



RECHERCHE SUR LE COMPORTEMENT BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DE LA VITAMINE A DANS LA SÉCRÉTION LACTÉE

André François

► To cite this version:

André François. RECHERCHE SUR LE COMPORTEMENT BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DE LA VITAMINE A DANS LA SÉCRÉTION LACTÉE. *Le Lait*, 1946, 26 (254_256), pp.97-116. <hal-00927919>

HAL Id: hal-00927919

<https://hal.science/hal-00927919v1>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

- A. FRANÇOIS. — Recherches sur le comportement biochimique et physiologique de la vitamine A dans la sécrétion lactée (*A suivre*) 97
- R. BAQUIAST. — Méthodes employées en Grande-Bretagne contre la coagulation des laits de consommation. Le plan national d'épreuve des laits et de conseil aux Professionnels (National Milk Testing and Advisory Scheme) 116
- A. LOUIS. — Production et contrôle hygiénique du lait dans les étables urbaines et suburbaines (*Suite*) . . 125

Bibliographie analytique :

- 1^o Les livres 142
- 2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 156
- 3^o Brevets 170

Bulletin bibliographique :

- 1^o Les livres 173
- 2^o Brevets 174

Supplément technique :

- G. GÉNIN. — La fabrication de crins et de poils artificiels en partant de caséine . . . 178

BULLETIN ANALYTIQUE

Documents et informations :

- M. BEAU. — La situation laitière 189
- La fermeture des pots à lait. 191

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

RECHERCHE SUR LE COMPORTEMENT BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DE LA VITAMINE A DANS LA SÉCRÉTION LACTÉE (2)

par

ANDRÉ FRANÇOIS

Ingénieur Chimiste I. C. P.

Ingénieur-Docteur

(Travail du Laboratoire de Zootechnie de l'Institut National Agronomique
A. M. LEROY Professeur, A. GASNIER Chef de Travaux)

BUT DE CE TRAVAIL

Nos connaissances sur les processus selon lesquels les composants de sécrétion et les composants d'excrétion sont élaborés par la glande mammaire sont extrêmement restreintes.

Cette étude biochimique et physiologique sur le comportement de la vitamine A dans le sang et dans le lait a pour but de contribuer

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Extrait de la thèse présentée par l'Auteur à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris, pour l'obtention du titre d'Ingénieur-Docteur.

à l'étude de l'excrétion de la vitamine A par la sécrétion lactée et des facteurs qui peuvent l'influencer.

Le présent travail comprend différentes parties :

Après la partie consacrée aux généralités sur la vitamine A et sur le lait (1) on trouvera :

1. Une partie chimique (chapitre I).

Nous y étudions le dosage de la vitamine A dans le lait.

2. Une partie biochimique.

Nous y recherchons sous quel état se trouve la vitamine A dans le lait, et plus particulièrement dans le lait écrémé (chapitre II). La conservation de la vitamine A du lait conservé dans différentes conditions est étudiée dans le chapitre III.

3. Une partie physiologique.

Le chapitre IV est consacré à l'étude de la relation qui existe entre la quantité de carotène apportée par l'alimentation, et les teneurs du sang et du lait en carotène et en vitamine A.

On y trouvera également une étude sur le colostrum.

Dans le chapitre suivant, nous étudions la relation qui existe entre la teneur du premier colostrum en vitamine A et l'âge de l'animal.

Les teneurs comparées du lait en lipides, en carotène et en vitamine A en fonction de la pression intra-mammaire font l'objet du chapitre VI.

Le chapitre VII est une étude sur l'influence du carotène et de petites quantités de vitamine A sur la teneur du lait en carotène et en vitamine A. On y note également les variations raciales, individuelles, etc.

Enfin, on trouvera un résumé des conclusions générales (chapitre VIII).

La femelle laitière qui constitue le sujet d'expérience le plus commode et le moins sujet à erreur pour une étude sur la lactation, en raison des grandes quantités de lait fournies, est la vache. Dans ce travail, nous étudierons donc spécialement le lait de vache.

CHAPITRE I

PARTIE CHIMIQUE

Dosage de la vitamine A et du carotène dans le lait

Pour que ces recherches sur la vitamine A dans le lait reposent sur une base solide, il est indispensable de disposer d'une méthode

(1) Non reproduite ici.

de dosage offrant le maximum de sécurité. Nous nous sommes efforcés d'employer une méthode juste et surtout fidèle.

En effet, dans l'étude biochimique et physiologique que nous avons entreprise, il fallait que la méthode choisie donne des résultats comparables dans des conditions bien déterminées. Il fallait aussi que la méthode adoptée soit susceptible d'être appliquée à des dosages en série, donc qu'elle soit rapide et commode.

La validité du dosage de la vitamine A dépend de deux facteurs principaux : 1^o la préparation de l'insaponifiable ; 2^o l'estimation de la teneur de l'insaponifiable en vitamine A.

1. Préparation de l'insaponifiable.

A. Le matériel de départ peut être soit le lait lui-même, soit le beurre. Il est préférable d'employer le lait. En dehors de l'avantage de la commodité, ce choix se justifie, car il reste dans le lait écrémé une partie du carotène et de la vitamine A du lait entier (voir page 110). D'autre part, pendant le barratage, la matière grasse est exposée à une aération considérable, et il est très concevable qu'il puisse y avoir perte de carotène et de vitamine A par oxydation. Cependant KON, GILLAM et WHITE [34] trouvent que du carotène se perd par barattage, mais que la vitamine A n'est pas affectée de manière appréciable. Enfin, le babeurre entraîne une partie du facteur A.

D'après de HASS et MEULEMANS [35], pendant le barattage, la presque totalité de la vitamine A reste dans le beurre, une petite fraction allant dans le babeurre. WILLSTEADT et WITH [36] trouvent 120 unités de vitamine A par litre de babeurre.

B. Saponification.

La potasse, en solution aqueuse ou alcoolique, a été employée par tous les auteurs pour effectuer la saponification du lait. DANN [37] trouve qu'il n'y a pas de destruction de la vitamine A durant le traitement du lait par la potasse aqueuse. BAUMANN et STEENBOCK [38] emploient la potasse alcoolique pour saponifier le beurre. Quelques auteurs ont tenté d'appliquer la méthode de Röse-Gottlieb pour extraire le carotène et la vitamine A du lait. OLSON, HEGSTEAD et PETERSON [39] ont décrit une technique basée sur cette méthode, qui consiste à dissoudre les protéines du lait dans l'ammoniaque et à extraire la matière grasse par un mélange d'alcool, d'éther et d'éther de pétrole, puis de la saponifier par la potasse. WILLSTEADT et WITH [36], simultanément, emploient la même méthode et trouvent que l'extraction n'est pas totale. Les résultats de Van BEVER [40] montrent également que cette méthode ne donne pas des résultats satisfaisants.

Un certain nombre de techniques permettant de préparer les insaponifiables à partir du lait ont été publiées par WILLSTEADT et WITH [36], par Van WIJNGAARDEN [96], dont la technique a été reprise par Van BEVER [48], puis par MEUNIER et VINET [41], et par CHEVALLIER et MANUEL [42].

Technique de Willsteadt et With.

Traiter 100 cm³ de lait bien homogénéisé par 1/10^e de leur volume de potasse à 60 %. Remplir la fiole d'azote, la boucher fortement, agiter et abandonner 48 heures à la température ordinaire, à l'obscurité, l'agitation étant fréquemment reproduite.

Ensuite, mettre 20 cm³ d'alcool à 96° et extraire par trois fois 50 cm³ d'éther exempt de peroxyde (une éventuelle émulsion serait détruite par addition supplémentaire d'alcool). Laver les extraits réunis deux fois avec un peu d'eau, puis une fois avec de la potasse à 5 % et deux fois avec beaucoup d'eau, puis sécher et évaporer.

Technique de Van Wijngaarden (à froid).

Dans un Erlenmeyer de 500 cm³, mettre : 100 cm³ de lait et une solution chaude de 20 grammes de potasse dans 10 grammes d'eau. Remplir la fiole d'azote et abandonner au moins 100 heures à l'obscurité. L'agiter de temps en temps. Dix minutes avant l'extraction, ajouter 100 cm³ d'alcool à 96° et agiter jusqu'à ce que les produits solides soient dissous. Extraire par 100, 100 et 50 cm³ d'éther de pétrole. Agiter fortement une minute à chaque extraction. Laver cinq fois par 250 cm³ d'eau. Sécher sur sulfate de sodium (16 heures à l'obscurité), filtrer, distiller.

Technique de Van Wijngaarden (à chaud).

Dans un ballon, mettre : 100 cm³ de lait, 100 cm³ d'alcool à 96° et une solution chaude de potasse dans 10 grammes d'eau. Saponifier 2 heures au bain-marie, à reflux. Extraire et continuer comme dans la technique précédente.

Technique de Chevallier et Manuel.

Prendre 25 cm³ de lait bien homogénéisé, ajouter 12 cm³ de potasse à 60 %. Porter à l'étuve 55° pendant trois jours. L'extraction s'effectue par 40 cm³ d'éther. Décanter, laver trois ou quatre fois avec 5 cm³ d'eau, évaporer au bain-marie.

Cette technique ne donne pas toujours des résultats satisfaisants. Il se forme presque toujours des émulsions. L'addition d'alcool avant l'extraction permet d'obvier à cet inconvénient.

B. *Extraction de l'insaponifiable.*

L'extraction de la vitamine A et du carotène à partir des produits saponifiés s'effectue soit par l'éther, soit par l'éther de pétrole. L'éther doit être préalablement privé de peroxyde par rectification sur chlorure stanneux ou par traitement à l'hydroxyde ferreux.

Pour être complète, l'extraction doit se faire en plusieurs fois. Van BEVER trouve que pour 100 cm³ de lait, une extraction par cinq fois 70 cm³ d'éther de pétrole est nécessaire.

L'extrait séché sur sulfate de sodium anhydre est évaporé et réduit à petit volume, puis évaporé et desséché sous vide.

Toutes ces opérations doivent se faire à l'abri de la lumière.

* * *

Notre but n'étant pas de faire une étude complète sur le dosage de la vitamine A, nous avons simplement comparé quelques résultats obtenus en utilisant ces différentes techniques. Nous avons voulu constater si les écarts entre les différents résultats donnés par chacune des techniques décrites sont considérables.

Les dosages étaient effectués à l'aide de la réaction de Carr et Price, en utilisant l'électrophotomètre de P. Meunier. Les insaponifiables évaporés sous vide sont repris par 5 cm³ de chloroforme rectifié et recueilli sur chlorure de calcium. 0 cm³ 5 d'extrait chloroformique est employé pour le dosage.

Le tableau I réunit les résultats obtenus, exprimés en microgrammes de carotène et de vitamine A par litre. Les insaponifiables proviennent de lait entier non pasteurisé des mois de juin et juillet. La technique de Van Wijngaarden a froid est utilisée arbitrairement comme méthode de référence, par raison de commodité.

Les résultats obtenus en utilisant les autres techniques diffèrent peu du chiffre de référence : en ce qui concerne le dosage de la vitamine A, l'écart ne dépasse pas 10 %. Il est soit positif, soit négatif. Or, la précision des mesures est de l'ordre de 5 %. L'erreur maximum faite en comparant deux chiffres donnés avec cette approximation étant 10 %, l'écart entre les chiffres expérimentaux est donc de l'ordre de la précision des mesures.

La méthode de saponification à chaud selon Van Wijngaarden est rapide et susceptible d'être appliquée à des dosages en série. Les résultats précédents montrent qu'elle donne des résultats identiques à ceux fournis par les autres méthodes. Nous l'avons donc adoptée pour tous les dosages effectués ultérieurement, en utilisant la technique expérimentale décrite page 107.

TABLEAU I
MICROGRAMMES DE CAROTÈNE ET DE VITAMINE A PAR LITRE

	Vitamine A	Ecart %	Carotène	Ecart %
<i>Lait A.</i>				
Méthode Van Wijngaarden (à froid)	315	—	—	—
Méthode Van Wijngaarden (à chaud)	307	— 2,2	—	—
<i>Lait B.</i>				
Méthode Van Wijngaarden (à froid)	310	—	355	—
Méthode Van Wijngaarden (à chaud)	320	+ 2,8	400	+ 12,6
<i>Lait C.</i>				
Méthode Van Wijngaarden M (à froid)	425	—	530	—
Méthode Willsteadt-With ...	465	+ 9,5	520	— 0,5
<i>Lait D.</i>				
Méthode Van Wijngaarden (à froid)	401	—	360	—
Méthode Chevallier-Manuel .	445	+ 10,5	—	—
<i>Lait E.</i>				
Méthode Van Wijngaarden (à froid)	325	—	300	—
Méthode Van Wijngaarden (à chaud)	310	— 4,3	350	+ 16
Méthode Willsteadt-With ...	310	— 4,3	360	+ 20
Méthode Chevallier-Manuel .	297	— 8,6	360	+ 16

2. Comparaison des méthodes de dosage.

La méthode biologique étant longue et peu sensible, nous n'envisagerons ici que les méthodes physique et chimique.

A. Méthode spectrophotométrique dans l'ultra-violet, où l'on mesure l'intensité de l'absorption sélective de la vitamine A à 328 $m\mu$.

B. Méthode colorimétrique basée sur la réaction de Carr et Price.

Nous avons déjà étudié les grandes lignes de ces méthodes dans la première partie. Envisageons les avantages et les inconvénients de chacune de ces méthodes pour le dosage du carotène et de la vitamine A du lait.

a) *Carotène.*

D'après SCHREWSBURY et KRAYBILL [43], le dosage colorimétrique du carotène dans le beurre fondu par comparaison directe avec un étalon au bichromate n'est pas exact. Les résultats obtenus sont plusieurs fois trop forts. D'après ces auteurs, le carotène et le beurre dissous dans l'éther de pétrole peuvent être dosés avec une grande précision par la méthode spectrophotométrique. GOLDBLATT et BARNETT arrivent à la même conclusion : l'intensité de la couleur du carotène dans l'huile est plusieurs fois plus forte que celle d'une égale quantité dissoute dans l'éther de pétrole. Quand une quantité connue de carotène est ajoutée à cet échantillon, la quantité théorique est retrouvée spectrophotométriquement tandis que cette quantité, multipliée par deux, est obtenue par la méthode colorimétrique.

b) *Vitamine A.*

La méthode spectrophotométrique a été appliquée par BAUMANN et STEENBOCK [38]. Ces auteurs trouvent que les produits qui absorbent dans la même région du spectre que la vitamine A sont des produits d'oxydation des caroténoïdes. Ces substances n'absorbent pas d'une façon appréciable à $325\text{ m}\mu$ quand leur concentration, mesurée par l'absorption à $280\text{ m}\mu$, est relativement faible. Il faut donc éliminer toute analyse où l'absorption à $280\text{ m}\mu$ est supérieure à celle à $328\text{ m}\mu$. GILLAM [44] trouve que l'absorption à $328\text{ m}\mu$ est due principalement à la vitamine A, mais aussi au carotène et aux xanthophylles. OLSON, HEGSTEAD et PETERSON [39] emploient également la méthode physique. D'après Van BEVER [40], la méthode spectrophotométrique seule n'est pas sûre. CHEVALLIER et MANUEL [42] décrivent une technique basée sur la méthode spectrophotométrique : étude des courbes d'absorption avant et après irradiation. L'examen de l'insaponifiable donne une courbe d'absorption qui montre une inflexion marquée dans la région $320\text{-}330\text{ m}\mu$. L'irradiation de la solution fait disparaître dans un temps très court cette inflexion. Une nouvelle courbe étant établie, sa différence avec la première mesure la quantité de vitamine A initialement présente dans le lait.

Le point délicat de cette technique est évidemment d'être sûr que toutes les substances absorbant $325\text{ m}\mu$ ne sont pas du tout touchées par l'irradiation.

Cependant, le fait que la différence des ordonnées à diverses longueurs d'onde représente une courbe caractéristique de la vitamine A permet de s'assurer que l'irradiation a détruit spécifiquement la vitamine A (CHEVALLIER-DUBOULLOZ-MATHERON).

Un autre inconvénient est d'opérer par différence de grandeurs assez voisines lorsque les solutions sont diluées comme c'est le cas pour le sang et le lait. Cette technique constitue néanmoins un test qualitatif précieux.

B. Méthode chimique : réaction de Carr et Price.

Rappelons que le coefficient d'extinction à 620 $m\mu$ est $E_{1cm}^{1\%} = 5.000$ alors qu'à 328 $m\mu$ il n'est que 1.600.

La sensibilité très grande de la réaction de Carr et Price est ici favorable, en raison de la faible teneur du lait en vitamine A. Cependant, la réaction de Carr et Price présente des inconvénients. D'après BOOTH et Collaborateurs, la réaction de Carr-Price ne peut être appliquée directement au beurre, en raison de la présence d'un inhibiteur qui présente des variations saisonnières. Cet inhibiteur serait plus abondant quand les bêtes sont au pâturage que lorsqu'elles sont à l'étable.

Il a été établi par GILLAM [44] que, même après saponification du beurre, la valeur obtenue au moyen de la réaction de Carr-Price est inférieure à celle obtenue par la mesure de l'absorption à 328 $m\mu$. Ce résultat a été confirmé par Van BEVER [40].

RAOUL et JANOT [20] ont montré que le calciférol — et plus généralement les stérols non saturés — peuvent inhiber la réaction de Carr et Price mais cette inhibition n'intervient que lorsque ces substances sont en grand excès par rapport à la vitamine A. Ce n'est pas le cas pour le lait. D'autre part, les acides gras non saturés qui pourraient jouer le rôle d'inhibiteurs sont éliminés par la saponification.

On peut donc admettre que les substances insaponifiables du lait n'ont pas d'action inhibitrice sur la réaction de Carr-Price. Nous avons vu également, que depuis les travaux de MEUNIER et RAOUL et RAOUL et JANOT il est possible de doser séparément le carotène et la vitamine A. On ne peut donc plus reprocher à la réaction de Carr et Price son manque de spécificité.

Le dosage de la vitamine A dans les huiles de poisson par la méthode colorimétrique (réaction de Carr et Price modifiée) et par la méthode spectrophotométrique conduisent à des résultats sensiblement identiques ; CHEVALLIER [45] et Collaborateurs, MEUNIER et RAOUL [46]. Cependant, dans les milieux naturels tels que le sang et le lait, la présence de caroténoïdes et de substances étragères est susceptible de provoquer des difficultés dans l'interprétation des courbes spectrophotométriques d'une part, et de diminuer la précision de la mesure de la teneur en vitamine par la réaction de Carr et Price, d'autre part. C'est pourquoi nous avons comparé les deux méthodes de dosage en étudiant la teneur en

vitamine A d'échantillons de lait et de colostrum. Le colostrum est un milieu très complexe dont la composition diffère de celle du lait. Sa teneur en carotène et en vitamine A est très élevée, mais il contient aussi une quantité importante de stérols et de substances dont le taux varie d'un échantillon à l'autre pour un même animal.

Nous nous sommes donc placés dans les conditions vraisemblablement les plus mauvaises et susceptibles de donner l'écart maximum entre les chiffres fournis par chacune des méthodes.

Les dosages spectrophotométriques étaient effectués sur les fractions insaponifiables de ces échantillons, par spectrophotométrie d'absorption directe. Le facteur de conversion en unités pondérales de la valeur d'absorption au maximum 328 m μ pour la vitamine A est pris égal à 1/1.800 (1). Les dosages chimiques étaient effectués sur les insaponifiables en solution chloroformique, préparés selon la technique décrite plus haut.

Le carotène était dosé spectrophotométriquement et, d'autre part, par colorimétrie.

Nous avons étudié 17 échantillons. Pour certains, le dosage de la vitamine A n'a pu être fait. Les résultats sont consignés dans le tableau II.

L'examen de ce tableau montre que l'écart pour cent, en valeur absolue, entre les chiffres fournis respectivement par les dosages physique et chimique est généralement inférieur à 35%. Il atteint exceptionnellement un taux supérieur à ce dernier. On obtient en général des résultats voisins. L'écart est de l'ordre de grandeur de l'approximation du dosage biologique.

Rappelons que la plupart de ces comparaisons ont été effectuées en étudiant des échantillons de colostrum dont la composition présente une grande complexité et dont l'insaponifiable est plus abondant que celui du lait.

En ce qui concerne le dosage du carotène, les chiffres fournis par la méthode colorimétrique directe à l'électrophotomètre de P. Meunier (écran bleu) sont généralement supérieurs à ceux trouvés par la spectrophotométrie : sur 16 résultats, 14 présentent un écart positif par rapport à la méthode de référence.

L'écart entre les chiffres trouvés pour la vitamine A est soit positif, soit négatif.

Remarque au sujet du dosage du carotène.

Il est bien entendu que le dosage du carotène par la méthode colorimétrique directe n'est en réalité qu'un dosage des pigments jaunes du lait.

(1) Nous remercions M. Vacher, Chef du Laboratoire de Physique du Laboratoire Central du Ravitaillement, qui a bien voulu se charger de ce travail.

TABLEAU II
I VITAMINE A ET CAROTÈNE EN MICROGRAMMES PAR LITRE

	Spectrophotométrie		Carr-Price		Ecart %		Rapport spectro. Carr-Price
	Carotène	Vitamine A	Carotène	Vitamine A	Carotène	Vitamine A	
Lait I	186	—	260	—	+ 40	—	—
Lait II	168	238	275	205	+ 64	— 13,8	1,16
Lait III	224	355	265	220	+ 18,3	— 38	1,52
Lait IV	300	—	360	230	+ 20	—	—
Colostrum I	1.000	535	—	—	—	—	—
Colostrum II	437	850	2.230	1.125	+ 410	+ 32,3	0,751
Colostrum III	1.000	1.740	1.800	1.200	+ 80	— 31	1,45
Colostrum IV	615	1.000	1.300	1.100	+ 112	+ 10	0,92
Colostrum V	485	810	520	600	+ 23,7	— 26	1,35
Colostrum VI	2.670	2.350	2.600	1.920	— 2,6	— 18,3	1,22
Colostrum VII	1.500	1.710	1.850	2.470	+ 23	+ 44,5	0,68
Colostrum VIII	1.500	1.960	1.910	2.270	+ 27,5	+ 15,9	0,86
Colostrum IX	400	750	550	740	+ 37,5	+ 1,3	1,02
Colostrum X	1.350	3.850	2.850	1.150	+ 111	— 64	3,4
Colostrum XI	410	1.000	760	1.100	+ 85	+ 10	0,91
Colostrum XII	210	450	600	850	+ 186	+ 89	0,53
Colostrum XIII	90	—	260	425	+ 167	—	—

Cependant, le pigment quantitativement le plus important est le β -carotène (STRAIN [47]). Le rapport carotène/xanthophylle serait constant : il y aurait 94 % de carotène et 6 % de xanthophylle (GILLAM [44], DE HASS et MEULEMANS [35]).

La proportion des formes α et β peut varier considérablement suivant les échantillons. La teneur en α -carotène est augmentée si cet isomère est plus abondant dans l'alimentation. D'après GILLAM et EL RIDI [48], elle serait toujours inférieure à 0,3 %.

Notons enfin que l'intensité de la coloration bleue produite pendant la réaction de Carr et Price suit la loi de Beer.

En résumé, la réaction de Carr et Price appliquée aux insaponifiables de lait et de colostrum donne des résultats qui ne diffèrent pas généralement de plus de 35 % des chiffres fournis par la méthode spectrophotométrique.

Les chiffres trouvés pour le carotène sont plus élevés par la méthode colorimétrique que par la méthode spectrophotométrique.

Dans la suite de ce travail, nous avons toujours effectué le dosage de la vitamine A par la réaction de Carr et Price modifiée

par MEUNIER et RAOUL. La technique expérimentale était rigoureusement respectée dans toute la série des dosages. Les résultats obtenus sont donc comparables en toute rigueur, et c'est d'ailleurs leur valeur relative plus que leur valeur absolue qui importe dans les expériences exposées plus loin. Comme, d'autre part, l'accord de la méthode adoptée avec la méthode spectrophotométrique est assez satisfaisant, nous disposons d'une méthode offrant des garanties de justesse.

Cette méthode présente également des avantages de commodité et de rapidité. Elle peut être appliquée par un personnel non spécialisé ; l'interprétation de la courbe cinétique est en effet fort simple en comparaison de celle que nécessite la méthode spectrophotométrique.

Pour terminer, nous rappellerons le mode opératoire détaillé que nous avons employé.

Mode opératoire pour le dosage de la vitamine A et du carotène dans le lait et le colostrum.

Nous opérons nos dosages à partir de 50 cm³ seulement de lait.

Saponification et extraction.

50 cm³ de lait bien homogénéisé par agitation modérée sont additionnés de 10 grammes de potasse dans 5 cm³ d'eau, puis de 50 cm³ d'alcool à 96°, dans un Erlenmeyer de 250 cm³ muni d'un réfrigérant ascendant. On porte au bain-marie bouillant pendant 2 heures. Après refroidissement, le lait saponifié est mis dans une ampoule à décantation de 500 cm³ et extrait par 50, 50 et 50 cm³ d'éther de pétrole 5 (P. E. 35-60).

Les trois extraits réunis sont lavés en versant cinq fois 250 cm³ d'eau sans agiter par retournement.

On fait passer l'extrait lavé dans un Erlenmeyer de 200 cm³ dont le fond est garni de sulfate de sodium anhydre. On abandonne à l'obscurité, et mieux, à la glacière 2-3° pendant plusieurs heures. On filtre. On évapore au bain-marie sans dépasser 80° et à l'abri de la lumière.

Lorsqu'il ne reste plus que quelques centimètres cubes d'extrait, on transvase dans un petit cristalliseur à bec et évapore sous vide (pompe à vide ou trompe à eau munie d'un barboteur à acide sulfurique), le dessiccateur étant garni d'anhydride phosphorique. On évapore à sec, puis on laisse sous vide quelques heures à l'abri de la lumière.

On reprend l'insaponifiable par du chloroforme rectifié sur chlorure de calcium et recueilli sur chlorure de calcium.

On ajuste en fiole jaugée de 5, 10 ou 20 cm³ selon la teneur

présumée du lait en vitamine A, de façon à opérer à concentration sensiblement constante.

La réaction s'effectue sur 0 cm³ 5 de cet extrait, dans la cuve pour microdosage de l'électrophotomètre de P. Meunier (diaphragme 4).

Le mode de calcul a été exposé par MEUNIER et RAOUL [21].

Cas du colostrum.

25 cm³ de colostrum seulement sont nécessaires pour le dosage. Saponifier avec 5 grammes de potasse seulement et continuer comme précédemment.

Dosage du carotène et de la vitamine A dans le sang.

Le sang est recueilli sur oxalate. Effectuer le dosage sur le plasma selon la technique de RAOUL et JANOT [20].

Additionner le plasma provenant de 20 cm³ de sang de 10 % en volume de lessive de potasse et chauffer une demie heure à reflux au bain-marie bouillant, en agitant de temps en temps. Refroidir sous courant d'eau, ajouter 5 à 7 cm³ d'alcool à 95° et extraire par 50, 50 et 50 cm³ d'éther de pétrole. Nous avons substitué l'éther de pétrole à l'éther préconisé par RAOUL et JANOT. Continuer les opérations comme il a été indiqué pour le lait.

CHAPITRE II

ÉTAT DU CAROTÈNE DE LA VITAMINE A DANS LE LAIT

On sait que la vitamine A est une vitamine liposoluble. Cependant, les travaux de PALMER [49] et VANDENBERGH [50] nous apprennent que le carotène du sérum sanguin est lié à l'albumine sous forme de caroto-albumine (PALMER).

D'autre part, MACHEBŒUF [55], SANDOR, ont montré que la presque totalité des lipides du sérum sanguin est liée aux protides, albumine et globuline. Le carotène participerait donc aux cénapses lipo-protéiques du sérum. SANDOR [51] pense que le carotène interviendrait dans la stabilité de ces cénapses (dans le sérum du cheval).

Nous recherchons, ici, si, dans le lait, le carotène et la vitamine A sont simplement dissous dans les lipides émulsionnés. Ceci est intéressant à bien des points de vue, et entre autre, en ce qui concerne la physiologie de la mamelle, pour étudier l'élaboration dans la glande mammaire du facteur A et des lipides.

1. Le carotène et la vitamine A dans le lait écrémé.

A. Teneur du lait écrémé en carotène et en vitamine A.

Le lait écrémé n'est pas absolument exempt de carotène et de vitamine A. Les résultats obtenus par les différents auteurs, qui utilisèrent non seulement des méthodes de dosages différentes, mais aussi qui partaient soit du lait (MORGAN [52], WILLSTEADH et WITH [36]), soit de la caséine (COWARD et KAY [53], MAITRA et MOORE [54]) sont assez concordants. La teneur du lait écrémé en vitamine A serait de l'ordre de 30 U. I. par litre.

Les résultats obtenus par CHEVALLIER et MANUEL [42] diffèrent notablement de ces chiffres. D'après ces auteurs, le lait écrémé contiendrait encore une quantité importante de la vitamine A du lait entier. Le lait centrifugé contient environ 5 à 10 γ de vitamine A par litre (WILLSTEADT et WITH [36].)

Quoi qu'il en soit, il apparaît, d'après les travaux cités, que le lait écrémé contient une petite quantité de vitamine A, sans que l'on puisse en conclure cependant que cette vitamine est liée aux protides, car le lait écrémé par les procédés de l'industrie contient encore environ 1 pour 1.000 de matières grasses.

Il nous a paru intéressant de reprendre cette question. Nous avons d'abord dosé le carotène et la vitamine A du lait écrémé à l'écrémeuse industrielle Alfa-Laval. La teneur en lipides (dosée à l'aide de la méthode Röse-Gottlieb) était de 1 gr. 2-1 gr. 5 par litre. Ces chiffres sont bien recoupés par les résultats de MACHEBŒUF et TAYEAU : 1 gr. 1 de lipides inextractibles à l'éther. La méthode Gerber donne des résultats notablement plus faibles.

Technique opératoire.

Dans un Erlenmeyer de 500 cm³ mettre :

200 cm³ de lait écrémé ;

5 grammes de potasse dans 5 grammes d'eau ;

200 cm³ d'alcool.

Chauffer 2 heures à reflux, au bain-marie bouillant.

Après refroidissement, extraire par 2 fois 100 et 1 fois 50 cm³ d'éther de pétrole. Continuer comme il a été indiqué page 107.

Le tableau III mentionne les résultats obtenus.

La teneur du lait écrémé en facteur A est donc faible, mais non négligeable.

Remarquons dès maintenant que l'ampleur des variations saisonnières des teneurs en facteur A du lait écrémé est moins accusée

TABLEAU III
TENEUR DU LAIT ÉCRÉMÉ EN CAROTÈNE ET VITAMINE A

	Vitamine A		Carotène
	U. I p./l.	γ litre	γ/l.
Janvier	20	7	—
20 juin	42	15	58
7 sep embre	57	20	34
15 septembre	52	18	45
15 septembre	55	19	45
23 septembre	50	17,5	47,5
23 octobre	52,5	18	55
9 novembre	35	12	68
Novembre	47,5	16	50
30 décembre	35	12	35

que celle du lait entier. L'échantillon d'un lait écrémé de fin décembre provenant d'une vache souffrant d'une carence à peu près totale de carotène contient presque autant de carotène et de vitamine A que le lait écrémé provenant de vaches recevant des quantités importantes de carotène.

TABLEAU IV

	Lait entier		Lait écrémé	
	Carotène γ litre	Vitamine A U. I./litre	Carotène γ/litre	Vitamine A U. I./litre
Eté	350	750	58	57
Hiver	50	150	34	20
Rapport	7	5	1,7	2,85

Ainsi, l'ampleur des variations des teneurs du lait entier en carotène est environ quatre fois plus grande que celle du lait écrémé.

Pour la vitamine A, elle est à peine deux fois plus grande.

Il semble donc que la teneur du lait écrémé en facteur A et surtout en carotène est assez indépendante de la saison.

B. Carotène et vitamine A par gramme de lipides.

Si nous calculons la teneur en carotène et en vitamine A par gramme de lipides dans le produit entier, et dans le produit écrémé,

nous trouvons des différences caractéristiques : les chiffres du tableau V montre que les lipides du lait écrémé retiennent par gramme davantage de vitamine A et surtout davantage de carotène que les lipides du lait entier.

TABLEAU V
CAROTÈNE ET VITAMINE A PAR GRAMME DE LIPIDES DU LAIT ENTIER ET DU LAIT ÉCRÉMÉ

	Lipides Gram- mes/l.	Carotène γ/litre	Vitamine A U. I./litre	Carotène γ/gr. lipides	Vitamine A U. I./gram- mes-lipides
Entier (été)	40	350	750	8,75	18,75
Ecrémé (été)	1,5 ^e	45	50	30	33,30
Entier (hiver)	40	50	150	1,25	3,75
Ecrémé (hiver)	1,5	20	34	13,3	22,6
<i>Colostrum.</i>					
Entier (été)	37,5	918	1.620	24,5	43
Ecrémé (été)	1,2	327	80	270	67

Ainsi, 1 gramme de lipides du lait écrémé peut contenir dix fois plus de carotène et six fois plus de vitamine A que 1 gramme de lipides du lait entier. La différence est moins accentuée l'été.

Les lipides du colostrum écrémé d'été contiennent par gramme dix fois plus de carotène que ceux du produit entier. Comment expliquer cette différence ?

Il est peu probable que la solubilité du carotène dépende de la qualité des lipides émulsionnés, qui serait différente dans le produit entier et dans le produit écrémé. Il reste alors deux hypothèses. La première consiste à dire qu'il reste dans le produit écrémé les plus fins globules de lipides. Pour un même poids de lipides, la surface des globules de matières grasses du produit écrémé est donc supérieure à celle des globules du produit entier. Il faudrait alors supposer une fixation superficielle du carotène et de la vitamine A par les globules pour expliquer la haute teneur en facteur A des lipides du produit écrémé.

La seconde hypothèse est basée sur l'existence de complexes lipides protides-facteurs A.

Les résultats ci-dessous montrent que cette hypothèse doit être prise en considération.

C. *Etat du carotène et de la vitamine A dans le lait écrémé.*

On a remarqué, depuis longtemps, qu'il est très difficile de délipi-

der totalement la caséine. De même, l'obtention de caséine exempte de facteur A nécessite un traitement par l'alcool bouillant, puis par l'éther. Ce fait a été mis en évidence par l'emploi de la caséine dans les régimes de carence.

Nous nous sommes alors demandés si les lipides et les facteurs A étaient unis de façon quelconque aux protides du lait. Ce terme « unis » ne préjugant en rien de la nature de la liaison éventuelle, MACHEBŒUF et TAYEAU [23] ont montré que des cénapses lipoprotéiques existent dans le lait.

Pour vérifier si le facteur A participe à ces complexes, nous avons étudié l'extraction des lipides, du carotène et de la vitamine A du lait écrémé par le mélange alcool-éther, selon la technique appliquée par MACHEBŒUF et SANDOR au sérum sanguin.

D. Extraction des lipides, du carotène et de la vitamine A du lait écrémé.

L'extraction totale de la matière grasse du lait par l'éther n'est pas possible, et c'est ce qui a fait supposer que les globules de matière grasse étaient entourés d'une membrane protéique.

Le mélange alcool-éther extrait des quantités variables de lipides suivant la concentration alcoolique du mélange.

Technique opératoire.

Dans une série d'entonnoirs à décantation, mettre :

200 cm³ de lait écrémé ;

200 cm³ d'éther exempt de peroxyde, additionné de 40, 80, 120, 160, 180, 200, 240, 300 cm³ d'alcool à 96°, ce qui correspond à 20, 40, 60, 80, 90, 100, 120, 150 % du volume du lait (convention adoptée par SANDOR pour le sérum sanguin).

Le mélange est agité par retournement pour éviter la formation d'émulsion, et abandonné à l'obscurité. Après 48 heures, décanter, laver l'extrait deux fois à l'eau. Le dosage des lipides est effectué en évaporant au bain-marie, en capsule tarée, la dixième partie du volume de l'extrait. Les 9/10^e restants sont évaporés au bain-marie (réfrigérant descendant).

Dès que l'éther a été évaporé, ajouter 25 cm³ d'alcool additionnés de 25 cm³ d'eau et 2 grammes de potasse dans 5 grammes d'eau. Saponifier demi-heure à reflux au bain-marie bouillant. Extraire par deux fois 50 cm³ d'éther de pétrole. Laver l'extrait trois fois avec 100 cm³ d'eau. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer, évaporer, reprendre par 5 cm³ de chloroforme. Le dosage est effectué sur 0 cm³ 5 d'extrait. Les résultats, multipliés par 10/9 donnent la teneur en carotène et en vitamine A de l'extrait éthéré total.

Résultats. — Les résultats sont consignés dans le tableau VI.

TABLEAU VI

Alcools % du lait	Lipi- des ex- traits Mgrs litre	Lipi- des ex- traits %	Caro- tène extrait γ/litre	Caro- tène extrait %	Vita- mine A ex- traite U. I./li- tre	Vita- mine A γ/litre	Vita- mine A ex- traite %
25	50	5,5	14	27,8	3,5	1,2	8,2
50	250	27,8	16	32,2	14	4,9	6,5
75	675	75	43	85,6	42	14,7	87,4
100	750	83,3	48	95,6	45	16,1	93,1
125	525	58,3	31	62,2	21,5	7,5	45,5
Témoin lait écrémé	900	—	50	—	52,5	18,4	—

Les courbes II, III, IV, V traduisent ces résultats.

Il existe un optimum de concentration alcoolique pour laquelle les quantités maxima sont extraites. De part et d'autre de cet optimum, la chute est brusque. Une petite partie des lipides ne peut être extraite.

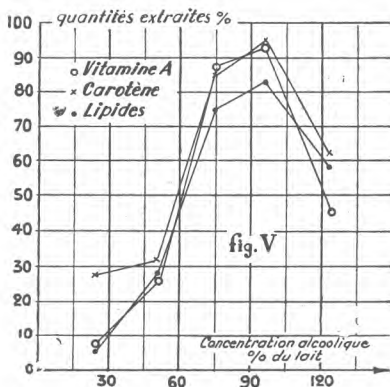
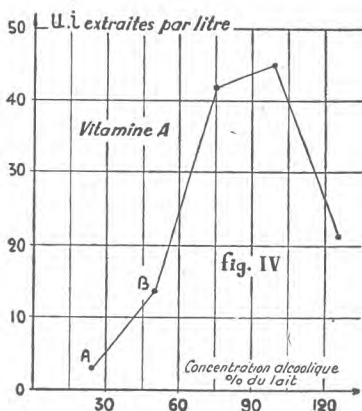
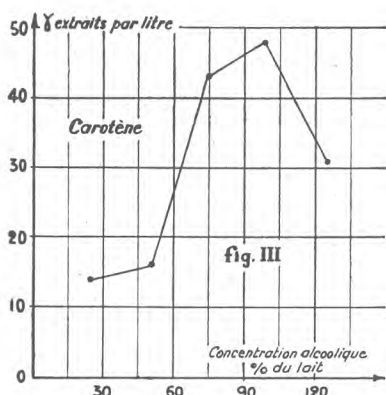
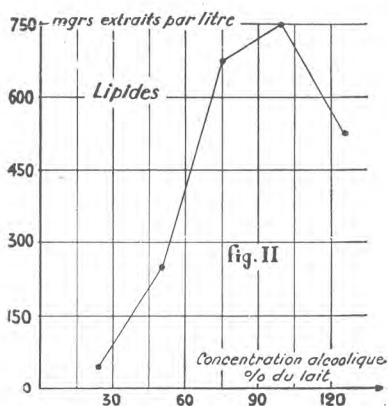
Ces caractéristiques de la courbe sont analogues à celles obtenues dans l'étude de l'extraction des lipides du sérum sanguin par le mélange alcool-éther (MACHEBŒUF et SANDOR). Dans ce cas, elles indiquent l'existence des lipides à l'état caché sous forme de cénapses lipo-protéiques. MACHEBŒUF et TAYEAU ont montré que de telles cénapses existent dans le lait, et que le cholestérol et la lécithine y participent particulièrement. Nous ajouterons que le carotène y participe également.

La mise en évidence de la vitamine A dans ces courbes n'est pas toujours possible (voir remarque page 115). D'ailleurs, la différence entre les teneurs des lipides du produit écrémé et du produit entier en facteurs A est surtout sensible en ce qui concerne le carotène.

Quoi qu'il en soit, le carotène et la vitamine A ne sont pas unis directement aux protides du lait écrémé. A côté d'une petite fraction qui demeure émulsionnée, ils participent à des cénapses dont lipides et protides sont les constituants principaux.

Aspect des protides en fonction de la concentration alcoolique.

L'alcool est un précipitant des protides, colloïdes hydrophiles



du lait. Son action résiderait en une déshydratation de ces protides. Pour les concentrations alcooliques où l'extraction est faible, les protides (caséine en particulier) sont peu coagulés. L'extraction brusque des lipides des facteurs A coïncide avec la floculation totale de la caséine.

E. A quelle fraction protéidique du lait sont unis les lipides.

Il semble que ce soit à la fraction protéines solubles (albumine + globuline) que sont unis les lipides.

Nous avons en effet préparé du lacto-sérum et du colostro-sérum par filtration sur bougie de Chamberland du lait et du colostrum écrémés. Malgré toutes les réserves qu'imposent cette méthode, les résultats montrent que le colostro-sérum retient davantage de lipides que le lacto-sérum (ceci à égalité de teneurs en lipides du lait et du colostrum écrémé).

TABLEAU VII
GRAMMES DE LIPIDES PAR LITRE

Lait écrémé	Lacto-sérum	Lipides % filtrés	Colostrum écrémé	Colostro- sérum	Lipides % filtrés
1,5	0,410	27,3	1,2	0,890	74,1

Or, le colostrum est riche en protéines « solubles » et, particulièrement, en globuline. On peut donc penser que les lipides filtrables à la bougie sont unis aux protéines solubles et plus spécialement à la globuline. (Le lacto-sérum et le colostro-sérum ne contiennent plus de globules visibles au microscope.) Il n'était pas possible d'effectuer les dosages de carotène et de vitamine A, probablement en raison de la destruction du facteur A par filtration sur bougie.

F. Aspect des protéïdes en fonction de la concentration alcoolique.

L'extraction optimum se fait lorsque les protides sont coagulés, alors que dans le cas du sérum sanguin, cette coagulation n'a pas lieu. La caséine est dénaturée lorsque commence l'extraction des lipides et des facteurs A. On ne peut évidemment se rendre compte de l'aspect de l'albumine et de la globuline du lait.

Quoi qu'il en soit, il semble que le carotène et la vitamine A sont solidement fixés aux complexes du lait écrémé. Jusqu'à une concentration de 75 % d'alcool, la décantation de l'extrait éthéré est aisée, la couche éthérée surmonte le lait non coagulé. Pour 100, 125 % il n'y a plus de couche éthérée distincte : il faut séparer le coagulum par filtration et le laver. On ajoute alors 200 cm³ d'éther au filtrat pour extraire les lipides, le carotène et la vitamine A.

Remarque. — Le dosage de la vitamine A dans le lait écrémé n'est pas toujours possible : il se produit quelquefois immédiatement une réaction de Carr et Price anormale : il se développe une coloration rose brune.

Cette coloration survient après la disparition de la coloration bleue, dans les réactions normales. Elle est vraisemblablement due à des produits de destruction de la vitamine A.

La même coloration se produit dans tous les cas lorsqu'on veut effectuer la réaction de Carr et Price sur les insaponifiables de sérum de fromagerie.

Notons que ces produits contiennent environ 30 γ de carotène par litre. C'est, en moyenne, la teneur du lait écrémé. Il ne semble pas que la caséine ait entraîné le carotène — ce qui confirme que ce

pigment est bien lié aux « protéines solubles » du lait (albumine et globuline).

Cette coloration anormale est enfin très nette avec certains insaponifiables de produits vitaminés A pour l'alimentation du bétail, où la vitamine A est apportée sous forme d'huile de foie de poisson que l'on mélange à des farines pulvérulentes.

G. Quantité de lipides, de carotène et de vitamine A liés.

La partie AB des courbes correspondrait à l'extraction des lipides émulsionnés et du carotène et de la vitamine A dissous dans ces lipides. La différence entre l'ordonnée maximum et l'ordonnée de B représenterait la quantité participant au complexe. Pour les lipides, elle serait de : 500 milligrammes, pour le carotène de 30 γ , pour la vitamine A de 30 U. I. (soit 10 γ).

Or, WILLSTEADT et WITH ont trouvé que le lait centrifugé contient précisément 10 γ de vitamine A par litre.

(A suivre.)

MÉTHODES EMPLOYÉES EN GRANDE-BRETAGNE CONTRE LA COAGULATION DES LAITS DE CONSOMMATION.

Le Plan national d'épreuve des laits et de conseils aux Professionnels (National Milk Testing and Advisory Scheme)

par

R. BAQUIAST

Ingénieur Agronome

Chef de Service Adjoint au Centre National du Commerce Extérieur.

Ainsi que l'expliquait, en mai 1942, le « Mémoire sur la Politique Laitière », présenté au Parlement Britannique par le Gouvernement de Sa Majesté [1], il entrerait dans la politique de l'Exécutif de maintenir, et si possible d'augmenter la production laitière et la consommation en nature par les enfants et les mères.

Cette augmentation de la consommation exigeait que soit améliorée la conservabilité des laits qui, détournés des utilisations industrielles, devaient être expédiés souvent à grande distance vers les centres de consommation. Cette amélioration a été réalisée par le « Plan National d'Épreuves des Laits et de Conseils aux Professionnels ». Ce plan n'intervient donc pas directement dans la lutte contre la tuberculose bovine, il limite son objectif à prévenir la pullulation de la flore acédigène ; par contre il s'applique à la totalité de l'approvisionnement en lait du Pays.