

Potentiel prébiotique des acides linoléiques conjugués (ALC) d'origine laitière : analyse *in vitro* et effets sur l'écosystème gastro-intestinal

Durée : 06/2006 - 09/2009

Résumé du projet

Le lait est un aliment complet qui représente une bonne source de calcium et de protéine, mais la matière grasse (MG) qu'il contient a souvent une mauvaise réputation. Parmi les composés de la MG du lait les plus étudiés, les acides linoléiques conjugués (ALC) ont suscité beaucoup d'intérêt à cause de leurs effets bénéfiques possibles sur la santé. Toutefois, les mécanismes d'action des ALC ne sont pas encore établis et des preuves scientifiques demeurent nécessaires pour l'acceptation des allégations revendiquées. Dans le cadre de ce projet de recherche nous avons étudié à l'aide de modèles *in vitro* novateurs le métabolisme des ALC d'origine laitière. Nous avons également évalué l'impact de ces composés sur l'équilibre de l'écosystème digestif. Les résultats obtenus ont révélé que la digestibilité de l'ensemble des acides gras (AG) du lait était de 79,6% et que les ALC semblent être hautement digestibles comparativement aux autres AG à longue chaîne. D'autre part, nos résultats ont démontré que les AG à courte chaîne inhibaient la croissance des lactobacilles et que cette inhibition augmente avec la concentration en AG et la longueur de la chaîne carbonée. Toutefois une stimulation de la croissance a été observée avec d'autres probiotiques notamment les bifidobactéries, lorsque les AG sont utilisés à des faibles concentrations. Sur le plan scientifique, ce projet a permis de générer des connaissances fondamentales uniques sur les métabolismes digestifs des AG laitiers et leurs effets positifs sur le microbiote colique. Ces nouvelles données peuvent continuer à rehausser l'image de la MG laitière auprès du consommateur et à développer de nouveaux produits à haute valeur ajoutée susceptibles d'accroître la compétitivité de l'industrie laitière québécoise à l'échelle nationale et internationale.

Objectifs et méthodologie

Objectif spécifique 1 : Étude du métabolisme des AG du lait et des ALC au niveau gastro-intestinal

L'objectif était de mesurer la digestibilité *in vitro* de différents laits ayant des teneurs élevées en ALC produits naturellement par voie de l'alimentation de la vache laitière ou ajoutés sous forme d'ALC synthétiques. Ces derniers ont été obtenus par émulsification des différents isomères d'ALC d'origine synthétique (c9, t11 et t10, c12), soit sous forme de triglycérides ou sous forme d'AG libre dans le lait, à des concentrations similaires à celle du lait enrichi naturellement. Les différents laits obtenus ont été standardisés à 3,25% et 1% de matières grasses (MG). Deux types de laits commerciaux à savoir le lait à 3,25% de MG et le lait à 1% de MG ont été également utilisés. La digestibilité de ces différents laits a été évaluée en utilisant un simulateur dynamique *in vitro* de la partie proximale du tube digestif qui comprend l'estomac, le duodénum, le jéjunum et l'iléon.

Objectif spécifique 2 : Évaluation de l'impact des AG laitiers et des ALC sur la physiologie de souches probiotiques

L'objectif était d'évaluer l'effet des AG (et en particulier des ALC d'origine laitière) intacts ou après digestion gastro-intestinale, sur le métabolisme

de souches bactériennes probiotiques. Pour ce faire, deux objectifs ont été définis : i) caractériser des souches probiotiques en fonction de leur croissance sous des concentrations en AG libres pouvant aller jusqu'à 1% et ii) mesurer l'effet de la digestion gastro-intestinale de laits à composition variable en MG et en ALC, sur la croissance de certaines souches probiotiques à savoir *L. helveticus* R0052, *L. rhamnosus* R0011, *L. rhamnosus* RW-9595M, *L. rhamnosus* GG, *L. plantarum* 299V, *L. kefirgranum* IM014; *B. longum* R00175, *B. lactis* BB12, *B. thermophilus* ssp *infantis* RBL 67 and *P. freudenreichii* ssp. *shermanii* PR1.

Objectif spécifique 3 : Étude de l'impact des ALC et des AG du lait sur l'équilibre de la microflore intestinale

L'objectif était d'étudier les effets des ALC et les AG libres sur le métabolisme et la croissance bactérienne dans les conditions physiologiques du tube digestif, de même que sur le rétablissement et le maintien de l'équilibre de l'écosystème intestinal. Pour réaliser cet objectif, un deuxième simulateur dynamique *in vitro* du gros intestin a été utilisé. Ce système permet de simuler les conditions microbiologiques et physiologiques des colons ascendant, transversal et descendant.

Résultats et applications

Objectif 1 : Métabolisme des AG du lait et des ALC au niveau gastro-intestinal

Les résultats ont révélé que la digestibilité de l'ensemble des acides gras du lait était de 79,6 % ($\pm 2,6$). Les ALC semblent être hautement digestibles comparativement aux autres acides gras à longue chaîne du lait enrichi en ALC. Les ALC c9, t11 provenant d'un lait naturellement enrichi (NAT) étaient absorbés par le modèle *in vitro* plus efficacement que lorsqu'ils étaient incorporés sous forme de triacylglycérols synthétiques (TAG). À la lumière des résultats obtenus, il est permis de croire que les ALC c9, t11 sont des acides gras très digestibles et que, par conséquent, la disponibilité des ALC c9, t11 ingérés ne devrait pas être considérée

comme une limite dans d'éventuels travaux de recherche en nutrition. Le degré d'hydrolyse n'est pas le seul élément qui distingue les laits grand mélange et ALC. En général le profil des AG est semblable, sauf pour deux AG. En effet, le pourcentage de C16:0 est de 38% dans le lait grand mélange, mais est de 25% seulement dans le lait ALC. Par contre le lait grand mélange est plus pauvre en C18:1 avec seulement 24% alors que cet AG constitue 44% des acides gras libres du lait ALC. Le modèle de digestion *in vitro* TIM-1 nous a permis de générer des résultats uniques concernant la digestibilité des acides gras en fonction de leur longueur de chaîne, leur degré de saturation, leur degré d'estérification et leur position au sein d'un triacylglycérol.

Résultats et applications - suite...

Objectif 2 : Impact des AG laitiers et des ALC sur la physiologie et la croissance de souches probiotiques

Un nouveau milieu minimal a été mis au point lors de cette étude. Ce milieu combiné à la technique de spectrophotométrie automatisée nous a permis de suivre la croissance de la majorité des souches probiotiques ciblées par cette étude.

Des essais de croissance sur les différentes souches probiotiques ont montré que les AG à courte chaîne inhibaient la croissance des lactobacilles. L'inhibition augmentant avec la concentration d'AG et la longueur de la chaîne carbonée. Dans certains cas, toutefois on observe une stimulation à faible concentration.

Les grandes conclusions qui se dégagent de cet objectif sont :

- Les ingrédients « non actifs » des sucs intestinaux (bile, estomac, pancréas) n'affectent pas la croissance des probiotiques;
- Il y a un effet marqué de la souche sur la viabilité et la croissance dans les digestats;
- La digestion de la phase non-grasse a montré un effet sur la viabilité et la croissance;
- La présence d'AG dans le digestat pourrait affecter la survie de certains probiotiques dans la partie supérieure du système gastro-intestinal;
- La survie des souches probiotiques dépend du type de gras, les ALC étant plus stimulateurs.

Transfert des résultats

Ce projet a permis de générer plusieurs résultats très originaux en lien avec les bienfaits des ALC sur la flore digestive et de nouvelles données uniques sur le métabolisme gastro-intestinal des AG et des ALC. Nos travaux ont permis de déterminer les concentrations optimales en AG et en ALC pour obtenir les effets bénéfiques escomptés, de même que les isomères les plus efficaces. Ces données peuvent être rapidement exploitées pour développer de nouveaux produits probiotiques à haute valeur ajoutée.

Partenaires financiers

Entente de collaboration pour l'innovation en production et transformation laitières (ECI2005-2011) :

Agriculture et Agroalimentaire Canada

Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies

Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

Novalait inc.

BUDGET TOTAL : 243 500 \$



2750, rue Einstein, bureau 220-A, Québec (Québec) G1P 4R1
Tél. : (418) 527-7947 • Téléc. : (419) 527-5957
novalait@novalait.ca • www.novalait.ca

Objectif spécifique 3 : Impact des ALC et des AG du lait sur l'équilibre de la microflore intestinale

Dans un premier temps, nous avons évalué la croissance des souches probiotiques dans les différents effluents du TIM1 obtenus dans le cadre de l'objectif 1. Ces effluents permettent de simuler le contenu colique. Nos résultats ont montré que le profil général de fermentation est le même pour toutes les souches testées dans les différents milieux. Si on compare les deux laits enrichis naturellement en ALC à 3,25% de MG et à 1% de MG, on constate que la croissance des souches dépend du pourcentage de MG dans le lait. En effet, les souches sont beaucoup plus sensibles dans le milieu CLA NAT à 3,25% de MG que dans le milieu CLA NAT à 1% de MG. Trois souches sur quatre ont présenté une grande sensibilité dans le lait enrichi naturellement en CLA à 3,25% de MG. À partir de nos résultats on peut déduire que la survie des souches dépend du pourcentage de gras laitier et essentiellement de la souche testée.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les effets des ALC et des AG libres sur le métabolisme et la croissance bactérienne dans les conditions physiologiques du tube digestif de même que sur le rétablissement et le maintien de l'équilibre de l'écosystème intestinal. Un système de fermentation colique a été mis au point. Les résultats obtenus montrent clairement que le système de fermentation mis au point permet de reproduire très fidèlement la microflore représentative du microbiote colique chez l'humain. Une forte corrélation a été observée entre les méthodes testées, soit les milieux sélectifs ou la méthode FISH (*fluorescence in situ hybridization*).

Ces résultats ont été déjà présentés lors de plusieurs réunions scientifiques et congrès nationaux et internationaux (Joint Annual Meeting of the American Dairy Science Association, Canadian Nutrition Congress, Colloque STELA, IDF Dairy Science and Technology Week, Forum Novalait) et ont fait l'objet de plusieurs publications scientifiques. Ces activités sont de nature à assurer un transfert efficace des connaissances et des technologies auprès de la communauté scientifique, des consommateurs et des intervenants de l'industrie laitière.

Point de contact

Responsables du projet :

Ismail Fliss

Centre de recherche en sciences et technologie du lait (STELA)
Université Laval
Québec (Québec) G1K 7P4
Tél. : (418) 656-2131, poste 6825 • Téléc. : (418) 656-3353
Courriel : ismail.fliss@al.n.ulaval.ca

Edward Farnworth

Agriculture et Agroalimentaire Canada
Centre de recherche et de développement sur les aliments (CRDA)
3600, boul. Casavant Ouest, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 8E3
Tél. : (450) 773-1105 • Téléc. : (450) 773-8461
Courriel : farnworthed@agr.gc.ca

Collaborateurs :

Yvan Chouinard, Université Laval

Claude Champagne et Marie-Rose Van Clasteren,
Agriculture et Agroalimentaire Canada (CRDA)