

Les légumineuses, gage de produits de qualité différenciée

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

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)

Introduction

Il est bien connu qu'un animal nourri à l'herbe produit du lait ou de la viande de haute qualité nutritionnelle. Ceci provient notamment de la richesse de l'herbe en certains acides gras (AG) polyinsaturés, en caroténoïdes ou encore en vitamines. Les polyphénols constituent un autre groupe de composés présents dans les végétaux et qui sont susceptibles d'influencer la qualité des productions animales. Parmi ceux-ci, les isoflavones sont des molécules spécifiques aux légumineuses. Deux d'entre elles, la daidzéine et la formononétine, sont particulièrement intéressantes par le fait qu'elles sont métabolisées par certaines bactéries du tube digestif de l'animal en un dérivé microbien, l'équol, dont une partie est sécrétée dans le lait. Plusieurs études suggèrent que ce métabolite, absent du règne végétal, aurait un réel intérêt pour la 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 cardiovasculaires et réduirait les troubles liés à la ménopause (SETCHELL *et al.*, 2002). Développer des modes de production permettant d'enrichir les productions animales en équol serait d'autant plus intéressant que seulement 25 % de la population occidentale aurait la chance de disposer de la microflore capable de le synthétiser, contre 80 % dans les pays asiatiques (JACKSON *et al.*, 2011). Le lait constituerait ainsi un vecteur de cette molécule pour les individus déficients. L'objectif de cette synthèse est d'évaluer les possibilités d'enrichissement du lait en équol à partir de rations riches en légumineuses fourragères et, plus globalement, d'apporter des éléments scientifiques sur l'intérêt du lait et des produits laitiers dans notre alimentation.

Démarches expérimentales

Un premier essai montrait que **le pâturage de parcelles riches en trèfle violet (TV, var. Pastor) par des vaches permettait d'enrichir leur lait en équol** alors qu'il n'en contenait quasiment pas lorsque ces mêmes vaches pâturaient des parcelles composées de graminées (162 vs 3 µg/kg lait, $P < 0,001$). La teneur en équol du lait était liée à la présence de TV dans les parcelles alors que la production laitière et les autres constituants du lait (taux protéique, taux butyreux, profil en AG) n'étaient pas influencés par la nature de l'herbe ingérée. Un effet animal très important était observé dans cet essai (FROIDMONT *et al.*, 2016).

Un second essai (DAEMS *et al.*, 2016), mené en micro-silos, évaluait l'incidence du processus d'ensilage sur la teneur en isoflavones du fourrage. Il montrait que, malgré des paramètres de conservation tout à fait corrects, **la teneur en précurseurs d'équol d'un ensilage de trèfle violet diminuait de 65 % dès les 15 premiers jours de fermentation comparativement aux teneurs mesurées sur le fourrage frais** (638 vs 2 178 µg/g MS, $P < 0,001$). Le fait de préfaner le TV protégeait quelque peu les isoflavones. La question était dès lors de savoir si un enrichissement du lait en équol était envisageable avec des rations hivernales.

C'est ce qu'un troisième essai évaluait en comparant deux régimes contenant chacun 80 % d'ensilage d'herbe et ne différant que par la nature de cet ensilage (ensilage de trèfle blanc, TV, dactyle vs ensilage de graminées). L'essai était mené sur 6 vaches laitières selon un dispositif en cross-over (FRANCKSON *et al.*, 2014). Pour des performances zootechniques similaires, **l'étude montrait un enrichissement très important en équol du lait produit à partir de l'ensilage riche en légumineuses par rapport aux graminées** (492 vs 11 µg/kg de lait, $P < 0,001$). Cet enrichissement était supérieur à celui observé lors de l'essai réalisé au pâturage, malgré le fait que l'ingestion moyenne quotidienne de précurseurs d'équol (formononétine + daidzéine) était moindre (7,76 vs 13,64 g/j/vache). Ceci démontre que de multiples facteurs (animal, ration...) sont susceptibles d'influencer le rendement de transformation des isoflavones en équol. L'essai mettait également en évidence **l'intérêt d'un ensilage riche en légumineuses sur la proportion d'AG polyinsaturés du lait** (3,78 vs 2,97 % AG totaux, $P < 0,001$). La présence de polyphénols oxydase dans le TV permet de limiter la lipolyse des AG de l'herbe lors de l'ensilage, alors que des saponines peuvent jouer le même rôle dans le trèfle blanc (VAN RANST *et al.*, 2009, 2011). De plus, les légumineuses étant plus digestibles que les graminées, elles occasionnent une vidange plus rapide des particules alimentaires du rumen (DEWURST *et al.*, 2003) et limitent de ce fait la biohydrogénation des AG.

Un quatrième essai était ensuite mis en place 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 27 l/j de lait, étaient équilibrées et contenaient soit 2,7 kg MS/vache/jour de tourteau de soja, soit 7,0 kg MS/vache/jour d'ensilage de TV comme source d'isoflavones. **L'enrichissement en équol du lait était supérieur avec le TV comparativement au tourteau de soja** (282 vs 47 µg/kg lait, $P < 0,001$). Cette différence s'explique par le fait que le TV peut être incorporé en quantité beaucoup plus importante dans l'alimentation des vaches que le soja, apportant de ce fait des quantités supérieures de précurseurs d'équol dans la ration totale (6,55 vs 1,88 g/vache/j). Les teneurs plasmatiques en équol (2 484 vs 235 ng/ml) et ses précurseurs (77 vs 15 ng/ml) étaient d'ailleurs largement supérieures avec le régime TV. Enfin, les résultats montraient qu'une modification de l'alimentation influençait en moins de 2 jours la teneur en équol du lait.

La persistance de l'équol après le traitement des laits collectés dans cet essai (pasteurisation, stérilisation, écrémage) et leur transformation (fromage, yoghourt, kefir, crème, petit lait) faisait aussi l'objet d'observations. Les résultats montraient que **les traitements à la chaleur avaient peu d'influence sur les teneurs en équol du lait. Ils montraient aussi que cette molécule se concentrait dans le fromage et persistait 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 maintenait dans le yoghourt par rapport au lait cru, mais diminuait de moitié dans le kéfir.**

Une dernière étude (DAEMS *et al.*, 2015) montrait que **l'équol était bien présent dans les laits de consommation et que sa concentration différait entre les modes de production conventionnel et biologique** (30 vs 100 µg/L en moyenne, respectivement). Le recours important aux légumineuses dans ce type d'agriculture serait la principale raison de 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 µg/L pour HOIKKALA *et al.*, 2007, et 191 µg/L pour ANTIGNAC *et al.*, 2004).

Conclusion

En plus de leurs nombreux avantages sur les plans agronomique (fixation symbiotique d'azote, services agro-systémiques...) et zootechnique (équilibre protéique des rations, autonomie alimentaire...), les légumineuses fourragères sont une source de métabolites secondaires susceptibles d'influencer la qualité des productions animales. La diversité de ces molécules représente un monde nouveau à explorer.

Références bibliographiques

- ADLER S.A., PURUP S., HANSEN-MOLLER J., THUEN E., STEINSHAMN 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., CARIOU R., LE BIZEC B., ANDRÉ F. (2004) : "New data regarding phytoestrogens content in bovine milk" *Food Chemistry*, 87, 275–281.
- 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 JM, FROIDMONT E. (2014) : "Incidence de la nature de l'ensilage d'herbe sur la qualité nutritionnelle du lait" *Journées Rencontres Recherches Ruminants*, 21, 81, Paris, Décembre 2014.
- FROIDMONT E., DAEMS F., LAURENT F., FRANCKSON D., DEHARENG F., ROMNÉE JM, DECRUYENAERE V. (2016) : "Trèfle violet et composition fine du lait des vaches au pâturage" *Journées AFPP*, 246-247, 21 et 22 mars 2016
- 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.
- KING RA, MANO MM, HEAD RJ (1998) : "Assessment of isoflavonoid concentrations in Australian bovine milk samples" *J Dairy Res*, 65, 479-489.
- KŘÍŽOVÁ L, VESELÝ A, TRÍNÁCTÝ 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 Silv Mendel Brun*, 59, 153-162.
- JACKSON R.L., GREIWE J.S., SCHWEN R.J. (2011) : "Emerging evidence of the health benefits of S-equol, an estrogen receptor β agonist" *Nutrition Reviews*, 69, 432-448
- 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.
- 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.
- UZZAN M, NECHREBEKI J, LABUZA TP (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 Science*, 64, 196-207.
- VAN RANST G., LEE M.R.F., FIEVEZ V. (2011) : "Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism" *Animal*, 5, 512-521