LE LAIT

REVUE GÉNÉRALE DES QUESTIONS LAITIÈRES

SOMMAIRE

Mémoires originaux :

E. KAHANE et M^{lle} J. LEVY.
— Les substances choliniques du lait 193

J. PIEN. — Le coefficient de rendement en fromagerie. Nécessité d'une définition nouvelle 224

Revue :

A. HOUDINIÈRE. — Le rôle du lait dans la transmission des brucelloses 232

Bibliographie analytique :

1^o Les livres 242
2^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 249

Bulletin bibliographique :

1^o Journaux, Revues, Sociétés savantes 283

Documents et informations :

Etat actuel du cheptel et de la production laitière en France (d'après E. LETARD) 286

MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

LES SUBSTANCES CHOLINIQUES DU LAIT (2)

par

M. ERNEST KAHANE et

M^{lle} JEANNE LÉVY

Maître de Conférences
à l'Ecole Nationale d'Agriculture
de Grignon

Professeur agrégé à la Faculté
de Médecine de Paris

INTRODUCTION

L'étude des phosphoaminolipides du lait a été traitée le plus souvent comme un simple problème de dosage du « phosphore lipidique ». Les délicates relations qui existent entre cette forme du phosphore et les constituants du groupe des phosphoaminolipides : lécithines, céphalines et sphingomyéline ont généralement été négligées, et c'est d'une façon à peu près arbitraire que les résultats ont été exprimés en lécithine.

La pauvreté relative du lait en substances lipidiques phosphorées et la difficulté de leur extraction correcte expliquent la rareté des travaux sur l'identité de ces substances et sur la nature des liaisons

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Ce travail, dont le présent mémoire constitue la version complète, a fait l'objet d'une communication présentée à l'Académie des Sciences le 18 décembre 1944, et d'une communication à la Société de Chimie biologique le 19 décembre 1944.

qu'elles subissent avec d'autres constituants du lait. En dépit du petit nombre de documents que l'on possède à ce sujet, il est certain en effet, qu'une partie importante du phosphore lipidique du lait appartient à des céphalines et non à des lécithines. Quant à l'état primitif des phosphoaminolipides dans le lait, il est fort mal connu, mais, par analogie avec les autres liquides biologiques, comme le plasma sanguin, la bile, etc., on peut douter qu'ils y existent en liberté.

Sans doute la meilleure façon d'étudier la nature des phosphoaminolipides serait-elle de les isoler, d'en séparer par analyse immédiate les constituants chimiquement définis, et d'établir la constitution de chacun de ceux-ci. Cette étude, qui est longue, délicate et incertaine dans tous les cas, l'est beaucoup plus dans celui du lait, dont il serait nécessaire de traiter des quantités importantes et dont l'état physique se prête mal aux techniques d'extraction classiques. Aussi avons-nous cru pouvoir apporter des documents utiles sur cette question en appliquant les méthodes de la chimie analytique ; seulement, au lieu de les appliquer comme cela a été fait jusqu'ici à la partie phosphorée de la molécule, nous avons appliqué à la partie azotée les méthodes que nous avons établies pour l'étude de la biochimie de la choline (1).

Rappelons que les phosphoaminolipides, c'est-à-dire les substances à la fois phosphorées et aminées présentant des caractères lipidiques (caractères chimiques : fonction ester, présence d'acides gras ; caractères physiques : insolubilité dans l'eau, solubilité dans la plupart des solvants organiques), semblent pouvoir se ramener aux trois types suivants, où R_1 et R_2 désignent des chaînes longues, saturées ou non saturées :

(1) Nos travaux ont donné lieu à la publication de dix-neuf mémoires au *Bulletin de la Société de Chimie biologique*, sous le titre général « Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés » (1936-1945) et de quatre monographies sous le titre « Biochimie de la choline et de ses dérivés ». Hermann et Cie, éditeurs.

Sphingomyéline :

On voit que la choline : $\text{HO-N(CH}^3\text{)}^3\text{CH}^2\text{CH}^2\text{OH}$, constitue la base azotée unique des lécithines et l'une des deux bases azotées de la sphingomyéline, qui est un monophosphodiaminolipide. Quant aux céphalines qui ne contiennent pas de choline, elles sont à base de colamine : $\text{NH}^2\text{-CH}^2\text{-CH}^2\text{OH}$, qui est une proche parente de la choline, à laquelle elle conduit par méthylation totale à l'azote.

La choline existe à l'état de liberté dans la plupart des substances biologiques, mais généralement en faible quantité. Elle existe également dans certaines de ces substances à l'état d'ester acétique ou acétylcholine (hormone vagale, transmetteur chimique de l'influx parasympathique), mais, sauf de rares exceptions, c'est en traces infinitésimales, décelables seulement grâce à l'intense activité physiologique de ce corps. Enfin, nous avons mis en évidence dans beaucoup de tissus animaux une forme hydrosoluble de la choline combinée, dont la nature n'est pas encore connue mais qui paraît être, au moins dans certains cas, l'ester glycérophosphorique de la choline (1) (E. KAHANE et Jeanne LÉVY, 1938).

S'il n'est pas légitime de calculer en lécithine la totalité du phosphore lipidique, il n'est donc pas légitime non plus de calculer en lécithine, ni même d'attribuer aux phosphoaminolipides la totalité de la choline que l'on peut extraire d'une substance biologique déterminée. Il n'est pas davantage permis de considérer qu'il y a une relation quelconque entre la ou les fonctions physiologiques des formes non lipidiques de la choline, et celles de ses formes lipi-

(1) Signalons encore l'ester sinapique de la choline entrant dans la composition de l'hétéroside de la moutarde noire, l'ester phosphorique de la choline trouvé dans le foie de bœuf, et des esters mal déterminés entrevus dans le rein, le cerveau, etc.

diques : lécithine et sphingomyéline, fonctions presque complètement inconnues les unes comme les autres (1).

Il est cependant vraisemblable qu'il y a au moins du point de vue biochimique de leur édification et de leur dégradation, une certaine relation entre ces formes différentes de la choline (E. KAHANE, 1937).

L'incapacité de l'organisme animal à faire la synthèse de la choline, qui est rendue vraisemblable par les expériences sur la carence en choline, est un puissant argument à cet égard. S'il existe effectivement une pareille relation biochimique, l'étude commune des substances choliniques se trouve justifiée, et la parenté de cette étude avec l'étude directe des phosphoaminolipides se trouve établie.

Il faut également noter l'intérêt physiologique et physico-chimique des phosphoaminolipides auxquels on a attribué un rôle essentiel dans la formation du globule gras du lait aux dépens de la glande mammaire (LAXA, 1913, 1923, 1930) (2), dans l'équilibre de membrane du globule gras, et enfin, tout récemment, dans l'apparition de la « saveur oxydée » du lait.

Peu de travaux ont été consacrés jusqu'ici à la choline du lait : si ce n'est dans deux publications de MULLER (1925, 1926) dans une note de TOLKATSCHESKA (1926) où la question de la choline est traitée d'une façon tout à fait accidentelle et accessoire, dans un travail de VAUBEL (1928) et dans celui de SILBER (1930), nous n'avons trouvé aucune mention de la présence de choline libre dans le lait, pas plus que de son absence.

De plus, aucun de ces travaux, à l'exception de celui de SILBER qui manque de précision, n'apporte de données quantitatives sur le taux de la choline extraite à l'état de dérivé caractéristique.

Quant à la choline combinée, qui est implicitement identifiée aux deux phosphoaminolipides choliniques : lécithine et sphingomyéline, elle a rarement été caractérisée en tant que choline, et les meilleurs renseignements que l'on possède à son sujet résultent de la séparation des lécithines et des céphalines du lait (KOCH et WOODS, 1905 ; KOCH, 1906 ; BISCHOFF, 1928 ; REWALD, 1939 ; KURTZ et HOLM, 1939). Quelques auteurs : OSBORNE et WAKEMAN, 1914 ;

(1) La choline libre ou non des aliments semble jouer le rôle d'un facteur alimentaire indispensable. Les régimes pauvres en choline provoquent chez le rat, la souris, le lapin, le chien, etc., une dégénérescence graisseuse du foie, vis-à-vis de laquelle la choline et nombre des substances qui lui sont apparentées agissent préventivement et curativement (revue dans BEST et RIDOUT, 1939). Il est particulièrement intéressant, étant donnée l'importance fondamentale du lait comme aliment, de connaître à cet égard sa valeur, qui n'a jamais été déterminée.

(2) Voir également à ce sujet les travaux récents de SHAW et PETERSEN (1938) et de MAYNARD et Collaborateurs (1938).

SARAKI et HARATSUKA, 1931 ; DIEMAIR, BLEYER et OTT, 1934, ont cependant identifié chimiquement la choline dans les produits d'hydrolyse de phosphoaminolipides extraits en particulier du coagulum formé à l'ébullition et de la poudre de lait.

En somme, aucun travail d'ensemble n'a été publié au sujet de la teneur du lait en substances choliniques, de la nature et de la répartition de celles-ci. Tant pour réparer cette lacune que pour compléter notre enquête sur la biochimie de la choline et de ses dérivés, nous avons entrepris de doser la choline libre, la choline hydrosoluble totale et la choline totale de nombreux échantillons de lait de vache, ainsi que de quelques laits de femme et de brebis. Nous avons recherché s'il existe une relation entre le taux de ces constituants et la race, l'âge ou l'alimentation de l'animal, la saison, la phase de la lactation, la teneur en matières grasses, la conservation de l'échantillon, etc.. Enfin, nous avons étudié la répartition des différentes formes de la choline entre les éléments du lait.

MÉTHODES ANALYTIQUES

1. *Prélèvements.* — La plupart des analyses ont été faites dans les premières minutes qui ont suivi la traite (mécanique ou à la main) (1). De nombreuses expériences ont été faites sur des portions différentes de la traite. Il s'agissait alors de traite à la main, et les trois prélèvements ont porté : 1° sur les 100 premiers centimètres cubes de lait tirés des quatre trayons ; 2° sur l'ensemble de la traite ; 3° sur les 50 à 200 derniers centimètres cubes tirés des quatre trayons.

2. *Dosage de la choline.* — La choline est dosée d'après la dilution limite de disparition de la réaction de Florence (observation au microscope des cristaux de periodure de choline), suivant la technique précédemment publiée (E. KAHANE et Jeanne LÉVY, 8^e mémoire, 1939).

Certains échantillons qui contenaient trop peu de choline, et quelques autres sur lesquels nous voulions obtenir par recoupement une identification de la choline dosée, ont été soumis à l'analyse biologique : acétylation de l'extrait et essai de l'acétylcholine formée sur le muscle de sangsue esériné ou sur l'intestin isolé de rat.

3. *Extraction de la choline libre.* — Une prise d'essai de 10 cm³ de lait est étendue à 100 cm³ et additionnée de 5 cm³ d'une solution de sulfate ferrique à 50% et de 2 gr. 5 de carbonate de calcium (2). Le mélange est porté à l'ébullition, puis le précipité, composé de sulfate de calcium, d'hydroxyde de fer et de toutes les substances insolubles, peu solubles ou adsorbables éliminées par cette défécation est filtré ou essoré et lavé à l'eau bouillante. Le filtrat, qui est incolore, est évaporé à siccité. Le résidu de cette évaporation

(1) Presque tous les laits proviennent de l'Ecole Nationale d'Agriculture de Grignon. Nous remercions chaleureusement de son obligeance le personnel de cette Ecole, qui a facilité tous nos prélèvements.

(2) La défécation du lait par l'hydroxyde de fer colloïdal a déjà été utilisée par SILBER (1930).

est repris quantitativement dans quelques centimètres cubes d'eau et la solution filtrée (1) est utilisée pour le dosage de la choline libre.

4. *Extraction de la choline hydrosoluble totale.* — Le liquide ainsi obtenu par défécation ferrique contient en général, à côté de la choline libre, une substance ou un groupe de substances distinctes des phosphoaminolipides, pouvant fournir de la choline par hydrolyse. En attendant leur identification, qui est en cours, nous les désignons sous le nom de « choline hydrosoluble combinée ». Cette forme de la choline et la choline libre peuvent être séparées par différentes méthodes, et en particulier par précipitation de cette dernière à l'état de reineckate (chromidiammoniotétrasyanure) de choline $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{C}_2\text{H}_4\text{OH}$. Dans le lait, nous les avons dosées en commun, après hydrolyse, et la choline hydrosoluble combinée a été appréciée par différence.

Le liquide ayant servi, ou dont une portion aliquote a servi pour le dosage de la choline libre, est additionné d'un volume égal d'acide chlorhydrique concentré, d. 1,19, puis il est porté à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 4 heures. Il est ensuite évaporé à siccité. Le résidu, repris par l'eau, filtré et au besoin concentré est utilisé pour le dosage de la choline hydrosoluble totale.

5. *Extraction de la choline non hydrosoluble.* — Jusqu'à plus ample informé, nous évitons d'appeler choline lipidique la choline non hydrosoluble, qui se trouve dans le précipité de défécation ferrique.

Le dosage de la choline ne peut pas être effectué commodément sur le liquide d'hydrolyse chlorhydrique de ce précipité, car les sels de fer et le chlorure de calcium perturbent nos dosages. Nous n'avons pas obtenu non plus de bons résultats par attaque sulfurique directe ou après élimination de l'hydroxyde de fer par l'acide chlorhydrique.

Aussi renonçons-nous provisoirement à doser directement la choline non hydrosoluble, et nous contentons-nous de l'apprécier par différence entre la choline totale et la choline hydrosoluble.

6. *Extraction de la choline totale.* — Nous avons utilisé l'hydrolyse chlorhydrique et l'hydrolyse sulfurique. Celle-ci donne régulièrement de bons résultats, et c'est la méthode que nous recommandons (2).

a) 2 cm³ de lait sont traités par 10 cm³ d'acide chlorhydrique au demi. L'hydrolyse du lait total se fait comme celle de l'extrait obtenu par défécation ferrique : ébullition pendant 4 heures, évaporation à siccité, reprise à l'eau, défécation (2 cm³ de la solution ferrique et 1 cm³ de carbonate de calcium), filtration, évaporation à siccité, reprise par quelques centimètres cubes d'eau, filtration et dosage de la choline totale.

Le dosage par dilution limite de la réaction de Florence est parfois difficile après cette série d'opérations. Il est amélioré par un traitement alcalin de l'extrait hydrolysé et déféqué. Celui-ci est additionné de 5 cm³ d'eau de baryte saturée, et porté pendant 1 heure à l'ébullition, puis la baryte est précipitée par un courant de gaz carbonique. Même après cette opération, il

(1) L'insoluble, composé en majeure partie de sulfate de calcium, ne contient de choline sous aucune forme.

(2) L'étude de cette méthode fait l'objet d'un douzième mémoire au *Bulletin de la Société de Chimie biologique*, qui est actuellement en cours d'impression.

arrive que les cristaux de Florence apparaissent mal. Sans doute se forme-t-il en abondance, au cours de l'hydrolyse chlorhydrique, les « substances empêchantes » de la réaction de Florence qui ont été étudiées par M^{me} CARAYON-GENTIL (1940).

b) 2 cm³ de lait sont traités dans une capsule par 1 cm³ d'acide sulfurique concentré, d. 1,81. La capsule est abandonnée pendant 24 heures dans une étuve aérée, réglée à 100-110°. Il se produit une carbonisation partielle de la matière organique et la choline passe en grande partie à l'état d'ester sulfurique, qui est hydrolysable en milieu acide dilué. Le contenu de la capsule est repris par 50 cm³ d'eau, et le liquide est maintenu à l'ébullition, au réfrigérant à reflux, pendant 8 heures. Il est neutralisé par du carbonate de calcium utilisé en large excès : 4 grammes environ, déféqué à l'ébullition par addition à la suspension de 2 cm³ de la solution à 50% de sulfate ferrique, filtré et évaporé. Le résidu, repris par l'eau et filtré, est utilisé pour le dosage de la choline par les mêmes méthodes que ci-dessus.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX ET DISCUSSION

1. *Validité de la méthode.* — Comme nous l'avons fait dans nos travaux

TABLEAU I (1)
TENEUR DU LAIT EN CHOLINE LIBRE ET CHOLINE HYDROSOLUBLE APRÈS
DES TRAITEMENTS DIVERS

Echantillon	Traitement	Choline libre en mgr. par litre	Choline hydrosolu- ble totale en mgr. par litre
N° 68	Défécation de 1 cm ³	7	30
	Défécation de 5 cm ³	6	16
N° 69	Défécation de 1 cm ³	7	37
	Défécation de 5 cm ³	5	33
N° 69 H ..	Défécation de 1 cm ³	64	120
	Défécation de 10 cm ³	65	125
N° 7	Défécation de 10 cm ³ à froid	21	170
	Défécation de 10 cm ³ à l'ébullition	17	130
N° 29	Défécation de 10 cm ³ à froid	25	140
	Défécation de 10 cm ³ à l'ébullition	19	120
N° 87 A ..	Défécation de 10 cm ³ de lait entier	16	75
	Défécation de 10 cm ³ de lait d'après ADAM	16	70
N° 87 K ..	Défécation de 10 cm ³ de lait entier	13	75
	Défécation de 10 cm ³ de lait d'après ADAM	9	60

(1) Les résultats sont exprimés en ion choline +N (CH₃)₃CH⁺·CH₂·OH et doivent être multipliés par 1,16 pour l'hydroxyde et par 1,34 pour le chlorure.

précédents sur les substances choliniques du sang et des tissus, nous nous sommes assurés que les chiffres trouvés pour la choline libre et la choline hydrosoluble totale du lait ne sont pas sous la dépendance étroite du mode opératoire adopté.

Nous avons : 1° opéré sur des volumes variables de lait, toutes les autres conditions restant identiques ; 2° opéré la défécation à froid ou à l'ébullition ; 3° opéré sur le lait normal ou sur le sérum provenant de l'extraction des matières grasses par le procédé d'Adam. Etant donné l'approximation de notre méthode de dosage, l'accord des résultats est satisfaisant (tableau I) et nous en déduisons que nos chiffres correspondent effectivement à la composition de la substance étudiée.

2. *Choline libre et choline hydrosoluble du lait normal.* — L'ensemble des résultats obtenus est réuni dans le tableau II (1). Ils ont été groupés pour chaque animal étudié, d'après la date du prélèvement. L'ensemble des prélèvements s'est étagé sur une année presque entière, du mois d'octobre 1938 au mois d'août 1939 et ils ont été interrompus par la mobilisation.

Bien que le cycle annuel ne soit pas entièrement fermé, il est permis d'affirmer qu'il n'y a pas de différences saisonnières systématiques dans le taux des substances choliniques du lait et par conséquent que l'alimentation n'a pas une influence fondamentale à cet égard. La race et l'âge de l'animal ne paraissent pas avoir d'influence non plus et il en est de même pour la phase de la lactation, à l'exception peut-être de la période du vêlage où la teneur en choline libre est régulièrement plus faible. Le colostrum offre quelquefois, comme on le verra plus loin, une richesse particulière en choline hydrosoluble combinée et en choline totale.

La choline hydrosoluble combinée du lait se rapproche vraisemblablement par sa composition de celle que nous avons trouvée en premier lieu dans le sperme, puis dans de nombreux organes, et en abondance, dans les muscles d'un mollusque, la Patelle, car elle est rapidement dégradée en choline libre pour l'enzyme de la prostate ou de l'intestin.

Les variations, d'un prélèvement à l'autre, sont considérables puisque la teneur en choline libre va de 0 à 75 milligrammes par litre et la teneur en choline hydrosoluble de 15 à 170 milligrammes. Ce ne sont pas de véritables variations individuelles, car l'amplitude des différences observées chez le même animal est du même ordre que d'un animal à l'autre. Ces variations ne paraissent pas directement imputables à l'alimentation, car il n'y a aucune relation apparente entre les résultats obtenus au même moment sur plusieurs vaches de la même étable, soumises au même régime.

Dans la mesure où il est permis d'établir des moyennes entre des chiffres aussi différents, on peut donner comme taux moyen de la

(1) Quelques dosages ont été faits sur des laits moyens.

choline libre 15 milligrammes par litre (moyenne de 44 dosages) et de la choline hydrosoluble 50 milligrammes par litre (moyenne de 38 dosages). Le lait contient donc, à côté de la choline des phospho-amino-lipides, forme classique de la choline, de la choline libre, qui avait déjà été signalée mais non dosée, et la forme hydrosoluble de la choline combinée que nous avons déjà trouvée dans nombre de substances biologiques. Le taux de cette forme de la choline est donc, en moyenne, de $50-15 = 35$ milligrammes par litre (1).

TABLEAU II

TENEUR DU LAIT EN CHOLINE LIBRE ET EN CHOLINE HYDROSOLUBLE TOTALE

Nom de l'animal	Race	Date du part	Date du prélèvement	Choline libre en mgr. par litre	Choline hydrosol. totale en mgr. par litre
Goutte	Normande	6-3-39	12-10-38	15	15
			18-10-38	30	
			25-10-38	26	
			22-11-38	32	45
			13-12-38	10	90
Herminette	Normande	10-12-38	25-10-38	68	
Jatte	Normande		25-10-38	1	
Insensée	Normande	21-2-39	25-10-38	11	
			13-12-38	15	80
			28-2-39	tr.	35
Irritée	Normande		8-11-38	20	130
			6-12-38	22	130
			4-1-39	75	170
			10-1-39	30	30
Javelle	Normande	5-11-38	8-11-38	tr.	36
			22-11-38	5	25
			6-12-38	6	
			13-12-38	30	80
			4-1-39	5	33
			31-1-39	20	37
			29-3-39	11	15

(1) SILBER, appliquant une méthode d'acétylation et de dosage biologique avait trouvé de 15 à 30 mgr. de choline par litre de lait de vache, mais il est impossible de savoir dans quelle mesure ce que nous appelons « choline hydrosoluble combinée » est compris ou non dans ce dosage.

TABLEAU II (*suite*)

Nom de l'animal	Race	Date du part	Date du prélèvement	Choline libre en mgr. par litre	Choline hydrosol. totale en mgr. par litre
Ismare	Normande	4-12-38	6-12-38 13-12-38 4-1-39 25-1-39 31-1-39	11 1 3 6 tr.	170 33 57 22 22
Mélo die	Hollandaise	5-9-39	10-1-39	15	30
Y		21-1-39	25-1-39 31-1-39	6 8	36 43
Martine	Hollandaise		14-2-39	13	145
Yvette	Normande	10-9-39	14-2-39 10-5-39	15 15	75 22
Dorette	Flamande	15-10-38	29-3-39	13	60
Mata	Hollandaise	14-12-39	29-3-39 27-4-39	10 15	20 20
Molette	Hollandaise	18-3-39	18-4-39	5	15
Ivraie	Normande		4-7-39	10	50
Z	Hollandaise		14-6-39 21-6-39 27-6-39	13 8 8	20 15 25
Lait moyen de la traite du matin			7-6-39	5	20
Lait moyen de la traite du soir			7-6-39	8	20
Lait moyen de la traite du matin			4-7-39	17	24
Lait Maggi			18-11-38	33	50
Moyenne				15	50

D'une façon générale, on peut déduire de ces chiffres que le lait est assez pauvre en substances choliniques hydrosolubles. Nous avons montré en 1939 (9^e mémoire) que le sang de vache contient

30 milligrammes de choline hydrosoluble par litre, entièrement à l'état libre (le résultat était dû même ordre chez le bœuf et le taureau, il était beaucoup plus élevé chez le veau : 50 à 120 milligrammes). Dans notre 10^e mémoire du *Bulletin de la Société de Chimie biologique*, nous avons réuni quelques chiffres obtenus sur différents organes d'animaux de laboratoire. A part le muscle et les organes purement musculaires comme le cœur ou l'utérus, ainsi que le tissu osseux et le tissu adipeux, qui sont plus pauvres en choline libre et en choline hydrosoluble totale que le lait, tous les organes étudiés en contiennent une quantité beaucoup plus élevée, atteignant par exemple, jusqu'à 0 mgr. 5 de choline libre par gramme pour un pancréas de chien, et 2 mgr. 5 de choline hydrosoluble totale par gramme pour des vésicules séminales de rat. Ces résultats accusent des variations considérables, non seulement d'un organe à l'autre et d'une espèce à l'autre, mais aussi d'un individu à l'autre. A la suite de notre enquête sur le lait, nous sommes tentés de nous demander si ces variations ne s'observeraient pas avec la même amplitude chez le même individu suivant le moment du prélèvement et ne tiendraient pas à des différences d'état physiologique que nous n'avons pas su éclaircir.

3. *Choline totale du lait.* — Le dosage de la choline totale offrait certaines difficultés qui n'ont pu être levées que par l'emploi d'une méthode particulière d'hydrolyse (attaque sulfurique brutale). Cette méthode n'ayant pas été mise au point en temps utile, le dosage de la choline totale n'a pas été effectué sur les échantillons de lait prélevés en 1938-1939. D'assez nombreux dosages ont été effectués depuis août 1939. Quelques-uns des résultats obtenus sont réunis dans le tableau III, qui renferme également les chiffres de choline libre et hydrosoluble, lorsque ceux-ci ont été déterminés.

TABLEAU III
CHOLINE LIBRE, HYDROSOLUBLE ET TOTALE DU LAIT

Echantillon	Date du prélèvement	Choline en mgr. par litre		
		libre	hydrosol.	totale
1 lait moyen de ferme	23-8-39	3,2	35	220
2 lait Maggi	13-3-40	32	63	160
27 lait moyen de ferme . . .	22-4-40		43	187
69 lait moyen de Grignon .	1-10-40	58	145	230
79 lait moyen de Grignon .	22-10-40	8	130	255
83 bis lait moyen de Grignon .	18-11-40	16	145	225
90 lait moyen de Grignon .				280
Moyenne		23	93	222

Comme on le voit, l'amplitude des variations individuelles est beaucoup plus faible pour la choline totale que pour les autres formes de choline précédemment dosées. Pour celles-ci on trouve dans cette nouvelle série de résultats des chiffres compris entre 3 mgr. 2 et 58 milligrammes par litre pour la choline libre, avec une moyenne de 23 milligrammes (sur 5 dosages) et des chiffres compris entre 35 et 144 milligrammes par litre pour la choline hydrosoluble, avec une moyenne de 93 milligrammes (sur 6 dosages). Par contre, les chiffres de choline ne varient qu'entre 160 et 280 milligrammes par litre, avec une moyenne de 222 milligrammes (sur 7 dosages).

On remarquera que les valeurs trouvées pour la choline hydrosoluble sont beaucoup plus élevées dans cette série d'expériences que dans celle qui fait l'objet du paragraphe précédent. C'est sans doute parce que celles-ci ont été faites depuis la guerre, dans des conditions plus difficiles et que les dosages n'ont pas pu être exécutés immédiatement. Il y a peut-être eu une certaine dégradation de la choline non hydrosoluble en choline hydrosoluble combinée, analogue à celle que nous avons étudiée pour l'intestin (1). Nous nous proposons de revenir là-dessus aussitôt que les conditions de travail seront redevenues plus favorables.

La différence entre la choline totale et la choline hydrosoluble, qui est de 129 milligrammes par litre (calculée sur les moyennes) est désignée provisoirement par nous sous le nom de « choline non hydrosoluble ». Elle comprend la choline des phosphoaminolipides (« choline lipidique ») mais nous avons lieu de penser qu'elle pourrait ne pas comprendre cette forme de choline seulement. Le taux de la choline hydrosoluble étant douteux du fait du traitement tardif, le chiffre ainsi trouvé doit être considéré comme un minimum.

Si nous attribuons, comme LOBSTEIN et FLATTER (1935), un poids moléculaire moyen de 775 aux lécithines du lait, nous devons multiplier par $775/104 = 7,45$ les taux d'ion-choline pour les exprimer en lécithine. On trouverait ainsi des chiffres compris entre 1 gr. 19 et 2 gr. 08 avec une moyenne de 1 gr. 66 pour les phosphoaminolipides choliniques du litre de lait, calculés d'après la choline totale. A ces chiffres devraient s'ajouter les céphalines, dont KOCH et WOODS (1905) admettent qu'elles forment 43%, BISCHOFF (1928) 31%, LOBSTEIN et FLATTER 25%, HOLM, WRIGHT et DEYSHER (1936) 32% et REWALD (1937) 42% des phosphoaminolipides du lait. Ceux-ci atteindraient ainsi des valeurs beaucoup plus élevées que celles de la littérature.

Le dosage des phosphoaminolipides consiste presque toujours en un dosage de P lipidique, pratiqué sur un extrait alcoolique ou alcool-étheré,

(1) E. KAHANE et Jeanne LÉVY (16^e mémoire, en cours d'impression au *Bulletin de la Société de Chimie biologique*).

éaporé et repris par l'éther de pétrole ou le chloroforme. Les épuisements sont particulièrement délicats dans le cas du lait, qu'il est nécessaire d'acidifier ou d'alcaliniser assez fortement, si bien que d'assez nombreuses techniques ont été décrites, et REWALD (1937) a fait une bonne revue critique de la plupart d'entre elles. Parmi les plus connues, GRIMMER citait en 1910 celles de NERKING et HÄNSEL (1908) et de BUROW (1900). Il convient de leur ajouter celles de BORDAS et RACSKOWSKY (1902) que citent DORNIC et CHOLLET (1926) et les méthodes plus récentes de BRODRICK-PITTARD (1914), de MOJONNIER (1925) (modification de la méthode de Rose-Gottlieb), de LOBSTEIN et FLATTER (1935), de DESSIRIER (1939) et enfin de BURNIANA et FURTUNESCO (1941) qui réhabilitent l'emploi pour le lait de la technique de BLOOR (1915), classique pour le sang.

La critique expérimentale de certaines de ces méthodes a été faite par BRODRICK-PITTARD (1915), HESS et HELMAN (1915), LOBSTEIN et FLATTER (1935) et enfin par BURNIANA et FURTUNESCO (1941).

LOBSTEIN et FLATTER d'une part, REWALD de l'autre, ont déjà attiré l'attention sur les variations très étendues du taux des phosphoaminolipides du lait déterminé par les différents auteurs. Ces variations sont d'autant plus remarquables qu'elles contrastent avec la constance des résultats obtenus par chacun d'eux. Les valeurs extrêmes sont, d'après LOBSTEIN et FLATTER qui donnent un aperçu assez détaillé des travaux antérieurs, de 0,23 à 1,50, avec une moyenne de 0 gr. 65 par litre.

Encore, ces auteurs ne tiennent-ils pas compte des résultats entièrement négatifs de SCHLOSSMANN (1905) et de NJEGOVAN (1913). En dehors des déterminations dont ils font état dans leur publication, nous trouvons les chiffres de VAGELER (1909) : 1,12, de LAXA (1913) : 0,60, de PERLMAN (1935) : 0,30, de HOLM, WRIGHT et DEYSHER (1933) : 1,55, et depuis cette publication les chiffres de LOBSTEIN et FLATTER aux-mêmes : 0,30, de REWALD (1937) : 0,31, de Dessirier (1939) : 0,62, et enfin, de BURNIANA et FURTUNESCO (1941) : 1 gr. 65 par litre.

La différence entre les plus élevés de ces résultats et les nôtres serait entièrement inexplicable si nous n'avions pas trouvé dans le lait une forte quantité de choline hydrosoluble, qui n'appartient pas aux phosphoaminolipides. En calculant ceux-ci uniquement d'après le taux de la choline non hydrosoluble, nous trouvons une moyenne de 1 gramme si nous rapportons la choline à la lécithine oléo-stéarique de poids moléculaire 805. A 1 gramme de phosphoaminolipides choliniques, correspondraient environ 1 gr. 6 de phosphoaminolipides totaux, c'est-à-dire un chiffre égal au plus élevé de ceux qui ont été trouvés d'après le dosage du P lipidique lui-même. Ce résultat est assez troublant et contribue à nous faire penser qu'une partie de cette choline pourrait appartenir à des composés distincts des phosphoaminolipides classiques.

4. *Conservation du lait.* — En général, la répartition des substances choliniques est peu modifiée au cours des premières heures de la conservation du lait. Il y a parfois des modifications sensibles mais il semble bien que ce soit sous l'influence d'un développement bactérien, lié aux mauvaises conditions du prélèvement. Cet accident est plus fréquent avec la traite mécanique qu'avec la traite à la main et il est entravé par l'addition d'eau chloroformée (le thymol ne nous a pas donné de bons résultats). En l'absence de chloroforme, l'altération se traduit par une augmentation sensible de la choline hydrosoluble combinée, mais non de la choline libre.

L'augmentation de la choline hydrosoluble ainsi constatée est en accord avec les données de la littérature : BORDAS et RACZOWSKY (1903) observent une diminution des lécithines dans les laits chauffés, VAGELER (1909) une légère diminution du P lipidique au cours d'un chauffage même très bref à 100°. PERLMAN (1935), n'observe ce phénomène que dans la mesure où les bactéries pullulent

TABLEAU IV
INFLUENCE DE LA CONSERVATION

Echantillon	Durée de la conservation	Choline libre en mgr. par litre	Choline hydrosoluble en mgr. par litre
N° 1	0	15	15
	1 heure	18	37
	24 heures	18	53
N° 68	5 minutes	6	23
	3 heures	7	54
N° 8	1 heure	tr.	36
	36 heures	2	33
N° 7	0	18	110
	36 heures	33	120
	4 jours	50	130
4 A	15 minutes	27	
	4 heures	28	
	42 heures	27	
4 B	15 minutes	58	
	4 heures	64	
	42 heures	68	

dans le lait, comme nous n'observons nous-mêmes d'augmentation de la choline hydrosoluble qu'en l'absence d'antiseptiques. Voici quelques résultats (tableau IV).

Il résulte de ces observations, que le lait ne contient ni lécithase, qui ferait apparaître de la choline hydrosoluble aux dépens de la choline lipidique même en présence des antiseptiques, ni la diastase particulière qui fait apparaître la choline libre aux dépens de la choline hydrosoluble et que nous avons trouvée dans de nombreux organes, et notamment dans la prostate et l'intestin (1).

On sait que le lait contient une phosphatase active sur les glycérophosphates ou les phénylphosphates. Cette phosphatase hydrolyserait vraisemblablement de même l'ester phosphorique de la choline. Comme la choline hydrosoluble combinée du lait n'est pas dégradée durant la conservation du lait, on peut en déduire un argument indirect contre l'assimilation de cette forme de la choline à un simple ester phosphorique.

Le séjour prolongé à l'ébullition et surtout la dessiccation amènent des changements importants de la répartition des substances choliniques du lait. Cependant, sur un échantillon de lait concentré Nestlé, nous n'avons trouvé que 12 milligrammes de choline libre, rapportée au litre de lait primitif.

5. *Choline des parties du lait.* — Nous avons étudié la répartition des différentes formes de la choline entre la crème et le lait écrémé.

Comme cela était vraisemblable à priori, la choline hydrosoluble (libre et combinée) se trouve en presque totalité dans la phase aqueuse, et les petites quantités retrouvées dans la crème appartiennent sans doute en majeure partie au liquide aqueux que retient celle-ci. Cette conclusion est en accord avec celle qui résulte de la comparaison entre le lait entier et le lait délipidé par la méthode d'Adam (tableau I).

Il est plus remarquable de constater que la choline totale elle-même est trouvée en majeure partie dans le lait écrémé et non dans la suspension des globules gras. Cette observation sera discutée plus longuement au paragraphe suivant.

Dans le tableau V, les résultats sont rapportés au litre de lait primitif et non aux volumes de crème et de lait écrémé recueillis. En moyenne, il y a 2 milligrammes de choline libre dans la crème de 1 litre de lait contre 28 dans le lait écrémé, et 6 milligrammes de choline hydrosoluble totale contre 49. La choline totale a été de 26 milligrammes dans une détermination sur la crème de 1 litre de

(1) Ernest KAHANE et Jeanne LÉVY (6^e mémoire et suivants).

lait et elle est en moyenne de 188 milligrammes dans le lait écrémé (1).

Les résultats sont sensiblement identiques quel que soit le procédé de séparation de la crème adopté, et quel que soit le délai au bout duquel se fait cette séparation.

TABLEAU V
CHOLINE DE LA CRÈME ET DU LAIT ÉCRÉMÉ

Echantillon	Mode d'écémage	Choline de la crème en mgr. par litre de lait			Choline du lait écémé en mgr. par litre de lait		
		libre	hydro- sol ble	totale	libre	hydro- soluble	totale
45.....	Centrifugation immédiate	1,5	4		17	40	
46.....	Centrifugation immédiate	tr.	5		1,5	48	
60.....	Centrifugation immédiate	2	12		11	43	
126.....	Centrifugation après 3 h.	3	3		13	17	
7.....	Dilution par l'eau chloro- formée et décantation après 18 heures	1,5	6		43	75	
43.....	Dilution par l'eau bicarbo- natée et décantation après 18 heures	3	8		52	65	
181.....	Écémage de la ferme de Grignon	2	3		15	27	
72 H ..	Écémage de la ferme de Grignon				74	75	150
83 H ..	Écémage de la ferme de Grignon						225
90 H ..	Écémage de la ferme de Grignon			26			190
Moyenne.....		2	6	26	28	49	188

Nous n'avons pas étudié la choline de la crème en fonction de la concentration des globules gras, et nous ne pouvons pas comparer nos chiffres à ceux des auteurs comme PERLMAN (1935) qui ont dosé les phosphoaminolipides de la crème. Nous n'observons rien qui soit en accord avec les intéressants phénomènes d'accumulation, puis de libération des phosphoaminolipides par les globules gras que signale en particulier PERLMAN. Il est vrai que non seulement notre méthode ne tient compte que des constituants cho-

(1) Sur le lait écémé de la laiterie de Grignon, nous avons trouvé 74, 75 et 150 mgr. par litre pour la choline libre, la choline hydrosoluble totale et la choline totale (8/10/40).

liniques de ces corps, mais aussi sa sensibilité dans les conditions où nous l'avons utilisée, est insuffisante pour que nous puissions observer un phénomène quantitativement assez faible. La question mérite d'être reprise et nous nous proposons de le faire avec une technique améliorée.

Nous avons également négligé l'étude du babeurre et de la boue d'écrémeuse dont la teneur en phosphoaminolipides est plus élevée que celle du lait écrémé, au dire de tous les auteurs qui les ont examinés : DORNIC et DAIRE (1910), LAXA (1913), DAIRE (1914), CHAPMAN (1928), THURSTON et PETERSON (1928), MOHR, BRACKMANN et MULLER (1932), HOLM, WRIGHT et DEYSHER (1935, 1936), HORRALL (1935), HEINEMAN (1939) (méthode dans GRIMMER, ECKARDT et GEIDEL (1937)) (1).

Ce point est important, car il semble, d'après ces chimistes, apporter une confirmation de l'hypothèse de la membrane phosphoaminolipidique des globules gras.

Si les expériences que nous nous proposons d'entreprendre confirment, d'une part celles de ces auteurs, d'autre part les nôtres, d'après lesquelles la teneur en choline totale de la crème ne serait que la somme de la choline retenue par le beurre et de la choline d'un plasma identique au lait écrémé, il faudrait supposer que la surcharge en phosphoaminolipides du babeurre est due exclusivement aux céphalines, qui concourraient seules à la formation de la couche superficielle du globule gras. Cette importante notion mérite une étude attentive, pour laquelle nous groupons des méthodes d'étude de la colamine. Elle est peut-être à rapprocher de l'assertion de LAXA (1923) d'après lequel les phosphoaminolipides de la glande mammaire, dans lesquels il voit les précurseurs de ceux des globules gras du lait, seraient constitués en majeure partie par des céphalines.

6. *Choline des portions de la traite.* — Les résultats précédents tendent à prouver que la phase dispersée du lait est pauvre aussi bien en choline totale qu'en choline libre et hydrosoluble. Sans recourir à aucune manipulation du lait, nous aboutissons à la même conclusion par l'analyse d'échantillons de lait prélevés à différents moments au cours de la même traite.

On sait, de temps immémorial, que la richesse du lait en beurre croît du début à la fin de la traite. Cette opinion, « universellement répandue dans les campagnes » (PÉLIGOT, 1836) a été confirmée par de nombreuses analyses parmi lesquelles on peut citer celles de PARMENTIER, de PÉLIGOT, de REISET, de BOUSSINGAULT (1866) ou plus récemment, celles de FORSTER, de HOFFMANN, de SCHMIDT-MÜLHEIM, de KAULL, de ZSCHOKKE, de HENKEL, de NUESCH, de WINDISCH, de ESS (cités par GRIMMER, pp. 48-51 et 65-66), de

(1) Dans un lait de babeurre, nous avons trouvé 15, 125, 160 et 64 mgr. par litre pour la choline libre, hydrosoluble totale, totale et non hydrosoluble (directement estimée) (28-1-41). Nous avons examiné aussi une boue d'écrémeuse qui contenait 0,97 mgr. de choline totale par gr. soit 0,8% de phosphoaminolipides choliniques.

LAJOUX (1901), de MALPEAUX, etc. Ces auteurs ont montré que le phénomène est général (lait de femme, vache, ânesse, etc.), qu'il n'est pas dû à un écrémage au cours de la traite car il se produit encore lorsque le lait est prélevé par cathétérisme de la mamelle, et enfin qu'il n'intéresse pratiquement, parmi les constituants du lait, que la matière grasse. Les variations observées sont considérables. Du début à la fin de la traite, PÉLIGOT a vu croître la teneur en beurre de 9 gr. 6 à 15 gr. 2 par litre (lait d'ânesse), FORSTER de 17,1 à 45,1 (lait de femme), BOUSSINGAULT de 17 à 40,8, ESS de 13,5 à 86, LAJOUX de 11,9 à 43,1, MALPEAUX de 12,5 à 69,5 (lait de vache), etc. (1).

Les autres constituants : lactose, caséine, extrait sec dégraissé, restent sensiblement constants, surtout s'ils sont calculés par rapport au volume du lait privé de matières grasses.

Nous avons opéré sur des prises d'essai de 50 à 200 cm³, prélevées sur le lait des 4 trayons, au début, vers le milieu et vers la fin de la traite. La choline libre, la choline hydrosoluble et la choline totale ont été dosées par les méthodes décrites. La matière grasse a été extraite par la méthode d'Adam et elle a généralement été l'objet d'un dosage de choline totale (tableau VI ; voir également choline du beurre). Le sérum qui se sépare dans l'application de la méthode d'Adam a servi quelquefois pour le dosage de la choline libre et hydrosoluble (voir tableau I).

Nous avons vérifié à notre tour l'augmentation de la teneur du lait en matière grasse du début à la fin de la traite. Le rapport des chiffres obtenus pour les prises d'essai extrêmes va de 2,6 (échantillon n° 109) à 14 (échantillon n° 169). Il est en moyenne de 5. Les valeurs moyennes, sur 14 déterminations, sont respectivement de 13 gr. 7, 37 gr. 7 et 68 gr. 5 de matière grasse par litre de lait au début, au milieu et à la fin de la traite.

Nous nous attendions à voir la choline libre et la choline hydrosoluble, vraisemblablement liées à la phase aqueuse, rester constantes dans les trois portions étudiées comme restent constants les constituants hydrosolubles déjà dosés par d'autres auteurs. Par contre, nous pensions observer une variation de la choline non hydrosoluble parallèle à celle de la matière grasse du lait. Or, non seulement la choline libre et la choline hydrosoluble, mais la choline totale elle-même restent pratiquement constantes sur les divers prélèvements (tableau VI).

La moyenne des résultats de 14 prélèvements se traduit pour la choline libre par 10 mgr. 3, 10 mgr. 5, 10 mgr. 7, pour la choline hydrosoluble totale par 27 mgr. 4, 33 mgr. 6, 31 mgr. 5 par litre. Les dosages de choline totale ont été faits seulement sur trois séries d'échantillons, et ont donné pour les trois portions de la traite les résultats moyens de 265, 233 et 250 milligrammes par litre. Les

(1) Revue d'ensemble par SCHOLTZ (1938).

TABLEAU VI
CHOLINE DES PORTIONS DE LA TRAITE

Echantillon	Portion de la traite	Beurre en gr. par litre	Choline en mgr. par litre			Choline du beurre en mgr.	
			libre	hydro- soluble	totale	par litre de lait	par gr. de beurre
70.....	Début	20,7	20	25		10	0,52
	Milieu	39,9	19	55		15	0,37
	Fin	59,4	20	43		13	0,20
87.....	Début	21,8	16	75		5,5	0,24
	Milieu	48,6	10	90		8	0,17
	Fin	117	13	75		30	0,24
108.....	Début	14,8	8,5	25			
	Milieu	59,3	14	75			
	Fin	53,1	15	60			
109.....	Début	19,5	10	17			
	Milieu	50,4	13	8,5			
	Fin	49,9	10	19			
110.....	Début	10,9	8	11			
	Milieu	46,8	11	18			
	Fin	118,3	11	26			
118.....	Début	11,7	5	16		5,5	0,45
	Milieu	36,2	5	17		8,5	0,22
	Fin	68,2	5	15			
126.....	Début	10,7	14	21		5,5	0,53
	Milieu	36,1	17	22		7	0,20
	Fin	70,0	13	18		12	0,18
134.....	Début	12,5	15	15		2	0,18
	Milieu	36,2	15	15		4	0,12
	Fin	41,6	20	22		4,5	0,11
139..... (colostrum)	Début	17	tr.	55		5	0,20
	Milieu	19,2	tr.	33		5	0,27
	Fin	59,1	tr.	33			
169.....	Début	4,1	12	21		1,4	0,34
	Milieu	18,6	15	13			
	Fin	57,0	15	26			

TABLEAU VI (*suite*)

Echantillon	Portion de la traite	Beurre en gr. par litre	Choline en mgr. par litre			Choline du beurre en mgr	
			libre	hydro-soluble	totale	par litre de lait	par gr. de beurre
175.....	Début	6,4	10,5	16		1,1	0,17
	Milieu	19,9	6	12		2,4	0,12
	Fin	47,8	6	11		10	0,21
177.....	Début	9,7	5	6		5,5	0,56
	Milieu	37,7	11,5	26		8,5	0,22
	Fin	65,2	8	24		13,5	0,21
182	Début	20,5	10	53		7,5	0,37
	Milieu	40,1	10	50		8	0,20
	Fin	92,4	9	37		17	0,18
1 H	Milieu	29	0	37	220		
	Fin	59	3,2	33	220		
83 bis H...	Début				250		
	Milieu				200		
90 H	Début				280		
	Milieu				280		
	Fin				280		
Moyennes ..	Début	13,7	10,3	27,4	265	4,9	0,37
	Milieu	37,7	10,5	33,6	233	7,4	0,21
	Fin	68,5	10,7	31,5	250	14,3	0,19

teneurs en choline non hydrosoluble ou lipidiques, appréciée par différence, sont donc de 238, 200 et 218 milligrammes par litre.

La constance de la choline totale suppose celle de la choline lipidique, et bien que nous n'ayons pas dosé celle-ci directement, nous considérerons que nos résultats démontrent d'une façon péremptoire que son taux n'est pas proportionnel à celui des lipides totaux et par suite, que les phospho-aminolipides n'accompagnent pas fidèlement les glycérides, comme on le croit communément (voir en particulier BRODRICK-PITTARD (1915) (1). Les lécithines

(1) Le sort des phosphoaminolipides au cours de l'écémage et de la coagulation du lait est controversé. D'après VAGELER (1909), ils restent presque quantitativement dans le petit-lait, d'après BORDAS et RACZOWSKY (1902), il en reste 30 % ; d'après GLIKIN, il en reste seulement 3 %.

ne sont pas des constituants du globule gras du lait, et en particulier ils ne forment pas sa membrane, comme on l'a fréquemment supposé. (Cf. notamment MONVOISIN, DORNIC et DAIRE, p. 23, et parmi les travaux récents : PERLMAN (1935), HOLWERDA (1936), JACK et DAHLE (1937), SANDELIN (1941).)

Ce résultat est important car il est contraire aux idées admises que les phosphoaminolipides soient quantitativement solidaires de la partie aqueuse et non de la partie lipidique d'un tissu. La constitution particulière du lait, qui se compose de deux éléments restant semblables à eux-mêmes alors même que leur proportion relative varie dans un domaine très étendu nous permet de formuler cette conclusion avec beaucoup de netteté. Nous nous proposons d'examiner dans quelle mesure elle est susceptible d'être généralisée.

7. *Choline du beurre.* — Nous n'avons pas analysé de beurres proprement dits mais les lipides isolés du lait par la méthode d'Adam (tableau VI). Cette méthode, qui consiste à ajouter au lait un mélange ammoniacal d'alcool et d'éther et à évaporer la couche éthéro-alcoolique qui se sépare, permet en principe d'extraire les lipides totaux du lait. Ceux-ci devraient, semble-t-il, renfermer la totalité des phosphoaminolipides. (L'erreur introduite par l'entraînement partiel de ces principes a été étudiée par de nombreux auteurs dont CHAPMAN (1928), THURSTON et PETERSON (1928), HOLM, WRIGHT et DEYSHER (1933-1935), etc.)

Rapportée au poids des lipides isolés, la choline en constitue 0,011 à 0,056% avec un taux moyen de 0,026% (sur 26 déterminations). Exprimée en lécithine oléo-stéarique, elle forme 0,2% des lipides totaux, dont elle est par conséquent un constituant peu important.

La choline de la matière grasse, rapportée au litre de lait est en moyenne, pour les trois parties de la traite, respectivement de 4 mgr. 9, 7 mgr. 4 et 14 mgr. 3 (moyenne 8 mgr. 9). On voit qu'elle croît avec la richesse du lait en beurre, bien qu'elle décroisse assez sensiblement lorsque les résultats sont rapportés au gramme de beurre : en moyenne 0 mgr. 37, 0 mgr. 21 et 0 mgr. 19 de choline. La teneur de la matière grasse isolée en lécithine serait d'après ces chiffres, de 0,2%, en plein accord avec les chiffres donnés par HORRALL (1935) : 0,17-0,23% et par HEINEMANN (1939) : 0,15-0,21%. Cet accord permet de supposer que les phosphoaminolipides qui accompagnent la matière grasse du lait au cours de sa séparation sont constituées essentiellement par de la lécithine et de la sphingomyéline, à l'exclusion de céphaline (1).

Ces lipides ne contiennent qu'une partie infime de la choline

(1) REWALD (1939) a étudié les phosphatides contenus dans le résidu solide qui se sépare par évaporation de l'eau au cours de la fusion du beurre. Ce « résidu du beurre » contient 5,26% de phosphoaminolipides, comprenant 36% de céphalines.

du lait : les valeurs extrêmes observées sont de 1 mgr. 1 à 30 milligrammes de choline par litre de lait, avec une moyenne de 8 mgr. 9 (sur 26 déterminations). On voit que c'est $8,9/250 = 3,5\%$ de la choline totale, ou $8,9/219 = 4,1\%$ de la choline non hydrosoluble du lait.

Comparons cette valeur à la teneur présumée du lait en choline de la lécithine, d'après les dosages de phosphore les plus probants. 8 mgr. 9 d'ion-choline correspondent à 69 milligrammes de lécithine oléo-stéarique (P. M. = 805) ou à 67 milligrammes en adoptant le coefficient de LOBSTEIN et FLATTER. Or, comme nous l'avons vu, la teneur en phosphoaminolipides totaux est tout au plus de l'ordre de 1 gr. 5 par litre de lait. Si l'on considère qu'il y a vraisemblablement à peu près les deux tiers de lécithines dans ces phosphoaminolipides, le litre de lait contiendrait environ 1 gramme de lécithines, c'est-à-dire quatorze fois plus que la quantité correspondant à la choline des lipides extraits par la méthode d'Adam.

Les recherches en cours nous montreront s'il y a lieu d'incriminer le mode d'extraction des phosphoaminolipides, leur état dans le lait, ou l'interprétation peut-être abusive par laquelle on a déduit jusqu'ici les chiffres de lécithine des résultats expérimentaux de phosphore « lipidique ». Cependant, nous pouvons déjà insister sur ce que les résultats sont reproductibles, puisque le traitement des échantillons n° 87, à vingt-quatre heures d'intervalle, a donné respectivement pour les trois portions, 5 mgr. 5, 8 mgr., 30 mgr. et 4 mgr. 5, 4 mgr. 5, 27 milligrammes de choline dans les lipides d'un litre de lait.

Nous insisterons plus encore sur ce que les lipides extraits par d'autres méthodes contiennent des quantités de choline du même ordre de grandeur que par celle d'Adam (tableau VII).

Ces résultats partiels sont-ils suffisants pour nous permettre d'affirmer que la partie de la choline qui accompagne les lipides au cours de l'extraction appartient à une formule biochimique particulière de la choline du lait ?

Bien que le taux de cette partie de la choline ne présente de constance véritable au cours de la traite ni lorsqu'on le rapporte au lait (rapport des moyennes pour les portions de la fin et du début de la traite : $14,3/4,9 = 2,9$ ni lorsqu'on le rapporte aux lipides (même rapport inversé $0,37/0,19 = 1,9$), et bien que les valeurs extrêmes ne diffèrent par conséquent guère moins dans le deuxième cas que dans le premier, nous nous croyons autorisés à l'attribuer à un constituant spécial du lait, qui accompagne systématiquement les globules gras, même s'il ne leur est pas quantitativement aussi fidèlement associé que la choline hydrosoluble à la phase aqueuse.

De même, l'épuisement par l'acétone du précipité de défécation

TABLEAU VII

TENEUR EN CHOLINE DES LIPIDES DU LAIT, PAR DIFFÉRENTS PROCÉDÉS D'EXTRACTION

Echantillon	Procédé d'extraction	Choline des lipides en mgr. par litre de lait	
		par le procédé étudié	par la méthode d'Adam
175 G.....	BORDAS et RACZWOSKY (1901)	5,5	1,1
175 H.....	» »	8	2,4
175 I.....	» »	11,5	10
177 Q.....	» »	3	5,5
177 R.....	» »	13	8,5
177 S.....	» »	15	13,5
177 T.....	HESS et HELMAN (1925)	11	5,5
177 U.....	» »	8	8,5
177 V.....	» »	11	13,5
182 P.....	» »	8	7,5
182 Q.....	» »	11	8
182 R.....	» »	10	17
70	Acide trichloracétique	17	10
—	—	9	15
—	—	17	13
118 P.....	—	4,5	5,5
118 Q.....	—	5	8,5
118 R.....	—	4,5	»

ferrique obtenu dans le dosage de la choline hydrosoluble fournit 11 milligrammes de choline par litre de lait (un épuisement ultérieur à l'éther de pétrole ne fournit plus de choline). La moyenne de tous les chiffres ainsi obtenus par des méthodes variées est de 9 mgr. 5 par litre (sur 19 déterminations). Elle est en accord excellent avec la moyenne de 8 mgr. 9 obtenue sur les lipides séparés par la méthode d'Adam.

Ces chiffres sont en accord avec celui que l'on peut calculer d'après l'analyse de la crème. Celle-ci retenant dans nos déterminations environ 50 % de son poids de la phase aqueuse, et atteignant 10 % du lait total, il faut déduire de sa teneur en choline $6/90 = 1/15$ de la teneur en choline totale du lait écrémé pour obtenir la choline effectivement liée aux globules gras. Par cette voie indirecte, on obtient $26 - \frac{188}{15} = 13$ milligrammes par litre.

Le phénomène préexiste par conséquent à la coagulation et même à toute transformation physico-chimique du lait.

Ce constituant, qui en formerait environ la vingtième partie, différerait du reste des phosphoaminolipides choliniques du lait, soit par sa constitution, soit par les liaisons auxquelles il participe, et cette différence se manifesterait clairement par le fait qu'il accompagne régulièrement, et qu'il accompagne seul, les lipides du lait au cours de leur extraction.

L'indépendance de la majeure partie des phosphoaminolipides du lait d'une part, de ceux des globules gras d'autre part, est en accord avec les observations de divers auteurs au sujet de la difficulté de leur extraction directe au moyen de solvants organiques. OSBORNE et WAKEMAN (1916), LOBSTEIN et FLATTER (1935), REWALD (1939), expliquent ce dernier phénomène par l'existence de « lécithalbumines », MACHEBŒUF et TAYEAU (1940), TAYEAU (1940), BUNIANA et FURTUNESCO (1941) en font l'étude quantitative. Il semble qu'il appartienne à la série de phénomènes dont MACHEBŒUF a entrepris la systématisation et qu'il attribue à des liaisons spéciales, qu'il appelle *cénapses*, entre les protéides, les lipides et les stérides (1937). La presque totalité des phosphoaminolipides du lait serait engagée dans des *cénapses*.

8. *Choline du colostrum*. — Les variations d'un échantillon de lait à l'autre sont considérables, comme on l'a vu. Elles semblent encore plus grandes d'un échantillon de colostrum à l'autre. Le tableau VIII réunit les quelques résultats obtenus.

D'après BOUDINIER (1944) la teneur du colostrum en lécithines augmente jusqu'au vêlage, puis décroît assez vite pour devenir constante à partir du quatrième jour.

TABLEAU VIII
CHOLINE DU COLOSTRUM

Echantillon	Intervalle entre le vêlage et le prélèvement	Choline en mgr. par litre		
		libre	hydrosoluble	totale
90 A	15 heures	1	45	
90 B	7 jours	tr.	35	
91 A	12 heures (1 ^{re} traite)	3	115	
91 B	12 heures (2 ^e traite)	55	185	
91 C	8 jours	tr.	13,5	
139	18 heures (2 ^e traite)	tr.	44	
41 (25-3-41)		tr.	250	340

9. *Lait de brebis.* — Il n'est pas permis de généraliser aux laits d'autres espèces les résultats que nous avons obtenus sur le lait de vache. En effet, aux variations de composition spécifiques si frappantes qui sont la règle pour le lait, viennent s'ajouter les variations spécifiques particulières aux substances choliniques des humeurs : nous avons précédemment montré que le sang des bovidés contient 20 à 120 milligrammes de choline libre par litre, alors que le sang de lapin contient 5 milligrammes de choline hydrosoluble, mais à l'état combiné, et que le sang d'homme, de cheval, de chien, de mouton, de porc, de rat et de souris ne contient que des traces de choline hydrosoluble, généralement libre, de l'ordre du milligramme par litre (E. KAHANE et Jeanne LÉVY, 1939, 9^e mémoire).

Nous avons d'abord analysé deux échantillons de lait de brebis, malheureusement tous deux anormaux.

Le premier (26 octobre 1938) provenait d'une brebis arrivée à la fin de sa lactation, dont l'agneau était sevré depuis plusieurs semaines. Ce lait ne contenait que des traces de choline libre, de l'ordre du milligramme par litre et 2 à 5 milligrammes de choline hydrosoluble totale. Ces valeurs ne se sont pas sensiblement élevées par sept jours de conservation en présence d'eau chloroformée à la température ordinaire.

Le deuxième (8 novembre 1938) provenait de la même brebis, presque complètement tarie. Nous avons trouvé en milligrammes par litre : 47 de choline libre, 108 de choline hydrosoluble totale.

Ces grandes différences montrent l'ampleur des variations de la choline libre et de la choline hydrosoluble totale chez le même animal. Une étude systématique étendue analogue à celle que nous avons faite sur la vache est donc nécessaire chez la brebis.

En 1941, nous avons pu examiner six échantillons de laits provenant de brebis normales, arrivées à peu près au milieu de leur lactation.

L'analyse est résumée sous la forme du tableau IX.

TABLEAU IX
LAIT DE BREBIS

N° de l'exp.	Race de l'animal	Choline en mgr. par litre		Totale
		libre	hydro- soluble totale	
29 I	crois. Berrichonne-Dishly mérinos	11	77	155
29 II	Berrichonne pure	7	38	180
29 III	crois. Southdown-Bizet	12	13	102
30 I	Limousine pure	12	40	150
30 II	crois. Southdown-Bizet	8	31	110
30 III	crois. Limousine-Dishly mérinos	30	51	150
Moyennes		13	42	141

Les taux moyens de choline libre, hydrosoluble combinée et non hydrosoluble dans le lait de brebis sont par conséquent de 13, 29 et 99 milligrammes par litre. Ils sont du même ordre de grandeur que dans le lait de vache.

10. *Lait de femme.* — Nous avons examiné aussi un échantillon de lait de femme qui contenait 11 et 14 milligrammes de choline libre et hydrosoluble totale par litre (A. D. 5 janvier 1939). SILBER (1930) avait trouvé de 7 à 40 milligrammes de choline par litre, par une méthode qui ne permet pas de discriminer la choline libre de la choline hydrosoluble combinée, et sans que l'on puisse savoir dans quelle mesure cette dernière forme est comprise dans le dosage. D'après cet auteur, la choline du lait de femme est très augmentée durant la menstruation.

CONCLUSIONS

Opérant sur une centaine d'échantillons de lait de vache, ainsi que sur sept colostrums, sur huit laits de brebis et sur un lait de femme, nous avons recherché et dosé la choline sous ses différentes formes au moyen des procédés antérieurement établis pour l'étude d'autres produits biologiques : dilution limite de la réaction de Florence et dosage biologique après acétylation.

La choline libre et la choline hydrosoluble combinée ont été dosées sur le liquide provenant de la défécation ferrique (sulfate ferrique et carbonate de calcium), la première directement, la seconde après hydrolyse chlorhydrique. La choline totale a été dosée après attaque du lait par l'acide sulfurique à 65% pendant vingt-quatre heures à l'étuve à 105°. La choline non hydrosoluble est déterminée par différence.

Les résultats obtenus sur un même échantillon sont reproductibles. Par contre, les chiffres obtenus sur les différents laits accusent des variations extrêmement étendues pour la choline libre et la choline hydrosoluble combinée, dont le taux, exprimé en ion-choline $+N(CH_3)_3CH_2CH_2OH$, est en moyenne de 15 et 35 milligrammes par litre. Aucune variation systématique n'a pu être mise en évidence, ni avec la saison, ni avec l'alimentation, ni avec la race, ni avec l'âge, ni avec la phase de la lactation, si ce n'est un taux particulièrement faible et parfois nul, de la choline libre au moment du vêlage.

Le taux de la choline totale, et par suite celui de la choline non hydrosoluble qui en constitue la majeure partie, est beaucoup plus constant. Il est compris entre 160 et 280 milligrammes par litre, avec une moyenne de 222 milligrammes. Les échantillons examinés dans cette série d'expériences étaient beaucoup plus riches en choline hydrosoluble combinée que les précédents, peut-être à cause du retard apporté aux dosages par les mauvaises conditions de travail dues à l'état de guerre. Aussi le chiffre moyen trouvé,

de 120 milligrammes de choline non hydrosoluble par litre, doit-il être considéré comme un minimum.

Encore faut-il noter que cette valeur, traduite en lécithine oléo-stéarique, correspondrait à un taux de 1 gramme par litre pour les phosphoaminolipides choliniques, soit 1 gr. 5 environ si l'on admet qu'il y a à peu près un tiers de phosphoaminolipides à base de colamine. Ce taux est voisin des plus élevées parmi les valeurs trouvées dans les expériences d'extraction au moyen du dosage de P lipidique, ce qui nous amène à supposer qu'il pourrait exister une forme non lipidique de la choline non hydrosoluble du lait.

La conservation du lait en l'absence d'antiseptiques entraîne une augmentation notable de la choline hydrosoluble combinée et diminue par conséquent la valeur apparente de la choline lipidique. Cette dégradation est entravée par l'addition de chloroforme. La choline libre reste en général sensiblement constante. Les enzymes du lait sont donc inactifs sur les substances choliniques, hydrosolubles ou non. Par contre, la forme combinée de la choline hydrosoluble du lait, comme celle du sperme, des tissus et de la Patelle, est rapidement dégradée en choline libre par l'enzyme de la prostate ou de l'intestin.

Contrairement à notre attente, la crème du lait est pauvre en substances choliniques, quelles qu'elles soient, et c'est dans la phase aqueuse que se retrouvent non seulement la totalité de la choline hydrosoluble sous ses deux formes, mais encore près de 96% de la choline non hydrosoluble.

Cette indépendance de la choline sous toutes ses formes vis-à-vis des globules gras ressort également des résultats de l'analyse des portions de la traite, qui donnent des chiffres sensiblement constants pour la choline libre, la choline hydrosoluble totale et la choline totale d'échantillons de lait prélevés au début, au milieu et à la fin de la traite, alors que leur teneur en matière grasse extractible par la méthode d'Adam croît en moyenne dans la proportion de 1 à 5. Les teneurs moyennes en matière grasse des trois portions de la traite, dans les seize expériences que nous relatons, sont de 13 gr. 7, 37 gr. 7 et 68 gr. 5 par litre de lait. Les teneurs moyennes de choline libre sont de 10 mgr. 3, 10 mgr. 5 et 10 mgr. 7 par litre, celles de choline hydrosoluble totale de 27 mgr. 4, 33 mgr. 6 et 31 mgr. 5 et celles de choline totale de 265, 233 et 250 milligrammes.

Les phosphoaminolipides du lait ne sont donc pas des constituants du globule gras. Ils ne forment pas sa membrane comme on l'a parfois supposé ou une partie infime participe-t-elle tout au plus à la constitution de cette membrane.

Les lipides extraits par la méthode d'Adam renferment une

petite quantité de choline non hydrosoluble, qui est en moyenne de 4 mgr. 9, 7 mgr. 4 et 14 mgr. 3 par litre de lait, ou de 0 mgr. 37, 0 mgr. 21 et 0 mgr. 19 par gramme de lipides (soit 0,2%, exprimé en lécithine). Les quantités trouvées sont en accord avec les déterminations effectuées sur la crème, par conséquent sans aucune modification physico-chimique du système, avec les séparations effectuées par d'autres méthodes (BORDAS et RACZOWSKY, HESS et HELMAN, précipitation par l'acide trichloracétique) et avec l'épuisement par l'acétone du précipité de défécation ferrique. La concordance de ces résultats nous autorise, pensons-nous, à attribuer à une forme biochimique particulière de la choline du lait la portion qui accompagne aussi fidèlement les globules gras dans leur formation, et jusque dans leur précipitation et leur redissolution. Ce constituant formerait environ la vingtième partie des phosphoaminolipides choliniques du lait et différerait du reste des phosphoaminolipides soit par sa constitution, soit par les liaisons auxquelles il est soumis. La majeure partie des phosphoaminolipides existent manifestement dans le lait à l'état hydrosoluble, et sont vraisemblablement engagés dans des systèmes du type des cénapses de Machebœuf.

(Ecole Nationale d'Agriculture de Grignon (1938-1941).

Institut de Biologie clinique de l'Hôpital Cochin (1938-1939).

Travaux pratiques de Pharmacologie de la Faculté de Médecine. (1939-1940).

BIBLIOGRAPHIE

- A. ADAM. Analyse du lait. Dosage volumétrique du beurre. *Journal Pharm. Chim.*, 1881, **3**, 23-32.
- C. H. BEST et J. H. RIDOUT. Choline as a dietary factor. *Annual Review of Biochemistry*, 1939, **8**, 349-370.
- G. BISCHOFF. Zur Kenntnis der in der Milch vorhandenen Phosphatide *Ztsch. Physiol. Chem.*, 1927, **173**, 227-232.
- W. R. BLOOR. A method for the determination of « lecithin » in small amounts of blood. *Journal Biol. Chem.*, 1915, **22**.
- F. BORDAS et S. de RACZKOWSKI. Sur le dosage de la lécithine dans le lait. *Comptes rendus Académ. Sc.*, 1902, **134**, 1592-1594.
- A. HOUDINIÈRE. Le colostrum de vache. *Le Lait*, 1944, **24**, 108-139.
- M. BOUSSINGAULT. Expérience sur le barattage, etc. *Ann. Chim. Phys.*, 1866, **9** (4), 108-161.
- W. A. BRODRICK-PITTARD. Zur Methodik der Lecithinbestimmung in Milch. *Biochem. Z.*, 1914, **67**, 382-390.
- R. BUROW. Der Lecithingehalt der Milch und seine Abhängigkeit vom relativen Hirngewichte des Säuglings. *Z. Physiol. Chem.*, 1900, **30**, 495-507.
- M^{me} CARAYON-GENTIL. Etude de la réaction de Florence. Nature de la substance dite « empêchante ». *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1940, **22**, 99-107.

- O. W. CHAPMAN. L'influence de la lécithine dans les produits de laiterie sur la détermination de la teneur en matière grasse. *Journal Dairy Sc.*, 1928, **11**, 429-435 ; *Le Lait*, 1931, **11**, 411.
- DAIRE. Le microbe dans l'industrie laitière. Baillière, édit., Paris, 1914.
- L. DESSIRIER. Dosage des œufs dans les glaces et autres produits alimentaires. *Ann. Fals. Fraudes*, 1938, **31**, 464.
- W. DIEMAIR, B. BLEYER et M. OTT. Beitrag zur Kenntniss der Milchphosphatide. *Biochem. Z.*, 1934, **272**, 119-132.
- P. DORNIC et CHOLLET. Lait, beurre et dérivés. Baillière, édit., Paris, 1926.
- P. DORNIC et DAIRE. Contribution à l'étude de la lécithine du lait. *Annales Fals. Fraudes*, 1910, **3**, 533-538.
- W. GLIKIN. Zur biologischen Bedeutung des Lécithins. III. Ueber den Lecithin und Eisengehalt in der Kuh und Frauenmilche. *Biochem. Ztschr.*, 1909, **21**, 348-354.
- W. GRIMMER. Chemie und Physiologie der Milch. Parey, édit., Berlin, 1910.
- W. GRIMMER, B. ECKARDT et W. GEIDEL. Les boues de centrifugeuses. *Milchwirtschaftliche Forschungen*, 1937, **19**, 106-108 ; *Le Lait*, 1939, **19**, 73.
- B. HEINEMANN. Rapport entre les phospholipides et la matière grasse dans les produits lactés. *Journal Dairy Sc.*, 1939, **22**, 707-715 ; *Le Lait*, 1942, **22**, 171.
- A. F. HESS et F. D. HELMAN. The phosphatide and total phosphorus content of woman's and cow's milk. *Journal Biol. Chem.*, 1925, **64**, 781-796.
- G. H. HOLM, P. A. WRIGHT et E. F. DEYSHER. Les phospholipides dans le lait. I. De la répartition des phospholipides dans quelques produits laitiers. *Journal Dairy Sc.*, 1933, **16**, 445-454 ; *Le Lait*, 1934, **14**, 1078.
- G. H. HOLM, P. A. WRIGHT et E. F. DEYSHER. Les phospholipides dans le lait. IV. Leur nature chimique et leur distribution dans certains produits laitiers. *Journal Dairy Sc.*, 1936, **19**, 631-640 ; *Le Lait*, 1937, **17**, 837.
- B. J. HOLWERDA. Détermination des phospholipides dans le lait et ses dérivés. *Verslag. Land. Onderzoek Rijkslandbouwproefsta*, 1936, 335-352 ; *Le Lait*, 1937, **17**, 1089.
- E. L. JACK et C. D. DAHLE. The electrokinetic potential of milk fat. Relation of the fat globule membrane. *Journal Dairy Sc.*, 1937, **20**, 637-643 ; *Chem. Abstr.*, 1938, **32**, 251.
- E. KAHANE. La choline en biochimie. *Bul. Soc. Chim. biol.*, 1937, **19**, 205-233.
- E. KAHANE et Jeanne LEVY. Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. I. L'acétylcholine du sang. *Bulletin Soc. Chim. Biol.*, 1936, **18**, 479-489. II. Technique de dosage biologique de l'acétylcholine, 490-504. III. Caractérisation et dosage de l'acétylcholine dans les substances biologiques, 505-528. IV. Action du sang sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester, 529-555. V. Sur la présence à l'état dissimulé d'une substance acétylcholinique dans le sang normal, 1937, **19**, 777-786. VI. Apparition de la choline dans les substances biologiques. La choline du sperme, 959-975. VII. Action des muscles de sangsue et de grenouille sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester, 976-989. VIII. Sur la choline hydrosoluble. Méthodes expérimentales, 1939, **21**, 223-240. IX. Choline hydrosoluble du sang, 241-249. X. Choline hydrosoluble des

organes, 250-255. XI. Choline hydrosoluble des invertébrés. Etude de la patelle, 256-263.

En cours d'impression : XII. Dosage de la choline totale des tissus. XIII. Substances choliniques du lait. XIV. Substances choliniques de l'intestin. Historique et généralités. XV. Acétylcholine du tractus intestinal du chien, du lapin, du cobaye, du rat et de la souris. XVI. Choline hydrosoluble de l'intestin. XVII. Présence dans l'intestin d'un enzyme voisin de celui de la prostate. XVIII. Apparition de choline et de choline hydrosoluble combinée dans l'autolyse des tissus. XIX. Purification de la choline hydrosoluble combinée et étude de ses propriétés.

- E. KAHANE et Jeanne LEVY. Biochimie de la choline et de ses dérivés. I. Choline-neurine. II. Acétylcholine. III. Colamine, Triméthylamine, Bétaïne, Carnitine, Muscarine, Bétainaldéhyde. VI. Dosages biologiques. 4 fascicules parus « Actualités scientifiques et industrielles », Hermann et Cie, édit., Paris, 1938.
- E. KAHANE et Jeanne LEVY. Sur les constituants choliniques hydrosolubles du sang et des organes. *Comptes rendus Ac. Sc.*, **207**, 642-644.
- W. KOCH. Ueber den Lecithingehalt der Milch. *Z. Physiol. Chem.*, 1906, **47**, 327-330.
- W. KOCH et H. S. WOODS. The quantitative estimation of the lecithins. *Journal Biol. Chem.*, 1905, **1**, 203-211.
- F. E. KURTZ et G. E. HOLM. Les lipides du lait. II. Les acides gras de la fraction sphingomyéline-cérébrosides. *Journal Dairy Sc.*, 1939, **22**, 1011-1016 ; *Le Lait*, 1941, **21**, 185.
- H. LAJOUX. Recherches sur le colostrum de femme. *Journal Pharm. Chim.*, 1901, **14**, 145-151.
- O. LAXA et A. KONECNY. Die Lipoide des Zentrifugen Schlammes. *Milch-wirtsch. Zentrbl.*, 1913, **42**, 633 et 691. *Zentral Bl.*, 1914, **1**, 281.
- O. LAXA. Sur la présence de la lécithine dans le lait et dans la glande mammaire. *Congr. intern. Lait, Etats-Unis*, 1923 ; *Le Lait*, 1925, **5**, 70.
- O. LAXA. Les phosphatides de la glande mammaire précurseurs de la matière grasse du lait. *Le Lait*, 1930, **10**, 1076.
- J. E. LOBSTEIN et M. FLATTER. Phosphore lipodique et phosphatides du lait de vache. *Le Lait*, 1935, **15**, 946-954.
- M. A. MACHEBŒUF. L'état des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique. Hermann et Cie, édit. Paris, 1937.
- M. A. MACHEBŒUF et F. TAYEAU. Recherches sur l'état physico-chimique des lipides du lait. *Comptes rendus Soc. Biol.*, 1940, **133**, 289.
- MALPEAUX, cité par MONVOISIN, p. 135.
- L. A. MAYNARD, C. M. MCCAY, G. H. ELLER, A. Z. HODSON et G. K. DAVIS. Etudes sur l'origine de la matière grasse du lait dans le sang. *Mémoire n° 211 de la Société Eu. agr. Univ. Cornell*, Ithaca, 1938 ; *Le Lait*, 1939, **19**, 403.
- W. MOHR, C. BRACKMANN et W. MULLER. La lécithine contenue dans le lait et les produits du lait. *Molkerei Ztg.*, 1932, **46**, 633-637 ; *Le Lait*, 1934, **14**, 746.
- Th. MOJONNIER. Appareil pour l'analyse du lait et des produits lactés. *Le Lait*, 1925, **5**, 997-1000.

- A. MONVOISIN. Le lait et ses produits dérivés. Vigot, édit., Paris, 1925.
- B. E. HORRALL. Etude de la teneur en lécithine du lait et des produits laitiers. *Ind. Agr. Exp. Stat.*, 1935, *Bul.* 401 ; *Le Lait*, 1937, **17**, 392.
- H. MULLER. Physiologische und chemische Studien über die Tanretische Guanidinbase Galegin. *Ztsch. f. Biol.*, 1925, **83**, 239-264.
- H. MULLER. Ueber das Vorkommen des Cholins und Methylguanidins in der Milch. *Ztschr. f. Biol.*, 1926, **83**, 259.
- J. NERKING et E. HAENSEL. Der Lecithingehalt der Milch. *Biochem. Z.* 1908, **13**, 348-353.
- V. NJEGOVAN. Enthält die Milch Phosphatide ? *Biochem. Z.*, 1913, **54**, 78-82.
- Th. B. OSBORNE et A. J. WAKEMAN. Some new Constituents of milk. I. The Phosphatides of milk. *Journal Biol. Chem.*, 1915, **21**, 539-550 ; II. 1916, **28**, 1-9.
- E. PELIGOT. Mémoire sur la composition chimique du lait d'ânesse. *Ann. Ch. Phys.*, 1836, **62**, 432-438.
- J. L. PERLMAN. La distribution des phospholipoides dans la crème. *Journal Dairy Sc.*, 1935, **18**, 113-124 ; *Le Lait*, 1936, **16**, 980. L'effet de la chaleur sur les phospholipides du lait. *Journal Dairy Sc.*, 1935, **18**, 125-128 ; *Le Lait* 1936, **16**, 981.
- B. REWALD. Teneur du lait en phosphatides. *Le Lait*, 1937, **17**, 225-229.
- B. REWALD. Les phosphatides dans le résidu du beurre. *Le Lait*, 1939, **19**, 22-25.
- ROSE-GOTTLIEB. Dans « Méthodes officielles américaines d'analyse du lait » *Le Lait*, 1926, **6**, 54.
- A. E. SANDELIN. Mucilage membraneux des globules de matière grasse. *Svenska Mejeritidningen*, 1941, **33**, 1-4 et 11-13 ; *Le Lait*, 1943, **23**, 322.
- R. SASAKI et E. HIRATSUKA. Ueber die Phosphatide der Kuhmilch. *Proceed Imp. Acad.*, Tokyo, 1931, **7**, 99-101 ; *Zentr. Bl.*, 1931, **11**, 2801.
- J. C. SHAW et W. E. PETERSEN. Le métabolisme de la matière grasse dans la mamelle. *Journal Dairy Sc.*, 1938, **21**, 122 ; *Le Lait*, 1939, **19**, 1057.
- A. SCHLOSSMANN. *Archiv. für Kinderheilkunde*, 1905, **40**, 18.
- J. SCHOLTZ. Recherches sur quelques constituants et propriétés du lait dans la traite fractionnée. *Milchwirtsch. Forsch.*, 1938, **19**, 203-220 ; *Le Lait*, **19**, 383.
- W. SILBER. Der Cholingehalt der Frauenmilch und sein Verhalten während Menstruation. *Z. Kinderheilk.*, 1930, **49**, 210-217 ; *Ber. Ges. Physiol.*, 1930, **56**, 574.
- F. TAYEAU. Recherches sur l'état physico-chimique des diverses substances lipidiques du lait et particulièrement des phosphatides et du cholestérol. *Le Lait*, 1940, **20**, 129-134.
- N. TOLKATCHEWSKAJA. Ueber die Extraktivstoffe der Kuhmilch. *Jour. Russ. Phys. Chim. Ges.*, 1926, **58**, 888-891 ; *Zentr. Bl.*, 1927, **1**, 1931.
- L. M. THURSTON et W. E. PETERSEN. Lipins and sterols as sources of error in the estimation of fat in buttermilk by ether extraction methods. *Journal Dairy Sc.*, 1928, **11**, 270-283. *Le Lait*, 1931, **11**, 178.
- H. VAGELER. Untersuchungen über das Vorkommen von Phosphatiden in vegetabilischen und tierischen Stoffen. *Biochem. Z.*, 1909, **17**, 189-219.
- W. VAUBEL. Die Bedeutung des Cholins in der Sommer und Wintermilch. *Dtsch. Med. Wochschr.*, 1928, **54**, 1971 ; *Zentr. Bl.*, 1929, **1**, 587.