



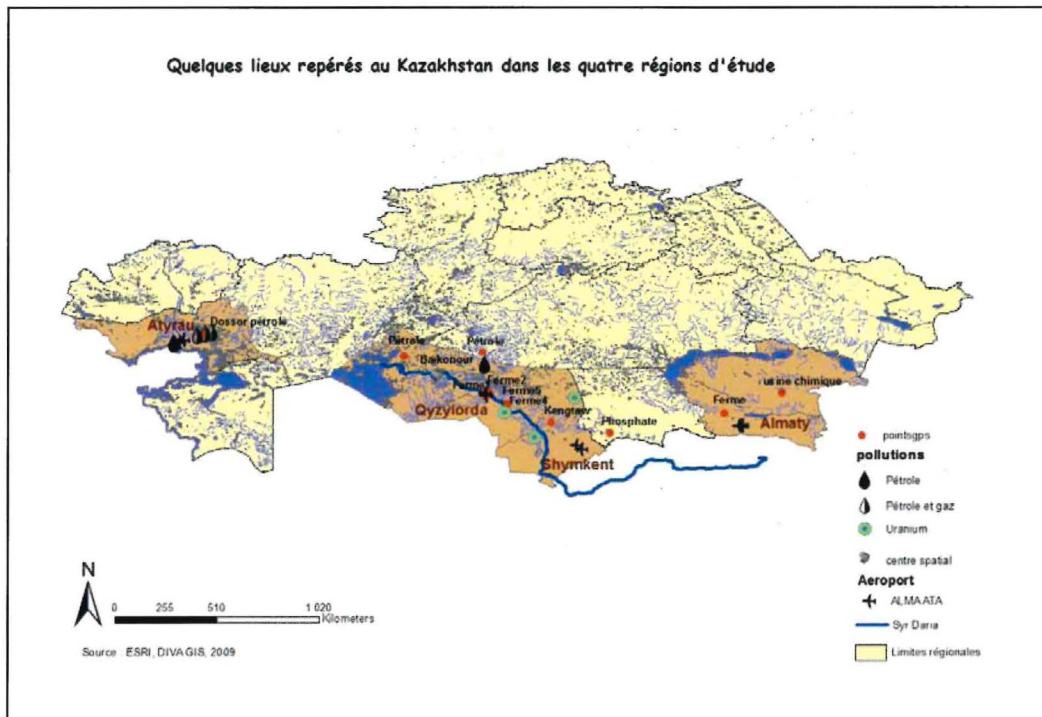
Ministère des Affaires Etrangères
Service de Coopération et d'Action Culturelle
173 rue Fourmanova - 050000 Almaty
Kazakhstan

MISSION ECONET 2009

Qualité du lait et métaux lourds

Mission au Kazakhstan du 2 au 11 juin 2009

Bernard FAYE



Juin 2009



CIRAD-ES
Département ENVIRONNEMENTS
et SOCIETES du CIRAD
Campus International de Baillarguet
TA C-DIR / 02
34398 Montpellier Cedex 5
FRANCE

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

CIRAD-ES 2009

Tous droits de traduction, de reproduction par tous procédés,
de diffusion et de cession réservés pour tous pays

AUTEUR : Dr Bernard FAYE

ACCÈS au DOCUMENT :
Service Documentation du CIRAD

ORGANISME AUTEUR : CIRAD

ACCÈS à la RÉFÉRENCE du DOCUMENT :
Libre

ETUDE FINANCIÉE PAR :
Ministère des Affaires Etrangères-
Programme ECONET

REFERENCE :

AU PROFIT DE : SCAC Almaty - Kazakhstan

TITRE : Mission ECONET 2009 – Qualité du lait et métaux lourds

TYPE D'APPROCHE DATE et LIEU de PUBLICATION :
Rapport de mission – juin 2009 – Montpellier (France)

PAYS ou RÉGIONS CONCERNÉS : KAZAKHSTAN

MOTS-CLEFS : Kazakhstan, pollution, lait de chameau, métaux lourds, contamination

RÉSUMÉ :

Cette mission, réalisée sur financement ECONET, visait :

- (i) à poursuivre la valorisation des données acquises précédemment (3 articles ont été soumis à publication pendant mon séjour (à *Tropical animal health and Production*, et *Dairy Science and technology*),
- (ii) à discuter des protocoles d'observation à mettre en place pour les systèmes d'information géographique (stage de Maela LE GUILLOU) et les échantillonnages de sol, de plante et de lait pour le dosage des métaux lourds (thèse de Shynar AKHMETSAKOVA),
- (iii) à préparer les divers stages qui doivent avoir lieu en France pour le dosage des métaux lourds et les interactions avec la microbiologie du lait,
- (iv) à discuter de la poursuite de la coopération (projet TEMPUS, projet de bourse post-doc Marie-Curie, mission de G. LOISEAU sur les standards de lait de chameau, participation à des opérations d'enseignement à l'Université). L'Asie Centrale ne fait pas partie des priorités géo-partenariales du CIRAD, mais les enjeux scientifiques sont loin d'être inintéressants, vue la sévérité des risques environnementaux en lien avec les productions animales.

SOMMAIRE

Résumé.....	1
Remerciements	3
1 - Introduction	5
2 - Actions menées dans le cadre d'ECONET	5
2-1. Avancées de la thèse de Shynar AKHMETSAZYKOVA	5
2-2. Stage de Maela LE GUILLOU	5
2-3. Stage d'Akbayan SERIKKYZY	6
2-4. Visite de L. MALAKHOVA	6
3 - Valorisation des données	7
4 - Dépôt du projet TEMPUS	7
5 - Bourse Marie-Curie	7
6 - Stage en France	8
7 - Mission de G. LOISEAU	8
8 - Conclusion	9

ANNEXES

ANNEXE 1 - Calendrier et personnalités rencontrées	13
ANNEXE 2 - Poster devant être présenté aux 3R (après traduction en français)	17
ANNEXE 3 - Article soumis dans « <i>Environmental Pollution & Toxicology Journal</i> » (Bentham open)	21

RESUME

Cette mission, réalisée sur financement ECONET, visait :

- (v) à poursuivre la valorisation des données acquises précédemment (3 articles ont été soumis à publication pendant mon séjour (à *Tropical animal health and Production*, et *Dairy Science and technology*),
- (vi) à discuter des protocoles d'observation à mettre en place pour les systèmes d'information géographique (stage de Maela LE GUILLOU) et les échantillonnages de sol, de plante et de lait pour le dosage des métaux lourds (thèse de Shynar AKHMETSAKOVA,
- (vii) à préparer les divers stages qui doivent avoir lieu en France pour le dosage des métaux lourds et les interactions avec la microbiologie du lait,
- (viii) à discuter de la poursuite de la coopération (projet TEMPUS, projet de bourse post-doc Marie-Curie, mission de G. LOISEAU sur les standards de lait de chameau, participation à des opérations d'enseignement à l'Université). L'Asie Centrale ne fait pas partie des priorités géo-partenariales du CIRAD, mais les enjeux scientifiques sont loin d'être inintéressants, vue la sévérité des risques environnementaux en lien avec les productions animales.

REMERCIEMENTS

Le soutien de l'Ambassade de France ainsi que celui des partenaires de l'Université Al-Farabi est à souligner dans un contexte de restrictions budgétaires draconiennes.

Considérée comme une coopération exemplaire par les partenaires à bien des égards, elle est régulièrement l'objet d'un appui médiatique national comme cela a encore été le cas au cours de cette mission (présentation à une émission télévisée d'audience nationale)

I - INTRODUCTION

Cette mission est la seule qui sera possible cette année sur le budget du programme ECONET compte-tenu des coupes budgétaires drastiques que ce programme a connu en 2009, puisque les crédits (9000 €) représentent moins de la moitié de ce qui était espéré (18500 €). Ceci est d'autant plus dommageable que seule une coopération régionale était éligible (ce qui a conduit à intégrer l'Université de Sébastopol dans notre projet), coopération quasiment impossible à mettre en œuvre dans la limite d'un tel budget.

On se reportera, pour le contexte global de la coopération en cours, au rapport précédent (B. FAYE, 2009, *Programme de coopération Franco-Kazakh 2009 sur la qualité du lait dans les filières non conventionnelles*. Mission au Kazakhstan du 26 février au 6 mars 2009, CIRAD, Montpellier, 37 p.). On se limitera dans le présent document, aux actions en cours et aux perspectives à court et moyen terme.

2 - ACTIONS MENEES DANS LE CADRE D'ECONET

Le programme de coopération supporté par le budget ECONET est relatif à l'analyse de l'impact de la pollution sur la qualité du lait de chèvre. Il est fondamentalement basé sur la réalisation d'une thèse d'Université (en cotutelle entre Al-Farabi et Montpellier/supagro). Les autres actions en cours ou à prévoir en 2009 sont listées ci-dessous.

2.1. Avancée de la thèse de Shynar AKHMETSAKOVA

Cette thèse est supportée par plusieurs sources de financement. La bourse est assurée par le Service de Coopération de l'Ambassade de France à Almaty, le fonctionnement au Kazakhstan par un projet du Ministère de l'Agriculture du Kazakhstan, et le fonctionnement en France, par une subvention de l'Association GALA, structure supportant des projets consacrés au lait.

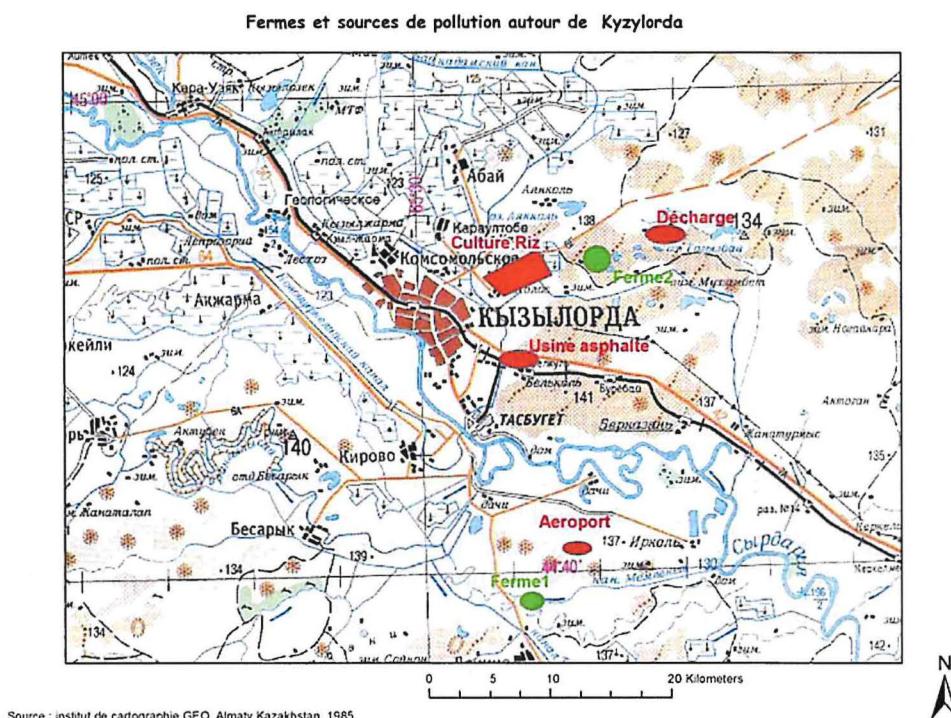
Mlle AKHMETSAKOVA a passé 3 mois en France (mars-avril-mai) et venait de rentrer au Kazakhstan lors de mon passage. Pendant son séjour en France, elle a réalisé un certain nombre d'analyses de lait à la faculté de Pharmacie de Montpellier (Pr. M. LARROQUE) sur les métaux lourds ainsi que d'autres analyses physico-chimiques du lait au laboratoire de G. LOISEAU. Elle a également consacré une part importante de son temps à l'analyse bibliographique et à la préparation des premiers tableaux de données.

A son retour dans son pays, elle est chargée de poursuivre les échantillonnages des fermes laitières et du lait dans des zones potentiellement polluées. En résumé donc, la thèse poursuit son cours normal et un premier déplacement est prévu à Chimkent en juin. D'autres analyses physico-chimiques seront réalisées à l'Université Al-Farabi et au laboratoire ANTIGEN qui dispose désormais d'un laboratoire d'analyse alimentaire grâce aux projets du ministère de l'agriculture du Kazakhstan. Il est prévu qu'elle revienne à Montpellier à partir du mois d'octobre prochain pour poursuivre les analyses.

2.2. Stage de Maela LE GUILLOU

Ce stage de master (seconde année du master EPSED de Supagro/Montpellier auquel participe le CIRAD) s'inscrit dans la problématique de la thèse et vise à établir le contexte d'échantillonnage des fermes et des produits (lait, eau, fourrages, sols) dans les zones à proximité des sources de pollution.

Pour ce faire, il est demandé dans le cadre du stage d'établir une carte précise des sources de contamination, des points de prélèvements et des paramètres topographiques pouvant influer sur les risques de contamination (orientation des vents, reliefs, pentes, cours d'eau, types de sols, etc...). Un système d'information géographique est utilisé (Arc-View) pour mettre en place une cartographie spécifique au questionnement (cf. carte). Le stage dure 5 mois et fera l'objet d'un rapport qui sera disponible en septembre prochain. Au cours de la mission, les informations nécessaires ont été reprécisées et la recherche de cartes thématiques est en cours. A noter que le financement de ce stage n'a pas pu être assuré par le programme ECONET comme initialement prévu. Par chance, la subvention de l'Ambassade a permis de le maintenir malgré tout.



Carte 1. Positionnement des sources de pollution autour de la ville de Kizyl-Orda

2.3. Stage d'Akbayan SERIKKYZY

Akbayan SERIKKYZY, étudiante en master à Al-Farabi, est programmée dans le cadre du programme ECONET pour venir en France. Initialement prévue pour un mois, ce qui aurait été le plus opérationnel, la durée de ce stage sera de 15 jours compte tenu des restrictions budgétaires. L'efficacité d'un tel stage sera donc fortement limitée par le temps. Il aura lieu en septembre 2009 et sera consacré au séquençage des protéines du lait de chameau en complément d'analyses déjà réalisées à Al-Farabi. Il ne sera pas possible, malheureusement d'analyser les souches de bactéries lactiques comme on l'espérait.

2.4. Visite de L. MALAKHOVA

Le programme ECONET se devait d'être régional. Nous avons inclus dans le projet Mme Ludmila MALAKHOVA, chercheur à l'Institut de Biologie de Sébastopol (Académie des sciences des mers du Sud en Ukraine). Celle-ci avait participé à la conférence internationale organisée à Almaty en septembre 2007 (sur financement OTAN) et consacrée à l'impact de la pollution sur les produits animaux.

Mme MALAKHOVA est spécialiste du dosage des pesticides. Cette première visite scientifique a pour objectif de prendre contact d'une part avec les laboratoires d'analyses sur Montpellier et Nancy, d'autre part avec les structures de production (mytiliculture, élevages laitiers) sur la région MontPELLIÉRaine. Là aussi la faiblesse des crédits ne permettra pas d'aller beaucoup plus loin. Il était notamment prévu un échange Kazakhstan –Ukraine que j'ai du annuler.

3. VALORISATION DES DONNEES

Il est prévu de valoriser les données préliminaires disponibles sous forme d'un poster à la prochaine conférence internationale francophone « Rencontre recherches Ruminants (3R) à Paris au mois de décembre 2009 : AKHMETSDYKOVA Sh., LOISEAU G., FAYE B., KONUSPAYEVA G. : "Interaction du plomb et du cadmium avec les bactéries lactiques du lait de chameau et shubat (lait fermenté)". Par ailleurs, un article a été soumis à la revue ***Environmental Pollution & Toxicology Journal*** : KONUSPAYEVA G., FAYE B., LOISEAU G., DIACONO E., AKHMETSDYKOVA S. « *Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan*. Cet article est placé en annexe.

Concernant la valorisation de données antérieures, en 2009, un nouvel article vient d'être publié dans une revue internationale à fort facteur d'impact. Il s'agit de "KONUSPAYEVA G., FAYE B., LOISEAU G., 2008. *The composition of camel milk : A meta-analysis of the literature data*. J. Food COMPOS. Anal., 22, 95-101".

Par ailleurs, un article a été également présenté au cours de la seconde conférence de l'ISOCARD à Djerba en mars 2009: « KONUSPAYEVA G., FAYE B., LOISEAU G., 2009. *Variation of vitamin C content in camel milk in Kazakhstan*. Proc. of the 2nd conference of ISOCARD, Djerba (Tunisia), 12-14 march 2009, abstr. 60, p.48 ». Cet article sera présenté dans *Journal of Camelid Sciences*.

Un autre article a été soumis à la revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire du CIRAD, mais devant le retard de réponse, il est prévu de traduire l'article en anglais pour le soumettre à une revue anglophone (*Tropical Animal Health and Production*).

Enfin, un dernier article sur la teneur en urée dans le lait de chameau et sa variabilité a été rédigé également et soumis à *Dairy Sciences and technologie*. Cet article donne des références sur l'azote non protéique dans le lait de dromadaires et de chameau de Bactriane, données quasi-inexistantes dans la littérature consacrée aux camélidés.

4. DEPOT DU PROJET TEMPUS

Le projet TEMPUS intitulé « ***Modernization and adaptation of master programs to the requests of agro-food sector in Central Asia (AMPLI)*** » a été déposé le 28 avril dernier en partenariat avec Supagro, la Faculté vétérinaire de Las palmas (Espagne), et l'Université de Milan comme partenaires européens. Les partenaires d'Asie Centrale sont : l'Université agraire d'Almaty, l'Université technologique, l'Université Al-Farabi, les Universités agraires de Kostanaï et d'Ouralsk pour le Kazakhstan, ainsi que les Universités agraires des pays voisins comme partenaires associés (Kirghizstan, Tadjikistan).

Ce projet vise à renforcer les compétences en matière de gestion de la qualité en transformation fermière, en laboratoire et en épidémiologie vétérinaire. Il s'agit de monter des modules dans le cadre de masters « qualité » actuellement existant dans au moins 5 universités du pays et ce, en relation avec les universités agraires des pays voisins chez lesquels les mêmes problèmes de qualité et de contraintes environnementales se posent.

Les réponses au projet seront obtenues à l'automne prochain. C'est la cinquième fois qu'un projet TEMPUS est déposé mais jusqu'ici malheureusement sans succès.

5. BOURSE MARIE CURIE

Le projet de bourse post-doc Marie-Curie « ***Bio-activity of Camel Milk Lactoferrin and polypeptides resulting from traditional milk fermentation process*** », non retenu l'an dernier malgré de bonnes notes scientifiques, sera redéposé cette année avec notamment comme nouveauté, l'appui de l'Université de Montpellier (S. MARCHESEAU) Les objectifs de cette bourse post-doc destinée à G. KONUSPAYEVA sont les suivants :

- (i) purifier et extraire la lactoferrine du lait de chameau
- (ii) évaluer l'activité antibactérienne vis-à-vis de germes pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires,
- (iii) évaluer les propriétés immunostimulantes spécifiques de la lactoferrine cameline,
- (iv) tester les activités immunsuppressives, voire cytotoxiques de cette molécule,
- (v) caractériser la lactoferrine purifiée et déterminer les interactions avec le fer sous différents environnements,
- (vi) tester la bio-activité dans un système complexe (lait de vache, produit cosmétique) afin de produire un ingrédient de haute valeur ajoutée pour les produits biologiques.

La date limite pour le dépôt de ce projet est le **18 août 2009**.

6. STAGES EN FRANCE

Dans le cadre du projet “ ***Development and creation of new dietetic fermented - milk drinks on the basis of camel milk*** ” proposé et accepté par le Ministère de l’Agriculture du Kazakhstan, une convention a été signée avec le CIRAD pour réaliser deux stages de courte durée pour A. BAUBEKOVA et G. KONUSPAYEVA, deux Professeurs de l’Université Al-Farabi. Ces stages doivent se tenir en juin 2009 pour 3 semaines au laboratoire de G. LOISEAU. Il s’agira dans le cadre de ce stage de mettre en œuvre une série d’analyses du lait de chameau tant sur le plan microbiologique que sur le plan de la composition minérale, notamment sur des « couples lait-shubat » afin de tester les modifications de la composition minérale et microbiologique lors des processus de transformation sur les mêmes laits (frais, puis fermentés).

7. MISSION DE G. LOISEAU

La mission de G. LOISEAU, prévue en septembre prochain est également une mission entièrement financée par la partie Kazakhe sur le projet « ***Improvement of the technology and development of the rules for national products from the camel milk according to FAO and FIL/IDF requirements*** », projet qui a déjà fait l’objet d’une mission et pour lequel un premier article portant sur le standard du lait de chameau a été publié dans la revue *Veterinarya*. Cette mission devait permettre de donner aux partenaires kazakhs les attendus pour l’établissement d’un standard national pour le lait de chameau répondant aux critères internationaux.

8. CONCLUSION

Comme on peut le voir dans le présent rapport, les activités de coopération se poursuivent avec toujours autant de résultats faisant l'objet de nombreuses publications avec des retombées opérationnelles. Cependant, il faut souligner les difficultés croissantes dans la gestion financière de cette coopération. En effet, les exigences du programme ECONET en termes de régionalisation des activités s'avèrent trop difficiles à satisfaire avec un budget réduit à sa plus simple expression (aucune augmentation des per diem depuis 8 ans alors que le coût de la vie au Kazakhstan a énormément augmenté, plafonnement des billets d'avion à 1000 euros ce qui est impossible à tenir quand on vient d'une ville de province), alors que par ailleurs, il faut trouver les financements de fonctionnement, une bourse de thèse et monter des projets tous azimuts pour fonctionner correctement.

D'autant que, le CIRAD de son côté, considérant que le Kazakhstan ne fait pas partie des priorités « géo-partenariales », aucune aide n'a été obtenue pour le fonctionnement de la thèse de S. AKHETSADYKOVA. Comme la politique de restriction budgétaire est commune à tous les bailleurs de fonds, à quel niveau doit-on descendre pour qu'on se rende compte que ce n'est plus possible de continuer ainsi ?

En 2009, la coopération mise en place peut se poursuivre à peu près correctement sur un budget global d'environ 27 000 € provenant de 5 sources de financements ayant chacune leurs exigences en termes de rapport d'activités et de montage des demandes, multipliant la quantité de travail nécessaire. Il faudrait tout de même que les bailleurs de fonds prennent la mesure des conditions de réalisation de ce type de coopération de plus en plus difficile à tenir avec les politiques budgétaires de saupoudrage auxquelles les tendances actuelles confinent la recherche. Si les lecteurs de ce rapport voient dans ces remarques conclusives, un sentiment de lassitude, ils ne se trompent pas.

ANNEXES

ANNEXE 1 - Calendrier et personnalités rencontrées

**ANNEXE 2 - Poster devant être présenté aux 3R
(après traduction en français)**

ANNEXE 3 - Article soumis dans *Environmental Pollution & Toxicology Journal* (Bentham open)

ANNEXE 1

Calendrier et personnalités rencontrées

Calendrier et personnalités rencontrées

Mardi 2 juin

- Départ de Montpellier pour Paris
 - Interview sur France Inter (émission « la tête au carré »)
- Départ pour Almaty via Amsterdam

Mercredi 3 juin

- Arrivée à Almaty
 - Accueil par G. Konuspayeva et M. AKHMETSADYKOV
 - Séance de travail à l'Université Al-Farabi avec G. KONUSPAYEVA
 - Entretien avec le Pr. IVASHCHENKO, Chef du département de Biotechnologie
 - Entretien au service d'action culturelle (M. J. SCHITTERER et Mme L. GIRIAT)

Jeudi 4 juin

- Séance de travail avec Maela LE GUILLOU, stagiaire du master EPSED
- Réunion de travail à ANTIGEN (N. AKHMETSADYKOV) et entretien avec M. Bakhytjan AITMURAMEDOV, représentant à Almaty du centre des projets du Ministère de l'agriculture
- Interview à la télévision (chaîne Kazakhstan, principale chaîne du pays)

Vendredi 5 juin

- Préparation stage G. Konuspayeva et A. BAUBEKOVA
- Entretien avec Mme Kadisha DAIROVA, nouvelle responsable des relations internationales à l'Université Al-Farabi
- Séance de travail avec Mle LE GUILLOU
- Entretien avec N. AKHMETSADYKOVA

Samedi 6 juin

- Rédaction rapport
- Entretien avec G. TILBERGHEN et L. GIRIAT
- Visite région d'Almaty

Dimanche 7 juin

- Rédaction rapport

Lundi 8 juin

- Rédaction article « variabilité physiologique de la composition du lait de chameau »
- Entretien avec Maela LE GUILLOU

Mardi 9 juin

- Rédaction article « variabilité de la concentration en urée et ammonium dans le lait de chameau »
- Installation du « Kjeldhal » dans le laboratoire d'analyse alimentaire à ANTIGEN
- Entretien avec A. SERIKBAEVA (Université technologique) pour la soutenance de son HDR en octobre 2009

Mercredi 10 juin

- Fin de la rédaction et envoi des articles rédigés
- Analyse des données (typologie de la composition protéique des laits contaminés)

Jeudi 11 juin

- Poursuite des analyses de données
- Départ pour Shymkent

Vendredi 12 au Mercredi 17 juin

- Congés sur place

Jeudi 18 juin

- Compte-rendu des travaux de terrains de Maela LE GUILLOU (Région de Sholak Korgan) et S. AKHETSADYKOVA (Région d'Atyrau)

Vendredi 19 juin

- Départ pour Montpellier, via Amsterdam et paris
- Arrivée à Montpellier

ANNEXE 2

**Poster devant être présenté aux 3R
(après traduction en français)**

Interaction of lead and cadmium with lactic bacteria isolated from camel milk and shubat from Kazakhstan



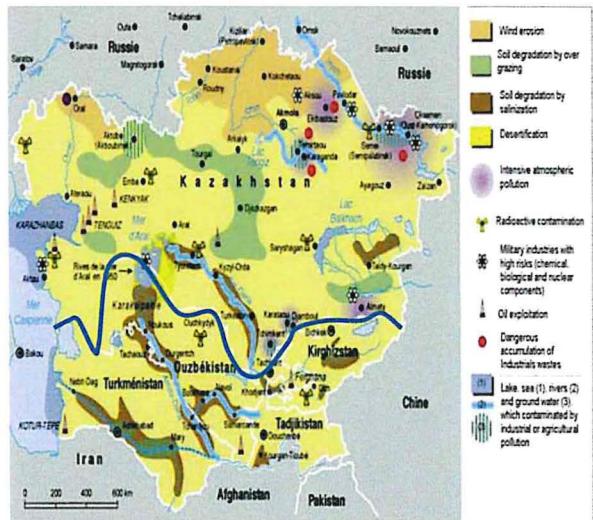
AKHMETSAKYVA Sh.^{1,2}, LOISEAU G.², FAYE B.²

¹ Kazakh State University Al Farabi, 71 av. Al-Farabi, 050121 Almaty, Kazakhstan

² Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Campus international de Baillarguet, TA C/dir B, 34398 Montpellier cedex, France

Kazakhstan is observed much environmental pollution, like polymetals industry, wind erosion, soil degradation by salinization, desertification and radio active contaminations. The pollution of the grounds of certain areas by lead (Pb) and cadmium (Cd) is a danger to the health of the consumers of dairy products because these metals concentrate throughout the food chain. The camel's milk and shubat are touched by these contaminations. The impact of the lactic fermentation of milk in shubat could make it possible to decrease the availability of these metals in the digestive tract of the consumers because lactic bacteria are able to adsorb heavy metals.

Sampling: analyse for contents of Pb and Cd of 3 camel milk and 3 shubat samples from two regions of Kazakhstan (Almaty, Shymkent), 2008. For quantitative and qualitative tests we used nutrient mediums : camel milk and shubat (from 3 regions of Kazakhstan, Almaty : 2 milk and 4 shubat, Shymkent : 6 milk and 4 shubat, Atyrau : 1 shubat), 2007 and solid/broth MRS or M17. Source of heavy metals: Pb(NO₃)₂, Cd(NO₃)₂·4H₂O. 39 wild strains isolated from camel milk and shubat (CIRAD, 2006 - 2007). *Lactobacillus plantarum* A6, *L. manihovorans* et *L. fermentum* Ogi E1 and 20 wild strains isolated from camel milk and shubat from Almaty, 2008.



Results: we measured lead and cadmium contents ranging Pb between 0.26 and 0.33 ppm and Cd 0.012 ppm for milk and shubat respectively. We could characterize 14 wild lactic strains for their capacity to interact with Pb and Cd : 3 doesn't interact with these metals, 1 seems to interact with lead, 1 with cadmium and 9 with both metals.



1. Pb 200 (mg.L-1) SH1 2. Pb 200 (mg.L-1) SH1 3. Cd 200(mg.L-1) L1.9.6 4.Cd 200 (mg.L-1) SH1

Photos 1-4. Wild strains isolated from shubat and camel milk. (1-3 : from shubat, 4 : from milk).

Methods: Dairy samples were mineralized by mineralization humid, then we measured Pb and Cd contents by Atomic absorption spectrometry (Montpellier, France). Fixing of heavy metals by lactic bacteria is revealed by the use of associated sodium sulphide and hydrochloric acid.

Conclusion: value of Pb is largely with the top of the Kazakhs and international standards and vice versa for Cd. A quantitative test did not allow quantifying the capacity of 39 lactic wild strains isolated from milk and shubat to fix these metals because the methodology used encountered difficulties which will be possible to surmount. On the other hand, we could characterize 14 lactic wild strains isolated from 2008 for this capacity by using a qualitative test developed during this work.



ANNEXE 3

Article soumis dans
Environmental Pollution & Toxicology Journal
(Bentham open)

Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan

Gaukhar KONUSPAYEVA¹, B. FAYE ^{2*}, G. LOISEAU ³, E. DIACONO ²,
S. AKHMET SADYKOVA ¹

¹ Al Farabi Kazakh National University, 71 av. Al Farabi,
050073 Almaty, Kazakhstan

² CIRAD - Département Environnements et Sociétés, Campus International de
Baillarguet, TA C-DIR / B 34398 Montpellier Cedex 5, France

³ UMR Qualisud, CIRAD, TA B-95/16, 73, rue J.-F. Breton,
34398 Montpellier Cedex 5, France

* Corresponding author: tel 33 (0)4 67 59 37 03 / Fax: 33 (0)4 67 59 37 35/ email: faye@cirad.fr

Running title: Heavy metals in camel milk

Abstract

Environmental contamination by heavy metals is a common fact in Central Asia. In the present study two sampling procedures were achieved: (i) Sampling of fodder, camel raw milk and *shubat* (fermented camel milk) in 8 farms closed to pollution sources from the South of Kazakhstan for copper, iron, manganese, zinc, arsenic and lead analysis, (ii) sampling of camel milk in 4 regions of Kazakhstan (63 samples) analyzed for lead, chrome and zinc contamination. In first sampling, camel milk contained 0.07 ± 0.04 , 1.48 ± 0.53 , 0.08 ± 0.03 , 5.16 ± 2.17 , <0.1 and 0.025 ± 0.02 ppm respectively for Cu, Fe, Mn, Zn, As and Pb. In *shubat* (fermented milk) the mean content was 0.163 ± 0.164 , 1.57 ± 0.46 , 0.088 ± 0.02 , 7.217 ± 2.55 and 0.007 ppm respectively. Arsenic was detected in some samples of milk and *shubat* only. The trace elements concentration increase in *shubat* compared to milk but lead concentration decreased. No clear correlation was observed with fodder composition. In second sampling, the lead content was on average 250 ± 56 ppb in the camel milk with no significant differences between regions. The maximum value was observed at Atyrau (532 ppb). Zinc content in milk (5.42 ± 0.2 mg/kg) did not change significantly between regions. At reverse, chrome (59.5 ± 45.4 ppb) was higher in Shymkent region compared to others.

These values were discussed according to the proximity of pollution sources.

Keywords: camel milk / lead/ heavy metals/trace element / Kazakhstan

INTRODUCTION

The consumption of camel milk is very popular in Kazakhstan where it is known for its medicinal and dietary properties [1]. These properties are widely exploited for human health, as it is in several countries from the ex-Soviet Union [2] and developing countries [3]. The camel milk is considered to have anti-cancer [4], hypo-allergic [5] and anti-diabetic properties [6]. A high content in unsaturated fatty acids contributes to its overall dietary quality [7,8]. The low quantity of β -casein and the lack of β -lactoglobulin are linked to the hypo-allergic effect of camel milk. Other components such as the lactoferrin, immunoglobulins, lysozyme or vitamin C were reported to play a central part in the determinism of these properties [9,10].

Elsewhere, Kazakhstan is in a state of "ecological crises", due to the specific place for nuclear test by soviet government for long time, and to the development of irrigation for field cottons linked with decreasing Aral Sea level. In addition, the manufacturing of metals and the minerals had some impact on environmental contamination. In that condition, camel milk could be contaminated and a source of intoxication for consumers. Some references on heavy metals content in cow and breast milk are available. But concerning sheep and goat milk there are few references, and no one on camel milk.

In the present study, it is established a first diagnosis of contamination status of camel in Kazakhstan by measuring some of the heavy metals in camel milk and in the feeding resources of the camel herds.

MATERIAL AND METHODS

Sampling procedure

Two sampling procedures were achieved:

- (i) Eight farms were sampled for water, fodder and camel milk (herd mixed milk). The samples correspond to water and fodder consumed by camels. They belonged to 4 regions: Almaty, Aral, Atyrau, and Shymkent. Samples were taken from dromedary camels (one hump), Bactrian camels (two humps) and hybrids camels. The contaminating sources, as manufacturing, oil forages, spatial base were identified. When it was possible water and plants were sampled near these sources. In Almaty region, polymetal industries situated in Tekeli and Cary-Ozek were identified and sampled, In Atyrau region, oil forage was identified too. In Aral Sea region the spatial base of Baïkanour was also identified. And in Shymkent region, polymetal industries and phosphate manufacturing were identified (Kengtaw, Aca) (map 1).
- (ii) In 4 regions from the country (Almaty, Aral, Atyrau, Shymkent), 63 milk samples of individual camel were collected in 12 farms (different than the first sampling) close to contaminating sources.

Laboratory analysis

In the sample (i) copper, iron, manganese and zinc, arsenic and lead were analyzed. In the sample (ii) lead, chrome and zinc contamination were assessed. The analysis of heavy metals and trace elements were achieved in two steps:

- (1) Mineralisation by humid way to destroy the organic matter by oxidation in presence of nitric, sulphuric and perchloric acids. The advantage of this method, compared to the dry way method, is the lack of volatile elements loss. Ten ml of milk sample was added with nitric acid reagent 65 % (Carlo Erba Reagents SA). Then the mixture was placed in a ceramic capsule on a heating plate up to 500°C for 4 hours. Nitric acid 65 % was added again on the ashes then evaporated on the heating plate up to the total destruction of the organic matter. When the solution is white, the solution is diluted up to 10 ml with distilled water containing 1% nitric acid.
- (2) Analysis of the solution by Atomic Absorption Spectrometry. This analysis was achieved by ICP methods (Inductively Coupled argon Plasma – Atomic Emission Spectrometer (ICP AES), Varian Vista MPX – CCD), in laboratory of CIRAD UR-Qualisud (Montpellier-France). The quantification of the elements was performed by the standard addition method, using 11 point

standard curve. AccuTraceTM Reference Standard solutions used were Quality Control Standard #1AccuStandard® and Laboratory Performance Check Standard AccuStandard®.

Statistical procedure

Descriptive statistics were achieved (mean and standard deviation) and variance analysis in order to assess the region effect. In order to compare the concentrations for different trace element and heavy metal in fodder and milk, an index was used. This index was calculated for each type of sample (milk or fodder) as follow:

$$I = x^{ij} / \text{mean}(x^i)$$

Where x^{ij} was the concentration x for the element i and the sample j

$\text{Mean}(x^i)$ was the mean of all concentrations for the element i .

If the concentration for a determined element was equal to the mean, the index will be 1.

Correlations between values in fodder and milk, or between values in milk and *shubat* were assessed by the Pearson correlation test.

RESULTS

Samples (i)

Trace elements contents in water, fodder and camel milk

In water, no contaminants were detected. In fodder, the trace-elements were in the normal range, except iron with a maximum value of 2533 ppm (farm 4- Shymkent region). On average, lead concentration was 4.28 ± 9.60 ppm and arsenic, 1.03 ± 0.49 ppm (Table 1). The highest value of lead in fodder was 34.90 ppm and was obtained in sample of Kengtaw near a polymetal industry in Shymkent region. On average, this fodder sample was also richer in manganese (82.1 ppm), zinc (94.3 ppm) and arsenic (1.6 ppm).

The mineral content in camel milk was between 0.07 ppm for copper and 5.16 ppm for zinc (table1). The lead concentration was on average 0.025 ± 0.02 ppm, with a maximum value of 0.06 ppm reported in milk sample from the farm n° 4 (Shymkent region). The arsenic concentration was under analytical limit (less than 0.1 ppm).

In *shubat*, the concentrations in trace elements were close to those of milk, but the lead content was lower (table 1).

Table 1: Mean value and SD of the trace element and heavy metal content in fodder, camel milk and shubat (in ppm) from sample (i).

	Cu	Fe	Mn	Zn	As	Pb
Fodder	10.40 ± 2.93	793.69 ± 630.48	62.38 ± 20.67	32.95 ± 27.15	1.03 ± 0.49	4.28 ± 9.60
Milk	0.07 ± 0.04	1.48 ± 0.53	0.084 ± 0.03	5.16 ± 2.17	<0.1	0.025 ± 0.019
Shubat	0.16 ± 0.16	1.57 ± 0.46	0.088 ± 0.02	7.212 ± 2.55	<0.1	0.007 ± 0.005

Links between trace element and heavy metals content in fodder and in camel milk

The links between trace element concentration in fodder and milk or between heavy metals concentration in fodder and milk were unclear. For copper, manganese and zinc, two groups of farms were identified: one group with index in milk lower than index

in fodder, and another group with increasing index from fodder to milk. For lead, non-natural element, similar trend was observed (figure 1).

However, there was no correlation on average between the content of one element (trace element and heavy metal) in fodder and the content of the same element in camel milk. However, the copper and manganese concentration in milk was significantly correlated with zinc content in fodder ($r = 0.724$ and $r = -0.725$), and lead concentration in milk was significantly correlated with iron and manganese content in fodder ($r=0.897$, $r=0.815$).

Relationships between raw milk and shubat mineral contents

The relationship in mineral content of raw camel milk and *shubat* was observed on 6 farms only because *shubat* sample lack from the farms 1 and 6. Concerning Cu content, generally, mean value of this mineral in *shubat* was higher than mean for raw milk (figure 2). Similar pattern was observed for iron (figure 3) and zinc (figure 4), but the relation was not so clear for manganese (figure 5). At reverse, lead content decreased in *shubat* and was not detectable in 2 samples from farms 4 and 5, although the maximal value was detected in milk of farm 4 (0.06 ppm) (figure 6). As the whole, the mineral composition of milk is highly correlated to mineral composition of *shubat* ($r = 0.692$, $P < 0.0001$).

Sample (ii)

The lead content was on average 250 ± 56 ppb in the camel milk with no significant differences between regions (table 2) except a slightly significant higher concentration in the samples from Shymkent ($P < 0.05$). The maximum individual value was observed anyway at Atyrau (532 ppb). Zinc content in milk (5.42 ± 0.2 mg/kg) did not change significantly between regions. At reverse, chrome (59.5 ± 45.4 ppb) was also significantly higher in Shymkent region compared to others ($P < 0.01$).

Table 2. Lead, zinc and chrome content in raw camel milk ($n = 63$) from 4 regions in Kazakhstan

	Pb, ppb	Zn, mg/100g	Cr, ppb
Almaty	245.94 ± 34.69^a	48.62 ± 1.52^a	46.91 ± 37.69^a
Atyrau	244.18 ± 83.66^a	59.90 ± 1.69^a	43.12 ± 21.03^a
Aralsk	249.20 ± 50.29^a	57.08 ± 2.21^a	38.12 ± 15.96^a
Shymkent	260.50 ± 35.00^b	52.13 ± 2.49^a	96.19 ± 56.68^b

^{a, b} Means in a column with common superscripts do not differ,

DISCUSSION

Trace elements and heavy metals in fodder

In this study, trace element concentrations in fodder samples were in the normal range of values. The sample from the farm 4 (Shymkent region) contained a quite higher iron quantity (2533 ppm) compared to the other samples. Iron content in fodder and grass was generally highly variable because the contamination of samples could occur easily.

The manganese content in fodder (62.38 ppm) was in agreement with the results reported by Caggiano *et al.* [11] in Italia, in areas exposed to some industrial contamination (101 ± 85 ppm).

The lead content in our fodder sample were on average, higher than Caggiano *et al.* [11] (1.2 ± 1.1 ppm). The sample from Kengtaw was particularly high (34.9 ppm) and could be directly attributed to the polymetal manufacturing close to the farm.

Trace elements and heavy metals in milk and shubat

According to the literature, human activities close to the sampling area influence the concentration of heavy metals in milk. Especially, traffic road intensity plays a role on lead content in cow milk. The lead content in milk was positively correlated to the traffic density, (from 0.36 ppm on average for a traffic density of 10 vehicles per day to 7.20 ppm on average for a traffic density of 15000 vehicles per day) [12]. Lead concentration in cow milk was on average of 0.00132 ppm in rural area [13] and of 0.25 ppm in industrial area [14] and 0.032 ppm close a road [15]. In Germany and Holland, higher value allowed is 0.05 ppm of Pb in milk; 0.02 ppm in Turkey and 0.1 ppm in Kazakhstan. In industrial area, lead concentration of cow milk varied from 0.049 ppm [15] to 0.067 ppm [16], with higher mean value of 0.844 ppm near zinc and lead smelter [17].

Concerning others heavy metals, few references were available. Arsenic concentration in milk varies according to sampling place. Thus, cows in rural areas produced milk containing 0.0002 ppm arsenic on average, in industrial area and traffic road area, those values were 0.04 and 0.05 ppm respectively [15]. The higher reported values were from 0.12 ppm in industrial area [15] to 0.684 ppm [13].

Zinc content in milk seems to be in the normal range even in animals reared near industrial or traffic areas, Although, milk from industrial contained significantly more zinc than in traffic and rural area, 5.01 ppm, 4.49 ppm and 3.77 ppm respectively [13].

For copper, observations were similar: the proximity of industrial area increased significantly the copper concentration in cow milk as well as traffic area, cow milk from rural area containing less copper (0.96 ppm, 0.58 ppm et 0.39 ppm respectively) [13].

For iron, human activities as industrial plants, traffic road, increased significantly the content in cow milk towards rural area (4.27ppm, 1.78 ppm, 1.01 ppm respectively) [13].

Arsenic content in camel milk in this study was not determinate precisely (< 0.1 ppm). It was in accordance with literature. Simsek *et al.*, [15], Licata *et al.*, [13] and Meldebekova *et al.*, [14] reported values of arsenic concentration in milk less than 0,1 ppm (0.050 ppm; 0.0379 ppm and 0.0218 ± 0.057 ppm respectively).

It was impossible to attest if lead contamination of camel milk was important or not, as no reference was available. However, the presence of lead in fodder or milk is not normal, and consequently contamination could be expected. Reported values in our first sample were on average higher than the tolerable value of 0.02 ppm proposed in Turkey, but under the normal value of 0.05 ppm considered in Germany and Holland and 0,1 ppm in Kazakhstan. However, two of our monitored farms showed quite higher lead content in camel milk, the farm 1 (Almaty region) and the farm 4 (Shymkent region): respectively 0.05 ppm and 0.06 ppm. Bhatia and Choudhry [12], Dey and Swarup [16] and Simsek *et al.*, [15] considered that cattle reared close to manufacturing or roads produced a milk containing significantly higher levels of lead. However, in all these studies, lead concentration in milk was very variable, with higher value between

0.032 ppm [15] and 7.20 ppm [12]. Taking in consideration all these informations, it was possible that the highest lead concentration in milk from the farms 1 and 4 could be due to the proximity of road with high traffic. At reverse, the lead concentration in the second sample was quite important and higher than the tolerable value.

No reference concerning chrome was available on camel milk, but some samples appeared with widely higher concentration than the tolerable values in cow milk. So, contamination could be expected.

Very few references were available on *shubat*, but it is admitted that the normal values were similar than for raw milk. The increase of trace-element content in *shubat* compared to milk was unclear, but was already reported. For example, Saitmuratova *et al*, [18] found 2 to 3 more iron in *shubat* than in raw milk (on average 77 and 32 mg/L). These very high values could be debatable but could be attributed to the analytical methods: we used spectrometry ICP although, Saitmuratova *et al*, [18] used Neutron Activation Analysis.

The As concentration was less than 0.1 ppm, No data were available on its concentration in camel milk but according to the Kazakh standard camel *shubat* should not contain more than 0.055 ppm.

Contrary to trace-elements, the lead concentration decrease in all *shubat* samples compared to the raw milk even in probably contaminated milk. This is an interesting fact, because it is suspected a role of lactic bacteria in the detoxification of camel milk. This aspect is under study [19].

Links between mineral content in fodder and milk

No references were available on this aspect. All investigations on contamination of milk by heavy metals, didn't take in account the intake of contaminants by the feeding. No correlation between fodder and milk content of heavy metals and trace elements was observed in our study, but the number of samples was not sufficient for convenient conclusion. However, an effect of distance from the pollution source of contamination on lead concentration in milk (case of farms 1 and 4), and on fodder content of zinc, manganese, arsenic and lead seemed to be observed.

CONCLUSION

The present investigation on contamination status of fodder and camel milk by heavy metals in Kazakhstan was a preliminary study. The relationships between heavy metals content in water, fodder and milk were not clear in this study. Some informations were lacking, as references, and environmental conditions. Secondly, the number of samples was not sufficient, especially in the first sampling.

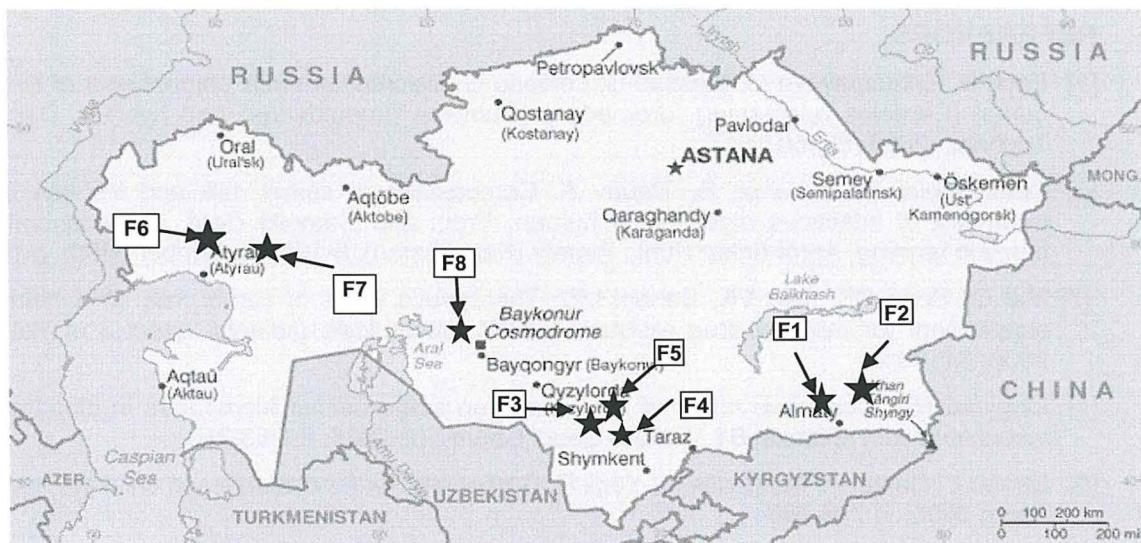
It would be interesting to extend the milk and fodder sampling to more areas where camel, cow, goat and sheep farms were closed to pollution areas, and to analyze other heavy metals suspected in pollution process.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present work was supported by the cooperation service of the French Embassy in Kazakhstan in the frame of a scientific cooperation between Al-Farabi University (Almaty- Kazakhstan) and the Centre of International cooperation for agronomic research on development –CIRAD, Montpellier –France).

REFERENCES

- [1] Faye B, Konuspayeva G, Messad S, Loiseau G. Discriminant milk components of Bactrian camel (*Camelus bactrianus*), dromedary (*Camelus dromedarius*) and hybrids. *Dairy Sci Technol*, 2008; 88: 607-617
- [2] Kenzhebulat S, Ermuhann B, Tleuov A. Composition of camel milk and its use in the treatment of infectious diseases in humans, Proc. 2nd Camelid Conf, Agroeconomics of camelid farming, AgroMerkur Publ., Almaty (Kazakhstan), 8-12th September 2000; p.101.
- [3] Mal G, Sena DS, Jain VK, Sahani MS. Therapeutic value of camel milk as a nutritional supplement for multiple drug resistant (MDR) tuberculosis patients, *Israel J of Vet Med* 2006; 61: 88-91
- [4] Magjeed NA. Corrective effect of milk camel on some cancer biomarkers in blood of rats intoxicated with aflatoxin B1. *J of the Saudi Chem Soc* 2005; 9: 253-263
- [5] Shabo Y, Barzel R, Margoulis M, Yagil R. Camel milk for food allergies in children. *Immunol Allerg* 2005; 7: 796-798
- [6] Agrawal RP, Swami SC, Beniwal R et al. Effect of camel milk on glycemic control, risk factors and diabetes quality of life in type-1 diabetes: a randomised prospective controlled study. *J. Camel Pract Res*. 2003; 10: 45-50
- [7] Karray N, Lopez C, Ollivonn M, Attia H. La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme, Une revue. *OL* 2005 ; 12 : 439-446
- [8] Konuspayeva G, Lemarie E, Faye B, Loiseau G, Montet D. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. *Dairy Sci Technol* 2008; 88: 327-340
- [9] El-Agamy EI, Ruppanner R, Ismail A, Champagne CP, Assaf R. Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *Int Dairy J* 1996; 6: 129-145
- [10] Konuspayeva G, Faye B, Loiseau G, Levieux D. Lactoferrin and Immunoglobin content in camel milk from Kazakhstan. *J Dairy Sci* 2007; 90: 38-46.
- [11] Caggiano R, Sabia S, D'Emilio M et al. Metal levels in fodder, milk, dairy product, and tissues sampled in ovine farms of southern Italy, *Environ Res*, 2005; 99: 48-57,
- [12] Bhati I, Choudhri GN. Lead poisoning of milk—The basic need for the foundation of human civilization. *Indian J Public Health* 1996; 40: 24-26
- [13] Licata P, Trombetta D, Cristani M et al. Levels of "toxic" and "essentials" metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. *Environ Int*, 2003; 30: 1-6.
- [14] Meldebekova A, Diacono E, Konuspayeva G, Faye B. Heavy Metals and trace elements content in camel milk and shubat from Kazakhstan, Proc of Intl Workshop, Impact of pollution on animal products. Almaty (Kazakhstan), 27-30 Septembre 2007, B. Faye and Y. Sinyavskiy (Eds), 2008; pp. 117-123
- [15] Simsek O, Gültekin R, Öksüz O, Kurultay S. The effect of environmental pollution on heavy metal content of raw milk. *Nahrung* 2000; 44: 360-363,
- [16] Dey S, Swarup D. Lead concentration in bovine milk in India. *Arch. Environ Health* 1996; 51: 478-479
- [17] Swarup D, Patra RC, Naresh R, Kumar P, Shekhar P. Blood lead levels in lactating cows reared around polluted localities; transfer of lead into milk. *Sci of the Total Environ* 2005; 349: 67-71.
- [18] Saitmuratova OKh, Sulaimanova GI, Sadykov AA. Camel's milk and shubat from the aral region, *Chem Natural Compounds* 2001; 37: 566-568
- [19] Akhmetsadykova S. Interactions entre les bactéries lactiques et les métaux lourds. Master report : Nutrition, Agrovalorisation en Santé Publique. Montpellier University II, France, 2008 ; pp. 46



Map 1. Sampling sites of camel milk and shubat in Kazakhstan, F1 to F8 – Farms,

Fig. (1). Index of lead content in fodder and in camel milk in each sampled farm (sample i)

Fig. (2). Cu content in camel milk and shubat (in ppm). The farms are sorted according to the descending values in shubat (sample i).

Fig. (3). Fe content in camel milk and shubat (in ppm). The farms are sorted according to the descending values in shubat (sample i).

Fig. (4). Zn content in camel milk and shubat (in ppm). The farms are sorted according to the descending values in shubat (sample i).

Fig. (5). Mn content in camel milk and shubat (in ppm). The farms are sorted according to the descending values in shubat (sample i).

Fig. (6). Pb content in camel milk and shubat (in ppm). The farms are sorted according to the descending values in shubat (sample i).

