HAL open science

Les ingrédients protéiques laitiers : impact de leur origine et de leur transformation sur la structure et la digestion de matrices complexes telles que les formules infantiles

Lucile Chauvet, Olivia Ménard, Yann Le Gouar, Julien Jardin, Marie Hennetier, Thomas Croguennec, Marieke van Audenhaege, Didier Dupont, Marion Lemaire, Isabelle Luron Le Huërou-Luron, et al.

To cite this version:

Lucile Chauvet, Olivia Ménard, Yann Le Gouar, Julien Jardin, Marie Hennetier, et al.. Les ingrédients protéiques laitiers : impact de leur origine et de leur transformation sur la structure et la digestion de matrices complexes telles que les formules infantiles. Glande mammaire lait / Glactinnov, INRAE ; Galactinnov; L'institut agro Rennes Angers, Nov 2022, Rennes, France. hal-03853620

HAL Id: hal-03853620

https://hal.inrae.fr/hal-03853620

Submitted on 15 Nov 2022

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

Les ingrédients protéiques laitiers : impact de leur origine et de leur transformation sur la structure et la digestion de matrices complexes telles que les préparations pour nourrissons

THÈSE CIFRE – FENOMEN

« Glande mammaire, lait », Galactinov 2022
07 / 11 / 2022

CONTEXTE ET OBJECTIFS

44% des nourrissons à 5 mois

21 % des nourrissons à 3 mois

Période fœtale + 1ers mois de vie = FENÊTRE CRITIQUE sur le développement du métabolisme

(Hales *et al.*, 1992; McMillen *et al.*, 2005; Nauta *et al.*, 2013)

LAIT HUMAIN = Alimentation la plus adaptée au nourrisson

Recommandations officielles = allaitement exclusif durant les 6 premiers mois

World Health Organization

Unicef, 2021; WHO, 2020; Salanave et *al.*, 2014

Unique alternative adaptée lorsque l'allaitement n'est pas possible ou souhaité

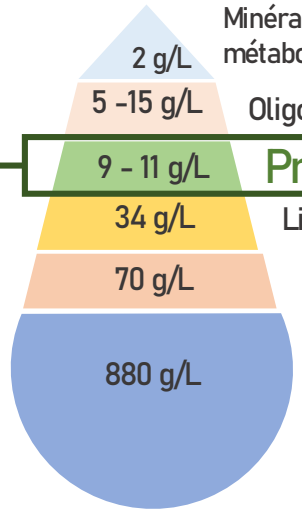
Préparations pour nourrissons (PPNs)

La majorité des PPNs sont :

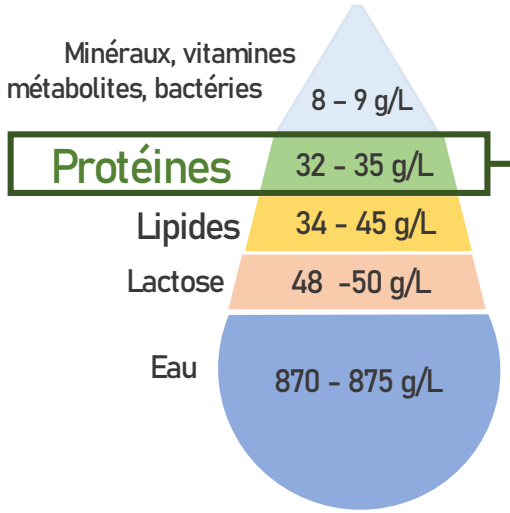
- fabriquées à partir de lait de vache
- commercialisées sous forme de poudre à reconstituer

CONTEXTE ET OBJECTIFS

LAIT HUMAIN



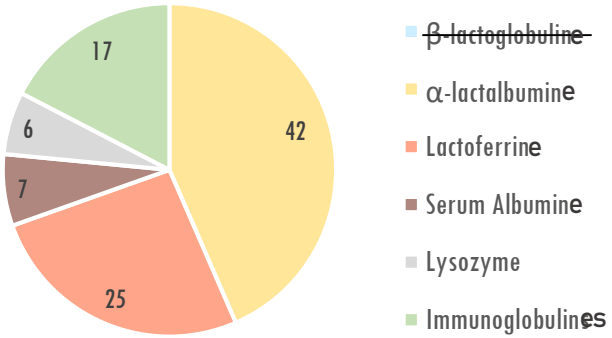
LAIT DE VACHE



≠

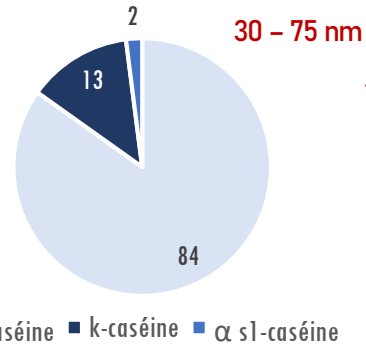
Composition et structure

Protéines du lactosérum (60 %)



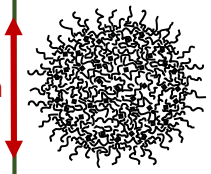
% protéines du lactosérum (PS) totales

Caséines (40 %)



% caséines totales

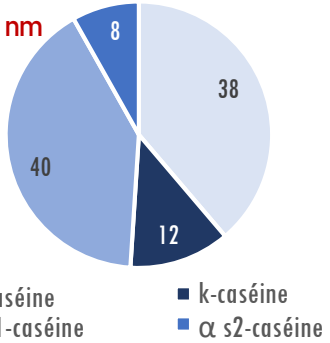
30 – 75 nm



micelle

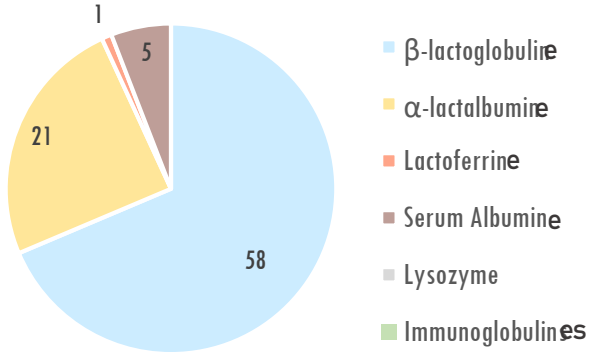
130 - 160 nm

Caséines (80 %)



% caséines totales

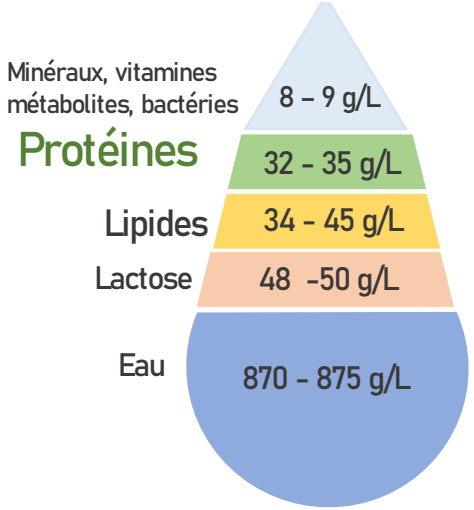
(20%) Protéines du lactosérum



% PS totales

CONTEXTE ET OBJECTIFS

LAIT DE VACHE

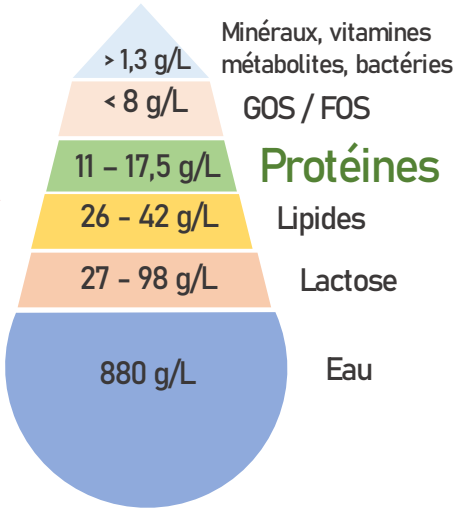


Formulation à partir d'ingrédients laitiers d'origines diverses et ayant déjà subi différents procédés

+

Procédé de fabrication de la PPN

PRÉPARATION POUR NOURRISSONS



Structure des protéines ± modifiée
(dénaturation, glycation, agrégation, etc.)

↓

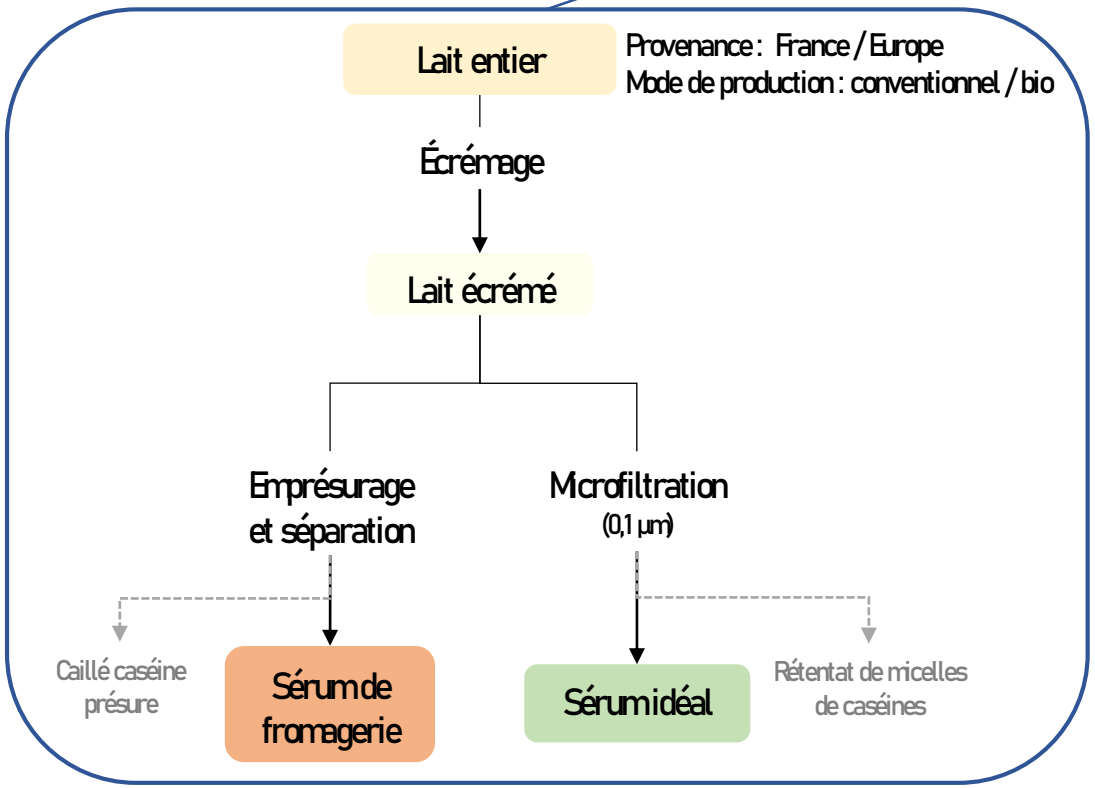
Structure de l'émulsion différente ?
Processus digestif différent ?
(coagulation, accessibilité enzymes, etc.)

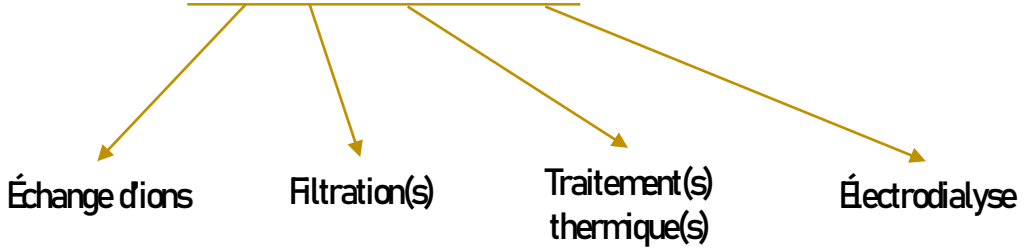
Quel est l'impact de l'origine et la transformation des ingrédients protéiques laitiers sur la structure et la digestion de PPNs

LES INGRÉDIENTS PROTÉIQUES LAITIERS

Sélection d'ingrédients sériques commerciaux compatibles avec la fabrication de PPNs

Qui diffèrent selon leur matière première et/ou leur procédé d'obtention



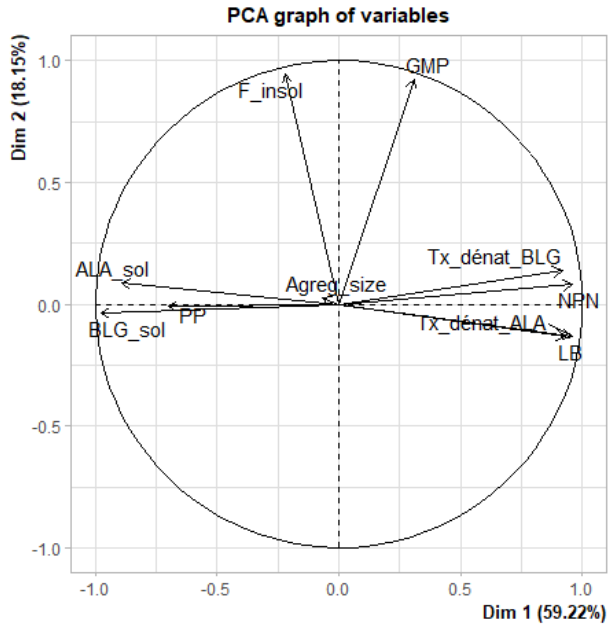


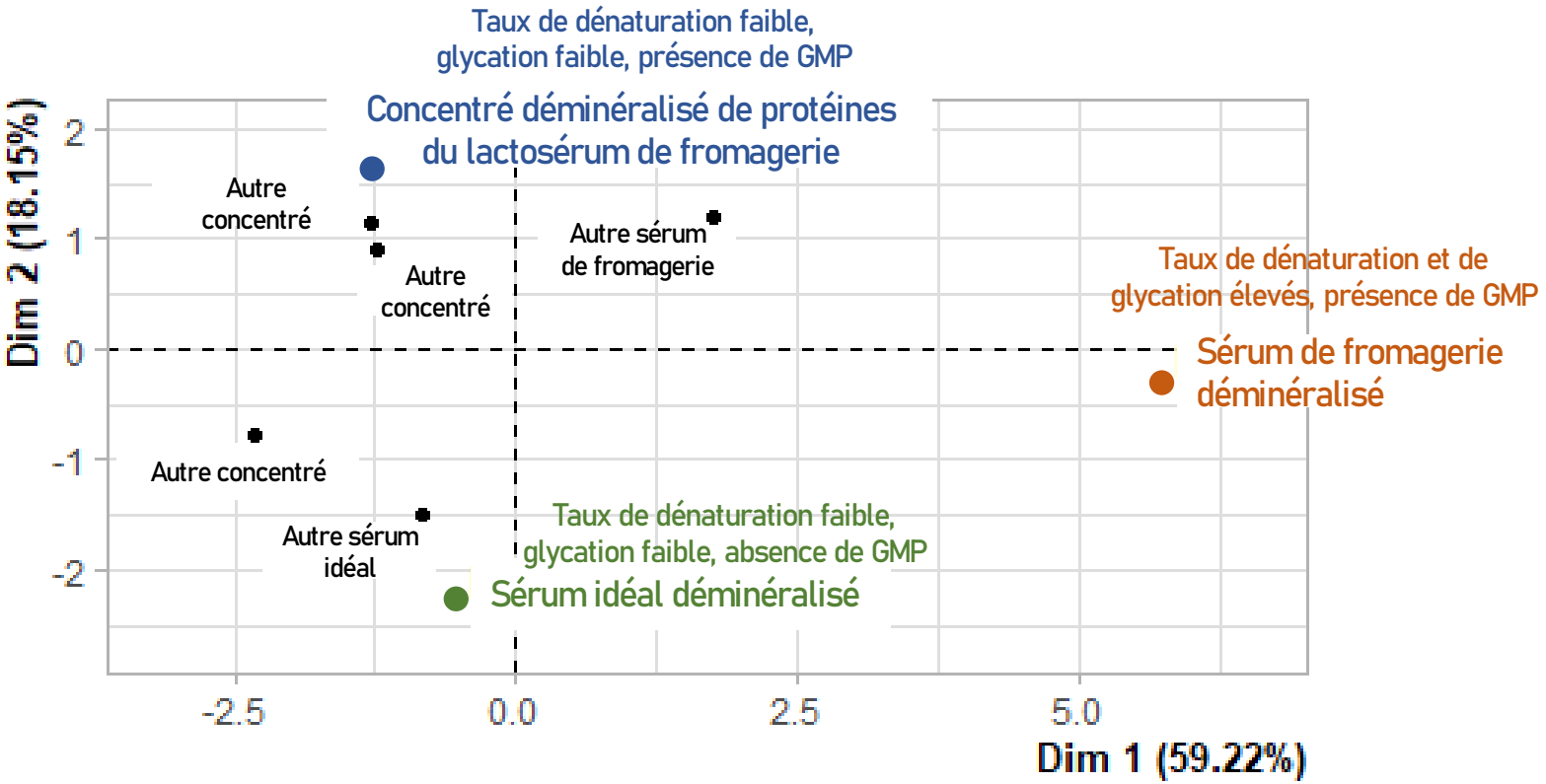
LES INGRÉDIENTS PROTÉIQUES LAITIERS

Sélection d'ingrédients sériques commerciaux compatibles avec la fabrication de PPNs

→ Caractérisations à l'échelle moléculaire

- Composition de la matière azotée et de la fraction protéique
- Dénaturation des protéines
- Agrégation des protéines
- Glycation des protéines

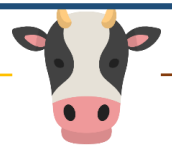




GMP = glycomacropeptides

FABRICATION DES PPNs

Sérum de fromagerie



Sérum idéal

PROCÉDÉS INDUSTRIELS DIFFÉRENTS

Sérum déminéralisé

Dénaturation + Glycation + Glycomacropeptides

Concentré déminéralisé de protéines du lactosérum

Protéines du lactosérum (PS) natives + Glycomacropeptides

Sérum déminéralisé

Peu de dénaturation des PS + concentration en βLG et αLA ainsi qu'en Trp plus importantes

+

Caséines micellaires (100%)

Caséines non-micellaires (75%) + micellaires (25%)

+

Lactose, matières grasses, vitamines, minéraux

=

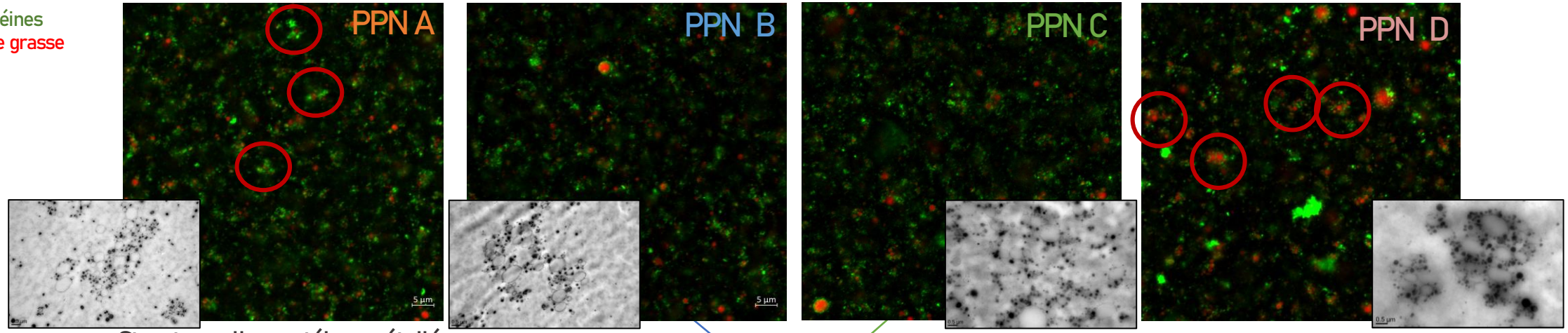
PPN A	PPN B	PPN C	PPN D
NPN = 11 % MAT	NPN = 8 % MAT	NPN = 7 % MAT	NPN = 6 % MAT
Dénaturation* : 44 ± 0,01 %	Dénaturation* : 36 ± 0,2 %	Dénaturation* : 31 ± 0,2 %	Dénaturation* : 29 ± 0,1 %

Ingrédients commerciaux et procédé de fabrication des formules représentatif des procédés industriels.

*Taux de dénaturation = 100 - $\frac{(Azote\ soluble\ à\ pH\ 4{,}6)-(Azote\ non\ protéique)}{(Azote\ total)-(Azote\ non\ protéique)\times Proportion\ de\ \ protéines\ du\ lactosérum}$ = 100 - $\frac{Protéines\ du\ lacttosérum\ non\ dénaturées\ ou\ agrégées\ de\ manière\ irréversibles}{Protéines\ du\ lactsoérum\ totales}$

CARACTÉRISATION DE LA STRUCTURE DES PPNs

Protéines
Matière grasse



Structures lipoprotéiques étoilées
avec un rayon de giration supérieur à celui des PPNs B et C

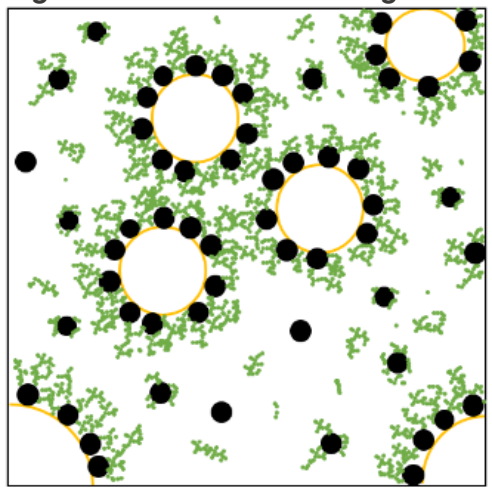
Agrégats protéiques thermo-induits à l'interface des caséines adsorbées à la surface des gouttelettes de matière grasse (MG)

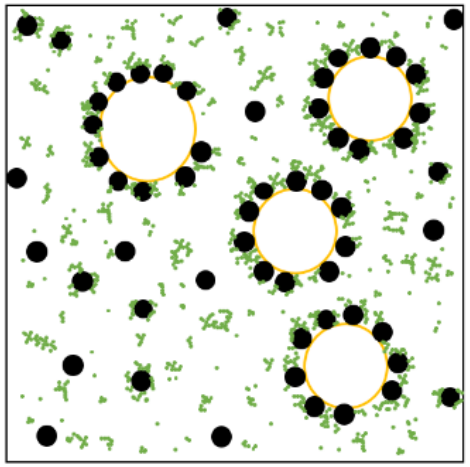
PPNs B & C
Structures similaires
Pas de forme ou taille particulières

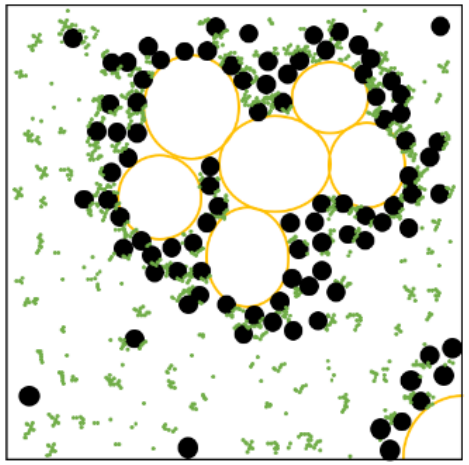
Larges structures lipoprotéiques

Agrégation des caséines non micellaires (lors de l'ajout de CaCl2 lors du remouillage) et floculation partielle des globules gras (par manque de protéines disponibles pour les stabiliser)
(Srinivasan *et al.*, 1996; Ye and Singh, 2001)

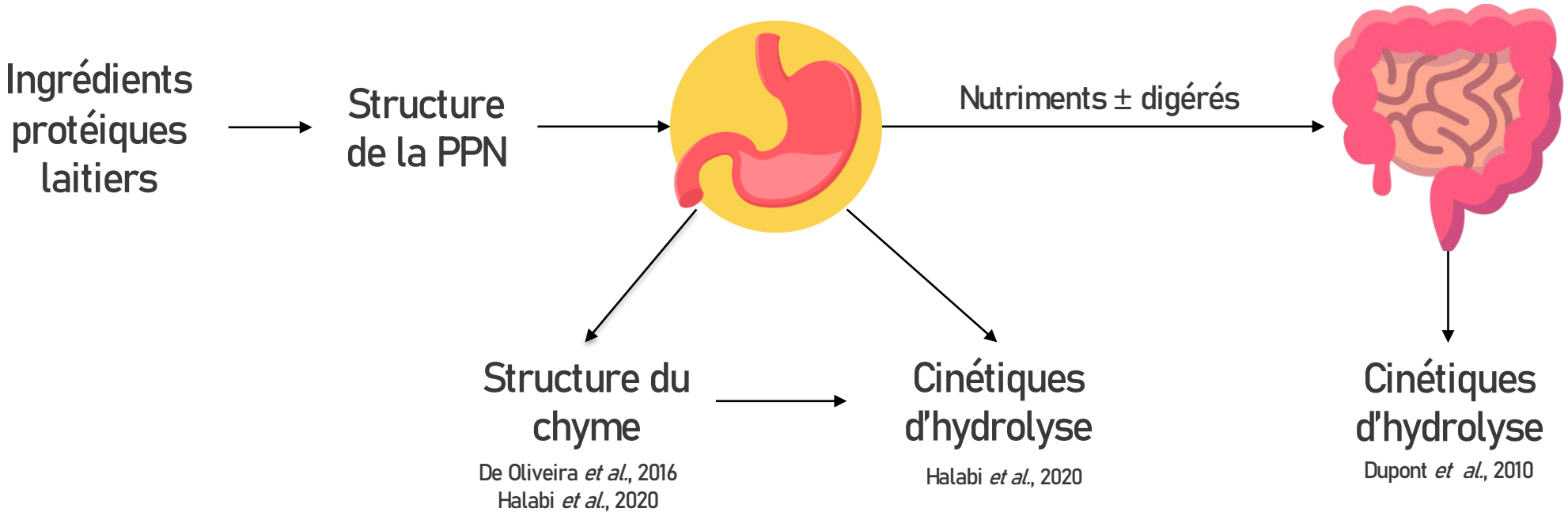
Agrégat de PS
Caséines
Gouttelettes de MG







QUESTIONS DE RECHERCHE



Quel impact la structure des PPNs a-t-elle sur la coagulation gastrique ?

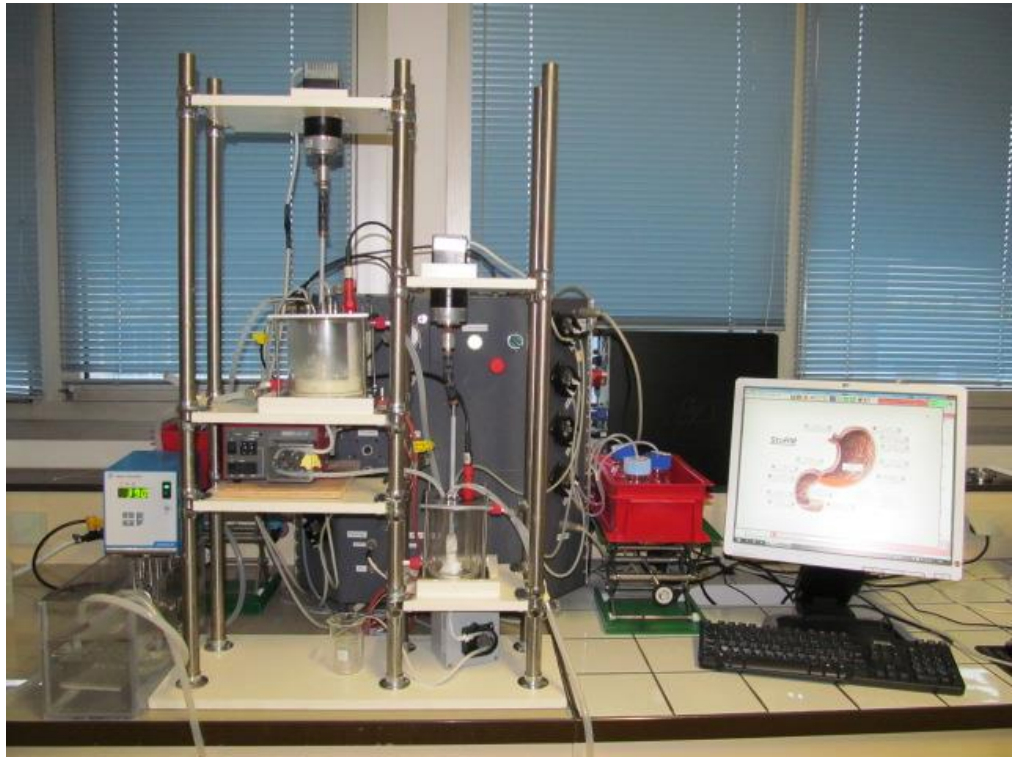
- La présence de structures caséiques modifiées au sein d'une matrice complexe modifie-t-elle la coagulation gastrique comme cela a été démontré sur des matrices moins complexes (Wang *et al., 2018)* ?

Les différences de structures lipoprotéiques impactent-elles l'hydrolyse enzymatique lors de la digestion ?

DIGESTION *IN VITRO* DES PPNs

Digestion *in vitro* par un digesteur dynamique (DIDGI®)

3 répétitions par PPN



DIDGI® simule la digestion (gastrique et intestinale) d'un nourrisson né à terme âgé de 4 semaines.
Modèle vérifié pour la digestion du nourrisson par des données *in vivo*
(De Oliveira, 2016; Ménard *et al.*, 2014)

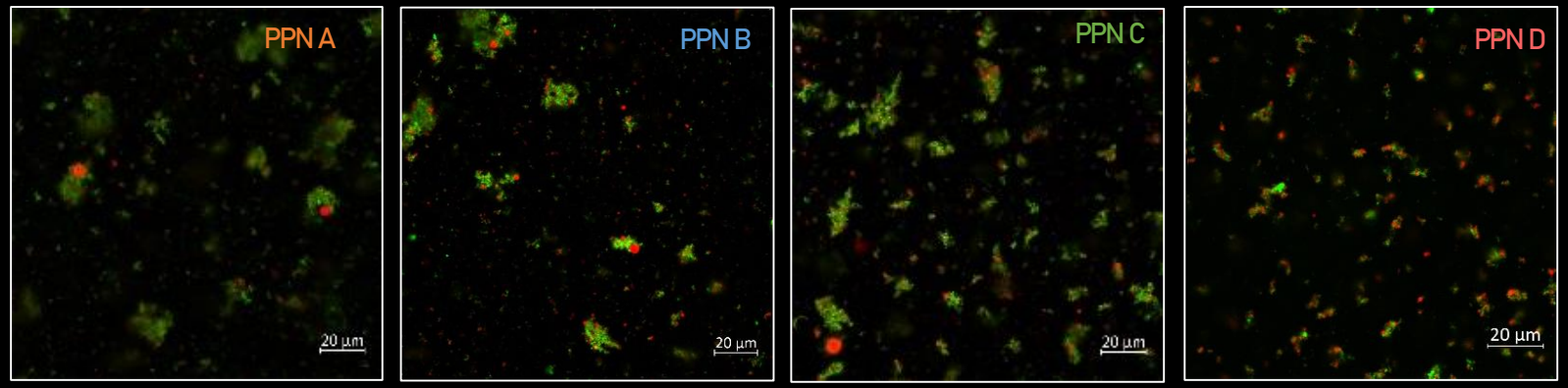
<u>Analyses des digestas</u>

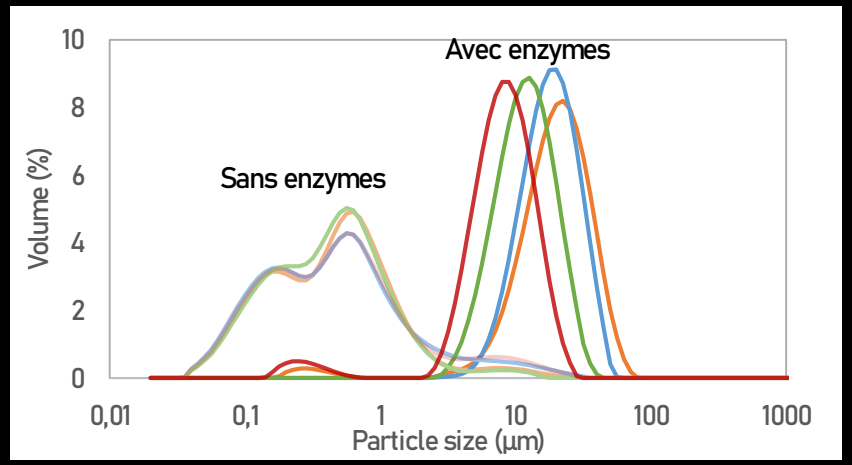
- Structure *(microscopie confocale, granulométrie laser)*
- Protéolyse *(OPA / SDS-PAGE / LC-MS/MS)*
- Lipolyse *(GC-MS)*

STRUCTURE DES PPNs AU COURS DE LA DIGESTION

Protéines Matière grasse

Phase gastrique 40 minutes, pH = 5,6

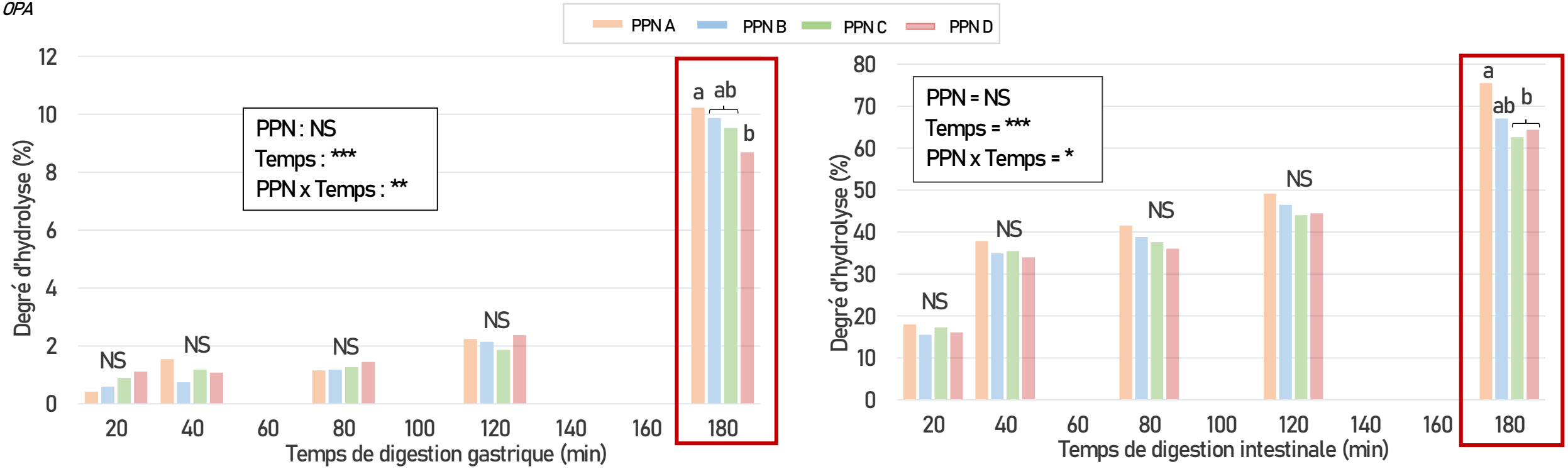




- Différences de structure à 40 min de phase gastrique qui sont uniquement dues à la protéolyse : hydrolyse de la caséine-κ par la pepsine = agrégation rapide des caséines et des gouttelettes de matière grasse qui étaient couvertes par les caséines
- PPN D (caséines modifiées) = agrégats plus petits liés à la différence de structure initiale de l'émulsion

PROTÉOLYSE GLOBALE

OPA



PPN A (structures lipoprotéiques étoilées, dénaturation globale supérieure) est plus hydrolysée que :

- PPN D en fin de phase gastrique et intestinale
- PPN C en fin de phase intestinale

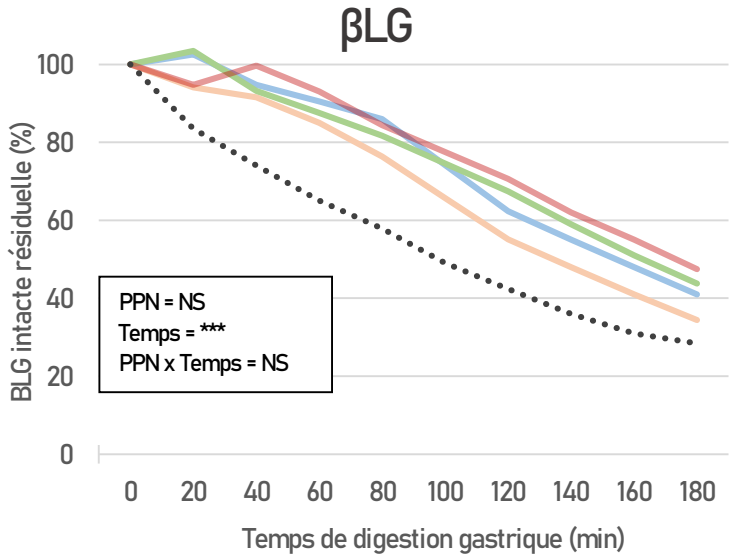
} Sérum idéal

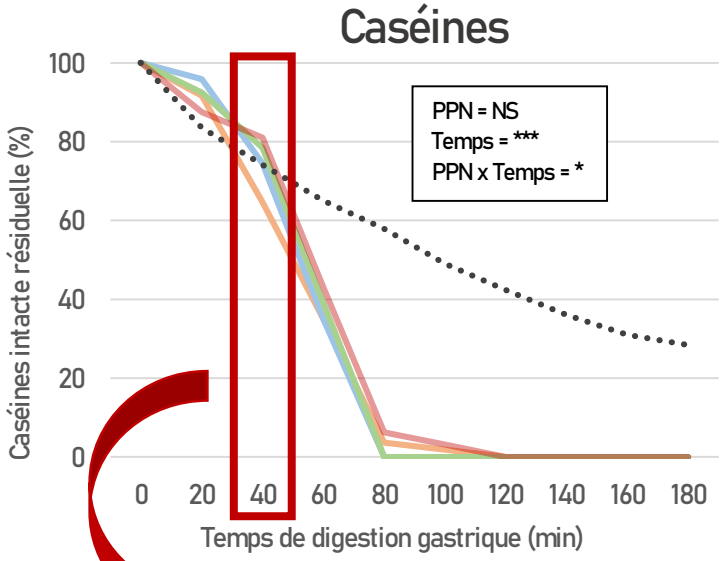
Macierzanka *et al.*, 2009 : l'adsorption de βLG ou β-caséine à l'interface de la MG augmente leur protéolyse en comparaison d'une forme « libre » dans la phase soluble
Halabi *et al.* 2022 : protéolyse augmentée pour des protéines agrégées à l'interface des caséines (modèle sans MG)

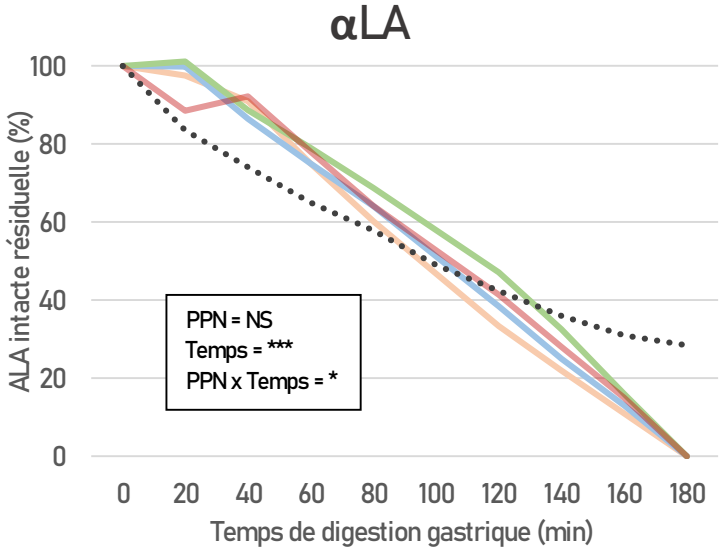
→ Structure étoilée (PPN A) = Degré d'hydrolyse plus important

PROTÉOLYSE DES PROTÉINES MAJORITAIRES

SDS-PAGE







Pas de différence significative entre les PPNs.

La diminution du % de BLG intacte est uniquement due à la dilution par les sécrétions et la vidange gastrique et non à la protéolyse

A 40 min de phase gastrique, la PPN A tend à avoir une hydrolyse de ses caséines supérieure à la PPN D

↓ lien

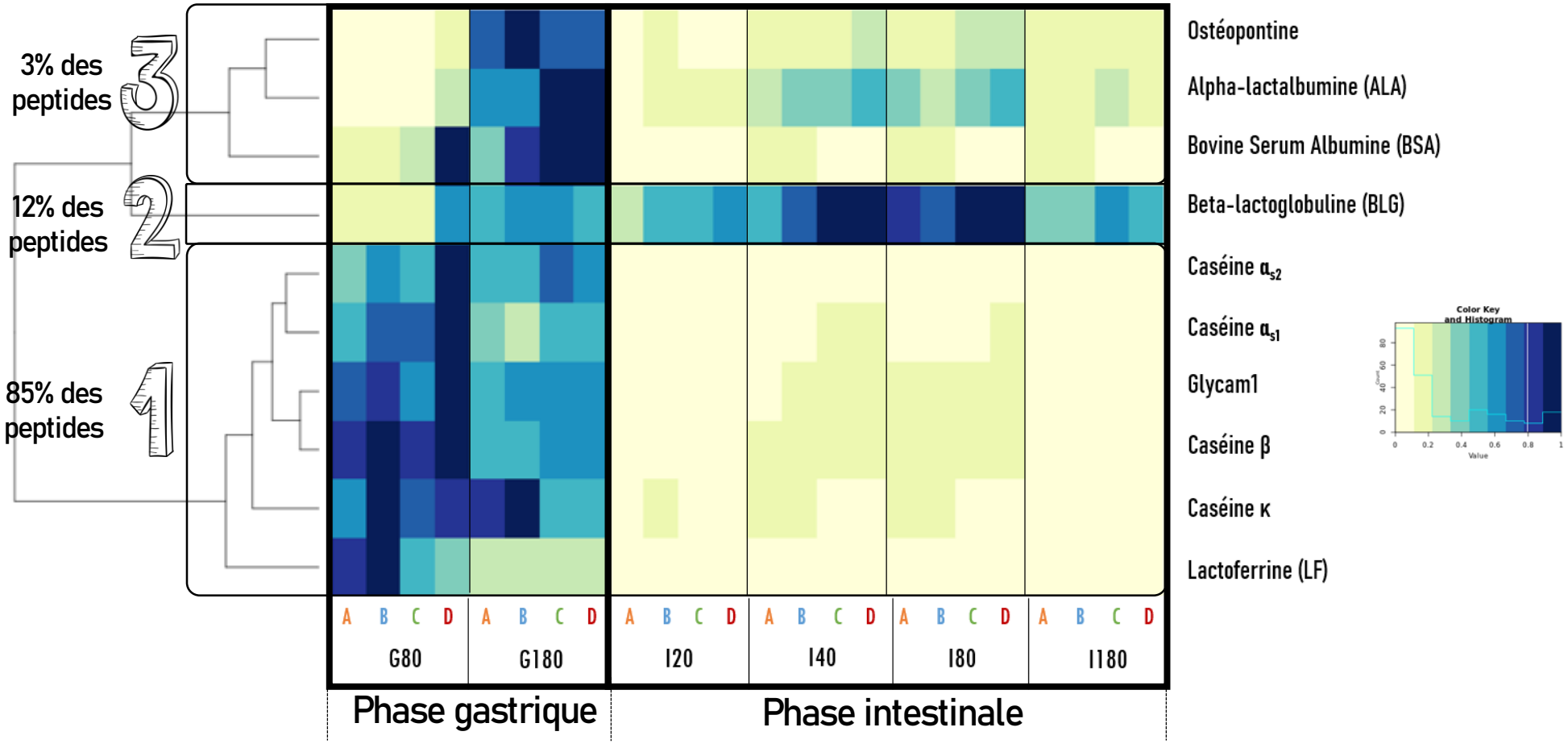
Structure à 40 min :

- PPN A = agrégation des caséines suite à l'hydrolyse de la caséine-κ par la pepsine
- PPN D = faible agrégation // structures lipoprotéiques particulières

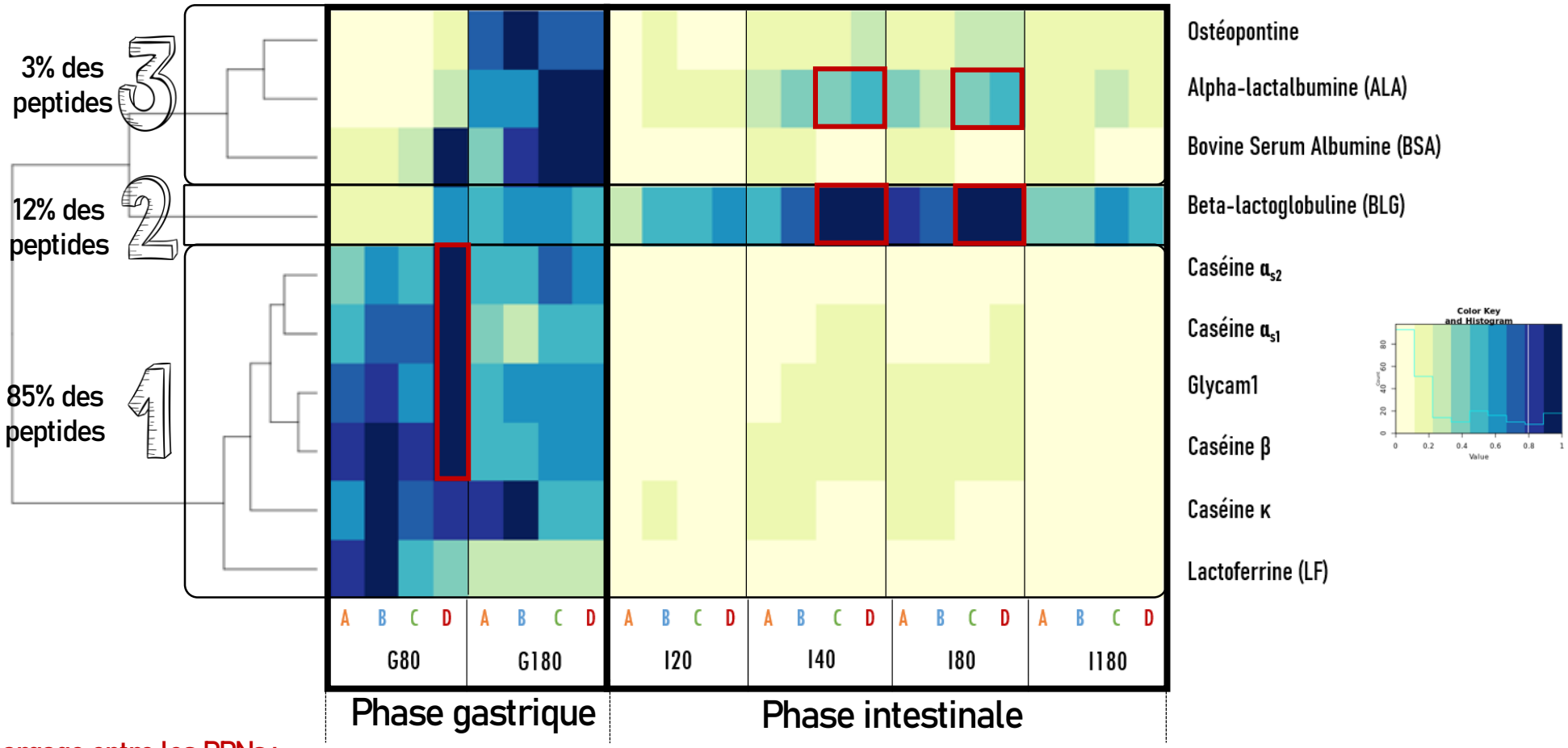
Pas de différence significative entre les PPNs

CINÉTIQUE DE RELARGAGE DES PEPTIDES

1061 peptides identifiés dont 96% sont communs aux 4 PPNs



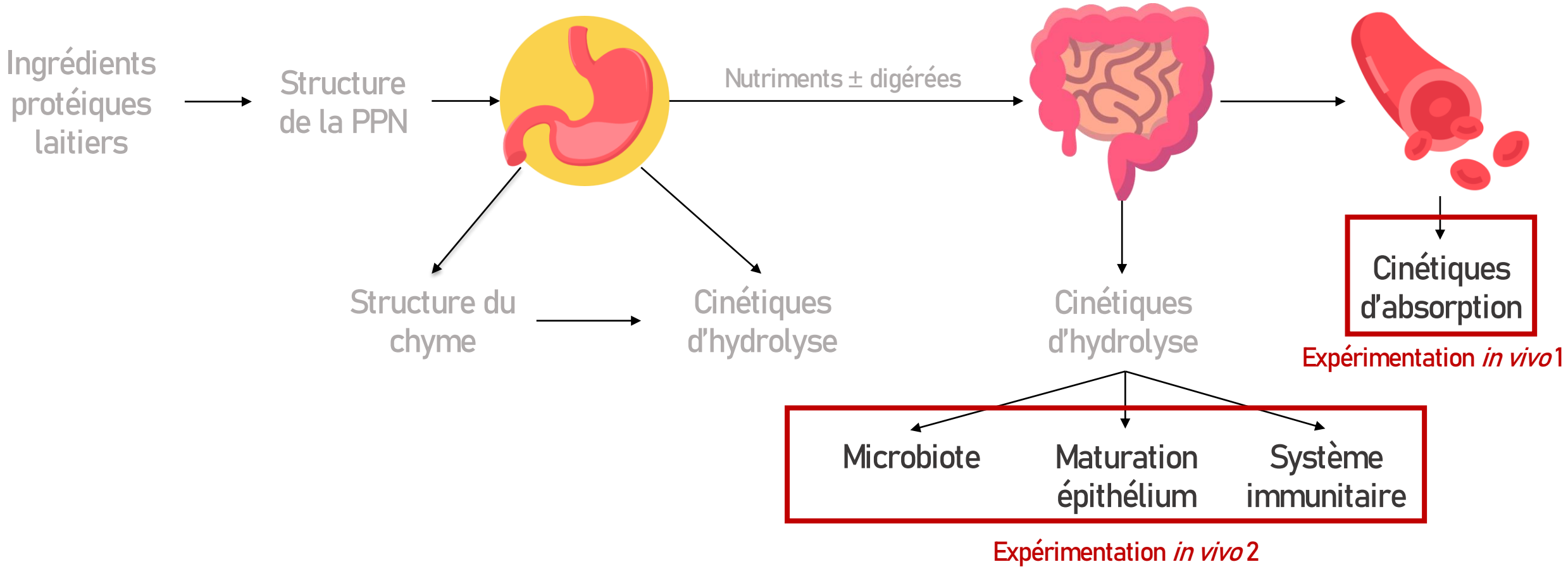
CINÉTIQUE DE RELARGAGE DES PEPTIDES



Différences de cinétiques de relargage entre les PPNs :

- Relargage plus abondant à G80 de peptides issus des caséines pour la PPN D par rapport aux autres PPNs --> Différence d'organisation supramoléculaire des caséines entre la PPN D et les autres PPNs.
- Peptides issus de l'ALA et BLG sont plus abondants et tardifs (phase intestinale) pour les PPNs C et D --> Concentrations plus élevées + structures natives sont plus résistantes à la protéolyse (31 et 29 % de dénaturation globale des protéines sériques)

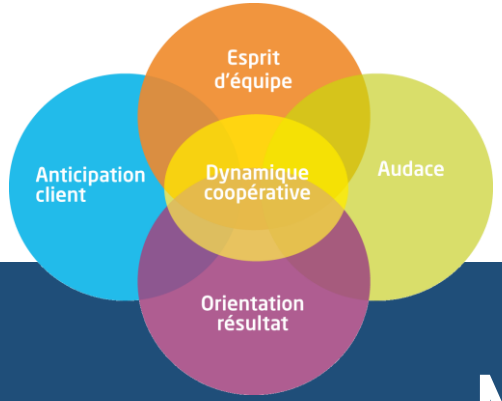
CONCLUSION & PERSPECTIVES



Comment les différences de protéolyse se traduisent-elles au niveau plasmatique ?

Quels seront les impacts sur la physiologie digestive, le système immunitaire et le microbiote ?

SODIAAL



MERCI POUR VOTRE ATTENTION

numecan
nutrition • métabolismes • cancer

STLO

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Dupont, D., R. Boutrou, O. Menard, J. Jardin, G. Tanguy, P. Schuck, B. B. Haab, et J. Leonil. 2010. « Heat Treatment of Milk During Powder Manufacture Increases Casein Resistance to Simulated Infant Digestion ». *Food Digestion* 1 (1): 28-39. https://doi.org/10.1007/s13228-010-0003-0.

Halabi, A., T. Croguennec, O. Ménard, V. Briard-Bion, J. Jardin, Y. Le Gouar, M. Hennetier, S. Bouhallab, D. Dupont, et A. Deglaire. 2022. « Protein Structure in Model Infant Milk Formulas Impacts Their Kinetics of Hydrolysis under in Vitro Dynamic Digestion ». *Food Hydrocolloids* 126: 107368. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107368.

Halabi, A., A. Deglaire, P. Hamon, S. Bouhallab, D. Dupont, et T. Croguennec. 2020. « Kinetics of Heat-Induced Denaturation of Proteins in Model Infant Milk Formulas as a Function of Whey Protein Composition ». *Food Chemistry* 302: 125296. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125296.

Halabi, A., A. Deglaire, M. Hennetier, F. Violleau, A. Burel, S. Bouhallab, D. Dupont, et T. Croguennec. 2020. « Structural Characterization of Heat-Induced Protein Aggregates in Model Infant Milk Formulas ». *Food Hydrocolloids* 107: 105928. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105928.

Hales, C. N., et D. J. Barker. 1992. « Type 2 (Non-Insulin-Dependent) Diabetes Mellitus: The Thrifty Phenotype Hypothesis ». *Diabetologia* 35 (7): 595-601. https://doi.org/10.1007/BF00400248.

Macierzanka, A., A. I. Sancho, E. N. C. Mills, N. M. Rigby, et A. R. Mackie. 2009. « Emulsification Alters Simulated Gastrointestinal Proteolysis of β-Casein and β-Lactoglobulin ». *Soft Matter* 5 (3): 538-50. https://doi.org/10.1039/B811233A.

McMillen, I. C., et J. S. Robinson. 2005. « Developmental Origins of the Metabolic Syndrome: Prediction, Plasticity, and Programming ». *Physiological Reviews* 85 (2): 571-633. https://doi.org/10.1152/physrev.00053.2003.

Ménard, O., T. Cattenoz, H. Guillemin, I. Souchon, A. Deglaire, D. Dupont, et D. Picque. 2014. « Validation of a New in Vitro Dynamic System to Simulate Infant Digestion ». *Food Chemistry* 145 (février): 1039-45. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.036.

Nauta, A. J., K. Ben Amor, J. Knol, J. Garssen, et E. M. van der Beek. 2013. « Relevance of Pre- and Postnatal Nutrition to Development and Interplay between the Microbiota and Metabolic and Immune Systems ». *The American Journal of Clinical Nutrition* 98 (2): 586S-93S. https://doi.org/10.3945/ajcn.112.039644.

Oliveira, S. de. 2016. « Impact de la pasteurisation et de l'homogénéisation sur la digestion du lait maternel chez le nouveau-né : Etudes in vitro et in vivo ». These de doctorat, Rennes, Agrocampus Ouest. https://www.theses.fr/2016NSARB284.

Oliveira, S. de, A. Deglaire, O. Ménard, A. Bellanger, F. Rousseau, G. Henry, E. Dirson, F. Carrière, D. Dupont, et C. Bourlieu. 2016. « Holder Pasteurization Impacts the Proteolysis, Lipolysis and Disintegration of Human Milk under in Vitro Dynamic Term Newborn Digestion ». *Food Research International* 88 (octobre): 263-75. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.11.022.

Srinivasan, M., H. Singh, et P. A. Munro. 1996. « Sodium Caseinate-Stabilized Emulsions: Factors Affecting Coverage and Composition of Surface Proteins ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (12): 3807-11. https://doi.org/10.1021/jf960135h.

Wang, X., A. Ye, Q. Lin, J. Han, et H. Singh. 2018. « Gastric Digestion of Milk Protein Ingredients: Study Using an in Vitro Dynamic Model ». *Journal of Dairy Science* 101 (8): 6842-52. https://doi.org/10.3168/jds.2017-14284.

Ye, A., et H. Singh. 2001. « Interfacial Composition and Stability of Sodium Caseinate Emulsions as Influenced by Calcium Ions ». *Food Hydrocolloids* 15 (2): 195-207. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00065-5.