MÉMOIRES ORIGINAUX (1)

L'INSTABILITÉ DU LAIT PAR SUITE D'UNE AUGMENTATION DE LA TENEUR EN IONS DE CALCIUM

RECHERCHES DES CAUSES ET REMÈDES DE L'INSTABILITÉ
DU LAIT DITE « ANOMALIE D'UTRECHT » (2)

par

L. SEEKLES et W. TH. G. M. SMEETS

Diminution et augmentation de la stabilité du lait.

Parmi les protéines du lait, c'est notamment la caséine qui présente le moins de stabilité. Elle floccule lors du déplacement du pH dans le sens du point iso-électrique, lors de l'aigrissement, soit sous l'action de la présure.

Nous avons constaté que la stabilité du lait diminue également, c'est-à-dire que la caséine se floccule, en cas de concentration trop forte d'ions de calcium (1). Nous avons appelé cette forme d'instabilité l'« anomalie d'Utrecht ». Cependant, on connaît aussi des situations où la stabilité du lait est anormalement grande, de sorte que la caséine ne se précipite pas sous l'action de la présure. Ce phénomène rend difficile la fabrication de fromage. Nous estimons probable que la teneur diminuée en ions de calcium doit être considérée comme l'une des causes les plus importantes de cette stabilité accrue.

La forme sous laquelle le calcium se trouve dans le lait.

La majeure partie du calcium contenu dans le lait est non-ultrafiltrable. Cette fraction de phosphate de calcium et de caséinate de calcium (« phospho-caséinate de calcium ») a été l'objet de recherches approfondies au cours des dernières années. Nous nous contentons de mentionner quelques articles parus en Hollande [2, 3, 4].

Une plus petite fraction de calcium du lait est ultrafiltrable (tableau I). Celle-ci se compose d'une partie de constitution complexe et d'une autre partie sous forme d'ions [1].

(1) Reproduction interdite sans indication de source.

(2) Nous faisons cette communication à la demande de la rédaction. Le contenu d'une courte conférence faite par un des auteurs (L. S.) au IX^e Congrès international des Industries Agricoles à Rome (1952) fut remanié et considérablement augmenté de nombreuses données techniques. En outre, nous donnons ici quelques nouveaux résultats, obtenus en poursuivant les recherches au cours des deux dernières années.

C'est sur cette fraction d'ions de calcium que nous avons porté notre attention particulière, depuis qu'un de nous (L. S.) a compris, vers 1941, que la forme d'instabilité du lait qui s'est présentée pour la première fois sur une grande échelle vers 1927, dans la province néerlandaise d'Utrecht, et qui s'est répandue plus tard dans tout le pays, était due à l'augmentation, dans ce lait anormal, de la teneur en ions de calcium. Si ces recherches ont pris un temps si long, c'est qu'il a fallu élaborer une méthode de détermination quantitative de la teneur en ions de calcium de l'ultrafiltrat de lait, ce qui fut un très long travail.

L'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht ».

Dans les cas de grave instabilité, les protéines flocculent dès qu'on fait bouillir le lait, parfois même au cours du transport ou quand le lait est conservé frais pendant peu de temps.

Une forme moins grave d'instabilité peut être constatée à l'aide de l'épreuve à l'alcool et à l'alisarine. Au lait à examiner, on ajoute un volume égal d'alcool de 70 %, contenant 0,03 % d'alisarine. Dans le lait de stabilité diminuée, la protéine floccule alors, tandis que la couleur de l'alisarine démontre que le *pH* du lait n'est pas anormal, ce qui est d'ailleurs confirmé par le résultat de la détermination électrométrique du *pH*. Conformément à ce fait, il apparaît que l'indice de germes du lait n'a pas augmenté, ce qui indique que l'infection bactérienne de la mamelle peut être exclue comme cause possible de cette forme d'instabilité.

Deux aspects différents de l'anomalie d'Utrecht.

L'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht » se présente en cas de situations très extrêmes dans l'alimentation du bétail laitier. Les cas d'instabilité que nous avons étudié de 1927 jusqu'au commencement de la seconde guerre mondiale (1939), et pendant les dernières années, semblent devoir attribués en majeure partie à une alimentation trop luxueuse. Dans les années 1940 à 1943, une autre forme d'instabilité a été relevée très souvent en cas d'alimentation très insuffisante, ainsi, par exemple, comme conséquence de l'évacuation des animaux par suite des opérations militaires.

La composition chimique du lait stable et instable.

Le lait instable présentant les signes caractéristiques de l'anomalie d'Utrecht se diffère, en ce qui concerne sa composition chimique totale du lait normal que par le fait qu'en premier lieu, sa teneur en ions de calcium est plus élevée.

Pendant la première période de nos recherches dans ce domaine (1927-1946), il nous était seulement possible d'établir la teneur

totale en minéraux du lait et de l'ultrafiltrat de lait. Dans la deuxième période (après 1946) nous avons réussi à déterminer en outre la concentration du citrate et des ions de calcium dans l'ultrafiltrat. Nous nous bornons à donner les résultats pour le total du calcium, les ions de calcium, le phosphate et le citrate. La teneur en potassium, en sodium, en chlore et en magnésium se trouva être, en premier lieu, de moindre importance pour la solution de notre problème. Pour trouver plus de détails à ce sujet, on pourra consulter la thèse d'un des auteurs (W. Th. G. M. S.) [5]. Nous ne pouvons pas non plus donner ici le détail du calcul de la concentration des ions de calcium dans l'ultrafiltrat. Notons seulement que ce calcul est basé sur les concentrations, établies expérimentalement, du citrate, du phosphate et du calcium ultrafiltrable, au moyen des constantes de dissociation des complexes de citrate de calcium et de phosphate de calcium, lesquelles sont connues. On doit ici tenir compte du magnésium, parce que cet élément est également fixé par le citrate et le phosphate [5, 8]. La concordance entre les valeurs de la concentration des ions de calcium calculées et celles obtenues par la méthode au purpurate est très satisfaisante. Quelques exemples en sont donnés sur les tableaux III et IV.

a) *Comparaison de la composition chimique en cas d'alimentation luxueuse (1934-1935) et insuffisante (1940-1943).*

Le tableau I nous permet de comparer la composition minérale (Ca et P) d'un certain nombre d'échantillons de lait stable et de lait instable de la période de 1934 à 1935 (alimentation luxueuse).

Il apparaît donc que, *en moyenne*, la teneur des échantillons instables en phosphate ultrafiltrable est plus faible, et cela d'une façon significative, que dans les échantillons stables. Cependant, en examinant individuellement ces résultats d'analyses assez anciennes, on est frappé par le fait qu'une faible teneur en P ultrafiltrable n'est pas toujours accompagnée du phénomène de l'instabilité du lait.

D'autre part, le rapport Ca total : P dans l'ultrafiltrat n'est pas non plus décisif en ce qui concerne la stabilité ou instabilité du lait. Il semble qu'il doive y avoir encore d'autres facteurs qui exercent une influence. Au cours des dernières années, nous avons pu constater que c'est surtout le citrate qui joue un rôle important sous ce rapport.

L'analyse des échantillons de lait instable de la période où l'alimentation du bétail laitier laissait souvent beaucoup à désirer (1940-1943) ne donne pas lieu à des observations spéciales pouvant

TABLEAU I

COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DU LAIT STABLE ET DU LAIT INSTABLE EN CAS D'ALIMENTATION LUXUEUSE (1934-1935)

	Stabilité (*)	Nombre d'échantillons	m mol/l			σ (**)	Δ (***)
			Teneur moyen-ne M	Teneur maximum	Teneur minimum		
Ca total	—	20	31,4	43,8	23,1		
Ca total	+	4	31,5	39,0	27,0		
P total	—	24	19,3	24,4	14,5		
P total	+	4	22,6	26,0	18,7		
Ca ultrafiltrable .	—	26	9,6	16,5	6,7		
Ca ultrafiltrable .	+	10	9,1	12,0	6,5		
P ultrafiltrable...	—	31	9,5	17,7	3,1	$\pm 4,25$	) 3,7
P ultrafiltrable...	+	11	13,1	16,1	9,0	$\pm 2,04$	

(*) Instable — ; stable +

$$(**) \sigma = \sqrt{\frac{\sum a^2}{n-1}}$$

$$(***) \Delta = \frac{M_x - M_y}{\sqrt{\frac{\sigma_x^2}{n_x} + \frac{\sigma_y^2}{n_y}}}$$

mettre la question de l'instabilité dans un autre jour que ce que nous avons dit plus haut.

b) *La détermination des ions de calcium.*

Pour la détermination de la concentration des ions de calcium dans l'ultrafiltrat de lait, nous avons examiné la praticabilité de quatre méthodes [5]. Une de celles-ci seulement, c'est-à-dire la méthode dans laquelle s'emploie le purpurate d'ammonium (la murexide), se trouva convenir à notre but [6].

Peu avant la publication de la méthode élaborée par nous, nous avons pris connaissance d'un article de RAUFLAUD, où est décrite une méthode analogue pour la détermination de la teneur en ions de calcium du liquide cérébrospinal [7]. Cependant l'application de cette méthode diffère complètement de celle de la nôtre.

Nous faisons suivre ici une description succincte de notre méthode. Pour les considérations théoriques, la discussion des erreurs, etc., on pourra consulter la thèse d'un des auteurs (W. Th. G. M. S.) et un article du même auteur, à paraître sous peu dans le *Netherlands Milk and Dairy Journal* [5, 8].

Selon SCHWARZENBACH et GYSLING, un sel primaire de l'acide purpurique (la murexide) peut servir d'indicateur pour le calcium. Quand une petite quantité d'ions de calcium est ajoutée à une solution de murexide ayant un $pH < 7,5$, la couleur de la solution passe au jaune-orange, de pourpre qu'elle était.

L'état d'équilibre est caractérisé par la constante de dissociation :

$$K = \frac{[Ca^{++}] H_2 \text{ Purp.}^-}{[Ca H_2 \text{ Purp.}^+]} \dots\dots\dots (2)$$

Le changement de la couleur de la solution est une mesure de la concentration des ions de calcium. Cette méthode est donc analogue à la détermination colorimétrique de la concentration des ions d'hydrogène.

L'extinction étant la plus grande à une longueur d'ondes d'environ 480μ , les valeurs d'extinction se déterminent à cette longueur d'ondes (graphique 1).

Graphique I. Courbes d'extinction du purpurate (courbe 1), du purpurate de calcium (courbe 2) et du purpurate contenant 4,5 m mol/l de chlorure de calcium (courbe a).

Graphique I

La concentration des ions de calcium est ensuite calculée suivant l'équation :

$$Ca^{++} = \frac{1}{K'_a} \frac{E_a - E_1}{E_2 - E_a} \dots\dots\dots (3)$$

dans laquelle K'_a est la « constante d'association », c'est-à-dire la valeur réciproque de la constante de dissociation du complexe de purpurate de calcium ; E_1 représente l'extinction de la solution 1 ; E_2 l'extinction de la solution 2 ; E_a représente l'extinction de la solution a, avec correction pour l'extinction de l'ultrafiltrat sans purpurate.

On détermine K'_a en mesurant l'extinction de trois solutions, notamment une solution normale sans calcium (E_1), une solution contenant un excès de calcium, et dans laquelle le purpurate est entièrement fixé par le calcium (E_2) et une solution dans laquelle la concentration du calcium est comparable à celle du calcium dans l'ultrafiltrat de lait (E_a). Dans cette dernière solution, le purpurate n'est que partiellement fixé par le calcium. On calcule ensuite K'_a à l'aide de l'équation 3.

La valeur de K'_a est d'environ 250, pour une concentration des ions $\mu = 0,08$.

Réactifs.

1. Chlorure de calcium 1 mol/l.
2. Chlorure de calcium 0,01 mol/l.
3. Solution contenant par litre 0 mol 20 de chlorure de sodium, 0 mol 45 de chlorure de potassium et 0 mol 05 de chlorure de magnésium.

C'est à l'aide de cette solution que la concentration des ions dans le liquide à analyser est finalement portée à 0,08. Pour 2 ou 5 m mol/l de chlorure de calcium, il faudra alors respectivement 0,925 et 0,81 ml. de cette solution.

4. Tampon $pH = 6,49$, composé de la manière suivante : 2 ml. de la solution 1 8 ml. de la solution 1, et de l'eau distillée jusqu'au total de 100 ml.

Solution 1 : 0 gr. 5803 d'acide maléique dans solution 0,05 normale de NaOH, jusqu'au total de 100 ml. (mono-maléinate de sodium).

Solution 2 : 0 gr. 5803 d'acide maléique dans solution 0,1 normale de NaOH, jusqu'au total de 100 ml. (di-maléinate de sodium).

La formation de complexes du maléinate de la solution-tampon avec le calcium est possible. Si la concentration n'est pas trop grande, par exemple 0,0005 mol/l, il apparaît cependant que la formation de complexes ne dérange pas la détermination.

5. L'indicateur se compose d'environ 8 mgr. de purpurate de potassium ou de purpurate d'ammonium (murexide), légèrement chauffés dans 10 ml. d'eau distillée. Après une nuit, la solution est filtrée.

Mode d'opération.

Dans une série d'éprouvettes de verre d'Iéna, soigneusement nettoyées à l'acide chlorhydrique et ensuite à l'eau distillée, on verse les solutions indiquées sur le tableau II.

La solution de purpurate est mesurée avec une extrême exactitude à l'aide d'une micropipette Linderstrøm-Lang. Les quantités

de purpurate dans les éprouvettes différentes doivent être absolument égales. Dans notre cas, cette quantité était de 0 ml. 043/5 ml. Après le mélange, on mesure à une longueur d'ondes de 480 μ .

Le cas échéant, la détermination peut être effectuée avec 2 ml. d'ultrafiltrat. Il va sans dire qu'en ce cas, les quantités des solutions de composition connue devront aussi être réduites aux 2/5 de celles indiquées sur le tableau II.

TABLEAU II

EXEMPLE DE L'EXÉCUTION DE LA DÉTERMINATION DE LA CONSTANCE D'ASSOCIATION K'_a ET DE LA CONCENTRATION DES IONS DE CALCIUM SUIVANT LA MÉTHODE AU PURPURATE DANS DEUX ULTRA-FILTRATS DE LAIT, MARQUÉS UA-13a ET UA-13b

Composition des solutions							Détermination de l'extinction $\lambda = 480\mu$		
CaCl ²			Sol. 3	Tampon	H ² O	Purp.			
0.01 mol/l	1 mol/l	Conc.		0,005 mol/l					
ml	ml	mol/l	ml	ml	ml	ml	% absorp- tion	E	E corr.
—	—	—	1	1	8,00	0,086	45,4	0,263	
2	—	0,002	0,925	1	6,075	0,086	58,8	0,385	
5	—	0,005	0,81	1	3,19	0,086	66,1	0,470	
—	2	0,2	—	1	7,00	0,086	76,5	0,629	
5 ml. d'ultrafiltrat UA — 13 a						0,043	64,5	0,450	0,430
5 ml. d'ultrafiltrat UA — 13 b						0,043 ^e	67,6	0,489	0,468
Ultrafiltrat UA — 13a sans purpurate							4,4	0,020	
Ultrafiltrat UA — 13b sans purpurate							4,7	0,021	

Les données mentionnées sur le tableau II forment la base du calcul des valeurs de K'_a et de la concentration des ions de calcium dans les deux ultrafiltrats.

Il suit l'équation (3) :

$$[Ca^{++}] = 0,002 \text{ mol/l}$$

$$K'_a = \frac{1}{0,002} \cdot \frac{0,385 - 0,263}{0,629 - 0,385} = 250$$

$$[Ca^{++}] = 0,005 \text{ mol/l}$$

$$K'_a = \frac{1}{0,005} \cdot \frac{0,470 - 0,263}{0,629 - 0,470} = 260$$

Moyenne 255

A l'aide de cette valeur de la constante K'_a la concentration des ions de calcium de l'ultrafiltrat se détermine comme suit :

UA — 13a

$$[\text{Ca}^{++}] = \frac{1}{255} \cdot \frac{0,430 - 0,263}{0,629 - 0,430} = 0,00329 \text{ mol/l}$$

UA — 13b

$$[\text{Ca}^{++}] = \frac{1}{255} \cdot \frac{0,468 - 0,263}{0,629 - 0,468} = 0,00499 \text{ mol/l}$$

Résultats.

Tout d'abord, nous avons examiné, suivant la méthode au purpurate, si une formation de complexes a lieu dans les solutions synthétiques entre le calcium d'une part et le citrate, le phosphate et le lactose d'autre part.

En concordance avec les données fournies par la littérature, nous avons trouvé qu'une formation considérable de complexes a lieu entre le calcium et le citrate. La constante de dissociation du complexe de citrate de calcium se trouva être environ 6×10^{-4} .

Le phosphate aussi forme avec le calcium des complexes solubles, même lorsque les concentrations des composants sont si minimes que le produit de solubilité n'est pas atteint. La constante de dissociation du complexe de phosphate s'élevait à 0,02 environ.

Par contre, il ne se forme aucun complexe soluble entre le calcium et le lactose, du moins dans la concentration que ces matières ont normalement dans le lait.

a) *Le Lait normal.*

Dans les ultrafiltrats de 40 échantillons de lait de vache normal, la teneur totale en calcium variait de 6,5 à 11,4 m mol/l, avec une moyenne de 8,68 ($\pm 1,23$) m mol/l, c'est-à-dire 34,7 ($\pm 4,9$) mgr. %.

La concentration des ions de calcium dans les ultrafiltrats de ces échantillons variait de 2,0 à 3,6 m mol/l avec une moyenne de 2,75 ($\pm 0,39$) m mol/l, c'est-à-dire 11,0 ($\pm 1,6$) mgr. %.

La différence entre ces deux moyennes représente la quantité de calcium qui, dans l'ultrafiltrat, est fixée au citrate et au phosphate.

b) *Le lait instabilisé artificiellement.*

La méthode au purpurate fut d'abord éprouvée sur des échantillons de lait ayant été instabilisé artificiellement. Nous avons réussi à imiter le lait instable qui est le signe de l'anomalie d'Utrecht en ajoutant du chlorure de calcium à du lait normal. Le lait naturellement instable et celui artificiellement instabilisé sont absolument égaux l'un à l'autre au point de vue chimique.

Dans les expériences-modèles (faites avec des données simpli-

fiées) tombant sous cette catégorie, on a procédé à l'instabilisation de lait normal par l'addition d'une quantité de chlorure de calcium à 7,5 m mol/l. Le pH s'en trouve diminué, mais il est ramené à sa valeur primitive par l'addition de 0,2 n NaOH.

L'instabilité augmente à mesure qu'augmentent les quantités de chlorure de calcium qui sont ajoutées [1].

Le lait normal ainsi que le lait instabilisé de cette manière sont ultrafiltrés en même temps, puis complètement analysés. De cette manière on est à même de comparer la teneur en ions de calcium constatée par détermination directe avec la valeur de la teneur en ions de calcium calculée sur la base de la teneur en substances avides de former des complexes.

Le tableau III indique quelques-uns parmi les résultats que nous avons pu obtenir.

TABLEAU III

MODIFICATION DE LA COMPOSITION (m mol/l) DE L'ULTRA-FILTRAT
DU LAIT PAR SUITE DE L'ADDITION, AU LAIT, DE 7,5 m mol/l DE
CHLORURE DE CALCIUM ET DE LA NORMALISATION DU pH

		Ca total	P total	Ions de calcium		Changement du calcium lié aux protéines
				Détermi- nés	Calculés	
A 10	a	7,7	14,3	2,8	2,6	
	b	9,9	10,6	4,3	4,1	
		—	—	—	—	
Différence		+ 2,2	— 3,7	+ 1,5	+ 1,5	7,5 — 5,9 = 1,6
A 11	a	7,6	10,9	2,3	3,0	
	b	10,1	7,4	4,3	4,8	
		—	—	—	—	
Différence		+ 2,5	— 3,5	+ 2,0	+ 1,8	7,5 — 6,0 = 1,5
A 12	a	8,8	13,8	3,2	3,5	
	b	11,1	10,6	5,0	5,3	
		—	—	—	—	
Différence		+ 2,3	— 3,2	+ 1,8	+ 1,8	7,5 — 5,5 = 2,0
A 13	a	10,3	12,5	3,3	3,5	
	b	12,6	9,9	5,0	5,0	
		—	—	—	—	
Différence		+ 2,3	— 2,6	+ 1,7	+ 1,5	7,5 — 4,9 = 2,6

a = stable ; b = instable.

Il ressort du tableau III que, par l'addition de 7,5 m mol de calcium par litre, la teneur en calcium ultrafiltrable n'augmente que de 2,3 m mol/l. En même temps, la teneur en phosphate ultrafiltrable diminue d'une manière relativement plus importante, de sorte qu'il est permis de supposer qu'il y a précipitation de CaHPO_4 , et que, de plus, une partie du calcium ajouté perd son ultrafiltrabilité par fixation aux protéines.

La fraction de calcium ajouté, liée aux protéines, que nous avons calculée en supposant que le calcium fixé par le phosphate se précipite dans une proportion de 1 à 1, donc sous forme de CaHPO_4 par exemple, figure à la dernière colonne du tableau III.

Nous signalons que ces valeurs calculées suivant la méthode de l'analyse de l'ultrafiltrat (1,9 en moyenne) concordent de façon satisfaisante avec les valeurs que nous avons déduites d'après l'équation 1, à base du changement du pH, à laquelle occasion nous avons constaté qu'après l'addition de 7,5 m mol de calcium par litre, environ 25 %, c'est-à-dire 1,8 m mol/l était fixé de cette façon [1].

Les valeurs constatées et les valeurs calculées de la teneur de l'ultrafiltrat en ions de calcium se trouvent être en bonne concordance les unes avec les autres. Il ressort également de ces expériences que la teneur en ions de calcium étant portée de sa valeur normale de 2 ou 3 m mol/l à 4 ou 5 m mol/l et le pH restant inchangé, le lait devient instable.

c) *L'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht ».*

Depuis que nous avons réussi à élaborer une méthode sûre pour déterminer la teneur de l'ultrafiltrat de lait en ions de calcium la forme d'instabilité dite « anomalie d'Utrecht » a pratiquement disparu aux Pays-Bas.

Quelques exemples des cas de l'anomalie d'Utrecht qui se sont présentés pendant l'année 1953 sont mentionnés sur le tableau IV. Les analyses ont été exécutées par M. J. BOOGAERDT de ce laboratoire, que nous remercions de sa collaboration.

En outre, en 1950, nous avons eu l'occasion d'examiner deux cas de lait de chèvre instable (Voir le tableau IV).

Le tableau IV démontre que, dans l'ultrafiltrat du lait instable, la teneur en ions de calcium surpasse la teneur maximum trouvée dans l'ultrafiltrat de lait normal (3,6 m mol/l). Les teneurs en ions de calcium relevées dans le lait instable de vache et de chèvre sont donc du même ordre de grandeur que celles qu'on trouve dans du lait de vache rendu instable par l'addition de 7,5 m mol/l de chlorure de calcium (voir le tableau III).

TABLEAU IV
 INSTABILITÉ DE LAIT DE VACHE DITE « ANOMALIE D'UTRECHT » (1953)
 ET INSTABILITÉ EN CAS DE LAIT DE CHÈVRE (1950)

	Ca-ultrafiltrable m mol/l	Ca++ dans l'ultrafiltrat m mol/l	P-ultrafiltrable m mol/l	Acide citrique m mol/l
Vache Nr. 2	11	3,7 (4,0)*	9,6	8,4
Vache Nr. 3	8,4	3,8 (4,5)	9,4	3,9
Vache Nr. 4	11,2	4,9 (5,5)	6,2	6,3
Chèvre AG 47	8,6	4,4 (4,2)	7,4	5,6
Chèvre AG 48	8,2	4,1 (4,2)	8,9	5,0

*Entre parenthèses : valeurs calculées sur la base de la teneur en substances avides de former des complexes (phosphate et citrate).

Il va de soi que, strictement considéré, il n'est pas permis de comparer du lait de chèvre anormal à du lait de vache normal. Si nous le faisons cependant, l'erreur que nous ferons ne sera pourtant pas grande. De récentes recherches ont notamment démontré que la composition minérale du lait de chèvre ne diffère pas beaucoup de celle du lait de vache [13].

Lait à coagulation lente.

L'analyse chimique du lait lent à se cailler, lequel peut-être très préjudiciable dans la fabrication de fromage, a fourni, à ce jour, des résultats en majeure partie négatifs.

Selon KOESTLER, la teneur totale en calcium de tel lait serait souvent légèrement diminuée [11]. Il a cependant été constaté que ceci est loin d'être toujours le cas. Un examen approfondi des qualités du lait de coagulabilité diminuée a été accompli par PELTOLA au cours de ces dernières années [12]. Ce chercheur ne trouva aucun rapport avec le pH, l'acidité de titrage, la teneur en caséine ou la teneur en graisses. Il n'y avait pas non plus de rapport avec la production du lait, l'âge des bestiaux ou la nourriture.

Il y a pourtant des indications que le résultat favorable obtenu par l'addition, à ce lait, de chlorure de calcium d'une concentration pas trop forte pourrait être dû non seulement à la baisse du pH, mais également dans une certaine mesure à une action spécifique des ions de calcium.

Vu ces différentes observations, il nous semble probable que les difficultés dans la coagulation, dans les cas où on peut exclure des causes comme la mastite, peuvent être occasionnées par une concentration trop basse des ions de calcium.

Comme on dispose désormais d'une méthode sûre pour déter-

miner la teneur du lait en ions de calcium, il sera logique d'examiner s'il y a parallélisme entre cette coagulabilité diminuée d'une part et la teneur du lait en ions de calcium d'autre part. Nos études n'ont pas encore progressé à tel point que nous puissions nous prononcer à ce sujet. Nous nous bornons donc à mentionner cette hypothèse de travail.

Les causes de « l'anomalie d'Utrecht ».

Nos connaissances des causes profondes de l'augmentation de la concentration des ions de calcium, qui produit l'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht », sont encore limitées. Il y a trente ans déjà, SOMMER et BINNEY ont bien donné une énumération des causes de l'instabilité en général, mais de tous les facteurs qu'ils nomment, un seul pourrait avoir quelque importance dans notre cas : l'administration aux vaches laitières de calcium en grandes quantités, 50 à 200 grammes de carbonate de calcium par jour par exemple.

Pendant les années 1927-1939, nous avons rencontré l'anomalie d'Utrecht chez des vaches en bon état de santé. Le phénomène se trouva être indépendant de la nature du sol des pâturages où paissaient les bestiaux, aussi bien que de la saison [1]. Parfois, le lait d'une certaine vache restait instable pendant plusieurs mois, mais en d'autres cas pourtant, un rétablissement spontané avait lieu. Les rechutes étaient nombreuses. Ainsi que pour les autres troubles fonctionnels, comme la fièvre vitulaire, la tétanie et la cétose, la réceptivité des bestiaux envers « l'anomalie d'Utrecht » variait beaucoup. Dans certaines entreprises, le lait de toutes les vaches était instable, tandis que dans d'autres quelques vaches seulement étaient atteintes.

L'instabilité du lait peut être la conséquence d'une alimentation luxueuse. Ce fait a pu être observé aux Pays-Bas notamment dans les années 1930, époque où les cours des aliments étaient bas et où l'importation d'aliments concentrés pouvait se faire sans entraves.

C'est un fait généralement connu que l'alimentation irrationnelle des vaches laitières à haut rendement, qui se rencontre par exemple en cas d'exploitation intensive, où a lieu un engraissement trop fort et incomplet des prairies, peut occasionner des troubles des échanges vitaux chez les bovins. Ces troubles se caractérisent par des changements de la constitution chimique du sang et des tissus, où se produit entre autres une répartition anormale des matières minérales, comme le calcium, entre le sang et les tissus [15].

Pendant les années de prospérité économique, avant et après 1930, les troubles des échanges vitaux par suite d'une alimen-

tation irrationnelle se rencontraient fréquemment en Hollande. Les troubles de nature minérale tels qu'on les constata dans les syndromes comme la fièvre vitulaire et la tétanie, occasionnaient plus d'une fois l'administration exagérée de sels minéraux, tels que les sels de calcium et de magnésium. Ces sels — surtout le carbonate de calcium — s'administraient parfois en grandes quantités pendant plusieurs mois, avant et après le vêlage. Ou bien on essayait, après avoir fait aux bestiaux malades une injection de sel de calcium, parfois combiné de sel de magnésium, d'empêcher une rechute en administrant par la bouche du chlorure de calcium en quantités de l'ordre de 80 grammes pendant plusieurs jours.

On croyait supprimer ainsi un déficit supposé de ces éléments dans le corps des bestiaux, déficit qui, en réalité, se trouve ne pas exister. L'inexactitude de ce point de vue a été démontrée plus tard.

Il n'est naturellement pas certain qu'il existe un rapport entre l'administration exagérée de minéraux et la fréquence de l'anomalie d'Utrecht dans les années qui ont précédé la seconde guerre mondiale. Cependant, deux faits ont été établis :

1° Les recherches de SOMMER et BINNEY ont démontré que l'administration de fortes doses de carbonate de calcium aux vaches laitières rend leur lait instable. La teneur totale du lait en calcium reste la même, ce qui est aussi le cas pour l'anomalie d'Utrecht.

2° Depuis que l'instruction des éleveurs de bétail a été améliorée par suite de la base plus scientifique de l'administration des matières minérales, le nombre de cas de l'anomalie d'Utrecht a considérablement diminué en Hollande.

Cela ne signifie évidemment pas que des erreurs dans l'alimentation minérale du bétail aient été la seule cause de l'anomalie d'Utrecht. Notre expérience et celle d'autres chercheurs ont démontré tout autre chose.

L'instabilité du lait de vache est trouvée également dans les cas de graves pénuries d'aliments tels qu'ils existaient aux Pays-Bas au commencement de la seconde guerre mondiale, comme conséquence de l'évacuation des animaux par suite des opérations militaires.

On retrouve cette forme d'instabilité chez les chèvres et les moutons qui paissent sur des terres très pauvres, telles que les landes et les terrains marécageux mal engraisés. Plus d'une fois, le lait redevient normal dès qu'on transfère les bestiaux à de meilleures terres.

Ce phénomène se rencontre aussi en hiver, chez des vaches, notamment lorsque la nourriture se compose de mauvais foin et de paille, ou de silage d'herbe et de betteraves vieux de plus d'un an.

On est en droit de se demander si cet état d'épuisement consécutif au manque de nourriture diffère essentiellement de l'état d'épuisement par suite de maladie qui, selon SOMMER et BINNEY, entraîne lui aussi l'instabilité du lait [14]. Nous sommes d'avis que la réponse à cette question ne pourra être donnée que lorsque ces états pathologiques auront été soumis à un plus profond examen au point de vue biochimique.

En effectuant dans les cas d'instabilité du lait en conséquence d'une grave pénurie d'aliments, une analyse du sang, nous avons plus d'une fois constaté que cette instabilité du lait était accompagnée d'une diminution de la teneur totale en calcium du sérum du sang. Ceci pourrait indiquer un déplacement d'une partie des ions de calcium du sérum du sang au lait, par suite d'un dérangement compliqué de la régulation biochimique dans l'organisme de la vache laitière [15].

Dans ces cas, les teneurs du sérum en magnésium et en phosphore anorganique tendent plutôt à augmenter (tableau V).

TABLEAU V
COMPARAISON DE LA COMPOSITION MINÉRALE DU SÉRUM DU SANG
NORMAL ET DU SÉRUM EN CAS D'INSTABILITÉ DU LAIT PAR SUITE
D'UNE GRAVE PÉNURIE D'ALIMENTS (1941-1942)
(Teneurs en m mol/l)

	Calcium	Magnésium	Phosphore
<i>Pénurie d'aliments</i> (15 échantillons)*			
Teneur minimum	1.62	0.90	1.23
Teneur moyenne	2.17	1.15	1.82
Teneur maximum	2.45	1.32	2.58
<i>Vaches normales</i>			
Teneur moyenne	2.38	0.82	1.45

* Dans les 15 échantillons analysés, on relevait 8 fois des teneurs en calcium à moins de 2,25 m mol/l. Toutes les teneurs en magnésium dépassaient la teneur maximum normal (0.90 m mol/l), tandis que 10 échantillons démontraient des teneurs en phosphore en sus de la teneur maximum normal (1.61 m mol/l).

Les remèdes.

De ce qui précède, il s'ensuit que nous considérons une alimentation rationnelle du bétail comme un moyen très important pour éviter l'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht ». A l'heure actuelle, où l'alimentation du bétail laitier aux Pays-Bas n'est ni

luxueuse ni insuffisante, l'anomalie d'Utrecht a pratiquement disparu.

D'autre part il faut traiter les cas de cette forme d'instabilité du lait qui se présentent, soit par conséquence d'une alimentation trop luxueuse, soit par suite d'une pénurie d'aliments.

Dans ce dernier cas, la guérison des vaches est très difficile, voir impossible, alors que dans le premier cas des résultats favorables ont été souvent obtenu en administrant, par la bouche, du citrate de sodium en doses de 50 grammes par jour, pendant quelques jours.

Nous avons reçu l'impression que cette dose ne suffit pas toujours. C'est pourquoi nous nous proposons d'administrer journellement le double de cette dose, c'est-à-dire 100 grammes de citrate de soude, dans les cas futurs. Cette dose devra être administrée par la bouche en deux portions égales, le matin et le soir, pendant quelques jours.

Nous avons aussi réussi à guérir des bestiaux par l'injection sous-cutanée d'une solution stérile de 30 grammes de citrate de soude cristallisé à 10%. Cette injection doit être faite quelques jours de suite. Par contre, nous n'avons constaté aucun résultat favorable de l'administration de bicarbonate de soude.

En ce qui concerne la stabilisation du lait, dans tous les cas on réussit à stabiliser le lait instable en ajoutant au lait des substances avides de former des complexes avec les ions de calcium : citrate, phosphate, oxalate et fluorure [1].

Il est évident que seul le citrate de soude peut être employé à des fins pratiques, vu qu'il est un des composants normaux du lait. La quantité de citrate nécessaire à la stabilisation peut être déterminée d'avance pour chaque catégorie de lait instable. Ceci nous fournit un moyen simple et pratique d'exprimer le degré d'instabilité du lait. Les doses de citrate nécessaires à la stabilisation étant généralement petites, le lait traité de cette manière ne se distingue en aucune façon du lait normal. En conséquence, ce lait est propre à la consommation et au traitement technique, c'est-à-dire il peut être pasteurisé, stérilisé et évaporé sans inconvénient.

Sommaire.

1. Vers 1927, une forme d'instabilité du lait s'est présentée pour la première fois sur une grande échelle, dans la province néerlandaise d'Utrecht. Elle s'est répandue plus tard dans tout le pays. Cette forme d'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht » peut se manifester tant en cas d'alimentation luxueuse qu'en cas d'une grave pénurie d'aliments. A l'heure actuelle, où l'alimen-

tation du bétail laitier aux Pays-Bas n'est ni luxueuse ni insuffisante, l'anomalie d'Utrecht a pratiquement disparu.

2. L'anomalie d'Utrecht se caractérise en premier lieu par une teneur accrue en ions de calcium dans l'ultrafiltrat du lait. Alors que la teneur en ions de calcium de l'ultrafiltrat du lait de vache normal oscille entre 2,0 et 3,6 m mol/l ($2,75 \pm 0,39$ en moyenne), la teneur en ions de calcium de l'ultrafiltrat du lait instable dépasse en général 4 m mol/l. (Voir les tableaux III et IV.)

3. En ce qui concerne la base chimique du désordre, l'accroissement de la teneur en ions de calcium du lait peut être la conséquence :

a) D'un accroissement de la teneur totale en calcium ultrafiltrable ;

b) D'un abaissement de la teneur en citrate ;

c) D'un abaissement de la teneur en phosphate ultrafiltrable. (Voir le tableau I.) L'influence de ce dernier facteur, pour ce qui est de la fixation des ions de calcium, s'est avérée comme étant de peu d'importance.

Les résultats des analyses faites au cours d'un grand nombre d'années nous donnent l'impression que, selon la cause du mal, chacun des trois facteurs peut entrer en jeu et qu'il convient notamment d'attribuer un rôle important au citrate.

4. Pour la détermination de la concentration des ions de calcium dans l'ultrafiltrat de lait, une méthode extinctionsométrique a été élaborée. Elle est basée sur le même principe que la détermination colorimétrique de la concentration des ions d'hydrogène. (Voir le graphique 1.) Comme indicateur approprié aux ions de calcium, nous nous sommes servis du murexide. L'erreur de détermination est voisine de 5%.

5. A l'aide de la méthode au murexide, on peut constater que le calcium et le citrate forment des complexes qui, sont de grande importance dans le lait. Les complexes solubles de calcium et de phosphate y sont de moindre importance. Le calcium et le lactose ne forment pas de complexes dans les circonstances où ils se trouvent dans le lait.

6. En nous basant sur les concentrations de calcium, de magnésium, de citrate et de phosphate, nous avons pu calculer la répartition du calcium sur les différentes formes de fixation dans l'ultrafiltrat de lait, à l'aide des constantes de dissociation des citrates et des phosphates de calcium et de magnésium. Environ 35% du calcium se trouva être en ions, 55% était fixé au citrate et 10% au phosphate.

La valeur de la concentration des ions de calcium calculée de

cette façon est en bon accord avec celle qui a été obtenue suivant la méthode au purpurate. (Voir les tableaux III et IV.)

7. En ce qui concerne la base biochimique du désordre on peut constater que l'anomalie d'Utrecht s'accompagne d'une perturbation de la régulation dans l'organisme de la vache laitière, perturbation qui se signale souvent par une diminution de la teneur en calcium et un accroissement des teneurs du sérum sanguin en magnésium et en phosphore anorganique. (Voir le tableau V.)

8. Nous considérons une alimentation rationnelle du bétail comme un moyen très important pour éviter l'instabilité du lait dite « anomalie d'Utrecht ».

Les cas de cette forme d'instabilité du lait qui se présentent à l'heure actuelle chez les vaches laitières en guise d'exception, peuvent être traités en administrant aux vaches et par la bouche, des doses de 50 grammes (ou plus) de citrate de soude par jour, pendant quelques jours. Il se produit souvent par tel traitement une influence stabilisatrice sur le lait, notamment dans les cas où l'instabilité du lait est due à une alimentation trop luxueuse. Il apparaît qu'en cas d'alimentation insuffisante, l'administration de citrate de soude n'a pas d'influence stabilisatrice sur le lait. Chez les chèvres et les moutons qui paissent sur des terres très pauvres, plus d'une fois le lait redevient normal, dès qu'on transfère les bestiaux à de meilleures terres.

9. Dans tous les cas on réussit à stabiliser le lait instable en ajoutant au lait des substances avides de former des complexes avec les ions de calcium : citrate, phosphate, oxalate et fluorure. Il est évident que seul le citrate de soude peut être employé à des fins pratiques, vu qu'il est un des composants normaux du lait. Le lait traité de cette manière est propre à la consommation et au traitement technique, c'est-à-dire, il peut être pasteurisé, stérilisé et évaporé sans inconvénient.

10. L'analyse chimique du lait lent à se cailler, lequel peut être très préjudiciable dans la fabrication de fromage, a fourni, à ce jour, des résultats en majeure partie négatifs. Il y a pourtant des indications que les difficultés dans la coagulation du lait, dans les cas où on peut exclure des causes comme la mastite, peuvent être occasionnées par une concentration trop faible des ions de calcium.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. SEEKLES. *Proceedings XI Intern. Congr. Pure and Applied Chemistry* Londres, 1947 ; L. SEEKLES, W. TH. G. M. SMEETS. *Neth. Milk and Dairy Journal*, 1947, 1, 7.
- [2] H. EILERS. *Verlagen van landbouwkundige Onderzoekingen*, 1945, 50, (15) G.

- [3] P. VAN DER BURG. *Thèse Univ. Agricole*, Wageningen, 1946; *Neth. Milk and Dairy Journal*, 1947, **1**, 69.
- [4] M^{lle} M. TER HORST. *Neth. Milk and Dairy Journal*, 1947, **1**, 137; 1950, **4**, 246.
- [5] W. Th. G. M. SMEETS. *Thèse Univ. d'Utrecht*, 1952.
- [6] W. Th. G. M. SMEETS, L. SEEKLES. *Nature*, 1952, **169**, 802.
- [7] J. RAUFLAUB. *Z. Physiol. Chemie*, 1951, **288**, 228.
- [8] W. Th. G. M. SMEETS. *Neth. Milk and Dairy Journal* (sous presse).
- [9] G. SCHWARZENBACH, H. GYSLING. *Helv. Chim. Acta*, 1949, **32**, 1317.
- [10] H. HOSTETTLER, H. R. RUEGGER. *Landw. Jahrb. Schweiz*, 1950, **64**, 669.
- [11] A. G. KOESTLER. *Journal Dairy Science*, 1925, **8**, 28.
- [12] E. PELTOLA. *Proceedings XII Intern. Dairy Congress*, 1949, **2**, 73.
- [13] L. SEIDLER. *Die Milchwissenschaft*, 1951, **6**, 170.
- [14] H. H. SOMMER et T. H. BINNEY. *Journal Dairy Science*, 1923, **6**, 176.
- [15] L. SEEKLES. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 1949, **125**, 337.

La biochimie, moyen d'étudier et de combattre les maladies animales.
Conférence faite au XV^e Congrès International Vétérinaire à Stockholm, 1953, *Comptes rendus*, **2**, 59.

AMÉLIORATION DES CONDITIONS ÉCONOMIQUES DE LA DISTRIBUTION DES PRODUITS LAITIERS

par
G. ZUNDEL

L'amélioration des conditions économiques de la distribution des produits laitiers doit tendre essentiellement à l'augmentation des quantités distribuées, sans augmentation, si possible, des prix de vente [102, 103, 104]. On atteint ainsi un double but : augmentation du commerce des produits laitiers, voire des exportations [19, 105], et absorption de l'augmentation de production [106, 107, 107'], obtenue par les moyens exposés précédemment.

[102]. — Aux U.S.A., en 1949, alors que le prix moyen de tous les aliments avait augmenté de 104,2% par rapport à 1935-1939, les produits laitiers n'avaient augmenté que de 85,3%.

[103]. — Dans son rapport général au XIII^e C.I.L. sur la question du ravitaillement en lait des grandes agglomérations, G. BREART donne de nombreux renseignements sur les prix, l'organisation du marché, les conditions d'intervention de la réglementation ou de subventions.

[104]. — M. COMOTON et J. L. DAVIES dans leur rapport au XIII^e C.I.L., montrent par de nombreux tableaux que la consommation du lait s'accroît dans de nombreux pays. En même temps, ils font constater que les prix de revient restent généralement bas et augmentent sensiblement moins que les prix des autres denrées consommables.