

# Impact de l'intervalle de traite sur la lipolyse spontanée du lait de vache

HURTAUD C. (1), BERNARD L. (2), TAILLEBOSQ D. (1), CEBO C. (3)

(1) PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590, Saint Gilles, France

(2) Université Clermont Auvergne, INRAE, VetAgro Sup, UMR Herbivores, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

(3) Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, GABI, 78350, Jouy-en-Josas, France

## RESUME

La lipolyse du lait est définie comme l'hydrolyse des triglycérides, le composant principal de la matière grasse du lait. Elle est plus élevée dans les laits issus de la traite du soir que dans ceux issus de la traite du matin. Cette différence pourrait être due à la durée des intervalles entre traites ou au nyctémère. L'objectif de cet essai a été d'étudier l'impact de l'intervalle entre 2 traites sur la lipolyse spontanée du lait : 10–14 (traites à 6h30 et 16h30) ; 14–10 (traites à 6h30 et 20h30) ; 12–12 (traites à 6h30 et 18h30). 21 vaches laitières multipares en milieu de lactation ont été utilisées selon un schéma expérimental en carré latin 3 × 3 conduit sur 3 périodes expérimentales de 1 semaine alternant avec une semaine de traite classique 10-14. Nous avons observé plus de lipolyse spontanée dans le lait du soir pour le traitement 10-14 (+0,22 mEq/100 g de matière grasse) et dans le lait du matin pour le traitement 14-10 (+0,19 mEq/ 100 g de matière grasse) et pas de différence significative entre traites pour le traitement 12-12 même si la lipolyse était numériquement plus élevée dans les laits du soir (+0,10 mEq/100 g de matière grasse). Les teneurs en protéines du lait, en phosphore total et en citrate ont augmenté avec la durée de stockage du lait dans la glande mammaire (de 10 à 14 h). Le rythme de traite n'a eu aucun effet sur le diamètre des globules gras du lait. Le rapport Na/K, indicateur d'une ouverture des jonctions serrées dans la glande mammaire, n'a augmenté que pour la traite du soir pour les traitements 12-12 et 14-10. En conclusion, l'effet des intervalles de traite semble plus important que l'effet du nyctémère sur le taux de lipolyse spontanée du lait.

## Impact of the milking interval on the spontaneous lipolysis of cows' milk

HURTAUD C. (1), BERNARD L. (2), TAILLEBOSQ D. (1), CEBO C. (3)

(1) PEGASE, INRAE, Institut Agro, 35590, Saint Gilles, France

## SUMMARY

Milk lipolysis is defined as the hydrolysis of triglycerides, the main component of milk fat. It is higher in milks from the evening milking than in those from the morning milking. This difference could be due to the length of the intervals between milkings or to the nycthemeron. The objective of this trial was to study the impact of the interval between 2 milkings on the spontaneous lipolysis of milk: 10–14 (milkings at 6.30 a.m. and 4.30 p.m.); 14–10 (milking at 6:30 a.m. and 8:30 p.m.); 12–12 (milking at 6:30 a.m. and 6:30 p.m.). 21 multiparous dairy cows in mid-lactation were used according to a 3 × 3 Latin square experimental design conducted over 3 experimental periods of 1 week alternating with a classic 10-14 week milking. We observed more spontaneous lipolysis in evening milk for treatment 10-14 (+0.22 mEq/100 g fat) and in morning milk for treatment 14-10 (+0.19 mEq/ 100 g of fat) and no significant difference between milkings for treatment 12-12 even if lipolysis was numerically higher in the evening milks (+0.10 mEq/100 g of fat). Milk protein, total phosphorus and citrate contents increased with the duration of storage of milk in the mammary gland (from 10 to 14 h). Milking intervals had no effect on milk fat globule diameter. The Na/K ratio, an indicator of tight junction opening in the mammary gland, increased only for evening milking for treatments 12-12 and 14-10. In conclusion, the effect of milking intervals seems more important than the effect of nycthemeron on the rate of spontaneous milk lipolysis.

## INTRODUCTION

La lipolyse du lait est définie comme l'hydrolyse des triglycérides, le composant principal de la matière grasse du lait. Elle est un des critères d'évaluation de la qualité du lait car les acides gras libérés lors de la dégradation de la matière grasse altèrent à la fois les propriétés organoleptiques et technologiques des laits. La lipolyse est un phénomène complexe, qui dépend à la fois de paramètres liés à l'animal et de facteurs d'élevage. En particulier, en ce qui concerne la conduite de traite, la lipolyse est plus élevée dans les laits issus de la traite du soir que dans ceux issus de la traite du matin. Cette différence pourrait être due à la durée des intervalles entre traites ou au nyctémère (succession jour-nuit). L'objectif de cet essai était donc d'étudier l'impact de l'intervalle entre 2 traites sur la lipolyse spontanée (LS) du lait.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. ANIMAUX ET TRAITEMENTS

L'expérimentation a été menée à l'IE PL, INRAE, Nutrition et physiologie laitières (IE PL, 35650 Le Rheu, France ; <https://doi.org/10.15454/yk9q-pf68>). Elle a reçu une Autorisation du ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche sous le numéro APAFIS#23235-2019120920557765 v2. 21 vaches laitières multipares en milieu de lactation ont été utilisées selon un schéma expérimental en carré latin 3 × 3 pendant 3 périodes. 3 traitements ont été appliqués : 10–14 (traites à 6h30 et 16h30) ; 12–12 (traites à 6h30 et 18h30) et 14–10 (traites à 6h30 et 20h30). L'expérimentation a duré 5 semaines (3 périodes expérimentales de 1 semaine alternant avec une semaine de traite classique 10-14). La production laitière en début d'essai était de  $32,7 \pm 5,0$  kg. Le stade de lactation moyen était de  $48 \pm 8$  jours. Les lots ont été appariés selon les critères suivants : susceptibilité à la LS, stade de lactation, production de lait, TB et TP, poids vif. Les vaches ont reçu un régime à base d'ensilage de maïs (65 %),

de luzerne déshydratée (10 %), de concentré énergétique à base de céréales (12,5 %) et de tourteau de soja 48 (12,5 %). Elles ont été alimentées à volonté. Des prélèvements de lait ont été effectués à la traite du matin et du soir et une prise de sang a été réalisée une fois par période.

## 1.2. ANALYSES DU LAIT

### 1.2.1 Composition du lait

Les teneurs en matières grasses, en protéines et en lactose du lait et le nombre de cellules somatiques (SCC) ont été déterminés sur le lait de six traites consécutives chaque semaine. Ces analyses ont été réalisées par spectrométrie moyen infrarouge pour les teneurs en matières grasses, protéines et lactose et par cytométrie de flux pour le SCC au laboratoire interprofessionnel MyLab (Châteauguiron, France). Les vaches ont été traitées sur bidons à la traite du matin et du soir à la fin de la période pré-expérimentale et à la fin de chaque période expérimentale (un jour). Des échantillons de lait ont été aliquotés pour la mesure de la LS, le profil en acides gras (AG), et la composition en matières azotées totales, caséines, protéines (méthode Kjeldahl) et en minéraux (par ICP MS). L'activité de la lipoprotéine lipase du lait (EC 3.1.1.34) a été mesurée lors de la traite du matin comme décrit dans Bernard et al. (2005).

### 1.2.2 Lipolyse spontanée du lait

Deux flacons ont été collectés par vache pour calculer la LS par la différence entre le contenu en AG libres après 24 heures de stockage à 4°C et le contenu initial en AG libres. Immédiatement après la traite, un échantillon de 50 mL a été chauffé pendant 2 min 30 s dans un bain-marie à 100°C pour bloquer l'activité de la lipase, puis maintenu à 4°C. Un deuxième échantillon a d'abord été stocké à 4°C pendant 24 heures avant d'être chauffé 3 min à 100°C et maintenu à 4°C comme ci-dessus. Les AG libres ont été mesurés sur les deux échantillons par la méthode aux savons de cuivre (Shipe et al., 1980 ; Vanbergue et al., 2016).

### 1.2.3 Diamètre des globules gras du lait et des caséines

Les flacons ont été conservés à température ambiante avec du bronopol (Merck, Darmstadt, Allemagne) pour évaluer la distribution de taille des globules gras par diffusion de la lumière laser (Mastersizer 3000, Malvern, Royaume-Uni). Les diamètres moyens  $d_{4,3} = \frac{\sum(N_i \times d_i^4)}{\sum(N_i \times d_i^3)}$ ,  $d_{3,2} = \frac{\sum(N_i \times d_i^3)}{\sum(N_i \times d_i^2)}$ , et la surface du globule gras  $S = 6 / (\rho \times d_{3,2})$  (avec  $N_i$  le nombre de globules gras dans la classe de diamètre  $d_i$  et la densité  $\rho$  de la particule considérée, 0,92 pour la matière grasse) ont été calculés par le logiciel Malvern.

Pour la mesure du diamètre des micelles de caséines, le lait a été écrémé par deux centrifugations successives. Le diamètre  $d_{4,3} = \frac{\sum(N_i \times d_i^4)}{\sum(N_i \times d_i^3)}$  a été mesuré avec le Mastersizer 3000.

## 1.3 ANALYSES STATISTIQUES

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS 9.2 Institute Inc., Cary, Caroline du Nord, États-Unis). Les effets de l'intervalle entre traites (10-14, 12-12 et 14-10) ont été évalués sur les laits des traites du matin et du soir et sur le lait total de la journée. Le modèle statistique était un modèle mixte (procédure MIXED de SAS) qui incluait la vache, la période et le rythme de traite.

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{Vache}_i + \text{Période}_j + \text{IntervalleTraite}_k + \varepsilon_{ijkl}$$

Le seuil de signification statistique a été fixé à  $P < 0,05$ , tandis que celui d'une tendance a été fixé à  $P < 0,10$ .

## 2. RESULTATS

### 2.1. PRODUCTION LAITIÈRE

La modification de l'intervalle de traite n'a eu d'effet ni sur la production laitière journalière (33,2, 33,6 et 33,2 kg/j pour les traitements 10-14, 12-12 et 14-10), ni sur les taux butyreux (40,7, 40,2 et 41,1 g/kg) et protéique (30,5, 30,7, 30,4 g/kg), ni sur la production de matières grasses (1348,1353,1367 g/j), protéiques (1009, 1032, 1013 g/j) et de lactose (1617, 1661, 1621 g/j). Seule la teneur en lactose du lait a été plus élevée avec le traitement 12-12 (+0,8 g/kg).

Le matin, la production laitière a été la plus élevée avec le traitement 10-14, intermédiaire avec le traitement 12-12 et plus faible avec le traitement 14-10. Le soir le résultat a été inversé (Tableau 1). Le taux butyreux a été significativement plus élevé dans les laits du soir avec le traitement 10-14 (+3,8 g/kg) et dans les laits du matin avec le traitement 14-10 (+4,0 g/kg). Le taux protéique a été significativement plus faible dans les laits du soir avec le traitement 10-14 (-1,5 g/kg) et dans les laits du matin avec le traitement 14-10 (-1,8 g/kg). Les résultats obtenus avec le traitement 12-12 pour les taux butyreux et protéique ont été intermédiaires et constants entre matin et soir. La teneur en lactose a été similaire entre les 3 traitements dans le lait du matin et a été plus élevée avec le traitement 12-12 dans les laits du soir (+1,5 g/kg).

### 2.2. LIPOLYSE

Le traitement 10-14 a provoqué une augmentation de la lipolyse dans les laits du soir (+0,22 mEq/100 g MG) associée à un taux butyreux également plus élevé (+3,6 g/kg). En parallèle, le traitement 14-10 a eu tendance à entraîner une augmentation de la lipolyse dans les laits du matin (+0,19 mEq/100 g MG) également associée à un taux butyreux plus élevé (+4,4 g/kg). Le traitement 12-12 a eu des résultats similaires au traitement 10-14 le matin et au traitement 14-10 le soir. Cependant, la lipolyse a été numériquement plus élevée dans le lait du soir que dans le lait du matin (+0,10 MEq/100 g MG). Le diamètre des globules gras et la surface spécifique n'ont pas été modifiés par les intervalles de traite (Tableau 2).

		Intervalles entre traites			SEM	P
		10 h – 14 h	12 h – 12 h	14 h – 10 h		
Lait, kg/j	Matin	19,2 <sup>a</sup>	17,4 <sup>b</sup>	15,5 <sup>c</sup>	1,29	<0,001
	Soir	13,9 <sup>c</sup>	16,0 <sup>b</sup>	17,8 <sup>a</sup>	1,18	<0,001
Teneur en caséines, g/kg	Matin	25,8 <sup>a</sup>	25,2 <sup>a</sup>	24,2 <sup>b</sup>	1,38	0,004
	Soir	24,9	25,8	26,0	1,47	0,061
Ratio Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup>	Matin	0,161	0,162	0,162	0,0057	0,501
	Soir	0,159 <sup>b</sup>	0,169 <sup>a</sup>	0,174 <sup>a</sup>	0,0080	<0,001
Citrate, g/L	Matin	1,94 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	1,72 <sup>b</sup>	0,141	<0,001
	Soir	1,94 <sup>b</sup>	2,03 <sup>a</sup>	2,10 <sup>a</sup>	0,127	0,002

**Tableau 1** Effet de l'intervalle de traite et du moment de la traite sur la production du lait, la teneur en caséines, le ratio Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> et la teneur en citrate.

		Intervalles entre traites			SEM	P
		10 h – 14 h	12 h – 12 h	14 h – 10 h		
Lipolyse, mEq/100 g MG	Matin	0,34	0,35	0,53	0,289	0,077
	Soir	0,62 <sup>a</sup>	0,45 <sup>b</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,236	0,017
Taux butyreux, g/kg	Matin	41,2 <sup>b</sup>	42,9 <sup>b</sup>	45,6 <sup>a</sup>	3,45	0,002
	Soir	44,2 <sup>a</sup>	41,4 <sup>b</sup>	40,6 <sup>b</sup>	3,43	0,006
Diamètre des globules gras (d <sub>4,3</sub> ), µm	Matin	4,43	4,43	4,45	0,253	0,947
	Soir	4,41	4,42	4,52	0,196	0,170
Surface spécifique (s), m <sup>2</sup>	Matin	1,78	1,79	1,78	0,076	0,913
	Soir	1,80	1,79	1,77	0,052	0,130

**Tableau 2** Effet de l'intervalle de traite et du moment de la traite sur la lipolyse du lait (mesures effectuées le jour de la mesure de la lipolyse).

### 2.3. COMPOSITION FINE DU LAIT

Les teneurs en matières azotées totales et en caséines ont été plus élevées avec les traitements 10-14 et 12-12 le matin et avec les traitements 12-12 et 14-10 le soir (Tableau 1). Concernant les minéraux, la teneur en phosphore total a été plus élevée avec les traitements 10-14 et 12-12 le matin (992 et 965 mg/kg vs. 927 mg/kg) et 12-12 et 14-10 le soir (989 et 977 mg/kg vs. 965 mg/kg). Le rapport Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, indicateur d'une ouverture des jonctions serrées dans la glande mammaire, n'a augmenté que pour la traite du soir avec les traitements 12-12 et 14-10 (Tableau 1). La teneur en citrate a été également plus élevée avec les traitements 10-14 et 12-12 le matin et 12-12 et 14-10 le soir (Tableau 1).

### 3. DISCUSSION

L'absence de variation sur la journée de la production laitière, des taux butyreux et protéique, avec les intervalles de traite 10-14, 12-12 et 14-10 est en accord avec les résultats de Rémond et al (2009) obtenus avec des intervalles modérés entre les 2 traites (<17 h). L'augmentation de la teneur en lactose avec l'intervalle 12-12 est une conséquence d'une teneur plus élevée en lactose dans le lait du soir. La fluctuation de la lipolyse entre traite du matin et du soir ne semble pas liée au nyctémère, mais plutôt à l'intervalle entre traites. En effet, la diminution de l'intervalle entre traites est accompagnée d'une augmentation de la lipolyse (Wiking et al., 2006). La réduction de cet intervalle pourrait pénaliser la reconstitution de la membrane qui entoure les triglycérides qui n'aurait pas le temps de se reformer, rendant les globules gras plus sensibles à la lipolyse (Connolly, 1978). De plus, selon Sundheim (1988), la lipoprotéine lipase n'est pas stable à 35°C. Il se pourrait que la durée de stockage du lait influe sur l'activité de cette enzyme ce qui expliquerait des teneurs en acides gras libres plus faibles après des temps de stockage longs (dans le lait du matin pour 10-14 et dans celui du soir pour 14-10). Une autre explication pourrait être liée à la teneur en matières grasses plus élevée avec des intervalles entre traites plus courts qui serait associée à plus d'acides gras libres (Bachman et al, 1988 ; Tousova et al, 2013). Dans cette expérimentation, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la lipolyse, le taux butyreux et la surface des globules gras comme Murphy et al (1979). De la même façon, pour les paramètres de composition fine du lait, il semblerait que ce soit l'intervalle entre traites, donc la durée de stockage du lait dans la mamelle qui soit importante, et non le nyctémère. L'allongement de l'intervalle entre traites permet une synthèse plus importante des nutriments principaux du lait (protéines, caséines, lactose, matières grasses). Ce serait également le cas pour le citrate, qui serait synthétisé à une vitesse constante à partir du glucose et de l'acétate et qui n'aurait pas le même mécanisme d'action que les ions Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> (Linzell et al, 1976).

### CONCLUSION

Cette étude originale laisse encore en suspens un certain nombre de questions à propos des mécanismes d'action de la lipolyse. Certains résultats comme l'activité de la lipoprotéine lipase et le profil en acides gras des laits aideront probablement à expliquer ces différences entre laits issus de la traite du matin et du soir associés à des intervalles de traite différents et probablement non liés à la succession jour-nuit.

*Cette étude a été soutenue par l'Agence Nationale de la Recherche dans le cadre du projet LipoMEC (ANR-19-CE21-0010). Les auteurs remercient P. Lambertson, responsable de la ferme expérimentale l'IE PL, INRAE, Nutrition et physiologie laitières, et son équipe – V. Avignon, G. Bouillet, A. Le Croizier, A. Mottin, J. Orinel, J. Parois, F. Pichot, P. Pichot et D. Sidaner – pour leurs contributions aux soins des animaux et à l'échantillonnage du lait. Ils remercient également P. Debournoux-Poton, N. Huchet, M. Lemarchand, T. Le Mouél, C. Perrier (PEGASE, INRAE, Saint-Gilles, France) et S. Emery (Herbivores, INRAE, Saint-Genès-Champanelle, France) pour leur assistance technique.*

- Bachman K.C., Hayen M.J., Morse D., Wilcox C.J., 1988.** J. Dairy Sci., 71, 925-931
- Bernard L., Rouel J., Leroux C., Ferlay A., Faulconnier Y., Legrand P., Chilliard Y., 2005.** J. Dairy Sci., 88, 1478-1489.
- Connolly J., 1978.** In Proc. 20th International Dairy Congress, Paris (France), 26 Juin 1978.
- Linzell J.L., Mephram T.B., Peaker M., 1976.** J. Physiol. et al, 260, 739-750
- Murphy J.J., Connolly J.F., Headon D.R., 1979.** Irish J. Food Sci. Technol., 3, 131-149
- Rémond B., Pomiès D., Julien C., Guinard-Flament J., 2009.** Animal, 3, 1463-1471
- Shipe W.F., Senyk G.F., Fountain K.B., 1980.** J Dairy Sci, 63, 193-198
- Sundheim G., 1988.** J. Dairy Sci., 71, 620-626
- Tousova R., Stadnik L., Duchacek J., 2013.** Czech J. Food Sci., 31, 20-26
- Vanbergue E., Peyraud J.L., Guinard-Flament J., Charton C., Barbey S., Lefebvre R., Gallard Y., Hurtaud C., 2016.** J. Dairy Sci., 99, 5739-5749
- Wiking, L., Nielsen J.H., Båvius A.K., Edvardsson A., Svennersten-Sjaunja K., 2006.** J. Dairy Sci., 89,1004-1009