

Thème : La couleur

Sujet : Origine de la couleur jaune des sécrétions lactées d'une vache

A quoi est dû le changement de la couleur du lait après une mise bas dans un élevage de vaches laitières Prim'Holstein et Normande de la région fougeraise ?

Résumé

A partir d'une observation simple d'une différence de coloration entre lait et colostrum nous avons voulu déterminer les causes de ce phénomène. Nous nous sommes intéressées tout particulièrement à la molécule de β -carotène et nous sommes rendues compte qu'il existe au moins deux facteurs jouant un rôle dans la coloration plus jaune du colostrum. Nous avons ainsi pris en compte une partie du métabolisme de la vache et son alimentation pour constituer notre réflexion.

Sommaire

Introduction

- I) Quel est l'agent chimique responsable de la variation de la couleur du lait ?.....p.2
 - 1. Mise en évidence de la nature lipidique de l'agent.....p.2
 - a- Densité
 - b- Centrifugation
 - 2. Mise en évidence du β -carotène.....p.3
 - a- Chromatographie
 - b- Spectrophotométrie
- II) L' alimentation et sa part dans la couleur des sécrétions lactées.....p.5
 - 1. Etude des rations.....p.5
 - 2. Importance des compléments alimentaires.....p.6
- III) Assimilation du β -carotène et lactogénèse.....p.6
 - 1. Origine et trajet du β -carotène dans l'organisme bovin.....p.6
 - 2. Cycle gestation-lactation.....p.7
 - 3. Synthèse du lait et formation du colostrum.....p.8

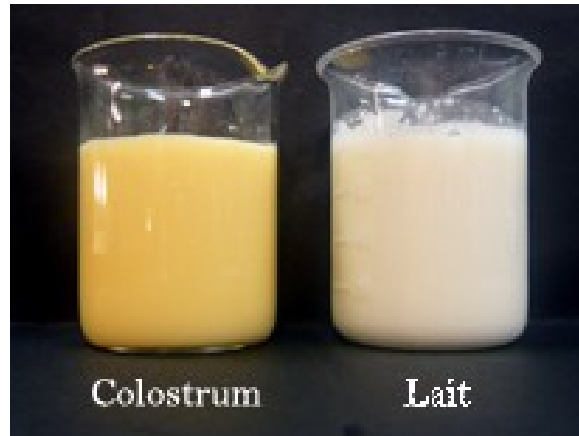
Conclusion

Bibliographie et Remerciements

Introduction

Nous nous intéresserons au changement de couleur observé entre le colostrum et le lait. La fabrication de ces deux produits s'intègre dans le cycle gestation-lactation de la vache. La sécrétion initiale de la glande mammaire, le colostrum, [6] est un liquide jaunâtre épais et visqueux, extrait de la mamelle par la tétée du veau ou par les premières traites après le vêlage. Il se distingue du lait par sa composition, globalement plus riche.

Ci-joint les photos, nivelées sur le fond noir avec Photoshop, du lait et colostrum étudiés.



Nous avons utilisé du lait et du colostrum provenant d'une exploitation de vaches laitières de la région fougèraise (premier bassin laitier de France). Nous proposerons une explication à ce changement de couleur à la lumière d'expériences et de données bibliographiques analysées.

I- Quel est l'agent chimique responsable de la variation de la couleur du lait ?

1- Mise en évidence de la nature lipidique de l'agent

a- Densité

Nous avons réalisé des mesures de densité à l'aide d'un pycnomètre (méthode basée sur l'utilisation de la masse volumique de l'eau).

Résultat obtenu pour le lait : $d_{\text{lait}} = 1,031757$

Résultat obtenu pour le colostrum $d_{\text{colostrum}} = 1,064282$

Nous constatons une densité légèrement plus élevée pour le colostrum, on peut alors émettre l'hypothèse de la présence en quantité plus importante d'éléments dus à une accumulation de constituants lipidiques et protéiques ainsi qu'à une baisse de la teneur en eau.

b- Centrifugation

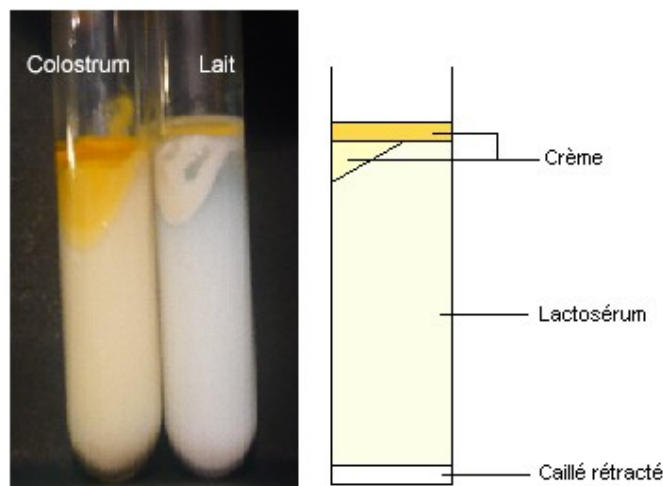


Schéma d'interprétation des quatre phases obtenues lors de la centrifugation

Nous avons déterminé après plusieurs essais la vitesse et le temps de centrifugation du lait et du colostrum jusqu'à l'obtention satisfaisante de trois phases. Nous avons retenu la vitesse de 4000 tours/min pendant une durée de 30 minutes. Nous avons pu distinguer trois phases (voir schéma ci-dessus) que nous pouvons interpréter de la manière suivante. La crème est une couche de globules gras rassemblés par effet de gravité. Le caillé est constitué de caséines coagulées. Le sérum est, lui, constitué des produits solubles se séparant du caillé.

La crème étant de couleur jaune et constituée de globules gras, on peut être amené à penser qu'il y a présence d'un pigment jaune de nature lipidique dans le lait.

Ceci nous amène à penser qu'il s'agit du β -carotène que nous essayerons par la suite de mettre en évidence.

2- Mise en évidence du β -carotène

a- Chromatographies

Nous avons réalisé une chromatographie comparée d'une plante verte et de différents produits, obtenus lors d'expériences ultérieures sur le lait, susceptibles de contenir du carotène.

Les résultats obtenus n'étant ni concluants ni exploitables, aucune analyse poussée des résultats ne sera faite. En effet, nous n'observons aucune tâche significative. Il semblerait que si β -carotène il y a, celui-ci n'est pas en assez forte concentration pour apparaître par chromatographie. Cependant, nos résultats auraient peut-être pu être améliorés par l'utilisation d'autres supports de chromatographie et solvants. Il existe également des techniques plus poussées auxquels nous n'avons pas accès.

b- Spectrophotométrie

Les glucides du lait sont représentés par le lactose, di-oside réducteur. Les lipides forment des globules de graisse dispersés dans le lactosérum sous forme d'émulsion. Pour caractériser les substances dissoutes, il est nécessaire de séparer les caséines du lactosérum en les faisant précipiter.

Les échantillons de lait et colostrum ont été conservés avant les expériences dans un milieu froid et à l'abri de la lumière pour permettre une conservation optimale des molécules de β -carotène sensibles à ces deux facteurs.

* Protocole [3]

Séparation du lactosérum de la caséine et des matières grasses

On prélève tout d'abord 100 mL de lait à l'aide d'une pipette graduée de 25 mL, qu'on verse dans un bécher de 250 mL. On ajoute goutte à goutte à l'aide d'une pipette de l'acide acétique en chauffant légèrement (à la température corporelle de la vache 37°C) jusqu'à l'apparition de grumeaux puis on filtre le tout. Le procédé chimique qui a lieu est le suivant; le pHi (point isoélectrique) des caséines est de 4,6, par ajout d'une substance acide, on obtient la neutralité des micelles de caséines, qui perdent leur caractère hydrophile, et dès lors leur déshydratation. Se crée ainsi un réseau de caséines reliées par interactions hydrophobes retenant les globules gras (par conséquent le β -carotène). On parle de coagulation acide. Il en résulte la formation "d'un gel" de caséines.

Dans l'erlenmeyer, on récupère le filtrat : c'est le lactosérum.

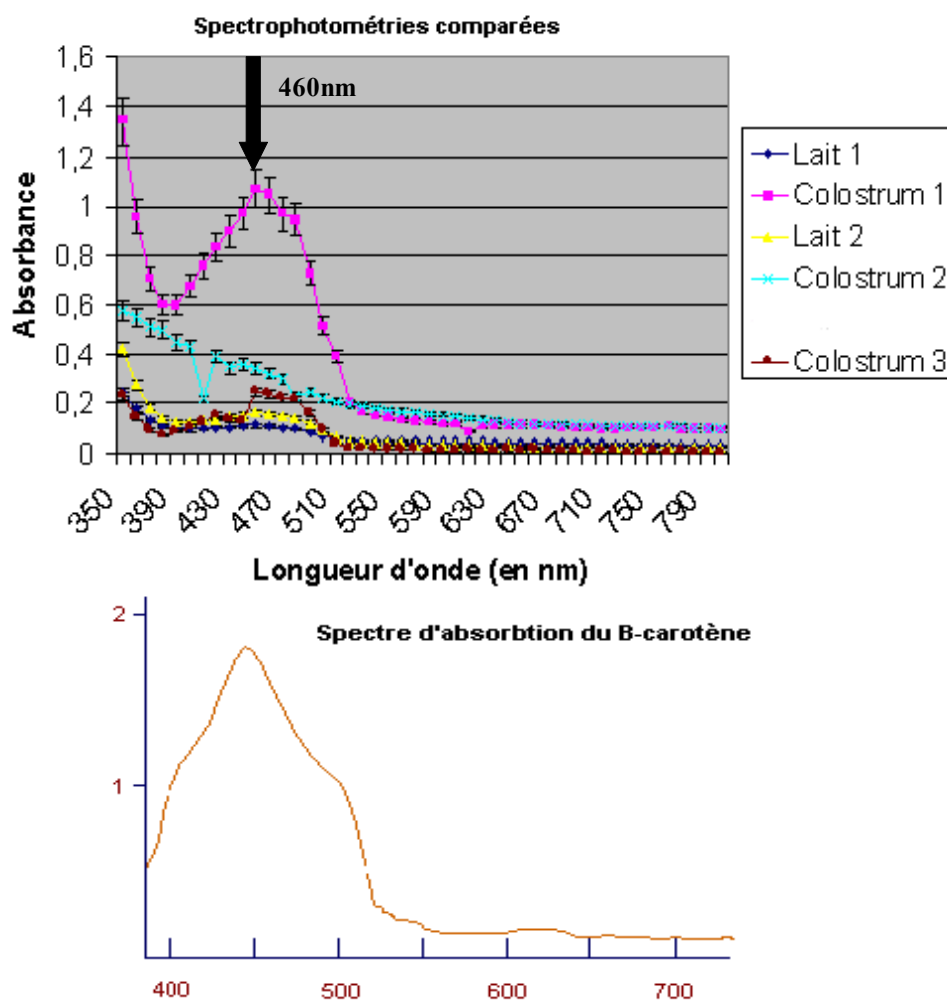
On réalise le même protocole avec 100 mL de colostrum.

Séparation des matières grasses des caséines par extraction par solvant

Les grumeaux sont mélangés à 60 mL d'éther. On agite puis on filtre. La filtration a permis de récupérer dans l'erlenmeyer la matière grasse dissoute dans l'éther.

Le β -carotène en tant que multi-ène est soluble dans les solvants organiques donc dans l'éther. Soulignons que la phase liquide qui nous intéresse est jaune, ce qui ne fait que conforter nos hypothèses.

* Exploitation spectrophotométrique



Commentaires

Connaissant le spectre d'absorption du β -carotène, nous avons restreint l'intervalle de longueurs d'onde à celles du pic (de 350 à 800 nm) pour réaliser la spectrophotométrie des produits obtenus à partir du lait et du colostrum lors des expériences précédentes. Nous avons considéré également une incertitude de 0,01 % sur les mesures (liées au spectrophotomètre).

Nous avons effectué deux spectrophotométries de jus de carotte (à une concentration de 985 μg de β -carotène pour 100 mL) que l'on diluait. Les résultats obtenus n'étant pas concordants avec le spectre de référence du β -carotène nous n'avons pu ni les exploiter ni créer notre propre spectre du β -carotène.

Les spectres obtenus pour le lait et le colostrum présentent le pic caractéristique du spectre d'absorption du β -carotène. Nous pouvons en conclure qu'il y a présence de β -carotène dans le lait et dans le colostrum.

Nous remarquons un pic d'absorption à 460 nm plus important pour le colostrum que pour le lait, que nous pouvons interpréter qualitativement, en corrélant les deux graphiques, comme la présence d'une concentration plus élevée en β -carotène dans le colostrum.

Calculs des concentrations en β -carotène

En appliquant la loi de Beer-Lambert, on peut calculer la concentration de β -carotène dans les laits et colostrums, en faisant le calcul suivant et en se plaçant au pic d'absorption (450 nm).

$$A = E * L * C_{\text{en B-carotène dans l'éther}}$$

$$\text{Il vient alors : } C_{\text{en B-carotène dans l'éther}} = A / (E * L)$$

$$\text{avec : } E = 200 \text{ L.cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{ et } L = 1 \text{ cm}$$

Si on considère l'extraction comme totale, on peut utiliser la relation de conservation de la matière :

$$V_{\text{éther récupéré après filtration}} * C_{\text{B-carotène dans éther}} = C_{\text{B-carotène dans échantillon}} * V_{\text{échantillon prélevé}}$$

Il vient donc :

$$C_{\text{B-carotène dans échantillon}} = V_{\text{éther}} * C_{\text{B-carotène dans éther}} / V_{\text{échantillon prélevé}}$$

	<u>Colostrum 1</u>	<u>Colostrum 2</u>	<u>Lait 1</u>	<u>Lait 2</u>
Absorbance	1,073	0,337	0,107	0,157
$C_{\text{B-carotène dans éther}}$	$5 \cdot 10^{-6} \text{ mg.L}^{-1}$	$1,6 \cdot 10^{-6} \text{ mg.L}^{-1}$	$5 \cdot 10^{-7} \text{ mg.L}^{-1}$	$7,85 \cdot 10^{-7} \text{ mg.L}^{-1}$
$C_{\text{B-carotène de l'échantillon}}$	$1,07 \cdot 10^{-6} \text{ mg.L}^{-1}$	$0,32 \cdot 10^{-6} \text{ mg.L}^{-1}$	$1 \cdot 10^{-7} \text{ mg.L}^{-1}$	$1,57 \cdot 10^{-7} \text{ mg.L}^{-1}$

Bilan coloré

La couleur jaune plus prononcée du colostrum serait effectivement due en grande partie à une concentration plus élevée du β -carotène que celle rencontrée dans le lait.

Dès lors, comment peut-on expliquer la présence de β -carotène dans le lait ?

Et comment peut-on expliquer sa concentration plus importante dans le colostrum ?

II)- Alimentation et sa part dans la couleur du lait

1. Etude des rations

En s'intéressant aux rations données aux vaches tarées [4] (qui ne produisent pas de lait) et à celles données aux vaches en lactation, on remarque quelques variations. Une base d'alimentation leur est commune : elles mangent du maïs et de l'ensilage d'herbe à l'époque des prélèvements (de décembre à mars). Les besoins énergétiques d'une vache tarée étant nettement moins importants qu'une vache produisant du lait, les quantités ingérées sont nettement moins importantes.

	<i>Maïs</i>	<i>Ensilage d'herbe</i>
Vaches en lactation	12 kg de matière sèche	3 kg de matière sèche
Vaches tarées	4 kg de matière sèche	1 kg de matière sèche

A partir de données bibliographiques et de quelques calculs, nous avons pu établir un encadrement de la quantité de β -carotène, présente dans le fourrage ingéré sur deux mois (durée du tarissement).

	<i>Valeur minimale (en mg)</i>	<i>Valeur maximale (en mg)</i>	<i>«Moyenne » (en mg)</i>
Vaches en lactation	1620	95400	48510
Vaches tarées	540	31800	16170

Nous n'avons pas pu établir de valeurs plus précises en raison des multiples facteurs susceptibles d'intervenir sur les teneurs en β -carotène des rations (conservation, oxydation, ...).

2. Importance des compléments alimentaires

Cette base d'alimentation est complétée par de l'aliment minéral dont la composition diffère à cause des besoins de l'élevage (production de lait, mise bas). Nous n'avons pris connaissance que tardivement de la présence de β -carotène dans les compléments donnés aux vaches tarées. Nous avons estimé la quantité de β -carotène ingérée pendant les deux mois de tarissement à 90 mg. Cette quantité nous semble négligeable devant la quantité de β -carotène du fourrage.

Bilan coloré

Nous remarquons que la variation des rations entre les vaches tarées et les vaches en lactation va dans le sens inverse de la variation de concentration de β -carotène dans le colostrum. A priori, la variation de la quantité ingérée au cours de la gestation n'a pas d'influence sur la couleur. Nous recherchons donc un autre facteur qui pourrait expliquer cette dernière.

III- Assimilation du β -carotène et lactogénèse :

1- Origine et trajet du β -carotène dans l'organisme bovin

- **Origine**

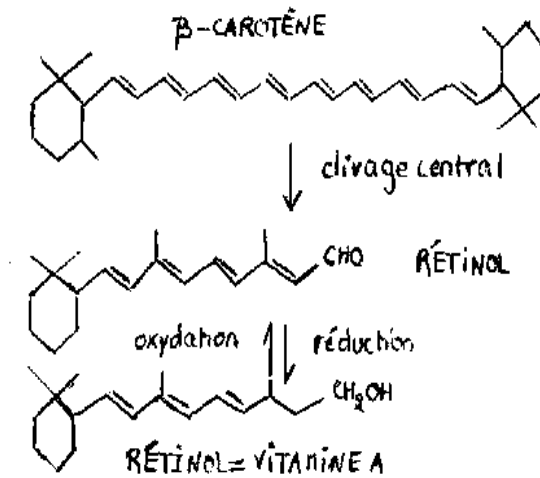
Le β -carotène est un pigment présent dans les végétaux chlorophylliens et donc a fortiori dans l'alimentation de base des bovins qui sont herbivores.

- **Support et trajet [2]**

Après passage dans les intestins, les molécules de β -carotène vont entrer dans une phase d'immobilité au cours de laquelle ils s'associent aux globules gras. En effet le β -carotène, étant de nature lipidique, s'associe naturellement avec d'autres corps gras et va être par la suite fixé et transporté par ceux-ci.

Les globules gras vont former de nouveaux complexes qui portent le nom de chylomicrons qui vont permettre au β -carotène de passer des entérocytes à la circulation générale. Les chylomicrons seront alors hydrolysés (débarrassés des triglycérides) et les restes de chylomicron déchargeront le β -carotène dans le foie. Ce dernier sera soit incorporé à certains tissus soit aux lipoprotéines dans les hépatocytes. Celles-ci passeront dans le plasma et prendront l'appellation de LDL. Le β -carotène associé est donc véhiculé par le plasma qui va le conduire jusqu'aux capillaires de la mamelle, il passera ensuite par diffusion dans le lait.

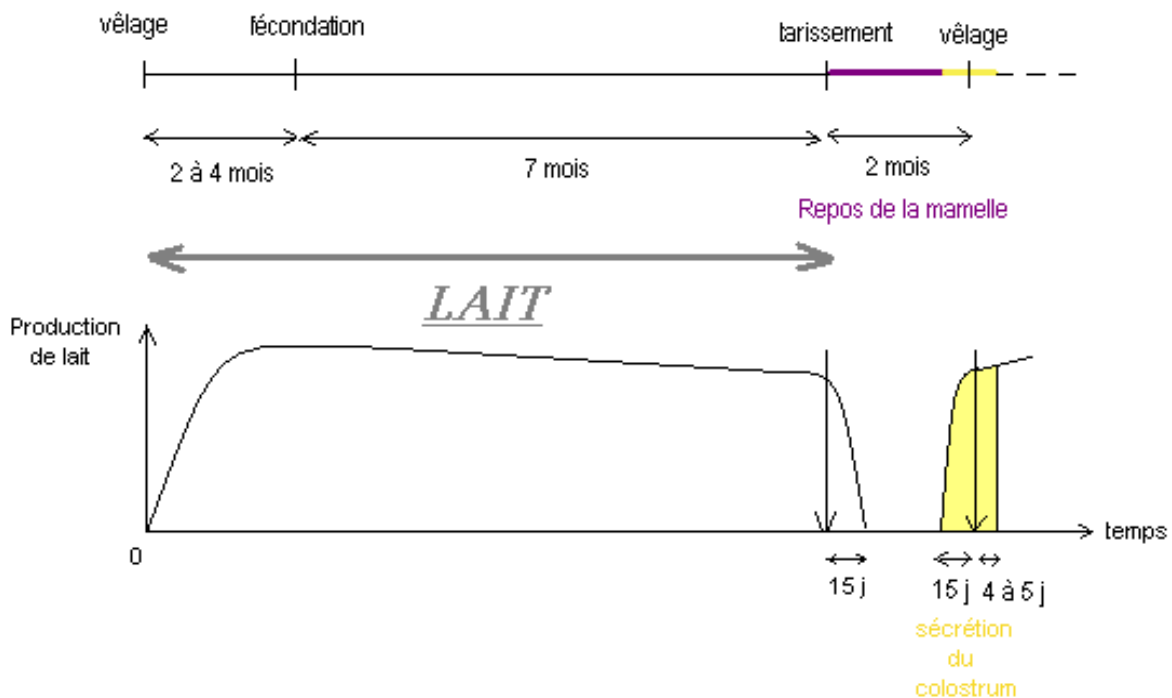
Il existe une seconde voie, métabolique celle-ci, empruntée par le β -carotène. Celui-ci se transforme en effet en partie en vitamine A dans l'entérocyte. Ces molécules sont, pour leur part, incolores et, bien que participant à la lactogénèse, elle n'influe pas sur la couleur. [1] Voici la réaction :



Du β -Carotène à la vitamine A

Le β -carotène étant en partie stocké dans différents tissus au cours du tarissement, on peut supposer que ces réserves sont mobilisées lors de la synthèse du premier lait et pourraient donc expliquer en partie la coloration plus jaune du colostrum.

2- Cycle gestation-lactation



Le cycle gestation-lactation chez la Vache

3- Synthèse du lait et formation de colostrum

- Composants du lait [8]

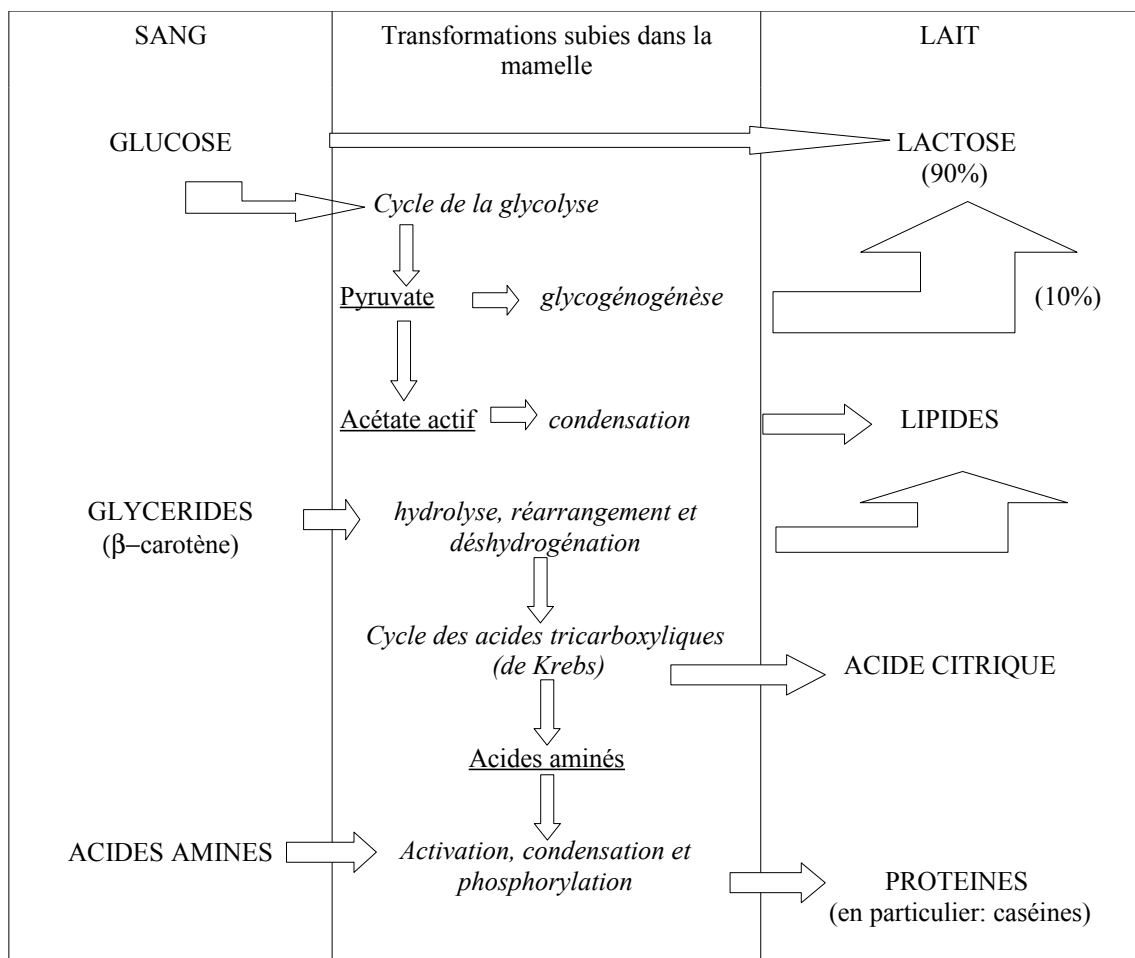
Le lait, phase liquide, est majoritairement composé d'eau (87 %) mais également en moindre quantité de sucres, de graisses, de protéines, de sels minéraux et de vitamines.

A titre d'exemple, un litre de lait entier de vache contient environ 30 g de protéines, 47 g de glucides, 36 g de lipides, diverses vitamines (A : β -carotène, B1, B2, B9, B12, D) et 1,2 g de calcium.

On différencie plus particulièrement dans l'ensemble des protéines du lait, les caséines (protéines insolubles) et de nombreuses protéines solubles, comme la lactalbumine, la lactoglobuline et des immunoglobulines.

- Lactogénèse et passage du β -carotène dans le lait [7]

Au cours des deux à trois semaines précédant le vêlage, l'épithélium redevient fonctionnel sous l'impulsion du contrôle hormonal (progestérone et oestrogène). Les transformations se font dans les cellules épithéliales sécrétoires de la glande mammaire, selon le mécanisme suivant :



- **Le tarissement : une préparation à la lactation à venir**

La phase de tarissement fait partie du processus de gestation. Il s'agit d'une phase de repos de la mamelle passant par une phase d'assèchement de celle-ci [5]. Au cours des quinze derniers jours de cette étape il y a accumulation de composants lipidiques (dont le β -carotène fait partie) et protéiques dans les glandes mammaires. On note des différences de concentration des protéines. En effet, la concentration d'immunoglobulines augmente tandis que celle des caséines diminue. Ces dernières étant responsables de la couleur blanche du lait, leur diminution implique en partie l'accentuation de la couleur jaune lors de la préparation du premier lait (colostrum).

Bilan coloré

On en déduit plus généralement que le tarissement, par le biais de ce processus d'accumulation qui le caractérise, induit de façon importante une couleur jaune plus intense des premières sécrétions lactées (colostrum).

Conclusion

Le β -carotène serait l'agent moléculaire influant le plus sur le changement de couleur entre lait et colostrum. L'alimentation permet l'apport en β -carotène et la biologie de la vache sa restitution dans le lait, les deux phénomènes sont donc étroitement liés et jouent un rôle dans la différence de couleur observée. Cependant les résultats obtenus nous permettent de dire que la variation d'alimentation n'a qu'une part très faible dans le changement de la couleur entre colostrum et lait. En revanche, l'accumulation, durant les quinze derniers jours du tarissement, et la restitution des réserves en β -carotène lors de la formation du colostrum en est un facteur majeur.

Il existe des limites à nos travaux, comme la présence possible d'une régulation de l'absorption du β -carotène dans l'intestin ou les multiples rôles de celui-ci dans l'organisme (ex: transformation en vitamine A avec un rapport de 1/6, rôle d'anti-oxydant, etc...). Nous pouvons aussi rappeler qu'il existe peut-être d'autres molécules influant sur la couleur (ex : la caséine précédemment évoquée), nous sommes tout particulièrement intéressées au β -carotène qui nous semblait être la molécule la plus pertinente à étudier.

De plus l'objet d'étude constitue une limite du fait qu'il s'agit d'un être vivant impossible à surveiller (au niveau des quantités effectivement ingérées).

Enfin, les échantillons de lait ont été prélevés dans un tank dans lequel avaient été mélangées les laits de toutes les vaches de l'élevage. Le colostrum quant à lui provenait d'une même vache. Ces deux considérations entraînent quelques imprecisions. En effet, il aurait été plus pertinent de prélever le lait et le colostrum d'une même vache, sachant que le colostrum varie dans ses concentrations d'une vache à l'autre. Tenant compte du cycle de gestation-lactation de la vache, du temps à notre disposition et de la non proximité de l'élevage, ceci ne pouvait être réalisé de façon simple. Les moyens techniques à notre niveau sont également limités.

La différence de couleur entre le lait et le colostrum est liée à la valeur nutritionnelle de ce dernier pour le veau, celui-ci étant plus concentré en certains composants sériques (immunoglobulines, β -carotène, etc...) et moins concentré en caséine. On dit d'ailleurs dans le milieu de l'élevage laitier que «plus le colostrum est jaune, meilleur il est».

Bibliographie

***Internet**

[1]-http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/00/C6/B3/article.md?fichier=images.htm

Annale de Biologie clinique, actualisé en 2007.

[2]-<http://www.fao.org/docrep/T4280F/T4280F04.htm>

Document du département de l'agriculture, trouvé sur le FAO et actualisé en 2006.

[3]-www.fauriel.org/sciences/disciplines/svt/tipe/lait.pdf

Protocoles inspirés de ces travaux et adaptés.

***Livres**

[4]-L'alimentation des bovins, ovins & caprins – INRA édité en Février 1988

[5]-Le tarissement des vaches laitières - Edition France Agricole

[6]-Le colostrum de vache – Francis Sérieys édité en 1993

[7]-Sciences du lait, principes des techniques laitières - Charles Alais

[8]-Valeurs alimentaires du lait, J. Adrian – La Maison rustique, Paris. (pages : 55, 58, 24-25, 29, 125)

Tout autre schéma et texte non référencés ici sont protégés par un copyright et sont une marque déposée, car ils sont le fruit de notre propre création (et de notre dure labeur) ... ☺

Remerciements

Nous remercierons tout particulièrement le Gaec de l'Enhaut (dirigé par Mr Sourdin), l'exploitation laitière qui nous a fourni les renseignements et les échantillons pour notre étude, mais également Mr Jean Jacques Maugas, (process manager du département de recherche et développement chez Lactalis), ainsi que le docteur vétérinaire Fouqué pour tous les renseignements précis qu'ils nous ont apportés, ainsi que leur soutien.

Nous n'oublierons pas non plus nos professeurs Mr Pruchon et Mme Guillou que nous félicitons pour leur patience et leur courage.