

## Devenir du cadmium du lait de brebis dans la crème et les caillés présure ou lactique

Guy E. Milhaud<sup>a\*</sup>, Louis Vassal<sup>b</sup>, Brigitte Federspiel<sup>a</sup>,  
Agnès Delacroix-Buchet<sup>b</sup>, Smaïl Mehennaoui<sup>a</sup>, Éliane Charles<sup>a</sup>,  
Brigitte Enriquez<sup>a</sup>, Martine Kolf-Clauw<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Équipe associée Inra/Enva, « Cadmium et aliments d'origine animale »,  
UP de pharmacie-toxicologie, École nationale vétérinaire d'Alfort,  
7, avenue du Général-de-Gaulle, 94704 Maisons-Alfort cedex, France

<sup>b</sup> Unité de recherches laitières et génétique appliquée, Inra, domaine de Vilvert,  
78352 Jouy-en-Josas cedex, France

(Reçu le 9 décembre 1997 ; accepté le 8 juillet 1998)

### Abstract — Transfer of cadmium from ewe milk to cream and to rennet and lactic curds.

Milks from control ewes and from ewes fed with a diet containing added cadmium were skimmed and then transformed into cheese curds either by rennet coagulation or by lactic acidification with a culture of *Lactococcus lactis*. Cadmium contents ranged from less than 0.2 to 0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in the control milk and from 4.8 to 21.4  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  in the contaminated milk. Cadmium contents were always higher in the cream than in the whole milk: the concentration factor was  $3.0 \pm 1.1$  in the treated ewes' milk. In the rennet curds obtained from the skim-milk of the treated ewes, the cadmium levels were 3.6 to 7.6 times higher than in the original milk. For the lactic curds, the concentration factor ranged from 2.1 and 3.1. The fresh curd cadmium contents reached  $4.7 \pm 2.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  when obtained from control milks, which suggested a contamination by the cadmium during the cheese making. © Inra/Elsevier, Paris.

### cadmium / ewe / milk / cream / curd

**Résumé** — Des laits provenant de brebis témoins et de brebis ayant reçu une alimentation enrichie en cadmium ont été écrémés et transformés ensuite en caillés par la présure ou par acidification lactique à l'aide d'une culture de *Lactococcus lactis*. Les laits témoins avaient des teneurs en cadmium variant de moins de 0,2 à 0,5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Les laits provenant des brebis traitées avaient des teneurs comprises entre 4,8 et 21,4  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Les teneurs en cadmium de la crème étaient toujours plus élevées que celles du lait entier : le facteur de concentration était de  $3,0 \pm 1,1$  pour les laits provenant des animaux ayant reçu du cadmium. Les « caillés présure » frais obtenus avec ce lait avaient des teneurs en cad-

\* Correspondance et tirés à part. E-mail : milhaud@vet-alfort.fr

mium de 3,6 à 7,6 fois plus élevées que celles du lait de départ. Quant aux « caillés lactiques », le facteur de concentration était compris entre 2,1 et 3,1. Les caillés obtenus avec les laits témoins avaient une teneur en cadmium de  $4,7 \pm 2,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  frais, ce qui fait suspecter une contamination par le cadmium au cours de la fabrication. © Inra/Elsevier, Paris.

## cadmium / brebis / lait / crème / caillé

### 1. INTRODUCTION

Malgré la réduction de ses usages industriels, la contamination de l'environnement par le cadmium se poursuit, notamment par l'épandage agricole des boues des stations d'épuration et par l'utilisation d'engrais phosphatés vecteurs de ce métal (surtout les superphosphates importés d'Afrique). Le cadmium est considéré comme le métal le plus apte à s'accumuler dans les chaînes alimentaires. Chez l'homme, en 50 ans, les teneurs rénales auraient été multipliées par 47 [5]. Or, lorsque les concentrations rénales atteignent un certain seuil, des dysfonctionnements apparaissent : diminution de la résorption et excrétion dans l'urine de protéines ( $\beta 2$ -microglobuline et rétinol-binding-protein), d'acides aminés, de glucose, d'ions calcium. Les symptômes peuvent s'aggraver, avec apparition d'une néphrite chronique et d'insuffisance rénale [11].

Selon le Conseil supérieur d'hygiène publique de France [3], les principaux vecteurs alimentaires du cadmium sont, par ordre d'importance décroissante, les légumes et les fruits (environ 30 %), les fromages et les produits laitiers (18,5 %), les produits à base de céréales (16 %) ; viennent ensuite les boissons (11,6 %), les abats (5,5 %), la charcuterie (2,7 %) et les poissons (2,6 %).

Les plans de surveillance du lait et des produits laitiers mis en place par la Direction générale de l'alimentation du Ministère de l'agriculture et de la pêche montrent qu'environ 15 % des fromages de vache contiennent de 10 à  $50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de cadmium alors que les fromages de chèvre et de brebis peuvent atteindre  $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . La crème

est beaucoup moins contaminée (généralement moins de  $2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) [4]. L'importance des apports dus aux produits laitiers a également été constatée à l'étranger [14, 16]. Après avoir étudié la cinétique du cadmium chez la brebis en lactation [8], nous avons entrepris l'étude du transfert du cadmium du lait dans les produits laitiers. Ce travail avait pour objectif de faire un « bilan cadmium » lors de la préparation de produits laitiers en laboratoire avec du lait traité à la main contenant de 3 à  $5 \mu\text{g}$  de cadmium par litre.

### 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 2.1. Matériel

Deux animaux d'un troupeau de brebis croisées Lacaune-Préalpes entretenus au centre Inra de Brouessy ont reçu, incorporé dans un aliment complémentaire granulé,  $5,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de poids vif et par jour de cadmium sous forme de chlorure, du 1<sup>er</sup> au 54<sup>e</sup> jour de la lactation et  $1,75 \text{ mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{j}$  du 55<sup>e</sup> au 96<sup>e</sup> et dernier jour de la lactation. Une prise de sang a été réalisée toutes les semaines (le mercredi matin) dans des tubes Vacutainer à bouchon bleu roi, spéciaux pour oligo éléments et toxicologie (réf. B324 KAT 7 Poly Labo, Strasbourg, France). Le lait de la traite manuelle du mardi soir réfrigéré à  $+4^\circ\text{C}$  et du mercredi matin non réfrigéré a été placé dans un récipient en polypropylène et livré immédiatement à l'unité de recherches laitières et génétique appliquée Inra de Jouy-en-Josas, à l'exception des jours j5, j26 et j82. À j12, j19, j33, j40, j47 et j54, le mercredi matin, un échantillon de lait témoin a été recueilli, en prélevant du lait à la main sur plusieurs brebis du troupeau qui allaitaient un agneau.

Après homogénéisation manuelle et prélèvement de 100 mL pour analyse, le lait restant (de

1,7 à 3,6 kg) a été écrémé dans une écrémeuse (Alpha Laval 70 L·h<sup>-1</sup>) en acier inoxydable rincée à l'acide nitrique à 2 % et à l'eau désionisée. À partir du lait écrémé, des caillés ont été préparés soit à l'aide de présure (0,3 mL·L<sup>-1</sup>), soit par acidification lactique avec une culture de *Lactococcus lactis* (1 % de levain + 0,05 mL·L<sup>-1</sup> de présure). La préparation a été effectuée avec le matériel en matière plastique habituellement utilisé à l'unité de recherches laitières. Les récipients et le matériel (tranche-caillé, agitateur...) utilisés pour ces préparations et pour conserver les échantillons ont été successivement lavés à la lessive Vapro à 1 % (Turco, Athis Mons), rincés à l'eau courante, passés à l'acide nitrique à 2 %, puis soigneusement rincés à l'eau désionisée (elle-même recueillie dans un récipient plastique préalablement passé à l'acide et rincé). Tous les produits obtenus étaient conservés dans des récipients en polypropylène. La manipulation du matériel avant et pendant la fabrication a été faite avec des gants jetables en vinyle.

## 2.2. Méthodes

Les laits de départ et les produits obtenus ont été pesés avec une balance OHAUS ayant une portée de 6 kg et une précision de 1 g. Le pH, la teneur en matières grasses et en matières azotées totales (MAT) du lait de départ ainsi que la teneur en matières grasses de la crème ont été mesurés à l'unité de recherches laitières et génétique appliquée. La teneur en matières grasses a été mesurée par la méthode acido butyrométrique dite de Gerber après dilution au 1/2 pour le lait et au 1/20 pour la crème. La teneur en MAT a été déterminée par la méthode Kjeldahl à l'aide d'un appareil Vapodest 6 (Gerhardt, Bonn, Allemagne).

L'unité associée Inra/Enva « Cadmium et aliments d'origine animale » a déterminé les extraits secs et dosé le cadmium dans le lait entier, le lait écrémé, le lactosérum, la crème, les caillés et le sang. Le cadmium a été dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique à l'aide d'un appareil à four graphite et à effet Zeeman (Perkin-Elmer 4100 ZL).

Pour les échantillons de sang, le dosage était précédé d'une dilution au 1/10 en ajoutant à 100 µL de sang 300 µL d'acide nitrique 0,05N, 500 µL de Triton X à 0,1 % et 100 µL d'eau déminéralisée [6]. Pour le lait entier, le lait écrémé et le lactosérum, le dosage était précédé d'une dilution au 1/5 en ajoutant à 200 µL du

matériel à doser 500 µL de Triton X à 0,1 % et 300 mL d'eau déminéralisée [6].

Pour la crème et les caillés, le cadmium a été dosé avec une méthode mise au point au Cneva-Paris, en cours de validation par l'Afnor. Cette méthode qui fait appel à des ajouts dosés, comprend une phase de minéralisation et une phase de concentration par extraction à la méthylisobutylcétone. Pour chaque échantillon, 6 prises d'essai exactement pesées de 3 g environ étaient effectuées. Deux recevaient 0,4 mL d'une solution contenant 0,05 µg de Cd·mL<sup>-1</sup> ; deux autres 0,8 mL de cette même solution. Deux capsules ne recevaient ni prélèvement, ni cadmium pour servir de blancs. Un mL d'acide sulfurique 9N était ajouté dans chacune des 8 capsules qui étaient ensuite placées dans un four à 700 °C pour calcination des prélèvements. Les cendres blanches étaient reprises à l'aide de 1 mL d'acide nitrique 5N en chauffant légèrement, puis transvasées quantitativement avec de l'eau distillée dans des fioles de 50 mL en amenant le volume à environ 25 mL. Étaient ensuite ajoutés successivement 50 µL de rouge de phénol, 5 mL de tampon citrate, quelques gouttes d'ammoniaque pour amener le pH à 8,5, 0,5 mL d'une solution à 10 % de cyanure de potassium, 1 mL d'une solution à 2 % d'acide pyrrolidinodithiocarboxylique et 4 mL exactement mesurés de méthylisobutylcétone. Après agitation pendant 1 minute, de l'eau était ajoutée pour faire remonter la méthylisobutylcétone dans le col des fioles de 50 mL et la prélever pour le dosage. Pour les caillés fabriqués avec des laits provenant des animaux ayant reçu du cadmium, la phase de concentration n'était pas réalisée, les cendres blanches étaient reprises à l'aide de 1 mL d'acide nitrique 5N et transvasées quantitativement dans un volume final de 50 mL d'eau déminéralisée, à partir duquel était effectué le dosage.

La limite de détection du cadmium était de 0,2 µg/L pour le sang et le lait et la limite de quantification de 0,8 µg/L pour ces deux substrats [6]. Pour les teneurs comprises entre 0,2 et 0,8 µg·L<sup>-1</sup>, les résultats des dosages étaient semi-quantitatifs. Pour la crème et les caillés ayant fait l'objet d'une concentration à la méthylisobutylcétone, les limites de détection et de quantification étaient similaires. Pour les caillés n'ayant pas fait l'objet d'une concentration avant dosage, ces limites étaient 10 fois plus élevées.

Le bilan cadmium a été effectué de trois façons différentes et complémentaires :

1) par rapport au lait de départ en prenant en considération le cadmium que l'on retrouve dans

la crème et le lait écrémé (le contenu du bol qui reste dans la centrifugeuse a été assimilé à du lait écrémé) ;

2) par rapport au lait écrémé, en prenant en considération le cadmium que l'on aurait retrouvé dans le caillé et le lactosérum si tout le lait écrémé avait été transformé ;

3) par rapport au lait de départ, en prenant en considération le cadmium que l'on retrouve dans la crème, dans le caillé et le lactosérum.

Les calculs ont été faits en prenant pour les densités les valeurs suivantes : lait et lait écrémé : 1,04 ; lactosérum : 1,03.

### 3. RÉSULTATS

Le pH, la teneur en matières grasses et en matières azotées totales des laits provenant des animaux témoins et traités, la teneur en matières grasses de la crème sont présentés dans le *tableau I*. Les teneurs en matières grasses sont assez variables d'un échantillon à l'autre (41 à 82 g·L<sup>-1</sup>). Les teneurs en MAT sont moins dispersées (44,6 à 56,3 g·L<sup>-1</sup>). Pour aucun des 3 paramètres, il n'y a de différence significative au seuil de 5 % (test de Student) entre les laits provenant des brebis témoins et des brebis ayant reçu une alimentation enrichie en cadmium.

Chez les animaux témoins, les teneurs en cadmium dans les laits entiers, les laits écrémés et les lactosérums sont voisines de la limite de détection (0,2 µg·L<sup>-1</sup>) et inférieures à la limite de quantification (0,8 µg·L<sup>-1</sup>) (*tableau II*). Dans la crème, les teneurs sont comprises entre 0,3 et 1,7 µg·kg<sup>-1</sup> frais (moyenne ± écart type = 0,8 ± 0,5 µg·kg<sup>-1</sup>) et dans les caillés entre 1,3 et 7,6 µg·kg<sup>-1</sup> frais (moyenne ± écart type = 4,7 ± 2,1 µg·kg<sup>-1</sup>).

Chez les animaux traités, les teneurs en cadmium du sang et du lait exprimées en µg·L<sup>-1</sup> sont voisines. Elles augmentent jusqu'à j54, puis diminuent sensiblement lorsque l'apport alimentaire en cadmium est divisé par trois (*tableau III*). Les crèmes ont des teneurs en cadmium de 1,6 à 4,8 fois plus élevées que celles du lait (facteur de

multiplication = 3,0 ± 1,1). Les caillés présure frais ont des teneurs en cadmium de 3,6 à 7,6 fois plus élevées que celles du lait entier frais (facteur de multiplication = 5,3 ± 1,3). Dans les caillés lactiques frais, le facteur de multiplication est plus faible, compris entre 2,1 et 3,1 (2,6 ± 0,34). Le poids des « caillés lactiques » est en moyenne 1,6 fois plus élevé que celui des « caillés présure ». Par rapport au poids des extraits secs du lait entier et des caillés, les facteurs de multiplication sont de 2,57 ± 0,55 pour les caillés présure et de 1,92 ± 0,30 pour les caillés lactiques. Les teneurs en cadmium du lactosérum sont toujours beaucoup plus faibles que celles du lait. Les rapports « concentration dans le lactosérum » sur « concentration dans le lait » sont compris entre 2,1 % et 11,9 % (moyenne ± écart type = 6,0 ± 3,9 %) pour les lactosérums présure et entre 7,6 et 23,2 % (moyenne ± écart type = 14 ± 5,6 %) pour le lactosérum lactique.

Les pourcentages de récupération du cadmium du lait entier vers le lait écrémé et la crème (*tableau IV*) sont compris entre 90 et 111 % (moyenne 100,3 ± 6,3 %). Les pourcentages de récupération du lait écrémé vers les caillés sont beaucoup plus variables : 66 à 155 % pour les caillés présure (moyenne 114,4 ± 28,9 %) et 82 à 166 % pour les caillés acides (moyenne 104,7 ± 29,7 %). Les pourcentages de récupération du lait entier vers la crème et les caillés sont compris entre 75 % et 141 % (moyenne ± écart type = 106 ± 20 %). Ils sont plus élevés pour les caillés présure (111 ± 21 %) que pour les caillés lactiques (100 ± 20 %) (*tableau IV*). Ces calculs n'ont été effectués qu'avec les laits provenant des brebis ayant reçu du cadmium. Pour les brebis témoins, les teneurs en cadmium du lait sont souvent inférieures au seuil de détection (*tableau II*), alors que les teneurs moyennes des caillés sont de 4,7 ± 2,1 µg·kg<sup>-1</sup> frais.

**Tableau I.** Principales caractéristiques des laits et des crèmes.**Table I.** Main characters of milks and creams.

	Brebis	Lait			Crème
		PH	Teneur en matières grasses (g·L <sup>-1</sup> )	Teneur en MAT (g·L <sup>-1</sup> )	Teneur en matières grasses g·L <sup>-1</sup> )
j12	témoins	6,87	82	55,2	640
	traitées	6,65	60	51,3	590
j19	témoins	6,69	76	49,4	580
	traitées	6,70	51	49,2	480
j33	témoins	6,66	55	45,7	540
	traitées	6,67	46	48,4	570
j40	témoins	6,68	58	49,2	560
	traitées	6,70	45	49,9	530
j47	témoins	6,65	50	46,1	520
	traitées	6,67	64	52,5	590
j54	témoins	6,68	60	44,6	550
	traitées	6,78	41	51,3	—
j61	témoins				
	traitées	6,61	52	54,8	540
j68	témoins				
	traitées	6,60	62	56,3	540
j75	témoins				
	traitées	6,57	60	—	545
j89	témoins				
	traitées	6,50	70	—	550
j96	témoins				
	traitées	6,50	57	—	560

j : jour ; MAT: matière azotée totale.

j: day; MAT: total nitrogen matter.

#### 4. DISCUSSION

Les laits témoins sont peu chargés en cadmium (de moins de 0,2 à 0,5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), alors que les laits des animaux ayant reçu du cadmium ont des teneurs comprises entre 4,8 et 21,4  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , supérieures à celles qui étaient souhaitées (3 à 5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Dans un essai réalisé par Houpert et al. [8], à la suite de l'administration dans des gélules de 2,5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Cd sous forme de chlorure pendant 21 jours suivi de l'administration de 1,25  $\text{mg}\cdot\text{kg}\cdot\text{j}^{-1}$  pendant 31 j, les concen-

trations dans le lait étaient voisines de 3  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Chez les brebis, le temps moyen de résidence du cadmium est légèrement supérieur à 100 jours, l'équilibre des concentrations sanguines est lent à s'établir et les variations individuelles sont importantes [9]. L'incorporation du cadmium dans l'aliment a pu également favoriser son absorption.

Les pourcentages de récupération du cadmium sont meilleurs lors de l'écémage (tableau IV, col. I) que lors de la prépara-

**Tableau II.** Teneur en cadmium dans les produits laitiers provenant des brebis témoins.  
**Table II.** Cadmium levels in dairy products from non-treated ewes.

	Lait entier		Lait écrémé		Crème		Lactosérum		Caillé	
	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ frais)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ frais)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	
j12	<0,2	<0,2	<0,2	0,3	0,5	0,3 <sup>p</sup>	0,3 <sup>p</sup>	4,7 <sup>p</sup>	16,2 <sup>p</sup>	
j19	<0,2	<0,2	<0,2	0,8	1,3	0,4 <sup>p</sup>	0,4 <sup>p</sup>	5,9 <sup>p</sup>	20,2 <sup>p</sup>	
j33	0,3	0,4	0,4	1,3	2,0	<0,2 <sup>p</sup>	<0,2 <sup>p</sup>	4,8 <sup>p</sup>	12,9 <sup>p</sup>	
j40	0,5	<0,2	<0,2	0,3	0,4	0,4 <sup>a</sup>	0,4 <sup>a</sup>	4,1 <sup>a</sup>	18,8 <sup>a</sup>	
j47	<0,2	0,3	0,3	0,9	1,5	<0,2 <sup>a</sup>	<0,2 <sup>a</sup>	7,6 <sup>a</sup>	34,6 <sup>a</sup>	
j54	0,2	0,5	0,5	1,7	3,0	<0,2 <sup>a</sup>	<0,2 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a</sup>	

j: jour; P caillé présure; <sup>a</sup>: caillé lactique.  
 j: day; P rennet curd; <sup>a</sup>: lactie curd.

tion des caillés à partir du lait écrémé (tableau IV, col. II). Le premier bilan est effectué à partir de résultats de dosages sur des prélèvements liquides, alors que le second prend en considération les analyses réalisées sur les caillés qui ont une structure plus hétérogène.

La teneur de la crème en cadmium est nettement plus élevée que celle du lait entier aussi bien chez les animaux témoins où les concentrations vont de 0,3 à 1,7  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (moyenne  $\pm$  écart type =  $0,9 \pm 0,5$ ) que chez les animaux ayant reçu du cadmium où les concentrations varient de 7,9 à 63,0  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Dans ce dernier cas, on retrouve dans la crème en moyenne 24 % du cadmium contenu dans le lait entier. Ces résultats sont complètement différents de ceux de Roh et al. [15] et de Mata et al. [13] qui, lorsqu'ils ajoutent du cadmium sous forme d'acétate à du lait de vache à des concentrations de 1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ou 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , n'en retrouvent que 3 % dans la crème. Ces différences peuvent être en partie expliquées par des différences de protocole expérimental parmi lesquelles on peut avancer l'espèce animale considérée, le fait que dans nos essais le cadmium est excrété par la mamelle alors que, dans les travaux de Roh et al. [15] et de Mata et al. [13], le cadmium est ajouté au lait à de très fortes concentrations ou encore le mode de séparation de la crème (écrémeuse ou centrifugeuse) qui induit les différences dans sa teneur en matière grasse. En revanche, Bruant et al. [1] observent une reconcentration du cadmium dans la crème, de l'ordre du double de la valeur mesurée dans des laits de vaches prélevés à la ferme, en se référant au poids frais des échantillons. De même, Marletta et al. [12] trouvent 2,5 fois plus de cadmium dans la crème que dans le lait entier de vache.

Dans nos essais de fromagerie, les caillés présure retiennent davantage de cadmium que les caillés lactiques (75 % versus 62 % du cadmium dans le lait entier) et à l'inverse les lactosérums présure sont moins riches en cadmium que les lactosérums lactiques.

**Tableau III.** Teneur en cadmium dans le sang et les produits laitiers provenant des brebis ayant reçu du cadmium.**Table III.** Cadmium levels in blood and dairy products from cadmium-treated ewes.

	Sang	Lait entier		Lait écrémé		Crème		Lactosérum		Caillé	
	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ g frais)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ frais)	( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ sec)
j12	6,2	4,8	27	4,6	39	7,9	12	< 0,2 <sup>P</sup>	–	17,3 <sup>P</sup>	56 <sup>P</sup>
j19	7,8	7,5	47	6,6	56	25,5	44	0,3 <sup>P</sup>		41,5 <sup>P</sup>	140 <sup>P</sup>
j33	11,8	10,6	66	7,8	65	45,9	80	0,5 <sup>P</sup>	7 <sup>P</sup>	75,8 <sup>P</sup>	223 <sup>P</sup>
j40	16,0	13,8	86	9,5	78	46,1	83	2,1 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	34,8 <sup>a</sup>	160 <sup>a</sup>
j47	18,3	16,8	97	13,4	112	48,3	78	2,4 <sup>a</sup>	41 <sup>a</sup>	40,6 <sup>a</sup>	186 <sup>a</sup>
j54	17,5	21,4	140	17,6	154	53,2	87	1,6 <sup>a</sup>	26 <sup>a</sup>	49,8 <sup>a</sup>	256 <sup>a</sup>
j61	16,7	17,0	104	16,5	137	30,9	52	2,0 <sup>P</sup>	26 <sup>P</sup>	72,1 <sup>P</sup>	196 <sup>P</sup>
								3,9 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	47,6 <sup>a</sup>	188 <sup>a</sup>
J68	19,1	15,6	86	11,8	92	51,6	87	1,8 <sup>P</sup>	23 <sup>P</sup>	70,0 <sup>P</sup>	197 <sup>P</sup>
								2,7 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	–	–
j75	11,5	13,1	76	8,6	70	63,0	106	0,6 <sup>P</sup>	9 <sup>P</sup>	56,0 <sup>P</sup>	167 <sup>P</sup>
								1,2 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	40,3 <sup>a</sup>	189 <sup>a</sup>
J89	14,5	10,1	56	9,2	73	15,9	26	0,4 <sup>P</sup>	6 <sup>P</sup>	62,6 <sup>P</sup>	181 <sup>P</sup>
								0,9 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>	27,8 <sup>a</sup>	117 <sup>a</sup>
J96	15,8	10,2	54	9,1	71	20,2	34	< 0,2 <sup>P</sup>	< 3 <sup>P</sup>	56,1 <sup>P</sup>	140 <sup>P</sup>
								1,4 <sup>a</sup>	18 <sup>a</sup>	20,2 <sup>a</sup>	89 <sup>a</sup>

j : jour ; <sup>P</sup> caillé présure ; <sup>a</sup> : caillé lactique.j: day; <sup>P</sup> rennet curd; <sup>a</sup>: lactic curd.

**Tableau IV.** Bilan du transfert du cadmium (exprimé en pourcentages de récupération) du lait entier vers le lait écrémé et la crème (I) du lait écrémé vers les caillés présure ou acide (II) et du lait entier vers les caillés présure ou acide (III).

**Table IV.** Transfer of cadmium (expressed in recovery percentages) from milk to skim-milk and cream (I) from skim-milk to rennet coagulation or lactic acidification cheese curds (II) from milk to rennet coagulation or lactic acidification cheese curds (III).

	I : Transfert lait vers crème + lait écrémé	II : Transfert lait écrémé vers caillés		III : Transfert lait vers crème et caillés	
		Présure	Acide	Présure	Acide
j12	103	66	–	75	–
j19	111	116	–	122	–
j33	104	155	–	139	–
j40	90	–	120	–	102
j47	99	–	93	–	94
j54	90	–	90	–	86
j61	104	81	85	89	93
j68	100	119	–	113	–
j75	105	134	166	123	141
j89	98	132	97	123	96
j96	99	112	82	108	85

Ces résultats vont dans le même sens que ceux relevés dans la bibliographie pour des ajouts importants de cadmium sous forme d'acétate ( $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) à des laits de vaches avant fractionnement de la caséine soit par précipitation acide à pH 4,5 soit par coagulation enzymatique avec de la chymosine suivi dans les deux cas par une centrifugation [13]. Dans ce cas, la proportion de cadmium retenue par les caillés acide ou présure lavés à l'eau bidistillée et recentrifugés sont respectivement de 40,6 et 89,3 %. L'analyse de fromages type Camembert ou type Gruyère [1] ou encore type Mozzarella [12] montrent une rétention et une concentration du cadmium dans les fromages de l'ordre de 3 à 6 fois celle du lait de fabrication en se référant au poids frais des échantillons.

Le cadmium présente une affinité élevée pour les groupes sulfhydryles des résidus cystéine nombreux dans les protéines sériques du lait et quasi absents dans la caséine (seules les caséines  $\kappa$  et  $\alpha_2$  en faibles pro-

portions dans le lait possèdent 2 résidus cystéine par mole de protéine) et dans une moindre mesure pour d'autres groupes fonctionnels des acides aminés [10, 17]. La fixation des ions métalliques sur les protéines est largement dépendante des conditions de pH. Ainsi, la liaison cadmium-groupes sulfhydryles est particulièrement forte entre pH 2 et 6. Au dessus de pH 6, la liaison devient plus faible et d'autres groupes fonctionnels peuvent entrer en compétition pour fixer le cadmium, ce qui peut faciliter sa fixation sur les caséines [10]. Les lactosérums présure ont un pH moyen voisin de 6,6 alors que les lactosérums acides ont un pH moyen voisin de 4,4 proche du point isolélectrique des caséines. Le déplacement des équilibres minéraux du lait en fonction du pH explique la plus grande richesse en ions minéraux du lactosérum acide comparé au lactosérum présure. Ce phénomène est très étudié pour le calcium du lait [2]. Les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Cd}^{2+}$  ont des charges identiques, un même rayon

(0,99 versus 0,97 Å), un rapport charge/rayon voisin et supérieur à 2, donc un potentiel d'hydratation de même ordre [10], ce qui laisse prévoir des similarités de comportement des deux cations en solution, même s'ils diffèrent beaucoup pour d'autres constantes physiques. On a ainsi montré que, dans la fraction soluble, le citrate est pour le cadmium, comme pour le calcium, le principal ligand [7]. L'ensemble des observations précédentes pourrait expliquer la moindre fixation du cadmium sur les caséines avec le caillé acide ou la plus grande richesse des lactosérums acides.

Les rapports entre les concentrations en cadmium du lait, de la crème et des caillés qui ont été établis avec les laits provenant des animaux ayant reçu du cadmium, ne permettent pas une interprétation facile des résultats obtenus avec les laits des animaux témoins. Même si les déterminations des concentrations en ce métal dans le lait, comprises entre moins de  $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  et  $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , sont peu précises, les concentrations dans la crème et dans les caillés devraient être nettement inférieures à ce qu'elles sont. Nous avons vu également que les plans de surveillance révèlent des concentrations dans les fromages de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , alors que les teneurs dans le lait sont le plus souvent inférieures à la limite de détection. Une contamination par le cadmium au cours de la fabrication peut donc être suspectée. Des études complémentaires sont en cours pour vérifier cette hypothèse.

## 5. CONCLUSION

Le cadmium du lait de brebis se concentre dans la crème et dans les caillés. Les caillés présure fixent davantage de cadmium que les caillés lactiques. Malgré les précautions prises pour éviter les contaminations par le cadmium dans cette expérimentation, celles-ci ne peuvent être exclues, en particulier lors de la préparation des caillés.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions tout particulièrement J. Hervieu et ses collaborateurs du centre Inra de Brouessy pour l'entretien des animaux et la réalisation des prélèvements, G. Schnitzer du Cneva-Paris, qui nous a communiqué la méthode de dosage du cadmium dans la crème et dans les caillés et G. Pipel pour les fabrications fromagères.

## RÉFÉRENCES

- [1] Bruant C., Bruant J.P., Neuburger M., Vassal L., Fourcy A., Bittel R., Détermination du cadmium et du mercure dans des aliments du bétail, le lait et les produits laitiers, Premiers résultats. Compte rendu du symposium « Problèmes posés par la contamination de l'homme et de son milieu par le mercure et le cadmium », Luxembourg, 3-5 juillet 1973 (EUR-5075), 1973, pp. 179 à 190.
- [2] Brulé G., Les minéraux du lait, *Revue laitière française* 400 (1981) 61-65.
- [3] Conseil supérieur d'hygiène publique de France, section de l'Alimentation et de la Nutrition. Plomb, cadmium et mercure dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque, Lavoisier Technique et Documentation, Paris, 1996.
- [4] Direction générale de l'alimentation, Bilan des plans de surveillance des produits laitiers, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 1996.
- [5] Drasch G.A., An increase of cadmium body burden for this century. An investigation of human tissues, *Sci. Tot. Environ.* 26 (1983) 111-119.
- [6] Federspiel B., Mise au point d'une méthode de dosage du plomb et du cadmium par spectrophotométrie d'absorption atomique dans le sang et le lait de brebis, *Mémoire d'ingénieur*, CNAM, 1996.
- [7] Fransson G.B., Lönnerdal B., Distribution of trace elements and minerals in human and cow's milk, *Pediatr. Res.* 17 (1983) 912-915.
- [8] Houpert P., Federspiel B., Milhaud G., Toxicokinetics of cadmium in lactating and non lactating ewes after oral and intravenous administration, *Environ. Res.* 72 (1997) 140-150.
- [9] Houpert P., Mehennaoui S., Federspiel B., Kolf-Clauw M., Joseph-Enriquez B., Milhaud G., Transfer of cadmium from feed to ewe food products: variations in transfer induced by lead and zinc, *Environ. Sci.* 5 (1977) 127-138.
- [10] Jacobson K.B., Turner J.E., The interaction of cadmium and certain other metal ions with proteins and nucleic acids, *Toxicology* 16 (1980) 1-37.

- [11] Lauwerys R., Buchet J.P., Roels H., Brouwers J., Stanescu D., Epidemiological survey of workers exposed to cadmium. Effects on lung, kidney, and several biological indices, *Arch. Environ. Health* 28 (1974) 145–148.
- [12] Marletta G.P., Favretto L.G., Preliminary investigation on the balance of lead and cadmium content in milk and its by-products, *Z. Lebensmittel-Untersuch Fars* 176 (1983) 32–35.
- [13] Mata L., Perez D., Puyol P., Calvo M., Distribution of added lead and cadmium in human and bovine milk, *Food Protect.* 58 (1995) 305–309.
- [14] Muller M., Anke M., Hartman E., Illing-Gunther H., Oral cadmium exposure of adults in Germany. 1: Cadmium content of foodstuffs and beverages, *Food Addit. Contam.* 13 (1996) 359–378.
- [15] Roh J.K., Bradley R.L., Richardson Jr T., Weckel K.G., Distribution and removal of cadmium from milk, *J. Dairy Sci.* 59 (1976) 376–381.
- [16] Rydzewska A., Krol I., Contents of zinc, copper and cadmium in milk of women living in Poznan, *Ginekol. Pol.* 67 (1996) 125–128.
- [17] Swaisgood H.E., Chemistry of the caseins, in: P.F. Fox (éd.), *Advanced dairy chemistry-1: Proteins*, Elsevier Science Publishers, Ltd., Essex, 1992, pp. 63–110.