

Amélioration de la qualité nutritionnelle du lait et méthodes de prédictions des profils d'AG

Hélène Soyeurt

Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT), Gembloux, Belgique
Fond National de la Recherche Scientifique (FNRS), Bruxelles, Belgique

hsoyeurt@ulg.ac.be

- Dosage des acides gras dans le lait
- Amélioration de la qualité nutritionnelle
 - Application concrète
 - Application en cours de développement



- Dosage des acides gras dans le lait
- Amélioration de la qualité nutritionnelle
 - Application concrète
 - Applications en cours de développement



- Chromatographie en phase gazeuse:
 - Avantage: justesse
 - Désavantages:
 - Réactifs onéreux
 - Long temps d'analyse
 - Personnel qualifié



- Chromatographie en phase gazeuse:
 - Avantage: justesse
 - Désavantages:
 - Réactifs onéreux
 - Long temps d'analyse
 - Personnel qualifié

→ Trouver une alternative



- Chromatographie en phase gazeuse:
 - Avantage: justesse
 - Désavantages:
 - Réactifs onéreux
 - Long temps d'analyse
 - Personnel qualifié



(Foss, 2008)

Spectrométrie du moyen infrarouge (MIR):

- Analyse rapide (jusque 500 éch./h)
- Bon marché
- Utilisé en routine par les laboratoires laitiers pour le paiement du lait et le contrôle laitier



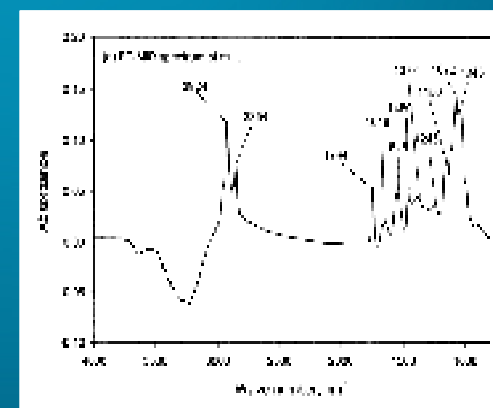


Collecte d'échantillons de lait



(Foss, 2008)

Spectromètre MIR



Données brutes = spectres

Equations de calibration



Prédictions:

- Matière grasse
- Protéines
- Lactose
- etc.





Collecte d'échantillons de lait



(Foss, 2008)

Spectromètre MIR



Développement de nouvelles équations :
Acides gras

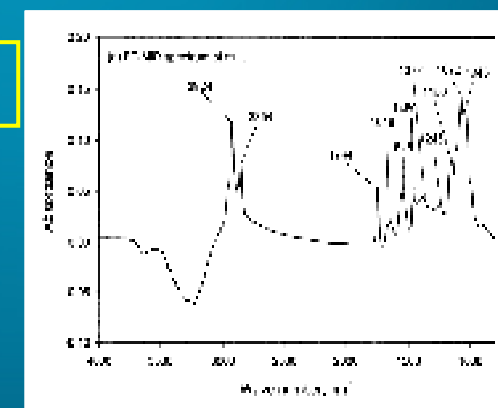


Prédictions:

- Matière grasse
- Protéines
- Lactose
- etc.



Equations de calibration



Données brutes = spectres



Collecte d'échantillons de lait



(Foss, 2008)

Spectromètre MIR



Développement de nouvelles équations :
Acides gras



Prédictions:

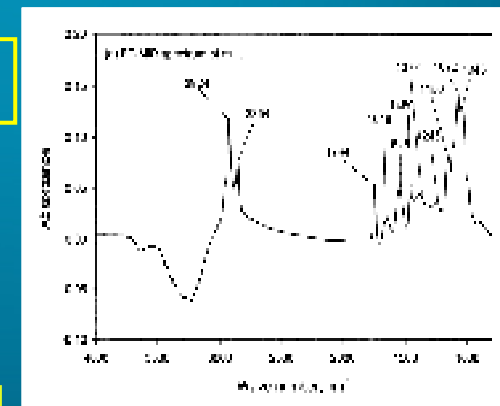
- Matière grasse
- Protéines
- Lactose
- etc.



Equations de calibration



COMMENT ??



Données brutes = spectres

Collecte d'échantillons



Grande variabilité:

- Collecte en Belgique, Irlande et Ecosse
- Entre mars 2005 et août 2009
- Pour différentes races et vaches
- Echantillons du paiement du lait et de vaches individuelles



Collecte d'échantillons

Analyse par MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres



Collecte d'échantillons

Analyse par MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres

Sélection des échantillons intéressants par ACP

Analyse CPG

Spectre MIR

SET DE CALIBRATION (N=267)



Collecte d'échantillons

Analyse par MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres

Sélection des échantillons intéressants par ACP

Analyse CPG

Spectre MIR

SET DE CALIBRATION (N=267)

Equations de calibrage construites par PLS

- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)



- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)
 - (2) PLS + fichier de répétabilité:
 - Spectres générés par différents spectromètres à partir d'échantillons identiques



- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)
 - (2) PLS + fichier de répétabilité (REP)
 - (3) PLS + dérivée première appliquée sur le spectre:
 - Correction pour la ligne de base



- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)
 - (2) PLS + fichier de répétabilité (REP)
 - (3) PLS + dérivée première (DER1)
 - (4) PLS + DER1 + REP



- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)
 - (2) PLS + fichier de répétabilité (REP)
 - (3) PLS + dérivée première (DER1)
 - (4) PLS + DER1 + REP
 - (5) PLS + dérivée seconde (DER2)



- 6 méthodes ont été testées:
 - (1) Régressions des moindres carrés partiels (PLS)
 - (2) PLS + fichier de répétabilité (REP)
 - (3) PLS + dérivée première (DER1)
 - (4) PLS + DER1 + REP
 - (5) PLS + dérivée seconde (DER2)
 - (6) PLS + DER2 + REP



Collecte d'échantillons

Analyse par MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres

Sélection des échantillons intéressants par ACP

Analyse CPG

Spectre MIR

SET DE CALIBRATION (N=267)

Equations de calibrage construites par PLS

Validation interne
par cross-validation

Validation externe en
utilisant de nouveaux
échantillons

Collecte d'échantillons

Analyse MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres

Sélection des échantillons intéressants par ACP

Analyse CPG

Spectre MIR

SET DE CALIBRATION (N=267)

Equations de calibrage construites par PLS

Validation interne
par cross-validation

Cross-validation :

- 20 groupes

Collecte d'échantillons

Analyse MIR
(MilkoScan FT6000)

Exportation des spectres

Sélection des échantillons intéressants par ACP

Analyse CPG

Spectre MIR

SET DE CALIBRATION (N=267)

Equations de calibrage construites par PLS

250 nouveaux échantillons:

- Collectés en Belgique, Irlande et Ecosse
- Entre avril 2008 et août 2009
- Pour différentes vaches et races

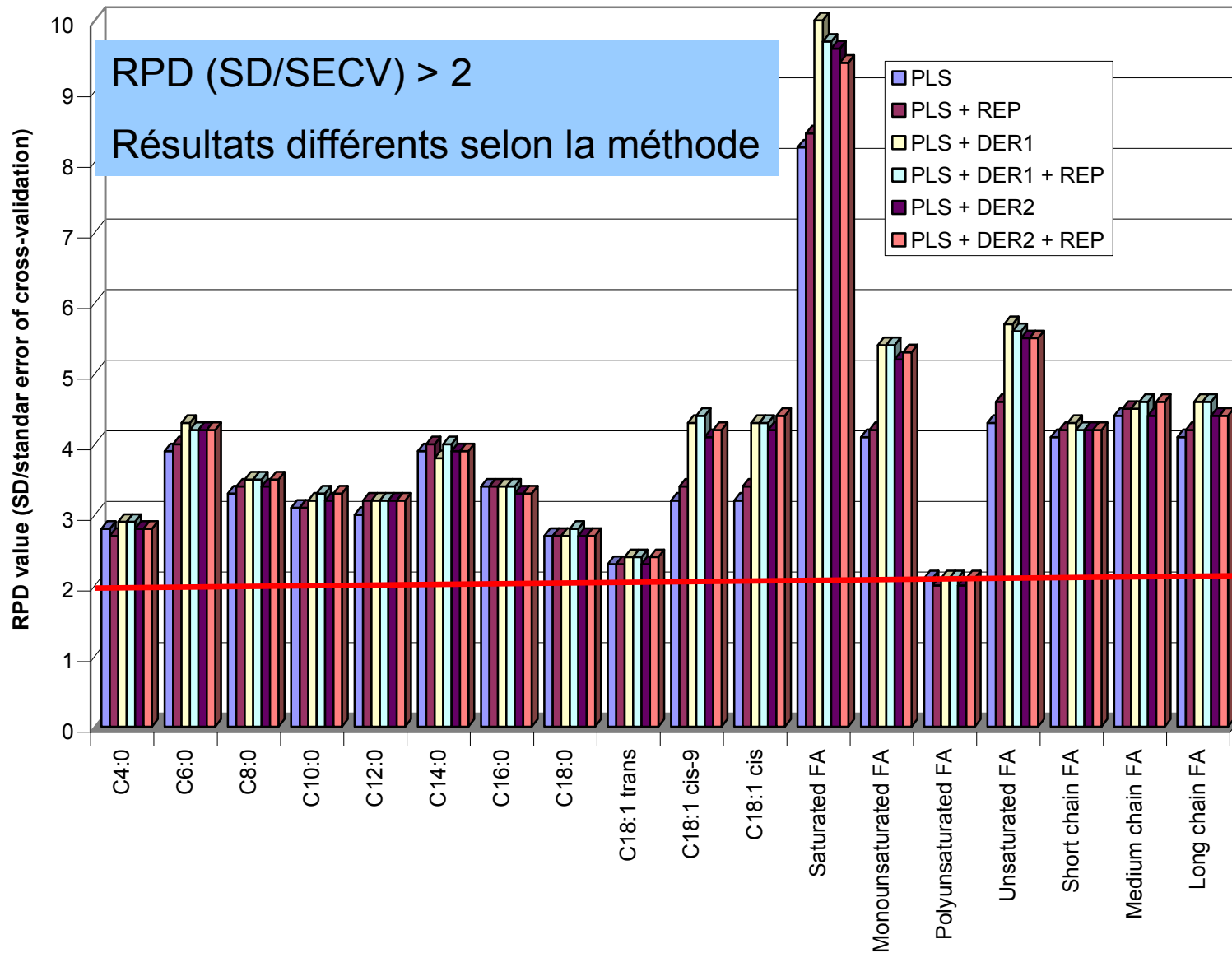
Validation externe en
utilisant de nouveaux
échantillons

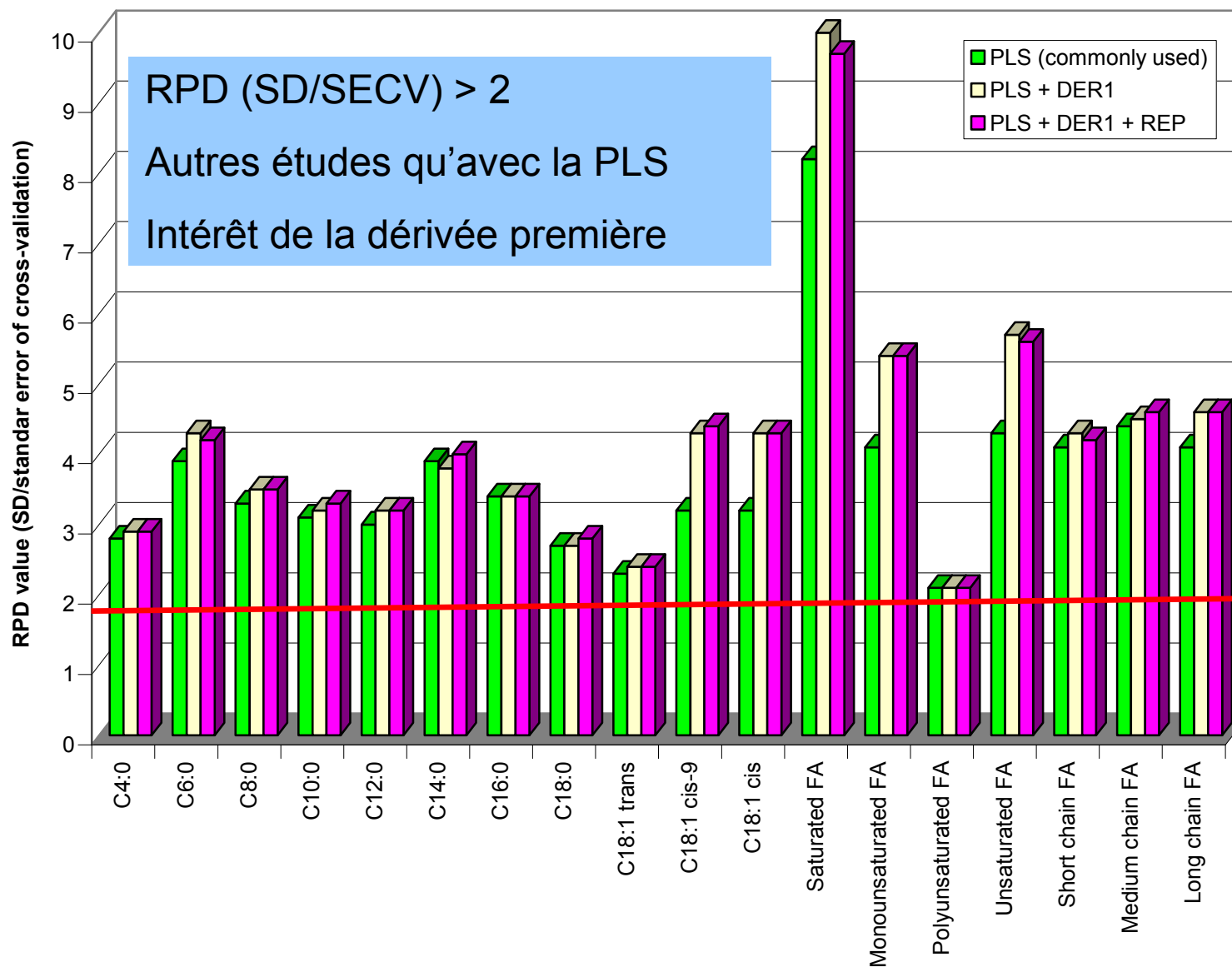
Résultats les plus intéressants

Constituents (g/dl of milk)	Mean	SD	CV
C4:0	0.11	0.03	31.27
C6:0	0.08	0.02	31.93
C8:0	0.05	0.02	34.82
C10:0	0.11	0.04	39.91
C12:0	0.14	0.06	41.17
C14:0	0.45	0.15	32.07
C14:1	0.04	0.02	45.15
C16:0	1.23	0.43	35.02
C16:1 cis	0.07	0.03	45.48
C18:0	0.45	0.20	45.30
C18:1 trans	0.13	0.07	51.95
C18:1 cis-9	0.85	0.34	39.63
C18:1 cis	0.92	0.35	38.30
C18:2	0.09	0.03	32.69
C18:2 cis-9,cis-12	0.06	0.03	39.80
C18:3 cis-9,cis-12,cis-15	0.02	0.01	49.63
C18:2 cis-9,trans-11	0.03	0.02	56.42
Saturated	2.82	0.87	31.02
Monounsaturated	1.20	0.41	34.29
Polyunsaturated	0.18	0.06	32.35
Unsaturated	1.37	0.46	33.16
Short chain (C4-C10)	0.36	0.12	32.00
Medium chain (C12-C16)	2.08	0.67	32.28
Long chain (C17-C22)	1.74	0.63	36.08
Omega-3	0.03	0.02	52.40
Omega-6	0.11	0.03	31.91

Haute variabilité des AG:

Coefficient of variation s'échelonne de 31.02% à 56.42%.





Résultats les plus intéressants

Constituent (g/dl of milk)	R ² validation (250 new samples)
C4:0	0.83
C6:0	0.88
C8:0	0.90
C10:0	0.90
C12:0	0.90
C14:0	0.91
C16:0	0.86
C18:0	0.74
C18:1 trans	0.84
C18:1 cis-9	0.90
C18:1 cis	0.91
Saturated FA	0.98
Monounsaturated FA	0.96
Polyunsaturated FA	0.82
Unsaturated FA	0.96
Short chain FA	0.91
Medium chain FA	0.92
Long chain FA	0.93

R²v confirme la capacité du MIR à prédire directement les teneurs en acides gras dans le lait

Set complet

- En rassemblant toutes les données: **517 échantillons**
 - 267 du set de calibration + 250 du set de validation
- Grâce à une bonne prédiction des AG, le **critical T test** a été utilisé pour détecter des valeurs chromatographiques aberrantes
- Par l'augmentation du nombre d'échantillons dans le set de calibration, l'emploi de la dérivée première était moins intéressant
 - La meilleure méthode est donc **PLS + DER1**

Constituent (g/dl of milk)	N	Mean	SD	SECV	R ² cv	RPD
C4:0	490	0.10	0.03	0.01	0.94	4.1
C6:0	492	0.07	0.02	0.00	0.97	5.7
C8:0	490	0.04	0.02	0.00	0.97	6.1
C10:0	495	0.10	0.04	0.01	0.96	5.1
C12:0	495	0.12	0.05	0.01	0.96	5.2
C14:0	494	0.39	0.13	0.02	0.97	5.4
C14:1	493	0.04	0.01	0.01	0.68	1.8
C16:0	494	1.02	0.37	0.08	0.95	4.6
C16:1 cis	493	0.07	0.02	0.01	0.71	1.9
C17:0	484	0.03	0.01	0.00	0.89	3.1
C18:0	492	0.37	0.17	0.05	0.90	3.2
C18:1 trans	502	0.14	0.07	0.02	0.88	2.9
C18:1 cis-9	494	0.73	0.28	0.05	0.97	5.9
C18:1 cis	495	0.79	0.30	0.05	0.97	6.0
C18:2	503	0.08	0.03	0.01	0.73	1.9
C18:2 cis9,cis-12	502	0.05	0.02	0.01	0.74	2.0
C18:3 cis9,cis-12,cis-15	489	0.02	0.01	0.01	0.71	1.8
C18:2 cis9,trans-11	488	0.04	0.02	0.01	0.74	2.0
Saturated FA	496	2.40	0.80	0.05	1.00	15.7
Monounsaturated FA	491	1.06	0.37	0.04	0.99	8.9
Polyunsaturated FA	499	0.16	0.05	0.02	0.85	2.6
Unsaturated FA	492	1.22	0.41	0.04	0.99	9.6
Short chain FA	486	0.31	0.11	0.02	0.98	6.7
Medium chain FA	496	1.78	0.60	0.09	0.98	6.5
Long chain FA	495	1.52	0.57	0.09	0.98	6.5
Branched FA	492	0.09	0.03	0.01	0.83	2.4
Omega-3	485	0.03	0.01	0.01	0.75	2.0
Omega-6	504	0.10	0.03	0.02	0.74	2.0

RPD
globalement
≥ 2 pour tous
les AG
étudiés

RPD
s'échelonne
de 1,8 à 15,7

R²cv
s'échelonne
de 0,71 à
1,00

- **MIR** peut être utilisé pour **quantifier les AG** directement **dans le lait**
- Les études précédentes n'utilisaient que la PLS → les résultats obtenus donnent de **meilleures prédictions** avec une méthode combinant **PLS** et **dérivée première**
- Actuellement, de nouveaux échantillons ont été ajoutés : plus de **1500 échantillons**

- Dosage des acides gras dans le lait
- Amélioration de la qualité nutritionnelle
 - Application concrète
 - Application en cours de développement



- Effets sur la santé humaine:
 - *Saturés* (70%):
 - Différents effets sur les maladies cardiovasculaires
 - *Monoinsaturés* (25%):
 - Hypocholestérolémiant, prévention des cancers
 - *Polyinsaturés* (5%):
 - Prévention des cancers, obésité, maladies cardiovasculaires,...
 - ω -6/ ω -3 = 15 to 20 → ω -6/ ω -3 = 1
 - ATTENTION, plus vite oxydés !!!



- Effets sur la santé humaine:
 - *Saturés* (70% vs. 30%):
 - Différents effets sur les maladies cardiovasculaires
 - *Monoinsaturés* (25% vs. 60%):
 - Hypocholestérolémiant, prévention des cancers
 - *Polyinsaturés* (5% vs. 10%):
 - Prévention des cancers, obésité, maladies cardiovasculaires,...
 - ω -6/ ω -3 = 15 to 20 \rightarrow ω -6/ ω -3 = 1
 - ATTENTION, plus vite oxydés !!!

\rightarrow Loin du profil idéal montré dans la littérature

\rightarrow Comment s'en approcher?



- En utilisant les différentes sources de variation comme:
 - L'alimentation
 - La race
 - Le stade et le numéro de lactation
 - La génétique,...
- L'alimentation a fortement été étudiée
 - Application concrète sur le terrain



- En donnant des aliments riches, par ex. en graines de lin → ↑ AG insaturés
 - Idée développée par la laiterie Campina pour produire du lait de qualité nutritionnelle différenciée
- Comment contrôler la production ?



- Avant, dosage par CPG
 - Onéreux → peu d'analyse
- Actuellement, dosage par MIR
 - Plus d'analyses → moyenne sur le mois
 - L'éleveur peut contrôler sa production
 - 1€/analyse en Wallonie



- Dosage des acides gras dans le lait
- Amélioration de la qualité nutritionnelle
 - Application concrète
 - **Application en cours de développement**



- Combiner les sources de variation pour augmenter les modifications du profil en AG
 - Alimentation + Génétique
- Pourquoi la génétique?
 - Amélioration durable
 - Effet additif
 - Obtention d'animaux adaptés à la production souhaitée



- Nécessite de nombreuses données pour isoler l'effet individuel (= valeur d'élevage, **EBV**)
 - Utilisation de la spectrométrie MIR
- Données collectées lors du contrôle laitier Wallon
 - La base actuelle contient +/- **1,500,000 spectres**
- Prédiction des AG par MIR:
 - Tous les spectres sont enregistrés dans une base de données
 - Les **prédictions** sont donc réalisées en **externe**
 - Les équations utilisées sont celles obtenues dans le projet européen (**www.robustmilk.eu**) et montrées précédemment

- Pour rappel :

g/dl of milk	R ² _{cv}	SECV	RPD
Saturated FA	1.00	0.05	15.7
Monounsaturated FA	0.99	0.04	8.9

Taux en matière grasse (100%):

Saturés (+/- 70%)

Insaturés (+/- 30%)

Moninsaturés (+/- 25%)

Polyinsaturés (+/- 5%)

Data from January 1974 to December 2009

	N	Mean	SD
Milk yield (kg/day)	6730744	16.95	6.83
Fat yield (kg/day)	6728499	0.68	0.29
Protein yield (kg/day)	6709030	0.56	0.22
Saturated FA (g/dl of milk)	206990	2.79	0.50
Monounsaturated FA (g/dl of milk)	206997	1.15	0.24

Vaches en première lactation

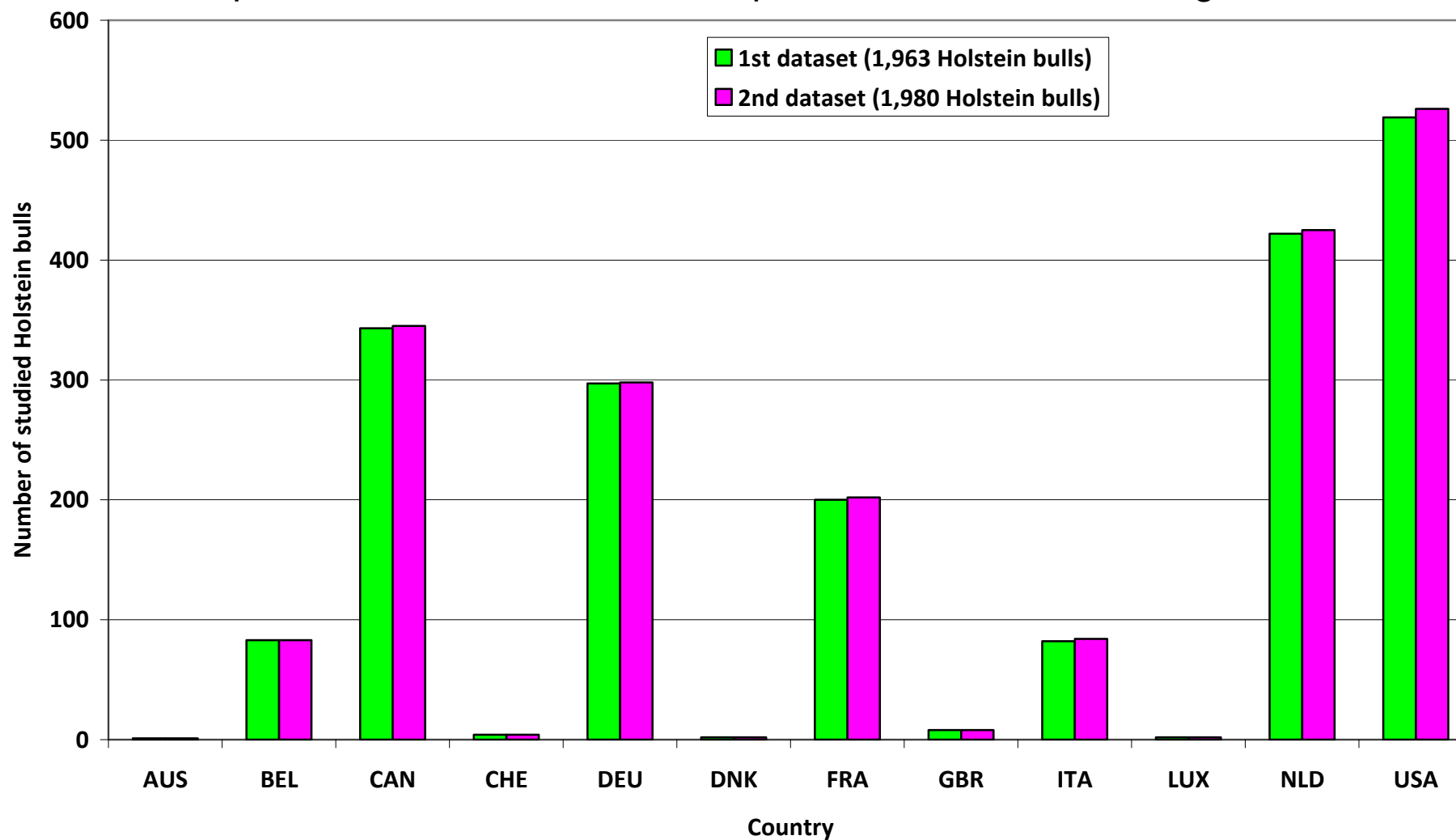


Data from January 1974 to February 2010

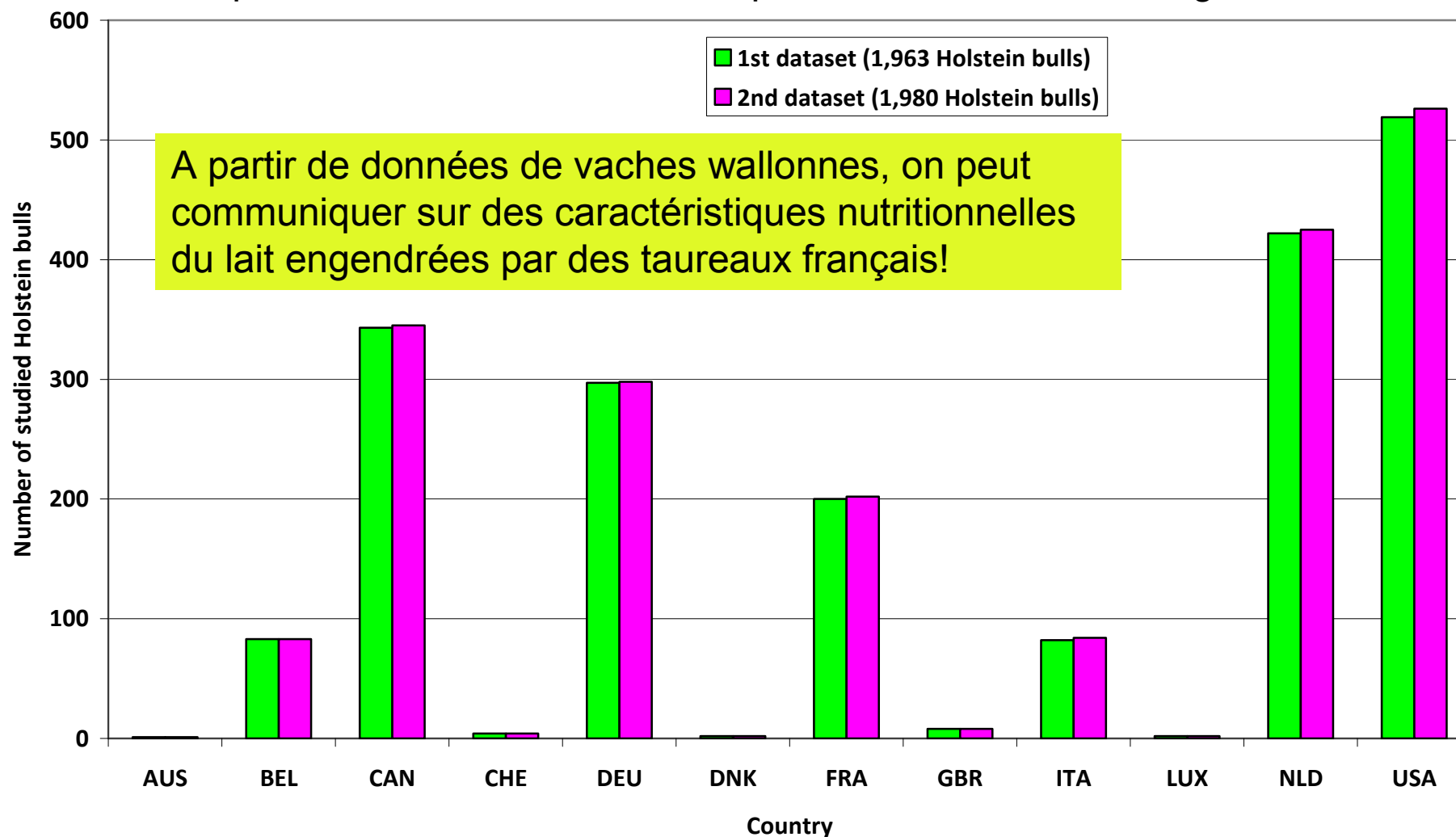
	N	Moyenne	Ecart-type
Milk yield (kg/day)	6749239	16.96	6.83
Fat yield (kg/day)	6746993	0.68	0.29
Protein yield (kg/day)	6727524	0.56	0.22
Saturated FA (g/dl of milk)	220397	2.79	0.49
Monounsaturated FA (g/dl of milk)	220396	1.15	0.24

Vaches en première lactation

Pays d'origine pour l'inscription des taureaux Holstein présentant une fiabilité ≥ 0.40 pour leurs valeurs d'élevage



Pays d'origine pour l'inscription des taureaux Holstein présentant une fiabilité ≥ 0.40 pour leurs valeurs d'élevage



- 2 façons de doser les AG
 - Dans le lait: g/dl de lait (→ MIR)
 - Dans la matière grasse: g/100g de MG (→ CPG)
- La prédiction des AG dans la MG est moins fiable
 - Post-traitement des résultats



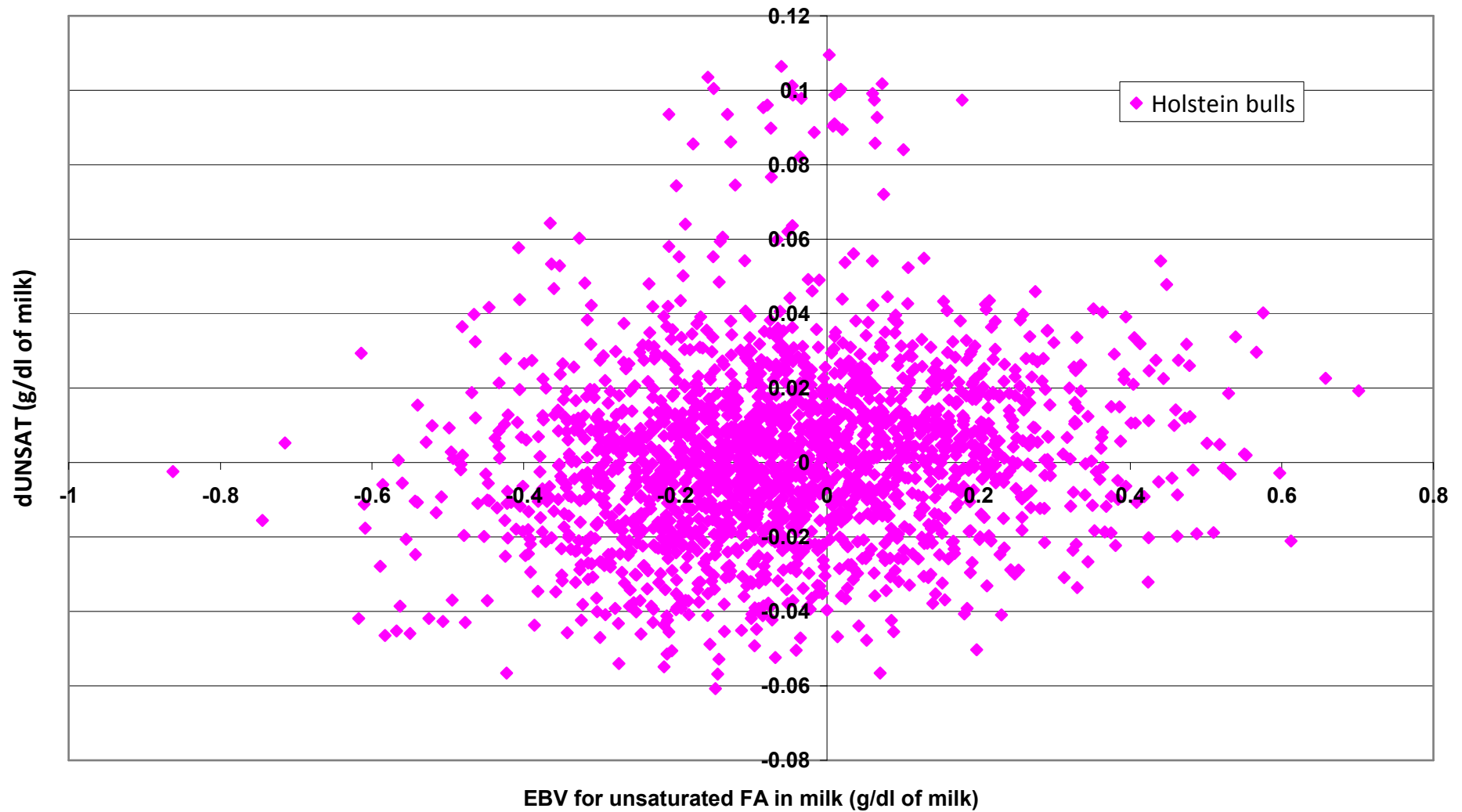
- Création d'indicateurs indépendants de la MG pour refléter la désaturation de cette dernière
 - Augmenter l'insaturation de la matière grasse

→ $dUNSAT = -(EBV_{SAT} - EBV_{SAT,expected})$

- $EBV_{SAT,expected}$ correspond à la valeur d'élevage attendue l'animal
- EBV_{SAT} correspond à la valeur d'élevage calculée

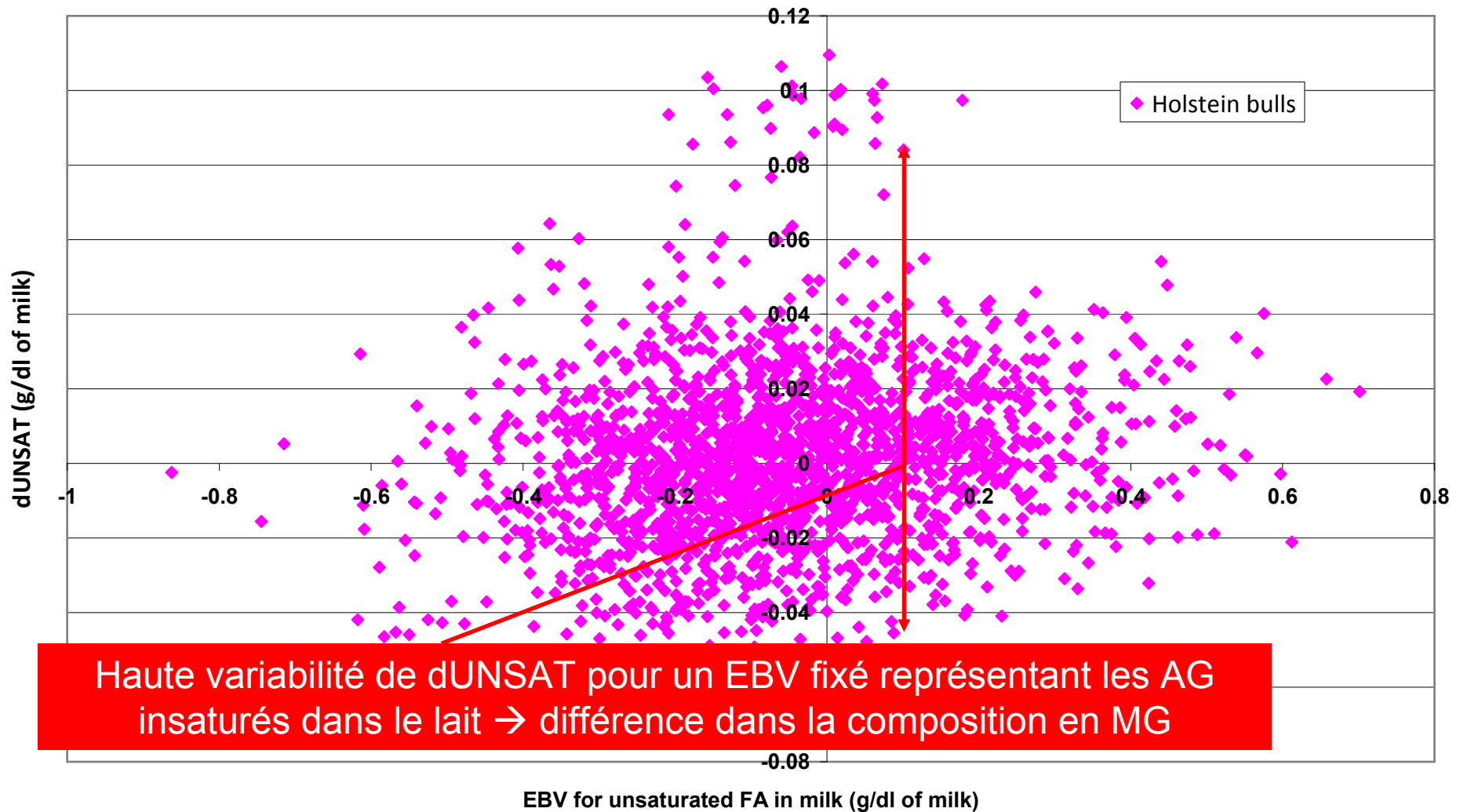
→ $dMONO = -(EBV_{MONO} - EBV_{MONO,expected})$

Relationship between the breeding value (EBV) for unsaturated FA and the difference between unsaturated FA and the predicted value for this FA



EBV pour les AG insaturés = - EBV pour les AG saturés

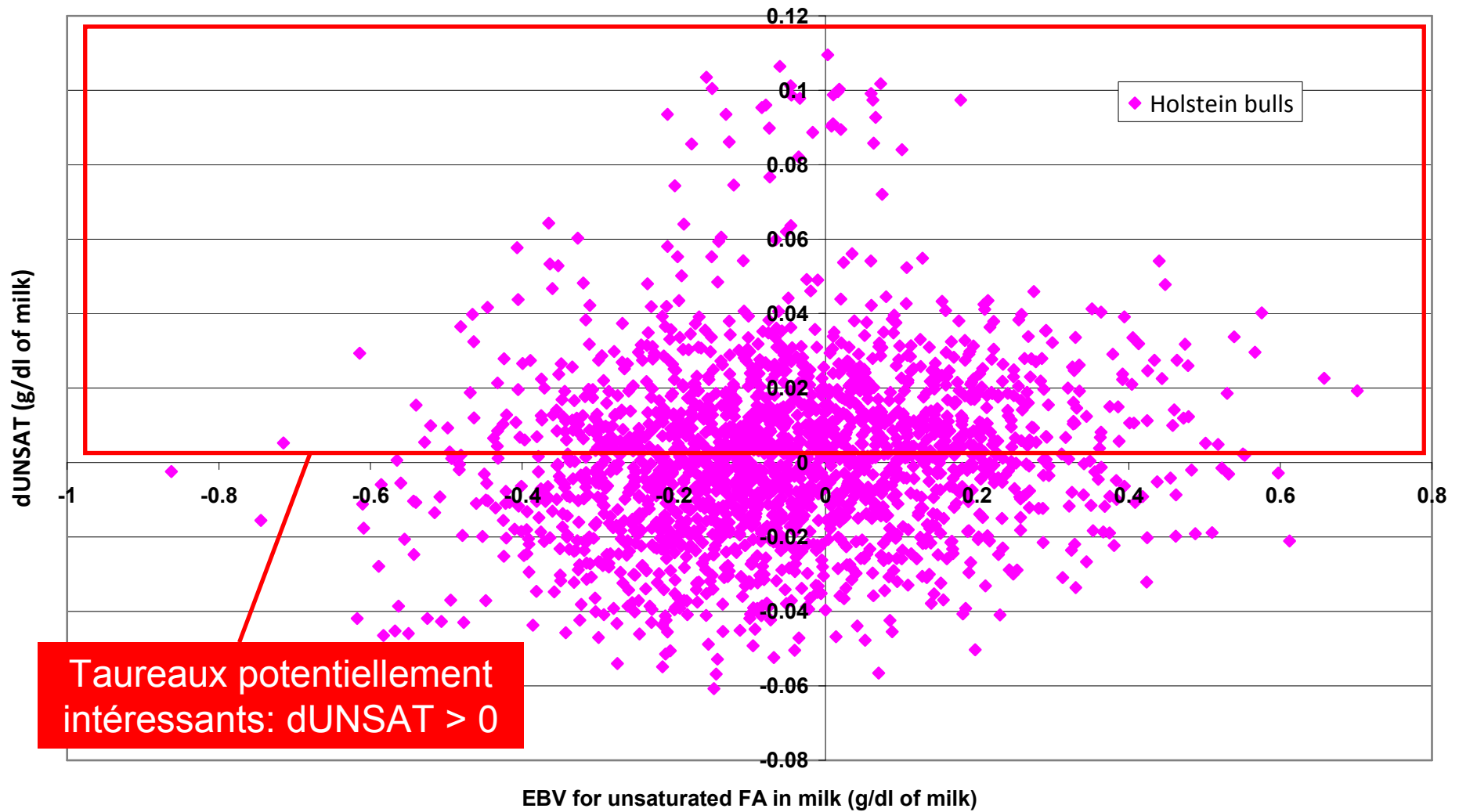
Relationship between the breeding value (EBV) for unsaturated FA and the difference between unsaturated FA and the predicted value for this FA



Haute variabilité de dUNSAT pour un EBV fixé représentant les AG insaturés dans le lait → différence dans la composition en MG

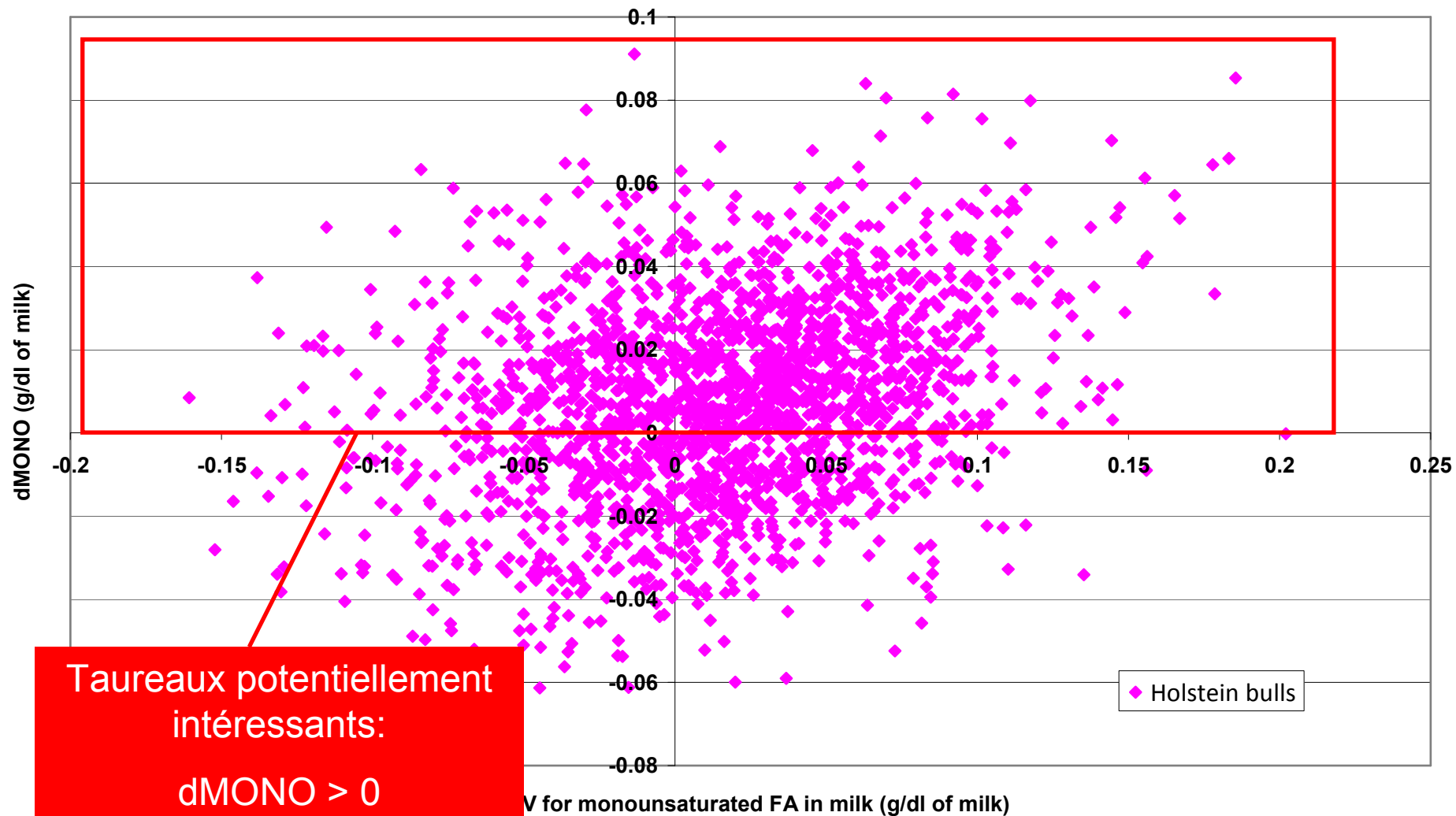
EBV pour les AG insaturés = - EBV pour les AG saturés

Relationship between the breeding value (EBV) for unsaturated FA and the difference between unsaturated FA and the predicted value for this FA



EBV pour les AG insaturés = - EBV pour les AG saturés

Relationship between the breeding value (EBV) for monounsaturated FA and the difference between monounsaturated FA and the predicted value for this FA



- Héritabilité pour les vaches en 1ère lactation

	h^2
Milk yield (kg/day)	0.31
Fat yield (kg/day)	0.33
Protein yield (kg/day)	0.25
Saturated FA (g/dl of milk)	0.61
Monounsaturated FA (g/dl of milk)	0.51
dUNSAT (g/dl of milk)	0.22
dMONO (g/dl of milk)	0.43

- Corrélations génétiques (au-dessus de la diagonale et phénotypiques (en-dessous de la diagonale))

	Milk	Fat	Protein	SAT	MONO	dUNSAT	dMONO
Milk yield		0.57	0.83	-0.42	-0.41	0.00	0.00
Fat yield	0.78		0.70	0.50	0.38	0.00	0.00
Protein yield	0.93	0.84		-0.11	-0.11	0.09	0.05
Saturated FA	-0.32	0.34	-0.12		0.80	-0.11	-0.11
Monounsaturated FA	-0.33	0.23	-0.16	0.75		0.48	0.51
dUNSAT	-0.03	0.00	-0.01	-0.14	0.37		0.93
dMONO	0.00	0.05	0.01	-0.03	0.62	0.60	

- Corrélations génétiques (au-dessus de la diagonale et phénotypiques (en-dessous de la diagonale))

	Milk	Fat	Protein	SAT	MONO	dUNSAT	dMONO
Milk yield		0.57	0.83	-0.42	-0.41	0.00	0.00
Fat yield	0.78		0.70	0.50	0.38	0.00	0.00
Protein yield	0.93	0.84		-0.11	-0.11	0.09	0.05
Saturated FA	-0.32	0.34	-0.12		0.80	-0.11	-0.11
Monounsaturated FA	-0.33	0.23	-0.16	0.75		0.48	0.51
dUNSAT	-0.03	0.00	-0.01	-0.14	0.37		0.93
dMONO	0.00	0.05	0.01	-0.03	0.62	0.60	

Ces corrélations négatives confirment que dUNSAT et dMONO reflètent bien la **désaturation de la MG**

Les corrélations ne sont pas plus négatives car SAT est exprimé **dans le lait** (g/dl of milk) et pas **dans la MG** (g/100g of fat)

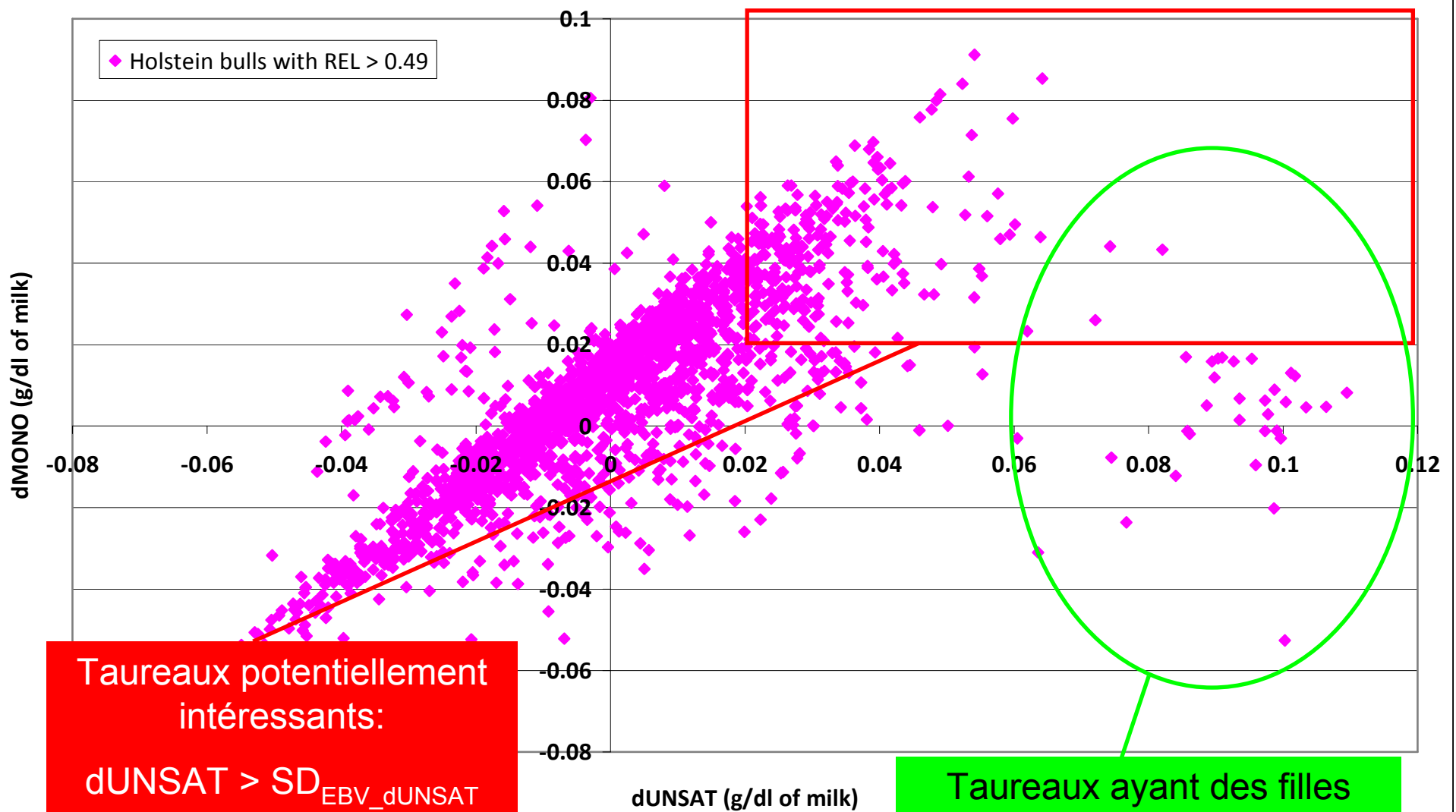
- Corrélations génétiques (au-dessus de la diagonale et phénotypiques (en-dessous de la diagonale))

	Milk	Fat	Protein	SAT	MONO	dUNSAT	dMONO
Milk yield		0.57	0.83	-0.42	-0.41	0.00	0.00
Fat yield	0.78		0.70	0.50	0.38	0.00	0.00
Protein yield	0.93	0.84		-0.11	-0.11	0.09	0.05
Saturated FA	-0.32	0.34	-0.12		0.80	-0.11	-0.11
Monounsaturated FA	-0.33	0.23	-0.16	0.75		0.48	0.51
dUNSAT	-0.03	0.00	-0.01	-0.14	0.37		0.93
dMONO	0.00	0.05	0.01	-0.03	0.62	0.60	

Comme attendu, dUNSAT et dMONO sont positivement corrélés

Pas égal à 1 car dUNSAT tient compte simultanément des MONO et POLY

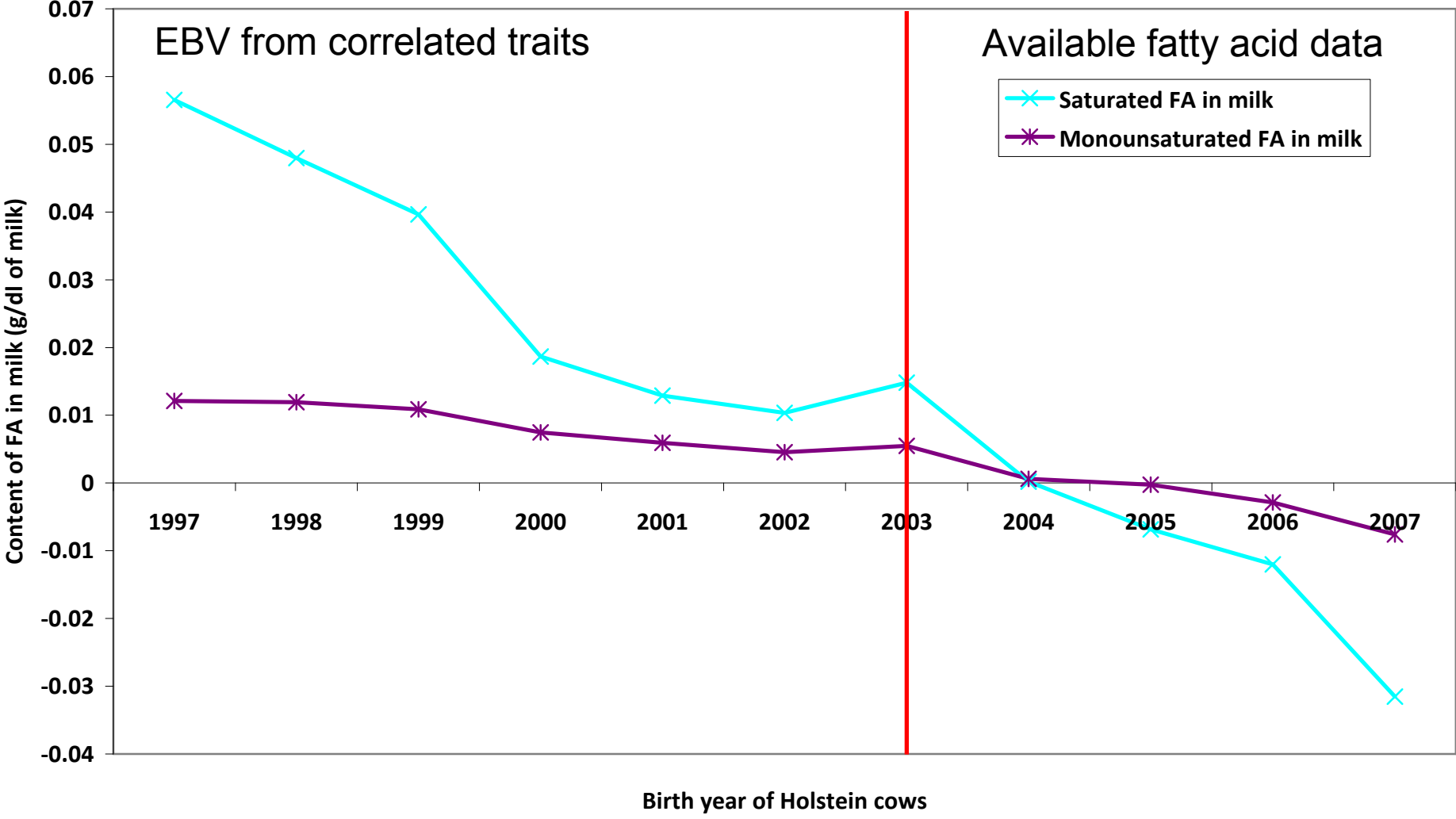
Relationship between dUNSAT and dMONO



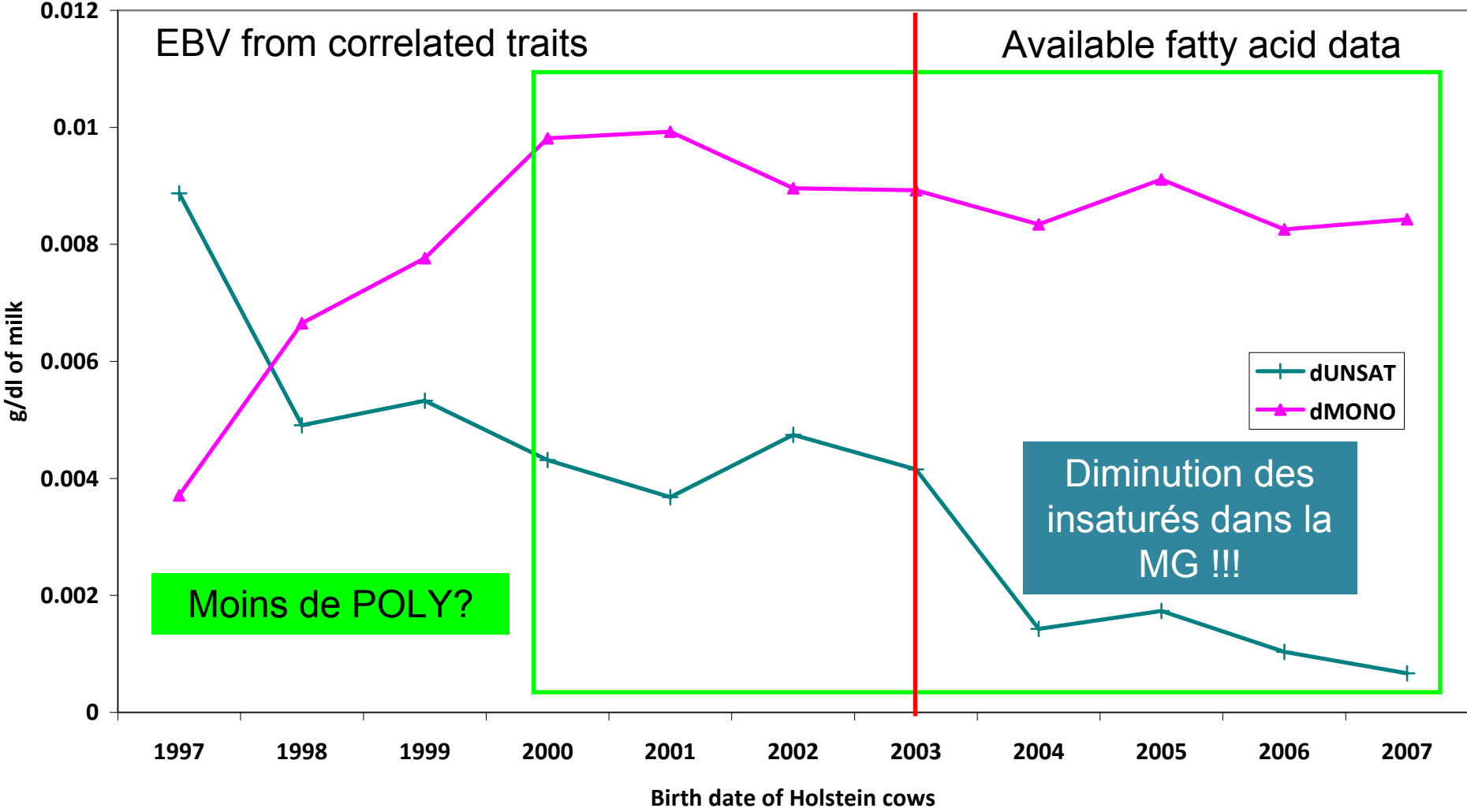
Taureaux potentiellement intéressants:
 $dUNSAT > SD_{EBV_dUNSAT}$
 $dMONO > SD_{EBV_dMONO}$

Taureaux ayant des filles donnant plus de POLY dans leur MG?

Tendance génétique



Tendance génétique



- Une sélection génétique sur les AG est possible
 - Héritabilité suffisante
 - La variabilité existante est suffisante
- Intérêts?
 - Améliorer la sélection des taureaux en tenant compte de la composition en MG
 - Combiner l'effet avéré de l'alimentation et celui de la génétique



- **Implémentation les équations AG** dans les laboratoires laitiers
 - Paiement du lait
 - Contrôle laitier
 - Utile pour les **industriels laitiers** pour développer des produits de qualité différenciée
- Développement de **nouveaux outils** pour l'éleveur
 - **Outils de sélection**: qualité nutritionnelle, méthane,...
 - **Outil de gestion** : rationaliser l'apport de graines de lin,...

- Association Wallonne de l'Élevage (AWE) et le Comité du Lait de Battice
- Le Centre Wallon de Recherches Agronomiques, département Valorisation des Productions Agricoles
- Le FNRS: 2.4.623.08.F
- Le ministère Wallon de l'Agriculture: projects D31-1207 et D31-1224/S1
- European Commission, Directorate-General for Agriculture and Rural Development, under Grant Agreement 211708 (project Robustmilk).

This study has been carried out with financial support from the Commission of the European Communities, FP7, KBBE-2007-1. It does not necessarily reflect its view and in no way anticipates the Commission's future policy in this area.

www.robustmilk.eu



Amélioration de la qualité nutritionnelle du lait et méthodes de prédictions des profils d'AG

Hélène Soyeurt

Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT), Gembloux, Belgique
Fond National de la Recherche Scientifique (FNRS), Bruxelles, Belgique

hsoyeurt@ulg.ac.be