

ADLF, Rennes, 14-15 Juin 2013

Digestion *in vitro* dynamique du lait maternel : effet de la pasteurisation

Olivia Ménard^{1,2}, Amélie Deglaire^{1,2}, Claire Bourlieu^{1,2}, Sophie Chever^{1,2},
Alain Beuchée³, Alain Dabadie³, Véronique Le Bail³, Patrick Pladys³,
Didier Dupont^{1,2}

¹INRA-UMR 1253 STLO, ²Agrocampus Ouest, Rennes

³CHU, Rennes, France

Congrès des lactariums de France

14 juin 2013

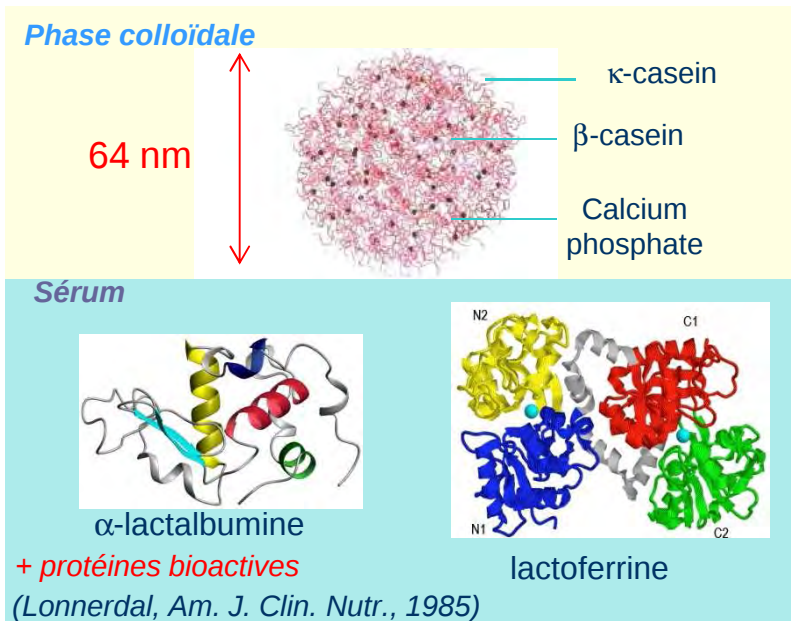


Introduction

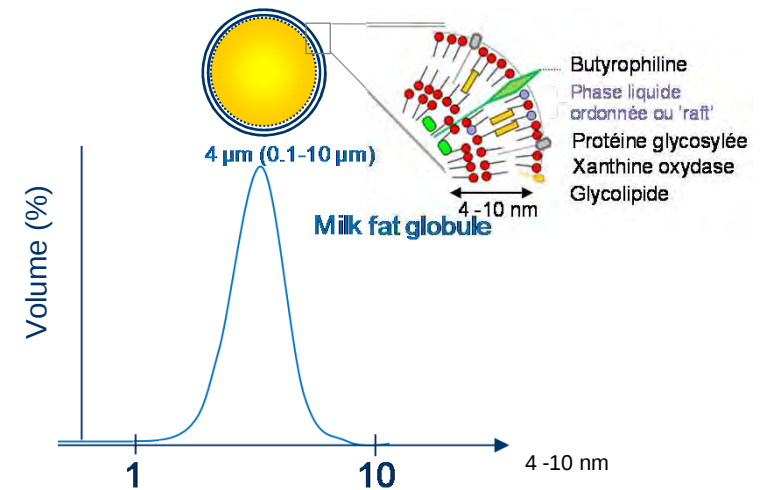


- **Lait maternel** : alimentation optimale pour les nouveaux-nés (OMS)
 - Effet positif sur le développement et la croissance
- Nouveaux-nés prématurés: lait maternel pasteurisé issu de donneuse anonyme (ou de la maman)
- **Pasteurisation de Holder** (62.5 °C, 30 min) : recommandations internationales
 - **Destruction de la flore pathogène**
 - **Altération des immunoglobulines** (Akinbi et al., 2010; Van Gysel et al., 2012)
- Qualité nutritionnelle du lait pasteurisé ?
 - Absorption des lipides et croissance réduite (Andersson et al., 2007)
 - Digestion des protéines ?
- Question de recherche : impact de la **pasteurisation** du lait maternel sur les cinétiques de **déstructuration** et de **digestion** des **protéines** et **lipides** dans un digesteur dynamique **in vitro**

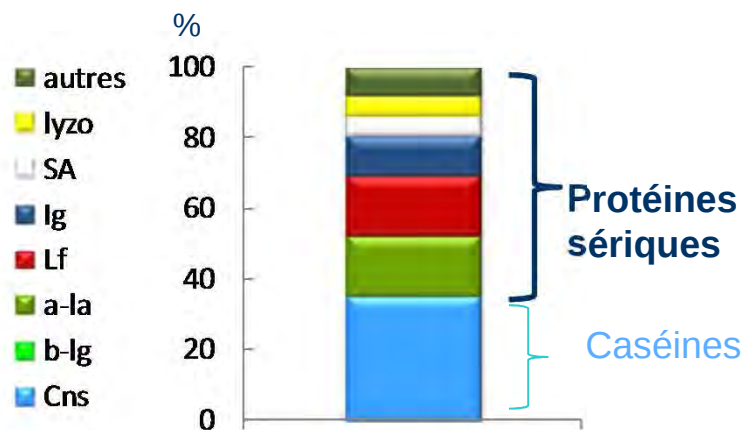
Protéines



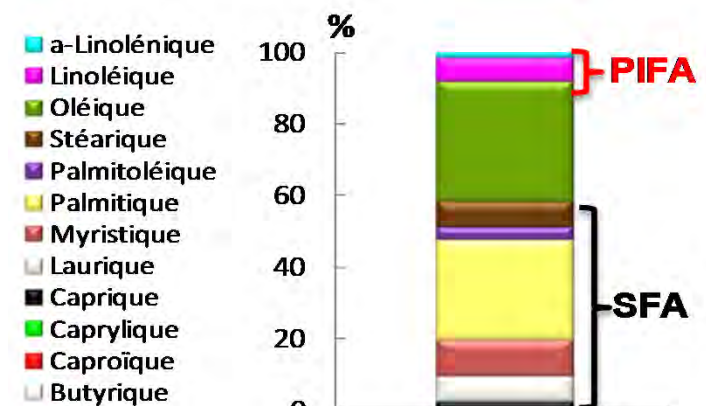
Lipides



(Blasi et al., 2008; Bourlieu et al., 2009; Jensen, Lipids, 1999; Lopez and Briard, 2007; Michalski, 2009)

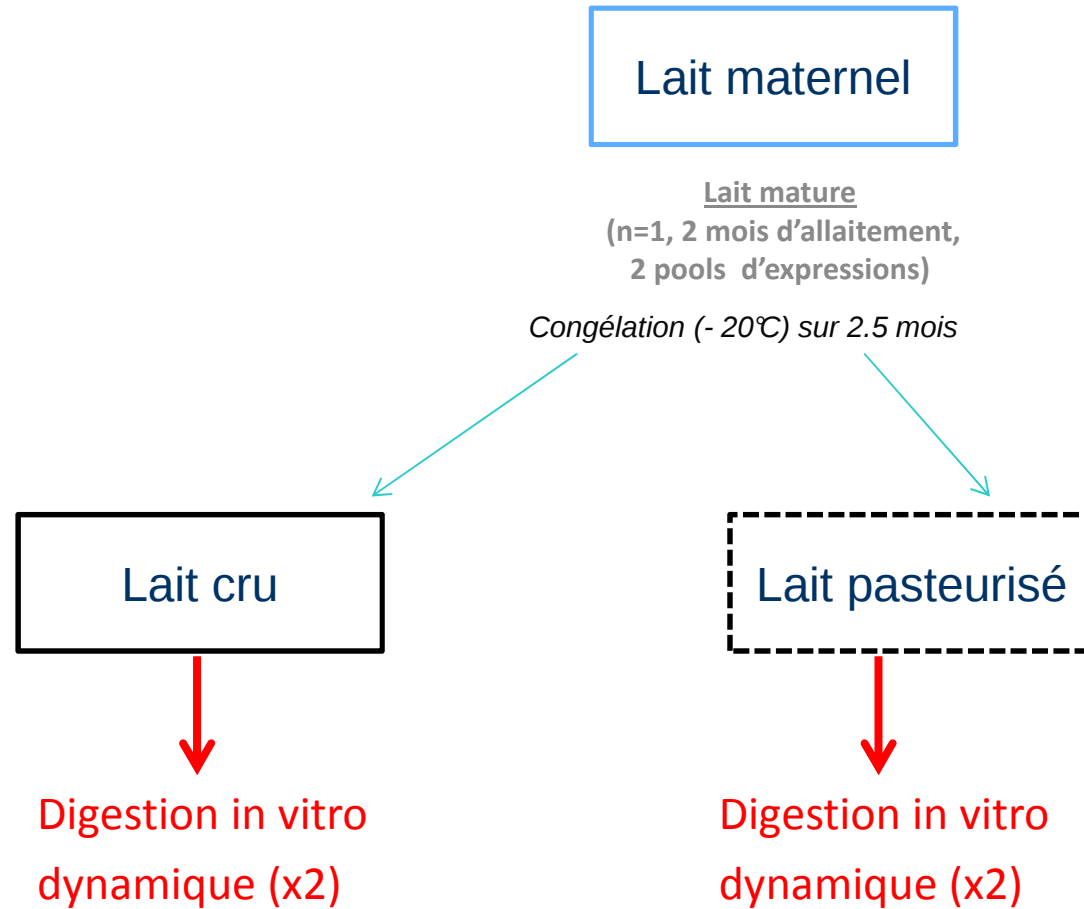


Ratio Cn/PS : 40/60

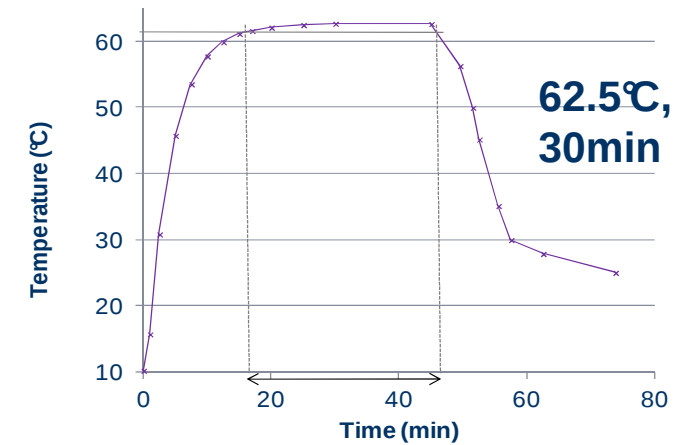


(Chatterton et al., 2004; Nasirpour et al., 2005)

Plan d'expérience



*Pasteurisation de Holder – 62.5°C/30 min
(x2 pools)
Congélation (-20°C) sur 10 jours*

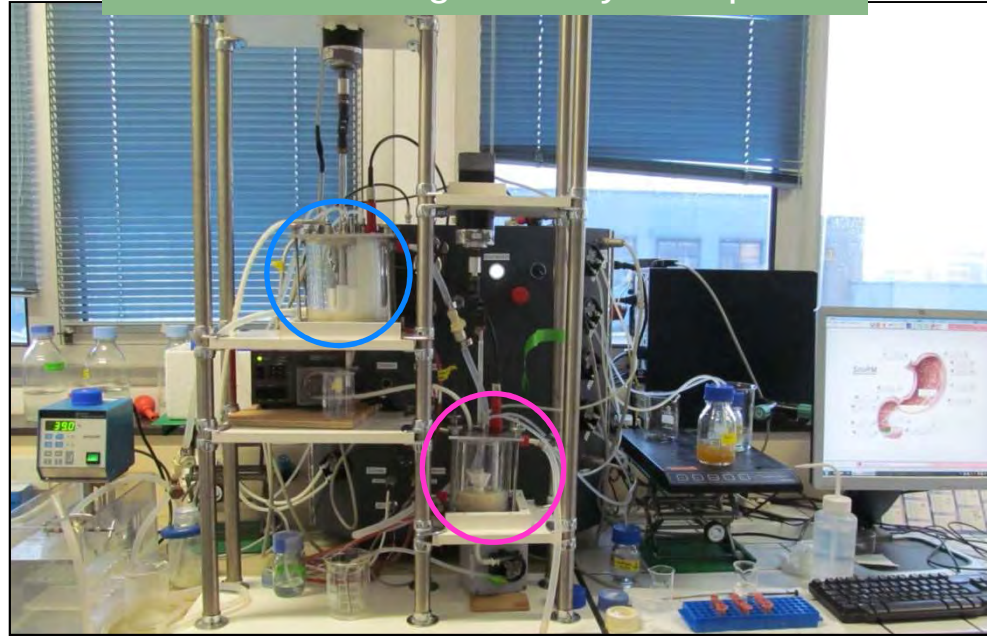


Lait maternel



Ingestion

10 ml/min -10 min
→ 100 ml, 37°C



StoRM® software

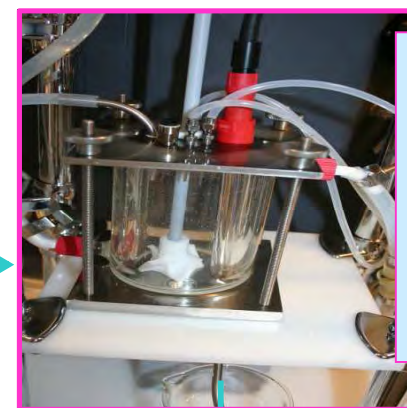
Estomac



Fluides gastriques:

- fluide gastrique (NaCl/CaCl₂)
 - pepsine
 - lipase
 - régulation pH avec HCl
- $$\text{pH} = -0.015 \times \text{temps}(\text{min}) + \text{pH}_{\text{initial}}$$

Intestin



Fluides Intestinaux

- pancréatine
- bile
- NaHCO₃ (pH = 6.5)

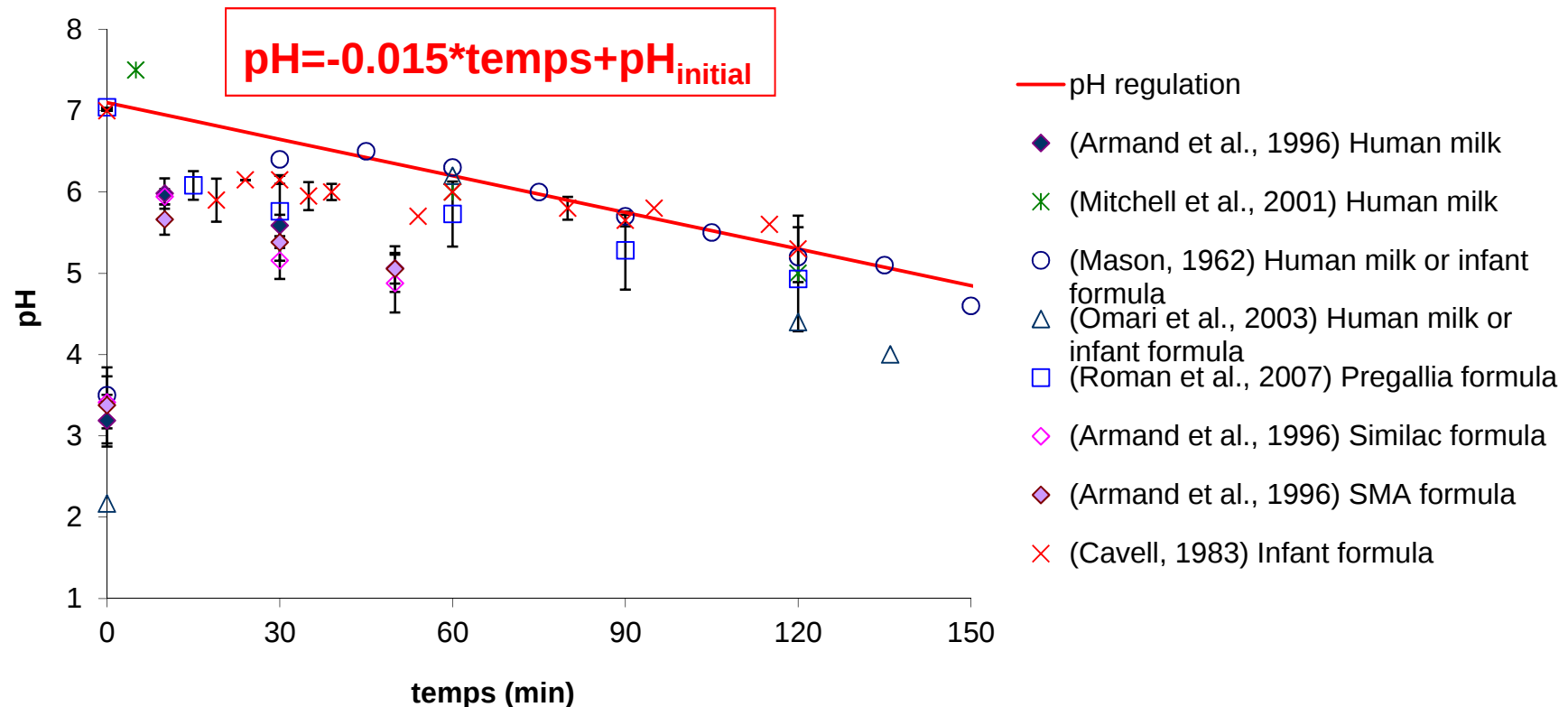
vidange G

Vidange I

Régulation du pH dans l'estomac

acidification gastrique :

➤ modélisation à partir des données de la littérature



Modélisation de la vidange gastrique et intestinale

→ Modèle mathématique décrit par *Elashoff et al, 1982*

$$f = 2^{-(t/t_{1/2})^\beta}$$

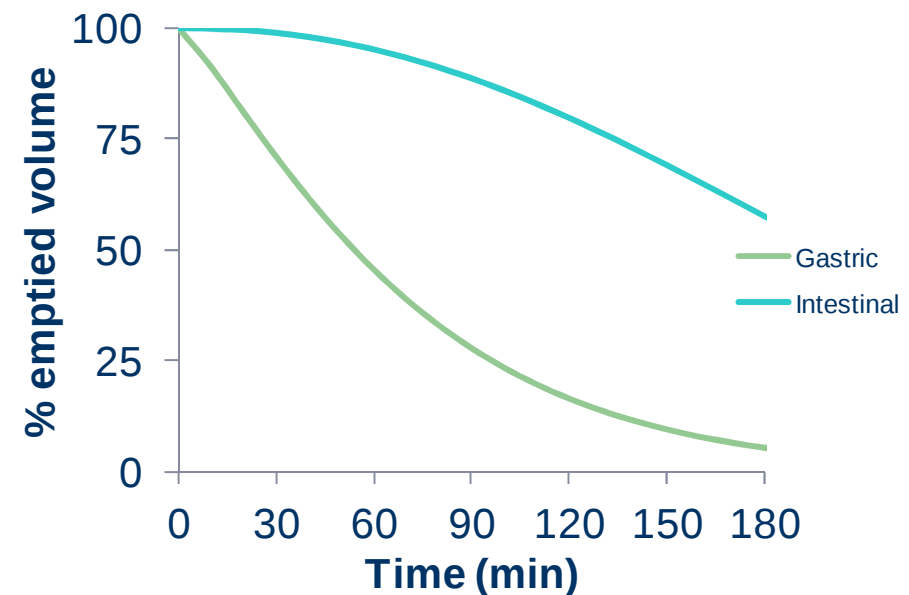
f : volume résiduel

t_{1/2} (min) = temps de demi-vidange

β : coefficient

Paramètres

Estomac		Intestin	
T _{1/2} (min)	β	T _{1/2} (min)	β
54	1.2	200	2.2



Prélèvements

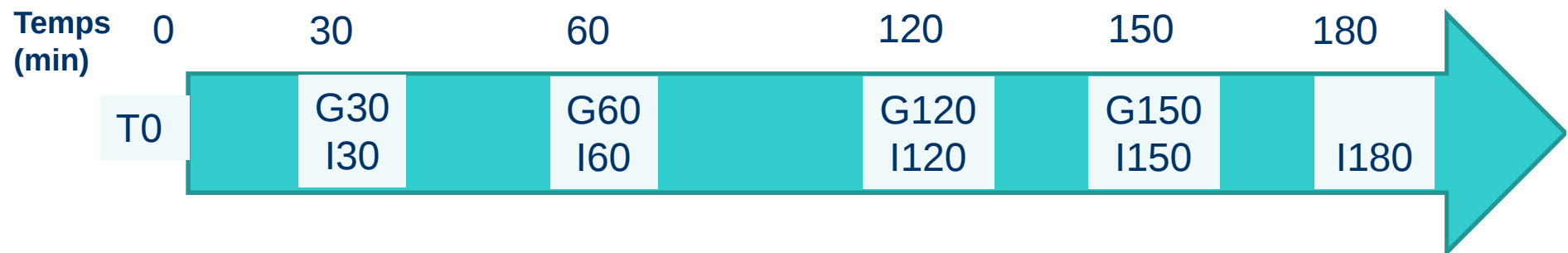
Gastriques (G)



Intestinaux (I)



vidange



Caractérisation des digestas

Microscopique

Moléculaire

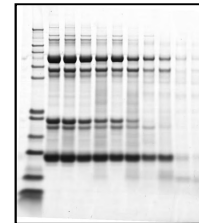
Granulométrie laser



Microscopie confocale

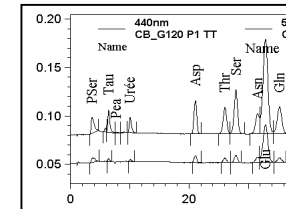


SDS-Page

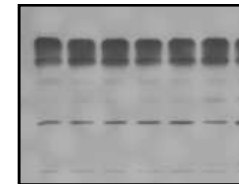


Protéines & Lipides

HPLC



CCM

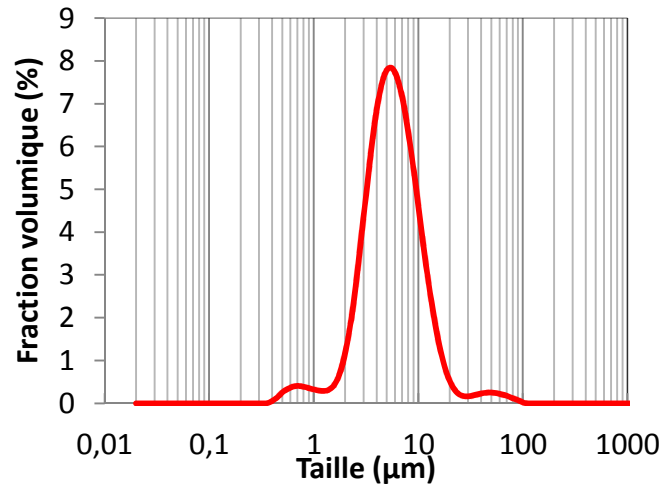




Granulométrie laser / Microscopie confocale

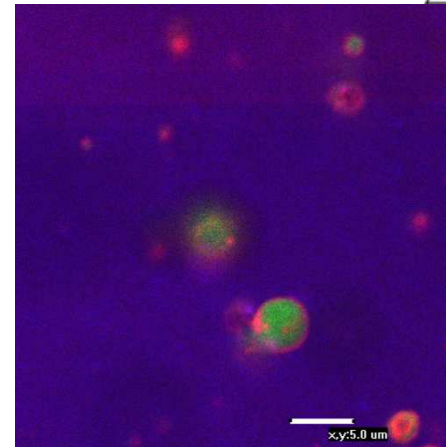
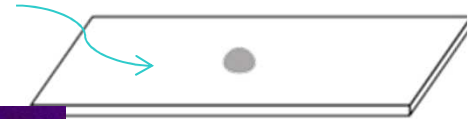


taille des particules déterminée
par diffraction de la lumière
à différents angles

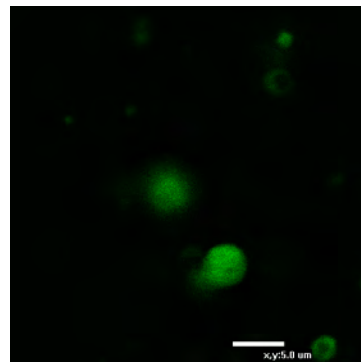


Marquage des
digestas
par 3 sondes
fluorescentes

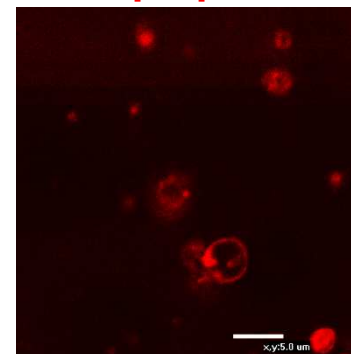
→ OBS X60



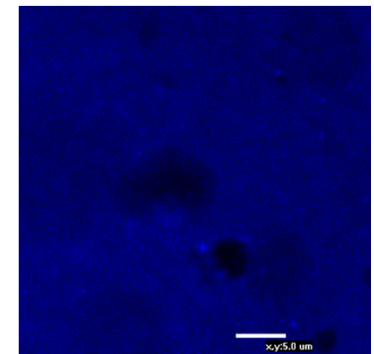
Lipides apolaires



Amphiphiles

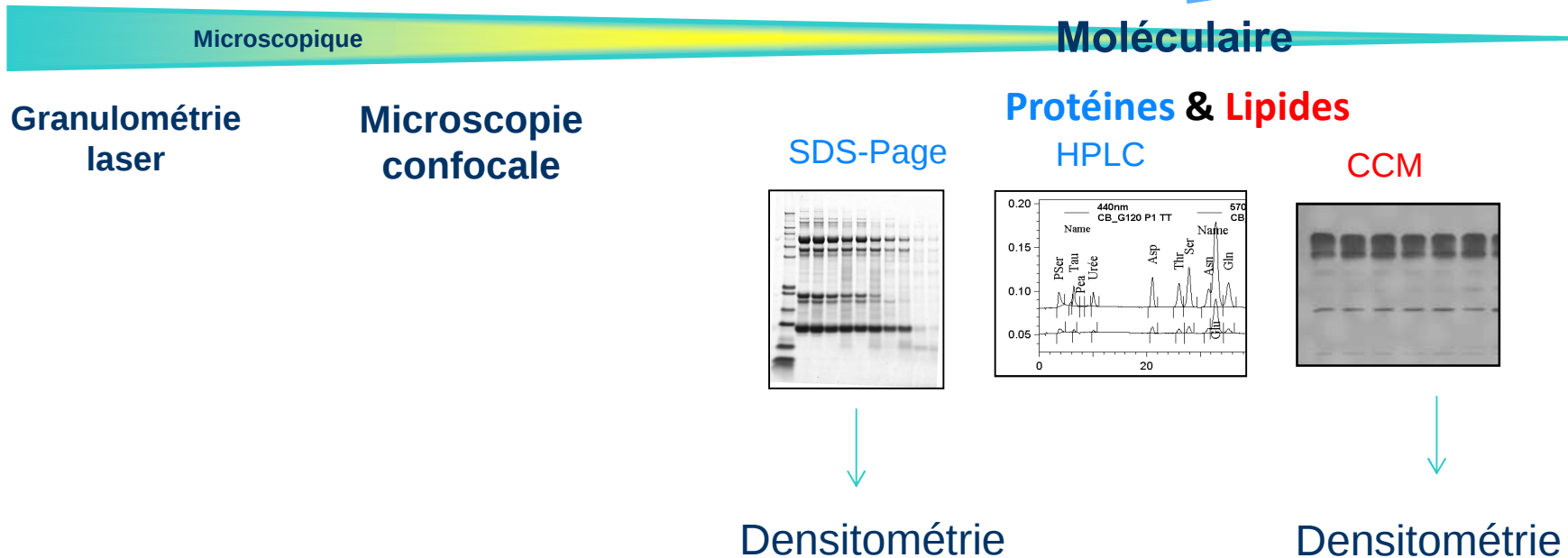


Protéines



Caractérisation des digestas

Suivi de la structure à l'échelle moléculaire



Facteur de dilution

$$X_{ti} = \frac{x_{ti} \times Meal_{t0}}{RMeal_{ti}}$$

x_{ti}

Contenu en AA (mg/ml digesta)

$Meal_{t0}$

Volume de lait ingéré (ml)

$RMeal_{ti}$

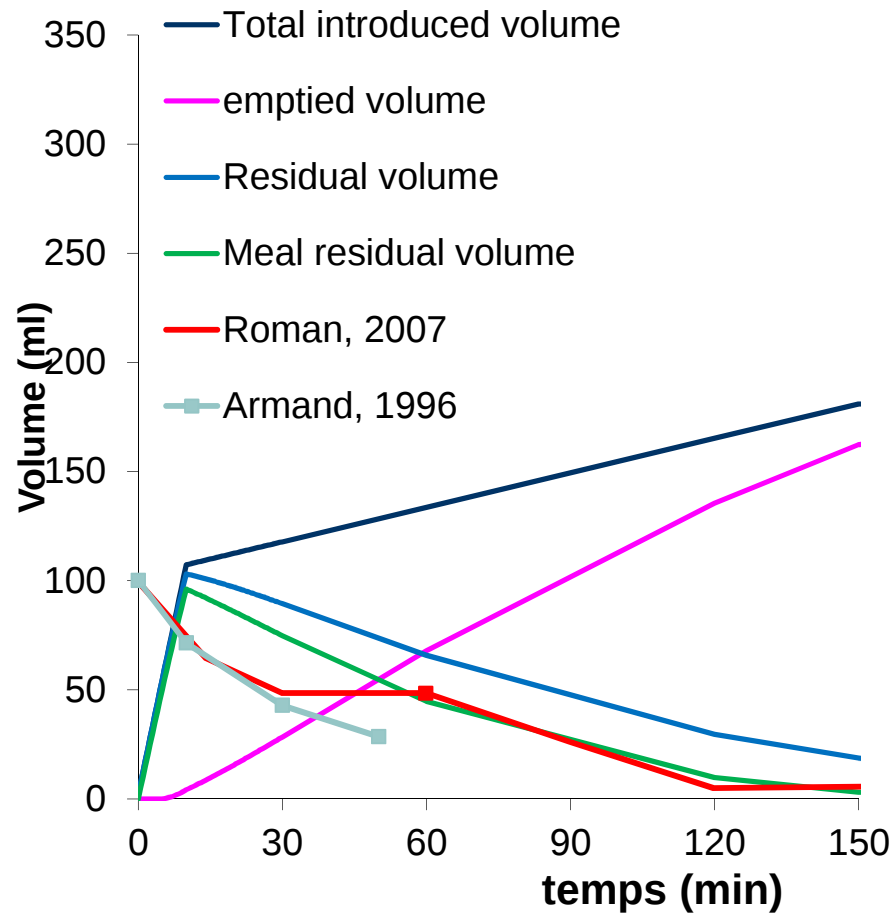
Volume résiduel (ml)

X_{ti}

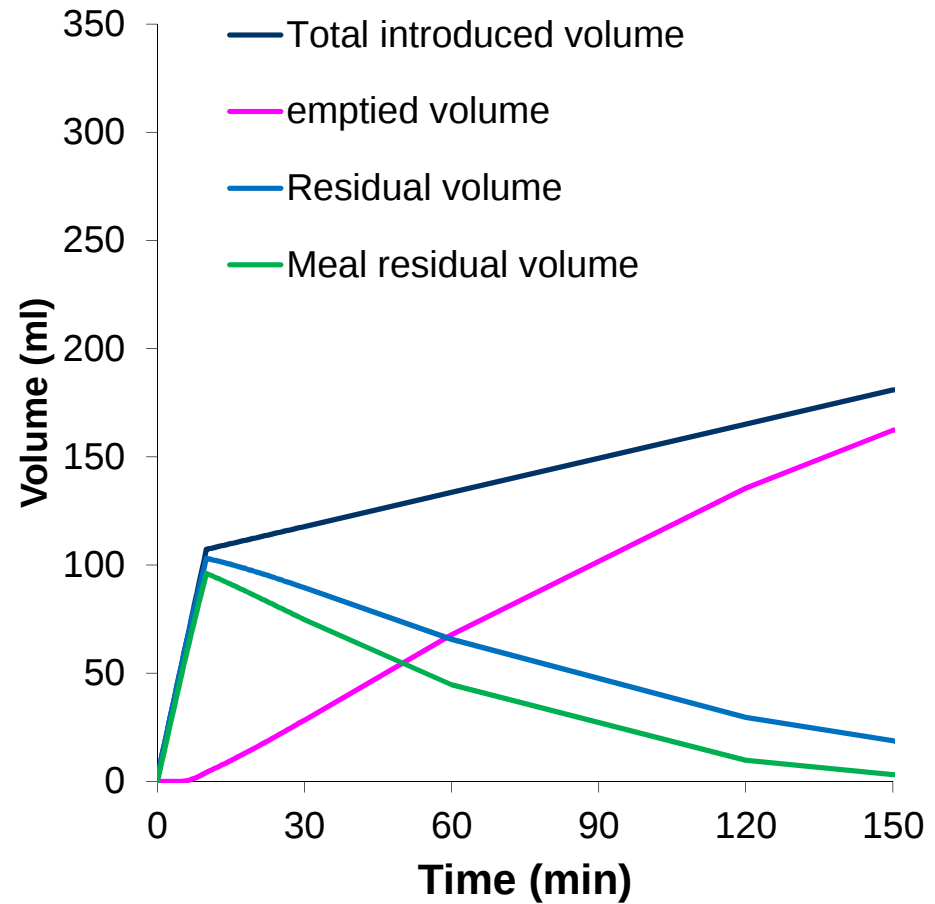
Contenu AA (mg/ml lait ingéré)

Résultats et Discussion

Volume gastro-intestinal au cours de la digestion



compartiment gastrique

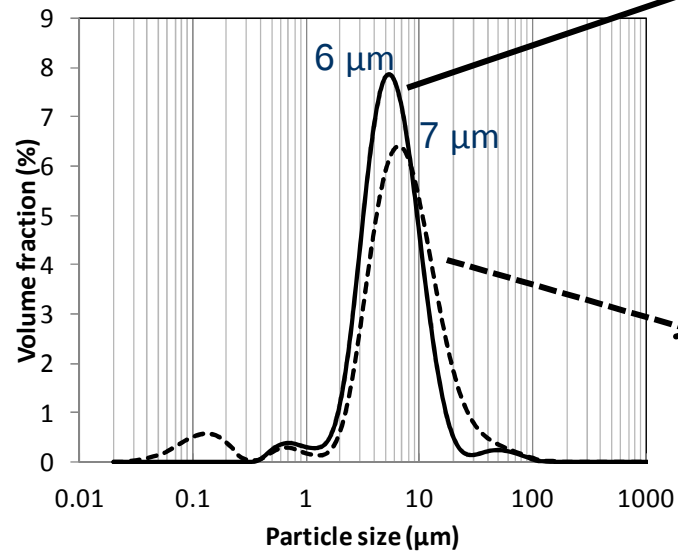


compartiment Intestinal

structure initiale:
Lait cru vs. pasteurisé

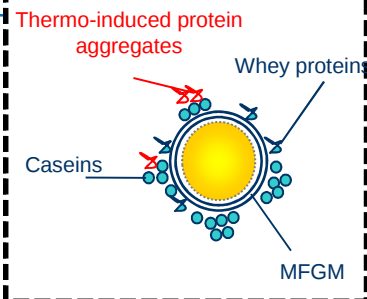
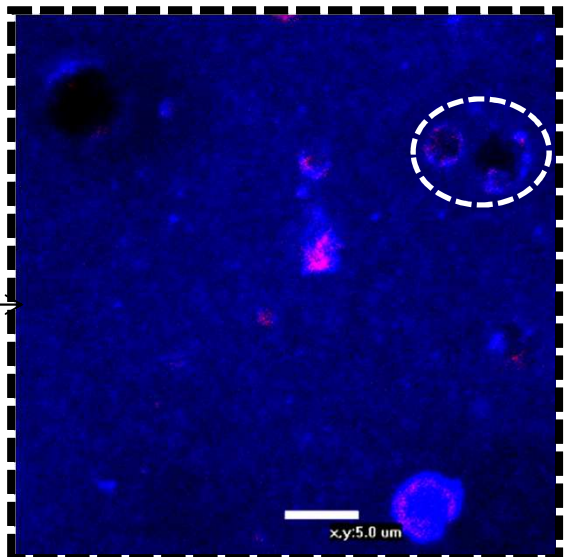
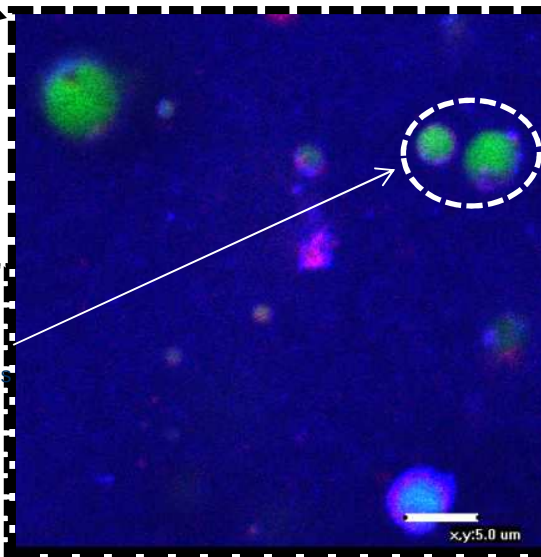
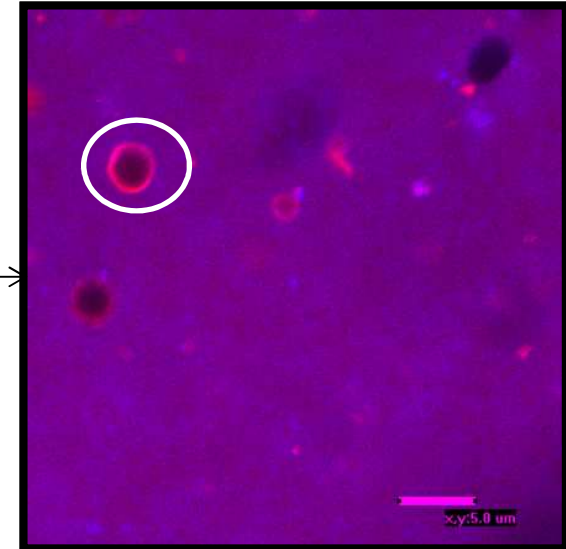
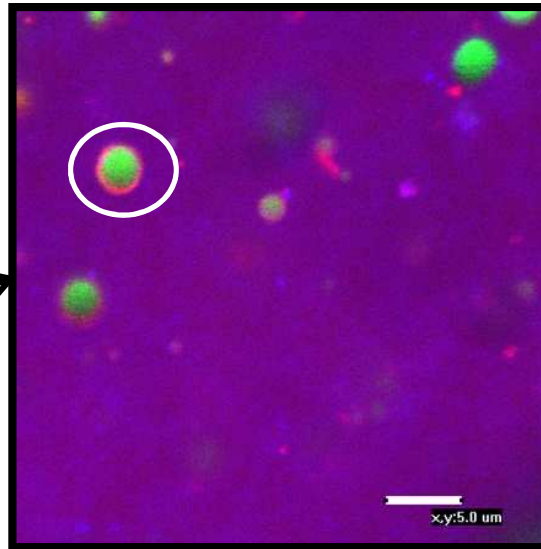
Cru

Pasteurisé

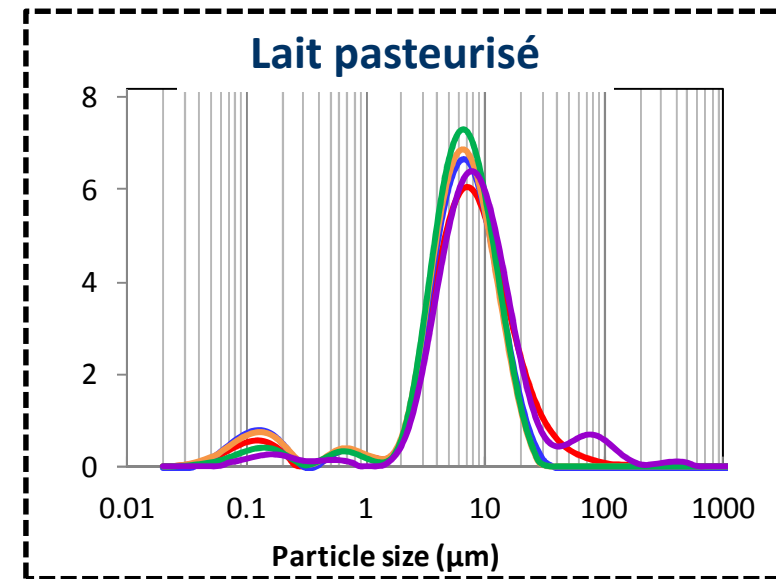
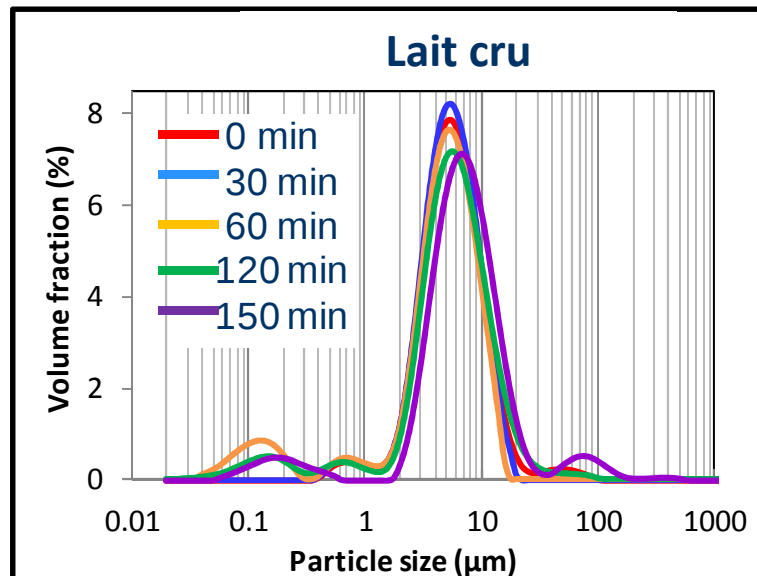


Sondes **VB**R

Sondes **B**R



phase gastrique : suivi de la taille des particules



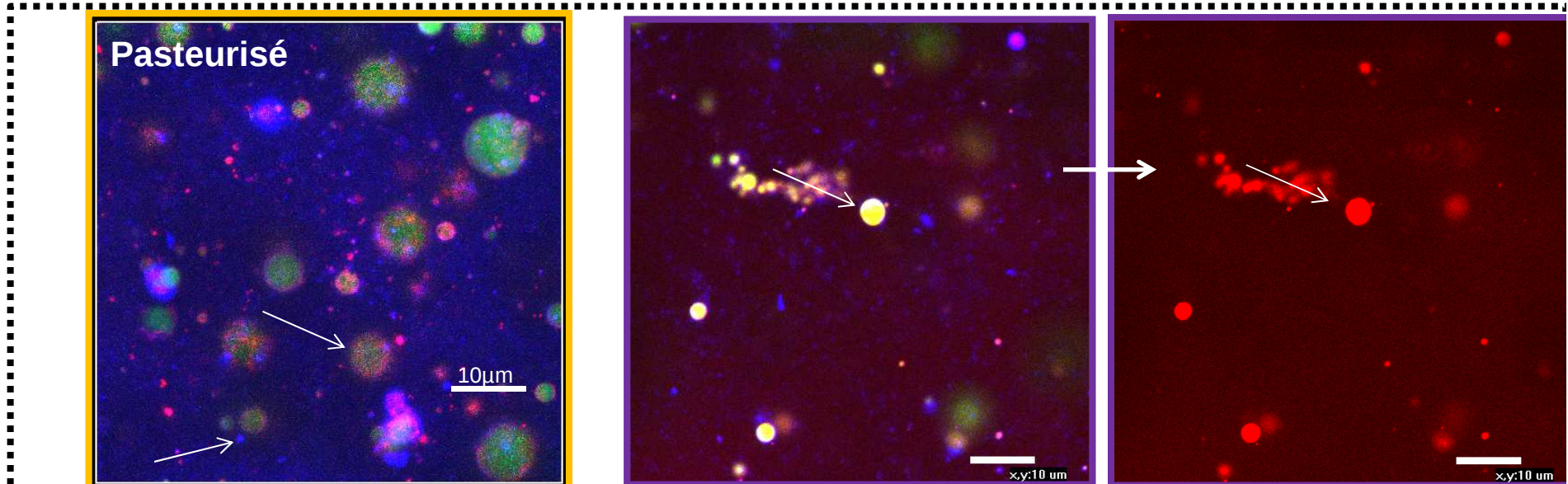
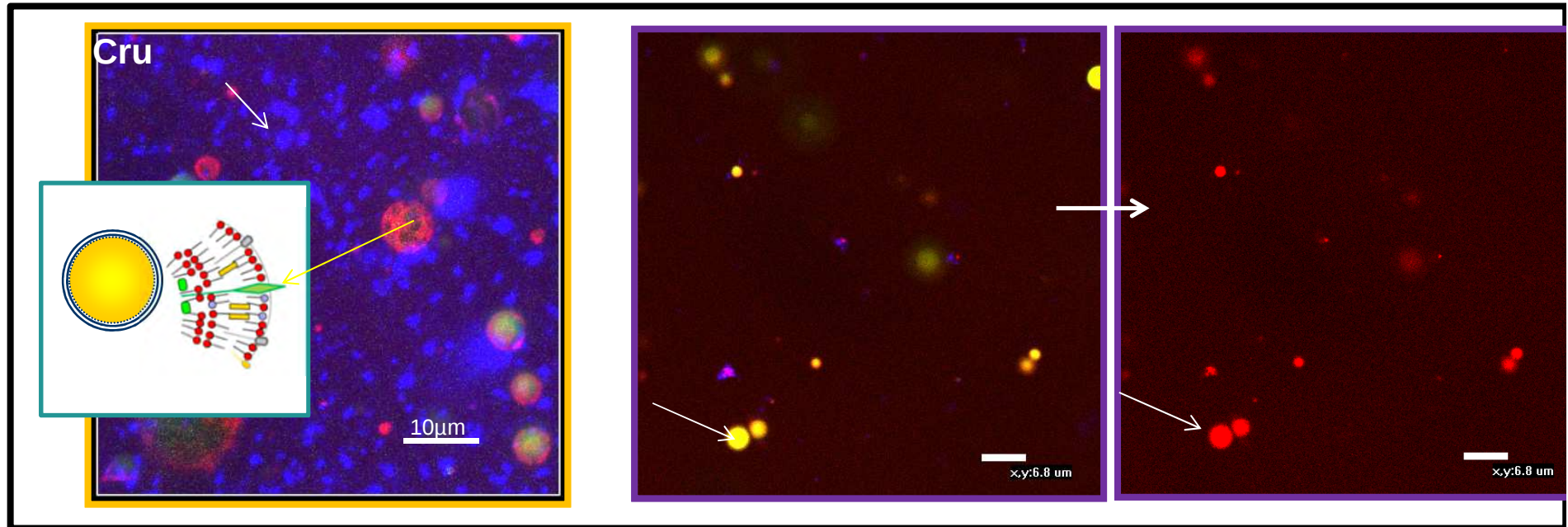
➤ Peu d'évolution de taille des particules au cours de la phase gastrique

Structure : phase gastrique

sondes **VBR**

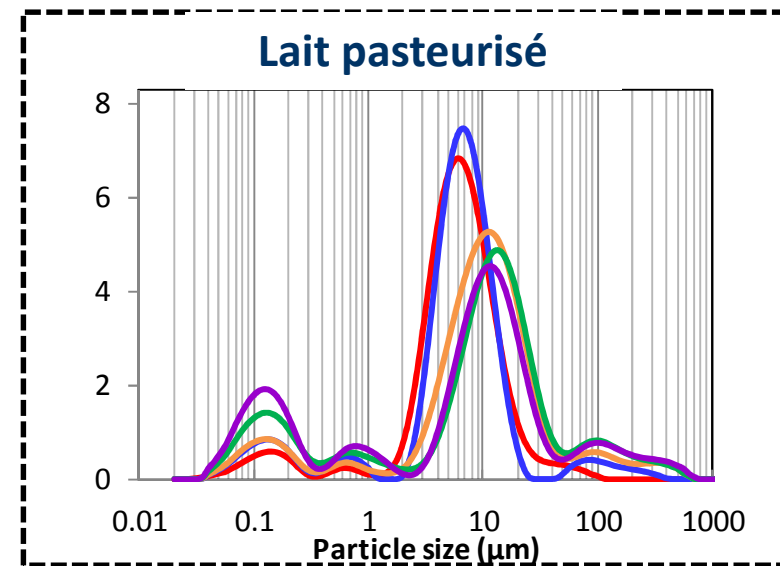
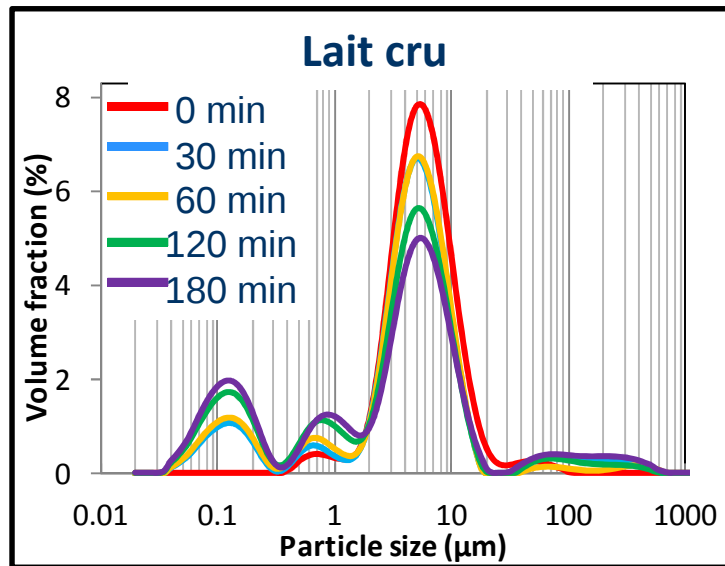
sondes **VBR**

sonde **R**



Temps (min) 60 150 150 Digestion gastrique

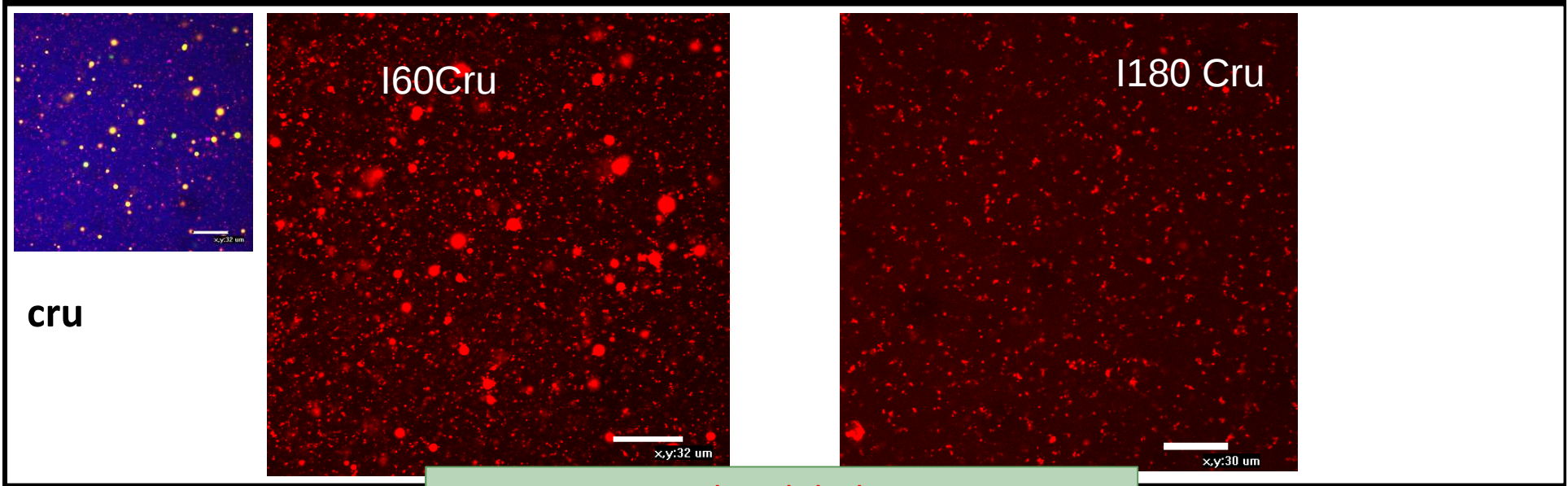
phase intestinale : suivi de la taille des particules



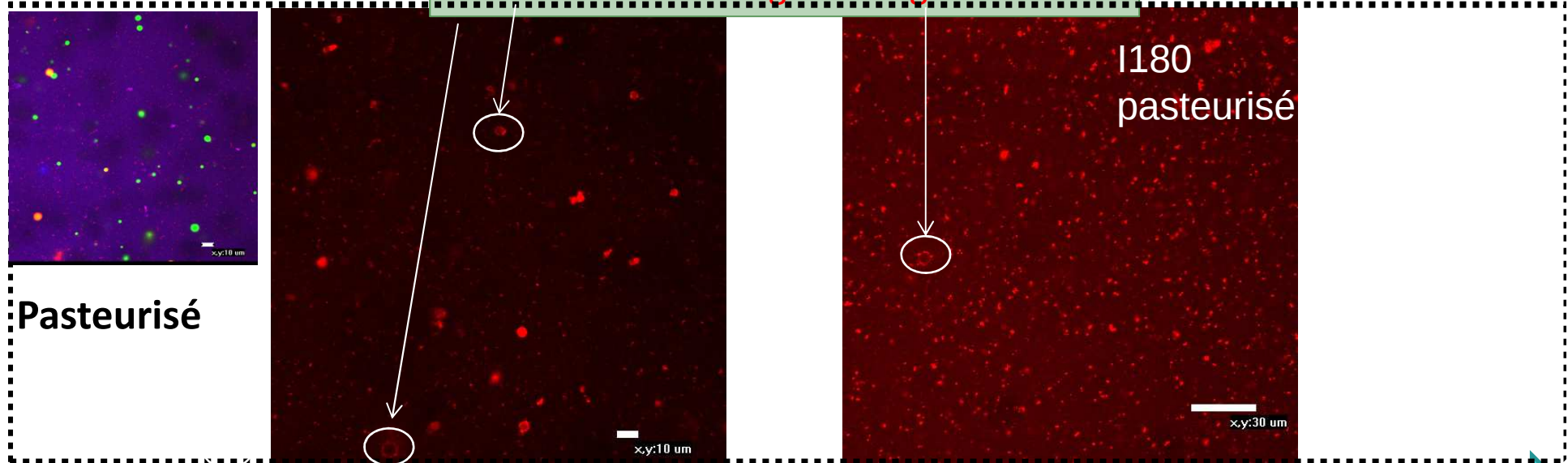
- Taille des particules plus importante à partir de 60min pour le lait pasteurisé

Structure : phase intestinale

sonde **R**



structure native des globules gras



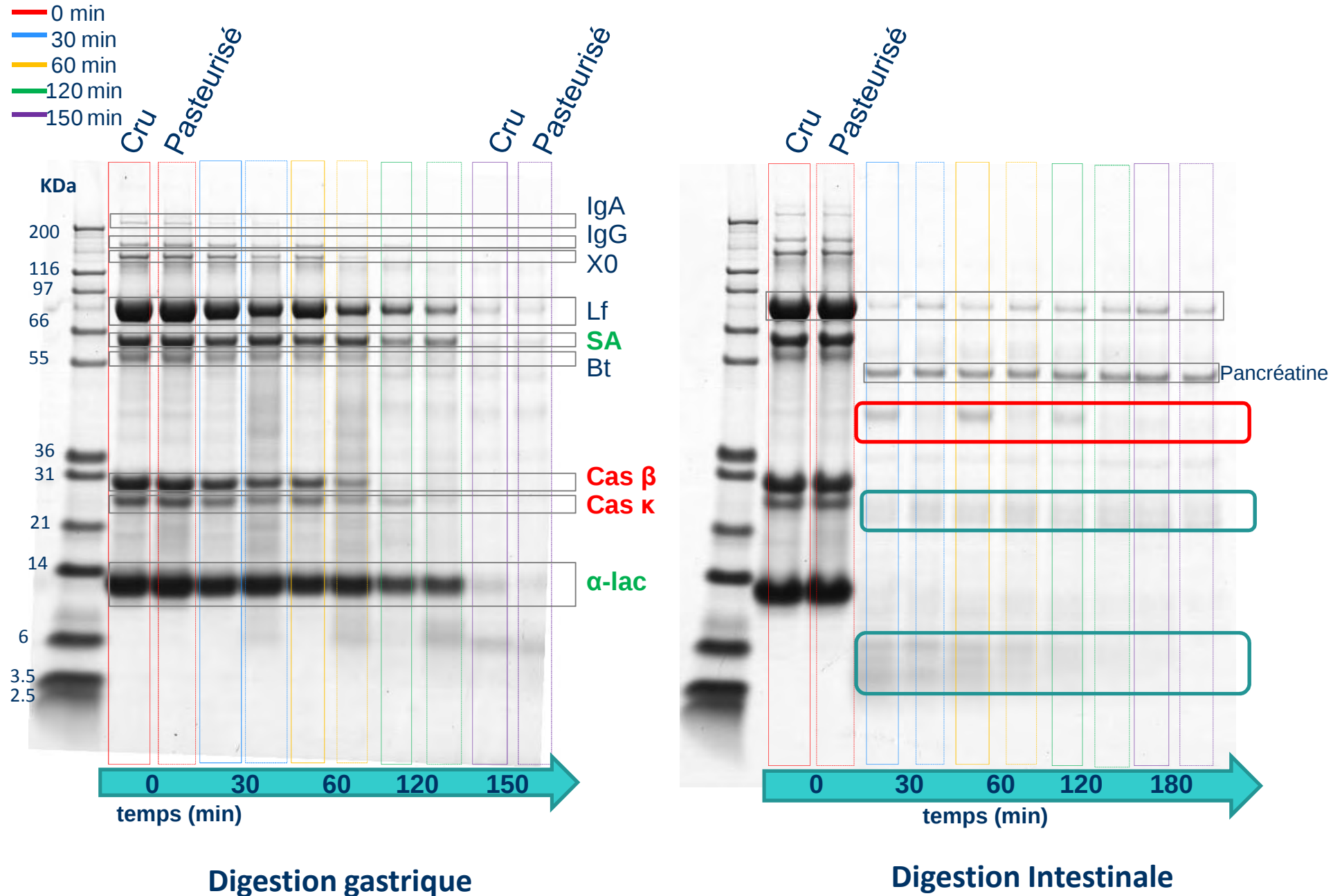
Temps (min)

60

180

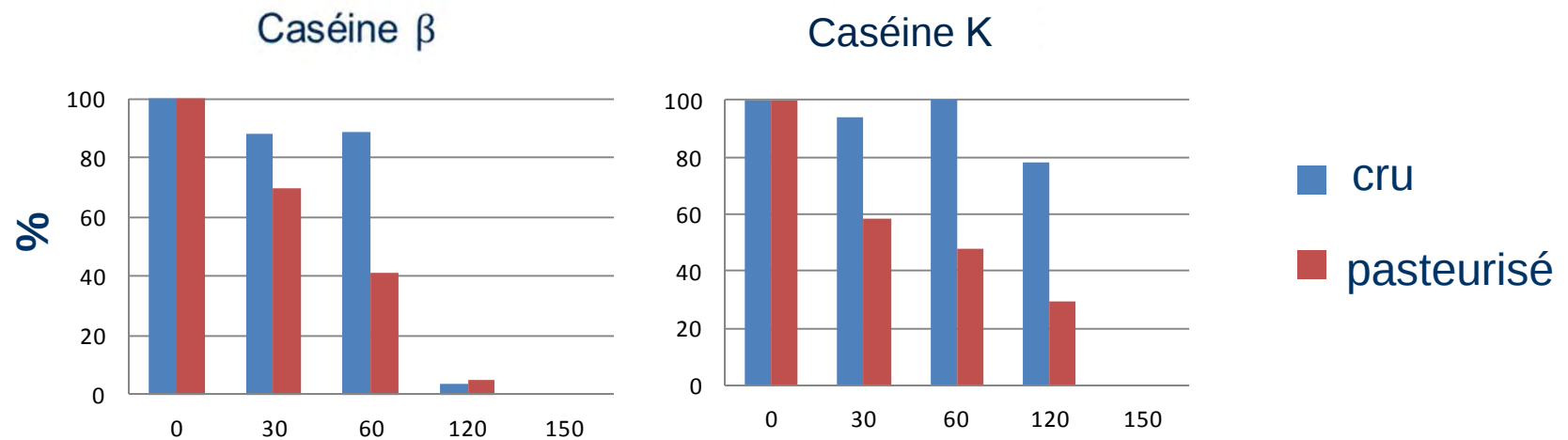
Peu (voire absence) de protéines, observations de composés mixtes (lipides + composés amphiphiles) et quelques structures natives

Résultats et Discussion : suivi au niveau moléculaire de la digestion des protéines



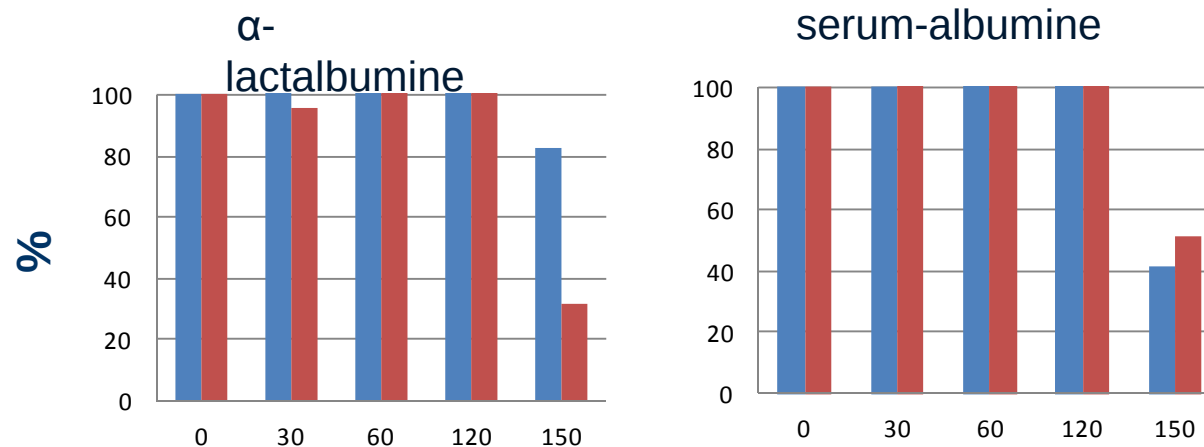
Résultats et Discussion : suivi au niveau moléculaire de la digestion des protéines

phase gastrique



→ Caséines : plus sensibles à la digestion dans le lait pasteurisé vs. cru

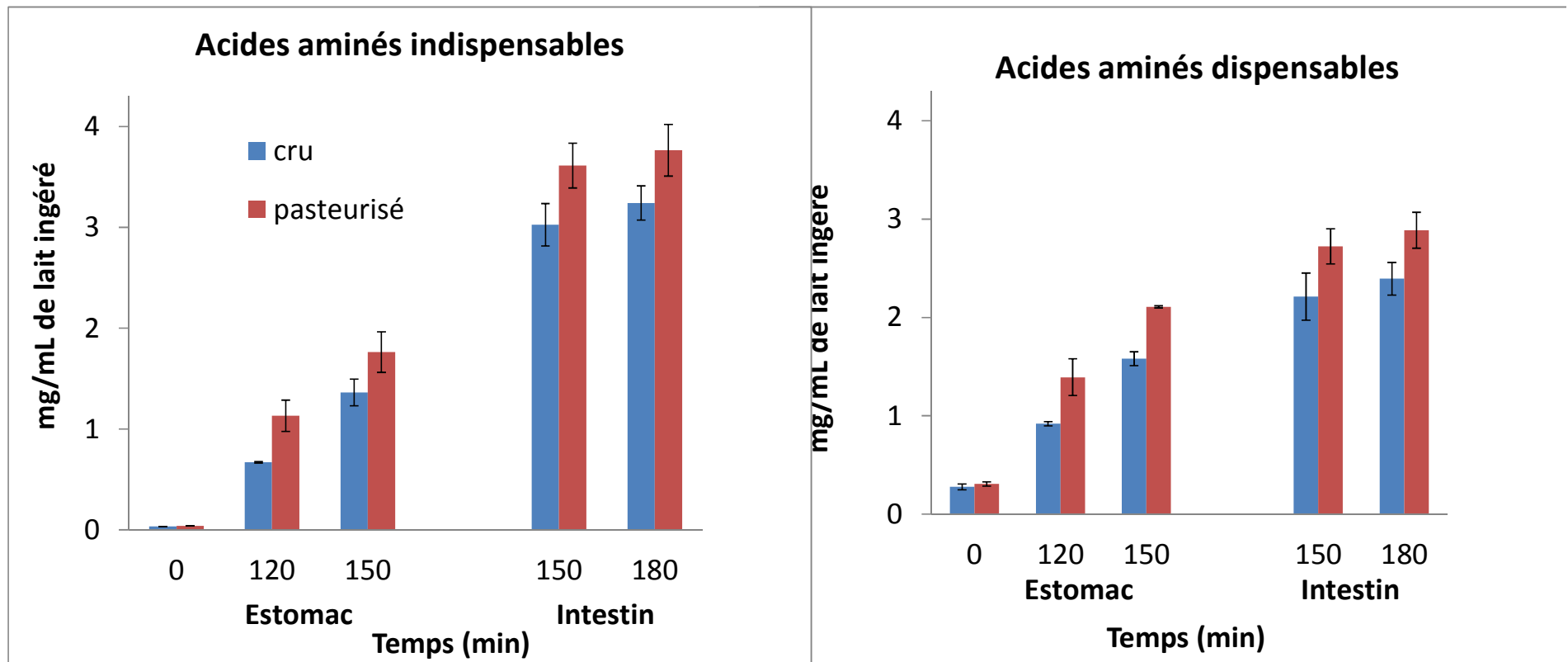
→ Modification de la structure qui permet une meilleure accessibilité aux enzymes



→ Protéines sériques: -plus résistantes à la protéolyse que les caséines

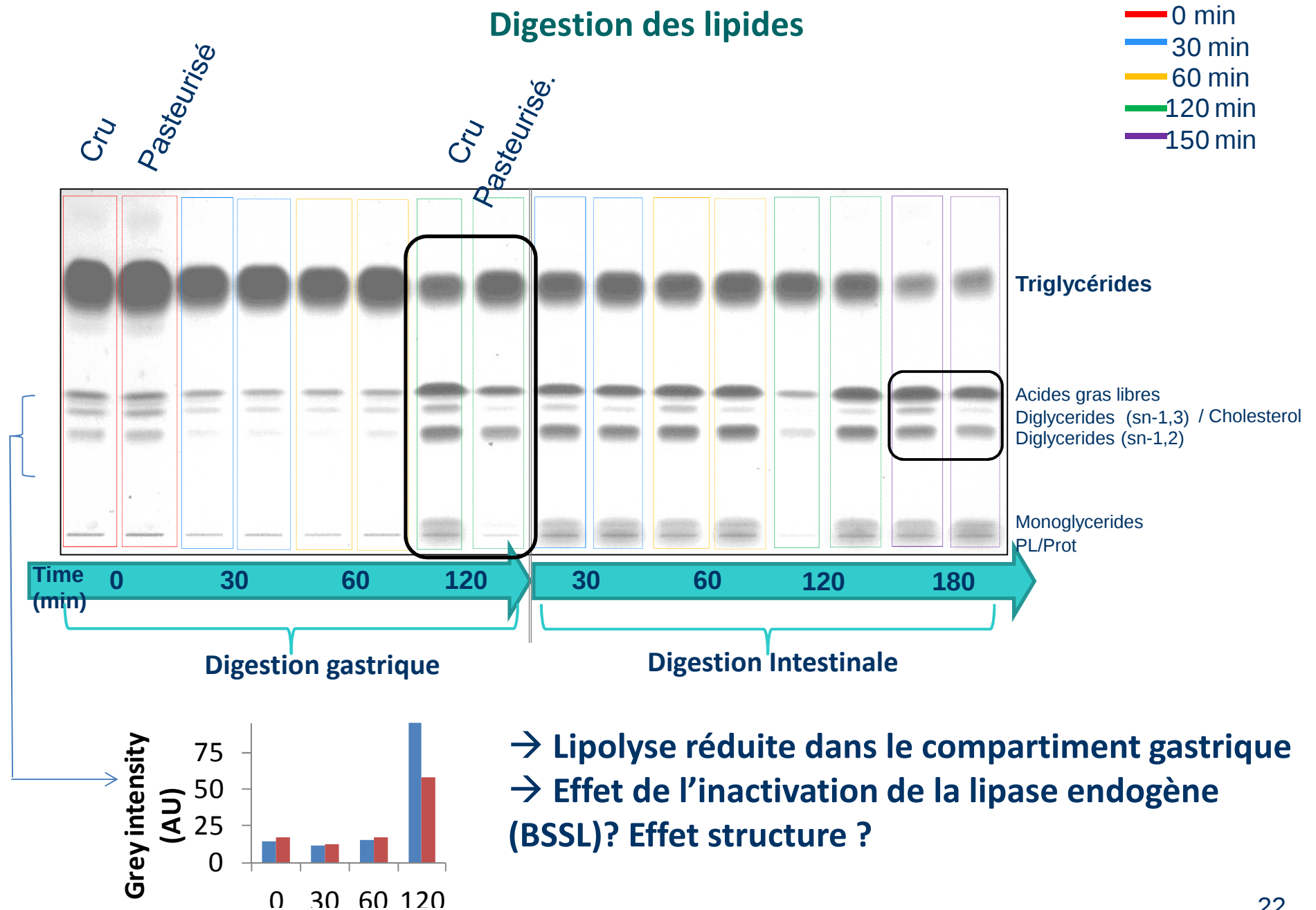
- pas d'effet de la pasteurisation sur la protéolyse jusqu'à 120 min

Acides aminés libres



- Plus d'acides aminés libres libérés dans le lait pasteurisé que dans le lait cru
- En fin de digestion intestinale : % N (AA libres)/ N ingéré sous forme protéique
 - Cru : $39.2 \pm 1.6 \%$
 - Pasteurisé : $46.4 \pm 1.6 \%$

Résultats et Discussion : suivi au niveau moléculaire de la digestion des lipides



Conclusions et Perspectives

- Impact de la pasteurisation de Holder sur la digestion du lait maternel
 - Protéolyse accélérée dans le lait pasteurisé par rapport au lait cru
 - Lipolyse réduite pour le lait pasteurisé en phase gastrique
 - inactivation de la lipase endogène par pasteurisation
 - agrégation des protéines en surface des globules gras
- Paramètres du modèle
 - Paramètres de nouveau-né prématuré
 - Utilisation d'une lipase gastrique analogue à la lipase humaine
- Impact des différences de cinétiques d'hydrolyse sur le métabolisme?
- Compromis entre qualités nutritionnelle et sanitaire
 - Traitement thermique plus doux: ultrasons avec T° de 57°C (Csank et al., 2009, 2010)
 - Ajout de lipase endogène recombinante ?



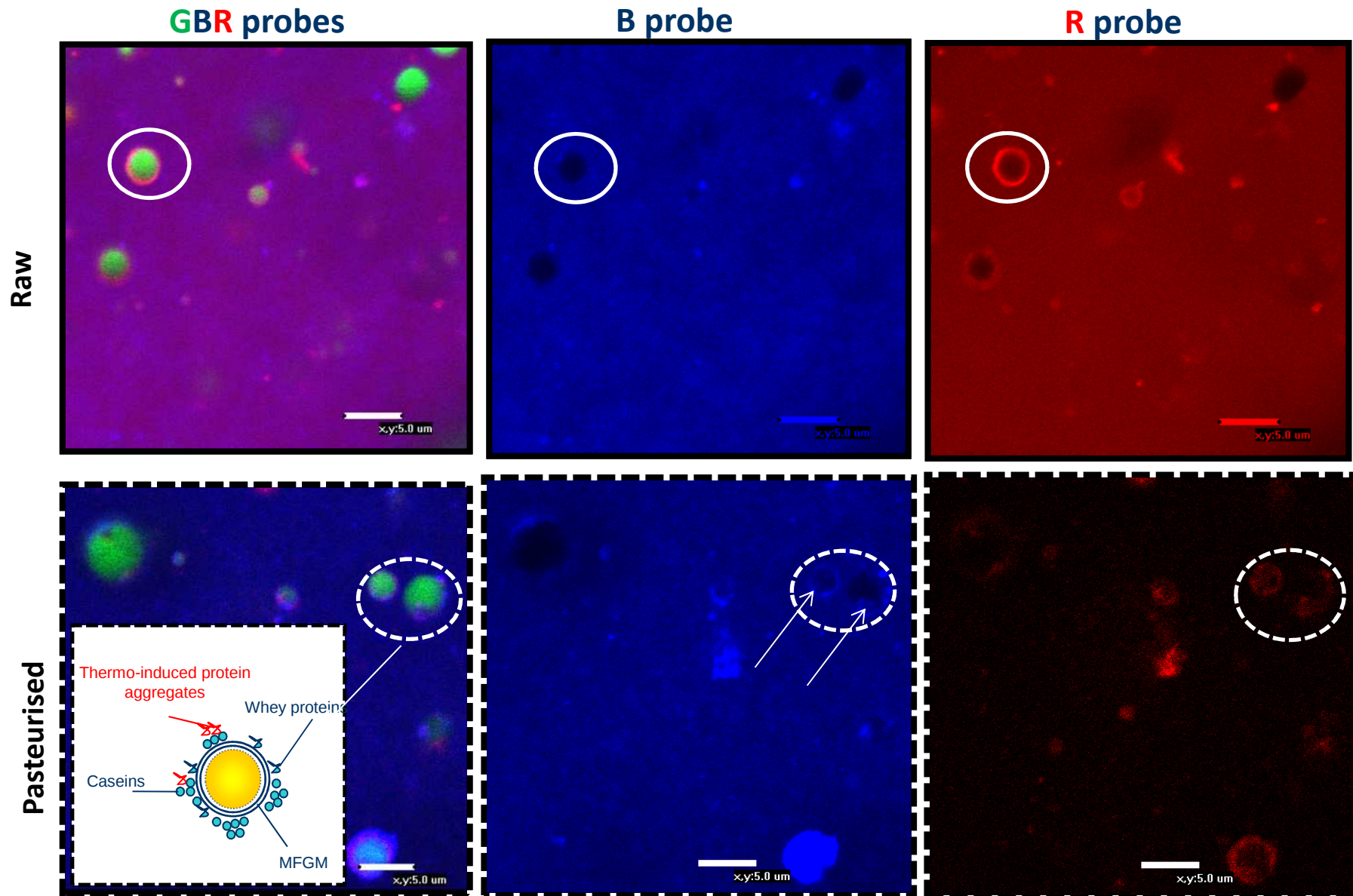
Merci de votre attention



Raw

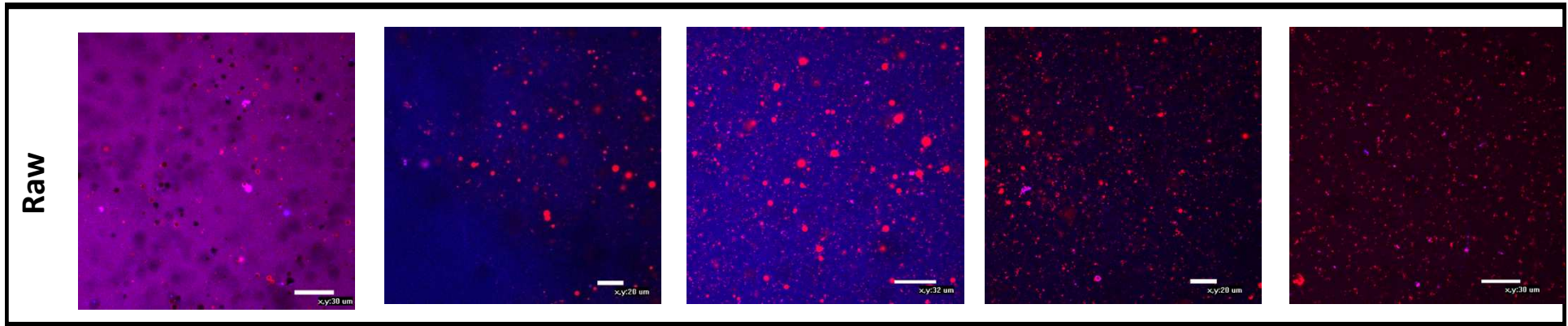
Pasteurised

Raw vs. Pasteurised milk

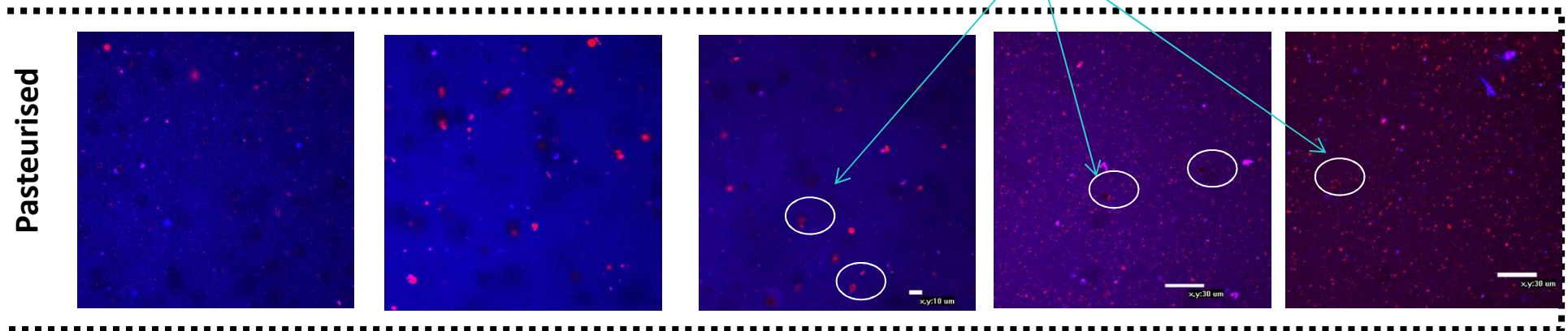


Structure: phase intestinale

BR probes



Native structure of the fat globule



Time (min) 0 30 60 120 180