



La revue francophone sur les fourrages et les prairies

The French Journal on Grasslands and Forages

Cet article de la revue **Fourrages**,
est édité par l'Association Française pour la Production Fourragère

Pour toute recherche dans la base de données
et pour vous abonner :

www.afpf-asso.org



AFPF – Maison Nationale des Eleveurs – 149 rue de Bercy – 75595 Paris Cedex 12
Tel. : +33.(0)1.40.04.52.00 – Mail : contact@afpf-asso.fr

Association Française pour la Production Fourragère

Les légumineuses fourragères, un allié de choix pour enrichir le lait en équol et améliorer son profil en acides gras

E. Froidmont¹, F. Daems², V. Decruyenaere¹, F. Dehareng²,
D. Franckson¹, A. Lefevre¹, V. Ninane², J.-M. Romnee²

Produire du lait à partir d'herbe ou de fourrages herbagers est intéressant pour l'éleveur, sur le plan économique, et pour le consommateur, d'un point de vue nutritionnel. La nature de l'herbe distribuée aux vaches, et en particulier la part de légumineuses qu'elle contient, influence grandement la qualité fine du lait et des produits laitiers.

RÉSUMÉ

Les 6 essais ici présentés ont été conduits pour illustrer l'incidence d'un apport de légumineuses fourragères sur la qualité du lait, en particulier son profil en acides gras et sa teneur en équol. Certains essais ont été menés au pâturage ou en stabulation avec des ensilages de composition variable. Sous la forme d'ensilage, les légumineuses améliorent le profil en acides gras du lait par rapport aux graminées. De même, l'apport de légumineuses fourragères, et en particulier de trèfle violet, améliore la teneur en équol du lait au pâturage et en stabulation. L'équol du lait n'est pas détruit par la transformation en produits laitiers. A l'exception du lait produit en agriculture biologique, les laits du commerce sont peu pourvus en équol par rapport aux teneurs obtenues avec des légumineuses dans les essais.

SUMMARY

Forage legumes: the preferred choice for increasing equol levels and improving fatty acid composition in milk

The type of grass made available to cows and, more specifically, the proportion of legumes influences the quality of dairy products, including milk. Here, we carried out 6 experiments whose results underscore how forage legumes affect milk quality, namely fatty acid composition and equol levels. When animals are given silage, legumes are better than grasses for improving milk fatty acid composition. Similarly, whether animals are grazing or green fed, forage legumes, and especially red clover, increase milk equol levels. When milk is processed to create dairy products, equol levels remain consistent. With the exception of organically produced milk, commercially available milk has much lower levels of equol than did the milk produced by our experimental animals given access to legumes.

Il est bien connu que l'herbe permet de produire un lait ou une viande de haute qualité nutritionnelle grâce à sa richesse en certains acides gras (AG) polyinsaturés, en caroténoïdes ou encore en vitamines. Selon ARRIGO (2010), l'herbe fraîche peut contenir jusqu'à 3% de matières grasses sur la base de sa matière sèche (MS), dont près de 70% peuvent être constitués d'acides gras polyinsaturés de type oméga-3 (ω 3) susceptibles de prévenir les maladies cardio-vasculaires. Les polyphénols constituent une autre

famille de composés présents dans les végétaux pouvant influencer la qualité des productions animales. Parmi ceux-ci, les isoflavones sont spécifiques aux légumineuses. Deux d'entre elles, la daidzéine et la formononétine, sont particulièrement intéressantes car elles peuvent être métabolisées en équol, sous l'action de certaines bactéries du tube digestif de l'animal, dont une partie est sécrétée dans le lait. Plusieurs études suggèrent que ce métabolite microbien, absent du règne végétal, aurait un réel intérêt pour la

AUTEURS

1 : Centre wallon de Recherches agronomiques, Bâtiment Bertrand Vissac, Département Productions et Filières, Rue de Liroux 8, B-5030 Gembloux (Belgique) ; e.froidmont@cra.wallonie.be

2 : Centre wallon de Recherches agronomiques, Bâtiment Maurise Henseval, Département Valorisation des Productions, Chaussée de Namur 24, B-5030 Gembloux (Belgique)

MOTS CLÉS : Acide gras essentiel, agriculture biologique, bovin, Belgique, ensilage, fourrage, fromage, légumineuse, pâturage, prairie, production laitière, qualité du lait, ration de base, santé, trèfle violet.

KEY-WORDS : Basic diet, Belgium, cattle, cheese, dairying, essential fatty acid, forage, grassland, grazing, health, legume, milk quality, organic farming, red clover, silage.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Froidmont E., Daems F., Decruyenaere V., Dehareng F., Franckson D., Lefevre A., Ninane V., Romnee J.M. (2017) : «Les légumineuses fourragères, un allié de choix pour enrichir le lait en équol et améliorer son profil en acides gras», *Fourrages*, 230, 141-146.

santé humaine, de par son haut pouvoir antioxydant et sa capacité à interagir avec les récepteurs oestrogéniques. Il préviendrait de cette manière le développement de certains types de cancers hormono-dépendants, des maladies cardio-vasculaires et réduirait les troubles liés à la ménopause (SETCHELL *et al.*, 2002). Développer des modes de production permettant d'enrichir les produits animaux en équol est d'autant plus intéressant que seulement 25 % de la population occidentale dispose de la microflore capable de le synthétiser, contre 80 % dans les pays asiatiques (JACKSON *et al.*, 2011). Le lait constituerait ainsi un bon pourvoyeur de cet élément pour les individus déficients.

L'objectif de cette synthèse est de mesurer l'intérêt d'alimenter des vaches laitières avec des légumineuses fourragères, comparativement aux graminées ou au tourteau de soja, pour la production laitière ainsi que pour la qualité du lait et des produits laitiers, en particulier leurs teneurs en équol et leurs profils en AG. L'incidence du mode de distribution des légumineuses fourragères (pâturage ou ensilage) sur leur capacité à influencer la qualité du lait fait également l'objet d'une réflexion. Un état des lieux sur la variabilité de la teneur en équol dans les laits de commerce, selon leur origine, a également été réalisé et offre une base de comparaison par rapport aux teneurs observées dans les essais, avec des rations spécifiques à base de légumineuses fourragères.

1. Démarche expérimentale

Dans un premier temps, nous nous sommes assurés que le pâturage de parcelles riches en légumineuses permet de produire un lait de qualité distincte à celui obtenu à partir de parcelles de graminées (essai 1). Le choix de l'implantation du trèfle violet (TV) dans des parcelles d'essai a été motivé par sa grande richesse en isoflavones comparativement aux autres légumineuses (KALAC, 2013).

En Europe du Nord, les vaches sont nourries une bonne partie de l'année avec des fourrages conservés. Nous avons dès lors vérifié que les légumineuses, une fois ensilées, contiennent toujours des précurseurs d'équol (formononétine + daidzéine). Cet aspect est de première importance pour l'établissement de filières de qualité basées sur une alimentation spécifique, qui se doivent de proposer des produits différenciés tout au long de l'année. Dans ce cadre, l'évolution des teneurs en isoflavones d'un ensilage de TV a été mesurée au cours du temps (essai 2) avant d'effectuer un essai zootechnique visant à comparer l'effet, sur la qualité du lait, de deux ensilages qui diffèrent quant à leur composition botanique (essai 3).

Outre les légumineuses fourragères, la ration d'une vache laitière peut contenir des aliments issus de légumineuses à graines, tels que le tourteau de soja. La question est de savoir si une telle matière première est aussi efficace que le TV pour enrichir le lait en équol et améliorer son profil en AG. Une étude a donc été menée pour comparer l'incidence du TV et celle du soja sur la qualité nutritionnelle du lait en maximisant leur niveau d'incorporation dans la ration des vaches (essai 4).

En Europe, une grande proportion de lait est consommée sous forme de produits transformés. Par ailleurs, le lait subit généralement un traitement thermique pour assurer sa conservation. Nous avons profité de l'essai 4 pour récolter le lait, le traiter thermiquement et confectionner différents produits en vue de tester la résistance de l'équol aux procédés technologiques couramment appliqués (essai 5).

Enfin, la dernière étape de la réflexion a permis de déterminer la variabilité de la teneur en équol des laits disponibles pour les consommateurs (essai 6), notamment en fonction de leur origine, de leur traitement et de leur mode de production (agriculture conventionnelle ou biologique).

2. Résultats et discussion

■ Essai 1 : Incidence du pâturage de trèfle violet sur la composition du lait

Le premier essai est réalisé sur deux lots de 5 vaches selon un dispositif expérimental en cross-over (FROIDMONT *et al.*, 2016). Les animaux ingèrent en moyenne 17,7 kg de matière sèche (MS) par jour, dont 14,4 kg MS d'herbe pâturée. Les résultats montrent que **le pâturage de parcelles riches en trèfle violet** (var. Pastor, pâturable) **permet d'enrichir sensiblement le lait en équol** comparativement au pâturage de graminées (tableau 1). La teneur en équol du lait est donc liée à la présence de TV dans les parcelles, celui-ci contenant en moyenne 947 $\mu\text{g/g}$ MS de précurseurs d'équol. En revanche, la production laitière et les constituants majeurs du lait (taux protéique, taux butyreux) ne sont pas influencés par la nature de l'herbe ingérée, alors que certaines différences observées dans le profil en AG du lait, bien qu'atteignant le seuil significatif, n'ont pas de réelle implication pratique. En outre, cet essai met en évidence un «effet ani-

Parcelles pâturées	Graminées	TV
% de trèfle dans les parcelles (% MS)*	2,9 ^a	20,3 ^b
Production laitière (kg/vache/j)	27,1	27,3
Taux butyreux (%)	3,7	3,7
Taux protéique (%)	3,3	3,3
Teneur en équol ($\mu\text{g/kg}$ de lait)	3 ^a	162 ^b
Production d'équol ($\mu\text{g/vache/j}$)	83 ^a	4 620 ^b
Teneur en acides gras (AG) du lait (% AG totaux) :		
AG saturés	70,3 ^a	71,0 ^b
AG monoinsaturés	25,8 ^a	25,2 ^b
AG polyinsaturés	3,9 ^a	3,8 ^b
$\omega 3$	0,7	0,7
$\omega 6$	2,7	2,7
$\omega 6/\omega 3$	4,2	4,2
C18:2 cis9trans11	0,4 ^a	0,3 ^b

* : les valeurs d'une même ligne n'ayant pas une lettre commune diffèrent significativement ($P < 0,01$)

TABLEAU 1 : Incidence de la présence de trèfle violet dans la prairie pâturée sur la production et la composition du lait (essai 1, FROIDMONT *et al.*, 2016).

TABLE 1 : Effects of including red clover in grasslands on milk production and composition (Experiment 1, FROIDMONT *et al.*, 2016).

mal» marqué sur la teneur en équol du lait, avec une excrétion d'équol moyenne par animal variant de 952 à 5008 $\mu\text{g}/\text{vache}/\text{j}$ sur l'essai. Ceci peut refléter la spécificité individuelle des micro-organismes présents dans le rumen.

■ Essai 2 : Incidence du processus d'ensilage sur les précurseurs d'équol dans le fourrage

Un second essai (DAEMS *et al.*, 2016), mené en micro-silos, a évalué l'incidence du processus d'ensilage sur l'évolution de la teneur en isoflavones du fourrage au cours du temps. Il montre que, malgré des paramètres de conservation tout à fait corrects, **la teneur en précurseurs d'équol d'un ensilage de TV pur diminue de 65% dès les 15 premiers jours de fermentation, comparative-ment aux teneurs mesurées sur le fourrage frais** ($P < 0,001$), et se stabilise ensuite (figure 1). Toutefois, l'application d'un préfanage au TV protège quelque peu les isoflavones des fermentations. Pour SIVESING et SEGUIN (2005), la teneur en isoflavones du TV diminue seulement de 22% suite à son ensilage. Ces auteurs précisent cependant que ce processus microbien est dynamique et dépend de nombreux facteurs (température, pH, micro-organismes...) susceptibles de générer de larges différences selon les conditions expérimentales. Le recours à la technique des micro-silos étant assez spécifique, la question de savoir si un enrichissement du lait en équol est envisageable avec des rations hivernales demeure.

■ Essai 3 : Améliorer le profil en acides gras et enrichir le lait en équol avec un ensilage riche en légumineuses

L'objet du troisième essai vise à comparer deux régimes contenant chacun 80% d'ensilage d'herbe (14,5 kg MS/vache/j) ne différant que par leur nature (ensilage de trèfle blanc (TB)/TV/dactyle *vs* ensilage de graminées) et dosant respectivement 536 et 6 $\mu\text{g}/\text{g}$ MS de précurseurs

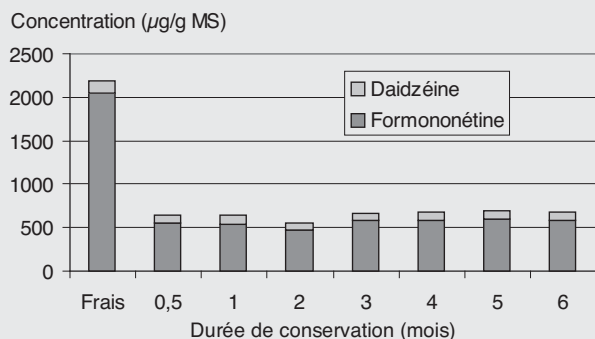


FIGURE 1 : Evolution de la concentration en précurseurs d'équol dans le trèfle violet selon la durée d'ensilage (essai 2, DAEMS *et al.*, 2016).

FIGURE 1 : Changes in the concentration of equol precursors in red clover based on ensiling duration (Experiment 2, DAEMS *et al.*, 2016).

Type d'ensilage	Graminées	TB-TV-Dactyle
Production laitière (kg/vache/j)*	19,3 ^a	18,3 ^b
Taux butyreux du lait (%)	4,2	4,1
Taux protéique du lait (%)	3,2 ^a	3,0 ^b
Teneur en équol ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de lait)	11 ^a	492 ^b
Production d'équol ($\mu\text{g}/\text{vache}/\text{j}$)	273 ^a	11 879 ^b
Teneur en acides gras (AG) du lait (% AG totaux) :		
AG saturés	73,5 ^a	74,7 ^b
AG monoinsaturés	23,6 ^a	21,6 ^b
AG polyinsaturés	3,0 ^a	3,8 ^b
$\omega 3$	0,6 ^a	1,1 ^b
$\omega 6$	1,8 ^a	2,1 ^b
$\omega 6 / \omega 3$	2,9 ^a	1,9 ^b
C18:2 cis9trans11	0,5 ^a	0,6 ^b

* : les valeurs d'une même ligne n'ayant pas une lettre commune diffèrent significativement ($P < 0,01$)

TABLEAU 2 : Incidence de la présence de légumineuse dans le fourrages ensilé sur la production et la composition du lait (essai 3).

TABLE 2 : Effects of including legumes in silage forage on milk production and composition (Experiment 3).

d'équol. L'essai est mené sur 2 lots de 3 vaches laitières selon un dispositif en cross-over (FRANCKSON *et al.*, 2014). La production laitière est un peu plus faible avec l'ensilage de TV, mais **la teneur en équol du lait est largement supérieure à celle observée avec l'ensilage de graminées** (tableau 2). Cet enrichissement est plus élevé que celui observé lors de l'essai 1, réalisé au pâturage, malgré une ingestion moyenne quotidienne de précurseurs d'équol moindre dans le cas présent (7,76 *vs* 13,64 $\text{g}/\text{j}/\text{vache}$). Cette observation suggère que le rendement de transformation des isoflavones en équol par la vache ainsi que le transfert de l'équol dans le lait est conditionné par de multiples facteurs (NJASTAD *et al.*, 2014).

L'essai met également en évidence **l'intérêt de l'ensilage riche en légumineuses sur la proportion d'AG polyinsaturés du lait** (tableau 2). La présence de polyphénol-oxydases dans le TV permet de limiter la lipolyse des AG de l'herbe lors de l'ensilage alors que, pour le TB, ce sont les saponines qui jouent ce rôle (VAN RANST *et al.*, 2009, 2011). De plus, les légumineuses étant plus digestibles que les graminées, elles occasionnent une vidange plus rapide du rumen (DEWURST *et al.*, 2003) et limitent par conséquent la biohydrogénation des AG.

■ Essai 4 : Potentiel du trèfle violet pour pourvoir la vache laitière en précurseurs d'équol

Un quatrième essai a été mis en place sur 4 vaches, selon un dispositif en cross-over, pour comparer l'intérêt d'un ensilage de TV à celui du tourteau de soja (riche en daidzéine) pour enrichir le lait en équol. Les rations, formulées pour un niveau de production de lait de 27 l/vache/j sont équilibrées et contiennent 9,0 kg MS d'ensilage de maïs, 7,0 kg MS d'ensilage d'herbe et 4,0 kg MS de concentrés. La ration Soja ne contient que le tourteau de soja comme source d'isoflavones, soit 2,7 kg MS ; elle comporte

Ration	Soja	Trèfle Violet
Production laitière (kg/vache/j)	27,0	26,9
Taux butyreux du lait (%)	3,9	4,0
Taux protéique du lait (%)	3,1	3,1
Teneur en équol ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de lait)*	47 ^a	282 ^b
Production d'équol ($\mu\text{g}/\text{vache}/\text{j}$)	1 330 ^a	7 673 ^b
Teneur en acides gras (AG) du lait (% AG totaux) :		
AG saturés	77,9 ^a	75,0 ^b
AG monoinsaturés	19,8 ^a	22,4 ^b
AG polyinsaturés	2,3 ^a	2,6 ^b
$\omega 3$	0,3 ^a	0,4 ^b
$\omega 6$	1,5	1,5
$\omega 6/\omega 3$	5,0 ^a	4,4 ^b
C18:2 cis9trans11	0	0,1

* : les valeurs d'une même ligne n'ayant pas une lettre commune diffèrent significativement ($P < 0,05$)

TABLEAU 3 : Incidence du type de ration sur la production et la composition du lait (essai 4).

TABLE 3 : Effects of basic diet type on milk production and composition (Experiment 4).

également de l'ensilage de graminées et 1,3 kg MS de pulpes de betteraves. La ration Trèfle Violet contient quant à elle 7,0 kg MS d'ensilage de TV comme seule source d'isoflavones ; le concentré de cette ration est composé de 2,05 kg MS de pulpes de betteraves, 0,95 kg MS de farine de gluten et 1,0 kg de tourteau de colza, exempts d'isoflavones.

Les résultats montrent que, pour des performances zootechniques comparables (tableau 3), **l'enrichissement en équol du lait est supérieur avec la ration Trèfle Violet comparativement à la ration Soja**, en lien avec une ingestion de précurseurs d'équol largement supérieure avec la ration Trèfle Violet (6,55 vs 1,88 g/vache/j). Cette observation résulte non seulement d'une richesse accrue du TV en précurseurs d'équol par rapport au soja (1 227 vs 591 $\mu\text{g}/\text{g}$ MS), et particulièrement en formononétine (absent dans le soja), mais aussi parce que le TV peut être incorporé en quantité beaucoup plus importante dans l'alimentation des vaches que ne peut l'être le soja. Les teneurs plasmatiques en équol (2 484 vs 235 ng/ml) et en ses précurseurs (77 vs 15 ng/ml) sont d'ailleurs largement supérieures avec le régime Trèfle Violet. Nos observations montrent aussi qu'il faut moins de 2 jours pour obtenir des modifications de la teneur en équol du lait suite au changement d'alimentation. **En outre, le lait produit avec la ration Trèfle Violet est plus riche en AG insaturés que celui obtenu avec la ration Soja** (tableau 3).

■ Essai 5 : Incidence des procédés technologiques appliqués au lait sur sa teneur en équol

Les laits individuels récoltés lors de l'essai 4, à concurrence d'un jour par période, ont été gardés en vue de leur faire subir différents traitements (pasteurisation, stérilisation, écrémage) et transformations (fromage, yoghourt, kéfir, crème, petit lait). Les résultats (figure 2) indiquent une **faible influence des traitements à la chaleur sur les teneurs en équol du lait**. Ils montrent aussi que ce

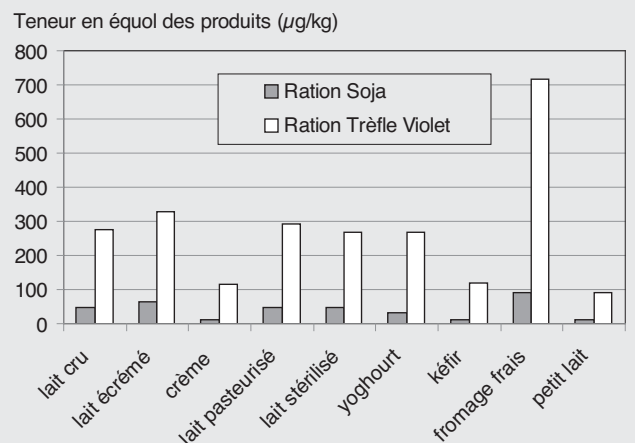


FIGURE 2 : Incidence des traitements du lait et de la transformation du lait pasteurisé sur sa teneur en équol (essai 5).

FIGURE 2 : Effects of treating milk and processing pasteurized milk on equol levels (Experiment 5).

composé **se concentre dans le fromage**, au prorata de la quantité de lait utilisée pour le fabriquer, et **persiste dans le lait écrémé**, comme l'ont suggéré KING *et al.* (1998), UZZAN *et al.* (2007) et KŘÍŽOVÁ *et al.* (2011). La teneur en équol **se maintient dans le yoghourt** par rapport au lait cru, mais diminue de moitié dans le kéfir. Tout comme le lait, les produits laitiers peuvent donc assurer un apport non négligeable d'équol au consommateur.

■ Essai 6 : Variabilité de la teneur en équol du lait de consommation

Pour quantifier cette variabilité, 49 échantillons de lait disponibles pour le consommateur ont été collectés au mois de février 2013 afin d'analyser leur teneur en équol (DAEMS *et al.*, 2015). Les résultats (figure 3) montrent que **l'équol est bien présent dans les laits de consommation mais que sa concentration diffère largement selon le mode de production (conventionnel vs biologique)**. Le recours plus important aux légumineuses en agriculture biologique expliquerait en bonne partie cette différence (MUSTONEN *et al.*, 2009 ; ADLER *et al.*, 2015). Notons que des laits plus riches en équol que ceux récoltés dans cette étude ont été obtenus dans d'autres pays à d'autres périodes (411 $\mu\text{g}/\text{l}$ pour HOIKKALA *et al.*, 2007, et 191 $\mu\text{g}/\text{l}$ pour ANTIGNAC *et al.*, 2004). De même, les laits collectés dans le cadre des essais 1, 3 et 4 avec des rations riches en légumineuses contenaient plus d'équol (cf. tableaux 1, 2 et 3) que les laits du commerce issus de l'agriculture biologique. La marge d'amélioration de la concentration en équol du lait par une alimentation adaptée, riche en légumineuses fourragères, n'est donc pas négligeable.

Conclusions

Ces recherches montrent que, comparativement aux graminées ou à une matière première telle que le tourteau de soja, le pâturage de légumineuses fourragères, et en

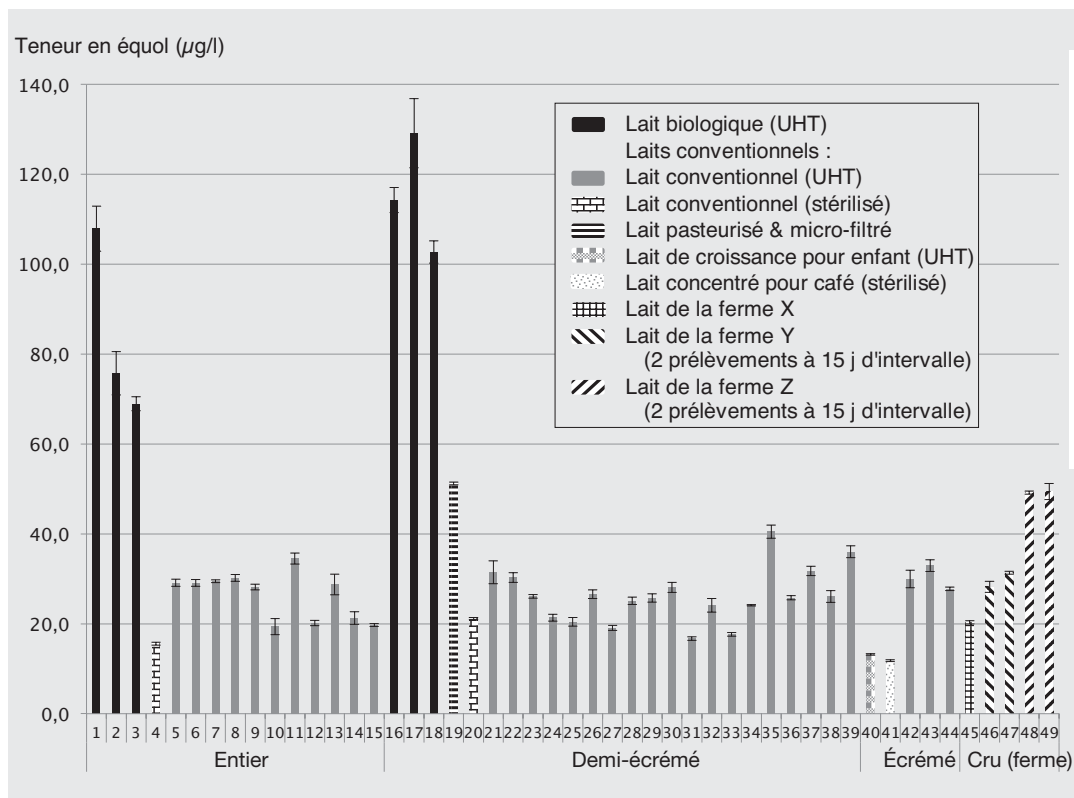


FIGURE 3 : Variabilité de la teneur en équol de laits vendus au consommateur selon leur traitement, leur origine et leur mode de production (essai 6, adapté de DAEMS et al., 2015).

FIGURE 3 : Equol levels in commercially available milk according to treatment, origin, and mode of production (Experiment 6, after DAEMS et al., 2016).

particulier de trèfle violet, permet d'enrichir le lait en équol et, dans certaines conditions, d'améliorer son profil en acides gras. Ces résultats se confirment avec les fourrages conservés, malgré une dégradation partielle des précurseurs d'équol par le processus d'ensilage. Ces observations suggèrent donc qu'il est possible de produire un lait enrichi en équol tout au long de l'année. L'émergence de nouvelles filières laitières de qualité différenciées peut se concevoir en s'appuyant sur une alimentation à base d'herbe et de produits herbagers riches en légumineuses. Toutefois, de telles filières n'auront un crédit aux yeux des consommateurs que si elles sont portées par des arguments solides. Si l'intérêt des légumineuses fourragères est déjà bien étayé sur le plan environnemental (économie d'engrais, biodiversité, amélioration de l'autonomie protéique...) et que leur incidence sur la composition fine du lait semble se confirmer, l'intérêt pour la santé de constituants tels que l'équol doit encore être validé par le monde médical au regard des différents types de consommateurs. De même, les doses optimales assurant un tel bénéfice doivent encore être déterminées. Le fait que l'équol se maintienne dans la plupart des produits transformés à base de lait est sans conteste un atout compte tenu de la proportion élevée de lait consommée sous cette forme. Enfin, notons que l'équol est déjà présent dans les laits de consommation, et de manière plus importante dans les laits issus de l'agriculture biologique.

Travaux présentés aux Journées de l'A.F.P.F.,
«Le pâturage au cœur des systèmes d'élevage de demain»,
les 21 et 22 mars 2017

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ADLER S.A., PURUP S., HANSEN-MOLLER J., THUEN E., STEINSHAMM H. (2015) : «Phytoestrogens and their metabolites in bulk-tank milk: effects of farm management and season», *PLoS ONE*, 10(5):e0127187. doi:10.1371/journal.pone.0127187
- ANTIGNAC J.-P., CARIU R., LE BIZEC B., ANDRÉ F. (2004) : «New data regarding phytoestrogens content in bovine milk», *Food Chemistry*, 87, 275-281.
- ARRIGO Y. (2010) : «Matières grasses et composition en acides gras des fourrages conservés», *Recherche Agronomique Suisse*, 1(10), 366-371.
- DAEMS F., JASSELETTE C., ROMNÉE JM, LOGNAY G., FROIDMONT E. (2015) : «Validation of an UPLC-MS/MS method to quantify equol in commercial cow's milk», *Dairy Science and Technology*, 95, 303-319.
- DAEMS F., DECRUYENAERE V., AGNEESSENS R., LOGNAY G., ROMNÉE JM, FROIDMONT E. (2016) : «Evolution of isoflavone contents in red clover (*Trifolium pratense* L.) silage with laboratory-scale silages using vacuum-packing system», *Anim. Feed Sci. Tech.*, 217, 36-44.
- DEWURST R.J., EVANS R.T., SCOLLAN N.D., MOORBY J.M., MERRY R.J., WILKINS R.J. (2003) : «Comparaison of grass and legume silages for milk production. 2. In vivo and in sacco evaluations of rumen function», *J. Dairy Sci.*, 86, 2612-2621.
- FRANCKSON D., DAEMS F., JASSELETTE C., ROMNÉE J.M., FROIDMONT E. (2014) : «Incidence de la nature de l'ensilage d'herbe sur la qualité nutritionnelle du lait», *Rencontres Recherches Ruminants*, 21, 81.
- FROIDMONT E., DAEMS F., LAURENT F., FRANCKSON D., DEHARENG F., ROMNÉE J.M., DECRUYENAERE V. (2016) : «Trèfle violet et composition fine du lait des vaches au pâturage», *Actes Journées A.F.P.F.*, 246-247, 21 et 22 mars 2016, A.F.P.F. (Paris).

- HOIKKALA A., MUSTONEN E., SAASTAMOINEN I., JOKELA T., SALONIEMI H., WÄHÄLÄ K. (2007) : «High levels of equol in organic skimmed Finnish cow milk», *Mol. Nutr. Food Res.*, 51, 782-786.
- JACKSON R.L., GREIWE J.S., SCHWEN R.J. (2011) : «Emerging evidence of the health benefits of S-equol, an estrogen receptor ? agonist», *Nutrition Reviews*, 69, 432-448.
- KALAC P. (2013) : «Fresch and ensiled forages as a source of estrogenic equol in bovine milk: a review», *Czech J. Anim. Sci.*, 58, 296-303.
- KING R.A., MANO M.M., HEAD R.J. (1998) : «Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples», *J Dairy Res.*, 65, 479-489.
- KŘÍŽOVÁ L., VESELÝ A., TRINÁCTÝ J., SCHULZOVÁ V., HURAJOVÁ A., HAJŠLOVÁ J., KVASNIČKOVÁ E., HAVLÍKOVÁ Š. (2011) : «Changes in isoflavones concentrations in cheese during processing and ripening», *Acta Univ Agric et Silvicae Mendel Brun*, 59, 153-162.
- MUSTONEN E.A., TUORI M., SAASTAMOINEN I., TAPONEN J., WAHALA K., SALONIEMI H., VANHATALO A. (2009) : «Equol in milk of dairy cows is derived from forage legumes such as red clover», *Br. J. Nutr.*, 102, 1552-1556.
- NJASTAD K.M., ADLER S.A., HANSEN-MOLLER J., THUEN E., GUSTAVSSON A.M., STEINSHAMN H. (2014) : «Gastrointestinal metabolism of phytoestrogens in lactating dairy cows fed silages with different botanical composition», *J. Dairy Sci.*, 97, 7735-7750.
- SETCHELL K.D.R., BROWN N.M., LYDEKING-OLSEN E. (2002) : «The clinical importance of the metabolite equol - a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones», *J. Nutr.*, 132, 3577-3584.
- SIVESING E., SEGUIN P. (2005) : «Effects of the environment, cultivar, maturity, and preservation method on red clover isoflavone concentration», *J. Agric. Food Chem.*, 53, 6397-6402.
- UZZAN M., NECHREBEKI J., LABUZA T.P. (2007) : «Thermal and storage stability of nutraceuticals in a milk beverage dietary supplement», *J. Food Sci.*, 72, E109-E114.
- VAN RANST G., FIEVEZ V., VANDEWALLE M., DE RIEK J., VAN BOCKSTAELE E. (2009) : «Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling», *Grass and Forage Sci.*, 64, 196-207.
- VAN RANST G., LEE M.R.F., FIEVEZ V. (2011) : «Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism», *Animal*, 5, 512-521