosphore et moins riches en β -carotène, en vitamine E par rapport aux autres, et présentent un statut antioxydant inférieur à celui mesuré avec un régime à base d'herbe pâturée. L'herbe pâturée a également été à l'origine des laits les plus riches en acide oléique et en isomère *cis*9, *trans*11 du CLA (acide ruménique) par rapport aux rations riches en concentré ou à base d'ensilage de maïs. Toutefois, l'effet du pâturage semble variable selon le stade de l'herbe. Les premiers dosages de polyphénols, de lactoferrine et de thiocyanate semblent également révéler une variabilité selon la nature des fourrages distribués aux animaux.

Ces résultats montrent ainsi que l'alimentation des animaux peut être un levier d'action permettant de modifier substantiellement la teneur des laits en molécules présentant un intérêt pour la santé humaine.

Variability of the composition of milk in components having a nutritional interest according to the cow's diet

B.MARTIN (1), A.FERLAY (1), P.PRADEL (2), E. ROCK (3), P. GROLIER (3), D. DUPONT (4), D. GRUFFAT (1), J.M BESLE (1),
N. BALLOT (5), Y.CHILLIARD (1), J.B. COULON (1)
(1) INRA Theix, Unité de Recherches sur les Herbivores, 63122 Saint-Genès-Champanelle

SUMMARY - In order to verify if it was possible to modify the milk components having a nutritional interest by the diet of cows, a trial was made in experimental conditions. Six very different diets (rich in concentrates (65%), maize silage, rye grass silage, rye grass hay and native mountain hay and pasture) were given during 6 weeks to equivalent groups of 8 mid-lactation dairy cows (4 Montbeliardes and 4 Tarentaises). At the end of the experimental period, calcium, phosphorus, carotenoids, vitamin A and E, major and minor fatty acids (including C18:1 isomers and CLA (Conjugated Linoleic Acids)), antioxidant status were analysed on individual milks. Polyphenols and some components having an anti-microbial activity (lactoferrin, thiocyanate) were determined on the mixed milks corresponding to each diet.

Diets rich in concentrates or maize silage were very different from grass-based diets, especially when pastured. Concentrate or maize silage based diets led to the higher content in phosphorus and the lower content in β -carotene and vitamin E and the lower antioxidant status. Pasture derived milks were also richer in oleic acid and in 9*cis* 11*trans* CLA (rumenic acid) than the concentrate or maize silage diets. However the influence of the diet seems to be different according to the development stage of the pasture. The first results concerning milk content in polyphenols, lactoferrin and thiocyanate also show they are variable according to the diets. These results show that feeding may be a rapid and efficient way to modify milk components having a nutritional interest.

INTRODUCTION

Les consommateurs et les responsables des filières de production sont de plus en plus sensibilisés à la valeur santé des produits. Cette dernière repose en partie sur la teneur en micronutriments, composés de facteurs de protection (caroténoïdes, vitamines, polyphénols, acides gras mineurs) dont certains pourraient agir par leur activité antioxydante clairement établie. Le rôle santé des produits végétaux dans l'alimentation humaine est bien établi notamment par des approches épidémiologiques (Steinmet & Potter, 1996 ; Ness & Powles, 1997) mais il reste à préciser celui des produits animaux, et notamment des produits laitiers. Ces derniers apportent des acides gras saturés et certains hydrates de carbone (lactose), qui sont autant de facteurs de risque au regard des maladies cardiovasculaires (Grant, 1998). Les produits laitiers peuvent cependant contenir des nutriments ayant un impact positif sur la santé humaine tels que le calcium, certaines protéines, des caroténoïdes, les vitamines, ou encore certains acides gras mineurs comme les acides linoléiques conjugués (CLA). Les références sur les teneurs en micro-nutriments des laits sont encore fragmentaires. Les premiers résultats montrent que la fraction lipophile des micronutriments est variable selon l'alimentation des animaux (Chilliard *et al.*, 2001 ; Astier *et al.*, non publié). Ainsi, l'alimentation des animaux pourrait constituer un levier d'action pour moduler la teneur en micronutriments des laits. Des travaux, déjà nombreux bien que récents, ont débuté sur le thème du CLA mais il n'existe pas d'études ayant quantifié simultanément un grand nombre de micronutriments du lait en fonction de l'alimentation des vaches laitières. Par ailleurs, l'alimentation des animaux est de plus en plus utilisée comme critère d'appréciation du produit par le consommateur. C'est en particulier le cas de l'alimentation à base d'herbe, qui jouit d'une image positive qu'il est souhaitable d'objectiver.

Les objectifs de ce travail étaient de quantifier la variabilité des micronutriments des laits en fonction de l'alimentation des animaux. Pour cela, les effets à court terme d'une large gamme de situations alimentaires ont été testés en situation expérimentale sur la teneur des laits en caroténoïdes, en vitamines A et E, en calcium et phosphore, et en acides gras mineurs. Par ailleurs, d'autres mesures ont été réalisées concernant les polyphénols, le thiocyanate, la lactoferrine ainsi que le potentiel antioxydant global du lait.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

Cinquante-six vaches laitières du domaine expérimental de Marcenat (Cantal) ont été utilisées pour constituer 7 lots équivalents. Les vaches étaient en milieu de lactation et avaient un niveau de production modéré (12 à 20 kg/jour au début d'essai). Chacun des lots comprenait 4 Montbéliardes (dont 2 primipares) et 4 Tarentaises (dont 2 primipares). Cinq des 7 lots ont été utilisés au cours d'une période expérimentale hivernale (mi-février à mi-avril), les 2 autres au cours d'une période estivale (mai à juin). Chacune des périodes comprenait une phase pré-expérimentale de 3 semaines au cours de laquelle les animaux recevaient une ration composée de 86 % d'ensilage de maïs, de l'orge et du tourteau de soja distribué selon les besoins des vaches. Ensuite, au cours d'une phase expérimentale de 6 semaines, les lots recevaient chacun une ration différente.

En hiver, 5 rations différentes ont été distribuées : ration riche en concentrés (CC : orge et tourteau de soja), à base d'ensilage de maïs (EM), d'ensilage de ray-grass anglais (Erga), de foin de ray-grass anglais (Frga) et de foin de prairie naturelle de montagne (Fpn). Les deux foin distribués avaient été séchés en grange. Dans la ration CC, le concentré représentait 68% de la matière sèche ingérée par les vaches laitières, dans les autres rations sa proportion variait de 10 à 14%. Dans tous les traitements, le concentré était constitué d'orge (75%) et de tourteau

de soja (25%) à l'exception du lot CC où la proportion d'orge était plus importante (95%). Les aliments (fourrages et concentrés) étaient distribués en quantité limitée de façon à ce que les apports énergétiques couvrent les besoins des animaux de manière semblable dans tous les lots et que les apports azotés ne soient pas limitants. Au cours de la période estivale, un lot a été mis à l'herbe sur une parcelle de prairie naturelle de montagne (Pat) sans aucun concentré (autre que les CMV) alors que le second lot a reçu une ration à base de foin de prairie naturelle (Fpn), identique à celle distribuée en période hivernale. Au cours de l'ensemble de l'expérimentation, les mêmes quantités de CMV ont été distribuées à toutes les vaches. Ce dernier était composé de respectivement 80, 140 et 100 g/kg de P, Ca et Mg et de 2.10^5 , 4.10^4 et 40 UI/kg de vitamines A, D3 et E. Les quantités d'aliments (en MS) distribuées et refusées ont été mesurées pour toutes les vaches recevant des fourrages conservés.

1.2. PRÉLÈVEMENTS ET ANALYSES

Les prélèvements des laits individuels, représentatifs de la production d'une journée ou d'une traite du matin ont été réalisés au cours de la dernière semaine des phases pré-expérimentale et expérimentale (S6). Au cours de la période estivale, des prélèvements ont également été réalisés durant la 3ème semaine de la phase expérimentale (S3). Les laits étaient immédiatement congelés après les prélèvements. Les dosages de la composition en acides gras, de la teneur en caroténoïdes, en vitamines A et E, en calcium, en phosphore et le potentiel antioxydant (méthode par oxydation de la met-myoglobine) ont été réalisés sur les laits individuels prélevés en fin des périodes expérimentale et pré-expérimentale. Le potentiel antioxydant correspond à une analyse fonctionnelle globale de la susceptibilité à l'oxydation des acides gras qui dépend de leur nature et de la teneur en éléments antioxydants du lait. Les acides gras ont été dosés sur des échantillons représentatifs de la traite d'une journée alors que les autres dosages ont été réalisés sur les laits de la traite du matin. Par ailleurs, les acides gras ainsi que les caroténoïdes et les vitamines ont été dosés sur les laits des vaches du lot Pât prélevés en milieu de période expérimentale. Enfin, les teneurs en thiocyanate, en lactoferrine et en polyphénols ont également été dosées, en fin de période expérimentale sur les laits de mélange des 8 vaches de chaque lot.

Les résultats obtenus sur les laits individuels ont été traités par analyse de variance en introduisant dans le modèle statistique, les résultats de chaque individu en période pré-expérimentale comme covariable et les effets du régime, de la race et de l'interaction entre la race et le régime. Ne seront présentés dans ce texte que les données relatives à l'effet du régime. Les résultats obtenus sur les laits de mélange de toutes les vaches du lot n'ont pas fait l'objet de traitements statistiques.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. RÉSULTATS ZOOTECHNIQUES (tableau 1)

Au cours de la période hivernale, les apports énergétiques ont été voisins dans tous les lots à l'exception du lot Erga où ils ont été plus faibles de 1 UFL/jour/vache (ingestion d'ensilage plus faible que prévue). Ces apports inférieurs expliquent la production laitière et le taux protéique plus faibles dans ce lot. Les apports azotés ont été très variables selon les lots mais, dans tous les cas, ils ont permis de couvrir les besoins des animaux. Les teneurs en matière grasse des laits ont été supérieures dans les deux lots EM et CC. Cette observation est conforme aux résultats de la bibliographie en ce qui concerne le lot EM (Coulon *et al.*, 1994) mais elle est plus surprenante dans le cas d'une ration comprenant 65% de concentrés (CC). Ce résultat s'explique vraisemblablement par les précautions prises contre les risques d'acidose inhérents aux régimes riches en concentrés (distribution des concentrés en 3 repas quotidiens et addition de bicarbonate de calcium). La production laitière et le

Tableau 1
Ingestion et teneurs des laits en carotènes, vitamines, acides gras, minéraux et antioxydants.

	hiver					été				
régime	CC	EM	F rga	F pn	E rga	F pn	Pat S3	Pat S6	ETR	Si
Ingestion										
Proportion de concentré (%)	65	87	90	87	86	87	98	98	/	/
UFL ingérées (l/vache)	12,9	13,0	13,5	13,2	12,0	13,6	/	/	/	/
PDI ingérées (g/jour/vache)	1320	1120	1380	1569	1038	1616	/	/	/	/
Production et composition du lait										
Lait (kg/l/vache)	13,4	13,8	15,6	14,2	12,8	15,0	17,0	14,0	1,2	**
Taux butyreux (g/kg)	41,3	40,2	37,4	36,8	35,5	35,7	35,8	34,9	2,5	**
Taux protéique (g/kg)	32,9	31,8	32,2	31,8	30,8	33,3	32,4	31,0	1,4	**
Carotènes-Vitamines (mg/L)										
Lutéine 10 ⁻²	2,6	2,4	3,0	2,4	2,7	2,4	3,2	2,7	0,4	**
β-crypto-xantine, 10 ⁻²	2,2	1,6	0,9	0,7	0,8	0,6	/	0,9	1,6	ns
β-carotène, 10 ⁻²	12,0	9,8	12,9	9,0	16,8	6,1	19,3	15,8	2,5	**
Vitamine A	0,17	0,15	0,16	0,13	0,21	0,08	0,20	0,14	0,06	**
Vitamine E	0,46	0,48	0,47	0,47	0,62	0,45	0,63	0,62	0,08	***
Acides gras (% des acides gras totaux)										
C4:0 à C8 :0	9,0	8,6	8,2	10,2	9,0	7,0	6,2	6,7	1,7	ns
C10:0 à C14 :0	21,3	18,7	18,9	19,4	18,1	19,6	15,9	17,5	2,0	**
C16:0	33,4	30,7	30,1	28,5	31,9	30,9	23,1	29,9	2,7	**
C18:0	6,7	8,0	8,3	8,2	8,1	9,0	11,6	9,4	1,2	**
C18:1 <i>cis</i> 9	14,2	16,7	15,5	16,1	16,0	17,8	24,1	21,8	2,2	**
C18:1 <i>trans</i> 11	0,7	1,1	1,9	1,4	0,8	1,2	3,7	1,7	0,5	**
C18:2	1,8	1,5	1,0	1,1	1,1	1,2	1,1	1,2	0,2	**
C18:3	0,4	0,1	0,9	1,1	0,8	1,0	1,1	0,8	0,3	**
C18:2 <i>cis</i> 9, <i>trans</i> 11	0,4	0,7	0,9	0,7	0,5	0,6	1,7	0,8	0,2	**
Indice d'athérogénéité	3,8	3,0	3,2	3,1	3,3	3,2	1,6	2,4	0,5	**
Minéraux (g/kg)										
Calcium	1,15	1,12	1,09	1,03	1,00	1,10	/	1,07	0,13	ns
Phosphore	0,98	0,94	0,85	0,85	0,82	0,88	/	0,80	0,09	**
Potentiel Antioxydant (mmol/L)	1,19	1,28	1,48	1,23	1,56	1,59	/	1,75	0,36	*

Si : signification statistique ; ns : non significatif, * :p<0,05, ** :p<0,01, / : non déterminé. ETR : Ecart-type résiduel
indice d'athérogénéité : (C12:0 + 4C14:0 + C16:0)/(somme des AG insaturés).

taux protéique des laits des animaux au pâturage ont diminué à partir de la 3ème semaine expérimentale (Pât S3) en raison de l'avancement du stade de l'herbe (début épiaison en S3 et floraison en S6).

2.2. MICRONUTRIMENTS DES LAITS (tableau 1)

Les caroténoïdes identifiés dans les laits ont été la lutéine, la β-cryptoxantine et le β-carotène dont la concentration a été entre 3 et 20 fois plus importante que celle des 2 autres caroténoïdes. Contrairement à la lutéine ou à la β-cryptoxantine dont les teneurs ont été peu variables, les concentrations en β-carotène ont varié fortement selon le régime. En accord avec les résultats précédents de Coulon et Grolier (non publié) les quantités de β-carotène les plus élevées ont été observées dans les laits obtenus au pâturage ou avec l'ensilage d'herbe. Nous avons pu vérifier que la concentration dans le lait était directement corrélée aux quantités de β-carotène ingérées. Une teneur non négligeable en β-carotène a cependant été observée dans le lait des animaux du lot EM, pour lequel les quantités de β-carotène ingérées étaient pratiquement nulles. Cette observation suggère que la sécrétion du β-carotène dans le lait fait intervenir des phénomènes de stockage (via les tissus adipeux) et qu'il existe une rémanence des régimes antérieurs. La teneur en β-carotène est plus importante dans l'herbe que dans le maïs et dans les fourrages à base d'herbe, sa concentration diminue avec le stade de végétation, ce qui explique la diminution de teneur en β-carotène du lait de pâturage entre les semaines 3 et 6. L'intensité de la diminution de la teneur en β-carotène de l'herbe conservée dépend de la durée d'exposition à la lumière après la coupe. Ceci explique la forte teneur en β-carotène des laits du régime Erga, pour lequel l'herbe était récoltée à un stade précoce et ensilée immédiatement. Les teneurs des laits en vitamine A (dont le β-carotène est le pré-curseur) et E ont également été plus élevées au pâturage et dans le régime Erga.

En ce qui concerne les acides gras, les principales différences entre régime ont été observées entre les laits obtenus au pâturage, notamment lorsqu'il est à un stade précoce, et les autres régimes testés. Les laits produits à l'herbe ont été moins riches en acides gras saturés de 4 à 16 atomes de carbone et ont été nettement plus riches en C18:0, C18:1 (isomères *cis* 9 et *trans* 11) et en acide ruménique (AR, principal isomère des CLA du lait : *cis* 9, *trans* 11 C18:2). Ces résultats sont en accord avec des travaux précédents dans lesquels des comparaisons indirectes entre des régimes à base d'herbe et d'ensilage de maïs ont été réalisées (Chilliard *et al.*, 2001). Les concentrations en AR ont été les plus faibles dans les laits obtenus avec le régime CC. Au pâturage, elles ont été nettement plus importantes en semaine 3 qu'en semaine 6, ce qui laisse supposer que le stade de l'herbe joue un rôle important. Les proportions d'AR ont varié dans le même sens que les proportions de C18:1 *trans* 11, probablement parce que ce dernier acide gras est un précurseur de l'AR : il peut être désaturé au niveau de la mamelle pour former l'AR (Chilliard *et al.*, 2001). Ces différences sont à l'origine des variations importantes de l'indice d'athérogénéité dont les valeurs les plus faibles ont été obtenues avec les laits issus du pâturage (la 'valeur santé' est d'autant plus importante que l'indice a une valeur plus faible).

La teneur des laits en calcium n'a pas varié de façon significative selon les régimes, alors que les teneurs en phosphore ont été plus élevées avec les régimes EM et CC comparativement aux régimes à base d'herbe.

La mesure globale du potentiel antioxydant des laits a permis de mettre en évidence une valeur plus élevée pour les laits de pâturage qui sont donc plus résistants à l'oxydation malgré leur proportion d'acides gras poly-insaturés plus élevée. Ce résultat s'explique vraisemblablement par leur plus forte teneur en vitamine E.

2.3. AUTRES COMPOSÉS (tableau 2)

Les premiers dosages de composés ayant une activité antimicrobienne comme le thiocyanate ou la lactoferrine semblent révéler des différences selon le régime : la teneur en thiocyanate a été inférieure dans les laits provenant d'animaux alimentés avec les régimes CC et EM, comparativement aux

régimes à base de d'herbe, quelle que soit sa présentation et la teneur en lactoferrine a été plus importante dans les laits provenant du régime CC.

Enfin, les quantités globales de polyphénols dosés dans les laits (comprises entre 2 et 9 mg/L selon les régimes) sont supérieures à celles observées dans quelques rares études (King *et*

Tableau 2
Teneur des laits en polyphénols, en thiocyanate et lactoferrine

régime	hiver					été	
	CC	EM	F rga	F pn	E rga	F pn	Pat
Molécules à activité anti-microbienne (mg/L)							
Thiocyanate	3,5	2,5	6,2	6,5	4,3	5,9	6,9
Lactoferrine	94	38	38	51	51	48	69
Composés phénoliques (mg/L):	2,0	5,3	4,5	3,7	7,5	1,5	9,0

al., 1998). Les quantités les plus importantes ont été observées dans les laits provenant des régimes Pât et Erga. Au total, environ 45 molécules différentes (dont un tiers proviennent de la prairie naturelle) composées principalement d'acides phénoliques et de flavonoïdes sont présentes. Ces résultats sont novateurs et potentiellement intéressants mais ils doivent cependant être validés dans la mesure où ils ont été acquis à partir d'un faible nombre d'échantillons.

CONCLUSIONS

Les premiers résultats obtenus au cours de cet essai montrent que la majorité des micronutriments dosés dans les laits est susceptible de varier selon la nature des fourrages distribués aux animaux. Les rations à base d'herbe, en particulier lorsque celle-ci est pâturée, augmentent les teneurs des laits en microconstituants d'intérêt nutritionnel et ainsi s'opposent aux

rations à base de concentré et d'ensilage de maïs. Il semblerait cependant que l'effet favorable du pâturage soit variable selon le stade de l'herbe dont l'effet mériterait maintenant d'être précisé.

Ces travaux ont été réalisés dans le cadre du Pôle Fromager AOC Massif Central avec un soutien financier du ministère de la Recherche (programme Aliments-Qualité-Sécurité).

Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M., 2001. Liv. Prod. Sci., 70, 31-48.
Coulon, J.B., Agabriel, C., Brunshwig, G., Muller, C., Bonaïti, B., 1994. J. Dairy Sci., 77, 2614-2620.
King R.A., Mano M., Head R., 1998. J. Dairy Res., 65, 479-489.
Grant, W.B., 1998. Altern. Med. Rev., 3, 281-294.
Ness, A.R., Powles, J.W., 1997. Int. J. Epidemiol., 26, 1-13.
Steinmetz, K.A., Potter, J.D., 1996. J. Am. Diet. Assoc., 96, 1027-1039.