

## Étude à l'aide de méthionine <sup>35</sup>S de l'utilisation de la méthionine chez la chèvre

par C. CHAMPREDON, R. PION

avec la collaboration technique de Françoise BARRE et G. BAYLE

Laboratoire d'étude du Métabolisme Azoté  
I. N. R. A., Theix  
Saint-Genes-Champanelle 63110 Beaumont

---

### Summary. *Utilization of <sup>35</sup>S methionine by the goat.*

In order to study the metabolic fate of ingested methionine in the rumen, a mixture of 2.5 g of D,L-methionine and 2.1 mCi of L-<sup>35</sup>S methionine is injected into the rumen of two young dry goats weighing 36.0 kg (n° 42) and 32.6 kg (n° 47). The animals had been fed meadow hay and a concentrate containing 2.5 g of D,L-methionine for 3 months. Abomasal contents and blood are sampled for 4 days after intraruminal injection of the tracer. Total radioactivity and specific activity of sulfur amino acids are measured in free- and protein-bound fractions of abomasal contents and blood.

The radioactivity of the abomasal content soluble fraction (TCA) increases very rapidly. The highest value is reached 1 hour after the injection and then decreases quickly. The main labelled compound in the TCA extract during the first hour is methionine. Residue radioactivity increases slowly and reaches a maximum near hour 18. The <sup>35</sup>S is incorporated into the methionine and the cystine, but methionine radioactivity is tenfold that of cystine.

Total plasma radioactivity increases during the 9 hours following the injection, then decreases slowly. It is mainly found in the extract during the first hours of the experiment, but is almost totally recovered in the protein-bound fraction 48 hours after the injection. Labelling of free sulfur amino acids in the blood is weak (about 1 p. 100 of the whole extract). Protein-bound cystine radioactivity is similar to that of protein-bound methionine.

It is concluded that a part of the <sup>35</sup>S is absorbed directly from the rumen as unidentified sulfur-labelled compounds and is carried by the bloodstream, but a significant proportion of the <sup>35</sup>S introduced into the rumen as methionine is incorporated into microbial protein or enters the intestine directly.

---

### Introduction.

Les besoins des ruminants en acides aminés et en particulier en acides aminés indispensables peuvent être satisfaits dans un grand nombre de cas par la digestion dans l'intestin des microorganismes du rumen (Allison, 1969). Les protéines de ces derniers sont synthétisées à partir de matières azotées alimentaires et endogènes, même dans le cas où la ration ne comporte aucune substance protidique (Virtanen, 1966). Toutefois, lorsque les besoins azotés des animaux sont très élevés comme cela

se produit chez des vaches laitières fortes productrices, la synthèse microbienne est insuffisante et la fourniture à l'organisme de certains acides aminés d'origine exogène devient nécessaire (Chalupa, 1975), en particulier dans le cas des acides aminés soufrés (Whanger, 1972). La méthionine est en effet généralement considérée comme étant l'un des acides aminés les plus limitants pour les besoins des tissus des ruminants (Spires *et al.*, 1975 ; Williams et Smith 1974 ; Champredon, Pion et Verite, 1974). L'addition au régime alimentaire de méthionine préparée industriellement représente un moyen de couvrir une partie des besoins en cet acide aminé, dans la mesure où une forte proportion de la méthionine introduite dans le rumen est utilisée et métabolisée. Nous avons donc étudié son utilisation digestive et métabolique chez la chèvre.

## Matériel et méthodes.

### *Animaux.*

Deux jeunes chèvres en fin de croissance pesant 36,0 kg (animal n° 42) et 32,6 kg (animal n° 47) étaient munies depuis six mois d'une canule simple de la caillette. Les animaux étaient placés dans des cages permettant le contrôle des quantités d'aliments ingérées. Ils recevaient deux fois par jour du foin de prairie naturelle hâché assez long et de bonne qualité, à raison de 750 g par repas ; une distribution d'aliment concentré avait lieu immédiatement avant celle du foin, c'est-à-dire vers 8 h 30. Cet aliment concentré auquel les animaux étaient habitués depuis plus de 3 mois était composé d'un mélange de deux types de granulés :

— 400 g de granulés à base d'orge (70 p. 100) comportant de la farine de luzerne déshydratée à 18 p. 100 de matières azotées totales (20 p. 100), de la mélasse de canne (5 p. 100) et un condiment minéral vitaminique (5 p. 100).

— 50 g de granulés comportant un mélange de céréales et de tourteaux divers et 5 p. 100 de D,L-méthionine.

La veille de l'expérience, un cathéter était placé dans la veine jugulaire des animaux. Le matin de l'expérience et les jours suivants, l'aliment concentré était distribué à l'heure habituelle mais sa composition différait de celle des jours précédents par le fait que les 50 g de granulés contenant la méthionine étaient remplacés par une quantité équivalente de granulés sans méthionine. Le premier jour de l'expérience, une solution renfermant 2,5 g de D,L-méthionine, 2,1 mCi de L-<sup>35</sup>S méthionine et 35 g de polyéthylène glycol (M = 4 000) (PEG) dans 250 ml d'eau était introduite dans le tube digestif par injection intraruminale.

### *Prélèvements.*

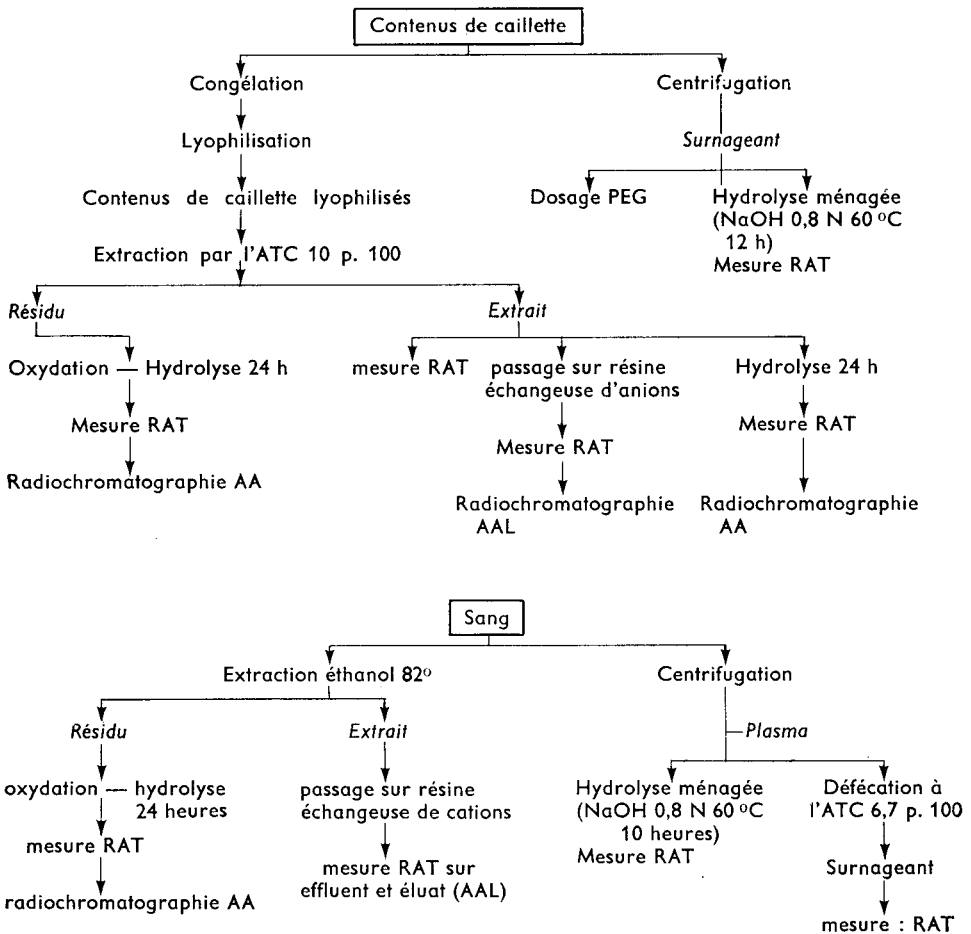
Des prélèvements de sang et de contenu de caillette étaient réalisés pendant les 4 jours suivant l'injection. Une partie (environ 15 g) du sang prélevé était immédiatement placée dans un flacon contenant un poids connu d'un mélange froid d'éthanol 95° et de thiodiglycol (2 p. 100 du total). L'autre partie était placée dans un tube à centrifuger hépariné de manière à obtenir rapidement du plasma qui était alors congelé.

Les contenus de caillette étaient obtenus en recueillant la totalité du digesta s'écoulant pendant 30 s à 1 mn après avoir dévissé le bouchon obturant la canule. Une partie du contenu était placée dans des récipients préalablement tarés, pesée puis congelée afin d'être lyophilisée. Une autre fraction était répartie en deux tubes dont l'un était mis en réserve après congélation en vue du dosage du PEG alors que l'autre était immédiatement centrifugé pour obtenir le liquide surnageant des contenus qui était ensuite rapidement congelé.

### Techniques analytiques.

Les différents traitements subis par les échantillons de contenu digestif et de sang sont schématisés sur la figure 1. Les techniques d'extraction par l'éthanol, de purifi-

Fig. 1. — Traitement des échantillons.



Abréviations : ATC : solution aqueuse d'acide trichloracétique ;  
AA : acides aminés ; AAL : acides aminés libres ;  
RAT : radioactivité totale.

cation des extraits éthanoliques et d'hydrolyse, ont été précédemment décrites (Pion, Fauconneau et Rerat, 1964 ; Pion et Fauconneau, 1966). Les extractions par l'acide trichloroacétique (ATC) ont été réalisées dans les mêmes conditions que les extractions éthanoliques, mais à une température comprise entre 0 et + 4 °C. L'acide trichloroacétique a été éliminé par passage sur une résine échangeuse d'anions (Dowex 2).

La détermination de la teneur en PEG des contenus de caillette a été effectuée selon la méthode de Hyden (1955).

La radioactivité totale des échantillons a été mesurée par scintillation liquide (Packard Tricarb 3375 ; scintillateur : Instagel).

Les concentrations et la radioactivité des acides aminés soufrés ont été mesurées par chromatographie sur résine échangeuse d'ions sur appareil automatique couplé à un compteur à scintillation en continu (Packard Flow analyser 3241).

Le calcul des quantités de radioactivité liées aux composés soufrés détectés a été effectué par détermination des surfaces de pics sur les radiochromatogrammes après étalonnage préalable au moyen de solutions standards d'activités connues. Les résultats figurant sur les tableaux ou graphiques correspondent à la triangulation de pics dont les surfaces minimales étaient de l'ordre de 2 à 5 cm<sup>2</sup> suivant la forme des pics ou les fluctuations de la ligne de base.

## Résultats.

Les résultats de cette expérience figurent en partie dans une note (Champredon, Pion et Basson, 1976) sur l'utilisation digestive comparée de la méthionine, du MHA et du sulfate de sodium dans le rumen de la chèvre.

### *Comportement des animaux.*

Les animaux étaient convenablement habitués au séjour en cages à digestibilité par une longue période d'adaptation. Les canules de la caillette étaient très bien tolérées et la pose des cathéters ainsi que les injections intraruminales ont été réalisées sans incidents.

Des quantités de contenus de caillette voisines de celles qui étaient prévues ont pu être prélevées selon le calendrier préétabli sur l'animal n° 47 ; au contraire, dans le cas de la chèvre n° 42 la première récolte en quantité suffisante de contenu de caillette n'a pu être effectuée que 12 h après l'injection. Les prélèvements de sang ont été réalisés généralement sur les deux animaux dans de bonnes conditions.

### *Quantités d'aliments ingérés.*

Les aliments concentrés expérimentaux distribués en une seule fois le matin, étaient très rapidement et totalement consommés, alors que le foin n'était ingéré qu'en petite quantité tout le long de la journée. La quantité totale de fourrage ingérée, sans doute limitée par le dispositif expérimental qui permettait d'éviter tout gaspillage, était de l'ordre de 0,5 kg par jour et par animal.

### *Résultats analytiques.*

Les radiochromatogrammes relatifs à la fraction acido-soluble des contenus comportent au début un nombre variable de pics correspondant à des composés acides identifiés ou non (taurine, acide cystéique, sulfate...), puis les pics correspondant à la cystine et à la méthionine. Compte tenu des risques de destruction de la cystéine au cours du dosage, nous n'avons pu faire figurer sur les tableaux les résultats concernant la cystine libre. Un pic de radioactivité important est obtenu lors de la phase de régénération par la soude de la résine des colonnes de l'analyseur automatique. Ce dernier pic n'apparaît plus lorsque l'on analyse les extraits ayant subi une hydrolyse ; on observe dans ce cas une augmentation des pics sortant en début de colonne et du pic de méthionine. La ou les substances correspondantes pourraient être des peptides renfermant entre autres de la méthionine.

La mesure des quantités de radioactivité liées aux acides aminés soufrés circulant sous forme libre dans le sang n'a pas pu être effectuée. Si le marquage de la fraction soluble dans l'éthanol est relativement important, il est principalement le résultat de la présence de substances non retenues sur résine échangeuse de cations. La quantité de radioactivité retenue sur cette dernière est trop faible pour être mesurable au moyen du compteur à scintillation en continu et seul un comptage de la radioactivité totale a pu être effectué.

Le recouvrement par radiochromatographie de la radioactivité totale des échantillons était convenable dans le cas des marquages élevés. Comme seules la méthionine et la cystine des résidus d'extraction (sang et digesta) étaient marquées, nous avons corrigé les valeurs obtenues pour les acides aminés soufrés de ces échantillons, de manière à obtenir un recouvrement de 100 p. 100 de la radioactivité totale mesurée par scintillation liquide.

### *Contenus de caillette.*

Les teneurs en matière sèche des contenus de caillette sont très variables (tabl. 1). La concentration la plus élevée en PEG est observée dans l'échantillon prélevé 2 h 10 après l'injection du mélange expérimental à la chèvre n° 47. Il n'en est pas de même pour la radioactivité totale des surnageants de contenu de caillette ; la valeur maximale est observée 1 h 05 après l'introduction des marqueurs dans le rumen. Le rapport de la radioactivité du surnageant à la concentration en PEG décroît pendant les premières 24 heures de l'expérience ; ensuite, la teneur en PEG diminue plus vite que la radioactivité.

La radioactivité totale de l'extrait brut (tabl. 2) est toujours nettement supérieure à celle du surnageant de contenu (tabl. 1), sauf pour le prélèvement effectué 72 h 20 après le début de l'expérience chez la chèvre n° 47.

Elle augmente très rapidement après l'injection (maximum observé après 1 h 05) puis diminue ensuite de manière importante. La purification des extraits sur résine échangeuse d'anions ainsi que leur hydrolyse ne diminuent que faiblement leur radioactivité (tabl. 2).

La radioactivité du résidu d'extraction par l'ATC 10 p. 100 (tabl. 2) augmente beaucoup plus lentement que celle de la fraction soluble. La valeur maximale est

TABLEAU 1

Teneur en matière sèche (g p. 1 000 g) des contenus de caillette et concentrations en PEG (g p. 1 000 ml) et en radioactivité (DPM  $\times 10^6$  p. 1 000 g) des surnageants obtenus après centrifugation des contenus

	Temps après l'injection	Matière sèche (1)	PEG (2)	Radioactivité des surnageants (3)	(3) (2)
Chèvre n° 47	15 mn	88,9	0,46	20	44
	30 mn	89,5	2,19	79	36
	1 h 05	70,8	4,67	202	43
	2 h 10	91,2	5,05	171	34
	4 h	88,7	3,96	59	15
	6 h 25	100,0	2,79	39	14
	9 h 05	59,7	4,21	26	6
	12 h	84,5	4,04	24	6
	17 h 55	102,1	2,83	26	9
	24 h 30	61,2	2,50	16	6
	29 h 35	55,3	1,55	16	10
	36 h 15	—	1,08	25	23
	48 h 30	87,8	0,76	7	9
	72 h 20	108,7	0,19	7	36
	96 h 20	99,0	0,14	2	17
Chèvre n° 42	12 h	68,2	3,60	33	9
	18 h	72,6	2,41	14	6
	23 h 45	49,4	2,00	13	6
	28 h 25	72,6	1,14	10	9
	36 h	88,8	0,80	9	11
	47 h 40	83,2	0,34	6	16
	72 h 25	75,2	0,13	2	19
	96 h 10	53,9	0,12	1	11

obtenue 18 h environ après l'injection pour les deux animaux ; le marquage de cette fraction diminue ensuite tout en restant toujours supérieur à celui de l'extrait. L'évolution dans le temps de la radioactivité totale des contenus de caillette est bimodale avec un premier pic très étroit vers la première heure de l'expérience et un second deux fois moins élevé que le premier mais beaucoup plus étalé (Champredon, Pion et Basson, 1976).

La radioactivité des résidus d'extraction ne représente qu'un très faible pourcentage de l'ensemble de la radioactivité des digesta dans les premiers prélèvements, puis augmente pour atteindre vers la 18<sup>e</sup> heure de l'expérience une valeur voisine de 80 p. 100 du total.

La concentration en méthionine (tabl. 3) des extraits s'élève très rapidement pour atteindre une valeur maximale 1 à 2 h après l'injection. Elle diminue progressivement jusqu'à la 12<sup>e</sup> heure puis reste sensiblement constante jusqu'à la fin de l'expérience. La méthionine libre constitue la presque totalité de la méthionine qui arrive dans la caillette pendant les 2 premières heures, puis ne se trouve qu'à l'état

TABLEAU 2

Radioactivité totale des fractions solubles et des résidus d'extraction par l'ATC des contenus de caillette  
(DPM  $\times 10^6$  p. 1 000 g de contenu frais)

	Temps après l'injection	Extrait			Résidu (7)	Total (8)	Radioactivité du résidu en p. 100 du total (9)	(4) (2) (tabl. 1)
		Brut (4)	Après purification (5)	Après hydrolyse (6)				
Chèvre n° 47	15 mn	34	32	31	2	36	6	73
	30 mn	137	122	127	7	144	5	63
	1 h 05	329	313	306	24	352	7	70
	2 h 10	289	260	271	53	342	15	57
	4 h	117	102	107	52	169	31	30
	6 h 25	53	39	47	96	149	64	19
	9 h 05	48	28	40	98	147	67	12
	12 h	39	24	32	141	180	78	10
	17 h 55	39	26	34	206	244	84	14
	24 h 30	32	25	31	126	158	80	13
	29 h 35	18	19	22	84	102	82	12
	36 h 15	—	—	—	—	—	—	—
	48 h 30	14	9	13	59	73	81	18
	72 h 20	7	5	6	21	27	76	34
	96 h 20	4	3	3	8	12	67	28
	Chèvre n° 42	12 h	40	24	33	81	121	67
18 h		28	17	24	106	134	79	12
23 h 45		24	16	20	72	96	75	12
28 h 25		19	13	16	52	71	74	17
36 h		13	9	11	41	55	76	17
47 h 40		9	6	7	25	35	74	27
72 h 25		4	2	3	9	13	71	29
96 h 10		2	2	2	4	6	66	18

de traces après la 18<sup>e</sup> heure. Les concentrations en méthionine et cystine des résidus d'extraction varient relativement peu ; on observe pour ces deux composés des valeurs élevées vers la 18<sup>e</sup> heure de l'expérience chez les 2 animaux et vers la 36<sup>e</sup> heure pour la chèvre n° 42. Le prélèvement correspondant n'ayant pu être effectué dans le cas de la chèvre n° 47.

La radioactivité de la méthionine des extraits s'élève très rapidement après l'injection du marqueur. Elle est maximale une heure après puis décroît très rapidement après la 2<sup>e</sup> heure. Le marquage de la méthionine (tabl. 4) au maximum est pratiquement identique à celui de l'extrait brut correspondant au même prélèvement (Champredon, Pion et Basson, 1976).

La radioactivité de la méthionine des résidus d'extraction à l'ATC est maximale vers la 18<sup>e</sup> heure de l'expérience. Le marquage de la cystine est toujours très inférieur à celui de la méthionine et atteint son maximum 24 h après l'injection intraruminale. Il semble donc que le soufre de la méthionine injectée soit incorporé aux protéines

TABLEAU 3

Composition en acides aminés soufrés (mg p. 1 000 g de contenu frais) et radioactivités spécifiques (DPM  $\times 10^6$ /mg) des acides aminés soufrés des différentes fractions des contenus de caillette des Chèvres

	Temps après l'injection	Composition en acides aminés soufrés (mg p. 1 000 g de contenu frais)					Radioactivité spécifique		
		Extrait		Résidu		Total	Extrait	Résidu	
		Méthionine libre	Méthionine totale	Méthionine	Cystine		Méthionine totale	Méthionine	Cystine
Chèvre n° 47	15 mn	—	75	—	—	—	0,32	—	—
	30 mn	—	127	—	—	—	0,75	—	—
	1 h 05	242	218	195	156	559	1,40	0,12	—
	2 h 10	221	232	244	184	660	1,00	0,22	—
	4 h	136	170	166	163	499	0,41	0,30	—
	6 h 25	86	129	204	191	524	0,22	0,43	0,05
	9 h 05	16,1	102	146	116	364	0,20	0,63	0,05
	12 h	39	64	194	158	416	0,26	0,68	0,05
	17 h 55	21	94	285	237	616	0,19	0,68	0,05
	24 h 30	—	86	205	152	443	0,21	0,52	0,12
	29 h 35	—	82	176	126	384	0,16	0,42	0,07
	48 h 30	—	90	227	178	495	0,07	0,26	—
72 h 20	—	61	—	—	—	0,06	—	—	
96 h 20	—	74	—	—	—	0,02	—	—	
Chèvre n° 42	12 h	55	87	124	106	317	0,18	0,59	0,08
	18 h	18	65	208	150	423	0,18	0,46	0,07
	23 h 45	26	67	126	97	290	0,16	0,50	0,10
	28 h 25	23	68	173	129	370	0,13	0,23	0,09
	36 h	—	68	205	156	429	0,06	0,20	—
	47 h 40	—	75	153	112	340	0,06	0,17	—

microbiennes préférentiellement sous la forme de ce même acide aminé car la radioactivité de ce composé représente environ 90 p. 100 de l'ensemble du marquage des acides soufrés des résidus (tabl. 4).

1 h 05 après l'injection de la solution radioactive à la chèvre n° 47 la radioactivité spécifique de la méthionine de l'extrait de contenu de caillette mesurée après hydrolyse de ce dernier, est de l'ordre de  $1,4 \times 10^6$  DPM/mg (tabl. 3) ; cette valeur est relativement proche de celle de la méthionine injectée ( $1,86 \times 10^6$  DPM/mg). Elle diminue rapidement dans les prélèvements suivants.

Sang (tabl. 5).

La radioactivité totale du plasma augmente rapidement pendant la première heure qui suit l'injection, puis continue à s'élever jusqu'à la 9<sup>e</sup> ou 12<sup>e</sup> heure. Les valeurs observées deviennent ensuite plus faibles mais en ne diminuant que très lentement. Après 96 h, la radioactivité du plasma est encore élevée ; de l'ordre de 70 à 90 p. 100 du maximum observé suivant l'animal considéré.



TABLEAU 4

Répartition centésimale de la radioactivité dans les extraits et dans les résidus  
(en p. 100 de la radioactivité totale trouvée respectivement dans les extraits et dans les résidus)

	Temps après l'injection	Extraits			Résidus	
		Pertes à l'hydrolyse	Composés non identifiés + cystine	Méthionine totale	Méthionine libre p. 100 de la méthionine totale	
Chèvre n° 47	15 mn	6	—	71	99	—
	30 mn	7	4	69	77	—
	1 h 05	7	3	93	101	—
	2 h 10	6	11	80	104	100
	4 h	9	30	59	108	94
	6 h 25	11	16	54	40	83
	9 h 05	18	18	42	20	94
	12 h	17	35	43	12	93
	17 h 55	12	19	46	9	95
	24 h 30	6	15	54	8	84
	29 h 35	1	8	59	8	88
	36 h 15	—	—	—	—	—
Chèvre n° 42	48 h 30	10	8	47	—	—
	72 h 20	16	—	54	—	—
	96 h 20	13	—	47	—	—
	12 h	18	21	39	45	91
	18 h	14	19	41	—	90
	23 h 45	15	14	44	9	87
	28 h 25	16	11	49	8	78
	36 h	17	—	30	—	—
	47 h 40	20	—	47	—	—
	72 h 25	24	—	41	—	—

La radioactivité de la fraction soluble dans l'ATC est toujours inférieure à celle du plasma mais les différences observées sont relativement faibles pendant les 12 premières heures de l'expérience. L'écart s'accroît lorsque le temps qui sépare le prélèvement du début de l'expérience augmente, ce qui traduit une augmentation de la proportion de la radioactivité qui est incorporée dans les protéines plasmatiques.

La radioactivité de l'extrait éthanolique évolue d'une manière semblable à celle de la fraction plasmatique soluble dans l'ATC. Elle est inférieure à cette dernière pendant la première journée de l'expérience puis nettement supérieure ensuite.

La radioactivité de l'éluat obtenu après passage de l'extrait sur résine échangeuse de cations, qui renferme les acides aminés libres et en particulier la méthionine est toujours beaucoup plus faible que celle de l'extrait. La radioactivité de la fraction éthanolo-soluble du sang n'est donc due que pour une faible part au marquage de la méthionine (inférieure à 7 p. 100).

TABLEAU 5

Evolution de la radioactivité du plasma et de l'extrait éthanolique du sang des deux Chèvres  
(DPM  $\times 10^3$ /g du plasma ou de sang)

Chèvre n° 42					Chèvre n° 47				
Temps après l'injection	Plasma		Sang		Temps après l'injection	Plasma		Sang	
	Total	Extrait par l'ATC	Extrait par éthanol	Eluat*		Total	Extrait par l'ATC	Extrait par éthanol	Eluat*
15 mn	6,8	6,1	4,0	0,2	13 mn	8,0	7,3	—	—
24 mn	11,7	11,1	7,5	0,5	41 mn	22,0	20,9	15,1	0,4
34 mn	18,0	16,4	11,9	0,3	1 h	33,4	31,5	23,5	0,5
49 mn	26,5	24,6	17,6	0,4	1 h 30	43,2	43,4	33,1	0,5
62 mn	34,9	33,3	23,8	0,3	2 h	54,4	52,6	45,2	0,5
1 h 32	48,5	46,4	34,4	0,2	3 h 34	68,8	62,8	45,7	0,5
2 h 02	55,2	52,4	40,6	0,4	6 h 19	75,1	72,2	57,2	0,5
3 h 30	63,8	59,7	—	—	8 h 58	90,8	82,4	63,8	1,4
6 h	68,5	62,8	50,4	0,3	12 h	85,7	73,5	54,8	1,5
9 h	72,7	65,4	52,0	0,5	17 h 54	87,9	53,1	35,9	1,7
12 h	72,7	62,4	49,5	1,0	24 h 30	89,4	34,7	35,4	1,2
18 h	69,3	46,9	41,6	1,2	29 h 30	76,2	20,7	27,0	1,4
24 h	66,4	29,5	28,9	0,9	36 h	72,7	14,1	17,5	0,7
36 h 15	53,9	10,7	11,9	0,8	48 h 20	77,6	9,6	17,7	0,7
47 h 50	56,7	9,3	13,3	0,7	72 h 15	76,6	4,1	14,0	0,7
72 h 15	56,1	4,7	7,7	0,5	96 h 14	80,2	1,8	13,4	0,6
96 h	50,7	2,5	5,8	0,4					

\* Eluat : Fraction obtenue par passage de l'extrait éthanolique sur échangeur de cations, puis élution à l'ammoniaque.

La radioactivité des résidus d'extraction du sang par l'éthanol (tabl. 6) n'est supérieure à celle de la fraction soluble qu'après les premières 24 h de l'expérience. Le marquage de la cystine est du même ordre de grandeur que celui de la méthionine dans 4 des 6 échantillons étudiés.

TABLEAU 6

Radioactivité des acides aminés soufrés de quelques résidus d'extraction éthanolique du sang  
(DPM  $\times 10^3$ /g de sang)

	Temps après l'injection	Cystine	Méthionine	Radioactivité totale du résidu p. 100 de celle du sang
Chèvre n° 42	18 h	8,7	7,9	28,5
	24 h	12,8	12,4	46,6
Chèvre n° 47	17 h 54	20,4	12,2	47,6
	24 h 30	12,2	19,9	47,5
	36 h	21,3	25,3	72,7
	48 h 20	23,0	23,6	72,5

## Discussion.

### *Méthodes.*

Bien que toutes les mesures prévues n'aient été réalisées en totalité que sur une seule chèvre, il semble que les conclusions relatives à l'animal n° 47 puissent être étendues à l'animal n° 42 en ce qui concerne l'étude des contenus digestifs pendant les 12 premières heures de l'expérience. En effet, les résultats relatifs au plasma, au sang total, ainsi que ceux relatifs aux digesta prélevés à partir de la 12<sup>e</sup> heure sont très semblables pour les deux animaux.

Les résultats concernant les concentrations en polyéthylène glycol des contenus de caillette ne sont utilisables que pour comparer les transits respectifs du marqueur et de la radioactivité se trouvant dans la phase liquide des digesta ou à la rigueur dans la fraction soluble de ces derniers dans l'ATC à 10 p. 100.

La faible diminution de la radioactivité totale observée après passage des extraits sur échangeurs d'anions provient vraisemblablement du fait que certains composés ont été retenus sur la résine, et sont donc anioniques. Par ailleurs, la diminution de la radioactivité des extraits lors de l'hydrolyse provient vraisemblablement de la perte de substances volatiles (acide sulfhydrique, mercaptans, disulfures) (tabl. 4).

### *Résultats.*

#### *Contenus digestifs.*

Pendant les 4 premières heures de l'expérience, la plus grande partie de la radioactivité qui arrive dans l'intestin se trouve dans la fraction acido-soluble des contenus de caillette sous forme de méthionine libre (tabl. 4). A partir de la 6<sup>e</sup> heure, c'est le résidu d'extraction qui est le plus marqué ; le marquage de la méthionine y est beaucoup plus important que celui de la cystine. Une partie de la méthionine injectée dans le rumen quitterait donc cet organe sans avoir subi de modifications, pendant les premières heures de l'expérience. Une autre partie serait utilisée telle quelle ou après métabolisation par les microbes pour la synthèse de leurs propres protéines qui passent dans la caillette. Le faible marquage de la cystine des résidus d'extraction peut être dû à une certaine prépondérance de l'incorporation directe de la méthionine par rapport à celle de la cystéine/cystine. La présence de radioactivité dans la fraction acido-soluble des digesta observée après la 12<sup>e</sup> heure doit être en partie due à l'autolyse microbienne, puisque la part du marquage contenue dans cette fraction ne diminue pas et reste voisine de 20 p. 100.

La rapide diminution pendant le premier jour du rapport de la radioactivité de la fraction soluble dans l'ATC à la teneur en PEG traduit l'existence d'une absorption notable de radioactivité avant la caillette. La légère augmentation de ce même rapport observé par la suite permet de supposer que du  $^{35}\text{S}$  est apporté au niveau de la caillette par les sécrétions digestives.

#### *Sang.*

La radioactivité des extraits éthanoliques du sang est due principalement à des substances autres que des acides aminés ; elle semble être principalement due à la

présence de petites molécules soufrées provenant du catabolisme de la méthionine dans le rumen et ayant franchi la paroi de ce dernier pour passer dans le sang. Le passage de  $^{35}\text{S}$  méthionine du rumen dans le sang serait très faible.

Le faible marquage de la fraction correspondant aux acides aminés soufrés circulant sous forme libre, observé dans tous les échantillons prélevés pendant les quatre jours de l'expérience, peut s'expliquer par le fait que les composés provenant du tube digestif sont incorporés rapidement dans les protéines.

Le marquage de la cystine est voisin de celui de la méthionine dans les protéines sanguines contrairement à ce qui a été observé dans les digesta ; ce résultat permet de supposer qu'une quantité importante de méthionine absorbée par l'intestin est transformée en cystine par transsulfuration dans les tissus de l'animal.

#### *Essai de bilan.*

Afin d'estimer les quantités de radioactivité qui transitent par la caillette, nous avons déterminé par la méthode des trapèzes les surfaces des courbes représentatives des fonctions reliant les concentrations en radioactivité (ou en PEG) des différentes fractions des digesta, et le temps écoulé depuis les injections. Sur l'ensemble de l'expérience, 30 p. 100 de la radioactivité est extractible par l'ATC ; le 1/10 de celle-ci est contenu dans des composés qui disparaissent lors de l'hydrolyse et le 1/5 dans des composés fortement anioniques éliminés au cours du passage de l'extrait sur résine échangeuse d'ions. La méthionine de l'extrait représente 19 p. 100 de la radioactivité totale qui transite. La radioactivité du résidu correspond à 70 p. 100 de ce qui vient du rumen ; les acides aminés soufrés marqués qui ont transité par la caillette durant les 4 jours de l'expérience correspondent à 90 p. 100 environ de la radioactivité totale de l'ensemble des digesta.

La comparaison des surfaces des courbes obtenues avec le PEG et la radioactivité en tenant compte des quantités introduites dans le rumen permet d'estimer à 50 p. 100 environ le pourcentage de la radioactivité injectée qui passe par la caillette pendant les 4 premières journées de l'expérience : 10 p. 100 environ de la méthionine injectée quitterait le rumen sans avoir été dégradée et 35 p. 100 du soufre de ce composé serait incorporé sous forme d'acides aminés soufrés des protéines microbiennes. La quantité de radioactivité liée à la méthionine est 10 fois supérieure à celle qui est liée à la cystine, ce qui est en accord avec les conclusions de Landis (1963) formulées à la suite d'une expérience sur chèvres laitières.

Nous avons tenté de calculer le pourcentage de radioactivité absorbée à partir du rumen pendant les 2 premières heures de l'expérience, en admettant que le plasma représente environ 7 p. 100 du poids vif des chèvres (donc 2,4 kg pour une chèvre de 35 kg), que la quantité totale de liquide extracellulaire (Bray, 1969) en représente 27 p. 100 (et donc 9,5 kg), et que la quantité de  $^{35}\text{S}$  qui a transité dans l'intestin est trop faible pour aboutir à une notable absorption intestinale et que l'excrétion urinaire n'a pas encore été trop importante.

La radioactivité totale du plasma serait de  $0,13 \times 10^9$  DPM et par conséquent celle du liquide extracellulaire de  $0,50 \times 10^9$  DPM. En admettant qu'il y ait une répartition immédiate entre plasma et liquide extracellulaire, la quantité injectée étant de  $4,66 \times 10^9$  DPM, 2,8 p. 100 de la radioactivité injectée se trouverait dans le plasma et 11 p. 100 dans le liquide extracellulaire 2 h après l'injection.

## Conclusion.

Une proportion notable du <sup>35</sup>S introduit dans le rumen sous forme de méthionine quitte ce dernier sous forme de méthionine libre pendant les premières heures de l'expérience, puis sous forme d'acides aminés soufrés incorporés aux protéines microbiennes, et passe dans l'intestin. C'est surtout sous forme de méthionine que le <sup>35</sup>S est retrouvé dans les matières azotées des digesta. Une quantité importante de métabolites de la méthionine passe directement du rumen dans le sang avant d'être en partie éliminée dans l'urine. Il semble, d'après les résultats de cette expérience, qu'un peu moins de la moitié de la quantité de méthionine industrielle ajoutée à la ration puisse être utilisée dans l'intestin, le reste étant catabolisé dans le rumen.

Accepté en août 1976.

*Remerciements.* — Nous remercions la Société de Chimie Organique et Biologique (A.E.C.) dont l'aide financière a permis la réalisation de cette expérience.

## Références

- ALLISON M. J., 1969. Biosynthesis of amino acids by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.*, **29**, 797-807.
- BRAY A. C., 1969. Sulfur metabolism in sheep. III The movement of blood inorganic sulfate across the rumen wall of sheep. *Aust. J. agric. Res.*, **20**, 745-758.
- CHALUPA W., 1975. Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.*, **58**, 1198-1218.
- CHAMPREDON C., PION R., BASSON W. J., 1976. Etude comparée de l'utilisation digestive de la méthionine, de son analogue hydroxylé et du sulfate de sodium chez la chèvre à l'aide de composés <sup>35</sup>S. *C. R. Acad. Sc. Paris*, **282**, 743-746.
- CHAMPREDON C., PION R., VERITE R., 1974. Influence de quelques facteurs alimentaires sur l'acidoaminémie libre de vaches laitières recevant des rations à base d'ensilage de maïs. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **14**, 813-819.
- HYDEN S., 1955. A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycols in biological materials. *Ann. Roy. Agr. Coll. Sweden*, **22**, 139-145.
- LANDIS J., 1963. Untersuchungen über den Schwefelstoffwechsel des Wiederkäuers. I Mitteilung. *Z. Tierphysiol. Tierenähr. Futtermittelkde.*, **18**, 357-370.
- PION R., FAUCONNEAU G., 1966. Les acides aminés des protéines alimentaires. Méthodes de dosage et résultats obtenus. In *Amino acides, peptides, protéines*. Cahier n° 6, 159-175. A. E. C. Société de Chimie organique et biologique, Paris.
- PION R., FAUCONNEAU G., RERAT A., 1964. Variation de la composition en acides aminés du sang porte au cours de la digestion chez le porc. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **4**, 383-401.
- SPIRES H. R., CLARK J. H., DERRIG R. G., DAVIS C. L., 1975. Milk production and nitrogen utilisation in response to post-ruminal infusion of sodium caseinate in lactating cows. *J. Nutr.*, **105**, 1111-1121.
- VIRTANEN A. I., 1966. Milk production of cows on protein-free feed. *Science*, **153**, 1603-1614.
- WHANGER P. D., 1972. Sulfur in ruminant nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.*, **15**, 225-255.
- WILLIAMS A. P., SMITH R. H., 1974. Concentrations of amino acids and urea in the plasma of the ruminating calf and estimation of the amino acid requirements. *Br. J. Nutr.*, **32**, 421-433.