

Colostrum de vache : composition minérale et activité de la phosphatase alcaline

par G. LINDEN, B. MARAVAL *

Laboratoire de Biochimie Appliquée. Université de Nancy I, Case officielle n° 140, 54037 Nancy Cedex.

* Laboratoire de Zootechnie-E. N. S. A. I. A., 38, rue Ste Catherine, 54000 Nancy.

Summary. *Cow colostrum. Mineral composition and alkaline phosphatase activity.*

The correlation pattern between the quantities of alkaline phosphatase and those of zinc, calcium, magnesium and phosphorus released in the milk during the colostrum-producing period was always positive and the coefficients often high. These results suggested a very close localization of the alkaline phosphatase and the bivalent ions and indicated a possible participation of the enzyme in the transport of those substances.

Introduction.

Les teneurs en éléments minéraux du lait de vache ont fait l'objet d'innombrables travaux. L'étude des variations de la composition minérale du lait en fonction du stade de lactation a permis de montrer qu'en règle générale, le colostrum de vache est plus riche en éléments minéraux que le lait normal (Guéguen, 1971 ; Maraval et Vignon, 1977).

La phosphatase alcaline du lait sous sa fraction dominante est un dimère de 170 000 daltons qui comprend 4 atomes-g de zinc par mole de protéine et qui requiert deux types de métaux pour une activité maximale : le zinc qui est essentiel et le magnésium qui est activateur. D'autres cations bivalents peuvent également stimuler son activité (Linden et Alais, 1976 ; Linden *et al.*, 1977).

Nous avons examiné en parallèle dans le colostrum les variations des teneurs en calcium, magnésium, sodium, potassium, phosphore, zinc et en phosphatase alcaline.

Matériel et méthodes.

Les mesures ont été effectuées sur les laits de 14 animaux. 6 vaches sont de race Française Frisonne Pie Noire (FFPN) et 8 vaches sont issues du croisement FFPN-Holstein.

Pendant la période expérimentale, les vaches ont reçu des aliments concentrés : 6 vaches ont reçu une ration composée en moyenne de 8,7 kg de matière sèche d'ensilage de maïs et 3,9 kg de matière sèche pâturée ; les 8 autres animaux ont eu un

régime composé uniquement de 12,6 kg de matière sèche d'ensilage de maïs. Un échantillon de chacune des 8 premières traites de chaque animal a été prélevé et analysé. Les colostrums ont été additionnés, après prélèvement, de 2 gouttes de toluène puis congelés. Les 8 traites d'une vache ont été analysées le même jour.

La mesure de l'activité phosphatasique a été effectuée par la méthode d'Aschafenburg et Mullen (1948) modifiée. L'activité phosphatasique est exprimée en quantité de p-nitrophénol libéré à 37 °C par minute et par kilogramme de lait. La répétabilité de la méthode est bonne, car, en dosant dix-huit fois de suite l'activité du même lait, on obtient : $513 \pm 5,9 \mu\text{moles} \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Les dosages du calcium et magnésium ont été effectués par spectrométrie d'absorption atomique et ceux du sodium et potassium par spectrométrie d'émission de flamme selon les protocoles décrits précédemment (Linden *et al.*, 1970). La détermination de la teneur en zinc a également été effectuée par spectrométrie d'absorption atomique selon la méthode décrite par Bellanger et Lamand (1975). Le dosage du phosphore a été réalisé selon la technique de Bamman *et al.* (1948).

Sur les résultats des différentes analyses, nous avons calculé les moyennes et écarts-types. Les comparaisons de moyennes ont été effectuées par l'analyse de variance de Fisher et par le test de Duncan. Nous avons également calculé les coefficients de corrélation entre les quantités de phosphatase alcaline et les quantités d'éléments minéraux excrétés dans le lait.

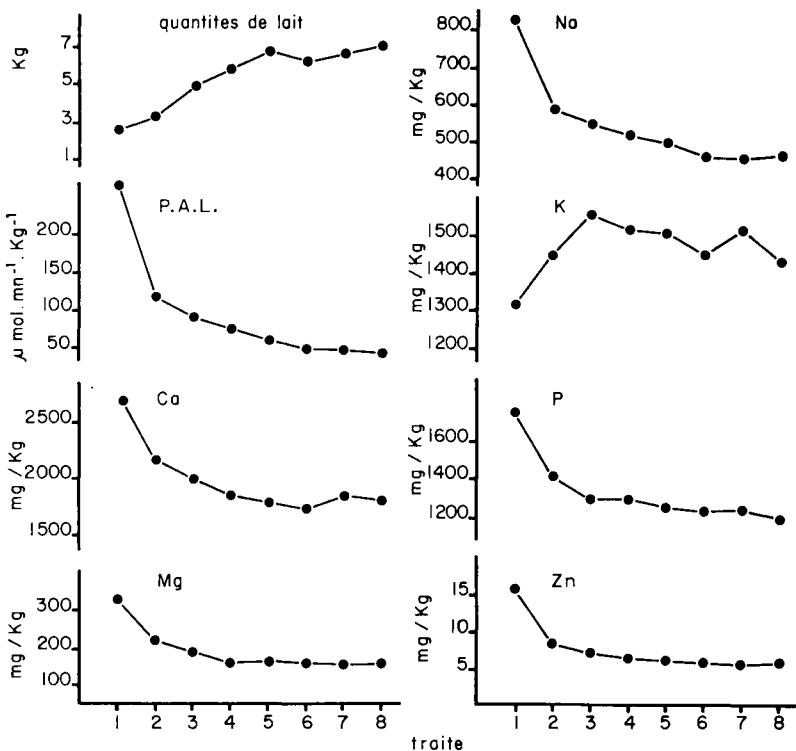


FIG. 1. — Evolution des quantités de lait produites, des teneurs en phosphatase alcaline (P. A. L.) et des teneurs en Ca, Mg, Na, K, P et Zn au cours des huit premières traites.

Résultats.

Pour l'ensemble des animaux, les différences entre les quantités de lait produites au cours des 8 premières traites qui suivent la mise bas sont hautement significatives. Les quantités de lait produites augmentent rapidement entre la 1^{re} traite (2,54 kg) et la 3^e traite (5,07 kg) puis plus lentement ensuite (7,00 kg à la 8^e traite) (fig. 1).

Au cours de cette phase colostrale, l'effet du numéro de traite est toujours hautement significatif pour les teneurs en phosphatase alcaline, zinc, calcium, magnésium, sodium et phosphore. Les teneurs en ces différents éléments minéraux diminuent de façon importante entre la 1^{re} traite (Zn : 15 mg/kg, Ca : 2 571 mg/kg, Mg : 317 mg/kg, Na : 833 mg/kg, P : 1 752 mg/kg) et la 2^e traite (Zn : 9 mg/kg, Ca : 2 089 mg/kg, Mg : 209 mg/kg, Na : 591 mg/kg, P : 1 409 mg/kg). La diminution est plus lente ensuite jusqu'à la 5^e traite (Zn : 6 mg/kg, Ca : 1 806 mg/kg, Mg 151 mg/kg, Na : 508 mg/kg, P : 1 241 mg/kg (fig. 1).

La teneur en phosphatase alcaline suit la même évolution ; elle est élevée dans le lait de la première traite ($267 \mu\text{mol} \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) ; elle diminue de façon importante à la 2^e traite ($116 \mu\text{mol} \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$) puis plus lentement jusqu'en fin d'expérimentation ($41 \mu\text{mol} \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ à la 8^e traite) (fig. 1).

L'influence du numéro de traite sur les teneurs en potassium n'est pas significative. Toutefois, cette teneur augmente assez nettement entre la 1^{re} traite (1 321 mg/

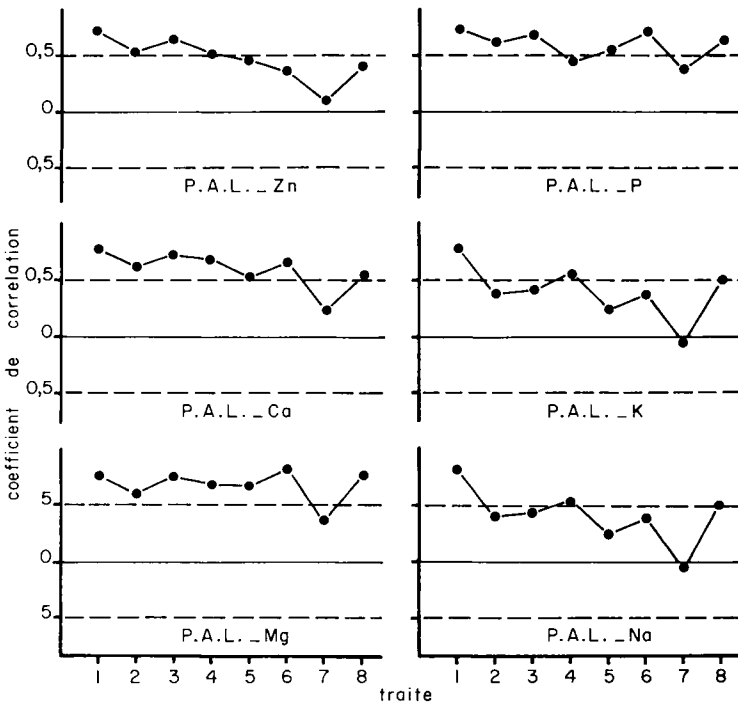


FIG. 2. — Evolution des coefficients de corrélation entre les quantités de phosphatase alcaline et les quantités de minéraux transportés dans le lait.

kg) et la 3^e traite (1 565 mg/kg). Elle se maintient ensuite entre 1 430 et 1 520 mg/kg (fig. 1).

Par ailleurs, le test statistique de Fisher permet de montrer que ces résultats ne sont liés ni à la race, ni au régime alimentaire des animaux.

L'étude de l'évolution des coefficients de corrélation permet de mesurer l'importance des liaisons entre les quantités de phosphatase alcaline et les quantités d'éléments minéraux excrétés dans le lait (fig. 2). Entre les quantités de phosphatase alcaline et les quantités de potassium et sodium les liaisons sont faibles et variables. Par contre, entre les quantités de phosphatase alcaline et les quantités de zinc, de calcium, de magnésium et de phosphore les relations sont toujours positives et les coefficients de corrélation sont souvent élevés.

Discussion.

La sécrétion lactée étant de type apocrine, ces résultats permettent de suggérer une localisation très voisine de la phosphatase alcaline et des ions Ca, Mg, Zn... Rappelons que le modèle de la structure physique de la membrane du globule gras rapporté par Peereboom (1970) comprend une couche externe de particules lipoprotéiques liée à la face interne de la membrane par des ions bivalents tels que Ca^{2+} , Mg^{2+} ...

De plus, ces résultats permettent d'envisager une participation de la phosphatase alcaline du lait au transport, et peut-être d'une façon plus générale, au métabolisme de ces ions bivalents.

Dans un précédent travail (Linden *et al.*, 1977), nous avons déterminé que la constante de dissociation du complexe enzyme- Mg^{2+} est de 30 μM à pH 8,5 et que la constante de dissociation de Zn^{2+} du site Mg^{2+} est de 0,3 μM à pH 8,5, 25 °C. Comme on le constate, le rapport de ces deux constantes d'affinité joue dans le même sens que celui des concentrations de ces ions dans le lait.

En outre, des recherches antérieures ont montré que l'enzyme du lait n'est sans doute pas impliqué dans des processus nécessitant la manifestation d'une activité monophosphoestérasique ou phosphoprotéine phosphatasique (Lorient et Linden, 1976). Seule, l'hypothèse d'une participation de l'enzyme au transport de différentes substances telles que certains ions minéraux, paraît pour l'heure, vraisemblable. Ajoutons que les travaux d'histochimie de Girardie (1967) montrent précisément que le rôle de la phosphatase alcaline du lait dans la synthèse mammaire ne semble concerner que le transport de substances du milieu extérieur à travers les membranes.

Les phosphatases alcalines de mammifères connues sont incorporées à des membranes au travers desquelles ont lieu d'importants échanges de métabolites. Il paraît donc vraisemblable de leur attribuer un rôle effectif dans le transport des ions métalliques ou du phosphore.

Reçu en juin 1978.

Accepté en septembre 1978.

Références

- ASCHAFFENBURG R., MULLEN J. E. C., 1948. A rapid and simple phosphatase test for milk. *J. Dairy Res.*, **16**, 58-67.
- BAMMAN E., NOVOTNY E., ROHR L., 1948. Zur colorimetrischer Bestimmung der Phosphosaure. *Chem. Ber.*, **81**, 438-449.
- BELLANGER J., LAMAND M., 1975. Méthode de dosage du cuivre et du zinc plasmatique. *Bull. CRZV Theix-INRA*, n° 20.
- GIRARDIE J., 1967. Localisation optique et ultrastructurale de l'activité phosphatasique alcaline sans l'épithélium mammaire. *C. R. Acad. Sci. Paris, Série D*, **264**, 2064-2067.
- GUÉGUEN L., 1971. La composition minérale du lait et son adaptation aux besoins minéraux du jeune. *Ann. Nutr. Alim.*, **25**, A335-A381.
- LINDEN G., GOHIER B., ALAIS C., TARODO de la FUENTE B., 1970. Essais de dessalification des produits laitiers par électrodialyse. *Lait*, **50**, 511-523.
- LINDEN G., ALAIS C., 1976. Phosphatase alcaline du lait de vache. II. Structure sous-unitaire, nature métalloprotéique et paramètres cinétiques. *Biochim. Biophys. Acta*, **429**, 205-213.
- LINDEN G., CHAPPELET-TORDO D., LAZDUNSKI M., 1977. Milk alkaline phosphatase : stimulation by Mg^{2+} and properties of the Mg^{2+} site. *Biochim. biophys. Acta*, **483**, 100-106.
- LORIENT D., LINDEN G., 1976. Dephosphorylation of bovine casein by milk alkaline phosphatase. *J. Dairy Res.*, **43**, 19-26.
- MARAYAL B., VIGNON B., 1977. Evolution de la composition minérale du lait de vache pendant la phase ascendante de la lactation. Différences entre les animaux primipares et les autres. *Bull. E. N. S. A. I. A. Nancy*, **19**, 29-36.
- PEEREBOOM J. W. C., 1970. Studies on Alkaline Milk phosphatase III : A theory for the mechanism of reactivation of alkaline milk phosphatase in a model system. *Fette Seifen Anstrichm.* **72**, 299-308.
-