

**UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



**Mémoire**

En Vue de l'obtention de MASTER ACADEMIQUE

**Domaine** : Science de la Nature et de la Vie

**Filière** : Sciences Biologiques

**Spécialité**: Biochimie Appliquée

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> :Kouadri Nour El Houda

M<sup>elle</sup> : Nessil Fatma

# THEME

Valorisation des extraits enzymatiques  
coagulants d'origine cameline

Soutenu publiquement le : 02/07/2023

**Composition du jury :**

<b>Président:</b>	<b>M<sup>r</sup> ADAMOUC. A.</b>	(Pr) Université Kasdi Merbah Ouargla
<b>Promoteur:</b>	<b>M<sup>me</sup> BOUDJENAH S.</b>	(Pr) Université Kasdi Merbah Ouargla
<b>Examineur:</b>	<b>M<sup>me</sup> SIBOUKEUR A.</b>	(M.C.B. Université Kasdi Merbah Ouargla)

**Année Universitaire : 2022/2023**

Le présent **Mémoire de Master** est inscrit

Dans le projet de partenariat International intitulé :

*Camel breeding systems: actors in the sustainable economic development of the northern Sahara territories through innovative strategies for natural resource management and marketing.*



Entrant dans le cadre du programme **PRIMA**



## Résumé

En vue de valoriser les extraits enzymatiques issus des caillettes de dromadaire, nous nous sommes proposés d'utiliser des extraits coagulants issus de dromadaires de différents âges (1, 2, 4, 6 et 8 ans), vivant dans la région d'Ouargla, que nous avons dénommé ECD1, ECD2, ECD4, ECD6 et ECD8 pour la coagulation des laits bovin et camelin afin d'appréhender une éventuelle variation dans le comportement des caséines de ces deux laits vis-à-vis de la coagulation enzymatique et proposer un succédané de la présure commerciale dont la pénurie mondiale est ressentie ces dernières années. La pepsine et la présure bovine ont été utilisées à titre comparatif. L'activité coagulante des ECDs et celle de la pepsine et de la présure bovines ont été déterminées. Les résultats ont montré que la valeur la plus élevée des activités coagulantes est obtenue pour les ECD issus des dromadaires âgés (ECD8 avec 0.34 UP et ECD6 avec 0.30 UP). Cependant la valeur la plus faible est enregistrée pour la pepsine bovine (0.159 UP). Par ailleurs le calcul de temps de floculation a révélé que les ECD âgés sont caractérisés par des temps de floculation faibles comparativement à la pepsine et la présure bovine. Le calcul des rapports de temps de floculation des laits bovin et camelin a révélé une plus grande affinité des ECDs, notamment de l'animal âgé pour les caséines étudiées. L'optimisation des conditions d'emprésurage a révélé que 42°C est la température optimale de la coagulation. Il ressort de cette étude que les enzymes coagulantes d'origine cameline constituent une très bonne alternative pour l'industrie fromagère.

**Mots clés:** activité coagulante, caillette, dromadaire, enzyme coagulante, fromage, lait, unité présure.

## Abstract

With a view to enhancing the value of enzymatic extracts from camel curds, we proposed to use coagulating extracts from camels of different ages (1, 2, 4, 6 and 8 years), living in the Ouargla region, which we named ECD1, ECD2, ECD4, ECD6 and ECD8 for the coagulation of bovine and camel milk, in order to understand any variation in the behavior of caseins from these two milks with regard to enzymatic coagulation, and to propose a substitute for commercial rennet, which has been in short supply worldwide in recent years. Pepsin and bovine rennet were used for comparison. The coagulant activity of ECDs and that of bovine pepsin and rennet were determined. The results showed that the highest coagulant activity values were obtained for ECDs from aged dromedaries (ECD8 with 0.34UP and ECD6 with 0.30UP). However, the lowest value was recorded for bovine pepsin (0.159UP). Furthermore, the calculation of flocculation times revealed that aged ECDs are characterized by low flocculation times compared to pepsin and bovine rennet. Calculation of the flocculation time ratios of bovine and camel milk revealed a greater affinity of ECDs, particularly aged ECDs, for the caseins studied. Optimization of renneting conditions revealed that 42°C is the optimum temperature for coagulation. This study shows that camelina coagulating enzymes are a very good alternative for the cheese industry.

Key words: coagulating activity, rennet, dromedary, coagulating enzyme, cheese, milk, rennet unit

## ملخص

من أجل تقيم المستخلصات الأنزيمية لهعدة الإبل، اقترحنا استخدام مستخلصات التخثر من الإبل لمختلف الأعمار (1 و 2 و 4.6 و 8 سنوات)، التي تعيش في منطقة ورقلة، والتي أطلقنا عليها ECD1، ECD2، ECD4، ECD6، ECD8 و ECD8 لتخثر حليب الأبقار والإبل من أجل دراسة الاختلاف المحتمل في سلوك الكازين في هذين الحليبين فيما يتعلق بالتخثر الأنزيمي، واقتراح بديل للمخثرة التجارية التي عرفتنقصاعالميا في السنوات الاخيرة. تم استخدام البيبسين ومنفعة الأبقار للمقارنة. تم تحديد نشاط التخثر من ECDs والبيبسين البقري بالمنفعة. أظهرت النتائج أن أعلى قيمة لأنشطة التخثر تم الحصول عليها من الإبل الاكبر سنا (ECD8 مع UP0.34 و ECD6 مع UP0.30). ومع ذلك، تم تسجيل أقل قيمة للبيبسين البقري (UP0.159). علاوة على ذلك، أظهر حساب أوقات التلبد أن نشاط التخثر في مرحلة الأولى من التخثر يتميز بأوقات التلبد المنخفضة مقارنة بالبيبسين ومنفعة الأبقار. كشف حساب نسب وقت التلبد في حليب الأبقار والإبل عن تقارب أكبر، ولا سيما الحيوانات المسنة، للكازين المدروسة. أظهر تحسين ظروف التجفيف أن 42 درجة مئوية هي درجة حرارة التخثر المثلى. يبدو من هذه الدراسة أن إنزيمات التخثر من أصل الإبل تشكل بديلاً جيداً جداً لصناعة الجبن

الكلمات المفتاحية: نشاط التخثر، المنفعة، الجمل، إنزيم التخثر، الجبن، الحليب، وحدة المنفعة

## Table des matières

Titre	Page
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Sommaire	
Introduction	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Généralité sur le dromadaire .....	2
I.1 Aperçu sur le dromadaire.....	2
I.2. Répartition géographique et effectif .....	2
I.3. Importance économique .....	3
I.3.1. Effectif du cheptel.....	3
I.3.2 Production laitière .....	3
I.4. Particularités anatomiques et physiologiques .....	3
I.4.1 Disposition de l'estomac .....	3
I.4.2. Adaptations physiologiques.....	4
II. Coagulation du lait.....	5
II.1.1 Coagulation acide .....	6
II.1.2 Coagulation Enzymatique.....	6
II.1.2.1 Coagulation par les enzymes végétales.....	6
II.1.2.2 Coagulation par les enzymes animales.....	6
II.1.2.3. Structure des enzymes coagulantes.....	7
II.1.2.3.1. Structure primaire.....	7
II.1.2.3.2. Structure secondaire et tertiaire.....	8
II.1.2.3.3. le site actif .....	10
II.1.3 Mécanisme de la coagulation enzymatique .....	11
II.1.4 L'extraction et purification des enzymes coagulantes.....	14
III. Facteurs de la coagulation .....	16

III.1 Evaluation de la coagulation .....	17
III.1.1 Temps de floculation (temps de prise) .....	17
III.1.2. activité coagulante.....	17
<b>CHAPITRE II</b>	
Matériel et méthodes	
II. Matériel biologique .....	19
I.1. Les laits camelin et bovin.....	19
I.1.1. Lait de chamelle.....	19
I.1.2.Lait de vache .....	19
I.2. La caillette de dromadaire.....	19
I.3. Enzymes coagulantes .....	19
II. Méthodes analytiques .....	19
II.1. Les méthodes pour les analyses physico-chimiques .....	19
II..1.1. pH .....	19
II..1.2. La densité .....	20
II.1.3. Acidité titrable.....	20
II.1.4. La matière sèche totale .....	20
II.1.5. Taux de cendres .....	20
II.2. La qualité microbiologique du lait camelin .....	21
II.3. Préparation des extraits enzymatiques coagulants de dromadaire.....	21
II.4. Détermination de la teneur en protéines des ECD .....	24
II.5. La caractérisation des extraits coagulant gastrique de dromadaire	24
II.5.1. Activité coagulante .....	24
II.5.2. L'activité protéolytique .....	26
II.6. La coagulation enzymatique du lait de dromadaire.....	29
II.7. Analyse statistique des résultats .....	29
II.8. La fabrication d'un fromage.....	29
<b>CHAPITRE III</b>	
RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Etude d'effet des extraits de caillettes de dromadaires .....	31

I.1. Obtention des extraits .....	31
I.2. Evaluation de l'activité enzymatique des extraits bruts .....	32
I.2.1. Mesure de l'activité coagulante.....	32
I.2.2. Mesure de l'activité protéolytique.....	33
I.2.3. Mesure du temps de floculation des laits traités par les extraits bruts .....	33
I.2.4. Influence de la température de l'emprésurage sur le temps de floculation du lait camelin traité par les ECD .....	35
I.2.5. Influence de la température de l'emprésurage sur le temps de floculation du lait de vache traité par les ECD.....	36
II. Essai de fabrication d'un fromage au lait camelin et bovin en utilisant l'extrait coagulant de caillettes de dromadaire .....	37
II. 1. Calcul du rendement fromager .....	38
II.2. Evaluation sensorielle des fromages.....	38
Conclusion .....	41
Références bibliographiques .....	42
Annexes .....	47

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
$\alpha_1$ -Cn	Caséine $\alpha_1$
$\alpha_2$ -Cn	Caséine $\alpha_2$
$\beta$ -Cn	Caséine $\beta$
C-B	Chymosine bovine
<b>CMP</b>	Caséinomacropeptide
CNT	Caséine totale
°d	Degré DORNIC
D.E.A.E.	Diéthyl aminoéthyl
Do	Densité optique
E.C.D	Extrait de caillettes de dromadaire
E.C.D1	Extrait de caillettes de dromadaire âgé de 1 an
E.C.D2	Extrait de caillettes de dromadaire âgé de 2 ans
E.C.D4	Extrait de caillettes de dromadaire âgé de 4 ans
E.C.D6	Extrait de caillettes de dromadaire âgé de 6 ans
E.C.D8	Extrait de caillettes de dromadaire âgé de 8 ans
HS	Hautement significatif
K-cn	Caséine Kappa
L A	Lacto-albumine
LG	Lactoglobuline
LF	Lactoferrine
LP	Lactopéroxydase
M	Molaire
MG	Matière grasse
N	Normale
nm	Nanomètre
PS	Protéine soluble
P.B.C	Présure bovine commerciale
Ppb	Pepsine bovine
P/V	Poids par volume
S	Seconde
SPD	Solution peptidique obtenue avec l'ECD

SPP-B	Solution peptidique obtenue avec la pepsine bovine
Tc	Temps de coagulation
TCA	Acide trichloracétique
Tfv	Temps de floculation du lait de vache
Tfc	Temps de floculation du lait de chamelle
UP	Unité présure
V	Vache
V/V	Volume par volume

**Liste des tableaux**

N°	Intitulé	Page
01	Paramètres physicochimiques de la présure animale	07

02	Techniques d'extraction et purification des différents coagulants	<b>15</b>
03	Extraits coagulants du dromadaire selon leur âge.	<b>19</b>
04	Grille d'appréciation de la quantité microbienne du lait (BERRENS et LUQUET, 1987).	<b>21</b>
05	Variation du rendement fromager en fonction du type du lait et d'enzymes utilisés	<b>38</b>
06	Evaluation sensorielle des fromages	<b>39</b>

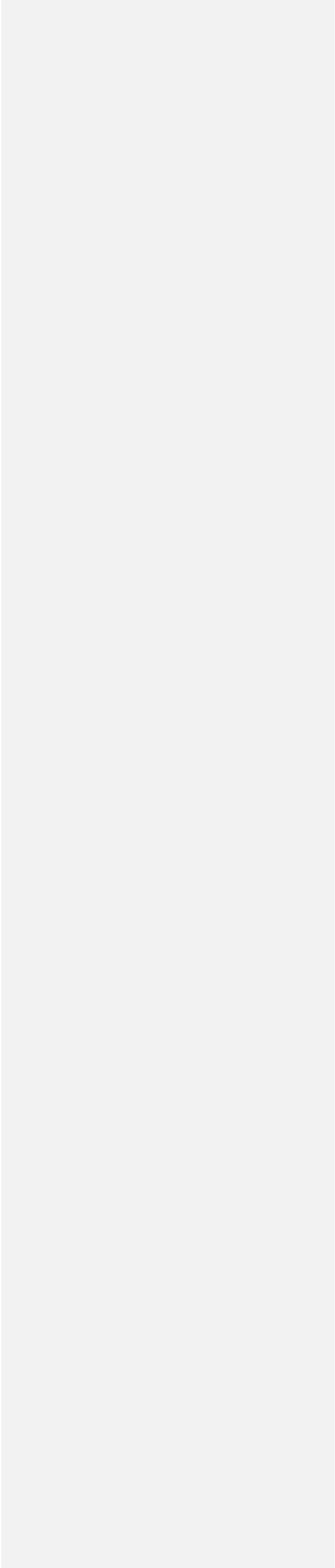
## Liste des figures

N°	Intitulé	page
1	Anatomie de l'appareil digestif d'un ruminant et d'un camélidé (FAYE, 1997).	4
2	Représentation schématique des structures secondaires et tertiaires de la chymosine (Uniacke-Lowe et al, 2017).	8
3	La "poignée du pompier" du côté actif de la chymosine (Newman et al, 1991).	9
4	structure tridimensionnelle de la chymosine bovine (Abreu Da Silva, 2004).	9
5	Structure par rayon X de la pepsine porcine. Vue agrandie des résidus Asp du site actif avec la molécule d'eau qui leur est liée (Vioque m.,2000).	10
6	Exemples de quatre aspartyl-protéinases montrant la profondeur de la fente du site actif.(A) Pepsine porcine(entrée PDB5PEP);(B)chymosine(entrée PDB4CMS);(C)cathepsineD(entréePDB1LYB);et(D)endothiapepsine(entréePDB4APE)(Goodsellet al, 2015) /////////////// pep utilise résidus aspartate /catalyse/substrat p/ activité ph acide	10
7	Modèle de micelle de caséine avec sous-unités (submicelles) (Lenoir j ;et al 1997)	12
8	Phase de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau (ALAIS, 1984 ; MEITTON, 1995).	12
9	Modèle d'organisation moléculaire de la micelle de caséine bovine selon ( Veisseyre R., 1979)	13
10	Le mécanisme de la coagulation enzymatique est décrit en trois phases (Tang. ;2010).	14
11	protocole d'isolement des extraits enzymatiques à partir des caillottes issues de dromadaire (VALLES et FURET, 1977)	23
12	: mesure du temps de coagulation par la méthode de BERRIDGE (1945) modifié par COLLIN et al (1977).	25
13	Protocole d'isolement des protéines totales, caséines et protéines sériques du lait de chamelle SCHAMET et al 1992, cité par HESSAS, 2001	28
14	Quantité de protéines contenues dans chaque ECD	32
15	Variation de l'activité coagulante(UP) en fonction de la nature de l'enzyme	33

<b>5</b>		
<b>1 6</b>	Variation du temps de floculation des laits camelin et bovin en fonction de l'enzyme utilisée (ECD1, ECD2, ECD4, ECD6, ECD8, Ppb et Prb).	<b>34</b>
<b>1 7</b>	Rapport tfv /tfc( Tfv=temps de floculation du lait de vache Tfc=temps de floculation du lait de chamelle)	<b>35</b>
<b>1 8</b>	Variation du temps de floculation du lait camelin par action des ECD en fonction de la température.	<b>36</b>
<b>1 9</b>	Variation du temps de floculation du lait bovin traité par les ECD en fonction de la température	<b>37</b>

### Liste des annexes

Annexe	Titre
01	Composition minérale du lait de dromadaire (mg/100g) selon RAMET, 1993 )
02	Constantes physiques du lait de dromadaire et de vache (KAMOUN, 1995)
03	Diagramme de séparation chromatographique de l'extrait enzymatique total issu de caillettes cameline sur une colonne (1×10cm) de: D.E.A.E-cellulose équilibrée avec le tampon phosphate pH 5,5. Selon BERRICHI et TELLI, 2003.
04	Aires de distribution du dromadaire en Algérie (BENAISSA, 1989).
05	Présentation de méthodologie de travail
06	Nature des vitamines Lait de chamelle Lait de vache (RAMET, 1993 cité par MAHBOUB et ACHOURI 2006).
07	Effet de la pepsine sur la liaison peptidique du Cassien.
08	Etapas suivies au laboratoire pour la fabrication d'un fromage au lait camelin en utilisant les extraits enzymatiques coagulants isolés de caillettes de dromadaire adulte (pH =5.8; température = 42°C).
09	Caillette de dromadaire
10	Les extraits des caillettes de dromadaire.
11	Essai de fabrication d'un fromage au lait bovin en utilisant les extraits enzymatiques coagulants isolés de caillettes de dromadaire adulte(ECD6)



# *Introduction*

## *Introduction*

---

### **Introduction**

Le lait constitue un produit de base dans le modèle de consommation. L'Algérie est considérée comme parmi les pays les plus consommateurs du lait et ses dérivés dans le monde, pour cela on recourt toujours à l'importation de ce nutriment de base sous forme de poudre, de matière grasse et de produit dérivés pour recouvrir les besoins de la population (BENYAHIA KRID, 2010)

La composition moléculaire du lait peut être très différente d'une espèce à une autre. Parmi ces constituants, on retrouve les globules de la matière grasse (en émulsion dans la phase aqueuse) et les micelles de caséines constituant protéique majeure de cette matière. La phase aqueuse est essentiellement composée d'eau, de sels minéraux, de lactose et de matières azotées (ADOUI F., 2007). La transformation du lait en fromage est une méthode de conservation de lait très largement utilisée dans le monde au plan artisanal et industriel.

La coagulation du lait consiste à la formation d'un gel ou caillé, suite à des modifications complexes, tant physiques que chimiques de ces constituants principalement les caséines.

Le premier agent coagulant est la présure. Cette enzyme se trouve dans les caillottes de jeunes ruminants, à l'allaitement. Il faut, en moyenne 4 caillottes de veaux pour produire une tonne de fromage (ALAIS 1984, BAUER *et al.*, 2010). L'essor de l'industrie des fromages, demande de plus en plus de présure, les restrictions sur l'abattage des ruminants et le refus des présures par les pays musulmans, au vu du rituel non Halal de l'abattage, ont causé une pénurie mondiale de présures. A cet effet, la recherche d'autres agents coagulants, s'est accentué pour aboutir à des produits donnant les mêmes fromages que ceux à la présure de veaux à un prix de revient inférieur (ADOUI F., 2007).

L'Algérie, dépendante de l'étranger pour ces présures, connaît des essais de travaux. Transformation et Elaboration des Produits Agro-alimentaires (ADOUI F., 2007. et BENYAHIA KRID, 2010)

Dans ce travail, nous nous sommes proposés à valoriser l'extrait coagulant d'origine cameline et réaliser une étude qui vise en premier lieu à avoir les possibilités de conservation et de transformation des laits camelin et bovin et à la création de laiteries. Nous nous sommes proposé d'étudier, l'action des extraits coagulants gastriques des dromadaires de différentes âges (1 an, 2 ans, 4 ans, 6 ans et 8 ans) sur l'activité coagulante et l'activité protéolytique de lait camelin et bovin, nous proposons d'étudier la caractérisation

:[1UW]Commentaire

:[2UW]Commentaire

## *Introduction*

---

des extraits gastriques coagulants de dromadaires en fonction de différentes l'âge pour voir la relation pouvant exister entre l'âge de l'animal et de la température et du pH à l'emprésurage.

Notre travail comprend deux volets complémentaires :

- ❖ L'extraction des enzymes coagulantes extraits des estomacs de dromadaire.
- ❖ Caractérisation des extraits par :
  - ✓ La détermination de leur activité coagulante ;
  - ✓ La détermination de l'activité protéolytique ;
  - ✓ L'influence des ECD sur le temps de floculation en fonction de la température et du PH à l'emprésurage.

# ***CHAPITRE I***

## ***Etude bibliographique***

## **I. Généralité sur le dromadaire**

### **I.1 Aperçu sur le dromadaire**

Le chameau appartient à la famille des camélidés, représentée par le dromadaire ou *Camelus dromedarius* (ayant une seule bosse) et par le chameau à deux bosses *Camelus bactrianus* (FAYE B. 1997).

Le chameau est synonyme du nomadisme en milieu désertique. En effet, sur ces vastes territoires arides, il procure du lait, de la viande et de la laine. De plus, c'est le moyen de transport des biens et des personnes le mieux adapté pour ces parcours sablonneux et par moment escarpés, sous des conditions climatiques les plus défavorables. Le dromadaire est un mammifère domestique, Sa taille peut atteindre jusqu'à 225centimètres, de poids entre 450 et 900 kilogrammes (SIBOUKEUR, 2007).

Les élevages sont la plupart du temps de type extensif traditionnel, mais l'élevage intensif est pratiqué aussi dans certaines régions du monde. La durée de lactation varie entre 9 et 18 mois (FAYE B. 1997).

### **I.2. Répartition géographique**

L'aire de répartition géographique du dromadaire, se situe, aux niveaux des zones tropicales et subtropicales et s'étend, des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique (Mauritanie) jusqu'au nord-ouest du continent asiatique (Chine).

Selon les statistiques de la FAO (2003), la grande majorité de cette population (84%) sont des dromadaires (*Camelus dromedarius*) qui vivent dans les régions arides du nord et du nord-est de l'Afrique. Le reste (6%) sont des « bactriens » (*Camelus bactrianus*) qui sont des chameaux à deux bosses peuplant les régions froides de l'Asie. Ce nom leur a été donné, par référence à la région de "Baktriane", située au nord de l'Afghanistan, où cette espèce était initialement implantée (FARAH, 1993). L'effectif camelin algérien est réparti sur 17 wilayates, avec 75% du cheptel dans huit wilayates sahariennes : Ouarglghardaia, El-Oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Béchar et 25% du cheptel dans neuf wilayates steppiques : Biskra, Tebessa, Khenchela, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naâma, Laghouat et M'sila.

### **I.3.Importance économique**

## *Chapitre Etude Bibliographique*

---

### **I.3.1. Effectif du cheptel**

Le cheptel camelin total recensé dans le monde est d'environ 25 millions de têtes selon les estimations de la FAO (2010). Ce chiffre semble bien en dessous de la réalité car le caractère nomade de l'élevage camelin ne facilite pas le recensement des effectifs. L'Afrique héberge à elle-seule 80% du cheptel mondial, dont 60% se concentre au niveau de la Somalie et le Soudan. Le nombre de têtes du cheptel camelin algérien a été estimé par la FAO à 345 000 en 2013, alors qu'il n'était que de 150 870 en 1997. Malgré ces adaptations, le dromadaire ne pouvait survivre sans l'homme. C'est l'homme qui le guide dans ses déplacements à la recherche des points d'eau et de l'alimentation nécessaire à sa survie (FAO, 1965).

### **I.3.2 Production laitière**

L'estimation exact du rendement laitier reste difficile car, cette dernière présente des variations importantes en fonction de plusieurs facteurs qui peuvent être d'origine physiologique (nombre de chambellage, époque de lactation, l'état sanitaire de l'animale et l'activité pratiquée par animal), génétique (espèces, race), zootechnique. D'après les statistiques officielles éditées par laFAO, la production mondiale du lait de dromadaire et de chameau se montait en 2002 à 1.283672 tonnes de lait par période de lactation de 9 à 18 mois. Il n'est pas rare d'obtenir des moyennes de production comprises entre 3000 et 8000 Kg de lait et des valeurs quotidiennes de l'ordre de 20 litres (CHEHMA, 2004).

## **I.4. Particularités anatomiques et physiologiques**

### **I.4.1 Disposition de l'estomac**

Le dromadaire, comme les vrais ruminants, est un polygastrique, mais il se singularise néanmoins par des différences avec les autres ruminants sur le plan de la conformation et de la structure de l'estomac (EMA *et al.*, 1980). Globalement, on peut distinguer 4 réservoirs gastriques (compartiments) : le rumen, le réticulum, l'omasum et l'abomasum (figure 1).

Selon (YAGIL, 1985 ; TITAOUINE, 2006), le rumen est la partie qui débouche sur l'œsophage et correspond à un réservoir large ayant une capacité de 100 à 130 litres. Le réticulum, en forme de poire, est partiellement séparé du premier compartiment, car il n'y a pas de sphincter. Sa muqueuse interne présente une structure alvéolaire. L'omasum est un organe tubulaire long et cylindrique qui ne se distingue pas, vu de l'extérieur, de

## Chapitre Etude Bibliographique

l'abomasum. Il est visible de l'intérieur par une séparation marquée par la cessation des plis. C'est l'organe qui contient les glandes tubulaires sécrétrices. L'abomasum (appelé aussi caillette) est la dilatation de l'omasum et constitue 1/5 du volume de ce dernier. Cette partie est plus petite par rapport aux autres ruminants. Elle est tapissée d'une muqueuse épaisse et forme de gros plis. La caillette correspond à l'estomac proprement dit chez les ruminants. C'est le seul secteur possédant des glandes digestives. Sa muqueuse est sécrétrice, elle est garnie de nombreux replis qui se disposent à la manière de valvules s'opposant au reflux des aliments

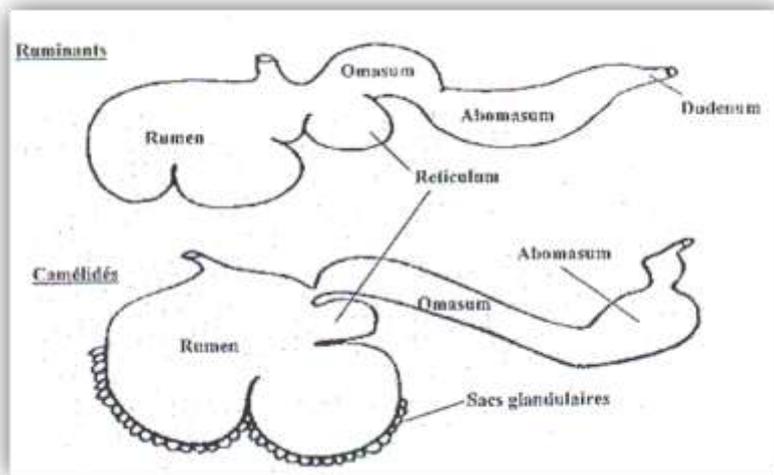


Figure 1 : Anatomie de l'appareil digestif d'un ruminant et d'un camélidé (FAYE, 1997).

### **I.4.2. Adaptations physiologiques**

Les études comparatives menées sur le règne animal ont montré que l'espèce cameline, bien que classée parmi les ruminants, présente certaines analogies avec les équidés et les porcins. Cette espèce se caractérise par des particularités anatomiques et fonctionnelles qui expliquent son adaptation particulière au milieu désertique.

Grasse à sa bosse qui est un amas de graisse, le dromadaire se refroidit mieux, transforme cette matière grasse en eau selon les besoins et connaît des variations

## *Chapitre Etude Bibliographique*

---

importantes de sa température interne de l'ordre de 8°C (34-42°C) selon les conditions du milieu (RAMET, 1993 ; FAYE, 1997).

Le dromadaire est aussi connu pour sa remarquable qualité d'adaptation à la sécheresse. Cet animal est l'un des rares mammifères capables de perdre un tiers de son poids en eau sans mettre sa vie en danger et peut récupérer son poids initial aussi rapidement après abreuvement. Dans ces dispositions particulières, les estomacs constituent le plus important réservoir hydrique de l'organisme.

Au niveau métabolique, deux aspects distinguent le dromadaire des autres ruminants domestiques :

- La glycémie est proche de celle des monogastriques (environ 1g/L) d'où un métabolisme énergétique particulier caractérisé par une néoglucogénèse active (rénale et hépatique) et une faible cétogénèse ;
- Le recyclage très actif de l'urée qui rejoint le tube digestif via la salive ou l'épithélium durumén. Ces caractéristiques signent l'adaptation de l'animal à des situations transitoires de sous-alimentation énergétique ou azotée.

Concernant la physiologie digestive, le dromadaire présente une meilleure capacité à digérer les fourrages pauvres que les ruminants domestiques (FAYE B. 1997).

### **II. Coagulation du lait**

La coagulation du lait constitue une forme ancestrale de conservation des protéines, de la matière grasse ainsi que d'une partie du calcium et du phosphore, dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe (BERRIDGE N.J. 1954), en industrie fromagère, le procédé choisi pour la coagulation a un large effet sur la texture du produit fini (HAUF M., 1982).

Cette coagulation résulte d'un changement irréversible du lait de l'état liquide à l'état semi solide appelé gel ou coagulum (CECCHINATO ET AL., 2012). Il s'agit de l'étape la plus importante pour réussir un fromage, en effet, les caractéristiques physicochimiques du gel conditionnent l'aptitude à l'égouttage et les caractéristiques finales du fromage (HSIEH et PAN, 2012). Les mécanismes de la formation du coagulum diffèrent totalement suivant que ces modifications sont induites par acidification ou par action d'enzymes coagulantes (animales, végétales et microbiennes (LEFEBVRE CASES et al., 1998).

#### **II.1.1 Coagulation acide**

La coagulation par voie acide est provoquée par l'acide lactique d'origine bactérienne, qui transforme le lactose en acide lactique. Le pH du lait de fromagerie diminue

## *Chapitre Etude Bibliographique*

---

avec la production d'acide. Ce qui provoque une solubilisation du phosphate et du calcium colloïdal, un élément important dans la stabilité des micelles de caséine. Ces dernières vont se lier entre elles et former un gel cassant très friable et peu élastique (MIETTON, 1995). Si l'acidification est rapide par addition d'un acide minéral ou organique, il y a floculation des caséines à pH 4,6 sous la forme d'un précipité plus ou moins granulé dispersé dans le lactosérum. Par contre, une acidification progressive, obtenue soit par fermentation lactique, soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait (MIETTON et al., 1994). La teneur en protéines agit sur la coagulation acide. Un lait riche en protéines formera un caillé lactique plus ferme (LOVISI PET AL 2003)

### **II.1.2 Coagulation Enzymatique**

L'une des caractéristiques les plus importantes des enzymes en général, et des enzymes coagulantes en particulier, est qu'elles se commercialisent et s'utilisent en prenant en compte bien sûr leur poids ou leur volume, mais aussi et surtout leur activité, ou concentration. Ces enzymes sont de différentes origines ; végétales, animales et microbiennes.

#### **II.1.2.1 Coagulation par les enzymes végétales**

Il existe, dans divers pays, des plantes susceptibles de fournir des enzymes ayant la propriété de coaguler le lait, d'une façon générale, ces diverses préparations végétales ont donné des résultats assez décevants en fromagerie car elles possèdent le plus souvent une activité protéolytique très élevée et produisent des fromages amers (LOVISI PET AL 2003)

#### **II.1.2.2 Coagulation par les enzymes animales**

Différentes enzymes d'origine animale sont utilisées dans l'industrie fromagère telle que la présure et la pepsine. Chaque enzyme a ses propres caractéristiques chimiques et cinétiques représentées dans le tableau 1.

### **Tableau 1 : Paramètres physicochimiques de la présure animale**

Types	Espèce	Phd'activation	Phd'inactivation	Activité	Température d'inactivation	Site de clivage
Chymosine	bovine	5,5-5,6	> à 7	Activité coagulante élevée et Protéolytique faible	50-61°C	Phe105-Phe106
	buffle	>5,6	>à7	Activité coagulante plus élevée que Celle de labovine	45°C	Phe105-Phe106...
	Chamelelle	5,8-6	> à 7	Activité coagulante élevée	50°C	Phe105-Phe106
	Ovine	5,5-5,6	> à 7	Activité coagulante élevée et Protéolytique faible	50-58°C	Phe105-Phe106
Pepsine	Bovine	1,6-2,5	> à 7	Activité coagulante faible et Protéolytique élevée	>à55°C	Phe-TryPhe-tyrPhe-Phe

### II.1.2.3. Structure des enzymes coagulantes

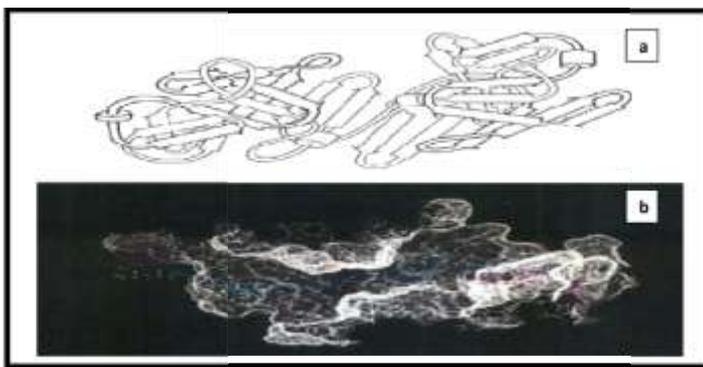
#### II.1.2.3.1. Structure primaire

La plupart des aspartyl-protéinases sont des molécules à chaîne unique, dont la masse moléculaire est comprise entre 32 000 et 39 000 Da et qui sont constituées de ~330 acides aminés. Les protéinases aspartyles possèdent deux résidus réactifs d'acide aspartique dans leur site catalytique qui sont essentiels à leur fonction. Les deux résidus d'acide aspartique se trouvent dans deux séquences caractéristiques, Asp32-Thr-Gly-Ser dans le domaine N-terminal et un Asp215-Thr-Gly-Ser/Thr correspondant dans le domaine C-terminal. Les résidus Asp sont responsables de l'activation d'une molécule d'eau, qui sert de médiateur à la réaction nucléophile. Liaison peptidique scissile (YEGIN ET DEKKER, 2013).

### II.1.2.3.2. Structure secondaire et tertiaire

La structure secondaire est à 13 % hélicoïdale (9 hélices, 44 résidus) et à 48 % de feuillet (29 brins, 158 résidus) (Andreeva N. 1991). cité par (UNIACKE-LOWE *et al*, 2017). La protéine contient trois disulfures (Cys 47 -Cys 52, Cys 207 -Cys 211 et Cys 250 -Cys 283) et une cis -proline (Pro 25), qui est conservée dans la mucorpepsine, l'endothiapepsine et la pepsine porcine (FARAH Z. 1993)

Une illustration de la structure tridimensionnelle de la chymosine est présentée sur (figure 2). La molécule existe sous forme de deux domaines séparés par la fente du site actif dans laquelle les deux résidus aspartyl catalytiquement actifs (Asp 32 et Asp 215 Fig. 3) sont situés avec leurs chaînes latérales orientées vers la fente. La fente active peut accueillir ~ 7 résidus de la séquence caséine (UNIACKE-LOWE *ET AL*, 2017).



**Figure 2 : Représentation schématique des structures secondaires et tertiaires de la chymosine (UNIACKE-LOWE ET AL, 2017).**

En Bleu montrant la fente du site actif dans laquelle s'insère la séquence comprenant les résidus d'acides aminés 102-108 de la caséine  $\kappa$  ((a) (FOLTMANN, 1987) ; cité par (UNIACKE-LOWE *ET AL*, 2017).

La distance entre l'oxygène carboxyle des deux résidus Asp est de 3,1 Å. Le groupe carboxyle des résidus Asp est connecté via un réseau complexe de liaisons hydrogène et un certain nombre de molécules d'eau dans l'environnement immédiat de la fente du site actif (GILLIANN *ET AL*, 1990) cité par (UNIACKE-LOWE *ET AL*, 2017).

Dans la structure tertiaire, deux résidus thréonine adjacents, Thr 35 et Thr 217, sont liés l'un à l'autre par l'oxygène de la chaîne latérale et l'azote de la chaîne principale, tandis que leurs chaînes latérales sont dirigées dans la poche hydrophobe vers la «poignée du pompier» (UNIACKE-LOWE *ET AL*, 2017). (figure 3).

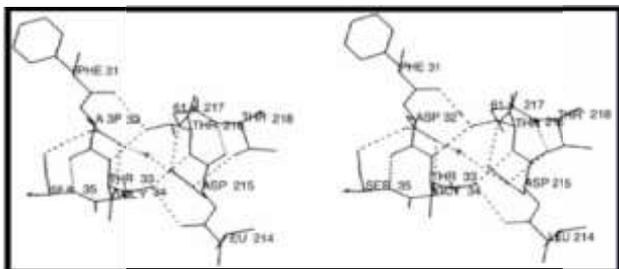


Figure 3 : La "poignée du pompier" du côté actif de la chymosine (NEWMAN ET AL, 1991).

Les liaisons hydrogène (lignes brisées) impliquées sont Thr216N..

Thr33(2.8Å), Thr33...Lys214O(2.7Å), Thr33N...

Thr216(2.9Å) et Thr216.Phe31O(2.8Å). D'autres liaisons hydrogène contribuant à la stabilité de Asp32 et Asp215 sont également représentées (NEWMAN *et al.*, 1991). C'est-à-dire que l'oxygène de la chaîne latérale d'un Thr est lié à l'azote de la chaîne principale du Thr correspondant, ce qui confère une stabilité structurelle supplémentaire au site catalytique (figure 4) (UNIACKE-LOWE ET AL, 2017).

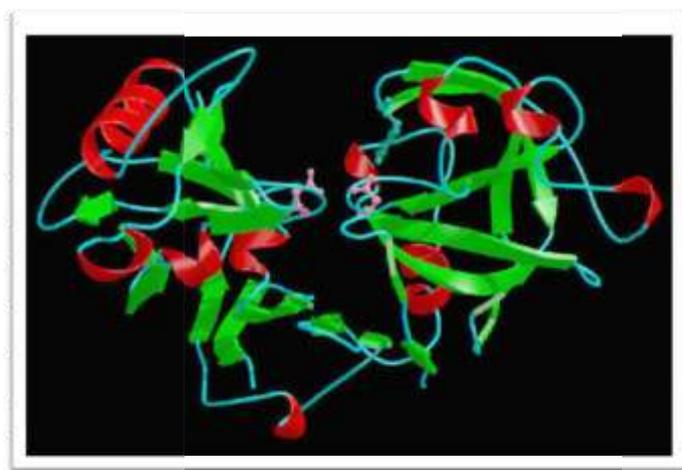
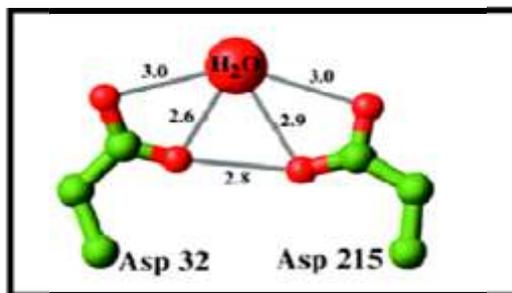


Figure 4 : structure tridimensionnelle de la chymosine bovine (ABREU DA SILVA, 2004).

### II.1.2.3 Site actif

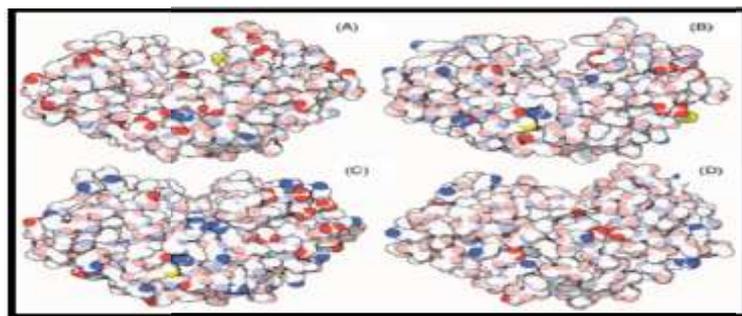
## Chapitre Etude Bibliographique

Le site actif est composé de la triade hautement conservée des résidus acides aspartique, thréonine et glycine pour chacun des lobes de l'enzyme. Les deux résidus d'acide aspartique du site actif Asp32 et Asp215 se trouvent à la base du sillon (figure 5). Les chaînes latérales de ces deux résidus sont impliquées dans de nombreuses liaisons hydrogène. La spécificité de la chymosine est également une conséquence de la structure des sites d'interaction avec le substrat. Nous pouvons citer l'importance du résidu Tyr75 situé sur une anse externe mobile qui recouvre le sillon du site actif, faisant partie des sites S1 à S'1 (NEWMAN *et al.*, 1991).



**Figure 5:** Structure par rayon X de la pepsine porcine. Vue agrandie des résidus Asp du site actif avec la molécule d'eau qui leur est liée (VIOQUEM., 2000).

Le site actif (figure 6) est tapissé de résidus chargés négativement et positivement ainsi que de résidus hydrophobes formant ainsi des sous-sites S1-S4 et S'1-S'4 (ANDREEVA N.S., RUMCH L.D. 20014)



**Figure 6:** Exemples de quatre aspartyl-protéinases montrant la profondeur de la fente du site actif. (A) Pepsine porcine (entrée PDB 5PEP) ; (B) chymosine (entrée PDB 4CMS) ; (C) cathepsine D (entrée PDB 1LYB) ; et (D) endothiapepsine (entrée PDB 4APE) (GOODSELLET AL, 2015)

## *Chapitre Etude Bibliographique*

---

Numérotation de la pepsine) crée des liaisons hydrogènes supplémentaires et offre une stabilité supplémentaire pour la prise du pompier (CAROL L., VIGNOLA, 2002).

La rigidité de la géométrie du site actif est essentielle pour l'activité des protéases aspartiques (UNIAQUE-LOWE ET AL, 2007) Elles sont également sensibles aux composés diazocétone tels que l'ester méthylique de diazoacétyl-dl-norleucine (DAN) et le 1,2-époxy-3-(p-nitrophénoxy)propane (EPNP) en présence d'ions cuivre (ANDREEVA N.S., RUMCH L.D .2014)

### **II.1.3 Mécanisme de la coagulation enzymatique**

Le mécanisme d'action de la présure est assez bien établi et comporte deux phases :

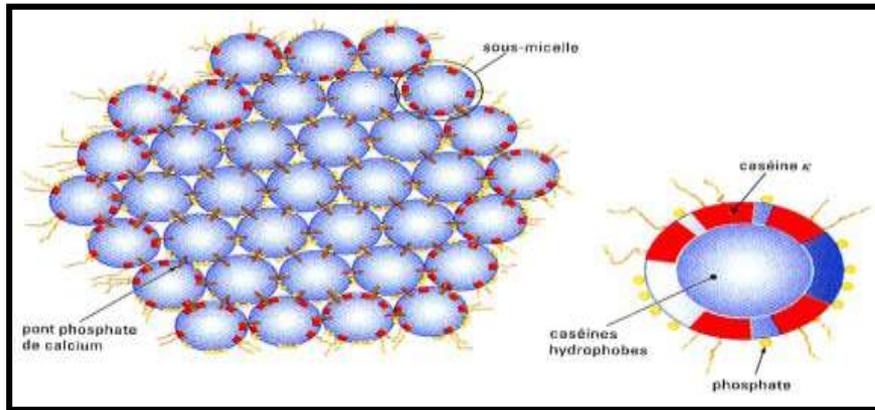
La phase principale ou enzymatique, correspond à une attaque de l'enzyme sur la composante qui stabilise la micelle (Figure 7) c'est à dire que l'enzyme hydrolyse la caséine K au niveau de la liaison PHE<sub>97</sub> MET<sub>98</sub>. La chaîne peptidique se trouve ainsi coupée en deux segments inégaux, le segment 1-97 est la para caséine K et le segment 98-169 .

Le caséineomacropéptide (CMP), la para caséine-K liée aux caséines  $\alpha$  et  $\beta$  reste ingérée à la micelle hydrophobe et le CMP contenant tous les glucides est libérée et passe dans le lactosérum lors de libération de CMP, il se produit une diminution importante de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation (Figure 8).

Alors la phase secondaire dite d'agglomération.

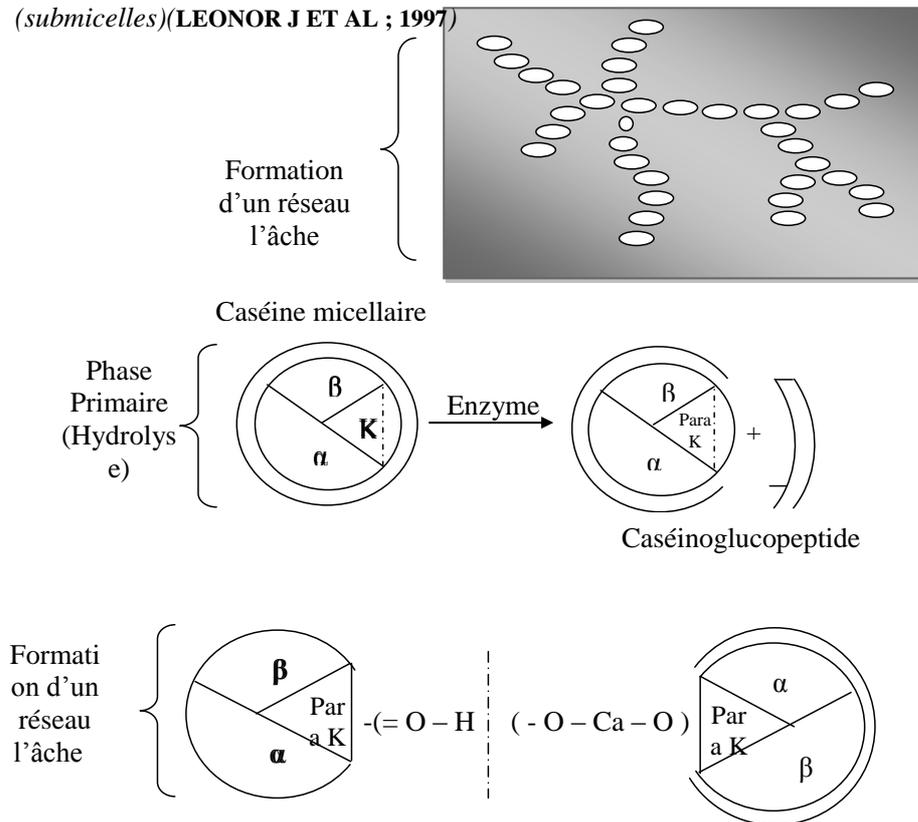
Les micelles déstabilisées peuvent se rapprocher et former des lins hydrophobes. (Figure 9). Les ions calcium s'uniraient à la partie chargée négativement des micelles, diminuant ainsi les répulsions électrostatiques auxquelles sont soumises et favoriseraient ainsi leur agrégation. Cette phase est facilement observable par la formation du gel.

Le mécanisme de la coagulation enzymatique est décrit en trois phases (Figure 10).



**Figure 7:** Modèle de micelle de caséine avec sous-unités

(submicelles)(LEONOR J ET AL ; 1997)



**Figure 8 :** Phase de la coagulation enzymatique du lait et formation du réseau (ALAIS, 1984 ; MEITTON, 1995).

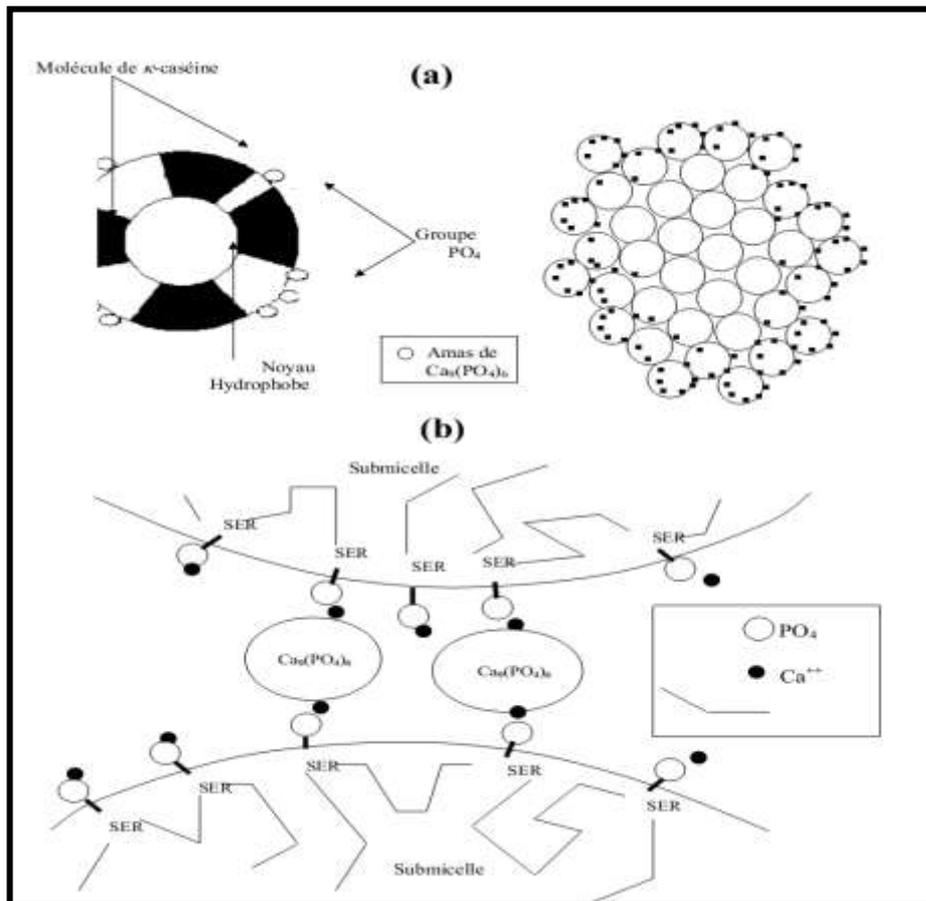


Figure 9: Modèle d'organisation moléculaire de la micelle de caséine bovine selon(VEISSEYRE R., 1979)

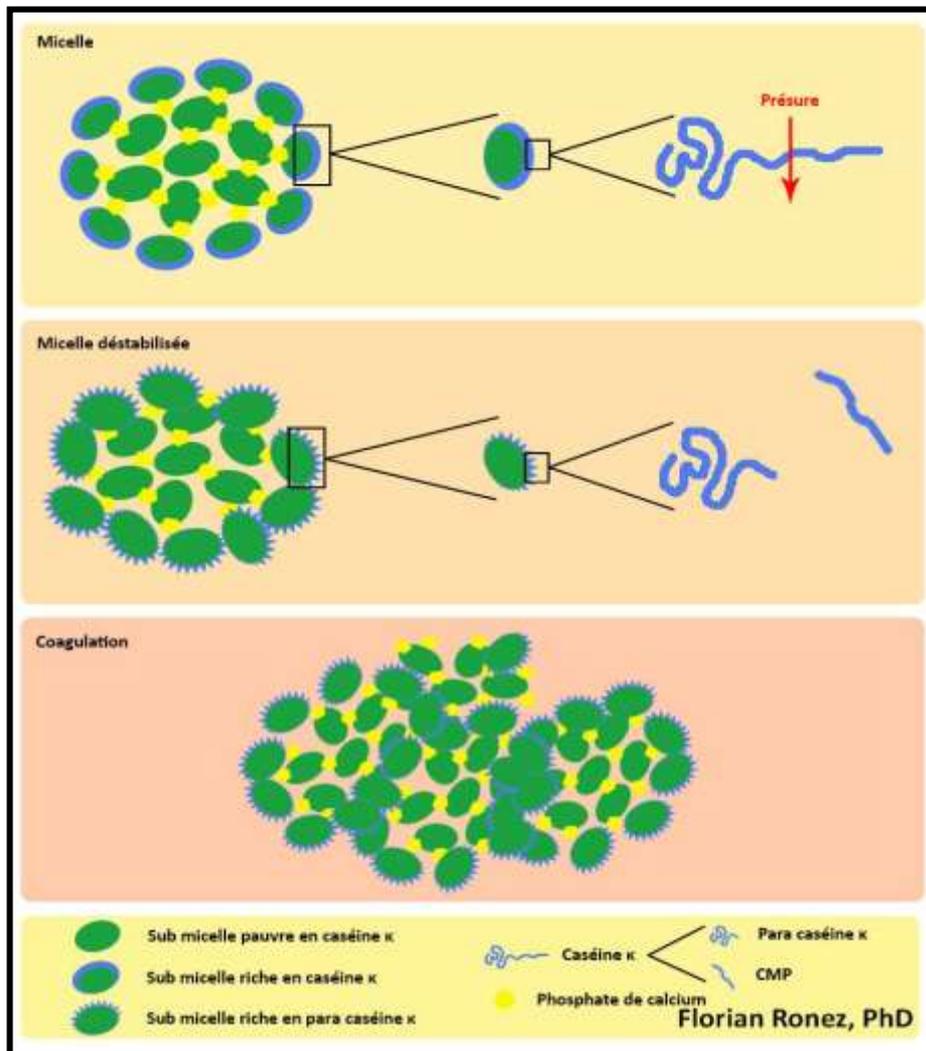


Figure 10: Le mécanisme de coagulation. (TANG ;2010).

### II.1.3L'extractionetpurificationdesenzymescoagulantes

Le processus de la coagulation est provoqué par l'action d'un coagulant, ajouté à un taux bien défini au lait de fabrication, lui-même à une température et un pH précis. Le coagulant traditionnel, la présure, est extrait de l'estomac du jeune veau ou du lait.

**Tableau2: techniques d'extraction et purification des différents coagulants**

Originedel'espèce	Extraction	Purification
Végétale C.cardunculus	Précipitation au sulfate d'ammonium	Chromatographie de permeation
Végétale Calotropis procer	Mise en suspension 10 g de fleurs, préalablement broyées, dans 90 ml d'eau pendant 30 minutes.	Filtration sur membrane (cheese cloth) + centrugation à 6934 000 tours/minute Pendant 10 minutes.
Microbienne Bacillus licheniformis BI 312	Précipitation au sulfate d'ammonium	Chromatographie sur colonne de DEAE sepharose dans du tampon tris HCl 20Mm PH 7.
Microbienne Bacillus amyloliquefaciens GSBa-1	Extraction acide dans du Tris- HCl 50 mM (pH 6,8)	Chromatographie sur Colonne (DEAE Fast Flow (50 cm × 2 cm)
Animale Pepsine de poulet	Précipitation au sulfate d'ammonium	Chromatographie d'exclusion(sephadex)
Animale Présure Porcine	Extraction acide dans du Tris- HCl	Chromatographie d'exclusion.
Recombinante Rhisopus oryzae	Extraction acide dans du tris	chromatographie d'exclusion.
Recombinante Kluyveromyces lactis.	Extraction acide dans du Tris- HCL	Chromatographie sur colonne (sepharose) centrifugé à 6000xg A 4°C pendant 20min.

### **III. Facteurs de la coagulation**

De Nombreux facteurs sont susceptibles de modifier la coagulation du lait et les caractéristiques physiques des coagulums. Ces facteurs sont principalement liés à la concentration en enzyme, à la température, au pH, à la teneur en calcium, à la teneur en caséines et à la dimension des micelles.

- 1- Concentration en enzyme : la concentration en enzyme est inversement proportionnelle au temps de coagulation. Cependant, elle est proportionnelle à la vitesse d'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  (phase enzymatique) et à la vitesse d'agrégation des micelles (phase physique).
- 2- Température : la température optimale d'activité de la chymosine et de la pepsine est de 40-42°C. A cet intervalle de température, le temps de floculation est minimal, puis augmente aux températures plus élevées et devient nul à 65°C où la présure est inactivée. On note que le temps de raffermissement du gel diminue avec l'élévation de la température.
- 3- pH : en passant de pH 6,7 à 5,6, la vitesse de coagulation est accrue. Ceci résulte d'un accroissement de la vitesse d'hydrolyse et par suite une augmentation de la vitesse de raffermissement du gel. La fermeté est significativement importante de pH 6,6 à pH 6,0 due à une plus grande disponibilité du calcium ionisé. Au-dessous de pH 6,0, la caséine se déminéralise et la désagrégation de la structure micellaire est accentuée jusqu'à devenir totale à pH 5,2. Il en résulte un affaiblissement du réseau.
- 4- Teneur en calcium : la réticulation du gel lors de la coagulation du lait par la présure, impliquant des liaisons phosphocalciques, est particulièrement influencée par la teneur et la nature du calcium présent. L'addition du CaCl<sub>2</sub> entraîne une augmentation du calcium ionisé et du calcium colloïdal ayant pour conséquence un temps de coagulation plus court et une fermeté du gel plus élevée.
- 5- Teneur en caséines : la vitesse d'hydrolyse enzymatique est proportionnelle à la teneur en protéines. Ainsi, la vitesse d'agrégation et la fermeté des gels augmentent avec la teneur des caséines.
- 6- Dimension des micelles : la relation entre les dimensions des micelles et le temps de coagulation est proportionnelle. Pour les micelles de faible diamètre, riches en caséine  $\kappa$ , la vitesse d'hydrolyse est plus rapide (ANDREEVA N.S., RUMCH L.D .2014)

### **III.1 Evaluation de la coagulation**

Les critères utilisés pour évaluer la coagulation sont l'activité coagulante et le temps de floculation

#### **III.1.1 Temps de floculation (temps de prise)**

Le temps de prise ou durée de prise est le temps qui s'écoule entre l'emprésurage et le début de la floculation, c'est-à-dire, gélification apparente du lait (LUQUET 1981)

#### **III.1.2. Activité coagulante :**

L'activité coagulante est définie par l'unité présure (UP). Selon Berridge, cette unité correspond à la quantité d'enzyme contenue dans 1 centimètre cube, qui peut coaguler 10 centimètres cubes de substrat standard en 100 secondes à 30°C (ALAIS, 1984).

Il existe aussi l'unité Soxhlet qui correspond au nombre d'unité de poids ou de volume de lait qui peuvent être coagulés par une unité de poids ou de volume de préparation coagulante en 40 min et à 35°C (ALAIS, 1984 ; RAMET, 1997b).

# ***CHAPITRE II***

## ***Matériel et Méthodes***

## II. Matériel biologique

### I.1. Laitscamelin et bovin

#### I.1.1. Lait de chamelle

Il s'agit des échantillons du lait collecté, pendant la saison de printemps à partir de troupeaux de dromadaire (*Camillus dromedarius*) de la population sahraouie en élevage extensif dans des parcours naturels de régions d'Ouargla. Il est acheminé dans une glacière au laboratoire d'université. Ces échantillons sont ensuite congelés à -18 °C jusqu'à leur utilisation. A l'arrivée, une mesure de pH, densité, et acidité titrable sont réalisées.

c en majuscule :[3s]Commentaire

:[4UW]Commentaire

#### I.1.2. Lait de vache

Le lait de vache utilisé à titre comparatif est un mélange issu de traite du matin de vache en stabulation dans une ferme située dans la ville d'Ouargla. Il est recueilli proprement. Les échantillons de lait sont conservés à 4°C et transportés aussitôt au laboratoire où ils sont analysés. Aussi doit être mesure de pH, densité, et acidité titrable sont réalisées.

### I.2. Caillette de dromadaire

Elle est obtenue après abattage des dromadaires âgés de 1,2,4 ,6 et 8 ans, la dernière partie du quatrième compartiment de leur estomac est récupérée, puis transportée au laboratoire d'université pour subir une extraction enzymatique.

**Tableau 03:** Extraits coagulants du dromadaire selon leur âge.

dromadaire	A	B	C	D	E
Ages	1ans	2ans	4ans	6ans	8ans

### I.3. Enzymes coagulantes

Pepsine bovine, présure bovine.

## II. Méthodes analytiques

### II.1. Les méthodes pour les analyses physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques mesurés sont.

#### II..1.1. pH

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH mètre par la méthode potentiométrique. Le principe repose sur la mesure directe du pH à l'aide d'électrode plongée dans un erlenmeyer

contenant 100ml de lait à 25°C préalablement étalonné avec une solution tampon. La valeur affichée sur l'écran de l'appareil est le pH du lait à 25°C.

### II.1.2. La densité

La densité est déterminée à l'aide de d'un densimètre, sur le lait maintenu au repos. Le principe consiste à plonger un densimètre dans une éprouvette de 250 ml rempli de lait à analyser. Lorsqu'il stabilise, une lecture directe donne le résultat.

Plongé le densimètre dans le lait qu'est versé dans éprouvettes et qu'est stabilisé à la température d'utilisation de l'appareil (20 C°) en évitant que celui-ci flotte sur les parois du récipient et en évitant la formation des bulles d'air. Attendre une minute avant d'effectuer la lecture qui doit être faite à la partie supérieure du ménisque.

### II.1.3. Acidité titrable

- La mesure de l'acidité titrable du lait est réalisée selon la méthode normalisée. Celle-ci consiste en la mesure du volume de la solution de NaOH (0.1N) nécessaire à la titration de l'acidité du lait, en présence de phénophtaléine comme indicateur (GUILLOU *et al*, 1986).

. La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante:

$$A = 10 (V/V'). (g/l)$$

A : quantité d'acide lactique en (g/l).

V : volume de la solution de NAOH utilisé (ml).

V' : volume de l'échantillon (ml).

Pour obtenir l'acidité titrable en degrés Dornic (D°), on multiplie la valeur de A par 10.

### II.1.4. La matière sèche totale

L'ensemble des composants du lait à l'exception de l'eau et des gaz dissous, constitue la matière sèche totale ou, expression courante mais impropre extrait sec total (ANDREEVA N. 1991) la matière sèche totale du lait est le produit résultant dessiccation du lait. Cette dessiccation est obtenue par évaporation de l'eau, au bain marie bouillant puis passage à l'étuve à 103±2°C pendant 3heures d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu (AFNOR, 1980)

### II.1.5. Taux de cendres

La détermination de la teneur en cendres du lait de dromadaire est réalisée selon la méthode rapportée par AFNOR, 1980.

Elle consiste à peser au milligramme près le résidu issu de l'incinération à 530 ± 30°C durant 3 heures de la matière sèche obtenue par la méthode précédemment décrite le résultat obtenu correspond à la teneur en cendre du lait exprimée en (g/l).

## II.2. Qualité microbiologique du lait camelin

L'appréciation de la quantité microbienne du lait de dromadaire est réalisée par le test de réductase rapporté par BEERENS et LUQUET, (1987).

Il s'agit de la mesure de temps de décoloration de lait additionné du bleu de méthylène et incubé au bain marie à 37 °C.

La décoloration due au métabolisme bactérien, évolue à une vitesse proportionnelle au nombre de germes dans le lait (GUIRAUD, 1998).

De ce fait, la durée de la décoloration nous permet de quantifier approximativement la population bactérienne du lait et par conséquent sa quantité microbienne.

**Tableau 4 : Grille d'appréciation de la quantité microbienne du lait (BERRENS et LUQUET, 1987).**

Durée de décoloration (Heures)	Nombre de germes Germes/ml	Quantité microbienne du lait
Supérieur à 5 heures	100.000 à 200.000	Bonne
De 2 à 4 heures	200.000 à 2 millions	Bonnes à passable
Inférieur à 2 heures	2 à 10 millions	Insuffisante

TABLEAU NON :[5s]Commentaire  
annoncé dans le paragraphe correspondant

## II.3. Préparation des extraits enzymatiques coagulants de dromadaire

Cette préparation est réalisée selon la méthode de cité par (VALLES et FURET, 1977). Elle se fait selon les étapes suivantes:

### ❖ Préparation de caillettes

Les caillettes de dromadaires sont lavées à l'eau du robinet, dégraissées, puis coupée en fins morceaux et congelées à -18°C.

### ❖ Extraction

Cette étape consiste en la macération d'un poids de caillette dans un volume ( $V = 1.25p$ ), d'une solution de Hcl (0.2 M) à une température du 42°C pendant 60 minutes, après filtration du mélange on obtient l'extrait brut total.

### ❖ Clarification

Dans cette étape les extraits bruts totaux sont clarifiés par l'ajout de 1% (V/V) d'une solution de  $Al_2(SO_4)_3$  (1M) et de 5% (V/V) d'une solution de  $Na_2(SO_4)$  (1M) à une

température de 42°C. Après filtration, nous obtenons des extraits clarifiés de couleur jaune plus ou moins limpide.

❖ **Concentration de filtrat**

Après la filtration nous prenons un poids donné de macération clarifiée auquel nous ajoutons deux fois son poids, d'une solution saturée de Na Cl qui contient 1% (P/P) d'acide chlorhydrique concentré (HCl)  $d = 1.19$ ).

Le mélange est agité et laissé au repos pendant 1 heure puis il subit à une centrifugation 2100 g pendant 20 min, le surnageant est jeté et on note le poids du précipité humide. Nous ajoutons à ce dernier un volume d'eau distillée à raison de 10% (P/V) pour dissoudre, sans agitation.

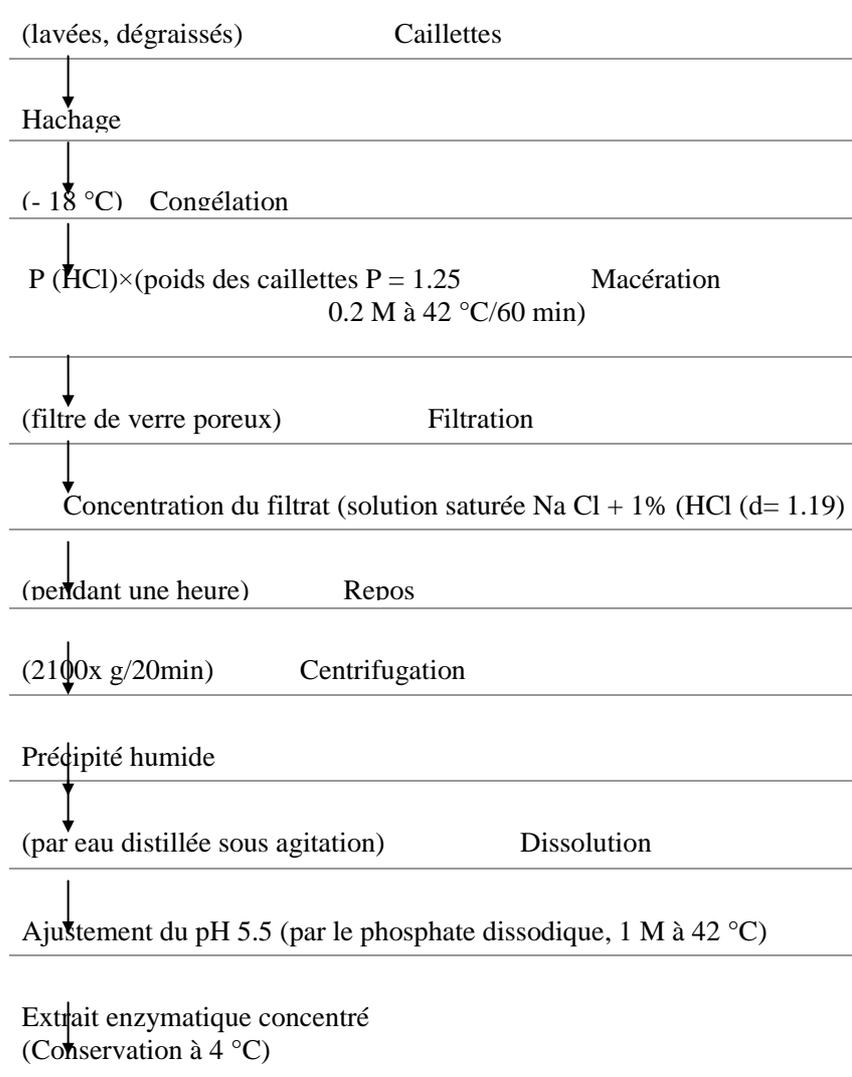
❖ **Ajustement du pH**

A travers cette étape, il s'agit de l'augmentation de pH des extraits clarifiés jusqu'à une valeur finale de pH 5.5, en utilisant une solution de  $\text{NaHPO}_4$  (1M).

❖ **Conservation et le stockage**

La conservation des extraits coagulants est réalisée par l'ajout de quelques grains de thymol, et de 10% (V/V) d'une solution de Na Cl à 10% (P/V).

En fin, leur stockage est effectué à +4°C dans des bouteilles stérilisées.



**Figure 2:** protocole d'isolement des extraits enzymatiques à partir des caillettes issues de dromadaire (VALLES et FURET, 1977)

#### II.4. Détermination de la teneur en protéines des ECD

La détermination de la teneur en protéines des extraits coagulants de dromadaires est effectuée par la méthode de Lowry *et al.*, 1951. Cette méthode consiste en une réaction d'oxydoréduction entre un réactif de folin ciocalteu (acide phosphomolybdique et phosphotungstique) et les acides aminés tyrosines tryptophane et cystéine des protéines.

Le développement maximal de la coloration se fait au moyen d'un traitement par une solution alcaline (NaOH) contenant du cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ). La lecture de l'absorbance est faite à 750 nm pour le maximum est proportionnelle à la concentration en protéines. Cette méthode est très sensible (5 à 100 µg/ml de protéines) n'a cependant pas été très utilisée pour les analyses d'aliments mais peut être beaucoup plus utile pour les extraits protéiques. La teneur en protéines en (µg/ml) est obtenue grâce à une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant le sérum albumine bovine (BSA) dans les mêmes conditions expérimentales.

#### II.5. La caractérisation des extraits coagulant gastrique de dromadaire

##### II.5.1. Activité coagulante

La mesure de l'activité coagulante est effectuée pour les extraits coagulants de dromadaire à l'état brut, selon la méthode de BERRIDGE, 1945 modifiée par COLLIN *et al* (1977) cités par BENGANA (2002).

Elle consiste à ajouter 1 ml d'extrait coagulant à 10ml de substrat, puis noter le temps de coagulation à 30°C.

A travers cette mesure, une unité d'activité enzymatique (UP) est définie comme la quantité d'enzyme active qui coagule 10 ml de substrat en 100 seconds à 30°C.

$$UP = (10 \times V) / (tc \times Q)$$

UP : unité présure

V : volume de substrat standard d'utiliser.

Q : volume d'extrait coagulant utilisé (ml)

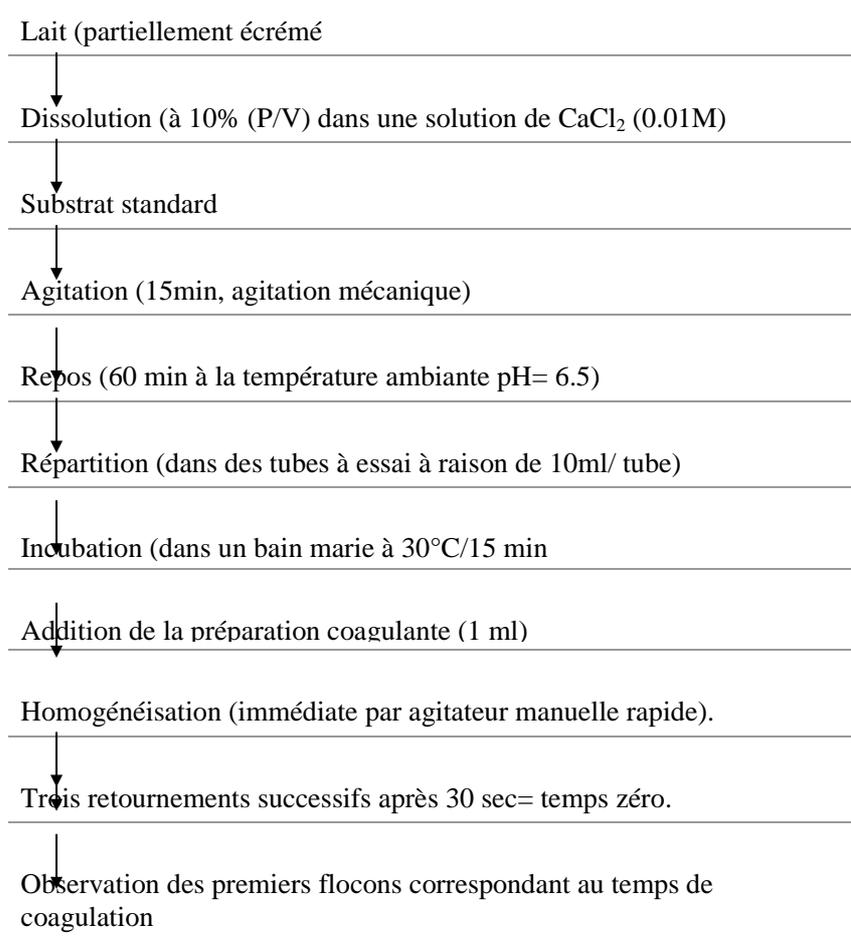
tc : temps de coagulation (s)

L'activité coagulante peut être également exprimée en force coagulante de SOXHLET et celle-ci est liée à l'unité présure par la formule suivante :

$$F = UP / 0.0045$$

F : la force coagulante de SOXHLET

UP : unité présure



**Figure 12: mesure du temps de coagulation par la méthode de BERRIDGE (1945) modifié par COLLIN et al (1977).**

## II.5.2. L'activité protéolytique

La mesure de l'activité protéolytique d'extraits coagulants de dromadaire est réalisée par l'évaluation de la protéolyse développée suite à l'action de ces extraits sur les caséines du lait de chamelle ou bovin en solution.

L'hydrolyse enzymatique de ce substrat, abouti à la libération de peptides à faible poids moléculaire, qui sont séparés des protéines non hydrolysées par l'ajout de l'acide trichloracétique (TCA) à 12% (P/V).

A cette concentration, le TCA permet la défécation de tous les peptides en ne laissant en solution que ceux à faible poids moléculaire (GRIPON *et al* 1977, HESSAS 2001).

Après filtration, la mesure de l'absorbance à 280 nm permet d'apprécier la richesse en peptides du filtrat obtenu, celle-ci étant proportionnelle à l'activité protéolytique.

Afin d'étalonner le spectrophotomètre, un échantillon est préparé pour servir de témoin dans ce dernier la réaction enzymatique est empêchée par l'ajout de TCA avant l'addition de préparation coagulante.

L'évaluation de l'activité protéolytique des extraits coagulants de dromadaire est réalisée selon la procédure suivante :

• **Préparation de substrat**

Elle est effectuée par :

❖ **Ecrémage**

Le lait est porté au bain marie à une température de 30 à 35 °C. il est légèrement pour favoriser la remontée de la matière grasse (MG) en surface puis centrifugé à 3500 × g pendant 20 min et filtré sur la laine de verre. L'opération est refaite d'encore une fois pour l'élimination totale de la matière grasse.

❖ **Séparation des protéines du lait**

Les caséines sont précipitées à pH 4.3 comme préconise par WONGOHO *et al* 1998 avec du HCl (4N). Elles sont ensuite séparées des protéines solubles qui restent en suspension par centrifugation à 4000 × g/30 min.

Cette opération est répétée deux fois pour éliminer toutes traces de caséines et de protéines de lactosérum respectivement dans le surnageant et le précipité.

**❖ Dialyse**

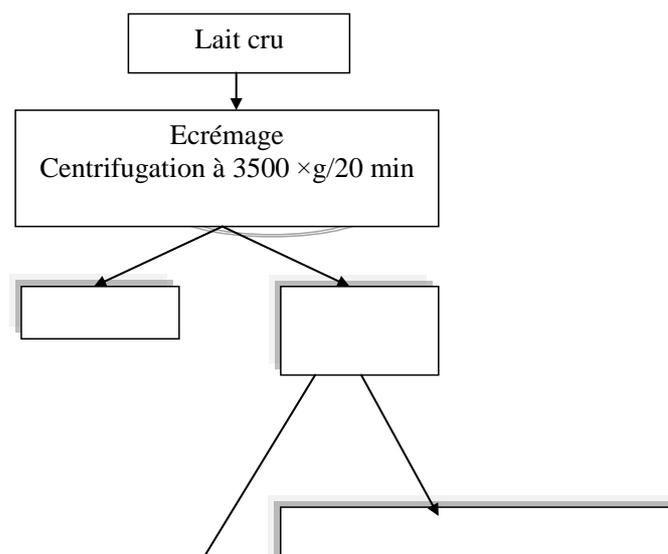
Les échantillons de protéine totale du lait de caséine et de lactosérum sont dialysés contre l'eau distillée à 4 °C pendant 48 à 72 heures, à fin d'éliminer les composés azotés non protéiques (NPN), le lactose et les sels minéraux, le seuil d'exclusion des membranes utilisées est de 10.000 Da.

**❖ Congélation**

Après la dialyse, les échantillons de protéines sont mis en fine couche liquide dans des coupelles, puis congelés sous cette forme à - 20 °C.

**❖ Lyophilisation**

Les échantillons protéiques sont déposés sur le plateau de la lyophilisation probablement congelé celui-ci permet par sublimation, le passage de l'eau directement de l'état solide à l'état gazeux, grâce au fonctionnement de deux pompes (à vide et à froid), les protéines sont alors récupérées sous forme lyophilisée qui peut être conservée dans le réfrigérateur (+ 4°C) pendant une période relativement longue.



**Figure 3 : Protocole d'isolement des protéines totales, caséines et protéines sériques du lait de chamelle SCHAMET et al 1992, cité par HESSAS, 2001**

**Détermination de l'activité protéolytique d'ECD brute**

❖ L'ajustement de l'activité coagulante

Elle consiste en la dilution des extraits coagulants par l'eau distillée jusqu'au niveau qui permet d'obtenir un temps de coagulation fixe à 15 minutes.

❖ **Hydrolyse enzymatique**

Elle est réalisée par l'incubation à 35°C pendant 60 minutes d'un volume de 1ml de substrat caséinique additionné de 1ml d'extrait coagulant de dromadaire dilué.

❖ **Blocage de la réaction enzymatique**

Après 60 minutes l'hydrolyse enzymatique est arrêtée par l'ajout de 5ml de TCA à 12% (P/V).

Les mêmes méthodes sont faites avec la pepsine et la présure bovines (0.04%).

• **Mesure de la protéolyse**

Après un repos de 15 minutes à la température ambiante, le mélange obtenu précédemment est filtré sur du papier filtré puis l'absorbance du filtrat à 280 nm est mesurée grâce à la spectrophotométrie visible.

## **II.6. La coagulation enzymatique du lait de dromadaire**

A fin d'étudier la possibilité d'utiliser l'extrait coagulant gastrique de dromadaire (ECD) dans le but de coaguler le lait de chamelle et de vache, nous avons utilisé des préparations enzymatique (ECD<sub>1</sub>, ECD<sub>2</sub>, ECD<sub>4</sub>, ECD<sub>6</sub>, ECD<sub>8</sub>, pepsine et présure bovines) dans les mêmes conditions du pH et de température.

## **II.7. Analyse statistique des résultats**

La signification des essais a été analysée pour les paramètres (pH, densité, acidité titrable, la matière sèche totale, cendre, et (tfv/tfc) en utilisant un logiciel statistique.

## **II.8 Fabrication d'un fromage**

Les étapes suivies pour la fabrication d'un fromage au lait Les conditions expérimentales optimales de cette fabrication sont illustrées par AFNOR (1980)

# ***CHAPITRE III***

## ***Résultats et discussions***

### **I. Etude d'effet des extraits de caillettes de dromadaires**

Les extraits enzymatiques issus de caillettes bovines n'ont pas toujours donné de résultats probants. Le lait camelin est réputé pour sa faible aptitude à la coagulation. Cette caractéristique assignée à sa composition qualitative et quantitative, notamment en caséines, se manifeste par des temps de floculation trop longs et par une faible consistance des gels obtenus.

L'utilisation des extraits enzymatiques issus de caillettes de dromadaires. Parmi les tentatives entreprises par plusieurs chercheurs pour contourner cette difficulté, il y a le choix de l'enzyme coagulante à utiliser. Nous avons évalué par la suite leurs activités coagulante et protéolytique.

#### **I.1. Obtention des extraits**

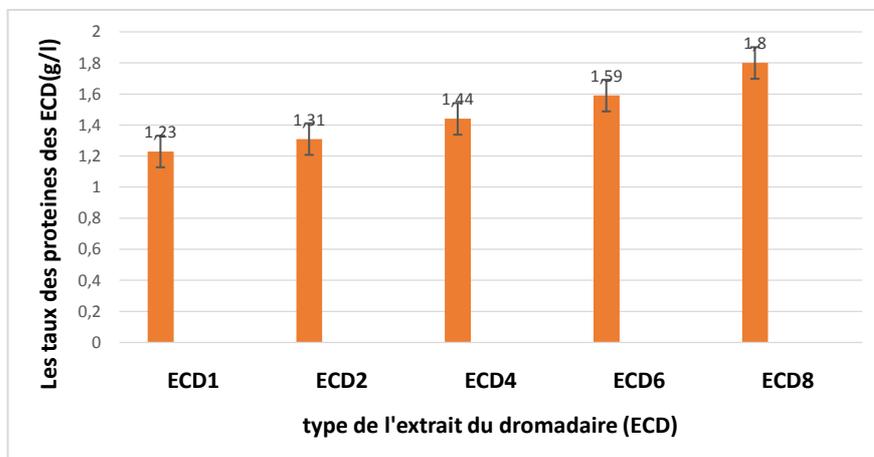
L'extraction a été menée en utilisant le protocole proposé par VALLES et FURET (1977) et destinée pour l'isolement des extraits bovins. Afin d'améliorer le rendement, en adaptant cette méthode.

A des conditions du milieu : milieu acide (HCl à 0,2 M) et à température de 42°C/60min. Cinq extraits (ECD1, ECD2, ECD4, ECD6 et ECD8) issus respectivement d'animaux âgés de 1, 2, 4, 6 et de 8 ans ont été obtenus.

Le rendement du macéra humide est d'environ 32% (A partir de 100g de caillette).

Le rendement varie avec le changement des conditions de macérations

Les taux moyens des protéines exprimés en (g/l) de ces extraits sont donnés dans le Figure 14.



**Figure 4: Quantité de protéines contenues dans chaque ECD**

D'après ces résultats, on constate que la teneur en protéines des ECD est proportionnelle à l'âge du dromadaire dont ils sont issus. La faible teneur est obtenue avec l'ECD1 (1.23g/l) et la plus grande avec l'ECD8 (1.80g/l), sachant que les ECD sont préparés dans les mêmes Conditions expérimentales.

On conclut que la muqueuse gastrique contient une quantité très importante des protéines et il semble qu'il y ait une relation proportionnelle entre la concentration des ECD en protéines et l'âge des dromadaires.

Les teneurs protéiques des extraits ont tendance à augmenter en fonction de l'âge de l'animal.

## **I.2. Evaluation de l'activité enzymatique des extraits bruts :**

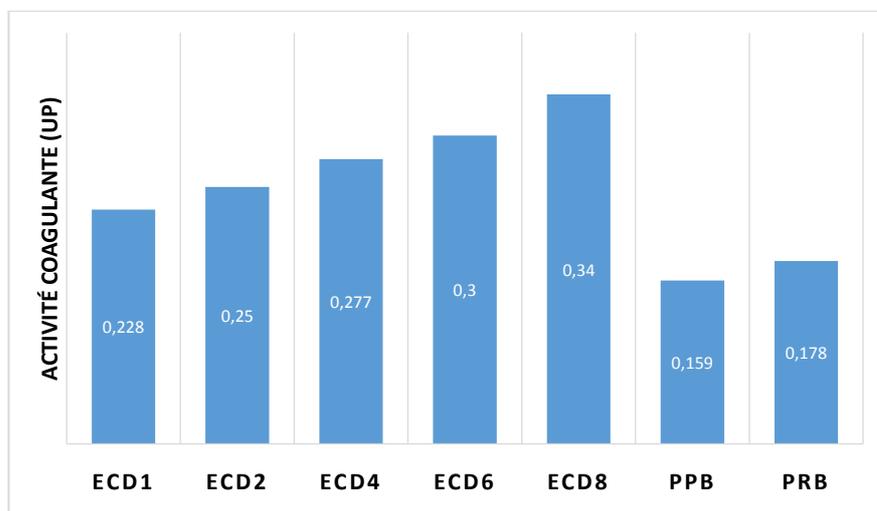
Les extraits bruts sont évalués à travers leurs activités coagulante et protéolytique.

### **I.2.1. Mesure de l'activité coagulante**

D'après SIBOUKEUR ET AL, (2007) l'activité coagulante varie d'un extrait à l'autre, bien que souvent dans les mêmes conditions de préparation et ne se différencie que par l'âge des dromadaires dont proviennent ces extraits.

La présure issue d'extraits de chamelle et de bovin testés donne une activité supérieure à celle obtenue avec la pepsine.

Les extraies de la caillette de dromadaires les plus âgés (ECD8 et ECD6) caractérisée par l'activité coagulante (exprimée en UP) la plus élevée (0.34UP et 0.30UP) , elle est suivie de celle de l'ECD4 (0,277), de l'ECD2(0,025) et enfin de celle l'ECD1 (0,22). (Figure 15).



**Figure 5: Variation de l'activité coagulante (UP) en fonction de la nature de l'enzyme( substrat :lait de dromadaire)**

### I.2.2. Mesure de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique des ECD sur les deux substrats (lait camelin et bovin) n'a pas été effectuée.

### I.2.3. Mesure du temps de floculation des laits traités par les extraits bruts

Les résultats obtenus à une température de 37°C et à pH = 6.6 en fonction de la nature de l'enzyme et de la nature du substrat (figure 1) montrent que :

Le temps de floculation (**tf**) mesuré de lait camelin est inférieur à celui du lait de vache.

À l'exception à l'emploi de la pepsine.

Toutefois le temps de floculation (tf) mesuré pour les deux laitstraités avec lesextraits ECD6 et ECD8 (animal âgée) est inférieur à celui mesurée dans le cas des autres extraits ce qui révèle que le temps de floculation est inversement proportionnel avec l'âge de l'animal selon la diminution de l'âge de l'animal.

On conclut que l'utilisation des extraits de dromadaires âgés est plus adaptée pour coaguler le lait camelin et bovin.



Figure 6: Variation du temps de floculation des laits camelin et bovin en fonction de l'enzyme utilisée (ECD1, ECD2, ECD4, ECD6, ECD8, Ppb et Prb).

**ECD1**=extrait de dromadaire âgé de 1an ;

**ECD2**= extrait de dromadaire âgé de 2ans ;

**ECD4**=extrait de dromadaire âgé de 4ans

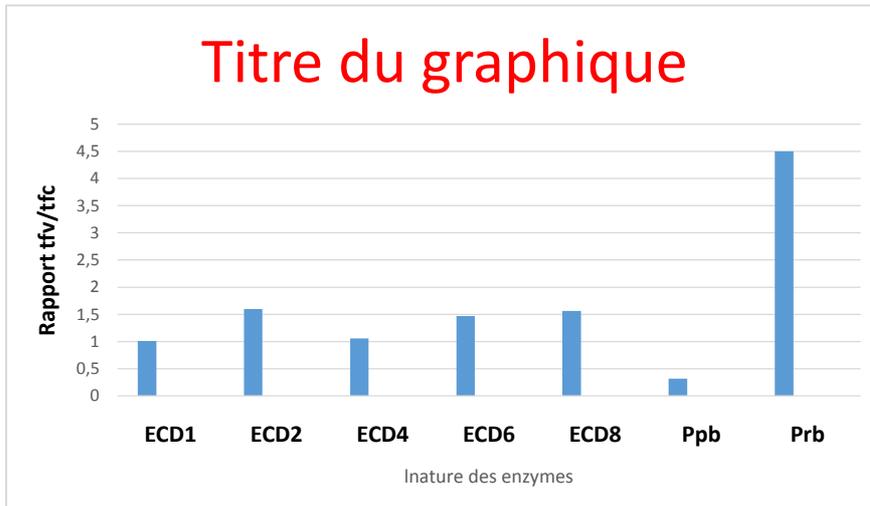
**ECD6**=extrait de dromadaire âgé de 6ans

**ECD8**=extrait de dromadaire âgé de 8ans

**Ppb**= pepsine bovine

**Prp** = présure bovine

Les analyses des mesures des rapports entre le temps de floculation du lait de vache et celui du lait camelin (tfv/tfc) ont montré que l'affinité des extraits de dromadaire (ECD) pour les deux substrats (lait bovin et camelin) est supérieur à 1 notamment les extraits extraits ECD6 et ECD8(âgés). Les résultats obtenus montrent que pour la pepsine bovine le rapport (tfv/tfc) est inférieur à 1, alors que celui de la présure bovine est supérieur à 1. Ce résultat confirme que les extraits coagulants issus de caillottes de dromadaires possèdent une affinité pour le lait bovin mais cette affinité est plus importante pour le lait camelin, notamment en utilisant les ECD âgés. (Figure 17).



??????? :[6s]Commentaire

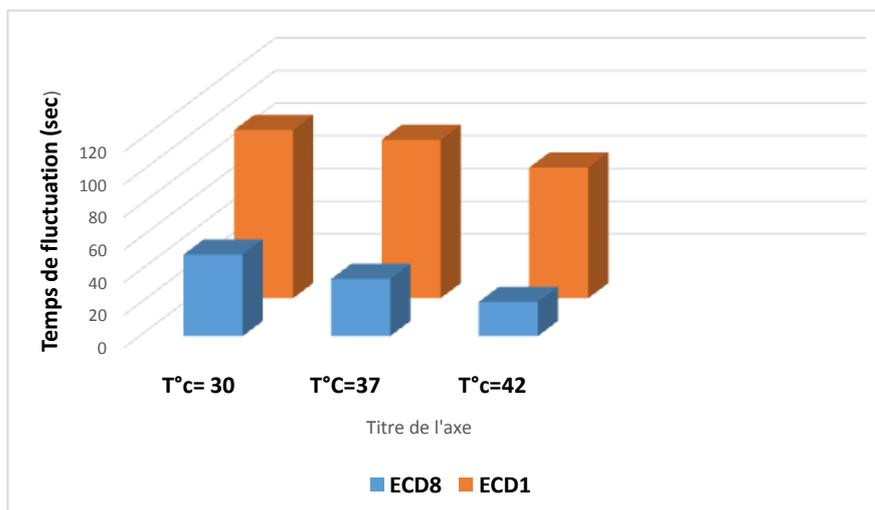
**Figure 17** : Rapport tfv /tfc Tfv=temps de floculation du lait de vache Tfc=temps de floculation du lait de chamelle

#### **I.2.4. Influence de la température de l'emprésurage sur le temps de floculation du lait camelin traité par les ECD**

La température a un effet considérable sur les protéines en générale notamment sur les enzymes.

L'élévation de la température (mesurée entre 30 et 42° C), s'accompagne d'une diminution du temps de floculation du lait traité par les ECD. Le temps de floculation le plus court est observé pour l'ECD8.

Donc La température de 42°C est optimale pour tous les ECD (Figure 18)



**Figure 18:** Variation du temps de floculation du lait de chamelle traités en fonction de la température.

### I.2.5. Influence de la température de l'emprésurage sur le temps de floculation du lait de vache traité par les ECD.

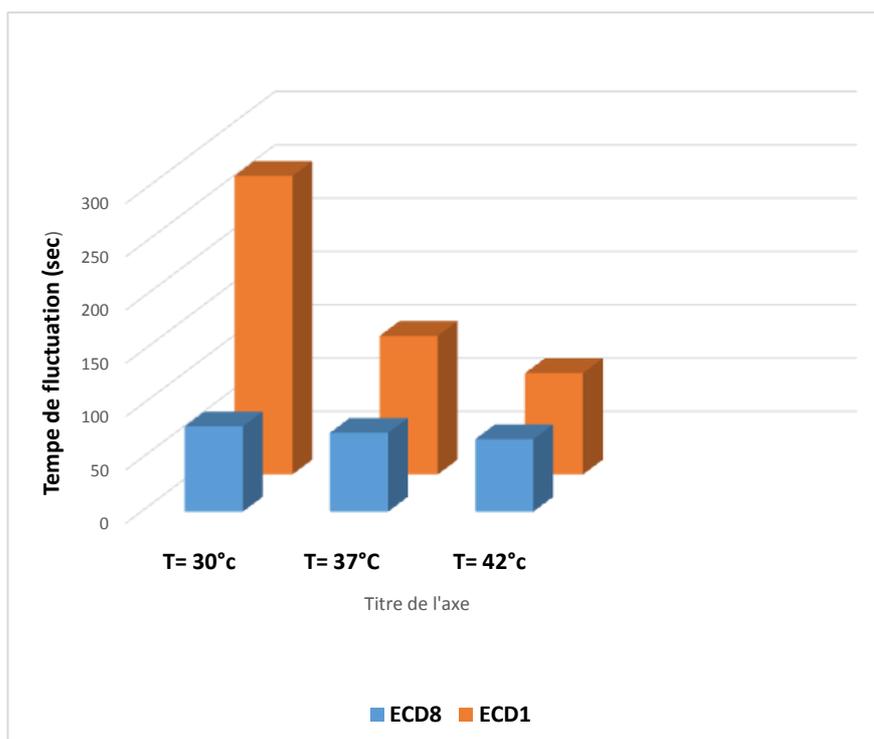
La réaction enzymatique et que l'activité des ECD varie avec la température.

Le temps de floculation le plus court est obtenu avec l'ECD8 (figure19).

Ce dernier présente un optimum d'activité à 42°C pour le lait de vache.

En fromagerie, l'effet favorable de la température sur l'activité coagulante de ces enzymes peut être mis à profit lorsque les conditions de coagulation le permettent. Ce qui permet de réduire la quantité d'enzyme ajoutée et par conséquent de réduire toute activité protéolytique ultérieure.

La coagulation du lait ne peut avoir lieu qu'à des températures supérieures ou égales à 18 °C. Cela est due à l'importance des interactions hydrophobes dans l'agrégation des micelles hydrolysées (BRINKHUIS ET PAYENS, 1984 ; LUCEY, 2002).



**Figure19: Variation des temps de floculation du lait de vache par les extraits coagulants en fonction de la température.**

## **II. Essai de fabrication d'un fromage au lait camelin et bovin en utilisant l'extrait coagulant de caillettes de dromadaire**

Etant donné que les extraits issus des animaux âgés (ECD6 et ECD8) sont les plus adaptés à la coagulation des deux substrats étudiés nous les avons sélectionnés pour fabriquer un fromage au lait camelin et bovin. Les étapes suivies dans cette fabrication. Les conditions expérimentales optimales de cette fabrication sont illustrées par la méthode de Berridge (1945) modifiée par COLLIN *et al* (1977).

## II. 1. Calcul du rendement fromager

Les résultats montrent que ces derniers sont satisfaisants, Le rendement fromager a été calculé à partir de 100 ml de chaque lait (Tableau 5).

**Tableau5: Variation du rendement fromager en fonction du type du lait et d'enzymes utilisés**

Les fromages	rendement fromager
E1= fromage au lait bovin traité par la présure commerciale (utilisé comme témoin)	28%
E2= fromage au lait bovin traité par les extraits coagulants camelins	25%
E3= fromage au lait de chamelle traité par les extraits coagulants camelins	18%

**E2 : : lait camelin traité par l'extrait coagulant adulte**

**E3 : lait bovin traité par l'extrait coagulant de dromadaire adulte**

Ces différences peuvent provenir tout autant de la moindre teneur en matière sèche du lait de dromadaire que de la plus grande importance des pertes en extraits secs dans le lactosérum (KAMOUN, 1990). Toutefois, le rendement obtenu dans cette étude (18%)

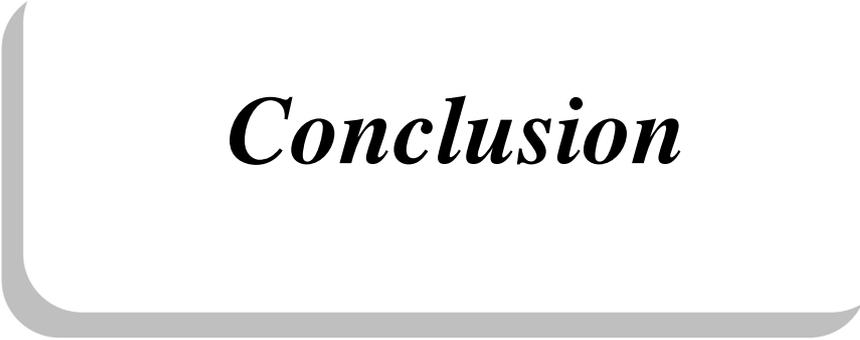
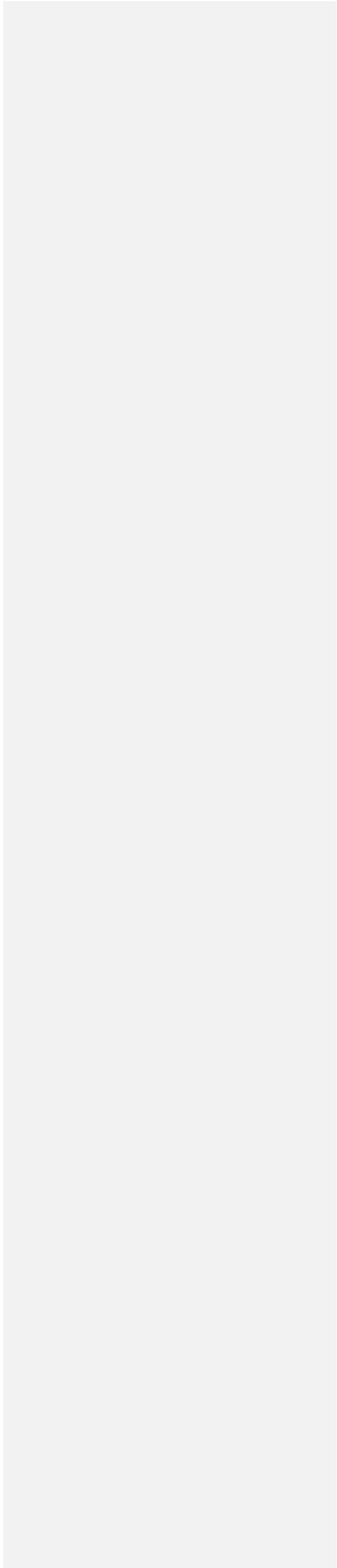
## II.2. Evaluation sensorielle des fromages

Pour une évaluation sensorielle des fromages fabriqués nous nous contenté d'une appréciation globale en se basant sur les caractéristiques organoleptiques. Un fromage commercial a été utilisé comme témoin. Le tableau 6 résume l'évaluation des 10 dégustateurs.

Selon LEMIEUX et SIMARD, 1994. La rancidité est un caractère non signalé par le jury de dégustation. Ce résultat peut suggérer l'absence d'acides gras dans le lait de fabrication susceptibles d'être oxydés.

**Tableau 6:** Evaluation sensorielle des fromages.

<b>Les fromages</b>	<b>L'aspect</b>	<b>Gout</b>
E1= fromage au lait bovin traité par la présure commerciale (utilisé comme témoin)	blanchâtre	bien apprécié (100% des dégustateurs)
E2= fromage au lait bovin traité par les extraits coagulants camélins	un peu jaunâtre	bien apprécié (90% des dégustateurs)
E3= fromage au lait de chamelle traité par les extraits coagulants camélins	blanchâtre	bien apprécié (90% des dégustateurs)



# *Conclusion*

## **Conclusion**

Pour les producteurs laitiers qui souhaitent transformer leur lait, l'aptitude à la coagulation du lait est un paramètre important. Elle permet en effet de transformer le lait il convient de bien comprendre son processus et les techniques pour la mesurer afin d'obtenir le meilleur rendement de transformation.

À travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la possibilité de substituer la présure par des extraits coagulants obtenus à partir des caillettes de dromadaires

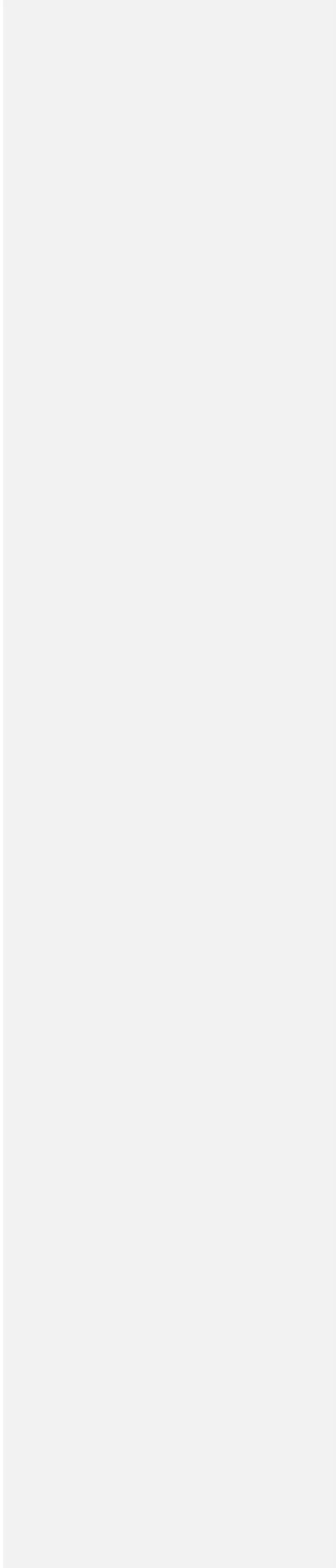
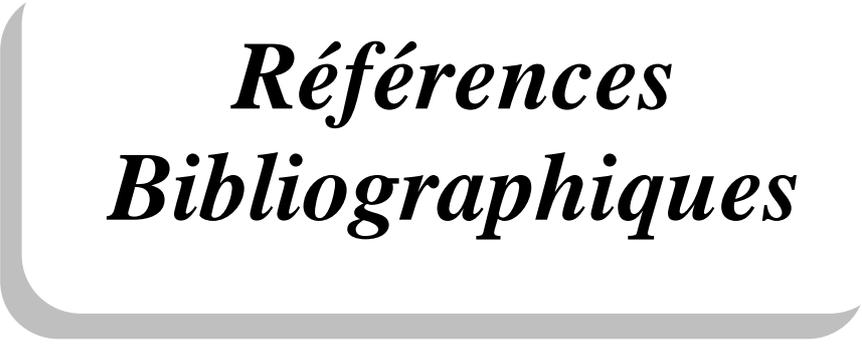
À partir d'un protocole d'extraction approprié, nous avons obtenu des extraits bruts issus des caillettes de dromadaires âgés de 1, 2, 4, 6 et 8 ans, caractérisés par leurs teneurs en protéines qui sont respectivement importante et qui sont nommés ECD.

Ces préparations enzymatiques ont été caractérisées par une bonne activité coagulante, qui paraît proportionnelle avec l'âge des dromadaires, et par temps de floculation (Tf) relativement court et ce par rapport aux deux substrats utilisés (lait camelin et bovin).

La mesure des rapports des temps de floculation de lait de vache par rapport à celui de dromadaire a été adoptée pour évaluer l'affinité des extraits vis-à-vis des deux laits. Les résultats ont révélé que les rapports relatifs aux extraits adultes étaient supérieurs à 1 ce qui confirme que les extraits adultes présentent une bonne affinité à l'égard des laits bovin et camelin. Il ressort de cette étude que les caillettes de dromadaires peuvent constituer une bonne source d'enzymes coagulantes au lieu de les considérer comme sous-produits non valorisés. D'autant plus que ce sont les caillettes de dromadaires adultes qui sont très disponibles au niveau des abattoirs.

Les conclusions nées de cette étude, suggèrent et encouragent l'utilisation des caillettes des dromadaires comme source d'obtention d'enzymes coagulantes et leurs utilisations comme succédané de la présure industrielle dont la source est souvent suspecte sans oublier le coût très cher et sa pénurie répétée.

En perspectives nous souhaitons poursuivre cette recherche afin de purifier et mieux caractériser les extraits bruts.



*Références  
Bibliographiques*

**ABREU DA SILVA A. (2004).** Clonage et expression des prochymosines bovine A, B et B S79N chez *Escherichia Coli* et *Pastor*. Etude de la mutation S79N. (AgroParisTech), France

**ADOUI F., 2007** : Extraction d'enzyme Coagulant le lait à partir du proventricule de poulet. Mémoire magister. Univ. Mentouri Constantine. 64p.

**AFNOR (1980)** ; lait et produit laitiers: méthodes d'analyse, AFNOR, Paris, 1998.

**ALAIS (1984) ; MIETTON. (1995) ; payent, (1979)** : science et Technologie du lait. Transformation du lait. 365p.

**ANDREVA N.S., RUMCH L.D. (2001).** Analysis of crystal structures of aspartic proteinases: on the role of amino acid residues adjacent to the catalytic site of pepsin-like enzymes. *Protein Sci*, 10, 2439-2450.

**BENAÏSSA R. (1988).** Le dromadaire en Algérie, option méditerranéenne, série n° 2 pp 1-21

**BENYAHIA-KRID F.A., ATIA H., ZIDOUNE M.N., 2010.** Comparative study of milk coagulation with chicken pepsin or rennet: Interactions and microstructure. *J. of Agriculture, Biotechnology and Ecology*, vol.3, pp: 75-86.

**BERRENS et LUQUET (1987)** cité par **HESSAS (2001).**

**BERRICHI ET TELLI, (2003).** Contribution à l'amélioration de la coagulation de lait de chamelle : Extraction, purification et caractérisation d'un extrait enzymatique gastrique coagulante issu de caillettes des dromadaires âgées. Mémoire D.E.S institut d'agronomie saharienne. Université d'Ouargla

**BERRIDG N.J. (1954).** Rennin and the clotting of milk. *Adv Enzymol Relat Subj Biochem*, 15, 423-448.

**CAROL L., VIGNOLA, 2002.** Science et technologie du lait: transformation du lait. Fondation de technologie laitière du Québec. P4

**CAYOT P, LORIENT D., 1998** : Structure et techno fonction des protéines de lait. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 363p .

**CECCHINATO A., 2012:** Short communication: Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk. *J. Dairy Sci.*; 95:1709-1713.

**CHEHMA A. (2004)** productivité pastorale et productivité laitière en Algérie. Atelier sur la filière laitière cameline en Afrique, Niamey, 5-8 Novembre 2003 FAO, production et santé Animal, 2. Rome, pp.43-54.

- COLLIN J. C.;** (1977). Etude de la méthode de mesure, selon BERRIDGE, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. Lait : 355, 389-394.
- DALGLEISH D.G. ETCORREDIG M.,** 2012: The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. Annu. Rev. Food Sci. Technol.; 3:449–467.
- DAVID G.,**(2000).Theprotein databank. NucAcidRes, 28, 235-242.
- DOUGBAG, BERG.1980 cité par JAUANY et KAYOULI. (1989).**
- DUNN-COLEMAN N.S., et al (1991).** Commercial levels of chymosin production by *Aspergillus*.Bio.
- EMA (1980) cité par YAAKOUBE (2006).** Evaluation in vitro de la dégradation des principaux fourrages des zones arides. Thème de magister en nutrition. Université de BATNA, pp 40-48.
- enzymatiques coagulants gastriques de dromadaire .Cahiers agricultures vol. 14, n°
- FAO/ OMS., 2003 :** Codex Alimentarius : Lait et produit laitiers, 2e édition- Rome : FAO ; OMS- 136p.
- FARAH Z. (1993).** Composition and characteristics of Camel Milk. Journal of dairy research, 60, 603 – 626.
- FAYE B. (1997).** Guide d'élevage du dromadaire Ed – cairo – EMVT, Montpellier, pp 126. Florian Ronez, thèse de doctorat, 2012. (**extraits**)
- FoltmaanB.(1993).**Generalandmolecularaspectsofrennets.InFox
- GARCIA.V.(2012).**Effectofvegetablecoagulant,microbialcoagulantandcalfrennetonphysicochemical,proteolysis,sensoryandtextureprofiles offreshgoatscheese.DairyScienceandTechnology, 92(6),691-
- GUIRAUD J (1998).**Microbiologie alimentaire. Edition DUNOD.652 P. .
- HAUF, M., 1982 :** Les adventices d'Europe, leurs plantules, leurs semences. Ed BASF. 90p.
- Herbert S. A., Riaublanc B., Bouchet D., Gallant J., and Dufour E., 1999: Fluorescence spectroscopy investigation of acid or rennet-induced coagulation of milk. J Dairy Sci 82:2056 – 2062 .
- HIFNY A, AHMED A, K ET IBRAHIM I, A (1985)** topography and morphology of the stomach of camel. Assuit vét. Med, J, (15) pp: 45-49.
- HSICH j.f. et pan p.h., 2012.**Proteomic profiling of the coagulation of milk proteins induced by chymosin ; J. Agric. Food Chem.; 60:2039-2045 .

**LEFEBVRE -CASES., GASTALDI E., VIDALV., MARCHESSEAU S., LAGAUDEA., CUQ j.l., TARODO de la fuente b., 1998** : Identification of interactions among casein gels using dissociating chemical agents. *J. Dairy Sci.*, 81, 932-938.

**LENOIR J., 1997.** La biochimie de l'affinage. In ECK A. et GILLIS JC., ed. *Le fromage*. Troisième édition. Paris : Tec & Doc-Lavoisier. 891p.

**LENOIR j., 1997** : L'aptitude du lait a la coagulation par la présure. In: *Le Fromage*, 3ème édition, Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, pp: 229-256.

**LO PIERO A.R., 2002:** Characterization of lettuce, a serine like protease from *Lactuca sativa* leaves, as a novel enzyme for milk clotting. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2439- 2443.

**LOVISI p., 2003:** A protein kinase is located in the micellar fraction of fresh pasteurized skimmed farm milk. *J. Dairy Sci.*, 86, 1147-1156 .

**LOWRY, O.H.A.L., 1951** Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biochemistry*, 193: 265-275. <http://jb.oxfordjournals.org/>

**MIETTON B., 1995** : La typologie des fromages, Symposium organisé par la fondation des Gouverneurs et le centre de recherche et de développement sur les aliments d'agriculture et Agroalimentaire Canada, octobre, 245p .

**NEWMAN M., (1991).** X-ray analyses of aspartic proteinases IV-Structure and refinement at 2.2 Å resolution of bovine chymosin. *J. MOL. BIOL.*, 221, 1295-1309.

**RAMET J.P. 2021.:** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin Méditerranéen, étude fao production et sante animales 48. m-26 isbn 92-5-202169-8 .

**RAMET, J.P., 1997b** : L'égouttage du coagulum in « *Le fromage* », Eck A., et Gillis J.C. (coordonnateurs) pp : 42-60, 3ème édition, Lavoisier Tec. & Doc. 891 p.

**ROMA et KAMOUN M,** Evolution de la composition du lait de dromadaire en fonction

**SIBOUKEUR O. (2007).** Étude du lait camelin, collecté localement : caractéristiques physico – chimiques et microbiologiques ; aptitude à la coagulation. Thèse de doctorat institut national agronomique EL HARRACH- ALGER. Université de Ouargla.

**SINDEL, B.M., 1991** : A review of the ecology and control of thistles in Australia. *Weed Research*. Vol.31, pp 189-201.

**TANG (2010).** Structural evidence for gene duplication in the evolution of the aspartic protease. *Nature*, 271, 618-621.

**UNIACKE-LOWET**

(2013). Proteomic comparison of equine and bovine milks on renneting. *J. Agric Food Chem.*, 61, 2839-2850.

**VALLES et FURET J. p. (1977)**. Etude des caillottes des bovins à l'état ruminant pour l'obtention d'extraits coagulants à base de pepsine bovine. Méthode l'extraction. In: le lait: 601 – 617.

**VEISSEYRE R., 1979** : Technologie du fromage: 3ème édition. Maison Rustique, 714 p.

**VIGNOLA C.L., 2002** : Science et technologie du lait : Transformation du lait – Montréal : Presse internationale polytechnique 600p.

**VIOQUE M., 2000**: Chemical and microbiological characteristics of ewes' milk cheese manufactured with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis* as coagulants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 451–456.

**YAGIL R. (1985)**. The desert Camel: comparative physiological adaptation, Karger basel .283p.

[https://biochim-agro.univ-lille.fr/proteines/co/ch4\\_II\\_f\\_3.html](https://biochim-agro.univ-lille.fr/proteines/co/ch4_II_f_3.html)

<https://fromagedechevre.weebly.com/iii-le-rocirle-de-la-preacutesure.html>

<https://www.youlab.fr/blog/ressources-scientifiques-bibliographie/le-lait-et-sa-coagulation/>



# *Annexes*

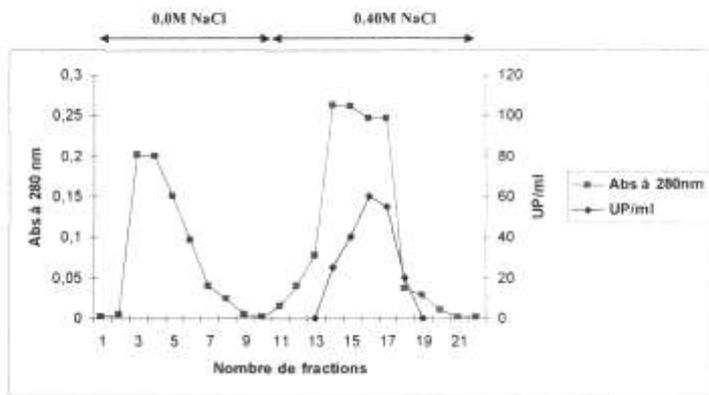
Annexe 1: composition minérale du lait de dromadaire (mg/100g) selon RAMET, 1993 cité par MAHBOUB et ACHOURI 2006.

Ca	P	Na	K	Mg
127	96	-	-	18
115*-132	45*-48	12*-19	34*-45	7.7*-10
106	63	69	156	12
131-132	51-58	27-35	46-60	14-16
107-123	80-88	38-62	156-210	11-015
116	71	36	62	8
76	49	39	161	4
114	87	33	166	-
Moyennes				
Lait de dromadaire 116	67	33	99	11
Lait de vache 125	96	58	140	12

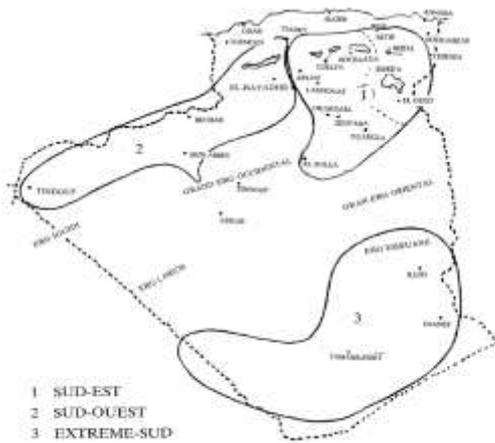
Annexe 2: Constantes physiques du lait de dromadaire et de vache (KAMOUN, 1995)

	Dromadaire (n=183)		Vache (n=10)	
	Moyennes	E. types	Moyennes	E. types
pH	6.51	0.12	6.65	0.02
Acidité titrable	15.6	1.4	16	1
Densité	1.028	0.002	1.032	0.001

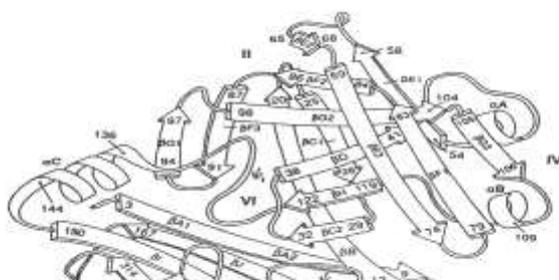
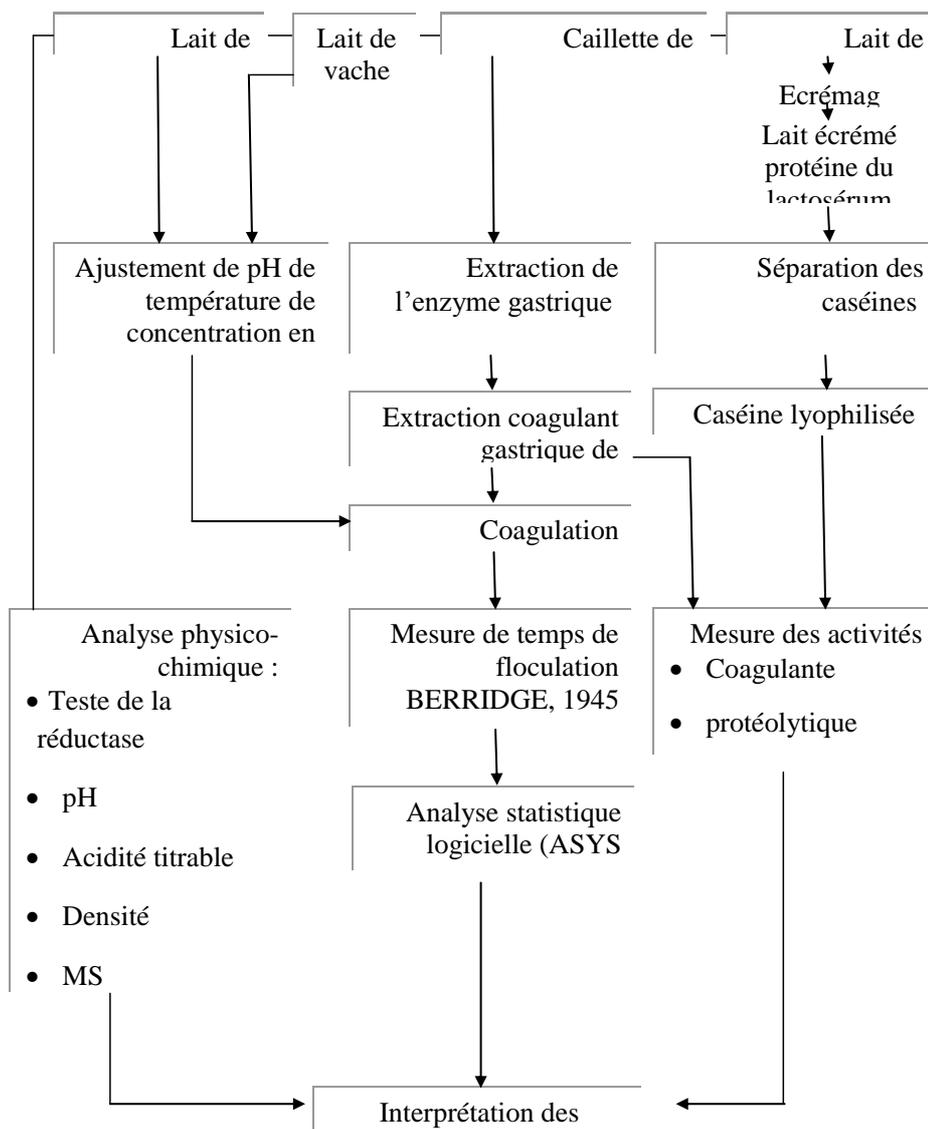
Annexe 3 Diagramme de séparation chromatographique de l'extrait enzymatique total issu de caillettes cameline sur une colonne (1×10cm) de: D.E.A.E-cellulose équilibrée avec le tampon phosphate pH 5,5. Selon BERRICHI et TELLI, 2003.



Annexe 4 : Aires de distribution du dromadaire en Algérie (BEN AISSA, 1989).



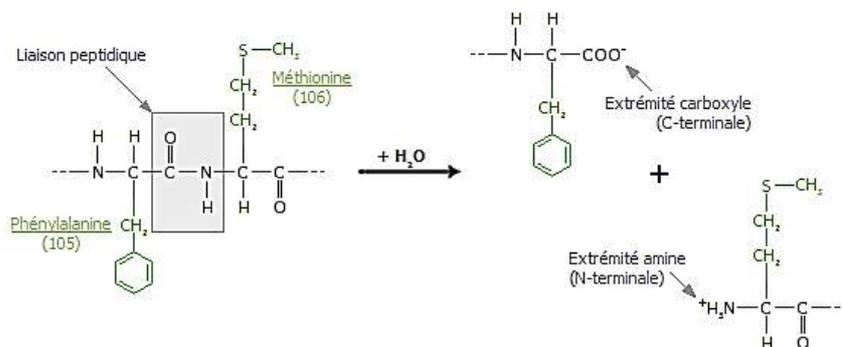
Annexe 5: présentation de méthodologie de travail



**Annexe 6:** Nature des vitamines de Lait de chamelle et Lait de vache (RAMET, 1993 cité par MAHBOUB et ACHOURI 2006).

Nature des vitamines	Lait de chamelle				Lait de vache
	SAWAYA et al (1984)	FARAH et al (1992)	Mehaia (1994)	Kappeler (1998)	Farah (1993)
<b>A (Rétionel)</b>	150	100	-	150	170-380
<b>B<sub>1</sub> (thiamine)</b>	330	-	-	600	280-900
<b>B<sub>2</sub> (Riboflavine)</b>	416	570	-	800	1200-2000
<b>B<sub>3</sub> (Niacine)</b>	4610	-	-	4600	500-800
<b>B<sub>5</sub> (Acide panthothénique)</b>	880	-	-	880	2600-4900
<b>B<sub>6</sub> (pyridoxine)</b>	523	-	-	520	400-630
<b>B<sub>9</sub> (Acide Folique)</b>	4.1	-	-	4	10-100
<b>B<sub>12</sub> (Cobalamine)</b>	1.5	-	-	2	2-7
<b>C (Acide ascophérol)</b>	24	37	25	24-36	3-23
<b>E (tocophérol)</b>	-	560	-	530	100-200

**Annexe 7: Effet de la pepsine sur la liaison peptidique du Cassien.**



1. Lait de chamelle pasteurisé	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Répartition dans des béchers de 100ml</li> </ul>
2. Acidification	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Abaissement du pH jusqu'à la valeur de 5,8</li> </ul>
3. Emprésurage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ajouter à chaque bécher 5ml de l'extrait coagulant (ECD) dans un bain marie porté à 42°C + CaCl<sub>2</sub> à 0.05 %</li> </ul>
4. Coagulation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laisser les béchers au bain marie à 42°C pendant une heure au moins = obtention de deux phases (caillé et lactosérum)</li> </ul>
5. Égouttage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Versement du coagulum sur un tissu spécial</li> <li>• Laisser le coagulum égoutter pendant une nuit.</li> </ul>
6. Moulage	<ul style="list-style-type: none"> <li>• obtention d'une -pate= fromage</li> </ul>
7. Conservation	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conservation du fromage obtenu à 4°C</li> </ul>

**Annexe 8: Etapes suivies au laboratoire pour la fabrication d'un fromage au lait camelin en utilisant les extraits enzymatiques coagulants isolés de caillettes de dromadaire adulte (pH =5.8; température = 42°C).**

Les fromages sont ainsi codés :

E1= fromage au lait bovin traité par la présure commerciale (utilisé comme témoin)

E2= fromage au lait bovin traité par les extraits coagulants camelins

E3= fromage au lait de chamelle traité par les extraits coagulants camelins

**Annexe 9:caillette de dromadaire**



**Annexe 10: les extraits des caillettes de dromadaire.**



**Annexe 11:Essai de fabrication d'un fromage au lait bovin en utilisant les extraits enzymatiques coagulants isolés de caillettes de dromadaire adulte(ECD6)**

