

Caractérisation du lait en fonction de son origine géographique et du mode d'alimentation par RMN ^{13}C et SMRI.

C. DEPONGE (1), JB. COULON (2), JC. BONNEFOY (2), P. RITZ (3), JP. RENOUE (1)

(1) SRV INRA Theix 63122 Saint Genès Champanelle

(2) URH INRA Theix 63122 Saint Genès Champanelle

(3) CHU 4 rue Larrey 49033 Angers

RÉSUMÉ - Des laits ont été collectés sur deux sites INRA qui diffèrent par leur situation géographique et leur altitude : Rennes pour la plaine (altitude 200 m) et Marcenat pour la montagne (altitude 1100 m). Les animaux étaient alimentés au pâturage en été et à l'ensilage de maïs, d'herbe ou de foin pour la saison hivernale. L'eau du lait était analysée par Spectrométrie de Masse de Rapport Isotopique (SMRI) pour déterminer les enrichissements isotopiques en ^{18}O et ^3H . Les triglycérides extraits de la crème étaient analysés par RMN du ^{13}C . La composition en acides gras dépend plus du régime alimentaire tandis que les enrichissements isotopiques sont plus dépendants de la situation géographique. Une analyse discriminante montre que la RMN ^{13}C et la SMRI sont 2 méthodes d'analyses qui permettent de caractériser le lait selon l'origine géographique et le mode d'alimentation. Sur un même site 100% des laits sont bien classés en fonction du régime alimentaire et pour une même alimentation 100% des laits sont bien classés en fonction du site.

^{13}C NMR and IRMS methods to characterise the milk according to diet and geographical origin.

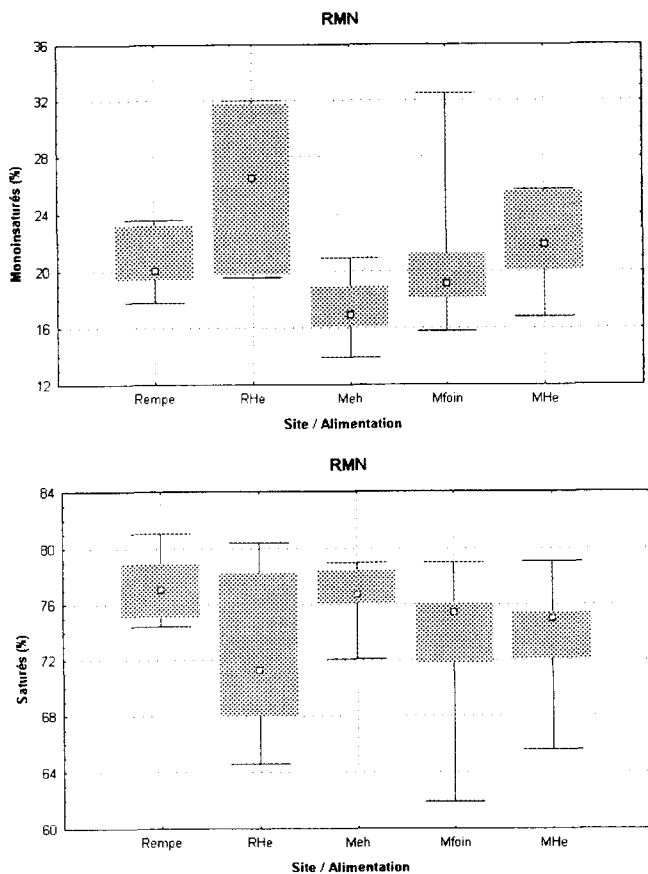
C. DEPONGE (1), JB. COULON (2), JC. BONNEFOY (2), P. RITZ (3), JP. RENOUE (1)

(1) SRV INRA Theix 63122 Saint Genès Champanelle

SUMMARY - The milk was taken from 2 INRA sites which differ in their geographical situation and altitude: Rennes as *Plain* (altitude 200 m), and Marcenat as *Mountain* (altitude 1100 m). Cows were in pasture during summer and fed with hay, pasture ensilage or maize ensilage during winter.

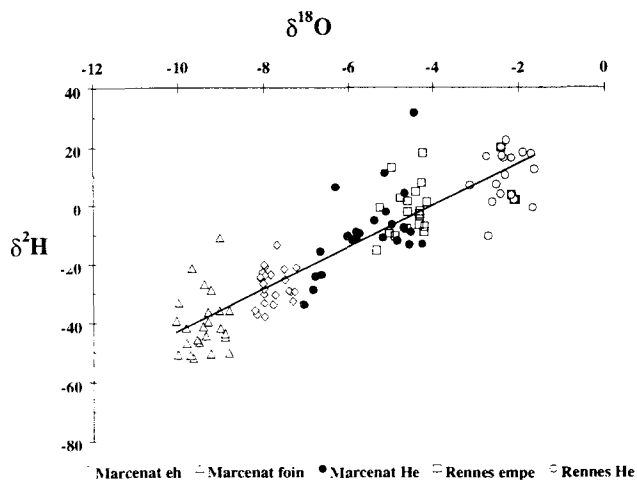
The milk water was analysed by Isotopic Ratio Mass Spectrometry (IRMS) to determine ^{18}O and ^3H isotopic level. Triglycerides extracted from cream were analysed by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy. The fatty acid composition shared a relationships with diet while water ^{18}O and ^3H enrichment were related to the geographic origin.

A discriminant analysis has displayed that ^{13}C NMR and IRMS are two analytical methods which are relevant for milk authentication according to diet and geographical origin. For the same production area 100% of milk were well classified according to diet. Also, for the same diet 100% of milk were classified according to the geographical origin.



La figure 2 représente les variabilités intra-groupe des variables AGMI, AGS et AGPI pour le facteur considéré (site x alimentation). Les graphiques qui concernent les AGMI et AGS montrent une grande variabilité intra-groupe, alors que le graphique relatif aux AGPI présente une variabilité beaucoup plus faible. En effet, les deux sites, Rennes et Marcenat, se distinguent avec une proportion en AGPI plus importante sur le site de montagne. Cependant, ce type d'acide gras (AG) est fortement dépendant du type d'alimentation.

Figure 3
Corrélation linéaire entre les valeurs des enrichissements isotopiques en ^{18}O et ^2H .



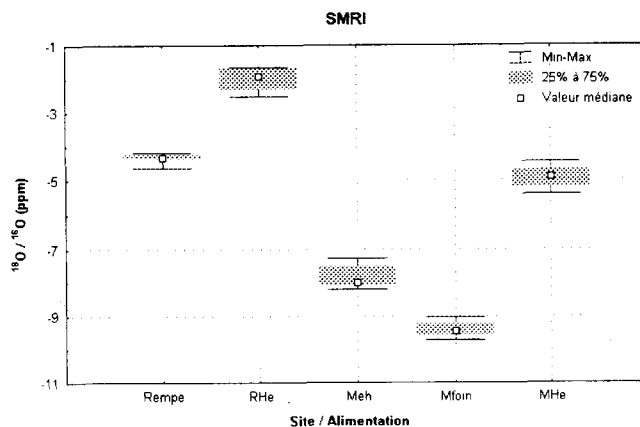
3.2. ETUDE EN SMRI ^{18}O ET ^2H

Les mesures ont été effectuées en ^{18}O et ^2H . La figure 3 présente les résultats en ^{18}O en fonction des résultats en ^2H . Il existe une bonne corrélation entre les résultats en ^{18}O et ^2H ($R^2 = 0.80$) et la pente obtenue est en accord avec celle de la littérature, obtenue chez l'homme. Cependant les mesures en deutérium manquent de précision et leurs valeurs sont intrinsèquement moins discriminantes. Nous avons

choisi dans la suite de cette étude de n'utiliser que les résultats de ^{18}O .

La figure 4 présente la variabilité du paramètre ^{18}O pour chacun des groupes. Ceux-ci se distinguent très nettement les uns des autres. Seul le lait provenant de Rennes avec un ensilage maïs se confond avec le groupe de Marcenat avec une alimentation herbe.

Figure 4
Représentation des variabilités intra-groupe des enrichissements isotopiques en ^{18}O pour le facteur site x alimentation



3.3. ANALYSE FACTORIELLE DISCRIMINANTE (AFD)

Pour chaque site étudié, l'AFD classe correctement tous les laits en fonction du type d'alimentation (tableau 1) avec une seule variable qui est l'enrichissement isotopique en ^{18}O , y compris lorsque l'alimentation est de même type : pâturage (tableau 2).

Tableau 1
Matrices de classification (alimentation).

Groupe	%	Marcenat He	Marcenat eh	Marcenat Foin
Marcenat He	100	6	-	-
Marcenat eh	100	-	6	-
Marcenat Foin	100	-	-	6

	%	Rennes He	Rennes empe
Rennes He	100	6	-
Rennes empe	100	-	6

Tableau 2
Matrice de classification (site) alimentation herbe;

	%	Rennes	Marcenat
Rennes	100	6	-
Marcenat	100	-	6

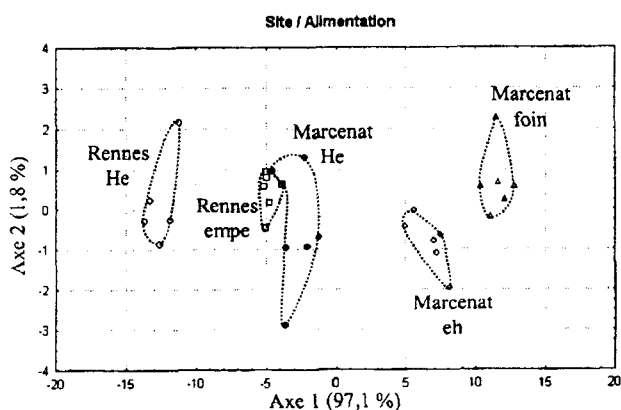
La figure 5 présente l'AFD réalisée à partir des variables AGPI, AGMI et $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. On remarque sur cette figure que les deux sites, Rennes et Marcenat, sont distincts, même si les lots Rempe et MHe sont très proches (un lait de Marcenat est classé avec ceux de Rennes). Au sein de chaque site, on observe également que les alimentations sont différenciées. En effet, sur le site de Rennes, le lait des vaches nourries à l'herbe (RHe) est séparé du lait des vaches qui ont ingéré de l'ensilage (Rempe). La même observation peut être faite pour les vaches du site de Marcenat (Mfoin, Meh et MHe).

4. DISCUSSION

La détermination des proportions en AG et la mesure des enrichissements isotopiques en ^{18}O montrent que le type d'alimentation influe de façon significative sur la composition du lait. Si il a été montré à de nombreuses reprises qu'un régi-

me alimentaire influe sur la composition en graisses du lait (Chilliard *et al.* 2001), il est plus étonnant d'observer une modification de l'enrichissement isotopique en ^{18}O et en ^2H . L'abondance naturelle est la même dans le plasma, la salive, l'urine et dans la sueur (Vaché *et al.* 1995). Cette abondance naturelle en ^{18}O et ^2H varie sous l'influence de facteurs géographique et nutritionnel (Ritz *et al.* 1996). L'eau de boisson varie avec son origine géographique (Dansgaard 1964) et avec l'altitude des sources (Dahé *et al.* 1994). Pour le ^2H l'eau représente 88% des entrées alors que les 12% restant viennent de la matière sèche des aliments. Pour l' ^{18}O , 70% des entrées viennent de l'eau, 6% de la matière sèche des aliments, le reste vient de l'oxygène respiré. La variation de la teneur en eau selon le type d'alimentation (herbe, ensilage et foin) doit donc influencer sur l'enrichissement isotopique du lait.

Figure 5
AFD des laits étudiés selon le facteur site \times alimentation avec les variables AGPI, AGMI et $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$.



Par ailleurs, la classification de l'ensemble des individus selon le facteur site \times alimentation atteint 95 % avec les variables AGPI, AGMI et $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$. L'alimentation influe nettement sur la composition en AG déterminée par RMN du

^{13}C , alors que les enrichissements isotopiques en ^{18}O et ^2H sont plus discriminants du site.

5. CONCLUSION

Ces premiers résultats étayent l'hypothèse d'une différenciation du lait en fonction de la zone géographique d'élevage. Aussi, nous nous engageons dans une étude à plus grande échelle en analysant des laits sur une large gamme de situations françaises. Cela doit déboucher sur la constitution d'une base de données.

Pour optimiser ces résultats, des mesures avec d'autres techniques comme la technique de "l'espace de tête" — spectrométrie de masse et la RMN du ^2H seront réalisées. Ces méthodes d'analyse pourraient être encore plus discriminantes.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre du programme "Caractérisation du lait en fonction de son origine géographique" avec un Financement FNADT, sous l'égide du Commissariat DATAR au Massif Central.

Les auteurs remercient P. Pradel et B. Marquis ainsi que les personnels des domaines de Marcenat et Rennes.

Chilliard, Y., Ferlay, A., Doreau, M. 2001. Liv Prod Sci, 70, 31-48

Craig, H. 1957. Geochim. et Cosmochim. Acta, 12, 133-149

Dahé, Q., Petit, J.R., Jouzel, J., Stievenard, M., 1994. J. Glaciology, 40, 107-118

Dansgaard, W., 1964. Tellus, 16, 436-468

Kornexl, B.E., Werner, T., Rossmann, A., Schmidt, H.L. 1997. Z. Lebensm Unters Forsch. 205, 19-24

Masud, Z., Vallet, C., Martin, G.J. 1999. J Agric Food Chem, 47, 4693-4699

Minson, D.J., Ludlow, M.M., Troughton, J.H. 1975. Nature, 256 : 602

Ritz, P., Cole, T.J., Davies, P.S., Goldberg, G.R., Coward, W.A. 1996. Br. J. Nutr., 72, 3-12

Smith, B.N., Epstein, S. 1970. Plant Physiol., 46 : 738-742

Vache, C., Gachon, P., Ferry, M., Beaufre, B., Ritz, P. 1995. Diabete Metab., 21, 281-284