

RÉPARTITION DES ÉLECTROLYTES ET DU GLUCOSE DANS L'ŒUF CONSERVÉ SOUS 0 OU 2 P. 100 DE GAZ CARBONIQUE

B. SAUVEUR

avec la collaboration technique de J. ROCARD

*Station de Recherches avicoles,
Centre de Recherches de Tours, I. N. R. A.,
37 - Nouzilly*

RÉSUMÉ

Des œufs ont été conservés pendant 2, 12 et 20 jours sous 2 p. 100 (lot CO₂) ou 0,03 p. 100 (lot témoin) de gaz carbonique et, après ces périodes, la répartition des électrolytes et du glucose libre entre l'albumen et le vitellus a été étudiée.

Le pH de l'albumen (fig. 1-I) est constant dans le lot CO₂ aux environs de 8,2 et atteint 9,3 chez les œufs témoins ; dans le premier cas, il subsiste en outre un gradient de pH d'une couche de l'albumen à la suivante, ce qui n'a pas lieu en l'absence de gaz carbonique. Réciproquement, la pCO₂ (fig. 1-II) reste supérieure de 12 à 15 mm Hg dans l'albumen du lot CO₂.

La pression osmotique du blanc (fig. 2) diminue également dans les conditions habituelles de stockage, mais reste constante en présence de gaz carbonique. Il en est de même des teneurs en Ca et Mg (fig. 4). Nous observons en outre un transfert d'eau du blanc vers le jaune au cours du vieillissement de l'œuf, transfert modéré par la présence de CO₂ (fig. 3). Celui-ci n'exerce en revanche aucune action sur les teneurs en glucose libre de l'albumen et du vitellus qui diminuent en moyenne de 15 et 56 p. 100 respectivement.

La concentration de K dans l'albumen reste constante et celle de Na diminue quel que soit le mode de conservation (fig. 5).

Ces résultats sont interprétés, d'une part en fonction du rôle du pH de l'albumen dans le contrôle de la membrane vitelline, d'autre part en supposant que des liaisons entre les cations divalents et les protéines gouverneraient en partie la pression osmotique de l'albumen.

INTRODUCTION

Au cours du vieillissement de l'œuf, on assiste à des modifications physico-chimiques de ses constituants qui s'accompagnent d'une diminution des qualités marchandes et d'anomalies du développement embryonnaire. Nous avons déjà eu l'occasion de publier une mise à jour bibliographique à ce sujet (SAUVEUR, 1967).

Parmi les études consacrées à l'altération des constituants de l'œuf, celles relatives aux protéines sont de loin les plus nombreuses ; elles ont été résumées par FEENEY et HILL (1960) et SHENSTONE (1968). Une des plus récentes met bien en évidence les altérations spécifiques des résidus glucidiques de l'ovomucine (KATO, NAKAMURA et SATO, 1970).

Plus rares ont été les travaux concernant certaines enzymes (glycosidases, LUSH et CONCHIE, 1966), les vitamines (CALET et BLUM, 1970) et les électrolytes de l'œuf (SATO *et al.*, 1960).

Par ailleurs, la viabilité des embryons à la suite d'un stockage est améliorée si les œufs sont entreposés dans une atmosphère faiblement enrichie en CO_2 (SAUVEUR, FERRÉ et LACASSAGNE, 1967 ; SPENCER, PETTIBONE et BECKER, 1968). On ignore le mode d'action exact du mélange gazeux ; on sait simplement qu'il confère aux conalbumines de l'albumen un comportement électrophorétique identique à celui de l'œuf frais (CROIZIER et SAUVEUR, 1967). De plus, les transferts d'eau de l'albumen vers le jaune sont limités si l'on évite l'élévation de pH de l'albumen et, indirectement, les changements de structure de la couche externe de la membrane vitelline (FROMM et GAMMON, 1968).

Cependant, compte tenu de l'importance du glucose libre (ROMANOFF, 1960) et de la pression osmotique de l'œuf (AUSTIC, GRAU et MATTESON, 1966) dans l'initiation du développement embryonnaire, on peut se demander si ces paramètres sont ou non affectés par la conservation de l'œuf.

Pour répondre à cette question, nous avons mesuré le pH, la $p\text{CO}_2$, la pression osmotique, la teneur en électrolytes, en eau et en glucose de l'albumen et du jaune d'œuf conservés dans une atmosphère enrichie ou non avec 2 p. 100 CO_2 . Nous rapportons ci-après les résultats de ces essais, nous réservant d'exposer dans une publication ultérieure les relations qui pourraient exister entre les modifications de ces paramètres et le développement embryonnaire.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Les œufs étudiés proviennent de trois poules de type *Leghorn* (souche L 22) ; ramassés chaque jour, ils sont placés alternativement pour chaque animal dans chacune des deux ambiances de conservation suivantes : l'une (lot « CO_2 ») renferme 2 p. 100 de gaz carbonique, à une température de 12°C et une humidité relative de 80 p. 100. Les caractéristiques de la seconde (lot témoin) sont identiques exception faite du CO_2 dont le taux est celui de l'air normal (0,03 p. 100). La teneur en CO_2 du premier local est contrôlée automatiquement par un analyseur à infrarouge (Contrôle de chauffe. Licence Onera).

Deux œufs de chaque animal et de chaque lot sont analysés après un temps de conservation compris entre 1-3, 10-13 et 20-21 jours. Nous disposons ainsi de 6 œufs (2×3 poules) par traitement et stade de conservation étudiés.

A la fin de chaque période, les œufs sont placés, à l'intérieur du local « CO_2 », dans un dessiccateur contenant le mélange gazeux puis transportés au laboratoire. Ils sont alors cassés et au moyen de quatre seringues on prélève immédiatement un échantillon de vitellus et un de chacune des trois zones de l'albumen (épaisse, liquides interne et externe). Dans un délai maximum de 10 minutes, on mesure le pH (microélectrode Unit E 5021 Radiometer) et la $p\text{CO}_2$ (microtonomètre AMT 1 Radiometer) de l'albumen. La pression osmotique de 0,2 ml de ces mêmes échantillons est mesurée par abaissement du point de congélation (Fiske Osmometer). On pèse, à 0,1 mg près, 1 g environ du contenu des 4 seringues, utilisé, après dilution au 1/50, pour le dosage du glucose libre (microdosage non spécifique par réduction du ferricyanure de potassium à l'Auto-Analyseur Technicon).

L'albumen et le jaune restants sont placés à l'étuve à 110°C pendant 24 heures avant détermination de la matière sèche puis calcinés au four à 400°C pendant 24 heures ; les cendres sont reprises par HNO_3 N/5. Na et K sont dosés par spectrophotométrie de flamme (Eppendorf), Ca et Mg par spectrophotométrie d'absorption atomique (Hilger et Watts) et Cl par potentiométrie au nitrate d'argent (électrode Radiometer P 401). Des travaux antérieurs (SATO *et al.*, 1960 ; SAUVEUR, 1969) ayant montré que ces éléments sont uniformément répartis dans l'albumen, nous ne distinguons pas les trois zones de celui-ci pour cette dernière partie de notre étude.

L'analyse statistique des résultats est conduite suivant des plans factoriels puisque chaque animal est également représenté par deux œufs dans chacun des traitements. Nous pouvons étudier ainsi l'effet du mode de conservation (2 niveaux), de l'âge de l'œuf (3 niveaux), de chaque zone de l'albumen (3 niveaux) et éventuellement de chaque poule (3 niveaux) ainsi que les interactions entre ces divers paramètres.

RÉSULTATS

1. — pH — pCO_2 de l'albumen

Les valeurs de pH et de pCO_2 enregistrées autour des 2^e, 12^e et 20^e jours de conservation sont représentées par les figures 1-I et 1-II respectivement. Les résultats de l'analyse de variance sont donnés au tableau 1.

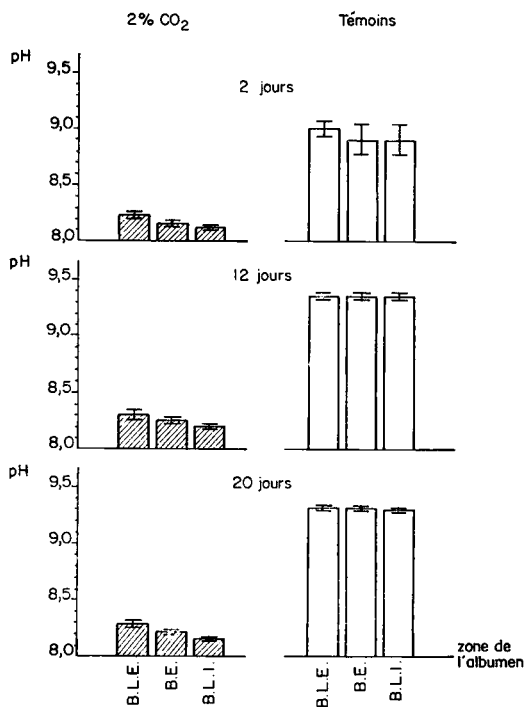


FIG. 1. I. — Évolution du pH de chaque zone de l'albumen * (signification statistique, voir tableau 1).

B. L. E. = Blanc liquide externe

B. E. = Blanc épais

B. L. I. = Blanc liquide interne

* Sur toutes les figures, chaque valeur représente $\bar{x} \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$ de 6 mesures et on compare les effets de 2 et 0 p. 100 de CO_2 dans l'atmosphère de conservation de l'œuf.

Le pH moyen de l'albumen des œufs conservés sous 2 p. 100 CO_2 n'évolue pas de façon significative au cours des trois semaines de conservation et se maintient aux environs de 8,2. A l'opposé, il est de 8,93 dans les œufs gardés 2 jours en atmosphère normale et augmente de façon significative jusqu'à 9,34 après 12 jours de stockage ($P < 0,001$) ; il est ensuite constant jusqu'à 20 jours dans ces mêmes œufs témoins. Le CO_2 atmosphérique assure en outre la permanence d'une différence de pH entre les trois zones de l'albumen étudiées ; cette différence est de 0,05 unité entre chaque zone, quel que soit l'âge de l'œuf ($P < 0,05$ entre les deux zones liquides externe et interne). Ce gradient de pH à l'intérieur de l'albumen a, en revanche, totalement disparu chez les œufs conservés 12 jours sans CO_2 .

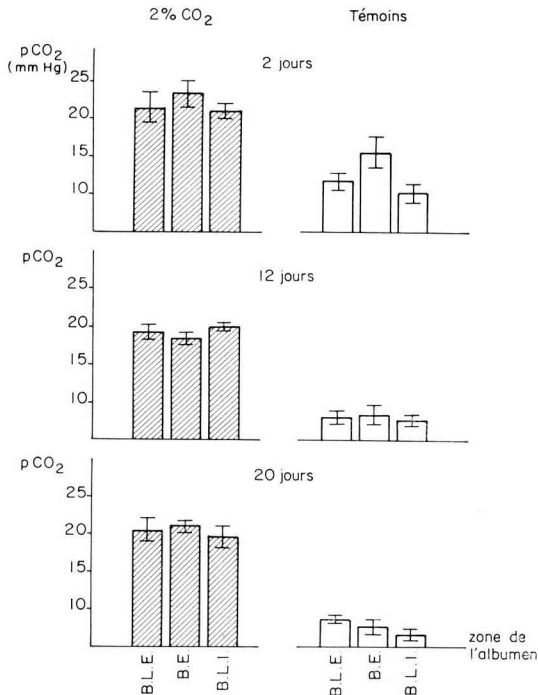


FIG. 1. II. — Évolution de la $p\text{CO}_2$ (mm Hg) de chaque zone de l'albumen (signification statistique, voir tableau 1)
B. L. E., B. E., B. L. I. : voir fig. 1. I.

Les valeurs de pression partielle de CO_2 dans l'albumen (fig. 1-II) sont plus hétérogènes mais permettent cependant de constater que la $p\text{CO}_2$ moyenne reste supérieure de 12 unités environ chez les œufs gardés sous 2 p. 100 de CO_2 comparés aux témoins ($P < 0,0005$). Dans les deux lots les écarts entre zones disparaissent au cours du stockage ; de plus les écarts-types calculés pour chaque zone diminuent en fonction du temps. Il y a donc homogénéisation progressive de la $p\text{CO}_2$ entre les différentes zones de l'albumen ; la valeur finale, déjà établie à 12 jours, dépend de la concentration du CO_2 dans l'atmosphère de stockage. Dans les deux cas étudiés ici, l'albumen liquide interne est la zone qui présente les tracés de décroissance les plus réguliers.

2. — *Pression osmotique de l'albumen*

L'évolution de la pression osmotique des trois zones de l'albumen est représentée sur la figure 2 et son analyse de variance au tableau 1. Nous observons qu'au-delà de 12 jours de conservation des œufs, le CO_2 atmosphérique au taux de 2 p. 100 assure le maintien d'une pression osmotique supérieure en moyenne de 20 mOsm/l environ à celle enregistrée dans l'albumen des œufs témoins ($P < 0,0005$).

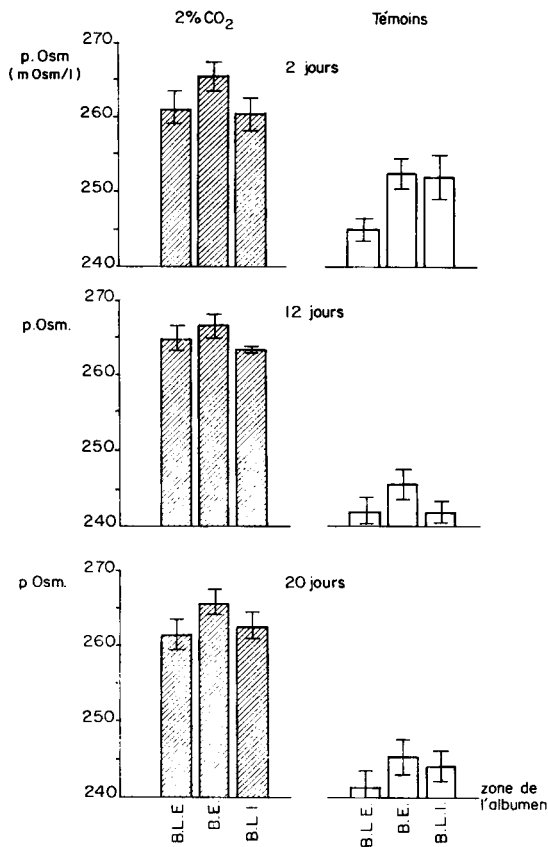


FIG. 2. — Évolution de la pression osmotique (mOsm/l) de chaque zone de l'albumen (signification statistique, voir tableau 1).
B. L. E., B. E., B. L. I. : voir fig. 1. I.

Comme nous l'avons noté pour les valeurs de pH, celles de pression osmotique restent constantes à partir du deuxième stade d'observation pour les œufs témoins ; elles sont invariables pendant toute la durée du stockage pour les œufs conservés sous 2 p. 100 CO_2 .

Il se maintient chez les deux lots une différence entre zones de l'albumen ; la pression osmotique de l'albumen épais, calculée sur l'ensemble des données, est supérieure à celle des zones liquides externe et interne qui ne diffèrent pas entre elles.

TABLEAU I

Analyse de variance des valeurs de pH, $p\text{CO}_2$ et pression osmotique de l'albumen et de la teneur en eau et en glucose de l'albumen et du jaune

(voir fig. 1-I, 1-II, 2 et 3)

Valeurs de F

Effet mesuré	Albumen					Jaune	
	pH	$p\text{CO}_2$	Pression osmotique	Eau	Glucose	Eau	Glucose
Traitement 2 % CO_2 vs 0 % ...	1 526 ***	347 ***	352 ***	4,5 *	1,4	3,2	—
Age de l'œuf ...	37 ***	14,4 ***	2,7	14,1 ***	30,2 ***	3,9 *	5,7 *
Poule	—	—	—	142 ***	—	—	—
Zone de l'albumen	3,7 *	2,1	6,6 ***	—	—	—	—
Traitement × âge	21 ***	2,7	9,5 ***	—	—	—	—

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$.

(Les données manquantes sont inférieures à 1.)

3. — Eau et glucose de l'albumen et du jaune

Les teneurs en eau et en glucose de l'albumen et du jaune sont rapportées à la figure 3 (analyse de variance au tableau I). Notons tout d'abord que la teneur en eau de l'albumen rapportée à la matière sèche, varie considérablement d'une poule à l'autre (tabl. 4 ; F poule = 142). Cet effet de l'animal est de loin la source de variation la plus importante. Par ailleurs, cette teneur en eau diminue entre le 2^e et le 12^e jour de conservation ($P < 0,0005$) chez les deux lots d'œufs, puis se stabilise. La baisse d'hydratation de l'albumen est cependant moins marquée dans les œufs gardés sous 2 p. 100 CO_2 que dans ceux du lot témoin ($P < 0,05$). Le CO_2 ambiant exercerait donc une action soit sur l'évaporation soit sur les transferts d'eau à l'intérieur de l'œuf.

La deuxième hypothèse semble la plus probable puisque l'hydratation du jaune des œufs conservés 20 jours sous 2 p. 100 CO_2 semble réduite par rapport à celle des œufs témoins. Cependant la différence entre les deux moyennes n'atteint pas le seuil de signification 5 p. 100 du fait de la variabilité importante des mesures à l'intérieur de chacun des traitements. En revanche, l'accroissement moyen inter-traitement de la teneur en eau du jaune entre le 12^e et le 20^e jour de conservation est significatif ($P < 0,05$). Il se produit donc de façon certaine un transfert d'eau de l'albumen vers le jaune, transfert qui paraît réduit par la présence de CO_2 .

Les teneurs en glucose (fig. 3) de l'albumen et du jaune apparaissent absolument indépendantes de la présence de CO_2 dans l'atmosphère de conservation. De plus, l'analyse de variance montre que cet élément est réparti uniformément entre les trois zones de l'albumen (F entre zones < 1) : c'est pourquoi nous n'avons pas fait figurer

sur la figure 3 les valeurs individuelles de chaque zone. L'âge de l'œuf exerce un effet significatif sur la teneur en glucose de l'albumen et du jaune : le contenu de l'albumen reste stable entre 2 et 12 jours puis diminue de 15 p. 100 entre 12 et 20 jours de conservation. A l'opposé, la concentration enregistrée dans le jaune diminue entre 2 et 12 jours puis n'évolue plus ; la baisse enregistrée sur l'ensemble des trois semaines et des deux traitements représente ainsi 56 p. 100 de la teneur initiale du jaune en glucose ; seule une faible part peut être expliquée par l'accroissement d'hydratation de ce milieu.

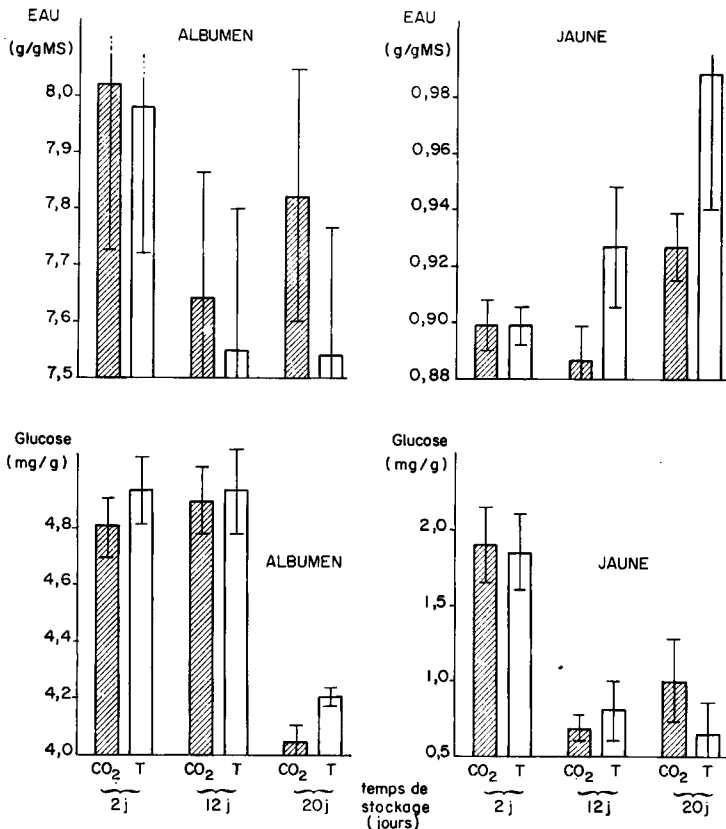


FIG. 3. — Teneurs de l'albumen et du jaune en eau (g/g de matière sèche) et en glucose libre (g/g de poids frais) (signification statistique, voir tableau 1)

En résumé, si l'on estime à 30 et 20 g les poids respectifs de l'albumen et du jaune, on s'aperçoit que l'œuf total perd en trois semaines de conservation, 44 mg de glucose environ sur les 184 mg qu'il contenait initialement, soit 24 p. 100.

4. — Cations divalents de l'albumen et du jaune

Comme nous l'avons dit précédemment, il n'a pas été tenu compte pour tous les éléments suivants des différentes zones de l'albumen.

Le tableau 2 donne les teneurs de l'albumen et du jaune en calcium et magné-

TABLEAU 2

Teneurs en Ca et Mg de l'albumen et du jaune
(méq/kg matière sèche et méq/litre d'eau)
après conservation de l'œuf sous 2 ou 0 p. 100 de CO₂

		Age moyen de l'œuf			Analyse de variance — Valeurs de F			
		2 jours	12 jours	20 jours	Traitement	Age de l'œuf	Poule	Traitement × Age
Ca	még/kg MS	41,3 ± 2,0 25,4 ± 2,6	39,3 ± 1,1 15,6 ± 1,7 (a)	41,0 ± 1,7 13,9 ± 0,8 (a)	24,3 ***	7,6 **	—	5,4 *
	még/l eau	5,2 ± 0,3 3,2 ± 0,4	5,2 ± 0,2 2,1 ± 0,3 (a)	5,2 ± 0,1 1,9 ± 0,1 (a)	20,2 ***	4,4 *	5,3 *	4,8 *
Mg	még/kg MS	70,6 ± 4,5 61,9 ± 2,2	71,7 ± 5,3 58,8 ± 1,6	70,3 ± 3,8 55,7 ± 2,4	20,6 ***	—	3,0	—
	még/l eau	8,9 ± 0,8 7,8 ± 0,5	9,3 ± 1,0 7,8 ± 0,3	9,0 ± 0,5 7,4 ± 0,4	7,4 *	—	—	—
		Jaune						
Ca	még/kg MS	66,4 ± 9,8 78,5 ± 12,7	101,1 ± 16,4 (a) 103,8 ± 11,5 (a)	83,6 ± 8,0 109,3 ± 9,7 (a)	1,8	3,5 *	—	—
	még/l eau	73,8 ± 11,0 87,6 ± 14,3	114,2 ± 18,6 112,9 ± 14,1	90,0 ± 8,3 116,3 ± 10,4	1,4	3,1	—	—
Mg	még/kg MS	6,3 ± 1,2 7,6 ± 1,1	8,9 ± 0,9 8,4 ± 0,5	7,3 ± 0,7 8,5 ± 0,6	—	1,8	—	—
	még/l eau	7,0 ± 1,3 8,4 ± 1,3	10,1 ± 1,0 9,1 ± 0,6	7,9 ± 0,8 9,0 ± 0,6	—	1,7	—	—

*, **, *** : voir tableau 1.

(a) Valeur différente de celle enregistrée à 2 jours.

sium rapportées à la matière sèche et à l'eau présente, ainsi que les principaux résultats de l'analyse de variance. Pour plus de clarté, les valeurs relatives à la matière sèche de l'albumen, qui sont les plus intéressantes, sont également illustrées par la figure 4.

a) *Calcium.*

La teneur en Ca de l'albumen des œufs témoins rapportée à la matière sèche, diminue de 25 à 15 méq/kg entre 2 et 12 jours de conservation ($P < 0,05$) puis se stabilise. A l'opposé, elle est parfaitement stable chez les œufs conservés sous CO_2 , et les valeurs enregistrées lors du 1^{er} stade d'observation (âge moyen de l'œuf : 2 jours) diffèrent déjà au profit du lot CO_2 . Le CO_2 atmosphérique exerce donc une action stabilisatrice importante sur le calcium de l'albumen ; elle se traduit sur la moyenne des trois stades étudiés par les deux valeurs :

$$\begin{aligned}\bar{x}_{\text{CO}_2} &= 40,5 \text{ méq. Ca/kg matière sèche} \\ \bar{x}_{\text{Témoins}} &= 18,3 \text{ méq. Ca/kg matière sèche}\end{aligned}$$

Nous aboutissons aux mêmes conclusions en considérant les teneurs en Ca de l'albumen rapportées à l'eau présente (tabl. 2). L'effet du CO_2 atmosphérique sur la concentration du Ca/eau de l'albumen reste très élevé bien que tempéré par l'action freinatrice de ce gaz sur la perte d'eau de l'albumen (voir plus haut). Il s'y ajoute un « effet poule » significatif (tabl. 2) qui concorde avec celui enregistré sur la teneur en eau (tabl. 1) ; la plus faible valeur de Ca/eau observée systématiquement dans les œufs d'une des poules n'est donc due qu'à une plus grande dilution.

Les valeurs enregistrées dans le jaune (tabl. 2) sont surtout marquées par une extrême variabilité à l'intérieur des traitements qui rend très difficile la mise en évidence de leurs effets. L'accroissement, en fonction du temps, du contenu en calcium du jaune rapporté à la matière sèche atteint toutefois le seuil de signification sur l'ensemble des deux lots. Il semble de plus que le CO_2 modère cette augmentation, surtout lorsque l'œuf est conservé durant 20 jours ; il n'est pas possible de conclure statistiquement. Compte tenu de la grande disproportion entre les teneurs en Ca de l'albumen et du jaune (20 fois plus de Ca dans le jaune, calculé par rapport à l'eau et 10 fois plus par rapport au poids frais), il est cependant normal que l'action stabilisatrice du CO_2 sur le Ca de l'albumen n'apparaisse que très faiblement au niveau du jaune.

b) *Magnésium.*

Les effets de la conservation sur la teneur en magnésium de l'albumen (rapportée à la matière sèche) apparaissent à peu près identiques à ceux observés pour le calcium avec une amplitude moindre. Le contenu en Mg de l'albumen des œufs témoins diminue en effet progressivement alors qu'il est parfaitement stable dans les œufs conservés sous CO_2 (cf. tabl. 2 et fig. 4). L'effet de ce traitement apparaît très hautement significatif ($P < 0,0005$) sur l'ensemble des trois périodes étudiées. Cet effet stabilisateur du CO_2 sur le contenu en Mg de l'albumen se retrouve en considérant les concentrations de Mg par rapport à l'eau ; comme précédemment, il est cependant moins net du fait de la moindre perte d'eau de l'albumen sous CO_2 .

Au niveau du jaune, la dispersion des valeurs de Mg est telle qu'il n'apparaît aucun effet significatif du CO_2 atmosphérique ou du temps de conservation.

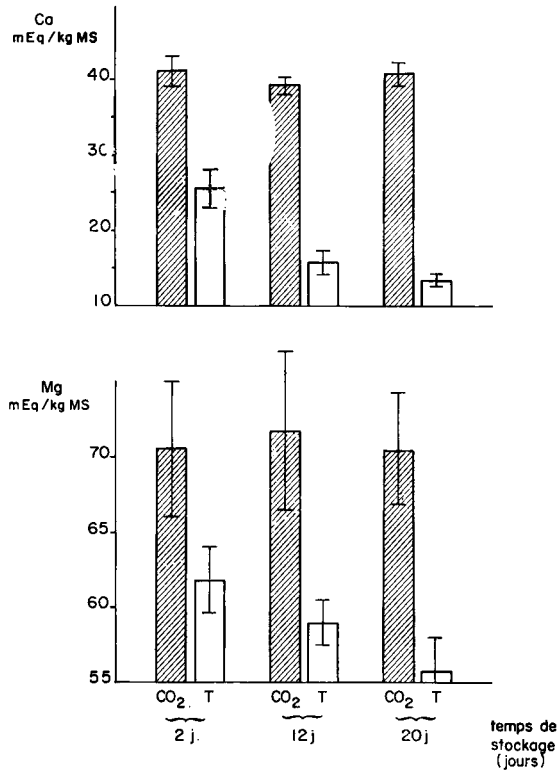


FIG. 4. — Teneurs en calcium et magnésium (mEq/kg de matière sèche) de l'albumen (signification statistique, voir tableau 2)

5. — Ions monovalents de l'albumen et du jaune

a) Sodium.

Nous donnons au tableau 3 les moyennes des teneurs en sodium et potassium de l'albumen et du jaune rapportées à la matière sèche et à l'eau du milieu. Comme ci-dessus, la figure 5 est consacrée spécialement aux teneurs de l'albumen rapportées à la matière sèche.

Le contenu en Na de l'albumen varie beaucoup d'une poule à l'autre ($P < 0,0005$, tabl. 3) : le classement des 3 poules étudiées est d'ailleurs le même que celui observé pour la teneur de l'albumen en eau comme l'indique le tableau 4. Ce contenu varie également avec l'âge de l'œuf : il diminue surtout entre 2 et 12 jours ($P < 0,01$) puis se stabilise. Le CO₂ atmosphérique ne semble pas freiner cette baisse du contenu sodé de l'albumen contrairement à ce que nous avons décrit pour Ca et Mg.

Si nous considérons les concentrations de Na dans l'eau (tabl. 3) seul « l'effet poule » reste significatif, celui du temps de conservation n'agissant plus. Ceci est en accord avec la diminution du contenu en eau représentée sur la figure 3. C'est donc la quantité totale de sodium de l'albumen qui est affectée par la conservation de l'œuf, sa concentration dans l'eau du milieu restant constante. Au niveau du jaune,

TABLEAU 3

Teneurs en Na et K de l'albumen et du jaune
(még/kg matière sèche - még/litre d'eau)
après conservation de l'œuf sous 2 ou 0 p. 100 de CO₂

	Age moyen de l'œuf				Analyse de variance — Valeurs de F					
	2 jours		12 jours		20 jours		Traitement	Age de l'œuf	Poule	Traitement × Age
	CO ₂	Témoin	CO ₂	Témoin	CO ₂	Témoin	Traitement	Age de l'œuf	Poule	Traitement × Age
Na	még/kg MS	769,1 ± 40,5 744,8 ± 30,1	722,3 ± 28,3 727,6 ± 38,4	728,2 ± 22,0 700,9 ± 28,6	2,6	7,2**	98***	—	—	—
	még/l eau	95,7 ± 2,1 93,2 ± 1,1	94,5 ± 1,7 96,1 ± 2,3	93,1 ± 1,0 92,9 ± 0,8	—	2,1	10,3**	—	—	—
K	még/kg MS	294,9 ± 12,1 282,9 ± 6,4	275,8 ± 5,6 284,9 ± 12,6	280,3 ± 10,6 274,3 ± 7,1	—	1,7	15,3***	—	—	1,3
	még/l eau	36,7 ± 0,3 35,5 ± 0,7	36,2 ± 0,7 37,7 ± 1,0	35,8 ± 0,8 36,5 ± 1,2	—	—	2,7	—	—	—
Jaune										
Na	még/kg MS	31,1 ± 1,1 44,2 ± 6,2	42,7 ± 4,6 47,6 ± 3,9	40,0 ± 2,3 48,8 ± 4,2	3,7	—	—	—	—	—
	még/l eau	40,9 ± 7,3 49,4 ± 7,1	48,2 ± 5,3 51,4 ± 4,2	43,0 ± 2,1 52,0 ± 4,5	2,8	—	—	—	—	—
K	még/kg MS	27,9 ± 5,3 34,7 ± 7,4	37,4 ± 5,8 38,0 ± 4,0	36,2 ± 2,8 43,0 ± 3,1	—	—	—	—	—	—
	még/l eau	34,1 ± 5,9 38,7 ± 8,4	42,3 ± 6,7 41,2 ± 4,9	38,9 ± 2,7 45,8 ± 3,3	—	—	—	—	—	—

** , *** : voir tableau 1.

aucun des paramètres étudiés n'affecte significativement la concentration du sodium ; celle-ci semblerait être réduite par la présence de CO_2 dans l'atmosphère de conservation, mais cet effet éventuel est masqué par la dispersion des données.

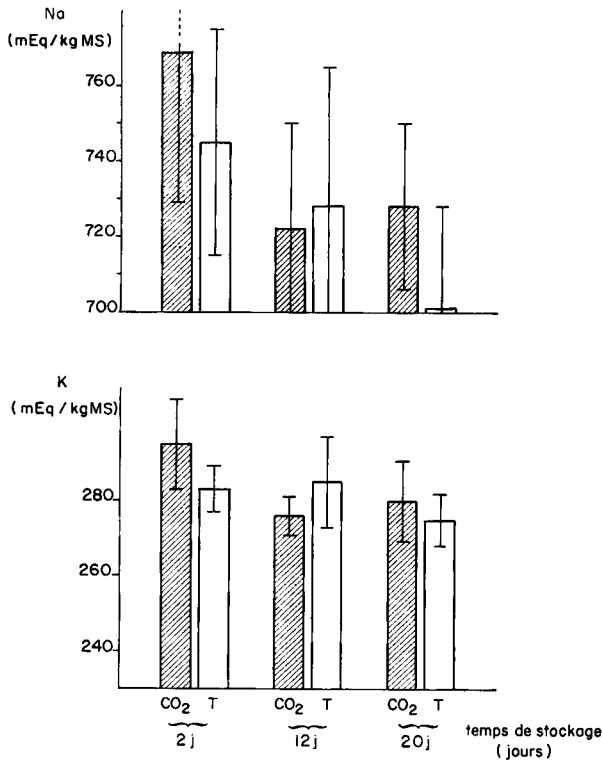


FIG. 5. — Teneurs en sodium et potassium (még/kg de matière sèche) de l'albumen (signification statistique, voir tableau 3)

b) Potassium (tabl. 3).

Nous enregistrons comme ci-dessus un effet de l'animal sur le contenu en K de l'albumen ($P < 0,0005$) qui évolue dans le même sens que Na et l'eau (voir tabl. 4). Cette fluctuation individuelle disparaît lorsque K est rapporté à l'eau du milieu. Par ailleurs, le potassium semble être l'élément dont la concentration reste la plus constante au cours de la conservation de l'œuf, tant dans l'albumen que dans le jaune. Ni l'âge de l'œuf, ni le CO_2 de l'atmosphère n'affectent significativement ce paramètre.

c) Chlore.

Les teneurs de l'albumen en chlore sont représentées par la figure 6 ; celles du jaune n'ont pas été enregistrées. L'analyse de variance de la teneur en Cl rapportée à la matière sèche de l'albumen montre un effet de la poule ($P < 0,0005$) identique à celui enregistré pour l'eau, K et Na (tabl. 4). Comme dans le cas du potassium, cet effet disparaît si l'on considère la concentration de Cl dans l'eau de l'albumen.

Le temps et le mode de conservation de l'œuf (fig. 6) n'affectent pas le contenu total en Cl de l'albumen mais il apparaît une légère augmentation de la concentration dans l'eau de ce milieu ($P < 0,05$) entre le 2^e et le 12^e jour de stockage ; les valeurs restent ensuite inchangées. Il est donc clair que cet accroissement de Cl/eau n'est dû qu'à la diminution du contenu en eau de l'albumen (fig. 3). La présence de CO_2 semble d'ailleurs freiner le phénomène mais il n'est pas possible de trancher statistiquement ($F = 3,96$ contre $4,41$ à $P = 0,05$).

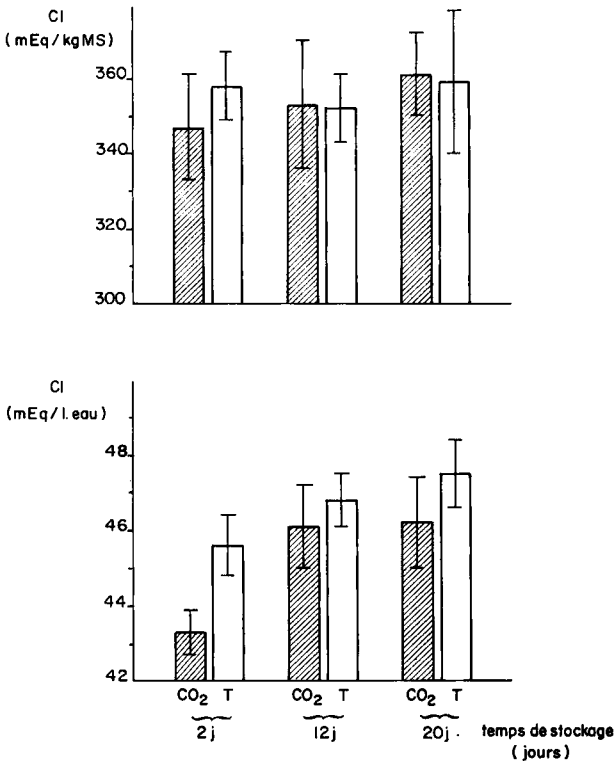


FIG. 6. — Teneur en chlore de l'albumen (még/kg de matière sèche et még/l d'eau)

TABLEAU 4

Moyennes par poule des teneurs de l'albumen en eau, Na^+ , K^+ et Cl^-

Poule	Eau (g/g MS)	Na^+ (még/kg MS)	K^+ (még/kg MS)	Cl^- (még/kg MS)
1	6,997	644,8	262,0	317,5
2	8,299	805,7	297,4	375,3
3	7,975	746,0	287,2	372,4

DISCUSSION

Nous avons conservé des œufs à couver de 2 à 21 jours après la ponte dans des atmosphères contenant 2 ou 0 p. 100 de CO₂. Résumées, très rapidement, les actions du CO₂ sur l'équilibre hydro-minéral de l'albumen sont les suivantes :

— il maintient un gradient de pH dans l'albumen à un niveau moyen inférieur de 1 unité à celui observé chez les œufs témoins. Réciproquement, la pCO₂ de ce milieu reste supérieure de 15 mm Hg ;

— la pression osmotique de l'albumen reste constante en présence de CO₂ mais diminue de 20 mOsm/l chez les œufs témoins. De même le gaz carbonique assure la permanence de la teneur en Ca et Mg de l'albumen et semble freiner leur transfert vers le jaune. Il ralentirait également, les transferts d'eau ;

— à l'opposé, le gaz carbonique ne contrôle pas la teneur en sodium de l'albumen ; de plus les contenus en glucose de l'albumen et du jaune diminuent de la même façon chez les œufs CO₂ et témoins.

Ces résultats peuvent être discutés sous de multiples aspects tant sont complexes les équilibres existant à l'intérieur de l'œuf après la ponte. Nous allons essayer d'en aborder quelques-uns.

I. — *Échanges albumen-jaune ; rôle du pH de l'albumen*

De nombreux travaux, résumés par SHENSTONE (1968) et CALET et BLUM (1970) dans leurs revues bibliographiques, ont montré que la membrane vitelline ne contrôle plus les transferts de l'albumen vers le vitellus après un certain temps de conservation de l'œuf. On sait de plus que l'accroissement de la teneur en eau du jaune n'est probablement pas dû à un phénomène osmotique. Le terme même de membrane vitelline correspond à des notions périmées ; les études récentes y distinguent plusieurs couches d'origine et de nature fort différentes dont le rôle de « membrane » est fort discutable (BELLAIRS, HARKNESS et HARKNESS, 1963 ; BAIN et HALL, 1969 ; JENSEN, 1969).

En ce qui concerne les éléments qui nous intéressent ici, à savoir les électrolytes, le seul travail que nous connaissons est celui de SATO *et al.* (1960) qui ont observé que, lors d'un stockage en atmosphère normale, la teneur de l'albumen en Na, Ca, Mg et CO₂ diminue alors que celle en K et Cl reste constante. Nos résultats (fig. 4, 5 et 6) sont en accord avec ceux de ces auteurs comme le montrent les pertes moyennes en pourcentage observées dans l'albumen en 20 jours de conservation (calculées à partir des variations de quantité totale de chaque élément pour SATO *et al.*, et à partir des teneurs rapportées à la matière sèche dans notre cas).

	Ca	Mg	Na	K	Cl
SATO <i>et al.</i> ,	— 47 p. 100	— 25	— 7	0	0
Résultats présents (1)	— 66	— 21	— 8,8	0	0

Il est donc certain que, dans des conditions normales de conservation, il se produit de l'albumen vers le jaune, non seulement un mouvement d'eau, mais aussi un

(1) Variations calculées entre les moyennes du lot CO₂ à 2 jours et celles du lot témoin à 20 jours.

transfert d'ions. De ce point de vue, l'effet protecteur d'une ambiance enrichie en CO_2 que nous démontrons ici nous semble intéressant. Il est connu depuis longtemps que le CO_2 freine les transferts d'eau de l'albumen vers le vitellus (SMITH, 1931 ; MORAN, 1937). MORAN démontre même que la teneur de 2,5 p. 100 CO_2 est suffisante et que l'emploi de CO_2 pur n'exerce aucun effet bénéfique supplémentaire sur l'index de forme de jaune ou sa teneur en eau.

Plus récemment, les travaux de FROMM (1967) et FROMM et GAMMON (1968) ont montré que le pH de l'albumen conditionne les transferts d'eau à l'intérieur de l'œuf en contrôlant la structure fibrillaire de la couche externe de la « membrane » vitelline, apparentée aux chalazes. Ceci explique l'effet de CO_2 ambiant puisque le pH de l'albumen dépend essentiellement de la teneur en CO_2 de l'air ambiant (BROOKS et PACE, 1938) ; nous retrouvons évidemment ce résultat ici (fig. 1-I). Nous montrons également que la présence de 2 p. 100 CO_2 dans l'air supprime totalement les transferts très importants de calcium et de magnésium qui interviennent en atmosphère normale (fig. 4 et 5) et maintient une pression osmotique plus élevée dans l'albumen (fig. 2). Ce traitement est, en revanche, sans action significative sur les échanges de sodium.

Nous pouvons donc émettre l'hypothèse suivant laquelle non seulement les transferts d'eau, mais peut-être aussi ceux des cations divalents sont contrôlés par la couche externe gélifiée qui entoure le jaune de l'œuf frais.

2. — *Caractéristiques des trois zones de l'albumen*

Nous avons montré précédemment (SAUVEUR, 1969) qu'il existe dans l'albumen de l'œuf, aussitôt après la ponte, un gradient de pH, de $p\text{CO}_2$ et de concentration du phosphore total : le pH augmente régulièrement depuis la zone fluide interne jusqu'à la zone fluide externe alors que la $p\text{CO}_2$ et la teneur en phosphore diminuent. A l'opposé, nous avons trouvé que les ions Na, K et Cl sont uniformément répartis. SATO *et al.* (1960) rapportent une même égalité de répartition au cours de la conservation, fait qui nous a d'ailleurs conduit à ne pas séparer les différentes zones de l'albumen pour le dosage de ces éléments lors de la présente expérience. En revanche, nous observons (fig. 1) que la présence de 2 p. 100 de CO_2 maintient des différences de pH significatives entre les 3 zones de l'albumen ; il n'en est pas de même pour la $p\text{CO}_2$ qui devient rapidement uniforme (fig. 2) à l'intérieur de l'albumen.

Notons enfin que l'albumen épais se caractérise par une pression osmotique légèrement supérieure à celle des zones liquides interne et externe, quels que soient apparemment le temps et le mode de conservation de l'œuf.

3. — *Relation pH-pression osmotique-cations divalents de l'albumen*

Les variations de pression osmotique de l'albumen, en fonction du temps et de l'atmosphère de conservation, ne peuvent être liées ni au glucose ni aux cations monovalents (fig. 2) ; en effet, les concentrations de ces éléments sont, soit constantes (K), soit variables de la même façon chez les œufs gardés sous 0 ou 2 p. 100 CO_2 (glucose, Na et Cl). Au contraire, il semble exister un rapport entre la pression osmotique et la teneur en cations divalents de l'albumen. Pour préciser ce fait, nous avons calculé sur l'ensemble des données disponibles les coefficients de corrélation entre la pression

osmotique (mOsm/l) et les teneurs en calcium et magnésium de l'albumen (még/kg matière sèche). Nous obtenons :

$$r_{pOsm, (Ca)} = 0,89 \quad (F = 136 ; P < 0,0005)$$

$$r_{pOsm, (Mg)} = 0,62 \quad (F = 22 ; P < 0,0005)$$

Ces relations peuvent être expliquées en partie par le fait que du calcium et, à un moindre degré, du magnésium semblent être transférés de l'albumen vers le jaune chez les témoins. Cependant, si nous considérons les concentrations de Ca et Mg par rapport à l'eau de l'albumen (tabl. 2) nous constatons que les écarts entre les œufs gardés sous CO₂ et les témoins ne sont au maximum que de 3,3 et 1,6 még/l respectivement soit au total 2,5 mM/l. En admettant que cette quantité représente en totalité des ions en solution (ce qui n'est probablement pas le cas), la différence de pression osmotique observée entre les 2 lots ne devrait être que de 2,5 mOsm/l ; or, elle atteint près de 20 mOsm/l (fig. 2) au profit du lot CO₂ chez lequel la teneur en eau de l'albumen reste par ailleurs plus élevée.

On peut alors faire intervenir les variations de pH de l'albumen. Un calcul de corrélation effectué (sur l'ensemble des 3 périodes de conservation) entre la pression osmotique et le pH de chaque zone de l'albumen donne les résultats suivants :

$$\text{Al. liq. ext.} : p_{Osm} = -18,95 \text{ pH} + 418,5 \quad \text{avec } r = -0,88 \quad (F = 113, P < 0,0005)$$

$$\text{Al. ép.} : - = -17,44 \text{ pH} + 408,5 \quad \text{avec } r = -0,89 \quad (F = 124, P < 0,0005)$$

$$\text{Al. liq. int.} : - = -15,85 \text{ pH} + 391,46 \quad \text{avec } r = -0,89 \quad (F = 128, P < 0,0005)$$

Les valeurs des trois coefficients de corrélation sont élevées et identiques ; de plus, les variances des 3 coefficients de régression sont homogènes (test de Barlett) ; ceci nous autorise à comparer entre elles les pentes de chacune des 3 droites de régression qui apparaissent différentes de façon très hautement significative ($F_{2,102} = 33, P < 0,0005$).

Il existe donc une forte liaison inverse entre pH et pression osmotique de l'albumen, liaison dont la pente varie régulièrement à l'intérieur de l'albumen. Cette relation, rapprochée de celles calculées plus haut entre la pression osmotique d'une part et les teneurs en Ca et Mg d'autre part, permet d'émettre l'hypothèse suivante sur le rôle du pH. Lorsque le pH s'accroît (cas des œufs conservés à l'air) il s'éloigne du point isoélectrique des protéines de l'albumen, exception faite de celui du lysozyme fortement basique (COTTERILL et WINTER, 1965) ; ces protéines présentent alors des charges négatives libres en nombre croissant susceptibles de fixer des cations inorganiques. On sait en particulier (WILLIAMS, 1967 ; YON, 1969) que la stabilité des complexes formés avec les groupements R—COO⁻, varie suivant la place du cation dans la série lyotropique de Hofmeister (1888) : Mg > Ca > ... Na > K > ... Les cations divalents seraient donc préférentiellement fixés et pourraient former, entre les chaînes protidiques, des ponts électrostatiques responsables, en partie, de la diminution du pouvoir de rétention d'eau de l'albumen épais, selon le schéma décrit par HAMM (1963) pour l'actomyosine. Le même phénomène a d'ailleurs été évoqué dans le cas du plasma pour expliquer la diminution relative du Ca ultrafiltrable liée à une augmentation du pH (TEREPKA *et al.*, 1970).

Si une telle fixation existe dans l'albumen de l'œuf, elle entraîne une diminution de la concentration ionique et, par conséquent, de la pression osmotique totale de la solution protéique (GRÉMY et PAGES, 1962). Cette hypothèse est soutenue par l'obser-

vation de SATO *et al.* (1960) qui ont noté que la portion dialysable des ions de l'albumen reste constante pendant la conservation, sauf dans le cas du calcium : elle représenterait 20 p. 100 du Ca total de l'albumen en début de conservation, 10 p. 100 après 6 jours, puis resterait constante. Un tel comportement temporel reflète bien celui observé ici pour la pression osmotique.

Cette hypothèse n'explique pas, en revanche, que les coefficients de régression liant pH et $pOsm$ aient une valeur différente dans les trois zones de l'albumen. Il existe en effet un gradient protéique croissant de l'extérieur à l'intérieur de l'albumen (LUSH et CONCHIE, 1966) ; suivant le raisonnement ci-dessus, la zone la plus riche en protéines (zone liquide interne) devrait être celle où une même élévation de pH affecte le plus la pression osmotique, ce qui n'est pas. Rappelons cependant que la fraction inorganique de l'albumen n'est pas la seule responsable de la pression osmotique de ce milieu et que la conservation de l'œuf affecte la répartition interne des protéines comme l'ont montré SATO et NAKAMURA (1959) et KATO, NAKAMURA et SATO (1970).

CONCLUSION

Il se produit au cours de la conservation de l'œuf d'importantes modifications dans la répartition de l'eau et des électrolytes entre l'albumen et le vitellus ; ces modifications peuvent être modérées ou même supprimées en réduisant l'élévation de pH de l'albumen. Il semble que la pression osmotique de l'albumen soit également contrôlée par le pH du milieu ; nous émettons l'hypothèse selon laquelle ce contrôle serait effectué par l'intermédiaire de liaisons entre les cations divalents et les charges négatives des protéines. Des travaux sont actuellement en cours pour vérifier si les faits décrits ici sont, ou non, en rapport avec les défauts de développement embryonnaire consécutifs à la conservation de l'œuf.

Reçu pour publication en mai 1971.

SUMMARY

GLUCOSE AND ELECTROLYTES DISTRIBUTION IN THE EGG STORED IN 0 OR 2 PER CENT CARBON DIOXIDE ATMOSPHERE

It is known that egg storage is accompanied by a fall of hatchability ; in some strains of fowl, this decrease can be reduced by using low rates of carbon dioxide in the atmosphere of the storage room (SAUVEUR *et al.*, 1967). However, nothing is known about the way in which CO_2 protects the embryonic cells.

Fertile eggs, laid by three *White Leghorn* hens, were stored at 12°C and 80 p. 100 RH in an atmosphere containing 0 or 2 p. 100 of CO_2 . Six eggs for each environment were analyzed after 2, 12 and 20 days of storage. The following measurements were made : pH, pCO_2 and osmotic pressure of each part of the egg-white (thick white, inner and outer thin white) ; contents of water, Na, K, Ca, Mg, Cl and free glucose of the whole white and yolk. Variance analysis were conducted according to factorial methods.

The main results were the following.

1. Figure 1-I and table 1 ; mean pH values remained constant (8.2) in the white of the 2 p. 100 CO_2 -stored eggs ; moreover the pH gradient observed in fresh eggs between the three parts of the

egg white (SAUVEUR, 1969) remained after 20 days of storage. In 0 p. 100. CO₂ atmosphere (control group), this pH gradient disappeared after 2 days of storage ; the mean pH value increased up to 9.3 after 20 days.

2. Figure 1-II and table 1 : the partial pressure of CO₂ (*p*CO₂) in the white was greater in the CO₂-stored than in the control eggs (about 20 and 8 mm Hg respectively).

3. Figure 2 and table 1 : the osmotic pressure of the white remained constant in the CO₂-stored eggs. In the control group the osmotic pressure decreased significantly from 260 to 250 mOsm/l during the first two days of storage, down to a minimum of 242 mOsm/l at 12 days.

4. Figure 3 and table 1 : a transfer of water from the white to the yolk took place during the pre-incubation period ; this transfer seemed to be reduced in the CO₂-stored eggs compared to the control.

The content of free glucose in both albumen and yolk was reduced by 15 and 56 p. 100 respectively, regardless of the presence of CO₂ in the storage atmosphere ; this decrease appeared earlier in the yolk (12 days) than in the white (20 days).

5. Figure 4 and table 2 : the most interesting result, in our opinion, was that the Ca and Mg contents of the white decreased sharply in the control eggs (63 and 21 p. 100 respectively for Ca and Mg after 20 days). In contrast, these levels did not change in the CO₂-stored eggs. This decrease in Ca and Mg contents occurred in the control eggs at every stage of storage and, probably, did not stop at 20 days. In the same control group of eggs, the Ca and Mg contents of the yolk increased but the difference did not reach a significant level of probability because of greater variability.

6. Figures 5 and 6 : the rates of K, Na, and Cl either were constant or varied according to the same pattern in the two groups of eggs.

These results are discussed in relation to the physicochemical properties of the egg contents. It is known that the structure of the external layer of the vitellin membrane is controlled by the albumen pH (FROMM and GAMMON, 1968). The current results show that this membrane is as important to ionic transfers as to water transport.

The variations in albumen osmotic pressure are tentatively explained as ruled by electrostatic linkages between divalent cations and the electro-negative groups of the proteins which increase in number with the pH.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUSTIC R. E., GRAU C. R., MATTESON G. C., 1966. Requirements for glucose and amino acids in defined media for chick embryos. *J. Nutr.*, **90**, 175-182.
- BAIN J. M., HALL J. M., 1969. Observations on the development and structure of the vitelline membrane of the hen's egg : an electron microscope study. *Aust. J. Biol. Sci.*, **22**, 653-665.
- BELLAIRS R., HARKNESS M., HARKNESS R. D., 1963. The vitelline membrane of the hen's egg : a chemical and electron microscopical study. *J. Ultrastr. Res.*, **8**, 339-359.
- BROOKS J., PACE J., 1938. The distribution of carbon dioxide in the hen's egg. *Proc. Roy. Soc. B*, **126**, 196-209.
- CALET C., BLUM J.-C., 1970. Les vitamines de l'œuf au cours de sa conservation. *Ann. Nutr. Alim.*, **24**, B 201-B 226.
- COTTERILL O. J., WINTER A. R., 1955. Egg white lysozyme. 3. The effect of pH on the lysozyme-ovomucin interaction. *Poult. Sci.*, **34**, 679-686.
- CROIZIER G., SAUVEUR B., 1967. Étude des modifications du comportement électrophorétique des protéines de l'albumen au cours de la conservation des œufs de poule. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **7**, 317-321.
- FEENEY E., HILL M., 1960. Protein chemistry and food research. *Adv. Food Res.*, **10**, 23-73.
- FROMM D., 1967. Some physical and chemical changes in the vitelline membrane of the hen's egg during storage. *J. Food Sci.*, **32**, 52-56.
- FROMM D., GAMMON S. U., 1968. Specific gravity and volume of the hen's egg yolk as influenced by albumen pH and storage age of the egg. *Poult. Sci.*, **47**, 1191-1196.
- GREMY F., PAGES J. C., 1962. Aspects physiques des phénomènes osmotiques en biologie et en clinique. *Rev. franç. Études clin. et biol.*, **7**, 648-660.
- HAMM R., 1963. The water inhibiting power of foods. *Rec. Adv. Food Sci.*, **3**, 218-229.
- HOFMEISTER F., 1888. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, **24**, 247. Cité par PASCAL P., 1952, *Chimie générale*, tome IV, p. 319, Masson et C^{ie}, Paris.

- JENSEN C., 1969. Ultrastructural changes in the avian vitelline membrane during embryonic development. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **21**, 467-484.
- KATO A., NAKAMURA R., SATO Y., 1970. Studies on changes in stored shell eggs. IV. Changes in the chemical composition of ovomucin during storage. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1009-1013.
- LUSH I. E., CONCHIE J., 1966. Glycosidases in the egg albumen of the hen, the turkey and the Japanese quail. *Biochim. Biophys. Acta*, **130**, 81-86.
- MORAN T., 1937. Gas storage of eggs. *J. Soc. Chem. Indus. Transactions*, **61**, 96 T-101 T.
- ROMANOFF A. L., 1960. *The avian embryo*, 192-195, The Macmillan Company, New York.
- SATO Y., NAKAMURA R., 1959. Studies on changes in stored shell eggs. II. Fractionation of the egg white by chemical method and changes of its constituents during storage. *J. Agric. Chem. Soc. Japan.*, **33**, 872-875.
- SATO Y., NAKAMURA R., YOSHIKAWA Y., TAKAGI K., 1960. Studies on changes in stored shell eggs. III. On changes in the albumen minerals during storage. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, **34**, 1000-1005.
- SAUVEUR B., 1967. Conservation des œufs de poule et éclosivité. Essai de comparaison avec les données obtenues sur la conservation des œufs de consommation. *Ann. Zootech.*, **16**, 89-115.
- SAUVEUR B., 1969. Étude de la composition électrolytique des différentes zones de l'albumen de l'œuf chez deux races de poule. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**, 563-573.
- SAUVEUR B., FERRE R., LACASSAGNE L., 1967. Conservation d'œufs de poule sous atmosphère enrichie en gaz carbonique. Action sur les résultats d'éclosion. *Ann. Zootech.*, **16**, 351-356.
- SHENSTONE F. S., 1968. The gross composition, chemistry and physico-chemical basis of organization of the yolk and white. In Carter T. C. « *Egg quality. A study of the hen's egg.* » (B. E. M. B. Symposium n° 4), 26-28, Oliver et Boyd, Edinburgh.
- SMITH A. J. M., 1931. Rep. Fd. Invest. Bd., Lond., 155-Cité par BROOKS J., TAYLOR D. J., 1955. Eggs and egg products. *Fd. Invest., Special report*, **60**.
- SPENCER J. V., PETTIBONE C. A., BECKER W. A., 1968. Hatchability of eggs stored in carbon dioxide. *Poult. Sci.*, **46**, 1721. (Abstr.)
- TEREPKA A. R., CHEN P. S., TORIBARA T. Y., 1970. Ultrafiltration : a conceptual model and a study of sodium, potassium, chloride and water distribution in normal human sera. *Physiol. Chem. Phys.*, **2**, 59-78.
- WILLIAMS R. J. P., 1967. The selectivity of metal-protein interactions. In PEETERS H. *Protides of the biological fluids*, **14**, 25-36, Elsevier Publish. Co., Amsterdam.
- YON J., 1969. *Structure et dynamique conformationnelle des protéines*, p. 157, Hermann, Paris.
-