

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



**Thèse en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT**  
**En : Sciences Biologiques**  
**Option : Biochimie**

**Thème :**

**Contribution à l'étude de quelques activités  
biologiques du lait de chamelle cru et fermenté**

**Présenté par : MOSBAH Saïd**

Soutenu le 23/06/2019

Devant le jury :

<b>Président :</b>	ADAMOU Abdelkader	Professeur	UKM Ouargla
<b>Rapporteur :</b>	BOUDJENAH HAROUN Saliha	Professeur	UKM Ouargla
<b>Examineurs:</b>	BOUAL Zakaria	MCA	UKM Ouargla
	TAZKA Hamida	MRA	INRA, Alger
	BECILA Samira	MCA	INATA, Constantine
	AISSAOUI ZITOUN HAMAMA Ouarda	MCA	INATA, Constantine

**Année Universitaire : 2018 /2019**

# الإهداء

أولا بفضل الله وعونه تم هذا العمل المشرف لي، فله الحمد والشكر

أهدي هذا العمل الناجح بإذن الله إلى كل من ضحى من أجلي من قريب أو بعيد، بقليل أو كثير:

إليك يا أمي الغالية، من منحتيني الحب والرعاية، ذكرتيني في كل شؤونك، في صلاتك، وراحتك وتعبك، صنعت نجاحي تحت وطأة من تعبك، فهذا العمل ثمرة لجهودك طول حياتي. فأسأل ربي أن يمدك من رحمته ومن عونه صحة وعافية وعمرا مديدا، وجنة ونعيما.

إليك يا أبي العزيز، من تعب لراحتي، وشقي من أجل سعادتي، فأنت المعلم الأول، وأنت السند الذي لا يزول، إن جهدك ونصحك أثمر خيرا، وأرجوه عند ربي ذخرا، فلك أدعو عيشا هنيئا ونورا دائما.

إلى روح أخي الشهيد، مصطفى، أسكنه ربي فسيحة جنانه وألحقنا به مع الصالحين.

إلى زوجتي الحبيبة، صبرت فهذا النجاح لك مع صاحبه.

إلى أولادي أكبادي محمد، صهيب ويحي لأجلكم أحيا فكونوا خيرا مني فهذا شرفي.

إلى أخي العزيز زهير، فأنت سندي وعليك أعول في شدتي، فالعقبى إن شاء الله في أولادك لمثل هذا العمل وأفضل.  
إلى أختاي، شقيقات عمري وبهجتي.

إلى جميع أحابي وأصدقائي، لكل من أسدى إلي نصحا صرت له محبا

الداعي لكم بالسعادة ... سعيد

# Remerciements

Je remercie avant tout ALLAH le tout puissant, de m'avoir guidé tout au long de ma vie, et durant toutes les années d'étude et de m'avoir donné la croyance, la volonté, la patience et le courage pour terminer ce travail.

Je tiens à remercier vivement ma promotrice Madame **BOUDJENAH-HAROUN Saliha**, Professeur à l'Université K.M. Ouargla pour l'honneur qu'elle m'a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, orientations et conseils, pendant toutes ces années.

Je remercie vivement tous les membres de jury :

Monsieur **ADAMOU Abdelkader**, Professeur à l'Université K.M – Ouargla ;

Monsieur **BOUAL Zakaria**, Maitre de Conférences A à l'Université K.M –Ouargla ;

Madame **TAZKA Hamida**, Maitre de Recherche A à l'INRA, Alger ;

Madame **BECILA Samira**, Maitre de Conférences A à l'INATA, Constantine ;

Madame **AISSAOUI ZITOUN HAMAMA Ouarda**, Maitre de Conférences A à l'INATA, Constantine.

Je vous remercie très sincèrement pour avoir accepté de juger mon travail et merci pour l'intérêt que vous lui portez.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements à tous les responsables et les membres des laboratoires (laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, laboratoire des analyses médicales Ibn Rochd, laboratoire des analyses médicales Arrazi, laboratoire de l'institut national spécialisé de la formation professionnelle Mohamed Cherif Msaadia, C.A.C.Q.E de Ghardaïa, Laboratoire des Sciences Fondamentales de Université Amar Telidji de Laghouat et Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie de l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax, Tunisie) qui m'ont aidé à franchir les obstacles et les contraintes rencontrées durant la préparation de ce travail.

Ainsi, je remercie Monsieur, **DAHIA Mostefa**, mon encadreur de magistère, Maitre de Conférences A à l'Université Z.A –Djelfa, pour son aide, son soutien moral et encouragement qui m'ont été bénéfiques.

Enfin, je remercie, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Merci !

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
<b>ACE</b>	Angiotensin-1-Converting Enzyme
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>CI50</b>	Concentration inhibitrice médiane
<b>CLSI</b>	Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>CN</b>	Caséine
<b>CSR</b>	Clostridiums sulfito-réducteurs
<b>CT</b>	Coliformes totaux
<b>CTT</b>	Coliformes thermotolérants
<b>°D</b>	Degree Dornic
<b>DPPH</b>	2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>DZI</b>	Diamètre de la zone d'inhibition
<b>FAMT</b>	flore aérobie mésophile totale
<b>Hb</b>	Hémoglobine
<b>HRBC</b>	Human Red Blood Cells
<b>Ig</b>	Immunoglobulines
<b>LA</b>	Lactalbumine
<b>LF</b>	Lactoferrine
<b>LPO</b>	lactoperoxydase
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>MG</b>	Matière grasse
<b>MST</b>	Matière Sèche Totale
<b>PGRPs</b>	Peptidoglycan recognition proteins
<b>PSA</b>	Persulfate d'Ammonium
<b>PSC</b>	Protéines sériques du lait de chamelle cru
<b>PSF</b>	Protéines sériques du lait de chamelle fermenté
<b>SA</b>	Sérum Albumine
<b>SAB</b>	Sérum Albumine Bovin
<b>SAC</b>	Sérum Albumine Camelin
<b>SAH</b>	Sérum Albumine Humain
<b>SDS-PAGE</b>	Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis
<b>TEMED</b>	Tétra méthyl éthylène diamine
<b>TP</b>	Taux de protéines
<b>TRBM</b>	Temps de réduction du bleu de méthylène

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Différentes voies de libération des peptides bioactives du lait de chamelle et leurs activités biologiques.....	23
<b>Figure 2:</b> Protocole de séparation des protéines du lait Camelin (Shammet et al., 1992) .....	29
<b>Figure 3:</b> Structure chimique de l'acrylamide et la bis-acrylamide.....	31
<b>Figure 4:</b> Etapes de la caractérisation électrophorétique des protéines.....	31
<b>Figure 5:</b> Structure chimique de dodécyl sulfate de sodium (SDS).....	33
<b>Figure 6:</b> Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici et al., 2009) .....	40
<b>Figure 7:</b> Evolution du pH et de l'Acidité Dornic au cours de la fermentation .....	45
<b>Figure 8:</b> Electrophorogramme des protéines du lactosérum camelin cru (LC) et fermenté (LF) en Native-PAGE.....	52
<b>Figure 9:</b> Electrophorogramme des protéines de la caséine cameline cru (CC) et fermentée (CF) en Urée-PAGE.....	54
<b>Figure 10:</b> Electrophorogramme des protéines de lactosériques camelin cru (LC) et fermenté (LF) en SDS-PAGE.....	56
<b>Figure 11:</b> Evolution de la FAMT au cours de fermentation .....	59
<b>Figure 12:</b> Evolution de lacroissance des CT, des CTT et des Entérobactéries au cours de la fermentation .....	61
<b>Figure 13:</b> Evolution de croissance des <i>S. aureus</i> et des CSR au cours de la fermentation .....	62
<b>Figure 14:</b> Evolution des BLM, BLT et B LAC au cours de la fermentation.....	63
<b>Figure 15:</b> Variation de DZI en fonction de la concentration des protéines sériques du lait cru sur les souches bactériennes testées .....	67
<b>Figure 16:</b> Variation de DZI en fonction de la concentration des protéines sériques du lait fermenté sur les souches bactériennes testées .....	67
<b>Figure 17:</b> Variation de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle .....	71
<b>Figure 18:</b> Variation de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.....	71
<b>Figure 19:</b> Variation de pourcentage d'inhibition de $\beta$ -carotène / acide linoléique en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle .....	73
<b>Figure 20:</b> Variation de pourcentage d'inhibition de $\beta$ -carotène / acide linoléique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique .....	73
<b>Figure 21:</b> Variation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation de SAH en fonction de la concentration des protéines sériques du lait de chamelle.....	75
<b>Figure 22:</b> Variation de pourcentage de stabilisation de MHRBC en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle.....	77

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Qualité physico-chimique du lait de chamelle en comparaison avec le lait de vache..	5
<b>Tableau II:</b> Teneur en sels minéraux du lait de chamelle et du lait de vache (g/l) selon différents auteurs .....	7
<b>Tableau III:</b> Liste des antibiotiques testés (CLSI, 2015).....	38
<b>Tableau IV:</b> Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de lait camelin cru et fermenté.....	44
<b>Tableau V:</b> Résultats d'analyse des constituants biochimiques de lait camelin cru et fermenté.	48
<b>Tableau VI:</b> Correspondance entre le TRBM et la contamination bactérienne en ufc/ml dans le lait (Guiraud, 1998).....	57
<b>Tableau VII:</b> Estimation de la qualité hygiénique de lait camelin cru et fermenté par le test réductase.....	57
<b>Tableau VIII:</b> Caractéristiques descriptives des paramètres microbiologiques (ufc/ml) à T0 et à T120 .....	58
<b>Tableau IX:</b> Sensibilité des souches bactériennes testées aux antibiotiques selon les normes données par la CLSI (2015) .....	64
<b>Tableau X:</b> Valeurs moyennes de diamètre de la zone d'inhibition (DZI en mm) en fonction de la concentration des protéines sériques cru (PSC) et (PSF) fermenté sur les souches bactériennes testées .....	65
<b>Tableau XI:</b> La valeur de CI50 de l'acide ascorbique et des protéines sériques du lait cru (PSC) et (PSF) fermenté .....	71
<b>Tableau XII:</b> La valeur de CI50 des protéines sériques du lait de chamelle cru (PSC) et (PSF) fermenté.....	76

## Liste des annexes

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
01	Le dosage de l'acidité Dornic (Vignola, 2002)
02	La détermination de la matière grasse selon la méthode acido butyrométrique de GERBER
03	Détermination du taux de protéines par la méthode colorimétrique de pyrogallol red-molybdate. (Citée par Orsonneau et al., 1989)
04	Courbe d'étalonnage du lactose
05	Gels et tampons de l'étude électrophorétique
06	Composition des milieux de culture

## Résumé

Dans les régions sahariennes caractérisées par des conditions agro-climatiques défavorables, la présence du dromadaire reste capitale. Dans de telles conditions, cette espèce peut produire un lait particulièrement riche et équilibré en nutriments de base (lipides, protides et glucides), en éléments minéraux et en vitamines. C'est un produit nourricier des populations du sud du pays, des nomades en particulier, qui le consomment à l'état cru ou sous forme de produit fermenté. Ce lait, qui est resté longtemps inexploré, commence à connaître une popularité à l'échelle nationale et a fait l'objet, ces dernières décennies, de travaux qui ont permis de mettre en évidence des activités biologiques variées dues à la nature des protéines et peptides présents. Le but de la présente étude est d'évaluer les effets de la fermentation spontanée, d'une part, sur les caractéristiques physicochimiques, biochimiques et microbiologiques et d'autre part sur les activités biologiques *in vitro* des protéines sériques de ce produit. Des échantillons du lait sont analysés à l'état cru et après un temps de fermentation de 120 H à 25°C. Le suivi a montré que la valeur de pH diminue lentement. Inversement la valeur de l'acidité Dornic a connu une augmentation accélérée. Les analyses biochimiques ont révélé que les teneurs de la matière grasse (MG) du lait fermenté sont supérieures à celles du lait cru. En revanche les taux de lactose, de protéines totales, de caséines et de cendres ont connu une diminution importante à la fin de la fermentation. La caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté réalisée par Native-PAGE, Urée-PAGE et SDS-PAGE a abouti aux profils électrophorétiques qui révèlent que les bandes apparues dans les échantillons du lait fermentés sont d'une intensité moindre. Le dénombrement microbiologique a montré que la charge initiale de la flore lactique est passée de  $1.7 \cdot 10^4$  ufc/ml à  $5.5 \cdot 10^7$  ufc/ml à la fin de la fermentation. Les germes de contamination tels que les coliformes et les entérobactéries subissent une diminution importante après la fermentation. Bien que, les valeurs initiales des *S. aureus* et des clostridiens sulfite-réducteurs sont basses, pendant qu'elles deviennent nulles après 48 H de fermentation. L'étude de l'activité antimicrobienne des protéines sériques du lait, est exprimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (DZI) sur des germes cibles (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E. coli*). Sachant qu'en utilisant une concentration de 6mg/ml de protéines, les DZI des protéines sériques du lait fermentés (PSF) dépassent ceux des protéines sériques du lait cru (PSC). Ils sont de  $17 \pm 1.0$ ,  $16.5 \pm 0.5$ ,  $15 \pm 1.0$  et  $10.5 \pm 0.8$  mm respectivement pour *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E. coli*. Notons que les DZI des (PSC) vis-à-vis des derniers germes étaient nuls. D'un autre côté, l'activité anti-oxydante a montré l'existence d'une différence très hautement significative entre les PSF et les PSC avec une CI50 respectivement, de 4.29, 5.36 mg/ml pour le test DPPH et une CI50 de 1.61, 1.36 mg/ml pour le test de  $\beta$ -carotène/acide linoléique. Une différence très hautement significative est aussi enregistrée entre les PSF et les PSC quant à leur activité anti inflammatoire, avec une CI50 de 5.54, 8.23 mg/ml respectivement pour le test d'inhibition de la dénaturation de sérum albumine humain (SAH) et une CI50 de 2.65, 3.54 mg/ml respectivement pour le test de stabilisation de la membrane des HRBC. Ces résultats indiquent que le processus de fermentation induit par le développement de la flore lactique du lait camelin favorise la protéolyse des protéines du lait et la libération des peptides bioactifs ce qui a augmenté leurs activités biologiques. Ces résultats semblent être un atout pour promouvoir l'élevage camelin qui va jouer un rôle très important dans la sécurité alimentaire et constituer une source de probiotiques naturels disponibles.

**Mots clés :** Lait, chamelle, protéines, fermentation, activités biologiques, flore lactique.



## Abstract

South Algeria is a region characterized by unfavorable agro-climatic conditions, the presence of the dromedary remains crucial. Under such conditions, this species can produce a particularly rich milk balanced in basic nutrients (lipids, proteins and carbohydrates), minerals and vitamins. It is a nourishing product of the populations living in the south Algeria, nomads in particular, who consume it in the raw state or in the fermented form. This milk, which has remained unexplored for a long time, is starting to become popular on a national scale and has been the subject, over the last decades, of reserche work that investigate various biological activities due to the presence of many proteins and peptides. The aim of the present study is to evaluate the effects of spontaneous fermentation, on the one hand, on the physicochemical, biochemical and microbiological characteristics and on the other hand on the *in vitro* biological activities of the whey proteins of this product. Milk samples are analyzed in the raw state and after a fermentation time of 120 H at 25 °C. Follow-up showed that the pH value decreases slowly. Conversely, the value of Dornic acidity has increased rapidly. Biochemical analyzes revealed that the fat contents of fermented milk are higher than those of raw milk. On the other hand, the lactose, total protein, casein and ash levels decreased significantly at the end of the fermentation. The electrophoretic characterization of the raw and fermented milk proteins is performed by Native-PAGE, Urea-PAGE and SDS-PAGE has resulted in electrophoretic profils that reveal that bands appearing in fermented milk samples are of less intensity. Bacterial enumeration revealed that contamination germs such as coliforms and enterobacteria are significantly reduced after fermentation. Although, the initial values of *S. aureus* and sulfite-reducing clostridia are low (1.48 and 0.60 Log<sub>10</sub> ufc/ml respectively) as they become null after 48 H of fermentation. The lactic flora has a considerable initial charge of 1.7 10<sup>4</sup> ufc/ml and a high level of 5.5 10<sup>7</sup> ufc/ml at the end of the fermentation. The antimicrobial activity was carried out by the determination of inhibition zone (IZ). It should be noted that at a concentration of 6mg / ml, the fermented whey proteins (FWP) give a large IZ compared to the raw whey proteins (RWP) which gave an IZ of 15 ± 1.0, 9.5 ± 0.5 mm respectively for *S. aureus* and *P. aeruginosa*, and 0 mm for *K. pneumoniae* and *E. coli*. While the FCWP gave a IZ of 17 ± 1.0, 16.5 ± 0.5, 15 ± 1.0 and 10.5 ± 0.8 mm respectively for *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* and *E. coli*. In fact, the anti-oxidant activity was showed a significant difference between FWP and RWP by determination of IC<sub>50</sub>, respectively, of 4.29, 5.36 mg/ml for the test of DPPH and the IC<sub>50</sub> of 1.36, 1.61 mg/ml for the test of β-carotene/linoleic acid. Additionally, anti-inflammatory activity was gave a significant difference between FWP and RWP by determination of IC<sub>50</sub>, respectively, 5.54, 8.23 mg/ml for the inhibition of albumin denaturation assay, and 2.65, 3.54 mg/ml for the membrane stabilization test. These results indicate that the fermentation process induced by the development of the lactic flora of camel milk promotes the proteolysis of milk proteins and release of bioactive peptides, which increases their biological activities.

**Key words:** Milk, biological activities, dromedary, fermentation, proteins, bioactive peptides, lactic flora.

## الملخص

الجنوب الجزائري منطقة تتسم بالظروف المناخية الزراعية الصعبة، ولا يزال وجود الجمل في ظل هذه الظروف تحديا لها، فيمكن لهذا النوع إنتاج لبن غني ومتوازن في المواد الغذائية الأساسية (الدهون والبروتينات والكربوهيدرات) والمعادن والفيتامينات. فهو مصدر غذاء غني لسكان هذه المناطق، البدو على وجه الخصوص، الذين يستهلكونه في حالته الطازجة أو في شكله والمتخمّر. وبقي هذا المنتج المتخمّر غير مستكشف لفترة طويلة، ولم تعرف أهميته على المستوى الوطني، إلى غاية العقد الأخير من الزمن، بدأت الأبحاث تسلط الضوء على أهميته وأهمية الأنشطة البيولوجية المختلفة بسبب طبيعة البروتينات والبيبتيدات الموجودة فيه. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم آثار التخمير التلقائي، من ناحية الخصائص الفيزيائية والكيميائية الحيوية والميكروبيولوجية ومن ناحية الأنشطة البيولوجية لبروتينات المصل في هذا المنتج. تم تحليل عينات من لبن الناقة في الحالة الطازجة وكذلك بعد زمن 120 ساعة من التخمير عند 25 درجة مئوية. أظهرت متابعة النتائج أن قيمة الأس الهيدروجيني (pH) تتناقص ببطء مع مرور الزمن. على النقيض، تزايدت درجة الحموضة بسرعة. أما التحاليل البيوكيميائية فكتشفت أن لبن الناقة المتخمّر يحتوي على مستوى أعلى من الدسم مقارنة باللبن الطازج، لكن محتوى اللاكتوز، البروتينات، الجبنين (الكازيين) والأملاح المعدنية تنخفض بشكل كبير بعد عملية التخمير. دراسة خصائص بروتينات اللبن الطازج والمتخمّر عن طريق تقنية الهجرة الكهربائية (Native-PAGE، Urea-PAGE و SDS-PAGE) أظهرت أن مشاهد الفصل لبروتينات اللبن الطازج مشابهة لتلك المقدمة في الدراسات السابقة. بينما مشاهد الفصل الكهربائي لبروتينات اللبن المتخمّر كانت مشابهة لمشاهد الفصل لبروتينات اللبن الطازج بوجود لخطات ذات كثافة لونية أقل أو غائبة أحيانا مقارنة باللبن الطازج مما يدل أن أنواعا من بروتينات اللبن تعرضت للإمالة الإنزيمية أثناء التخمير. أما التحاليل الميكروبيولوجية أثبتت أن الكائنات المسببة لتلوث اللبن مثل بكتريا القولون (Coliformes) والبكتيريا المعوية (Enterobacteries) تعرضت لانخفاض واضح بعد التخمير. أما المكورات العنقودية الذهبية (*S. aureus*) سجلت قيمة منعدمة بعد التخمير بعدما سجلت قيمة منخفضة في البداية. أما البكتيريا اللبينية فكانت ذات قيم أولية معتبرة تبلغ  $1.7 \times 10^4$  وحدة مكونة لمستعمرة/مل، كما سجلت قيمة مرتفعة تقدر بـ  $5.7 \times 10^7$  وحدة مكونة لمستعمرة/مل في نهاية التخمير. النشاط المضاد للميكروبات لبروتينات مصل اللبن فيتم قياسه بمقدار قطر منطقة تثبيط التكاثر البكتيري (DZI). حيث أن تركيز 6 مغ/مل من بروتينات مصل اللبن المتخمّر أعطت قيمة معتبرة لـ DZI تقدر بـ  $1.0 \pm 17$ ،  $0.5 \pm 16.5$ ،  $1.0 \pm 15$  و  $0.8 \pm 10.5$  ملم على التوالي ضد *S. aureus*، *P. aeruginosa*، *E. coli* و *K. pneumoniae*. بينما سجلت بروتينات مصل اللبن الطازج قيمة أقل تقدر بـ  $1.0 \pm 15$ ،  $9.5 \pm 0.5$  مم على التوالي *S. aureus* و *P. aeruginosa*. أما النشاط البيولوجي المضاد للتأكسد فقد أعطت بروتينات مصل اللبن المتخمّر وبروتينات مصل اللبن الطازج تركيز متوسط التثبيط (IC50) على التوالي 4.29، 5.36 مغ / مل لاختبار DPPH و 1.36 و 1.61 مغ / مل لاختبار  $\beta$  كاروتين / حمض اللينوليك. وبنفس التأثير بالنسبة للنشاط البيولوجي المضاد للالتهابات فقد أعطت بروتينات مصل اللبن المتخمّر وبروتينات مصل اللبن الطازج قيمة IC50 مقدرة بـ 5.54، 8.23 مغ / مل على التوالي بالنسبة لاختبار تثبيط تشوه البنية الطبيعية لبروتين ألبومين مصل الإنسان وقيمة IC50 مقدرة بـ 2.65، 3.54 ملغم / مل على التوالي بالنسبة لاختبار تثبيط الصدمة الحولية لكريات الدم الحمراء للإنسان. إن النتائج المحصل عليها تبين أن عملية تخمير لبن الناقة يسمح بتكاثر البكتيريا اللبينية التي تعمل على إمالة بروتينات اللبن وتحرير بيبتيدات حيوية نشطة تسمح بزيادة النشاط البيولوجي للبن. وتظهر هذه النتائج أهمية تربية الإبل، التي تشكل مصدرا هاما للأمن الغذائي وتشكل ثراء حيويا.

**الكلمات المفتاحية:** اللبن، الناقة، البروتينات، التخمير، الأنشطة البيولوجية، البكتيريا اللبينية.

## Table des matières

الإهداء .....	2
<i>Remerciements</i> .....	3
Liste des abréviations.....	4
Liste des figures .....	5
Liste des tableaux .....	6
Liste des annexes .....	7
Résumé .....	1
Abstract .....	2
الملخص .....	3
Table des matières .....	4
Introduction .....	1
<b>1. Synthèse bibliographique .....</b>	<b>4</b>
1.1 Propriétés du lait de chamelle .....	4
1.1.1. Propriétés organoleptiques.....	4
1.1.2. Propriétés physico-chimiques .....	4
1.1.3. Propriétés biochimiques .....	4
1.1.3.1 Teneur en Eau .....	4
1.1.3.2 Teneur en matière sèche totale.....	5
1.1.3.3 Teneur en lactose.....	6
1.1.3.4 Teneur en matière grasse .....	6
1.1.3.5 Teneur en sels minéraux.....	6
1.1.3.6 Teneur en vitamines .....	8
1.1.3.7 Teneur en protéines.....	8
1.1.3.7.1 Propriétés des caséines.....	8
1.1.3.7.2 Propriétés du lactosérum camelin et leur fonctions biologiques .....	9
1.2 Fermentation du lait de chamelle .....	18
1.2.1. Importance de la fermentation .....	18
1.2.2. Méthodes de la fermentation du lait.....	18
1.2.2.1 Fermentation spontanée .....	19
1.2.2.2 Fermentation dirigée ou maîtrisée .....	19
1.2.3. Produits laitiers fermentés Algériens .....	19
1.2.3.1 L’ben et leurs dérivés.....	19
1.2.3.2 Smen ou Dhan.....	20
1.2.3.3 Klila.....	20
1.2.3.4 Jben.....	20
1.2.3.5 Bouhezza : .....	21
1.2.3.6 Aoules .....	21

1.2.4. Propriétés physicochimiques du lait de chamelle fermenté .....	21
1.2.5. Propriétés microbiologiques du lait de chamelle fermenté .....	22
1.2.6. Peptides bioactives du lait camelin fermenté .....	22
<b>2. Matériel et méthodes .....</b>	<b>25</b>
2.1 Matériel .....	25
2.1.1. Matériel biologique .....	25
2.1.1.1 Echantillons de lait de chamelle cru .....	25
2.1.1.2 Echantillons de lait de chamelle fermenté .....	25
2.1.2. Appareillage .....	25
2.1.2.1 Appareillage utilisé au laboratoire de l'institut national spécialisé de la formation professionnelle Mohamed Cherif Msaadia-Ghardaïa .....	25
2.1.2.2 Appareillage utilisé au Laboratoire de Microbiologie du Centre Algérien du Contrôle de la qualité et de l'emballage (C.A.C.Q.E) de Ghardaïa.....	25
2.1.2.3 Appareillage utilisé au Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie (LGEM) de l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS), Tunisie .....	26
2.1.2.4 Appareillage commun .....	26
2.1.2.5 Petit matériel .....	26
2.1.2.6 Produits chimiques .....	26
2.2 Méthodes de travail .....	27
2.2.1. Collecte de lait de chamelle .....	27
2.2.2. Préparation de lait de chamelle fermenté .....	27
2.2.3. Séparation des caséines et le lactosérum .....	27
2.2.4. Etude des principales caractéristiques du lait de chamelle .....	28
2.2.4.1. Analyses physicochimiques.....	28
2.2.4.2. Analyses des constituants biochimiques .....	30
2.2.4.3. Caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté .....	30
2.2.4.3.1. Séparations électrophorétiques dans des conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE –native) .....	32
2.2.4.3.2. Electrophorèse en milieu dissociant et dénaturant, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE –SDS) .....	32
2.2.4.3.3. Electrophorèse en milieu dissociant en présence d'urée et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE –urée) .....	33
2.2.4.4. Analyses microbiologiques .....	34
2.2.4.4.1. Temps de réduction du bleu de méthylène (TRBM).....	34
2.2.4.4.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT) .....	35
2.2.4.4.3. Dénombrement des Coliformes .....	35
2.2.4.4.4. Dénombrement des Entérobactéries .....	35
2.2.4.4.5. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
2.2.4.4.6. Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur .....	36
2.2.4.4.7. Recherche des salmonelles .....	36
2.2.4.4.8. Dénombrement des bactéries lactiques.....	36
2.2.4.4.9. Evaluation de la variation de la microflore au cours de la fermentation .....	37
2.2.5. Etudes des activités biologiques .....	37
2.2.5.1 Etude de l'activité anti microbienne .....	37
2.2.5.1.1. Souches bactériennes utilisées.....	37
2.2.5.1.2. Sensibilité des souches aux antibiotiques .....	37
2.2.5.1.3. Principe du test de l'activité anti microbienne.....	39
2.2.5.1.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....	39
2.2.5.2. Activité anti oxydante .....	40

2.2.5.2.1.	Activité anti oxydante par le test au DPPH.....	40
2.2.5.2.2.	Activité anti oxydante par le test de $\beta$ -carotène / acide linoléique .....	41
2.2.5.3.	Activité anti inflammatoire .....	42
2.2.5.3.1.	Activité anti inflammatoire par inhibition de la dénaturation des protéines.....	42
2.2.5.3.2.	Activité anti inflammatoire par stabilisation de la membrane des globules rouges humains .....	43
2.2.6.	Etudes statistiques des résultats.....	43
<b>3.</b>	<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>44</b>
3.1.	Composition physico-chimiques du lait camelin cru et fermenté .....	44
3.1.1.	pH et Acidité Dornic .....	44
3.1.2.	Densité .....	45
3.1.3.	Matière sèche totale (MST).....	46
3.1.4.	Cendres .....	47
3.2.	Composition biochimique du lait camelin cru et fermenté .....	47
3.2.1.	Matière grasse (MG).....	48
3.2.2.	Lactose.....	49
3.2.3.	Protéines Totales .....	50
3.2.4.	Protéines sériques et caséines .....	51
3.3.	Résultats de la caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté .....	52
3.3.1.	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu non dénaturant (Native-PAGE) .....	52
3.3.2.	Comportement électrophorétique des caséines du lait cru et fermenté sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant en présence d'urée et du 2-mercaptoéyhanol (Urea-PAGE) .....	53
3.3.3.	Comportement électrophorétique des protéines sériques du lait cru et fermenté sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant et dénaturant, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (SDS-PAGE) .....	54
3.4.	Résultats de l'étude microbiologique .....	57
3.4.1.	Estimation de la qualité hygiénique du lait par le test TRBM .....	57
3.4.2.	Evaluation de la variation de la microflore au cours de la fermentation .....	58
3.4.2.1.	Flore aérobie mésophile totale (FAMT) .....	58
3.4.2.2.	Coliformes totaux (CT), coliformes thermotolérants (CTT) et entérobactéries.....	59
3.4.2.3.	<i>Staphylococcus aureus</i> et Clostridium sulfito-réducteurs (CSR).....	61
3.4.2.4.	Lactobacilles, bactéries lactiques mésophiles (BLM) et bactéries lactiques thermophiles (BLT) ...	62
3.5.	Activités biologiques des protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté .....	63
3.5.1.	Activité anti microbienne .....	63
3.5.1.1.	Sensibilité des souches testées aux antibiotiques .....	63
3.5.1.2.	Activité antibactérienne des protéines sériques du lait de chamelle .....	65
3.5.2.	Activité anti oxydante .....	69
3.5.2.1.	Activité anti oxydante par le test au DPPH .....	70
3.5.2.2.	Activité anti oxydante par le test de $\beta$ -carotène / acide linoléique.....	72
3.5.3.	Activité anti inflammatoire .....	75
3.5.3.1.	Activité anti inflammatoire par inhibition de la dénaturation de l'albumine .....	75
3.5.3.2.	Activité anti inflammatoire par stabilisation de la membrane des globules rouges humain .....	76
	<b>Conclusion générale .....</b>	<b>79</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>84</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>73</b>

# *INTRODUCTION*

## Introduction

Le dromadaire est le seul ruminant qui peut supporter des conditions alimentaires et climatiques extrêmement défavorables, le dromadaire a longtemps constitué, l'un des principaux vecteurs de sédentarisation des populations humaines dans les régions désertiques (Faye et al., 1995).

Selon (FAO, 2014), l'effectif camelin algérien comptait 354 465 têtes en 2014, dont 89 milles sont des chamelles, soit 17.0 % de l'effectif Maghrébin et presque 2 % de la population mondiale cameline. Pour cet effet, l'Algérie occupe, le 14<sup>ème</sup> rang mondial.

La production laitière algérienne est d'environ de 3 753 10<sup>6</sup> litre en 2015 (Kalli et al., 2018). En effet, la production laitière cameline reste très faible, elle ne dépasse pas 15 10<sup>6</sup> litre en 2013 (Bengoumi et Faye, 2015).

Le lait de chamelle (*Camelus dromaderius*) est un produit fortement identitaire pour les populations élevant des dromadaires, il comporte des nutriments de base importants et équilibrés (protéines, matière grasse, lactose et vitamines). Il joue un rôle important dans l'alimentation des nomades et les populations du Sud Algérien.

Sa composition est différente suivant les types de parcours camelins et la saison. La productivité laitière est directement liée à la composante floristique et la performance génétique individuelle (El-Agamy, 2006).

Le lait de chamelle comme d'autres types de lait, peut être contaminé par des germes saprophytes du pis, par les mains du trayeur... Cependant, ce lait se caractérise par la capacité d'inhiber certains germes pathogènes notamment les halophiles par des protéines du lactosérum comme le lysozyme, lactoperoxydase, lactoferrine, lysozyme, immunoglobulines et acides gras libres (Benkerroum et al., 2004).

En raison de la limitation des moyens de stockage au froid dans de nombreuses zones rurales dans les pays africains. Le lait est stocké à température ambiante, ce qui leur permet de le fermenter rapidement par la flore lactique naturelle et parfois par inoculation du lait cru avec une petite quantité de lait fermenté précédemment élaboré. Par conséquent, le produit obtenu entraîne la domination des souches lactiques les mieux adaptées (Heita et Cheikhyoussef, 2014). Ce lait fermenté constitue une composante alimentaire majeure de l'alimentation traditionnelle dans de nombreuses régions de l'Afrique.

Dans le monde, existe plusieurs types de produits laitiers traditionnels fermentés spontanément et qui contiennent plusieurs espèces bactériennes comme « Iben » en Algérie (Aissaoui Zitoun et al., 2011), « Gariss » au Soudan et Somalie, « Suusac » en Afrique de l'Est du Kenya et en Somalie, « Shubat » au Kazakhstan (Shori, 2012) et « Chal » en Iran (Soleymanzadeh et al., 2016),

Le lait de chamelle fermenté est riche en bactéries lactiques qui renforcent les propriétés antimicrobiennes contre des germes pathogènes comme *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Salmonella* et *Escherichia* (Hassan et al., 2010).

Les protéines du lactosérum camelin varient entre 3.7 et 10.4 g/l, elle représente entre 18 à 27 % de la protéine totale du lait de chamelle (Khaskheli et al., 2005).

De nombreuses recherches récentes ont évoqué les activités biologiques de lait de chamelle à l'état cru, telles que Darwish et al., (2012), Al-Asmari et al., (2014), Arab et al., (2014), Korish et al., (2015), Yassin et al., (2015), Othman (2016) et Hu et al., (2017).

Plusieur travaux se sont intéressés aux activités biologiques des protéines de lait de chamelle ou de leurs hydrolysats. Parmi ceux la , Sharma et al., (2014), El Hatmi et al., (2014), Ripolles et al., (2015), Nielsen et al., (2015), Jrad et al., (2015), Keykanlu et al., (2016), Ripolles et al., (2016), Kumar et al., (2016), Homayouni-Tabrizi et al., (2016) et Abdel-Hamid et al., (2016). Ils ont testé les activités biologiques de protéines telles que l' $\alpha$ -lactalbumine, lactoferrine, protéines de reconnaissance du peptidoglycane (peptidoglycan recognition proteins, PGRPs) et caséine. Parmi les activités testées, nous citons ; l'activité anti inflammatoire, anti oxydante, anti-cancéreuse et antibactérienne.

D'autres auteurs ont utilisé une fermentation dirigée par des souches lactiques purifiées. Parmi eux, nous citons, Lafta et al., (2014), Balakrishnan et Agrawal (2014) et Soleymanzadeh et al., (2016), qui ont étudié les activités biologiques du lait entier.

Par ailleurs, les études sur les peptides bioactifs générés de la fermentation de lait de chamelle sont très récentes. Moslehishad et al., (2013), ont testé l'activité anti oxydante et l'activité inhibitrice de l'ACE (Angiotensin-1-Converting Enzyme) des peptides extraits du lactosérum fermenté par ultras filtration. Dans le même contexte, El Hatmi et al., (2016), ont identifié 347 peptides dérivés par différentes fractions du lait après fermentation. Les peptides qui présentent une activité anti oxydante importante sont ceux qui présentent un poids moléculaire inférieur à 3000 Da. Récemment, Alhaj, (2017), a identifié dix peptides de poids moléculaire inférieur à 1200 Da présentent une activité inhibitrice de l'ACE.



Toutefois, les travaux concernant les activités biologiques de lait de chamelle fermenté spontanément sont très rares. Pendant que les nomades utilisent ce lait dans leur vie quotidienne non seulement comme un aliment mais aussi comme un remède pour certains problèmes de santé (Shori, 2012), les éleveurs urbains et les consommateurs le considèrent comme un aliment altéré.

Dans ce contexte, et dans le cadre d'expansion des utilisations de lait de chamelle comme une source économique nationale, le lait fermenté demeure un produit transformé peu étudié, mal exploré et mal valorisé. A cet effet, le but de la présente étude est d'investiguer les effets de la fermentation spontanée sur les activités biologiques *in vitro* des protéines sériques camelines. Plusieurs volets ont été entrepris :

- Etude des paramètres physicochimiques et biochimiques du lait de chamelle avant et après fermentation.
- Etude des changements microbiologiques au cours de la fermentation.
- Caractérisation électrophorétique des fractions protéiques du lait de chamelle cru et fermenté.
- Etude comparative des activités biologiques du lait camelin à l'état cru et après fermentation tel que l'activité antimicrobienne, anti oxydante et anti-inflammatoire

*I : SYNTHÈSE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*

## **1. Synthèse bibliographique**

### **1.1 Propriétés du lait de chamelle**

#### **1.1.1. Propriétés organoleptiques**

Le lait de chamelle a les mêmes propriétés du lait bovin avec quelques différences. Il est de couleur blanc-mat et parfois mousseux, avec un goût plus ou moins sucré quand les chamelles sont broutées sur un fourrage vert, mais il est parfois salé grâce à l'alimentation sur certains arbustes et herbes halophiles dans les régions arides. Ainsi, ces changements de goût sont dus aux types de fourrage et à la disponibilité de l'eau potable (Indra et Erdenebaatar, 1994).

#### **1.1.2. Propriétés physico-chimiques**

Les propriétés physico-chimiques du lait de chamelle varient (Tableau I), selon l'origine génétique, la période de lactation, le type d'élevage, le régime alimentaire et les techniques d'analyses utilisées (El-Agamy, 2006). Leur pH varie de 6.2 à 6.6 (Konuspayeva, 2007). Sa densité est de l'ordre de 1,029 g/cm<sup>3</sup> et son acidité titrable est de l'ordre de 18 °Dornic (Meiloud et al., 2011). Sa viscosité moyenne est de 2.2 centipoises (Hassan et al., 1987) et sa conductivité électrique varie de 4.6 à 7.7 mS/cm (El-Agamy, 2006 ; Eberlein, 2007).

#### **1.1.3. Propriétés biochimiques**

Le lait de chamelle est considéré comme un aliment complet et équilibré pour les peuples nomades. Il comporte des nutriments de base importants (protéines, matière grasse, lactose et vitamines), qualitativement et quantitativement ressemble à celle du lait de vache (Tableau I), mais les variations selon les auteurs sont à cause des facteurs préalablement cités.

##### **1.1.3.1 Teneur en Eau**

L'eau est le composant majeur du lait (Tableau I). La teneur en eau du lait camelin varie selon son apport par l'alimentation et selon la saison. Pendant l'été et la période de sécheresse, elle atteint une valeur maximale. Il a été aussi constaté que la teneur en eau du lait change considérablement, même si le régime est resté inchangé tout au long de l'année.

Elle est égale à 86 % lorsque l'eau est librement accessible. En cas de restriction, elle peut augmenter jusqu'à 91 % (El-Agamy, 2006). Ceci est une réponse physiologique, permettant à la chamelle de s'adapter dans les périodes de sécheresse et de fournir une quantité suffisante en eau aux chamelons et chameliers.

**Tableau I:** Qualité physico-chimique du lait de chamelle en comparaison avec le lait de vache

Origine du lait	Constituants									Références
	pH	Acidité (°D)	Densité	Eau %	MST %	Lactose%	MG %	TP %	Cendres %	
Lait de chamelle	---	---	---	87.8	12.2	5.2	3.1	3.1	0.8	Farah et Rüegg (1989)
	6.77	18	1.015	90.2	9.74	3.6	2.6	2.5	0.94	Khaskheli et al., (2005)
	6.45	26	1.033	85.6	14.4	3.0	5.9	3.4	---	Konuspayeva (2007)
	6.57	20	---	90.2	9.78	4.4	2.3	2.0	0.94	Omer et Eltinay (2009)
	6.41	17.2	1.020	88.1	11.9	4.2	3.7	3.4	0.75	Sbouï et al., (2009)
	---	16	1.030	88.7	11.3	4.9	2.9	2.5	1.3	Meiloud et al., (2011)
	6.31	18.2	1.023	88.7	11.3	4.3	2.8	3.5	0.72	Siboukeur (2011)
	6.6	13.3	---	88.9	11.0	4.6	3.2	3.8	0.88	Bahobail et al., (2014)
	6.50	16.57	1.027	88.1	11.89	---	2.2	2.68	0.78	Sbouï et al., (2015)
Lait de vache	6.7	19.1	1.025	88.8	11.2	---	3.0	2.4	0.71	Sbouï et al., (2015)
	6.5	16.7	1.030	88.3	11.7	4.3	3.1	---	---	Labioui et al., (2009)

### 1.1.3.2 Teneur en matière sèche totale

Différentes expressions ont été utilisées : extrait sec, résidu sec, matière sèche. Elle diffère entre les espèces de mammifères et se situe entre des valeurs extrêmes très éloignées, de 95 à 542 g/l. La cause de ces différences est essentiellement due à la teneur en matière grasse (El-Agamy, 2006). Chez la chamelle, la matière sèche totale est comparable à celle de lait de vache (Tableau I). Elle est inversement proportionnelle à la teneur en eau. Selon Yagil et Etzion (1980) elle varie suivant la disponibilité de l'eau. Si l'eau est disponible elle peut être supérieure à 14%. Durant la saison de sécheresse, elle peut diminuer à moins de 9%. Ceci explique sa variation entre les auteurs.

### **1.1.3.3 Teneur en lactose**

Le lactose est considéré comme la fraction majeure de carbohydrates dans le lait, qui est une source d'énergie. Il est composé de deux sucres, le glucose et de galactose, qui sont oxydés en acide lactique quand le lait est fermenté (Vignola, 2002). La teneur en lactose dans le lait de chamelle varie de 3.0% à 5.2% (Tableau I). La concentration élevée, observée pour ce nutriment, expliquera la saveur parfois sucrée du lait de chamelle.

### **1.1.3.4 Teneur en matière grasse**

La MG du lait de chamelle est l'un des éléments nutritifs majeurs et source d'énergie. Elle varie entre les auteurs de 2.2 % à 5.9 % (Tableau I), et peut être réduit de 4.3 % à 1.1 % dans le lait des chameaux assoiffés (Jilo et Tegegne, 2016). Cette MG est dispersée dans le lait sous forme de globules enveloppée dans une membrane composée de complexes de phospholipides-protéines (Attia et al., 2000). La composition lipidique de lait de chamelle est influencée par des facteurs environnementaux et physiologiques tels que l'alimentation, le stade de lactation et les différences génétiques au sein des espèces (Karray et al., 2005).

La MG du lait camelin est caractérisée par une prédominance de triglycérides qui représentent 96 % des lipides totaux du lait de chamelle, 66% d'entre eux sont des acides gras saturés (Gorban et Izzeldin, 2001).

Dans la fraction lipidique de lait de chamelle, le pourcentage d'acides gras saturés est de 62.8% (qui prédominent sur les insaturés qui sont représentés principalement par l'acide palmitique de l'ordre de 28.5%). La fraction d'acide gras insaturé est dominée par les acides oléiques et palmitoléiques (Haddad et al., 2010).

### **1.1.3.5 Teneur en sels minéraux**

Les sels minéraux du lait jouent de nombreux rôles dans l'organisme de leur consommateur, y compris la formation osseuse, le maintien de l'équilibre hydrique et le transport d'oxygène (Brody, 1999).

Le lait de dromadaire constitue une bonne source d'apport en minéraux pour les gens des zones arides. La teneur totale en minéraux est habituellement exprimée en cendres totales qui varie entre les auteurs de 0.60 à 1.05 % avec une moyenne de 0.79 % (Konuspayeva et al., 2009). Ces fluctuations de concentration en sels minéraux (Tableau I) ont été attribuées à la différence de la race, l'alimentation, la disponibilité de l'eau et aux procédures analytiques (Mehaia et al., 1995, Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Le lait de chamelle est une source riche en quelques minéraux comme le chlorure, ceci est selon le type des plantes consommés par le dromadaire tel que les genres d'Acacia, Atriplex et Salosa, ce qui donne des fois un goût salé dans ce type de lait (Al Haj et Al Kanhal, 2010). Les concentrations de tous les principaux minéraux tels que Cu, Mg, Fe, Na et K dans le lait de chamelle semblent être plus élevés que celles du lait de vache (Tableau II) (Mehaia et al., 1995).

**Tableau II:** Teneur en sels minéraux du lait de chamelle et du lait de vache (g/l) selon différents auteurs

Type de lait	Ca	Mg	Fe mg/l	Na	K	P	Zn mg/l	Cu mg/l	Sources bibliographique
Lait de Chamelle	0.52	0.12	1.2	1.15	2.7	---	---	---	Meiloud et al., (2011)
	1.22	0.107	2.39	0.89	1.56	---	3.53	0.49	Boudjenah, (2012)
	1.65	0,07	---	0.47	2.46	---	2.0	0.3	Sboui et al., (2009)
	0.65	0.08	3.24	0.54	1.37	0.89	3.04	0.13	Al-Dobaib, (2009)
	1.23	---	2.02	---	---	1.003	---	---	Konuspayeva (2007)
	0.94	0.11	---	0.68	1.98	0.41	---	---	Mal et al., (2007)
	1.28	---	---	0.53	1.36	0.92	---	---	Alloui-Lombarkia et al., (2007)
	1.09	0.24	---	1.61	---	0.71	---	---	Dell'Orto et al., (2000)
	1.46	0.10	3.41	0.90	2.11	0.78	2.9	0.1	Bengoumi et al., (1998)
1.14	---	---	0.33	1.66	0.87	---	---	Ellouze et Kamoun (1989)	
Lait de vache	1.25	0.12	0.4	0.46	1.45	---	3.7	0.03	Boudjenah, (2012)
	1.65	0.113	0.515	0.53	1.42	---	4.40	0.076	Rodríguez et al., (2001)
	1.0	0.07	---	0.43	1.50	---	2.0	0.23	Sboui et al., (2009)

### **1.1.3.6 Teneur en vitamines**

Le lait de chamelle contient moins de vitamine A (Rétinol), B1 (Thiamine), B2 (Riboflavine) et B9 (Acide folique) que le lait de vache et la  $\beta$ -carotène n'est pas été détecté dans le lait de chamelle, alors que la teneur en vitamine B6 (Pyridoxine) et B12 (Cobalamine) est environ dans le même niveau. Cependant, la teneur en vitamine B3 (niacine) et en vitamine C (Acide ascorbique) est nettement supérieure à celle de lait de vache (Farah et al., 1992, Stahl et al., 2006, El-Agamy 2009). La teneur de lait de chamelle en vitamine C est en moyenne trois fois plus élevée (37,4 mg/kg) que celle du lait de vache (10.5 mg/kg) (Farah et al., 1992, Stahl et al., 2006). Cette teneur est d'une importance capitale du point de vue nutritionnel, dans ces zones arides où les fruits et légumes frais sources de vitamine C, sont rares.

### **1.1.3.7 Teneur en protéines**

Les protéines représentent l'une des plus grandes contributions du lait dans la nutrition. Les protéines effectuent une variété de fonctions dans les organismes vivants. Elles jouent un rôle dans la structure, dans le fonctionnement de l'organisme (par les enzymes), dans la protection (par les anticorps) (Petsko et Ringe, 2008). Les protéines du lait sont un groupe hétérogène de composés qui présentent des différences dans la composition chimique et les propriétés fonctionnelles (Jilo et Tegegne, 2016).

La teneur du lait de chamelle en protéines varie de 2.0 % à 3.8 % (Tableau I). Il contient deux principaux groupes, sont les caséines et le lactosérum. La teneur en protéines dans le lait varie selon les races des chameaux et les conditions saisonnières (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

#### **1.1.3.7.1 Propriétés des caséines**

La CN est la fraction importante de la protéine dans le lait. Le lait de chamelle est composé de 16.3 à 27.6 g/l de CN, elle représente 52 à 87 % de la protéine totale du lait de chamelle (Khaskheli et al., 2005). Wangoh et al., (1998) ont indiqué que la bonne précipitation des CN camelines se fait à pH 4.3 mais celles du lait bovin se précipite à pH 4.6. Les CN de lait de chamelle sont séparées par l'électrophorèse sur Urée-PAGE. Quatre fractions de CN camelin ont été identifiées,  $\alpha$ 1-CN,  $\alpha$ 2-CN,  $\beta$ -CN, et  $\kappa$ -CN, sachant que les fractions  $\alpha$ 1-CN et  $\beta$ -CN sont les plus abondantes (El-Agamy, 2009). La  $\beta$ -CN et  $\alpha$ 1-

CN représente approximativement 65% et 21% de la caséine totale du lait de chamelle respectivement, par rapport à celle du lait bovin qui est de 36% et 38% respectivement (Kappeler et al., 2003). La fraction caséique du lait de chamelle se caractérise par une teneur relativement faible de  $\kappa$ -CN (5%) par rapport à celle du lait bovin (13.6%) (Ramet, 2001).

Par ailleurs, la taille des micelles de CN du lait de chamelle est nettement plus grande que celle des micelles du lait bovin. Cette propriété est parmi les principaux facteurs expliquant la difficulté de transformer le lait de chamelle en fromage (Bornaz et al., 2009). En effet, le diamètre moyen des micelles du lait de chamelle est environ le double de celui du lait de vache (320 nm contre 160 nm) (Farah et Rüegg, 1989).

#### **1.1.3.7.2 Propriétés du lactosérum camelin et leur fonctions biologiques**

Le lactosérum correspond à la fraction liquide restante après la séparation de CN comme le cas de la fabrication du fromage. Cette fraction représente environ 85 à 90% du volume totale du lait et conserve environ 55% des nutriments du lait (Brandelli et al., 2015). La teneur en protéines de lactosérum du lait de chamelle est comprise entre 20 à 25% des protéines totales (Khaskheli et al., 2005). Les fractions de lactosérum camelin et la séquence primaire de leurs chaînes d'acides aminés sont identifiées par les techniques d'électrophorèse, de chromatographie et d'immunochimie (El-Agamy, 2009).

Il est bien connu que la  $\beta$ -lactoglobuline ( $\beta$ -LG) est la principale protéine sérique du lait bovin. Il représente 55 % de la protéine de lactosérum total, en seconde proportion on trouve l' $\alpha$ -lactalbumine ( $\alpha$ -LA) (entre 20 à 25 %) et le sérum albumine avec 6.6 %. Existe d'autres protéines mineures de lactosérum comme les immunoglobulines, la lactoferrine, la lactoperoxidase et les protéoses peptones (El-Agamy, 2009).

Il est également reconnu que la possibilité de retrouver des fragments des protéines du CN comme des macro-peptides résultants de la protéolyse au cours de la fabrication du fromage à un pH plus acide ou au cours de la fermentation (Farrell et al., 2004).

Le lait de chamelle est semblable au lait de la femme par l'absence de  $\beta$ -LG et d'autre part le contenu élevé en  $\alpha$ -LA avec une concentration d'environ 2.7 g/l. Sachant que la  $\beta$ -LG et la  $\beta$ -CN sont considérés comme des agents d'hypersensibilité au lait bovin et l'une des allergies alimentaires majeures surtout chez les nourrissons (El-Hatmi et al., 2015).



Cette absence de  $\beta$ -LG dans le lait de chamelle lui confère d'être utilisé dans la préparation infantile après quelques modifications (Mati et al., 2017).

#### **1.1.3.7.2.1 $\alpha$ -LA**

La protéine de lactosérum  $\alpha$ -LA joue un rôle physiologique important dans la synthèse du lait dans les glandes mammaires. L' $\alpha$ -LA intervient dans la synthèse du lactose par l'interaction avec l'enzyme  $\beta$ -1,4-galactosyltransférase (Farrell et al., 2004).

La valeur nutritionnelle de l'  $\alpha$ -LA est très haute. C'est une source importante de peptides bioactifs et d'acides aminés essentiels (plus de 60% de son composition), dont le tryptophane, la lysine, les acides aminés à chaîne ramifiée et les acides aminés soufrés, qui sont tous essentiels pour la nutrition du nourrisson. Son additionnement aux formules pour enfants serait un avantage certain dans l'apport nutritionnel. De plus, la composition protéique des formules ainsi modifiées par ajout de quelques éléments (minéraux, vitamines) et élimination d'autres ( $\beta$ -lactoglobuline) deviendrait proche du lait humain (Layman et al., 2018).

Le lactosérum camelin contient une concentration de l' $\alpha$ -LA d'environ 3.5 g/l, qui est très important que celle du lait bovin, qui est de 1.26 g/l (Kappeler et al., 2003). D'autre part, El-Hatmi et al., (2007) ont rapporté que le sérum albumine est la principale protéine de lactosérum présente dans le lait de chamelle, qui est de l'ordre de 10.8 g/l pendant la première semaine de lactation. Mais Omar et al., (2016), ont récemment prouvé que  $\alpha$ -LA est la principale protéine de lactosérum dans le lait de chamelle avec une concentration de  $2.01 \pm 0.02$  g/l et le sérum albumine est de  $0.46 \pm 0.01$  g/l. La concentration de l' $\alpha$ -LA bovin diminue vers la fin de lactation, qui est corrélée avec le déclin observé dans la concentration de lactose (Farrell et al., 2004). Selon El-Hatmi et al., (2007), l' $\alpha$ -LA camelin reste stable pendant la première semaine de lactation. Mais pour les variations de leur concentration pendant toute la période de lactation n'existe pas des études bien détaillées.

Beg et al., (1985) ont trouvé que l' $\alpha$ -LA camelin présenté une masse moléculaire de 14.6 kDa et contient 123 acides aminés avec 8 résidus cystéine formant 4 ponts disulfure. Il ne diffère avec l' $\alpha$ -LA bovin que dans 39 positions de ces résidus par un taux de différence séquentielle de 31.7 %. L' $\alpha$ -LA mature présente deux variantes génétiques prédominantes (A et B) ayant un point isoélectrique de 5.1 et 5.3 et une masse moléculaire de 15 et 13.2 kDa respectivement (Beg et al., 1985, Levieux et al., 2005).

Salami et al., (2009) et El-Hatmi et al., (2014) ont montré que l' $\alpha$ -LA cameline présente une activité antioxydante plus importante que celle de l' $\alpha$ -LA bovine par le test ABTS. Il joue aussi le rôle d'un immuno-activateur (Bounous et al., 1989).

#### **1.1.3.7.2.2   Sérum albumine**

La SA est la protéine principale du plasma sanguin, son rôle principal est dans la régulation de la pression osmotique du sang, le transport, le métabolisme et la bonne répartition des liquides entre les vaisseaux sanguins et le milieu interstitiel (Carter et Ho, 1994). L'augmentation du taux du SA dans le lait peut être utilisée comme indicateur de l'état de santé de la glande mammaire. Dans les stades précoces d'infections du pis, on peut trouver des complexes sérum albumine-immunoglobulines, qui intervenant dans les réactions de défense immunitaire (Olaniyan et al., 2013).

Le SA bovin (SAB) représente 1.5 % de la protéine totale du lait et environ 8 % de la protéine totale de lactosérum avec un poids moléculaire de 66.2 KDa (Farrell et al., 2004). Elle est proche à celle de SA camelin (SAC) qui est de 67 KDa (El-Agamy, 2006). La séquence de SAB en acides aminés contenait 583 résidus avec 17 ponts disulfures avec une similitude de 76 % avec le SA Humain (Farrell et al., 2004). Par ailleurs, la séquence de SAC en acides aminés est de 588 résidus avec une similitude de 80.9 % avec le SAB (Mati et al., 2017).

El-Hatmi et al., (2007) ont rapporté que la SAC présente une concentration de 10.8 g/l dans la fin de la première semaine de lactation. La concentration de la SAC est élevée pendant les 24 premières heures de la mise bas et peut atteindre 24 g/l et rapidement diminuée au cours des 48 h suivantes (El-Hatmi et al., 2007). Levieux et al., (2005) ont donné une concentration plus faible, 3.4 g/l pour le lait de la première semaine de lactation et 0.3 g/l pour le lait après trois mois de lactation. D'autre part, Omar et al., (2016), ont rapporté un taux de SAC de 0.46 g/l.

### **1.1.3.7.2.3 Immunoglobulines (Ig)**

Comme toutes les sécrétions biologiques (salive, larmes, sécrétions bronchiques, nasales et pancréatiques...) le lait contient également des protéines protectrices. Ce sont des protéines spécifiques, les immunoglobulines (anticorps). Les Ig sont sécrétées par les plasmocytes en raison de la réponse immunitaire après l'exposition à certains antigènes, virus, bactéries, etc... (Reiter, 1985).

Les Ig sont classées en cinq classes, IgG, IgM, IgA, IgD et IgE. Les trois classes IgG, IgA et IgM sont reconnues dans le lait de chamelle et présentent un poids moléculaire différent aux autres espèces avec une teneur plus élevée (El-Agamy, 2009). El-Agamy et Nawar (2000) ont montré que le lait de chamelle contient la plus haute concentration en IgG, 1.64 g/l par rapport au lait de vache et le lait maternel, 0.67 et 0.86 g/l respectivement. D'autre part, Konuspayeva et al., (2007) ont donné une concentration plus faible d'IgG de 0.71 g/l. Les immunoglobulines camelin de la classe IgG sont variées en trois sous-classes IgG1, IgG2 et IgG3. Les IgG1 et IgG2 ont une concentration élevée durant la première 24 heures et ont diminué au cours des jours suivants la mise bas. L'IgG1 représentait 91.6 % du total des IgG au premier jour (El-Agamy, 2009).

El-Hatmi et al., (2007) ont trouvé une concentration élevée d'IgG totales (101.8 g/l) dans le colostrum pendant la première heure de lactation et diminué à 47.2 g/l après 24 heures de la mise bas et atteint 7.9 g/l au début de la deuxième semaine. Même résultats donnés par Konuspayeva et al., (2007), ont rapporté que la concentration d'IgG varie de 132 à 4.75 g/l pendant la première semaine suivant la mise bas. L'IgG1 représente la fraction la plus élevée des IgG totales avec une concentration de 43.4g/l dans la première heure (El-Hatmi et al., 2007).

Les Ig camelin sont caractérisés par l'absence de chaînes légères dans leurs structures. Ces anticorps à chaîne lourde ont un potentiel considérable dans l'application biotechnologique et thérapeutique humaine (Daley-Bauer et al., 2010). Ils sont caractérisés leur capacité d'interféré dans plusieurs processus biologiques. Ils agissent comme inhibiteurs compétitifs, en pénétrant dans les sites actifs de quelques enzymes telles que la transcriptase inverse du VIH (Mati et al., 2017).

#### **1.1.3.7.2.4 Lactoferrine (LF)**

La LF est une glycoprotéine de plusieurs sécrétions biologiques comme les larmes, la salive, l'urine et le liquide séminal, et sécrété aussi par les neutrophiles sous la stimulation d'un agent pathogène (Ripolles et al., 2015).

La LF est aussi une glycoprotéine du lait produite par les cellules épithéliales de la glande mammaire. Elle a une grande affinité de lier le fer, elle appartient à la famille de transferrine. Elle présente une identité de 60% avec la séquence de la transferrine sérique, qui a comme propriété commune la liaison de deux cations de  $Fe^{3+}$  (Habib et al., 2013).

La masse moléculaire de LF bovin (B) est de 76.11 kDa et contient une séquence de 689 résidus d'acides aminés (Farrell et al., 2004). Kappeler et al., (1999) ont montré que la LF camelin (C) est de 75.25 kDa et contient une séquence de 689 résidus d'acides aminés, par une similitude de la séquence peptidique de 74.0 % et 74.9 % avec la LF humaine (H) et LFB respectivement.

La concentration moyenne de LFC est de  $0.229 \pm 0.135$  g/l (Konuspayeva et al., 2007). Selon Al-Agamy, (2009) la concentration de LFC varie entre 0.02 et 7.28 g/l et le lait camelin présente une teneur de 1.7 à 3.3 fois supérieurs par rapport aux autres espèces, sauf le lait maternel qui présente une moyenne de 1.7 g/l en LFH. Récemment, Omar et al., (2016) ont donné une concentration de 1.74 g/l de LFC par la technique de l'électrophorèse capillaire. Cette variation de concentration entre les auteurs est principalement due à la période de lactation, le régime alimentaire, le nombre d'échantillons analysés, les races et les méthodes d'analyse (Al-Agamy, 2009).

La LF dans le lait et le colostrum est considéré comme un fixateur de fer, qui rend le lait pauvre en fer libre. Cette dernière est indispensable pour la croissance microbienne. Cette propriété aiderait le nouveau-né, qui est facilement infecté et présente un système immunitaire non développé, de boire un lait riche en LF et d'empêcher la croissance microbienne dans son intestin. Au même temps la LF saturée en fer pourrait être aussi une source de fer une fois que la protéine est dégradée dans l'intestin (Kappeler et al., 1999).

Ismael et al., (2013) ont testé l'effet antibactérienne de LFC et trouvé un effet inhibiteur significatif contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ils ont aussi prouvé l'effet immuno-stimulateur de LFC par une haute activation de la prolifération des lymphocytes par une dose de 50 µg/ml.

Conesa et al., (2010) et Bruni et al., (2016) ont montré que l'utilisation des peptides résultant de l'hydrolyse de LFB présentent une action antimicrobienne importante et plus puissante que l'utilisation de lactoferrine intacte.

Habib et al., (2013) ont montré une basse activité antioxydante de LFC par le test FRAP (ferric-reducing / antioxidant power) et le test DPPH. D'autre part, la LFC a également inhibe la dégradation de l'ADN traité par UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et FeSO<sub>4</sub>. De plus, la LFC inhibe *in vitro* la prolifération des cellules cancéreuses du côlon à une concentration de 3mg/ml. Cependant, El-Hatmi et al., (2014) ont trouvé que la LFC élue pure ne possède pas d'activité antioxydante détectable par le test ABTS.

Keykanlu et al., (2016) ont isolé la LFC et les testé *in vitro* sur une lignée de cellules de cancer du sein humain, et ont remarqué que l'augmentation de la mort des cellules cancéreuses est proportionnel avec l'augmentation de la concentration de la LFC. De plus, Redwan et Tabll, (2007) ont montré la présence de similitude biochimique et immunologique de LFC avec la lactoferrine humaine et bovine. Mais la LFC présente une activité antivirale plus importante que la LFH ou LFB par l'inhibition *in vitro* de l'entrée du HCV (virus de l'hépatite C) dans les leucocytes humains.

#### **1.1.3.7.2.5 Lysozyme**

Le lysozyme est une enzyme hydrolytique purifiée à partir de sécrétions et de tissus de presque tous les organismes vivants. Il est considéré parmi les protéines mineures du lait des mammifères (Benkerroum, 2008).

Le lysozyme est une protéine globulaire, constitué d'une seule chaîne polypeptidique de 129 acides aminés et stabilisé par quatre ponts disulfures. Il présente un poids moléculaire de 18 kDa chez la vache. Le poids moléculaire du lysozyme humain et caprin est de 15 kDa, pour le lysozyme camelin a été estimé à 14.4 kDa (El-Agamy, 2009).

Dans le lait de chamelle la concentration de lysozyme est de l'ordre de 150 µg/l, cette concentration est deux fois plus élevée que celle du lait de vache, qui est de 70 µg/l (Konuspayeva et al., 2004). Cette concentration est diminuée d'une façon concomitante avec la progression de la période de lactation, sachant qu'elle est plus élevée pendant les premières semaines de la lactation. Cette diminution entraîne la diminution de l'activité inhibitrice des microorganismes par le lait de chamelle (Benkerroum et al., 2004).

Le lysozyme est considéré comme enzyme antibactérienne par son pouvoir d'hydrolyse des polymères peptidoglycane de la paroi bactérienne. Il clive la liaison osidique β (1-4) entre les résidus d'acide N-Acetylmuramic (NAM) et de N-Acétyleglucosamine (NAG) (Benkerroum, 2008). Le lysozyme semble inhiber aussi les virus et les microorganismes eucaryotes dépourvus d'une couche de peptidoglycane typique, par d'autres mécanismes d'action que l'activité hydrolytique (Hussain et al., 2015).

Le peptidoglycane est le substrat de lysozyme. Pour cette raison que l'activité antibactérienne du lysozyme est essentiellement dirigée vers les bactéries Gram-positives qui présente une teneur importante en peptidoglycane, contrairement à celle des bactéries Gram-négatives, qui est protégée par la couche de lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe (Benkerroum, 2008). Hussain et al., (2015) ont montré que le lysozyme effectué une action anti *Micrococcus luteus* comme Gram-positif, mais aucun effet n'a été enregistré sur *E. coli* qui était Gram-négative. D'autre part, Duhaïman, (1988) a montré que le lysozyme camelin présente un effet lytique sur les bactéries Gram-négatives telles que *E. coli*.

Le lysozyme camelin est plus résistant à la chaleur que le lysozyme bovin. El-Agamy, (2009) a montré qu'un chauffage à 85 °C pendant 30 minutes de lysozyme camelin conduit à la perte de 56 % de son activité mais celle du lait bovin présente une perte de 74 % dans les mêmes conditions.

#### **1.1.3.7.2.6 Lactoperoxydase**

La lactoperoxydase (LPO) est une enzyme de peroxydase, qui se trouve dans le lait et dans les autres sécrétions exocrines telles que la salive, les larmes et les voies respiratoires (Sharma et al., 2013).

La LPO humaine et bovine est une glycoprotéine d'une seule chaîne polypeptidique de 612 acides aminés, contenant un seul groupe hème, leur poids moléculaire est de 80 kDa et 78.5 kDa, respectivement. La LPO du colostrum humain présente avec une faible abondance (0.004 % de la protéine totale du colostrum). Cependant, les niveaux abaissent rapidement dans la première semaine après l'accouchement. Au contraire, la LPO bovine est maintenue élevée tout au long de la période de lactation (Ueda et al., 1997).

La LPO résiste au pH gastrique acide de nouveau-né. Alors, il joue un rôle important dans la protection de la glande mammaire en lactation et le tractus intestinal du nouveau-né contre les micro-organismes pathogènes (Kappeler, 1998).

La LPO cameline mature non glycosylée présente une masse moléculaire de 69.7 kDa avec 83.8 % d'identité de séquence d'acides aminés avec la LPO bovine et 84.5% d'identité avec la LPO humaine (Mati et al., 2017). Son point isoélectrique est de 8.63, alors que le point isoélectrique de la LPO bovine est à pH 7.90 (El-Agamy, 2009).

La LPO, pour catalyser son substrat Thiocyanate ( $\text{SCN}^-$ ), nécessite la présence de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). La Thiocyanate ( $\text{SCN}^-$ ) est l'un des substrats les plus importants de l'enzyme due à la génération du hypothiocyanite ( $\text{OSCN}^-$ ) comme agent antibactérien puissant. L'ensemble de l'enzyme LPO,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{OSCN}^-$  forme le système LPO (Borzouee et al., 2016). L'anion Thiocyanate ( $\text{SCN}^-$ ), se trouve omniprésent dans les tissus et les sécrétions des mammifères. Chez l'homme, la concentration de  $\text{SCN}^-$  est liée aux habitudes alimentaires et tabagiques. Dans le lait de vache, la concentration de  $\text{SCN}^-$  reflète les taux sériques sanguins et varie selon la race, l'espèce, la santé du pis et le type d'aliments. Certaines plantes de la famille Crucifères (choux, chou-fleur, etc...) sont riches en précurseurs de  $\text{SCN}^-$  tels que les glucosinolates (jusqu'à 600 mg/kg), qui sont facilement convertis en  $\text{SCN}^-$  par hydrolyse enzymatique (Kussendrager et van Hooijdonk, 2000). La concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  est très faible dans le lait normal. Mais il peut être généré par l'oxydation de la xanthine par la xanthine oxydase ou fournie par la flore lactique de catalase-négative (El-Agamy, 2009).

La clé de l'action antimicrobienne du système LPO c'est l'oxydation des groupes sulfhydryle (SH) libres de diverses protéines et enzymes microbiennes qui sont importantes pour leur viabilité. Cette oxydation fait des dommages structurels des membranes

plasmatiques des bactéries Gram-négatives par création des fuites des ions potassiques, des acides aminés et des peptides dans le milieu (Kussendrager et van Hooijdonk, 2000).

Le système LPO a un effet bactériostatique contre les bactéries Gram-positives, comme les streptocoques et *Lactococcus lactis* sub sp à cause de leur paroi cellulaire rigide (Kappeler, 1998).

#### **1.1.3.7.2.7 Protéines de reconnaissance du peptidoglycane (*peptidoglycan recognition proteins*, PGRPs)**

L'immunité innée est la première ligne de défense vis-à-vis des agents infectieux et pathogènes. Elle joue un rôle vital dans les mécanismes de défense par l'intervention des cellules et des mécanismes facilitent cette fonction. Les PGRPs sont des molécules de cette immunité qui fixent les agents pathogènes par leur reconnaissance des molécules sur la paroi microbienne (Dziarski and Gupta, 2006). Ces molécules sont le lipopolysaccharide (LPS) de bactéries Gram-négatives, l'acides lipoteichoïques des bactéries Gram-positives et les peptidoglycans de bactéries Gram-positives et négatives (Sharma et al., 2014).

Les PGRPs de mammifères sont classés en quatre groupes, les PGRPs courts (short PGRP, PGRP-S) dont la masse moléculaire varie de 20 à 25 kDa, les PGRPs intermédiaire ((PGRP-I $\alpha$  et PGRP-I $\beta$ )) avec une masse moléculaire de 40 à 45 kDa et de long PGRP (PGRP-L) avec une masse moléculaire aller jusqu'à 90 Kda (Sharma et al., 2014).

La PGRP-S est sécrété dans les glandes mammaires des mammifères. Cependant, il n'a été détecté que dans le lait de chamelle. Sa concentration moyenne dans ce type de lait est de l'ordre de 120 mg/l. Cette concentration diminue au cours de la période de lactation et augmente en cas d'une mammite sévère. Le séquençage de la PGRP camelin a permis de donner une séquence de 172 acides aminés avec une masse moléculaire de 19.1 kDa. (Kappeler et al., 2004).

Sharma et al., (2011) ont montré que les PGRPs camelin peuvent se lier par des liaisons étroites avec les Lipopolysaccharides (LPS) de bactéries Gram-négatives et d'acide lipoteichoïques (LTA) de bactéries Gram-positives. L'injection des PGRPs camelin dans une culture cellulaire des monocytes, a donné une activité anti-inflammatoire remarquable par l'inhibition d'expression des cytokines pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-alpha) et interleukine-6 (IL-6) (Sharma et al., 2011).



## **1.2 Fermentation du lait de chamelle**

### **1.2.1. Importance de la fermentation**

Bengoumi et Faye, (2015) ont indiqué que les populations pastorales consomment le lait de chamelle à l'état cru et que le seul moyen traditionnel de conservation est la fermentation. Cette fermentation est assurée par l'action des bactéries lactiques, qui transforment le lactose en acide lactique, ce qui permet sa conservation plusieurs jours voire plusieurs semaines sans présence de risques sur la santé.

L'action des bactéries probiotiques sur le lait au cours de la fermentation c'est l'augmentation de leur valeur nutritionnelle. Cet avantage pour la santé représente par la libération des composants biologiquement actifs tels que les vitamines, peptides, oligosaccharides et acides organiques (Ebringer et al., 2008).

La fermentation du lait entraîne une réduction du pH ce qui augmente la stabilité du produit laitier et la durée de conservation en inhibant la prolifération microbienne. De plus, les bactéries lactiques produisent des composés antimicrobiens tels que les acides organiques (lactique, acétique, formique, caproïque), le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène et les bactériocines (Salameh et al., 2016).

L'hydrolyse des protéines de lait par le processus de fermentation lactique fait réduire les propriétés allergéniques du lait. Tous les protéines du lait peuvent être considérées comme allergéniques sauf les immunoglobulines, le sérum albumine et la lactoferrine (Bonczar et al., 2016).

### **1.2.2. Méthodes de la fermentation du lait**

Les produits laitiers fermentés constituent l'une des plus grandes familles des aliments fermentés. Il existe plusieurs types de produits laitiers fermentés tel que yaourts, laits fermentés, fromages, beurre... La diversité des produits laitiers fermentés est basée sur les techniques et les méthodes de fermentation (Frédéric, 2014). Parmi ces méthodes, on peut citer :

### **1.2.2.1 Fermentation spontanée**

La fermentation du lait peut être obtenue naturellement par l'entreposage du lait sans apport de ferments ni ensemencement microbien à une température ambiante jusqu'à la séparation des deux phases, la phase caséique et la phase sérique. Cette fermentation est provoqué par le développement de la flore lactique endogène (*Streptococcus* et *Lactobacillus*) et produit de l'acide lactique qui donne le caillage du lait (Yateem et al., 2008).

### **1.2.2.2 Fermentation dirigée ou maîtrisée**

La fermentation peut être également obtenue d'une façon artificielle par l'introduction de levains ou de ferments lactiques. Ces ferments lactiques contiennent des espèces lactiques connus (Tamime et al., 2011). Le lait est porté à l'ébullition pendant un court moment (2 à 5 minutes) pour détruire la population microbienne. Le prolongement de chauffage plus longtemps peut dénaturer toutes les protéines et changé les propriétés organoleptiques. Puis on introduit dans le lait refroidi le ferment lactique. La température d'incubation est maintenue entre 30 et 38 °C durant tout le temps de fermentation. Cette température ne doit pas être dépassée, sinon le lait présentera une vilaine apparence; une température trop basse ralentit le processus de fermentation et favorise le développement de micro-organismes indésirables (O'mahony et Peters, 1987).

## **1.2.3. Produits laitiers fermentés Algériens**

Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs pays et qui se diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Les produits laitiers fermentés traditionnels en Algérie sont représentés essentiellement par *lben*, *Jben*, *Klilla*, *Zebda*, *Smen* et *Bouhezza*.

### **1.2.3.1 . L'ben et leurs dérivés**

Le *L'ben* est l'un des produits lactière fermenté artisanale très populaires et très connus dans le nord-africain. La préparation du *L'ben* débute par la fermentation spontanée du lait en *Rayeb* dans la température ambiante jusqu'à sa coagulation (pendant 24h à 72h selon la saison). Cette fermentation est assuré par utilisation d'une jarre en terre ou d'une peau de chèvre ou de brebis appelé "*Chekoua*" en Algérie ou "*Kerba*" en Egypte. Elle contient du lait fermenté ancien comme un ferment lactique de démarrage. Le *Rayeb* peut

être consommé tel qu'il est ou subit un barattage et un écrémage dans la *Chekoua*. Le barattage du Rayeb permettant de recueillir sa matière grasse sous forme de beurre dit «*Zebda*», le produit qui reste sous forme d'un lait fermenté écrémé c'est le *L'ben* (Benkerroum et Tamime, 2004 ; Aissaoui Zitoun et Zidoune 2006).

#### **1.2.3.2 . Smen ou Dhan**

Le Smen est un produit artisanal des pays nord-africain, préparé à partir du beurre fermier après lavage par eau froide pour éliminer le reste du lait et salage. Le conditionnement est dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante et conservé pour une durée variable d'au moins 6 mois. La préparation nécessite l'absence de tout traitement thermique, et la conservation est assurée par le salage. Les conditions de stockage soit d'anaérobiose, d'obscurité et de température ambiante sont nécessaire pour la réussite de ce produit artisanale (El Marrakchi et al., 1986).

#### **1.2.3.3 Klila**

La Klila est un fromage artisanal préparé empiriquement par les familles des pays nord-africain. Est un fromage frais ou extra-dur préparée à partir du chauffage modéré du *L'ben* (50-75 °C) pendant 12 minutes environ pour favoriser et accélérer le processus de caillage et d'égouttage. Le lactosérum est séparé du caillé par un tissu fin. Le fromage obtenue c'est la klila peut être consommée à l'état frais. Le séchage de la klila fraiche au soleil pendant quelques jours sur un tissus propre conduit à l'obtention d'un fromage sec découpé en petits cubes additionnée à certains préparations culinaire traditionnels (Leksir et Chemmam, 2015).

#### **1.2.3.4 Jben**

Le « Jben » est un fromage frais artisanal le plus connu chez certains pays arabes et connu même sous le nom de jibneh baida, qui signifie "fromage blanc". Le « Jben » est préparé par fermentation spontanée à température ambiante dans des pots en terre cuite jusqu'à la coagulation du lait cru soit de vache ou de chèvre ou du mélange. Le caillé de la fermentation est obtenu par la même manière que *L'ben*. L'égouttage est assuré par le transfert du caillé dans un sac en tissu pendant 2 à 3 jours pour obtenir une consistance caractéristique. Le fromage est ensuite vidé du sac en tissu et coupé en morceaux, salé à la surface et conditionné pour un égouttage ultérieur (Benkerroum et Tamime, 2004).

### **1.2.3.5 Bouhezza :**

*Bouhezza* est un fromage traditionnel très répandu dans la région de l'Aurès (Zone Chaouia). L'utilisation de la *Chekoua* est indispensable pour la réussite de ce produit de terroir. Elle permet de séparer entre le caillé et le lactosérum du L'ben. Elle joue un rôle important dans l'affinage et la conservation du fromage. La fabrication de *Bouhezza* dure plusieurs mois, en générale dans le début du printemps. *Bouhezza* est préparé par différents types de lait mais le lait de vache est le plus utilisé. La fabrication du fromage commencé par fermentation spontanée d'environ 10 litres de lait avec 2 litres de L'ben dans la *Chekoua* pour une nuit. Chaque fois le lactosérum est drainé et une nouvelle quantité de L'ben et de sel est ajouté pendant sept semaines. Les caractéristiques organoleptiques des pâtes *Bouhezza* (sel et acidité) sont ajustées à la fin de la fabrication par addition de lait cru pendant les deux dernières semaines (Aissaoui Zitoun et al., 2011)

### **1.2.3.6 Aoules**

Aoules est un fromage traditionnel Algérien, obtenu par la fermentation spontanée du lait de chèvre. Le lait cru coagulé spontanément pour obtenir du L'ben écrémé. Un chauffage modéré est fait dans un récipient en argile jusqu'à la précipitation des caséines. Le précipité est tendu sous forme des petits cylindres plats à l'aide d'un panier de paille. Le fromage est ensuite séché au soleil et broyé pour utiliser dans la préparation des plats et des boissons traditionnels (Benkerroum, 2013).

### **1.2.4. Propriétés physicochimiques du lait de chamelle fermenté**

Le lait de chamelle comporte les mêmes nutriments essentiels présents dans le lait de vache (protéines, lipides et lactose) avec quelques différences de proportions (El-Agamy, 2006). Au cours de la fermentation la composition chimique subissent des changements à cause du développement de la flore microbienne. Le changement le plus remarquable c'est la diminution progressive du pH qui peut atteindre une valeur inférieure à 5.4 et parallèlement l'Acidité Dornic subi une augmentation progressive, peut dépasser 50°D au bout de 48 heures à la température ambiante (Siboukeur, 2007).

Osman et al., (2010) ont signalés que le processus de fermentation fait diminuer significativement la teneur en lactose et en vitamine C et parallèlement induit l'augmentation importante des acides organiques comme l'acide lactique, l'acide formique et l'acide acétique, avec une légère augmentation en acides aminés libres. La libération des acides aminés dans le lactosérum est due à la protéolyse au cours de la fermentation ce qui conduit à la diminution du taux de protéines (Debon et al., 2012, Bahobail et al., 2014).

### **1.2.5. Propriétés microbiologiques du lait de chamelle fermenté**

Au début de la fermentation il y a un accroissement important de la flore totale du lait qui comporte la flore lactique et la flore exogène de contamination. Cette croissance est assurée par l'utilisation des nutriments présents dans le lactosérum comme le lactose (Abdel All et Dardir, 2009).

Le lait de chamelle est caractérisé par une flore lactique diversifié et caractéristique. Khedid et al., (2006) ont trouvés 120 souches de bactéries lactiques appartenant aux cinq genres dans le lait de chamelle Marocain. En outre, Hawaz et al., (2016), en Ethiopie, 21 espèces de bactéries lactiques ont été isolées du lait de chamelle avec une très bonne activités protéolytiques, production d'exopolysaccharides (EPS) et activités antimicrobiennes. Par ailleurs, Karam et Karam, (2006) en Algérie, ont isolés des coques lactiques résistantes à 6.5 % de NaCl, sachant que la concentration saline communément rapportée ne dépasse pas 4.5 % de NaCl.

L'importance de la flore lactique du lait de chamelle favorise l'inhibition de la flore de contamination qui se développe au cours de la fermentation. Plusieurs études ont montrés l'absence ou la faible concentration d'entérobactérie, des coliformes, des *Staphylococcus aureus* et des clostridium sulfito-réducteurs à la fin de la fermentation tels que rapportés par Hassan et al., (2008) et Abdel Rahman et al., (2009).

### **1.2.6. Peptides bioactives du lait camelin fermenté**

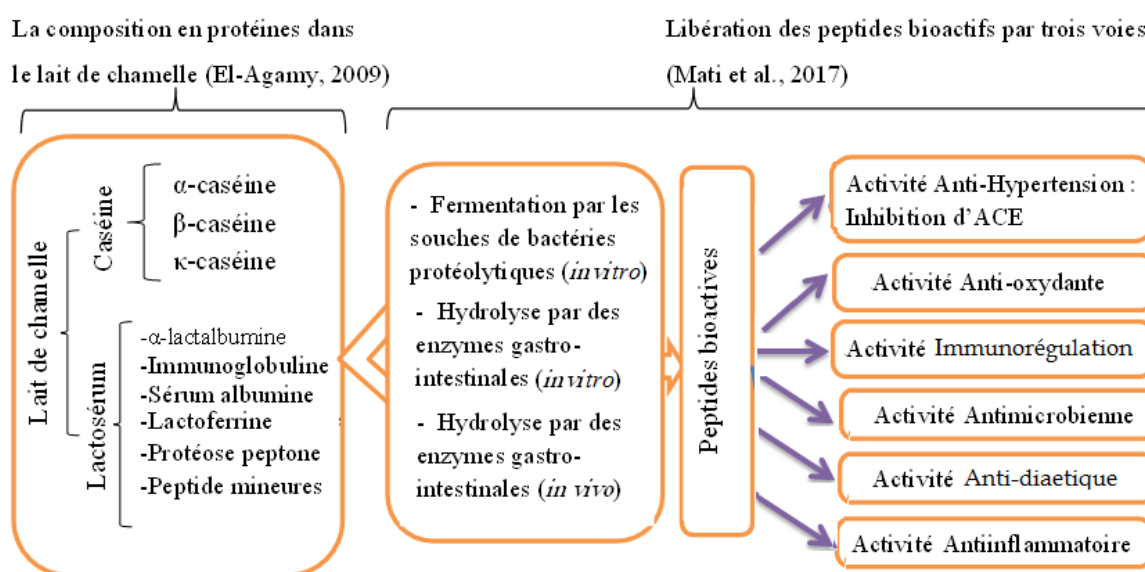
Les peptides bioactifs potentiels peuvent être identifiés à partir de divers types de protéines animales ou végétales dans notre alimentation. Le lait reste la principale source de peptides bioactifs. Ces activités peuvent réduire le risque d'une maladie ou améliorer certaines fonctions physiologiques, telles que les effets antimicrobiens, antihypertenseurs, antioxydants et immunostimulants (Anusha et Bindhu, 2016).

Les protéines du lait sont une source abondante de peptides bioactifs. Ces peptides sont soit d'origine caséique ou sérique présentent une large gamme d'activités biologiques. (Gjorgievski et al., 2014).

Les peptides bioactifs sont inertes dans la protéine initiale du lait (caséine et albumines), mais peuvent être activés par leur libération dans le milieu par plusieurs procédés tels que l'hydrolyse enzymatique par des enzymes digestives, ou bactériennes au cours de la fermentation du lait (Figure 01) (Gjorgievski et al., 2014).

Les peptides bioactifs du lait comprend généralement 2 à 20 résidus d'acides aminés. Leur activité dépend à la fois de la composition en acides aminés, de leur séquence et de leurs liaisons avec les minéraux (Mati et al., 2017). Certains peptides bioactifs peuvent présenter des propriétés multifonctionnelles. Il a été prouvé que la fraction peptidique obtenue à partir du lait fermenté avec certaine espèce de lactobacille présentait à la fois des activités inhibitrices de l'ACE (angiotensin-1-converting enzyme) et des activités immuno-modulatrices (Hafeez et al., 2014).

L'importance de l'hydrolyse protéique effectuée par les microorganismes au cours de la fermentation dépend de l'espèce microbienne choisie, de type de protéines et de temps de la fermentation. De même façon, la fonctionnalité des peptides résultants de l'hydrolyse diffère selon l'espèce de microorganisme choisi (Daliri et al., 2017).



**Figure 1:** Différentes voies de libération des peptides bioactives du lait de chamelle et leurs activités biologiques

La fermentation du lait par utilisation des bactéries lactiques est décrite comme une stratégie pour libération des peptides inhibiteurs de l'ACE (angiotensin-1-converting enzyme), des peptides antimicrobiens et des peptides immunostimulateurs (Hayes et al., 2007).

Les peptides dérivés de protéines de lait de chamelle et ayant des activités biologiques potentielles sont au centre de plusieurs recherches récentes. Mais les recherches sur les peptides bioactifs dérivés de protéines de lait de chamelle fermenté sont rares à notre connaissance et surtout les travaux sur les protéines de lait de chamelle fermenté spontanément.

Mona et al., (2010), ont montré par leur étude *in vivo* l'effet de lait de chamelle fermenté sur l'arrêt de la diarrhée chez les rats infectés par le virus de Ross River (cause une inflammation gastrique chez les enfants) par rapport au lait de chamelle cru.

D'autre part Lafta et al., (2014) et Soleymanzadeh et al., (2016) ont étudié l'activité antioxydante de lactosérum du lait de chamelle fermenté par des souches lactiques sans être séparé une fraction protéique ou peptidique du lactosérum.

Moslehishad et al., (2013) ont séparé la fraction peptidique de lactosérum du lait bovin et du lait de chamelle fermenté par ultrafiltration et ils ont étudié l'activité antioxydante par le test ABTS et l'activité d'inhibition de l'ACE (angiotensin-1-converting enzyme). Ils ont remarqué que les fractions peptidiques à faible poids moléculaire (<3 kDa) résultantes de l'hydrolyse enzymatique par les souches lactiques utilisés pour la fermentation, présentent une activité d'inhibition de l'ACE importante par rapport aux peptides à haute poids moléculaires (>3 kDa et >5 kDa). Ils ont noté aussi que l'activité antioxydante elle est proportionnelle avec le degré d'hydrolyse au cours de la fermentation. Au même temps, ils ont noté que l'activité antioxydante et l'activité d'inhibition de l'ACE est importante dans les hydrolysats de lait de chamelle que celle du lai bovin.

De même façon, El-Hatmi et al. (2016) ont étudié l'activité antioxydante par le test ABTS pour des fractions peptidiques du lait de chamelle fermenté qui sont séparés par ultrafiltration. Ils ont noté que les fractions peptidiques à faible poids moléculaire (<3 kDa) présentent une activité antioxydante importante par rapport aux peptides à haute poids moléculaires (entre 3-10 kDa et >10 kDa).

*II : MATÉRIEL  
ET  
MÉTHODES*



## **2. Matériel et méthodes**

Les différents protocoles expérimentaux de la présente étude ont été réalisés avec la collaboration de cinq laboratoires : Laboratoire des Sciences Fondamentales, Université de Amar Telidji de Laghouat, Laboratoire des analyses médicales Ibn Rochd Ghardaïa, Laboratoire de Microbiologie du Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (C.A.C.Q.E) de Ghardaïa, laboratoire de l'institut national spécialisé de la formation professionnelle Mohamed Cherif Msaadia-Ghardaïa et le laboratoire de génie enzymatique et de microbiologie de l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax, Tunisie.

### **2.1 Matériel**

#### **2.1.1. Matériel biologique**

##### **2.1.1.1 Echantillons de lait de chamelle cru**

L'ensemble de cinq échantillons sont trait à partir des chamelles saines élevées par un système d'élevage semi intensif dans la région de Ghardaïa. L'échantillonnage était effectué dans la période entre 2015 et 2017 au début du printemps.

##### **2.1.1.2 Echantillons de lait de chamelle fermenté**

Les échantillons du lait de chamelles fermenté sont obtenus par une fermentation spontanée à température ambiante et à l'obscurité.

#### **2.1.2. Appareillage**

##### **2.1.2.1 Appareillage utilisé au laboratoire de l'institut national spécialisé de la formation professionnelle Mohamed Cherif Msaadia-Ghardaïa**

- Centrifugeuse butyromètre (Gerber, Allemagne).
- Lactodensimètre (Gerber, Allemagne).
- Dessiccateur (Memmert GmbH, Allemagne).

##### **2.1.2.2 Appareillage utilisé au Laboratoire de Microbiologie du Centre Algérien du Contrôle de la qualité et de l'emballage (C.A.C.Q.E) de Ghardaïa**

- Autoclave (SANOCLAV, France).
- Compteur de colonies (STUART SCIENTIFIC, UK).

- Agitateurs magnétiques de paillasse, chauffants et non chauffants (YELLOWLINE, Allemagne).
- Etuves bactériologiques (MEMMERT, Allemagne).
- Hotte à flux laminaire à UV (ASTEC HLF).
- Distillateur (SCHOTT, Allemagne).

#### **2.1.2.3 Appareillage utilisé au Laboratoire de Génie Enzymatique et de Microbiologie (LGEM) de l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax (ENIS), Tunisie**

- Cuve d'électrophorèse de protéines / verticale BIO-RAD.
- Générateur d'électricité Consor 400V-500MA-50W.

#### **2.1.2.4 Appareillage commun**

Certains appareillages sont couramment utilisés dans tous les laboratoires, tels que : Centrifugeuses, pH mètre, Spectrophotomètre UV-Visible, Etuves d'incubation de différentes températures, Balance analytique sensible, Bain- Marie, Homogénéisateur des tubes à essai, Microscope optique, Distillateur, Rotavapeur, Lyophilisateur.

#### **2.1.2.5 Petit matériel**

Un certain nombre d'accessoires et petit matériel spécifique est utilisé dans le cadre de cette étude : Micropipettes, gants et masques pour manipulation des produits dangereux, laine de verre et différents types de verrerie (bêchers, fioles jaugées, fiole à vide, pipettes graduées, tubes à essais, burette...).

#### **2.1.2.6 Produits chimiques**

- Solvants : acide sulfurique, alcool isoamylique, éthanol, chloroforme.
- Sels et tampons : solution de pH étalon, soude, phénolphtaléine, carbonate de sodium anhydre.
- Colorants et réactifs spécifiques : Bleu de Méthylène, violet de Gentiane, Lugol, réactif de Fuchsine, Sérum albumine bovine (SAB) (SIGMA ; USA), sérum albumine humain (SAH) (ALBUNORM 20 %, solution pour perfusion, Laboratoire Octapharma, France), Disques d'antibiotiques (Bio-Rad),  $\beta$ -carotène, Tween 80, l'acide linoléique, DPPH ( $\alpha, \alpha$ -diphényl-  $\beta$ -picrylhydrazyle), Réactif de pyrogallol red-molybdate (Spinreact), Persulfate

d'Ammonium, Acrylamide, Bis-acrylamide, Tris, TEMED, Glycine, Glycérol, SDS, 2-mercaptoethanol, Bleu de bromophenol, EDTA, Urée.

## **2.2 Méthodes de travail**

### **2.2.1. Collecte de lait de chamelle**

Les échantillons de lait sont collectés à partir des chamelles, dont la plus part de la population Sahraoui, appartenant à des troupeaux de dromadaires (*Camelus dromedarius*) implantés dans la région de Ghardaïa. La traite se fait d'une façon traditionnelle. La chamelle est d'abord tétée par son chamelon afin de stimuler la descente du lait, ensuite, le chamelon est écarté. Le mélange du lait a été récolté dans des bouteilles en verre stériles de 250 ml. Les flacons sont placés immédiatement dans une glacière contenant des blocs réfrigérants et transportés vers le laboratoire pour subir les différentes analyses. A l'arrivée, une mesure de pH et d'acidité Dornic est réalisée, le reste de lait est réparti en petites fractions de 100 ml et de 20 ml qui sont conservées à -20 °C suivant l'objectif expérimental visé.

### **2.2.2. Préparation de lait de chamelle fermenté**

Les échantillons du lait de chamelle collectés ont été laissés fermenter spontanément à la température ambiante 25 °C et à l'obscurité, pendant 120 heures (05 jours) sans addition d'aucun ferment lactique. La flore lactique endogène (*Streptococcus* et *Lactobacillus*) se développe spontanément et produit de l'acide lactique qui provoque le caillage (Sanogo, 1994 ; Yateem et al., 2008).

### **2.2.3. Séparation des caséines et le lactosérum**

Les protéines du lactosérum camelines lyophilisées sont préparées selon la méthode de Shammet et al., (1992) et Wangoh et al., (1998) (figure 02), en suivant les étapes suivantes :

- L'écémage, est réalisé après la portée du lait au bain marie à 30-35 °C pendant 10 min, avec une agitation douce afin de permettre la remontée de la matière grasse en surface, suivie d'une centrifugation à 3500 x g / 20 min à 4 °C pour avoir une bonne prise en masse de cette matière grasse en surface. Le tout est filtré sur la laine de verre. L'opération est refaite une seconde fois pour l'élimination totale de la matière grasse (Shammet et al., 1992).

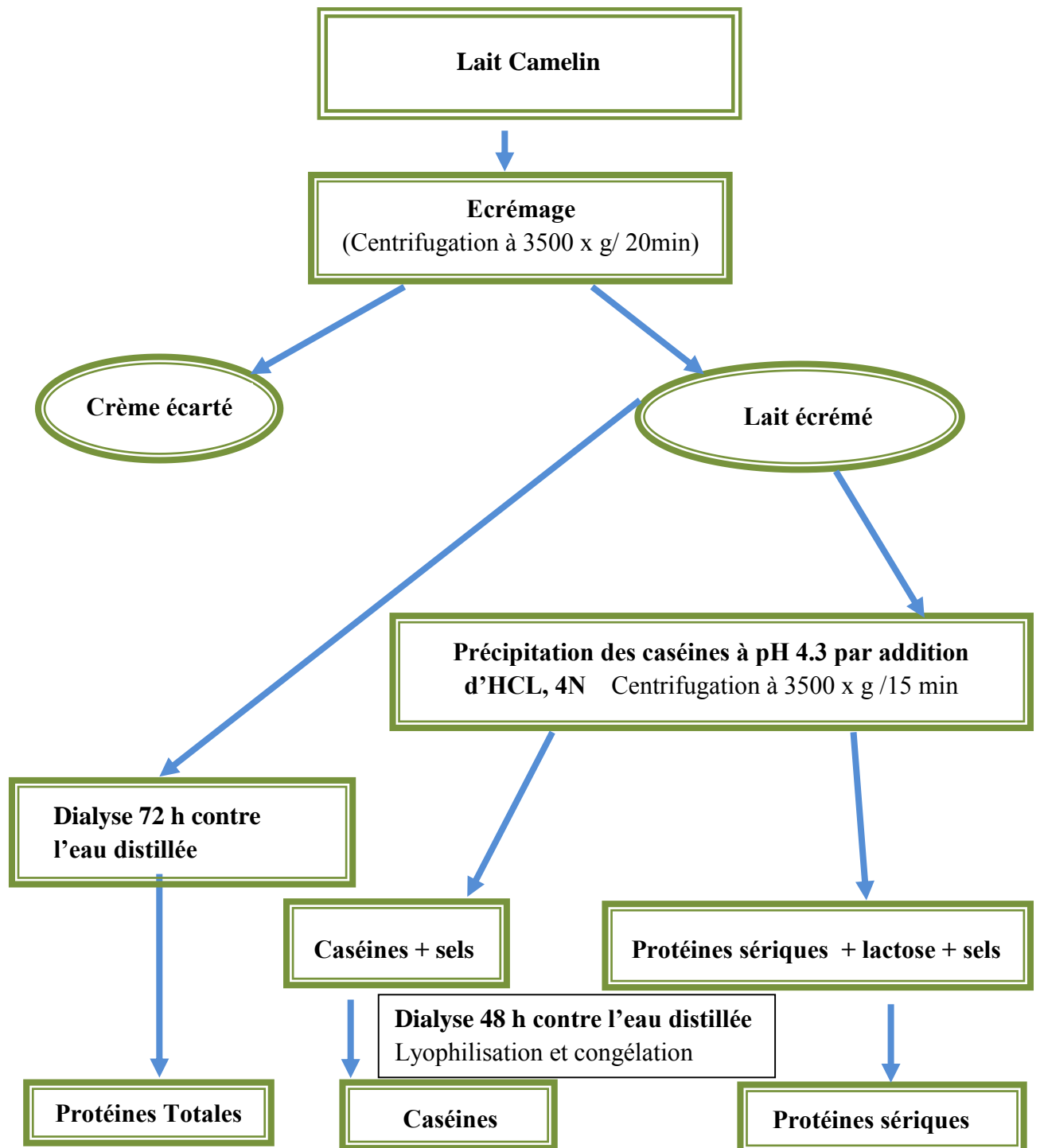
- La séparation entre le lactosérum et les caséines, est réalisée par ajustement du pH de lait écrémé jusqu'à 4.3 par addition de l'HCl 4N, ensuite une centrifugation à 4000 xg/30 min à 20 °C est effectuée. Les deux phases sont ainsi séparées. Cette opération est répétée deux fois afin d'éliminer toutes traces de caséines et de protéines de lactosérum, respectivement dans le surnageant et le précipité. Le lactosérum récupéré par le surnageant est solubilisé par ajustement de pH à 6.3 l'aide d'une solution de NaOH 1N (Wangoh et al., 1998).
- Les échantillons de protéines totales du lait, de caséines et de lactosérum sont dialysés contre l'eau distillée à 4 °C pendant 48 à 72 heures, afin d'éliminer les composés azotés non protéiques (NPN), le lactose et les sels minéraux. Après la dialyse, les échantillons de protéines sont mis en fine couche liquide dans des coupelles, puis congelés sous cette forme à -20 °C (Shammet et al., 1992).
- Les échantillons protéiques sont déposés sur le plateau de la lyophilisation préalablement 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 pour être conservée dans le réfrigérateur (+ 4 °C) pendant une période de trois mois (Shammet et al., 1992).

#### **2.2.4. Etude des principales caractéristiques du lait de chamelle**

##### **2.2.4.1. Analyses physicochimiques**

Les paramètres physicochimiques effectués sur le lait cru et fermenté sont les suivants :

- Le pH est mesuré à la température de 20 °C à l'aide d'un pH mètre, étalonné par une solution de pH étalon (solution de pH connue). La valeur du pH est lue directement après immersion de son électrode dans l'échantillon à analyser.
- Le dosage de l'Acidité Dornic est réalisé avec une solution d'Hydroxyde de Sodium N/9 en présence de Phénolphtaleine (Vignola, 2002) (Annexe 01).
- La Densité est déterminée à l'aide d'un Lactodensimètre (Vignola, 2002).
- La matière sèche totale (MST) est déterminée par dessiccation à l'étuve réglée à 103 ± 2 °C pendant 24 heures d'une quantité de 10 ml du lait entier (NF V04-207, 1970).
- La teneur en cendres est déterminée après dessiccation à 505°C pendant 5h (NF V04-208, 1989).



**Figure 2:** Protocole de séparation des protéines du lait Camelin (Shammet et al., 1992)

#### **2.2.4.2. Analyses des constituants biochimiques**

L'évaluation de la composition biochimique en nutriments de base du lait de chamelle cru et fermenté est effectuée comme suivant :

- La détermination de la teneur en matière grasse (MG) est réalisée selon la méthode acido butyrométrique de GERBER (NF V04-210 Septembre 2000) (Annexe 02).
- La concentration en protéines totales et sériques est déterminée suivant la méthode de pyrogallol red-molybdate citée par Orsonneau et al., (1989). Les protéines réagissent dans une solution acide avec du pyrogallol rouge et du molybdate pour former un complexe de couleur bleu caractéristique. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines dans l'échantillon. Le sérum albumine bovin (SAB) est utilisé comme protéine de référence pour tracer la courbe d'étalonnage  $DO = f(C)$  à une longueur d'onde de 598 nm (Annexe 03).
- La teneur en lactose est déterminée par spectrophotométrie après attaque acide (Labioui et al., 2009). A 1 ml de lait on ajoute 1 ml d'eau phénolée (05 %) et 5 ml d'acide sulfurique sous la hotte. L'ensemble est homogénéisé mécaniquement sur vortex puis porté cinq minutes à ébullition. L'absorbance est lue à 490 nm contre un témoin préparé avec de l'eau distillée. Une courbe étalon est réalisée à partir d'une solution mère contenant 1 g/l de lactose (Annexe 04).

#### **2.2.4.3. Caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté**

Afin d'étudier l'effet de la fermentation sur les protéines du lait, une caractérisation électrophoretique était nécessaire. Les séparations électrophorétiques sont réalisées sur gel de polyacrylamide ou PAGE (Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis). Ce gel constitue un filet à mailles plus ou moins fines permettant aux petites molécules de migrer plus loin. Le gel de polyacrylamide est constitué d'acrylamide (extrêmement neurotoxique par ingestion ou contact avec la peau) qui est l'unité de base et de bisacrylamide qui est l'agent portant conduisant à la formation de nombreuses chaînes enroulées au hasard qui déterminent un ensemble de micro-canaux de pores dans lesquels les molécules protéiniques se déplacent sous l'effet plus ou moins marqué d'un tamisage moléculaire (figure 3).

La structure du gel et la taille des pores, dépend de la concentration en monomère et définie par les indices T et C (Laemmli, 1970). Les différentes étapes de la caractérisation électrophorétique des protéines sont résumées dans la figure 4.

$$T(\%) = (a + b / v) \times 100$$

$$C(\%) = (b / a + b) \times 100$$

**a** : acrylamide (g) ;

**b** : bis acrylamide (g) ;

**v** : volume de la solution (ml).

**T** : le taux (%) d'acrylamide et de bis-acrylamide dans un volume V de tampon.

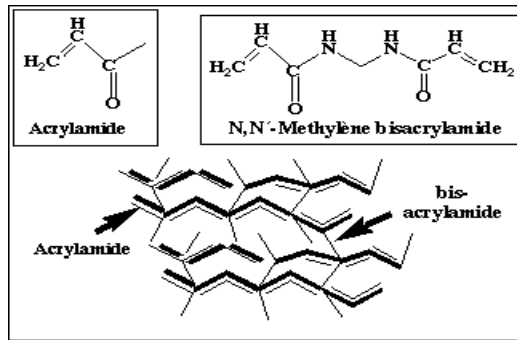


Figure 3: Structure chimique de l'acrylamide et la bis-acrylamide

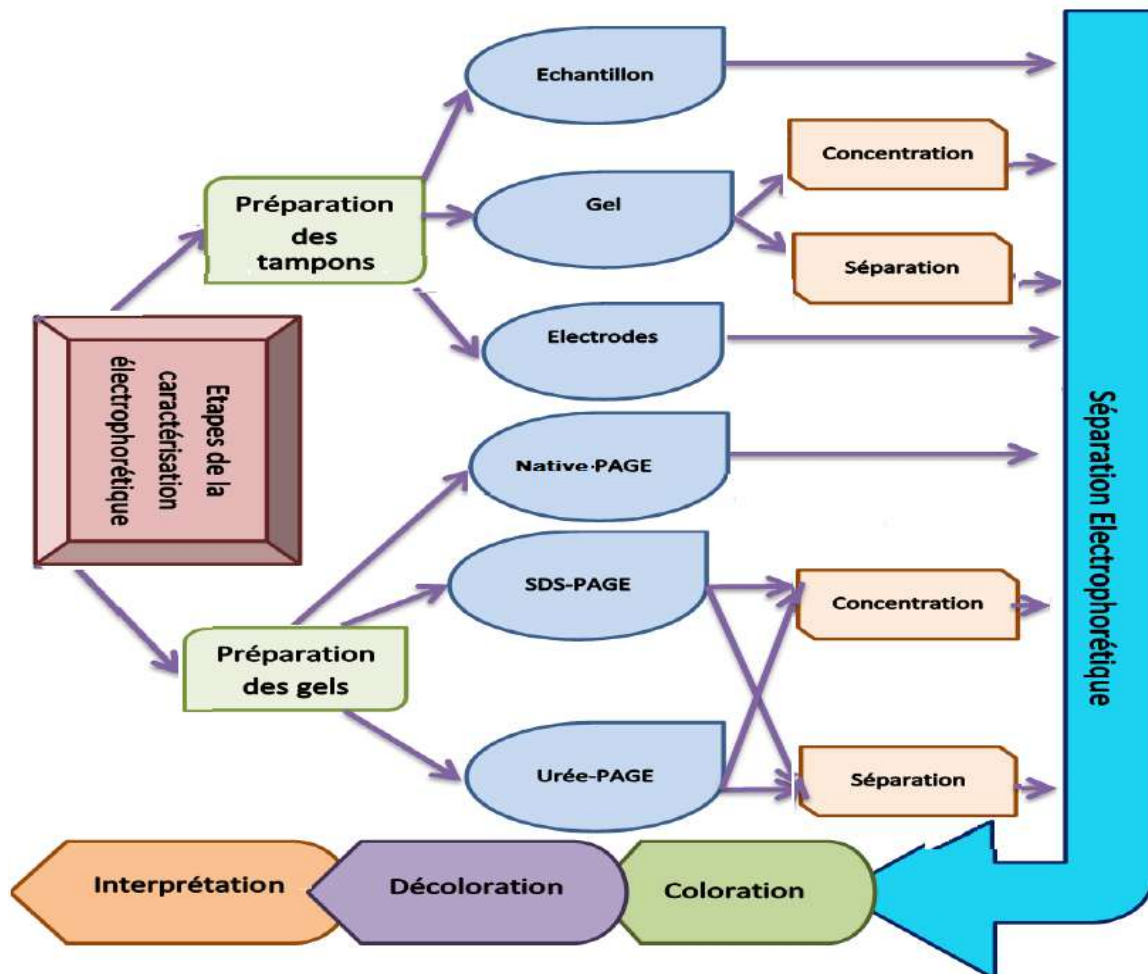


Figure 4: Etapes de la caractérisation électrophorétique des protéines

#### **2.2.4.3.1. Séparations électrophorétiques dans des conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE –native)**

Dans le cas de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes (PAGE–native), les protéines sont séparées dans leur état le plus proche possible de leur état natif. Celles-ci migrent dans ce cas selon leur charge nette et leur poids moléculaire. Les résultats obtenus sont toujours délicats à interpréter concernant la structure des molécules (Hillier, 1976).

Nous avons utilisé un gel de séparation (T=12 % ; C= 2.7 %) en tampon Tris-HCl pH8.9. Le tampon d'électrodes (pH 8.3) est constitué de Tris, 5 mM ; Glycine, 77 mM. Les échantillons protéiques (3 mg/ml) sont solubilisés dans un tampon de dépôts, contenant l'eau distillée, le glycérol (50 %) et enfin le bleu de bromophénol (0.01 %) pour suivre l'avancement des migrations (Hillier, 1976) (Annexe 4).

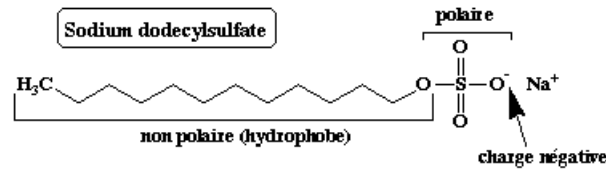
#### **2.2.4.3.2. Electrophorèse en milieu dissociant et dénaturant, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE –SDS)**

Après le chauffage de la protéine à 100 °C pendant 5 min, le dodécyl sulfate de sodium (SDS) (figure 5), est associé à un agent réducteur, le 2-Mercaptoéthanol, chargé de rompre les ponts disulfures. Le SDS solubilise les protéines et se fixe en excès sur ses dernières, leur conférant ainsi une forte charge négative et ne seront séparés que par leur taille et leur poids moléculaire dans le gel de polyacrylamide.

Les protéines sériques des laits cru et fermenté sont séparés par PAGE –SDS. Nous avons utilisé un gel de concentration (T= 4 % ; C= 2.7 %) en tampon Tris-HCl pH 6.8, faiblement réticulé, qui n'exerce aucun effet sur le tamisage moléculaire et tend plutôt à concentrer les échantillons et un gel de séparation (T= 15 % ; C= 2.7 %) en tampon Tris-HCl, pH 8.8, à travers lequel les protéines migrent selon leur poids moléculaire. Le tampon d'électrodes (pH 8.3) est constitué de Tris, 5 mM ; Glycine, 77 mM. Les échantillons protéiques (3mg/ml) sont solubilisés dans un tampon de dépôts, contenant d'eau distillée, de Tris.HCl (pH 6.8), 0.125 M ; de glycérol (10 %) ; de dodécyl sulfate de sodium (SDS) (2 %) et enfin le bleu de bromophénol (0.01 %) pour suivre l'avancement des migrations (Laemmli et Favre, 1973) (Annexe 5).



La détermination du poids moléculaire des peptides séparés s'effectue par utilisation d'un Kit de protéines standard (marqueur de taille), en les faisant migrer dans les mêmes conditions, en suite une courbe d'étalonnage est ainsi tracée (Annexe 5).



**Figure 5:** Structure chimique de dodécyl sulfate de sodium (SDS)

#### 2.2.4.3.3. Electrophorèse en milieu dissociant en présence d'urée et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE –urée)

Les caséines présentent une difficulté de séparation en conditions natives, du fait de leur structure micellaire. Leur séparation est particulièrement adaptée par la méthode de PAGE–urée en présence d'urée et de 2-Mercaptoéthanol. L'urée est un agent dissociant, élimine les liaisons hydrogènes et hydrophobes et la 2-Mercaptoéthanol est un agent de réduction des ponts disulfures S-S (Veloso et al., 2002).

Pour ce type d'électrophorèse, nous avons utilisé un gel de concentration en acrylamide (T = 4 % ; C = 2.7 %) dissous dans un tampon (pH 6.8) composé de Tris-HCl, 1M. Le gel de séparation composé d'acrylamide (T = 15 % ; C = 2.7 %) avec de l'urée, 4 M dissous dans un tampon (pH 6.8) composé de Tris-HCl, 5 M. Les échantillons protéiques (3 mg/ml) sont solubilisés dans un tampon de dépôts, contenant de l'urée à 8.2 M ; du 2-Mercaptoéthanol, 0.2 M ; de Tris, 0.12 M et d'EDTA, 2.5 mM. Le tampon d'électrodes (pH 8.3) est constitué de Tris, 2 mM ; Glycine, 19 mM (Veloso et al., 2002) (Annexe 5).

A la fin de l'électrophorèse, les gels obtenus sont fixés dans l'acide trichloracétique (TCA), 12 % (P/V) pendant 45 min puis colorés pendant 2 h par une solution de bleu de Coomassie R250, 0,1 % (P/V). La décoloration du gel s'effectue dans un mélange des solutions (eau, méthanol, acide acétique) avec des proportions de (6,25 ; 3 ; 0,75, v/v/v).

#### **2.2.4.4. Analyses microbiologiques**

Nous procédons dans cette étude au dénombrement des différents groupes microbiens dans les échantillons de lait de chamelle cru et fermenté.

Pour chaque prélèvement, un volume de 1 ml de lait est dilué dans un volume de 9 ml d'une solution de tryptone sel. On obtient ainsi une dilution mère de  $10^{-1}$  à partir de laquelle on réalise des dilutions décimales jusqu'à  $10^{-7}$ . La solution de tryptone sel est obtenue par dissolution de 9.5 g de tryptone sel en poudre dans un litre d'eau distillée. Cette solution est répartie en volumes exactes de 9 ml dans des tubes en verre, qui sont fermés puis portés à l'autoclave à 120 °C/20mn. Les ensemencements ont été réalisés en double exemplaire, en boîtes de pétri.

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés (Annexe 06). Ils varient selon leur sélectivité ou non et leur emploi est dicté par la nature des germes recherchés. Les dénombrements ont été effectués à l'aide d'un compteur de colonies. Nous n'avons tenu compte que des boîtes qui contiennent entre 30 et 300 colonies (Prescott et al., 2002).

Les analyses macroscopiques consiste à la détermination des caractéristiques macroscopiques des différentes colonies observées (la taille, la forme, la couleur, l'odeur, le contour, l'aspect ...), et il est procédé au test de la catalase et de l'oxydase.

Les analyses microscopiques consistent à la détermination à l'aide d'un microscope photonique, si les germes ciblés portent ou pas la coloration de Gram.

##### **2.2.4.4.1. Temps de réduction du bleu de méthylène (TRBM)**

Le TRBM permet d'estimer et d'identifier les différents niveaux de contamination du lait et de mettre en évidence des problèmes éventuels d'hygiène notamment du matériel et de la traite. Son principe est basé sur la décoloration du bleu de méthylène. Les germes présents dans le lait sont actifs à 37 °C (température du bain-marie pendant le test) et consomment l'oxygène dissout dans le lait. Le bleu de méthylène se décolore quand le milieu s'appauvrit en oxygène. La rapidité de cette décoloration est directement proportionnelle au nombre de germes présents (Larpent et al., 1997).

Une quantité de 10 ml de lait est versée dans un tube en verre auquel on ajoute 1 ml de la solution de bleu de méthylène. Le tube est mis au bain-marie à 37 °C, il est homogénéisé par simple retournement chaque demi-heure. Le temps au bout duquel la coloration bleue de la solution a disparu est soigneusement noté, c'est le temps de réduction du bleu de méthylène (Bonney et al., 2002).

#### **2.2.4.4.2. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FAMT)**

L'ensemencement se fait dans la masse sur milieu Plate Count Agar (PCA) (Leyral et Vierling, 2007), incubée à l'étuve à 30°C pendant 24 à 48 heures. Le dénombrement de la FAMT est un bon indicateur de la contamination globale du lait (Bourgeois, 1980).

#### **2.2.4.4.3. Dénombrement des Coliformes**

Les coliformes sont recherchés sur gélose au cristal violet, au rouge neutre et à la bile VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar) (Marchal et al., 1987). L'ensemencement est effectué en profondeur en doubles couches et les cultures sont ensuite incubées à 34 °C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes thermotolérants pendant 24 à 48 heures (Corry et al., 2003). Le dénombrement des coliformes dans le lait permet de mettre en évidence une contamination fécale (et donc la présence possible d'Entérobactéries pathogènes comme *Salmonella sp*, *Yersinia*, *E.coli*, etc.) (Tourette, 2002).

#### **2.2.4.4.4. Dénombrement des Entérobactéries**

Les entérobactéries sont recherchées sur gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre VRBG (Branger et al., 2007). L'ensemencement est effectué en profondeur et les cultures sont ensuite incubées à 37 °C, pendant 24 à 48 heures (Corry et al., 2003).

#### **2.2.4.4.5. Recherche de *Staphylococcus aureus***

Les Staphylocoques sont identifiés sur le milieu de Baird-Parker additionnée au jaune d'œuf et au tellurite de potassium (Marchal et al., 1987).

L'ensemencement se fait en surface par étalement de 0.1 ml d'inoculum. L'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Le milieu de Baird-Parker est souvent plus favorable à la croissance, la sélection et la différenciation des Staphylocoques, à partir des produits alimentaires.

Les *Staphylococcus aureus* sont identifiés par le halo d'éclaircissement entourant leurs colonies (noires) et résultant de l'hydrolyse des lipoprotéines du jaune d'œuf (Marchal et al, 1987). La confirmation de l'identification des *Staphylococcus aureus* est assurée par le test coagulase (Bonnefoy et al., 2002).

#### **2.2.4.4.6. Dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur**

Les CSR sont dénombrés sur le milieu viande-foie sulfité (VF) en tube, pour favoriser les conditions d'anaérobiose, avec un traitement thermique de 10 min à 80 °C afin de détruire les formes végétatives et d'activer les spores des clostridies. Ces spores peuvent persister sous forme latente dans le lait, germer dès que les conditions sont favorables et sécréter des substances toxiques (Bonnefoy et al., 2002).

#### **2.2.4.4.7. Recherche des salmonelles**

Pour la recherche des salmonelles, un pré enrichissement pendant 24 H a été effectué sur milieu liquide non sélectif (eau peptonée tamponnée), ensuite un enrichissement sur bouillon au sélénite de sodium (SFB) et incubation 24 H à 37 °C, ensuite un isolement sur milieu Hektoen et incubation 24 H à 37 °C est effectué. La culture positive des *Salmonella* dans ce milieu, donnent des colonies vertes à centre noir (*Salmonella* H<sub>2</sub>S<sup>+</sup>) ou sans centre noir (*Salmonella* H<sub>2</sub>S<sup>-</sup>) (Marchal et al., 1987).

#### **2.2.4.4.8. Dénombrement des bactéries lactiques**

Les lactobacillus sont dénombrés sur un milieu sélectif, c'est le milieu de Man, Rogosa et Sharpe (MRS) (Marchal et al., 1987). L'ensemencement se fait en profondeur et l'incubation à lieu à 30 °C, pendant 48h (Dworkin et al., 2006).

Le dénombrement des lactocoques se fait sur milieu M17. L'ensemencement est réalisé en profondeur en doubles couches. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant 48 H pour les bactéries lactiques mésophiles et à 45 °C pendant 48 H pour les bactéries lactiques thermophiles (Hassouna et Masrar, 1995 ; Downes et Ito, 2001).

#### **2.2.4.4.9. Evaluation de la variation de la microflore au cours de la fermentation**

Le lait cru est un produit hautement nutritif. Il contient, en général, des bactéries dont certaines peuvent être très pathogènes pour l'homme tels que *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, etc. (Tourette et al., 2003). Sa production doit être sévèrement contrôlée en raison des risques éventuels qu'il peut présenter pour la santé humaine au cours de sa fermentation.

Dans le but d'évaluer les variations de la microflore endogène et exogène du lait de chamelle au cours de la fermentation et de voir l'effet de la fermentation spontanée sur sa qualité microbiologique, nous avons fait un suivi les variations de cette microflore à des intervalles de temps ; à partir de T<sub>0</sub> et après 48 H, 96 H et 120 H de fermentation dans la température ambiante 25 °C.

#### **2.2.5. Etudes des activités biologiques**

##### **2.2.5.1 Etude de l'activité anti microbienne**

###### **2.2.5.1.1. Souches bactériennes utilisées**

Pour tester le potentiel antimicrobien des protéines sériques du lait de chamelle, quatre souches bactériennes ont été amenées du laboratoire Pasteur, une à Gram-positive, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et trois autres sont à Gram-négative, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 49619), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883). Ces souches utilisées sont largement rencontrées dans diverses pathologies chez l'Homme.

###### **2.2.5.1.2. Sensibilité des souches aux antibiotiques**

Dans le but de contrôler la qualité des souches à utiliser dans l'étude de l'activité anti microbienne, un antibiogramme a été réalisé pour tester l'action de certains antibiotiques sur les souches bactériennes à utiliser et de les comparer avec les normes. Le choix des antibiotiques a été fait selon les normes de CLSI (2015) (Tableau III).

**Tableau III:** Liste des antibiotiques testés (CLSI, 2015)

Familles d'antibiotique	Antibiotique	Souches concernés
Aminosides :	Amikacine (30µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Gentamicine (10µg)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Tobramycine (10µg)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Phénicolés	Chloramphénicol (30µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>
Tétracycline	Tétracycline (30µg)	
Macrolide	Clindamycine (2µg) Erythromycine (15µg)	
Polymixines	Colistine (10µg)	
Diaminopyrimidines + sulfamides	Triméthoprime + Sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Quinolones	Ciprofloxacine (5µg)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Ofloxacine (5µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bêta-lactamines	Amoxicilline + acide clavulanique (20/10µg)	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>
	Ampicilline (10µg)	
	Céfotaxime (30µg)	
	Céfalotine (30µg)	
	Céfoxitine (30µg)	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
	Oxacilline (5µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Pénicilline (6µg)	
	Pipéracilline (100µg)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Imipénème (10µg)	
	Aztréonam (30µg)	
Ceftazidime (30µg)		
Glycopeptides	Vancomycine (30µg)	<i>Staphylococcus aureus</i>

La méthode antibiogramme utilisée est la méthode standard la plus utilisée dans le domaine clinique. Des disques de papier d'antibiotique à tester prêt à l'emploi, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé de Mueller-Hinton, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent d'une manière uniforme et donnent une distance de diffusion proportionnelle à leurs concentrations dans le disque. Après incubation, les disques s'entourent des zones d'inhibition circulaires claires correspondant à une absence de culture bactérienne sous l'effet de l'antibiotique utilisé (CLSI, 2015).

Plus le diamètre de cette zone d'inhibition est grand plus la souche est sensible à l'antibiotique, et vice versa. On peut alors classer la souche étudiée en: sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) suivant les valeurs critiques établies expérimentalement par la (CLSI, 2015).

#### **2.2.5.1.3. Principe du test de l'activité anti microbienne**

Pour évaluer l'activité anti microbienne des protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieux gélosés en boîtes de Pétri cité par plusieurs auteurs (Chumchalova et al., 1998, Zhang et al., 2008, Elmoualdi et al., 2008), en adaptant la méthode des puits. Les boîtes portent le milieu de culture Mueller -Hinton sont ensemencées par 2 ml de l'inoculum de densité optique équivalente au standard 0.5 de Mac Farland ( $10^8$  ufc/ml) de la bactérie pathogène testée, dans le but de couvrir toute la surface gélosée. Les boîtes de Pétri sont ensuite mises à sécher 15 min à 37 °C.

Dans chaque boîte correspondant à une souche testée, et à l'aide de l'extrémité d'une pipette de Pasteur stérile ont été effectués des puits de 6mm de diamètre, recevront chacun 100 µl de solution de protéines sériques du lait de chamelle cru ou fermenté de différente concentration ou de l'eau physiologique stérile comme contrôle négatif. Un disque de Gentamicine (10 µg) est disposé sur la surface de gélose comme contrôle positif et pour comparer les diamètres de la zone d'inhibition des protéines du lait avec son diamètre. Les boîtes sont incubées à 37 °C entre 18 et 20 H.

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du puits. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre (mm).

#### **2.2.5.1.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)**

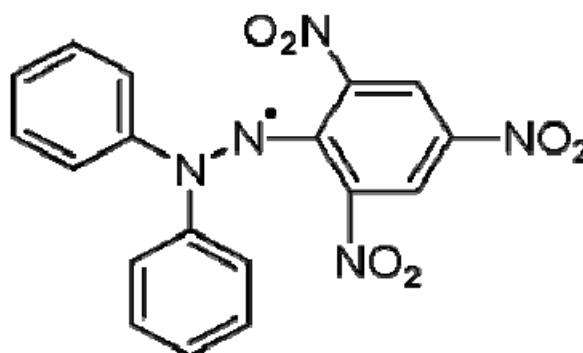
Cette technique consiste à utiliser un inoculum bactérien standardisé avec une gamme de concentration décroissante en protéines sériques de lait de chamelle cru et fermenté. Après incubation, la mesure de diamètre de la zone d'inhibition permet de connaître d'une façon approximative la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en protéines sériques de lait capable d'inhiber la croissance bactérienne (Ericsson et Sherris, 1971).

## 2.2.5.2. Activité anti oxydante

### 2.2.5.2.1. Activité anti oxydante par le test au DPPH

L'activité anti oxydante des protéines sériques de lait de chamelle a été effectuée par le test au 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) cité par plusieurs auteurs (Parejo et al., 2000, Dzomba et al., 2013., Maryam et al., 2013).

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) ( $\alpha,\alpha$ -diphényl-  $\beta$ -picrylhydrazyle) possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 6). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, (DPPH•) reste dans sa forme monomère stable à la température ambiante. La délocalisation provoque aussi la couleur bleue bien caractéristique de la solution de DPPH•. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH• par le transfert de l'atome H de l'antioxydant sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPHH, mesurable par spectrophotométrie entre 515-518 nm (Popovici et al., 2009).



**Figure 6:** Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle)  
(Popovici et al., 2009)

La solution de DPPH est préparée par dissolution de DPPH dans l'éthanol pour obtenir une concentration de 100  $\mu$ M. 1ml de solution de protéines sériques du lait de chamelle cru ou fermenté de différente concentration est mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH. La solution blanc control est préparée également par ajoute de 1 ml de la solution de DPPH avec 1 ml de l'eau distillée. Après homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante (25 °C) à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. Après l'incubation, l'absorbance est lue à 517 nm par spectrophotomètre UV-vis, contre un blanc qui contient 1 ml de l'eau distillée et 1 ml de l'éthanol.



Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (1 - (A_e / A_{bc})) \times 100.$$

A<sub>e</sub>: Absorbance de l'échantillon.

A<sub>bc</sub> : Absorbance de blanc contrôle.

#### **2.2.5.2.2.      Activité anti oxydante par le test de $\beta$ -carotène / acide linoléique**

L'activité anti oxydante des protéines sériques de lait de chamelle a été examinées par le test de  $\beta$ -carotène / acide linoléique qui a été cité par plusieurs auteurs (Kelen et Tepe, 2007 ; Tosun et al., 2009 ; Ueno et al., 2014).

Selon Laguerre et al., (2007), cette technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet a initialement été développée par Marco (1968), puis légèrement modifiée par Miller (1971). Elle consiste à mesurer à 470 nm, la décoloration du  $\beta$ -carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique comme le chloroforme. La dispersion de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène dans le milieu est assurée par du Tween 40 (nous avons utilisé Tween 80 au lieu de Tween 40). L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) d'une manière non spécifique. L'addition d'antioxydants induit un retard de la cinétique de décoloration du  $\beta$ -carotène. Cette méthode est sensible, rapide et simple, il s'agit d'une mesure spectrophotométrique dans le visible (Laguerre et al., 2007).

Environ 10 mg de  $\beta$ -carotène ont été dissous dans 10 ml du chloroforme. La solution de  $\beta$ -carotène-chloroforme (0.2 ml) a été pipetée dans un ballon bouillant contenant 20 mg de l'acide linoléique et 200 mg de Tween 80, Le chloroforme a été éliminé à l'aide d'un rota-vapeur à 40 °C pendant 5 min, ensuite 50 ml d'eau distillée a été ajoutée lentement au résidu résultant de l'évaporation avec une agitation vigoureuse, pour former une émulsion. Une série de tubes à essai de différente concentration de la solution de protéines sériques a été préparés. 1ml de l'émulsion a été ajouté dans chaque tube avec 40  $\mu$ l de la solution de protéines sériques du lait chamelle cru ou fermenté. Un tube est considéré comme blanc contrôle contient 40  $\mu$ l d'eau distillée et 1ml de l'émulsion. L'absorbance du blanc contrôle est lue immédiatement à 470 nm contre le blanc qui est de l'eau distillée. L'ensemble des tubes (blanc et test) sont placés dans un bain marie à 50 °C et dans l'obscurité. Après 120 minutes l'absorbance est lue à 470 nm et le taux d'inhibition est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = ((Ae120 - Abc120) / (Ab0 - Abc120)) * 100$$

Ae120: Absorbance de l'échantillon à 120 min.

Abc120 : Absorbance de blanc contrôle à 120 min.

Abc0 : Absorbance de blanc contrôle à 0 min.

La CI50 (concentration inhibitrice médiane) est mesurée graphiquement, qui est la concentration en protéines sériques du lait de chamelle cru ou fermenté responsable de 50 % d'inhibition d'oxydation des radicaux DPPH ou  $\beta$ -carotène.

### **2.2.5.3. Activité anti inflammatoire**

#### **2.2.5.3.1. Activité anti inflammatoire par inhibition de la dénaturation des protéines**

L'essai anti-inflammatoire *in vitro* des protéines sériques du lait de chamelle cru ou fermenté est effectué par utilisation de la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (Kar et al., 2013, Srikanth et al., 2015).

La protéine utilisée, est le sérum albumine humain (SAH) (ALBUNORM, 20 %, solution pour perfusion, Laboratoire Octapharma, France). La solution test est de 0.5 ml fait par constitution de 0.4 ml de SAH (0.5 %) et 0.1 ml de différente concentration en protéines sérique du lait de chamelle cru ou fermenté et une solution de contrôle de 0.5 ml a été préparée (0.4 ml de SAH (0.5 %) et 0.1 ml d'eau distillée).

L'ensemble des tubes sont incubées à 37 °C pendant 30 min ensuite une incubation à 57 °C pendant 3 min. On ajoute à toutes les solutions 2.0 ml de phosphate saline. L'absorbance est lue à 278 nm par spectrophotomètre UV-vis. Le pourcentage d'inhibition a été calculé comme suit:

$$\% \text{ Inhibition} = (1 - (Ae / Abc)) \times 100.$$

Ae: Absorbance de l'échantillon.

Abc : Absorbance de blanc contrôle.

### **2.2.5.3.2. Activité anti inflammatoire par stabilisation de la membrane des globules rouges humains**

Le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains est celui décrit par plusieurs auteurs (Sakat et al., 2010 ; Leelaprakash and Mohan Dass, 2011 ; Nagaharika et al., 2013).

Le sang a été recueilli dans un tube EDTA par un volontaire humain sain qui n'a pas pris aucun anti-inflammatoire pendant deux semaines avant l'expérience. Le tube est centrifugé à 3500 x g/10 min. Les cellules du culot ont été lavées avec de l'eau physiologique et une suspension de globule rouge (HRBC) à 10 % a été préparée. Le système de dosage constitué en diverses concentrations de protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté. On ajoute 1ml de l'échantillon, 1 ml de tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4), 2 ml d'hyposaline (0.36 %) et 0.5 ml de suspension HRBC. Le blanc contrôle était constitué du tampon phosphate au lieu de l'échantillon. Les systèmes de dosage ont été incubés à 37 °C pendant 30 minutes et centrifugés à 3500 x g/20 min. La teneur en hémoglobine (Hb) de la solution surnageant a été estimée par spectrophotométrie à 560 nm. Le pourcentage de stabilisation de la membrane HRBC a été calculé en utilisant la formule:

$$\% \text{ stabilisation} = (1 - (Ae / Abc)) \times 100.$$

Ae: Absorbance de l'échantillon.

Abc : Absorbance de blanc contrôle.

### **2.2.6. Etudes statistiques des résultats**

Les résultats obtenus sont traités statistiquement par le programme informatique SPSS (version 17.0). Pour la comparaison entre deux variantes on utilise l'analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur par le test de Tukey et on utilise le test de Duncan post hoc pour les comparaisons multiples entre groupes dans le but d'estimer les différences significatives au seuil de probabilité de 5 %.

*III : RESULTATS  
ET  
DISCUSSION*

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Composition physico-chimiques du lait camelin cru et fermenté

Les caractéristiques physico-chimiques du lait de chamelle cru et fermenté sont résumées dans le tableau IV. Les valeurs données représentent la moyenne de trois essais pour cinq échantillons.

**Tableau IV:** Résultats des analyses physico-chimiques des échantillons de lait camelin cru et fermenté (n=3)

Paramètres	Lait cru	Lait fermenté	Valeur de P
pH (à 20°)	6.53 ± 0.1	3.85 ± 0.18***	<0.001
Acidité Dornic (°D)	18 ± 2.04	105.3 ± 2.47***	<0.001
Densité	1.020 ± 0.02	1.033 ± 0.03	0.203
Matière sèche total : MST (g/l)	123.2 ± 8.1	113.4 ± 7.3**	0.002
Cendres (g/l)	8.38 ± 0.5	7.87 ± 0.6*	0.025

\* :  $P \leq 0.05$  : la différence est significative.

\*\* :  $P < 0.01$  : la différence est très significative

\*\*\* :  $P < 0.001$  : la différence est très hautement significative

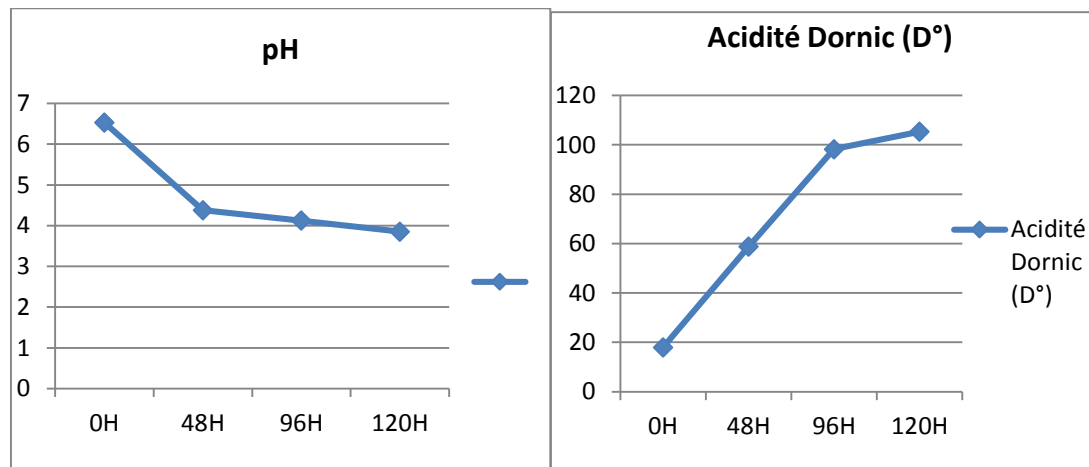
##### 3.1.1. pH et Acidité Dornic

La valeur du pH des échantillons collectés à  $T_0$  représente une valeur moyenne de  $6.53 \pm 0.1$  (tableau IV). Ce pH est légèrement acide par rapport au lait bovin qui est entre 6.6 et 6.8 (Vierling, 2008) et proche au pH du lait camelin donné par d'autres études ( $6.51 \pm 0.12$ ) (Kamoun, 1995), ( $6.45 \pm 0.51$ ) (Konuspayeva, 2007), ( $6.41 \pm 0.18$ ) (Sboui et al., 2009). Gorban et Izzeldin (1997) signalent que le pH et le goût du lait peuvent dépendre de la nature des fourrages et de la disponibilité de l'eau. Kamoun (1995) a montré que le pH bas du lait camelin est dépendant de basse teneur en sodium, calcium et phosphore, et de plus en chlore et potassium.

La valeur de l'Acidité Dornic des échantillons collectés à  $T_0$  représente une valeur moyenne de  $18 \pm 2.04$  °D (tableau IV). Cette valeur se rapproche de celle du lait camelin donnée par d'autres études  $18 \pm 1.0$  °D (Khaskheli et al., 2005),  $18.2 \pm 2.93$  °D (Siboukeur, 2007). Selon Tourette et al., (2003) quand l'Acidité Dornic d'un lait est supérieure à 20°D cela reflète sa contamination.

La cinétique d'abaissement du pH a été suivie au cours de la fermentation à la température ambiante 25 °C pendant cinq jours (120 H) (figure 7). Au cours de la quelle nous avons observé une diminution lente de pH. Au bout de 48 H, elle atteint une valeur de 4.37 pour ensuite arriver à une valeur plus basse (3.85) après 120 H. La différence est très significative par rapport à la valeur initiale. Parallèlement l'Acidité Dornic subit une augmentation progressive jusqu'à atteindre 105 °D à 120 H (figure 7). Ces résultats sont légèrement différents de ceux donnés par Siboukeur (2007) (pH = 5.4 et Acidité Dornic = 50 °D) et par Sboui et al., (2009) (pH = 5.65 et Acidité Dornic = 39 °D) et par Omer et Eltinay (2009) (pH = 5.4 et Acidité Dornic = 50 °D) dans le 3<sup>ème</sup> jour de fermentation. Cette différence est probablement due à la différence dans les conditions de la traite et les conditions analytiques (valeur de la température ambiante).

La diminution du pH du lait et l'augmentation d'acidité Dornic au cours de la fermentation peut s'expliquer par l'accumulation de l'acide lactique sécrété par la flore lactique qui présente une charge importante au cours de la fermentation (Bahobail et al., 2014). Le lait de chamelle présente une bonne qualité de conservation par rapport au lait bovin grâce à son pouvoir tampon (Sawaya et al., 1984 ; Yagil 1990 ; Attia et al., 2001).



**Figure 7:** Evolution du pH et de l'Acidité Dornic au cours de la fermentation

### 3.1.2. Densité

La densité des échantillons du lait camelin est d'une moyenne de  $1.020 \pm 0.02$  et de  $1.033 \pm 0.03$  respectivement avant et après la fermentation. La différence reste non significative (tableau IV). Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par Siboukeur (2007), Mahboub et al., (2010) et par Sboui et al., (2015) ( $1.0230 \pm 0.0045$  ;  $1.027 \pm 0.006$  ;  $1.027 \pm 0.0009$  respectivement).

Selon Filipovitch (1954) et Mathieu (1998), la densité du lait n'a pas une valeur constante. La proportion de la matière grasse, ayant une densité inférieure à 1, peut affecter inversement la densité du lait. Celle-ci. D'autre part, cette densité varie proportionnellement à la concentration des éléments dissous et en suspension (matière sèche comme protéines et lactose). Cette augmentation de densité peut être aussi liée à l'augmentation de la biomasse bactérienne à la fin de la fermentation (Filipovitch, 1954 et Mathieu, 1998).

### **3.1.3. Matière sèche totale (MST)**

La valeur de la MST des échantillons du lait camelin cru est de  $123.2 \pm 8.1$  g/l pour ensuite connaître une diminution très significative après la fermentation ( $113.4 \pm 7.3$  g/l) (Tableau IV). Ces résultats ressemblent à ceux donnés par Omer et Eltinay (2009) qui ont noté une diminution de la MST de lait de chamelle conservé à la température ambiante entre 25 et 30 °C pendant 3 jours, 97.8 g/l à  $T_0$  et 93.2 g/l au 3ème jour de conservation.

Cette différence significative est due à la diminution de la concentration du lactose et des protéines après la fermentation (Tableau V) (O'mahony et Peters, 1987).

Par contre, Bahobail et al., (2014) ont enregistré une légère augmentation de la MST de 110.8 à 115 g/l, cette augmentation est probablement due à la méthode de fermentation utilisé, qui est basé sur le chauffage du lait à 90°C pendant 15 minutes avant l'inoculation par un ferment lactique, ce qui conduit à l'évaporation de l'eau.

Khaskheli et al., (2005) ont noté que le taux de la MST est inversement proportionnel à la teneur en eau. En été, au moment de la haute température, la chamelle sécrète une grande quantité de lait dilué avec une faible teneur en matière grasse. Ce phénomène est naturel, car il permet d'assurer la survie du chamelon et de lui fournir une valeur nutritive suffisante et une quantité importante d'eau en période de sécheresse pour qu'il puisse s'adapter aux conditions désertiques extrêmes et maintenir son homeostasie et sa neutralité thermique.

La teneur en matière sèche du lait de chamelle varie également en fonction du stade de lactation, elle est plus élevée au début et à la fin de la lactation (El-Hatmi et al., 2003).

### 3.1.4. Cendres

La teneur en cendres du lait cru est de  $8.38 \pm 0.5$  g/l. Après la fermentation, Nous avons noté une diminution significative ( $7.87 \pm 0.6$  g/l) (Tableau IV).

La teneur en cendres représente la totalité en minéraux présents. Cette composition minérale dans le lait de chamelle est fortement variable, elle dépend de l'apport alimentaire et de l'état de disponibilité de l'eau (Alloui-Lombarkia et al., 2007). Les chammelles qui broutent des plantes halophiles présentent un taux de cendres élevé (Khaskheli et al., 2005). Selon la littérature, elle varie de 6 à 10.5 g/l dans le lait camelin dont un moyenne de  $7.9 \pm 0.9$  g/l (Konuspayeva et al., 2009).

La diminution significative en cendres après la fermentation est peut être due à la dégradation de certains éléments minéraux par les bactéries lactiques lors de leur croissance. Cho et al., (2009), ont examiné le rôle des micro-organismes dans la dégradation d'un insecticide organophosphoré, le chlorpyrifos, au cours de la fermentation d'un plat traditionnel de la Korea (kimchi). Au cours de la fermentation du kimchi, une quantité de 30 mg de chlorpyrifos a été ajoutée et sa stabilité a été testée au cours de la fermentation. Après 3 jours de fermentation 83.3 % de chlorpyrifos a été dégradé et une dégradation complète a été enregistrée après 9 jours d'incubation. Quatre souches lactiques ont été isolées, elles ont la capacité d'utiliser le chlorpyrifos comme source unique de carbone et de phosphore.

Dans le même context, Abou-Arab et al., (2010), ont testé la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques en présence de trois souches lactiques, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. A la fin de la période d'incubation (72 h), *Lactobacillus bulgaricus* a enregistré un pourcentage de réduction important de 91.5 %.

### 3.2. Composition biochimique du lait camelin cru et fermenté

Les constituants biochimiques du lait de chamelle cru et fermenté sont résumés dans le tableau V. Les valeurs données représentent la moyenne de trois essais pour cinq échantillons.



**Tableau V:** Résultats d'analyse des constituants biochimiques de lait camelin cru et fermenté (n=3)

Constituants biochimiques (g/l)	Lait cru	Lait fermenté	Valeur de P
Matière grasse	37.5 ± 3.1	45.2 ± 4.2***	<0.001
Lactose	42.2 ± 2.03	23.4 ± 1.13 ***	<0.001
Protéines totales	34.1 ± 1.1	29.0 ± 1.4 ***	<0.001
Protéines sériques	6.11 ± 1.2	5.53 ± 0.3	0.102
Caséines	28.05 ± 0.65	23.48 ± 1.45 ***	<0.001

\* :  $P \leq 0.05$  : la différence est significative

\*\* :  $P < 0.01$  : la différence est très significative

\*\*\* :  $P < 0.001$  : la différence est très hautement significative

### 3.2.1. Matière grasse (MG)

La teneur en MG des échantillons du lait cru et fermenté présente une moyenne de  $37.5 \pm 3.1$  et  $45.2 \pm 4.2$  g/l respectivement (Tableau V). A l'état cru, elle semble être inférieure à celles des laits bovin (42 g/l selon Ragot, 2011) et humain (44.3 g/l selon FAO, 1995). Au même temps, ces valeurs sont supérieures à celle du lait de chamelle rapportée par Gorban et Izzeldin (2001) en Arabie Saoudite ( $32.8 \pm 14$  g/l) et par El Zubeir et Ibrahim (2009) au Soudan ( $30 \pm 4.5$  g/l).

Selon Schultz et al., (1990) la teneur en MG du lait camelin semble dépendre non seulement de l'apport alimentaire mais aussi du stade de lactation. Elle est maximale au cours des premiers jours de lactation, minimale durant le deuxième ou le troisième mois de lactation et s'accroît ensuite jusqu'à la fin de lactation.

Les teneurs de MG obtenues ont connu une augmentation après la fermentation (Tableau V). Omer et Eltinay (2009) et Bahobail et al., (2014) ont aussi enregistré une augmentation significative de la MG après fermentation à la température ambiante de 30 °C. Cette augmentation est probablement due à leur synthèse dans les parois et les membranes au cours de la croissance des bactéries lactiques. Ces lipides sont libérés après leur hydrolyse acide par la méthode acido butyrométrique.

### 3.2.2. Lactose

La teneur en lactose des échantillons du lait cru est de  $42.2 \pm 2.03$  g/l (Tableau V). Elle est comparable à celle des laits bovins ( $38.13 \pm 0.35$  g/l selon Boudjenah, 2012) et plus faible que celle du lait humain (66.5 g/l selon FAO, 1995).

La valeur du lactose révélée dans la présente étude est similaire à celle du lait de chamelle rapportée par Alloui-Lombarkia et al., (2007), Siboukeur (2007) et Sboui et al., (2009) ( $42.69 \pm 2.58$  ;  $43.87 \pm 3.10$  ;  $42.78 \pm 2.36$  g/l respectivement). Cependant, cette valeur est supérieure à celle rapportée par Khaskheli et al., (2005) et Boudjenah, (2012) ( $36.5 \pm 1.6$  et  $35.23 \pm 0.24$  g/l respectivement). Cette valeur est toutefois inférieure à celle rapportée par Ellouze et Kamoun (1989) et Meiloud et al., (2011) ( $76.9 \pm 2.3$  et  $49.1 \pm 6.1$  g/l respectivement).

La teneur en lactose du lait camelin semble dépendre non seulement de la race, mais aussi de l'état d'hydratation (Yagil et Etzion, 1980). El-Hatmi et al., (2003) indiquent que la disponibilité de l'eau pour la chamelle augmente le taux de lactose dans le lait. Le taux de lactose chez des chameaux abreuvés est nettement plus élevé que celui obtenu chez les chameaux assoiffés. De la même façon, Shuipe et al., (2008) ont constaté qu'au cours de l'hiver, la moyenne du lactose du lait de chamelle est significativement élevée que celle du lait collecté au cours de l'été nous pouvons expliquer l'importance du taux de lactose de la présente étude par la disponibilité de l'eau dans le système d'élevage semi-intensif.

Après la fermentation le taux de lactose a subi une diminution très significative de  $23.4 \pm 1.13$  g/l (Tableau V). Le même phénomène a été enregistré chez les autres études telles que Omer et Eltinay (2009), Magdi et al., (2010) et Bahobail et al., (2014). Magdi et al., (2010) qui ont marqué la diminution du taux de lactose et parallèlement, ils ont enregistré l'augmentation du taux de glucose et galactose ainsi que l'apparition des acides organiques tels que l'acide lactique, l'acide formique et l'acide acétique. Osman et al., (2010) et Bengoumi et Faye, (2015) ont signalé que le processus de fermentation est assuré par la croissance des bactéries lactiques qui dégradent le lactose en glucose et galactose comme source d'énergie.

D'après les résultats cités, nous remarquons que le taux des sucres est très important dans le lactosérum après la fermentation. Ils représentent environ 20 % de la MST. Ceci signifie probablement la présence d'autres sucres que le lactose qui se dégradent au cours de la fermentation. Ces sucres peuvent être synthétisés par les bactéries lactiques sous forme d'exopolysaccharides (EPS). Pour cette raison, cela nécessite ultérieurement une caractérisation qualitative des oses constitutifs des polysaccharides probablement existant dans le lactosérum fermenté, en comparant avec le lactosérum cru qui contient normalement une portion importante de lactose par rapport aux autres oses.

### **3.2.3. Protéines Totales**

La teneur en protéines totales présente une moyenne de  $34.1 \pm 1.1$  g/l (Tableau V). Elle est proche de celle du lait bovin qui est de 32.0 g/l selon Courtet-Leymarios (2010) et plus élevée que celle du lait humain, 10.9 g/l selon FAO (1995). La valeur obtenue ressemble à celles du lait de chamelle rapportées par Mehaia, (1996) ; Sboui et al., (2008) ; Boudjenah (2012) et Al Salihi et al., (2017) ( $32.2 \pm 0.9$  ;  $34.1 \pm 3.1$  ;  $33.98 \pm 2.64$  et  $35.7 \pm 11.08$  g/l respectivement). Cependant, elle semble supérieure à celles rapportées par Alloui-Lombarkia et al., (2007) ; Meiloud et al., (2011) et Sboui et al., (2015) ( $29.42 \pm 3.25$  ;  $25 \pm 1.0$  et  $26.83 \pm 1.64$  g/l respectivement).

Plusieurs facteurs pourraient être attribués à la variation de la teneur en protéines, y compris l'alimentation, la variation saisonnière, la nutrition, l'âge et le stade de lactation (Meiloud et al., 2011).

La teneur moyenne en protéines totales du lait de chamelle subit une diminution significative à la fin de la fermentation,  $29.0 \pm 1.4$  g/l (Tableau V), même phénomène a été remarquer par Bahobail et al., (2014).

Meisel et Bockelmann (1999) et Virtanen et al., (2007) ont signalé qu' au cours de la fermentation, les bactéries lactiques hydrolysent les protéines du lait en peptides et en acides aminés qu'elles utilisent comme source d'azote grâce à leurs protéinases extracellulaires.

### 3.2.4. Protéines sériques et caséines

La teneur en protéines sériques du lait cru est de  $6.11 \pm 1.2$  g/l (tableau V), ce qui correspond à 18 % des protéines totales. Ces résultats semblent être inférieurs à ceux signalés par d'autres études, tels que  $7.55 \pm 0.22$  g/l selon Attia et al., (2001),  $8.4 \pm 0.74$  selon Alloui-Lombarkia et al., (2007) et  $9.21 \pm 0.17$  g/l selon Boudjenah (2012).

La teneur en caséines du lait cru analysé est égale à  $28.05 \pm 0.65$  g/l, soit 82 % des protéines totales. La teneur en caséines enregistrée dans cette étude semble être proche à 28.15 g/l selon Siboukeur (2007), et très importante à celle donnée par Attia et al., (2001) soit 20.60 g/l et 22.1 g/l pour Khaskheli et al., (2005).

Après la fermentation la teneur en protéines sériques subit une diminution non significative comparée à celle du lait cru de  $5.53 \pm 0.3$  g/l. Toute fois, le taux des caséines a connu une diminution significative à celle du lait cru ( $23.48 \pm 1.45$  g/l).

Law et Kolstad 1983 ont montré que les bactéries lactiques au cours de leur croissance synthétisent des endopeptidases contribuant à l'hydrolyse grossière des caséines en peptides de faible poids moléculaire (<1400 Da) et en acides aminés libres. En général, la  $\beta$ -caséine était le substrat préféré, mais les protéines de lactosérum étaient moins dégradées (Meisel et Bockelmann, 1999 ; Ferranti et al., 2004).

D'autre part, dans le cas général la concentration en acides aminés essentiels libres est trop faible dans le lait cru. En plus les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser tous les acides aminés nécessaires à leur croissance. Pour cette raison, les bactéries lactiques doivent dégrader les protéines du lait (essentiellement la caséine) en peptides et en acides aminés pendant le processus de fermentation comme source de nutriments essentiels à leur croissance (Juillard et al., 1995). De même raison, Konuspayeva et al., (2007) ont noté une diminution importante dans la concentration du lactoferrine et l'IgG dans le Shubat, qui est un lait de chamelle traditionnellement fermenté. Cette diminution est due à l'hydrolyse de ces protéines sériques en polypeptides avec des propriétés antigéniques similaires à celles de la protéine originelle.

Bonczar et al., (2016), dans leur étude ont montré que les taux des immunoglobulines, de  $\alpha$ -caséine et de  $\beta$ -caséine diminuent au cours de la fermentation et parallèlement la teneur en peptide de faible poids moléculaire augmentent à cause de la protéolyse.

### 3.3. Résultats de la caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté

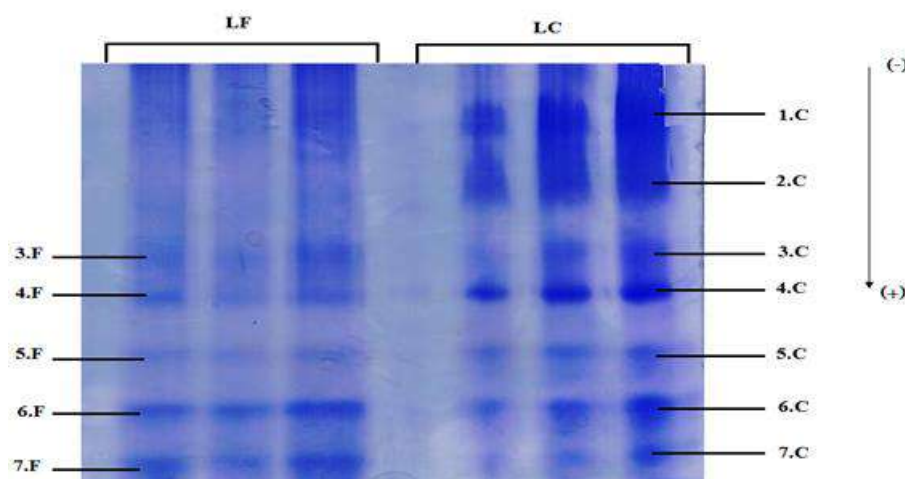
#### 3.3.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu non dénaturant (Native-PAGE)

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions natives est adaptée pour la séparation des protéines sériques du lait camelin à l'état non dissociant et non dénaturé. Cette technique permet aux protéines de se migrer selon leur charge électrique, leur forme tridimensionnelle et leur poids moléculaire (Levieux et al., 2005).

Les échantillons, des protéines sériques du lait camelin cru et fermenté, examinés présentent des profils de séparation très comparables (figure 8).

Les protéines sériques du lait cru migrent en sept bandes (1.C ... 7.C) dont quatre sont majeures et bien distinctes (1.C, 2.C, 4.C, 6.C), représentées par ordre croissant de leur mobilité électrophorétique. D'autre part, le profil électrophorétique des protéines sériques du lait fermenté a présenté cinq bandes (3.F, 4.F, 5.F, 6.F, 7.F) dans le même niveau de migration électrophorétique et sont équivalentes aux cinq dernières du lait cru (3.C, 4.C, 5.C, 6.C, 7.C) avec une intensité moindre pour les bandes 3.F et 5.F.

Levieux et al., (2005), Siboukeur (2007) et Si Ahmed et al., (2013) ont séparé quatre bandes sur Native-PAGE qui correspondent aux immunoglobulines (Ig), sérum albumine camelin (SAC) et  $\alpha$ -Lactalbumine ( $\alpha$ -La) qui est représenté sous forme de deux variantes.



**Figure 8:** Electrophorogramme des protéines du lactosérum camelin cru (LC) et fermenté (LF) en Native-PAGE

Selon Si Ahmed et al., (2013) et Siboukeur (2007), les bandes 1.C et 2.C de poids moléculaire important représentent probablement les Ig. Les pistes 5.C, 6.C et 7.C de faible poids moléculaire représentent probablement le SAC et les deux variantes de l' $\alpha$ -LA. En effet, les autres pistes 3.C et 4.C qui présente des poids moléculaires intermédiaires probablement sont des résidus de  $\beta$ -CN et  $\alpha$ s-CN respectivement.

La disparition des deux premières bandes (1.C, 2.C) dans LF et la diminution de l'intensité des autres bandes (surtout 3.C, 4.C, 5.C) est due à la dégradation enzymatique de ces protéines par la fermentation.

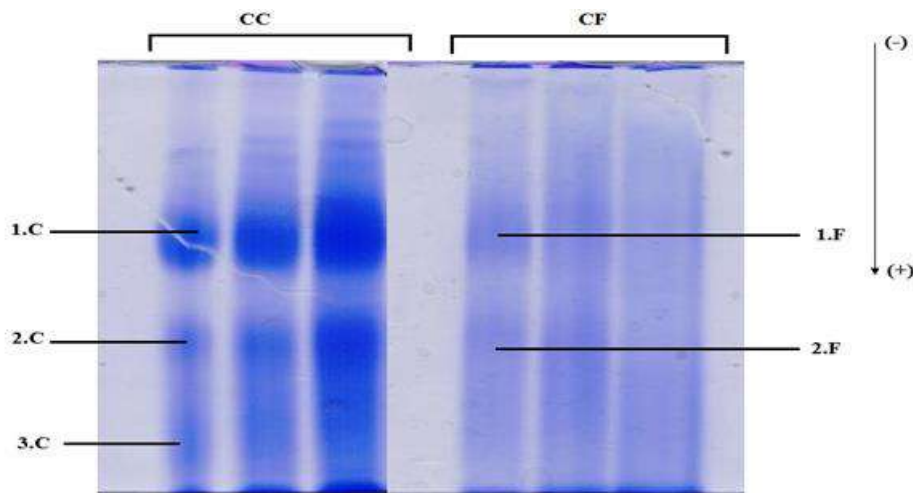
### **3.3.2. Comportement électrophorétique des caséines du lait cru et fermenté sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant en présence d'urée et du 2-mercaptoéthanol (Urea-PAGE)**

L'utilisation de l'urée comme un agent dissociant et le 2-mercaptoéthanol comme un agent réducteur, permet aux protéines de perdre leur structure tridimensionnelle native. Cette dénaturation facilite la séparation électrophorétique des protéines caséiques par la diminution des interactions entre les différents composants dans le milieu (Hillier, 1976).

L'électrophorogramme de la figure 9 montre pour les échantillons de la caséine cru (CC) la présence de deux bandes bien distinctes avec une intensité élevée (1.C et 2.C) et une bande diffuse présentant une grande mobilité électrophorétique (3.C). L'ensemble des bandes sont présentées selon leur ordre croissant de la mobilité électrophorétique. D'autre part, le profil électrophorétique de la caséine du lait fermenté (CF) présente dans un seul échantillon deux bandes très diffusées non distinctes avec une faible intensité (1.F et 2.F) dans la même position que celle du CC (1.C et 2.C).

Plusieurs auteurs ont noté la présence que de deux bandes d'intensité élevée sur le profil électrophorétique des caséines du lait de chamelle par Urea-PAGE, tels que Farah et Farah-Riesen, (1985), Hinz et al., (2012) et Si Ahmed et al., (2013). Les deux bandes représentent la  $\beta$ -caséine et  $\alpha$ s1-caséine, elles sont en ordre croissant de leur mobilité électrophorétique. D'autres auteurs tels que, Ochirkhuyag et al., (1997); Alim et al., (2005) ; Siboukeur (2007) et Shuiep et al., (2015) , ont noté par la même technique la présence d'une troisième bande moins intense correspondant au  $\alpha$ s2-caséine.

Par ailleurs, l'absence de bandes correspondant à la  $\kappa$ -CN pourrait être due à la faible concentration de cette fraction caséique dans le lait de chamelle cru (Farah-Riesen, 1985 ; Ochirkhuyag et al, 1997 ; Kappeler et al., 2003 et Farah et El Agamy, 2006) ou à l'absence de  $\kappa$ -CN ou leur masquage par d'autres caséines dans le lait de chamelle (Alim et al., 2005 et Shuiep et al., 2015). Pour cela, la  $\kappa$ -CN pourrait être détectée par d'autres techniques plus performante (Hinz et al., 2012).



**Figure 9:** Electrophorogramme des protéines de la caséine cameline cru (CC) et fermentée (CF) en Urée-PAGE

La diminution de l'intensité des deux premières bandes (1.C, 2.C) qui correspond à la  $\beta$ -CN et  $\alpha_{S1}$ -CN après la fermentation dans CF est due à la protéolyse de ces protéines au cours de la fermentation.

### 3.3.3. Comportement électrophorétique des protéines sériques du lait cru et fermenté sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant et dénaturant, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (SDS-PAGE)

Les conditions de la caractérisation électrophorotique de la SDS-PAGE permet aux protéines de migrer selon leur taille seulement.

Les protéines sériques de lait de chamelle cru (figure 10), migrent en cinq bandes (1.C, 2.C, 3.C, 4.C et 5.C), dont trois sont principales et bien distinctes (1.C, 2.C et 4.C) mais avec une intensité différente. Parallèlement, les protéines sériques fermentées présentent cinq bandes protéiques (1.F, 2.F, 3.F, 4.F et 5.F) dont deux (1.F et 3.F) sont bien distinctes, mais de faible intensité par rapport au LC.

Par comparaison de ces bandes avec les protéines de marqueur des poids moléculaires, les bandes 1.C, 2.C, 3.C, 4.C et 5.C (Parallèlement 1.F, 2.F, 3.F, 4.F et 5.F) présentent un poids moléculaire de 66000, 44000, 30000, 20000 et 14000 Da respectivement.

Merin et al., (2001) ; Levieux et al., (2005) ; Si Ahmed et al., (2013) et El-Hatmi et al., (2015), ont noté la présence de quatre bandes de protéines sériques de lait de chamelle cru sur SDS-PAGE. Ces bandes correspondent respectivement au SAC, Ig et les deux formes de l' $\alpha$ -LA, avec un poids moléculaire de 66.0, 43.0, 29.0 et 14.0 KDa respectivement.

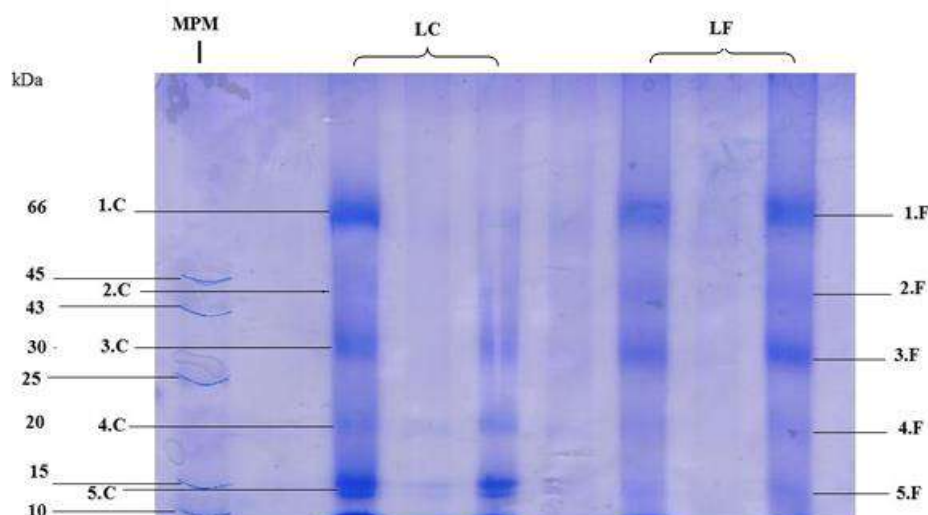
Siboukeur, (2007), a séparé cinq bandes, l' $\alpha$ -Lactalbumine (14000) et Sérum albumine camelin (67 000) et trois autres bandes ont des PM évalués à 20 000, 24 000 et 43 000 Da, n'ont pas été identifiées. D'autre part, Ochirkhuyag et al (1998), ont caractérisé sept bandes par SDS-PAGE après séparation par chromatographie échangeuse d'anions. Ces bandes correspondraient à la Lactoferrine, l'Sérum albumine camelin (SAC), la protéine basique du lactosérum camelin (Camel whey basic protein : CWBP) et l' $\alpha$ -Lactalbumine et présentent respectivement un poids moléculaire de 78000, 67000, 20000 et 14000 Da. Les trois protéines restantes (16 000, 43 000 et 54 000 Da) n'ont pas été identifiées. De même façon, Zhang et al., (2005), ont séparé deux bandes de protéines dans les premiers jours après la mise bas, ensuite les concentrations de ces deux protéines sont diminués progressivement au cours de la période de lactation. Ces protéines présentent un poids moléculaire de 42000 et 55000 Da, qui peut correspondre aux immunoglobulines notamment les IgG).

Dans notre cas, les bandes 1.C (66000 Da), 2.C (44000 Da) et 5.C (14000 Da) (Parallèlement 1.F, 2.F et 5.F) pourraient correspondre au SAC, Ig et l' $\alpha$ -LA respectivement.

La bande 3.C (30000 Da) pourrait correspondre à un résidu de la caséine, comme il a été donné par le Native-PAGE concernant les pistes 3.C et 4.C et les pistes 3.F et 4.F (figure 8). Alim et al (2005), ont identifié l' $\alpha$ S<sub>2</sub>-CN à 29800 Da et la  $\beta$ -CN à 31000 Da. Dans des intervalles proches, Siboukeur, (2007) a identifié  $\alpha$ S<sub>2</sub>-CN à 28700 Da et la  $\beta$ -CN à 30700 Da. D'autre part, Hinz et al., (2012) ont identifié l' $\alpha$ S<sub>2</sub>- CN à 27300Da.

La bande 4.C et 4.F de 20000 Da pourrait correspondre selon Ochirkhuyag et al (1998) à la protéine basique du lactosérum camelin (Camel whey basic protein : CWBP).





**Figure 10:** Electrophorogramme des protéines de lactosériques camelin cru (LC) et fermenté (LF) en SDS-PAGE

Dans les échantillons fermentés nous remarquons la diminution de l'intensité des bandes malgré l'utilisation de la même concentration des échantillons ce qui confirme le processus de l'hydrolyse enzymatique au cours de la fermentation.

Plusieurs auteurs ont enregistré des profils par SDS-PAGE similaires après incubation des protéines du lait avec les enzymes hydrolytiques. Ebaid et al., (2015) et Abdel-Hamid et al., (2016) ont noté que les protéines de lactosérum camelin étaient hydrolysées selon le temps d'incubation avec l'enzyme d'hydrolyse et avec le temps ils ont enregistré l'apparition de nouveaux peptides à bas poids moléculaire et la diminution de l'intensité des bandes de protéines originales tels que l' $\alpha$ -LA et le SAC.

Ripolles et al., (2015) ont testé l'hydrolyse de lactoferrine bovine par la pepsine, la chymosine et la présure microbienne. Ils ont remarqué que la taille des peptides obtenus après l'hydrolyse est différente pour chaque enzyme utilisée. Aucun des profils obtenus n'a montré une lactoferrine bovine native entière restante.

Dans le même contexte, Kumar et al., (2016) ont montré la disparition des protéines majeurs de la caséine cameline et l'apparition de nouvelles bandes de bas poids moléculaire après une hydrolyse enzymatique par l' $\alpha$ -chymotrypsine et la papaine. Ils ont remarqué aussi que l'intensité des bandes est proportionnelle avec le temps d'incubation.

### 3.4. Résultats de l'étude microbiologique

#### 3.4.1. Estimation de la qualité hygiénique du lait par le test TRBM

Afin de réaliser une étude microbiologique, la qualité hygiénique du lait a été justifiée par le test réductase ou la mesure de temps de réduction du bleu de méthylène (TRBM) pour avoir une estimation sur la contamination bactérienne du lait.

Le tableau VI montre la relation entre le temps de réduction du bleu de méthylène et la charge microbienne dans le lait. En effet, l'activité réductrice dépend du nombre de bactéries présentes dans le lait. De plus, le colorant peut être réduit par des cellules somatiques et leucocytes éventuellement présents dans le lait, ce qui donne un indice sur la présence ou non d'une mammite (Guiraud, 1998).

Sur la base des résultats obtenus (Tableau VII), nous avons constaté que la décoloration du bleu de méthylène faite a pris plus de 4 heures à l'état cru, ce qui permet de dire que la qualité hygiénique du lait analysé est considérée comme très bonne. Après la fermentation, le TRBM est moins de 3 heures. Cette diminution observée est due soit à la croissance de population des bactéries lactiques ou de la flore de contamination qui sont capables de modifier le potentiel d'oxydoréduction du lait de façon suffisante pour décolorer le bleu de méthylène après la fermentation.

**Tableau VI:** Correspondance entre le TRBM et la contamination bactérienne en ufc/ml dans le lait (Guiraud, 1998)

TRBM	Contamination bactérienne (ufc/ml)	Qualité du lait
<b>En plus de 4 H</b>	12 à 20 000	Lait de bonne qualité
<b>Entre 3 H et 4 H</b>	30 à 50 000	Lait de qualité satisfaisante
<b>Entre 1 H et 2 H</b>	1 à 2 millions	Lait peu contaminé
<b>Moins d'une H</b>	6 à 10 millions	Lait fortement contaminé

**Tableau VII:** Estimation de la qualité hygiénique de lait camelin cru et fermenté par le test réductase

Paramètre	Lait cru	Lait fermenté	Valeur de P
TRBM	04:30 ± 0.30	02:30 ± 0.47***	<0.001

\*\*\* : P<0.001 : la différence est très hautement significative

Selon Tourette et al., (2003) un lait est contaminé, si l'Acidité Dornic est supérieure à 20 °D et un temps de réduction du bleu de méthylène est inférieur à 2 heures. La diminution de TRBM après la fermentation nécessite un dénombrement de la flore totale, la flore lactique et la flore de contamination pour prendre une conclusion sur la qualité microbiologique du lait fermenté.

### 3.4.2. Evaluation de la variation de la microflore au cours de la fermentation

Les caractéristiques descriptives des paramètres microbiologiques du lait de chamelle cru (T<sub>0</sub>) et fermenté (T<sub>120</sub>) sont résumées dans le tableau VIII. Les valeurs données représentent la moyenne de trois essais pour cinq échantillons. Tous les paramètres présentent une différence très hautement significative entre l'état cru et fermenté.

**Tableau VIII:** Caractéristiques descriptives des paramètres microbiologiques (ufc/ml) à T<sub>0</sub> et à T<sub>120</sub>

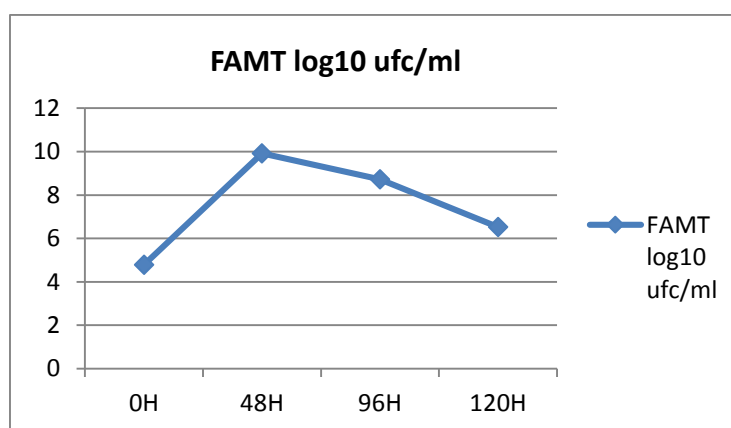
Paramètres	Lait cru (T <sub>0</sub> )	Lait fermenté (T <sub>120</sub> )
FAMT	6.1 10 <sup>4</sup>	3.4 10 <sup>6</sup>
CT	1.6 10 <sup>3</sup>	2.3 10 <sup>2</sup>
CTT	4.8 10 <sup>2</sup>	22.7
Entérobactéries	6.0 10 <sup>2</sup>	3.7 10 <sup>2</sup>
Lactobacilles	6.8 10 <sup>3</sup>	1.1 10 <sup>8</sup>
Lactocoques mésophiles	3.1 10 <sup>4</sup>	3.7 10 <sup>7</sup>
Lactocoques thermophiles	1.4 10 <sup>4</sup>	1.4 10 <sup>7</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	30.2	0
Clostridium sulfito-réducteurs	3.98	0
<i>Salmonella spp</i>	0	0

#### 3.4.2.1. Flore aérobie mésophile totale (FAMT)

L'état hygiénique des produits alimentaires peut être jugé par la recherche des microorganismes de la FAMT. Le taux de la FAMT dans le lait témoignera les conditions hygiéniques dégradées lors de la traite ou au cours du transport (Bonnefoy et al., 2002). Pour l'ensemble des échantillons collectés, la FAMT est de 6.1 10<sup>4</sup> ufc/ml (Tableau VIII), ces valeurs sont inférieures à celles données par d'autres études telles que 1.6 10<sup>6</sup> ufc/ml par Tourette et al., (2003), 9 10<sup>6</sup> ufc/ml par Male et al., (2003) et 2.7 10<sup>7</sup> ufc/ml par Younan et

al., (2003). En même temps, ces valeurs obtenus, sont supérieurs à celles données par Eberlein, (2007) de  $1.1 \cdot 10^2$  ufc/ml et similaires à celles données par Moustafa et al., (2000) de  $4.3 \cdot 10^4$  ufc/ml. En effet les échantillons du lait cru collectés ne dépassent pas les normes Européennes ( $5 \cdot 10^5$  ufc/ml) pour la flore totale de lait cru de vache destiné à la fabrication de produits alimentaires à base de lait (Journal officiel des Communautés européennes 1992). Sachant qu'il n'y a pas de normes microbiologiques spécifiques pour le lait de chamelle.

Au cours de fermentation nous avons observé une augmentation importante de la FAMT jusqu'à  $9.9 \text{ Log}_{10}$  ufc/ml à 48H (figure 11). Cette augmentation est expliquée par l'augmentation de la concentration de la flore de contamination telle que les CT, CTT et Entérobactéries (figures 12) et de la flore lactique (figures 14). Entre 48H et 120H nous avons constaté une diminution de la FAMT de  $6.5 \text{ Log}_{10}$  ufc/ml, expliqué par la chute de la flore de contamination d'une façon plus spécifique (figures 12). Cette diminution représente la phase de déclin, à cause de l'épuisement des nutriments (lactose) et accumulation des acides (Meyer et al., 2004).



**Figure 11:** Evolution de la FAMT au cours de fermentation

### 3.4.2.2. Coliformes totaux (CT), coliformes thermotolérants (CTT) et entérobactéries

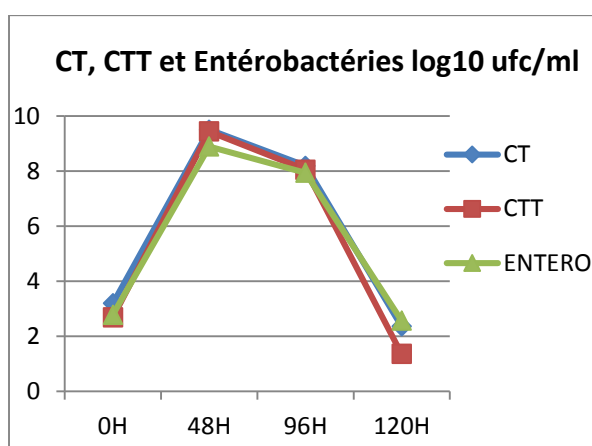
La flore fécale représentée par les CT et les CTT sont présents à des valeurs moyennes respectivement de  $1.6 \cdot 10^3$  et  $4.8 \cdot 10^2$  ufc/ml (Tableau VIII). Ces valeurs sont inférieures à celles données par Al-Mohizea (1986) de  $5.1 \cdot 10^5$  ufc/ml pour les CT et inférieures aussi à  $1.6 \cdot 10^4$  ufc/ml pour CTT données par Benkerroum et al., (2003). Il a été montré que le lait de vache qui contient plus de  $10^3$  ufc/ml de CTT présente un risque élevé par les agents pathogènes alimentaire, y compris *Salmonella spp* (Cordash et Insalata, 1978).

Les résultats cités précédemment, indiquent que la qualité hygiénique des laits collectés est considérée comme bonne, comme il a été conclu par TRBM (cf 3.4.1.).

Pour les entérobactéries, les laits crus examinés présentent une moyenne de  $6 \cdot 10^2$  ufc/ml (tableau VIII). Ces valeurs sont similaires aux valeurs données par El Ziney et Al-Turki (2007) ( $2.72 \text{ Log}_{10}$  ufc/ml) et sont inférieures à  $10^6$  ufc/ml (Siboukeur, 2007). L'ensemble des prélèvements analysés est négatif pour *Salmonella spp.* La famille des entérobactéries inclue des germes pathogènes qui appartiennent au groupe des coliformes comme *Escherichia*, *Enterobacter* et *Klebsiella*, et en plus, d'autres genres plus pathogènes comme *Salmonella*, *Shigella* et *Yersinia* qui sont présents dans les intestins des animaux (Prescott et al., 2010). L'existence de ces bactéries est un indicateur de mauvaises conditions hygiéniques de la traite (El Ziney et Al-Turki 2007).

Au cours de la fermentation les CT, les CTT et les entérobactéries connaissent une augmentation importante similaire à celle de la FAMT à 48H (figure 11), cette augmentation expliquée par le type de lait, qui est un lait cru ou non pasteurisé et qui présente une charge initiale à T0. Plusieurs auteurs montrent que le lait fermenté par une méthode traditionnelle présente une charge considérable de germes contaminants et des fois pathogènes, on trouve Hamama et Bayi (1991) au Maroc, Savadogo et al., (2004) en Burkina Faso et Al-Tahiri (2005) en Jordanie, notent que le lait traditionnellement fermenté (J'ben, Fulani et L'ben respectivement) présente une charge importante de CTT, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, levures et moisissures par rapport au produits laitiers fermentés produits après pasteurisation.

Après 48H, les CT, les CTT et les entérobactéries subissent une diminution rapide à des valeurs basses par rapport aux valeurs initiales telles que 2.36, 1.36, 2.57  $\text{Log}_{10}$  ufc/ml respectivement (figure 12). Cette diminution peut être due à la présence de certaines biomolécules ont une activité antimicrobienne comme les polypeptides et les polysaccharides synthétisés par la flore lactique au cours de la fermentation, dont leur présence et leurs rôles antimicrobiennes dans le lait fermenté ont été signalés par plusieurs auteurs (Kamoun, 1994; Jack et al., 1995; Jacob et al., 2000; Diniz et al., 2003; Benkerroum, 2008; Ismaïel et al., 2011).



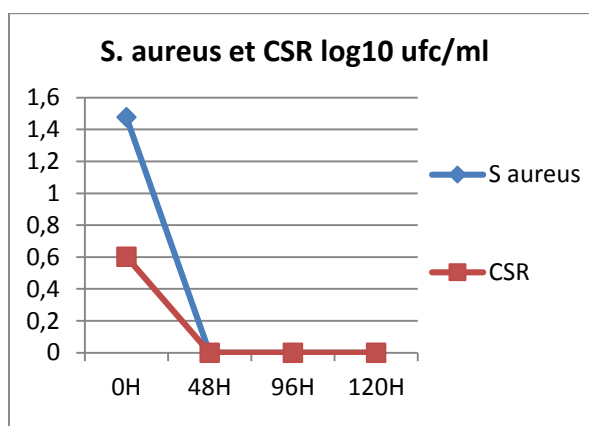
**Figure 12:** Evolution de la croissance des CT, des CTT et des Entérobactéries au cours de la fermentation

### 3.4.2.3. *Staphylococcus aureus* et Clostridium sulfito-réducteurs (CSR)

Les *Staphylococcus aureus* des valeurs initiales basses, 30.2 ufc/ml (tableau VIII), néanmoins cette valeur est nettement moindre que 2.7 Log<sub>10</sub> ufc/ml donnés par El Ziney et Al-Turki (2007) et aussi très inférieur à 1.2 10<sup>3</sup> ufc/ml donnés par Omer et Eltinay (2009). Benkerroum et al., (2003) ont détecté la présence de *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons du lait analysés pour une charge très importante de 1.3 10<sup>5</sup> ufc/ml. Obeid et al., (1996) ont indiqué que *Staphylococcus aureus* est la principale cause de la mammite dans les troupeaux de chameaux.

Les CSR, donnent des valeurs initiales basses, 3.98 ufc/ml (Tableau VIII), ces résultats ressemblent à ceux donnés par Benkerroum et al., (2003), qui ont trouvé une prévalence positive de 16.7 % des échantillons analysés. D'autre part, il a été indiqué que les concentrés industriels sont connus comme la source principale de la contamination du lait par les spores bactériennes, sachant que le type de cette contamination est rare chez les chameaux élevés par des systèmes d'élevage extensifs (Benkerroum et al., 2003).

Au cours de la fermentation les *Staphylococcus aureus* et les CSR deviennent nulles après 48H de fermentation (figure 13). Plusieurs auteurs indiquent que le lait fermenté présente un système de protection contre les bactéries Gram-positives comme les Staphylocoques et les clostridium. Ce système est composé principalement de Lactopéroxydase et de bactériocines synthétisées par les bactéries lactiques au cours de la fermentation (Labioui et al., 2005, Lafta et al., 2014).



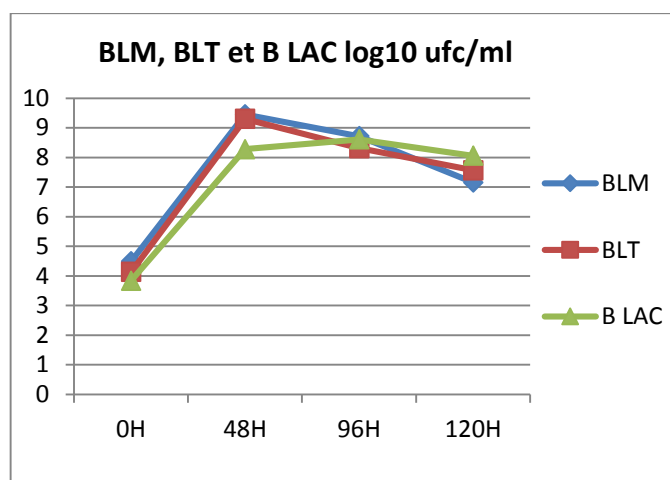
**Figure 13:** Evolution de croissance des *S. aureus* et des CSR au cours de la fermentation

#### 3.4.2.4. Lactobacilles, bactéries lactiques mésophiles (BLM) et bactéries lactiques thermophiles (BLT)

Les bactéries lactiques présentent une charge moyenne considérable de  $1.7 \cdot 10^4$  ufc/ml, composée de lactobacilles, de lactocoques mésophiles et de lactocoques thermophiles représentées respectivement par une charge de  $6.8 \cdot 10^3$ ,  $3.1 \cdot 10^4$  et  $1.4 \cdot 10^4$  ufc/ml (tableau VIII). Ces valeurs sont inférieures à  $1.0 \cdot 10^7$  ufc/ml donnée par Benkerroum et al., (2003) et inférieures à  $8.1 \cdot 10^6$  ufc/ml donnée par Khedid et al., (2006).

Au cours de fermentation les bactéries lactiques ont connu une augmentation importante au cours des 48H (figure 14). Après ce temps, elles ont subi une légère diminution par rapport au FAMT et coliformes (figure 14, 11 et 12 respectivement), on en parallèle un abaissement de pH (<4.3 après 48H, figure 7) est enregistré ainsi qu'une diminution brutale dans le taux des germes contaminants et pathogènes (figure 12 et 13).

Les bactéries lactiques ont l'aptitude de se développer à un pH acide et exercent une activité antagoniste contre plusieurs contaminants alimentaires responsables des défauts organoleptiques ou présentant des risques sur la santé (Piard et Desmazeaud, 1991). Cette activité bactériostatique ou bactéricide des bactéries lactiques est le résultat d'une production d'acides organiques, de peroxyde d'hydrogène, de diacétyl, d'enzymes inhibiteurs et de bactériocines (Klaenhammer, 1993).



**Figure 14:** Evolution des BLM, BLT et B LAC au cours de la fermentation

Les bactéries lactiques ont un rôle important dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentations alimentaires. Leur apports bénéfiques consistent à l'amélioration de la qualité des produits fermentés en y développant certaines caractéristiques organoleptiques, sans altérer le goût ni l'odeur, et en augmentant leur durée de conservation. Cette préservation est conférée par la production de plusieurs métabolites ayant une activité antimicrobienne (Widyastuti et al., 2014).

### 3.5. Activités biologiques des protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté

#### 3.5.1. Activité anti microbienne

A partir de l'étude de la qualité microbiologique qui correspond au test de la réductase et à la recherche et dénombrement de différentes groupes microbiens de contamination et pathogènes, nous pouvons dire que tous les échantillons de lait examinés étaient de bonne qualité microbiologique. Ces échantillons de lait étaient alors prêts pour étudier leur effet antibactérien contre les souches bactériennes pathogènes choisies.

##### 3.5.1.1. Sensibilité des souches testées aux antibiotiques

La classification des souches bactériennes en catégories « Sensible, (S) » ou « Résistante, (R) » aux antibiotiques est définie par la CLSI (2015). Les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) sont testées pour la sensibilité aux antibiotiques ont donné des résultats similaires aux normes données par la CLSI (2015) (Tableau IX) sauf pour quelques antibiotiques qui présentent un diamètre d'inhibition inférieur aux normes, indiquant ainsi une résistance vis-à-vis de ces



antibiotiques. Parmi les quelles, on trouve *E. coli* résistante à l'Amoxicilline + acide clavulanique (20/10µg) et Céfoxitine (30µg) par un diamètre de 16 mm < 18mm et de 18 mm < 23 mm respectivement. *S. aureus* résiste aussi à l'Erythromycine (15µg), Ofloxacine (5µg), Oxacilline (5µg) et Pénicilline (6µg) par un diamètre de 16 mm <22 mm, 20 mm < 24 mm, 17 mm < 18 mm et 18 mm < 26 mm respectivement. Ceci est probablement dû à l'inefficacité de quelques disques d'antibiotiques, ou aux mutations qui ont touché les souches au cours de leur conservation.

**Tableau IX:** Sensibilité des souches bactériennes testées aux antibiotiques selon les normes données par la CLSI (2015)

Antibiotiques	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Amikacine (30µg)	21 (19-26)	20 (19-26)	21 (20-26)	20 (18-26)
Gentamicine (10µg)	24 (19-26)	16 (13-16)	21 (19-26)	20 (17-23)
Tobramycine (10µg)	/	/	/	25 (20-26)
Chloramphénicol (30µg)	/	/	24 (19-26)	/
Tétracycline (30µg)	/	/	29 (24-30)	/
Clindamycine (2µg)	/	/	25 (24-30)	/
Erythromycine (15µg)	/	/	<b>16</b> (22-30)	/
Triméthoprime (1.25µg) + Sulfaméthoxazole (23.75µg)	26 (23-29)	24 (23-29)	25 (24-32)	/
Ciprofloxacine (5µg)	26 (22-25)	26 (22-25)	24 (22-30)	/
Ofloxacine (5µg)	/	/	<b>20</b> (24-28)	/
Amoxicilline + acide clavulanique (20/10µg)	<b>16</b> (18-24)	<b>14</b> (18-24)	/	/
Ampicilline (10µg)	21 (16-22)	<b>13</b> (16-22)	/	/
Céfotaxime (30µg)	30 (29-35)	33 (29-35)	/	/
Céfalotine (30µg)	15 (15-21)	19 (15-21)	/	/
Céfoxitine (30µg)	<b>18</b> (23-29)	26 (23-29)	25 (23-29)	/
Oxacilline (5µg)	/	/	<b>17</b> (18-24)	/
Pénicilline (6µg)	/	/	<b>18</b> (26-37)	/
Pipéracilline (100µg)	/	/	/	<b>16</b> (25-33)
Imipénème (10µg)	/	/	/	21 (20-28)
Aztréonam (30µg)	/	/	/	<b>15</b> (23-29)
Ceftazidime (30µg)	/	/	/	22 (22-29)
Vancomycine (30µg)	/	/	19 (17-21)	/

### 3.5.1.2. Activité antibactérienne des protéines sériques du lait de chamelle

L'activité antibactérienne des protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté a été évaluée par la méthode de diffusion par puits. Les résultats du criblage sont présentés dans le tableau X. La gentamicine (10 µg) est utilisée comme antibiotique de contrôle de qualité de souches testées. Il permet aussi de comparer son diamètre de la zone d'inhibition avec celles des protéines sériques du lait. Les valeurs de référence, fournies par la CLSI (2015) (Tableau IX), indiquent que les souches testées (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. Aeruginosa*) sont sensibles à la gentamicine (10µg). Parce que cette dernière présente des zones d'inhibition sur ces souches supérieures ou égales aux valeurs présentées dans le même tableau (IX).

Les diamètres d'inhibition, générés par les protéines sériques du lait de chamelle cru et fermenté, sont nettement inférieurs à ceux produits par la gentamicine (10 µg). L'activité antibactérienne des produits biologiques, qui sont des mélanges complexes de molécules bioactifs, est généralement inférieure à celle exercée par les molécules antibiotiques pures.

**Tableau X:** Valeurs moyennes de diamètre de la zone d'inhibition (DZI en mm) en fonction de la concentration des protéines sériques cru (PSC) et (PSF) fermenté sur les souches bactériennes testées

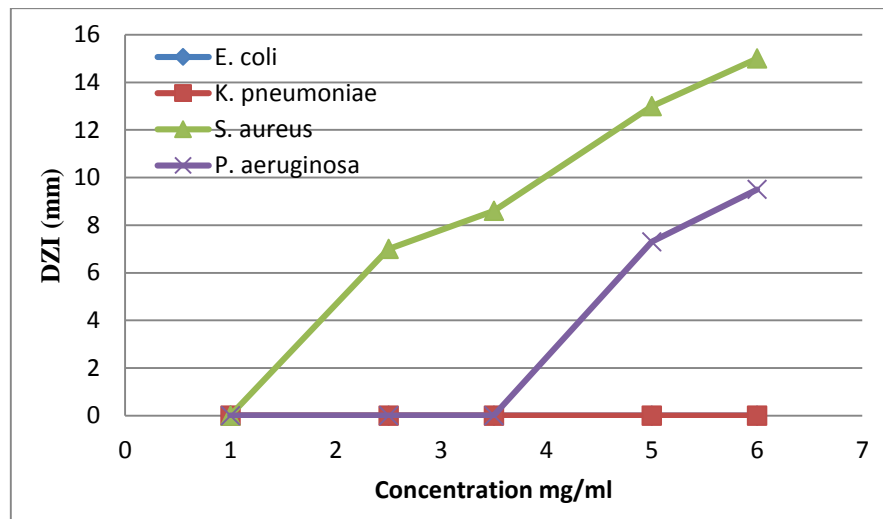
Souches testées	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	PSC	PSF	PSC	PSF	PSC	PSF	PSC	PSF
1	0 ± 0	0 ± 0 <sup>c</sup>	0 ± 0	0 ± 0 <sup>d</sup>	0 ± 0 <sup>d</sup>	0 ± 0 <sup>d</sup>	0 ± 0 <sup>c</sup>	0 ± 0 <sup>d</sup>
2.5	0 ± 0	0 ± 0 <sup>c</sup>	0 ± 0	7.0 ± 1.0 <sup>c</sup>	7.0 ± 1.0 <sup>c</sup>	7.6 ± 1.5 <sup>c</sup>	0 ± 0 <sup>c</sup>	8.3 ± 0.6 <sup>c</sup>
3.5	0 ± 0	0 ± 0 <sup>c</sup>	0 ± 0	8.5 ± 1.5 <sup>c</sup>	8.6 ± 1.53 <sup>c</sup>	10 ± 1.0 <sup>b</sup>	0 ± 0 <sup>c</sup>	10.3 ± 1.1 <sup>b</sup>
5	0 ± 0	9.0 ± 1.0 <sup>b</sup>	0 ± 0	13 ± 1.0 <sup>b</sup>	13 ± 1.0 <sup>b</sup>	15.3 ± 1.1 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.56 <sup>b</sup>	15.3 ± 0.6 <sup>a</sup>
6	0 ± 0	10.5 ± 0.8 <sup>a</sup>	0 ± 0	15 ± 1.0 <sup>a</sup>	15 ± 1.0 <sup>a</sup>	17 ± 1.0 <sup>a</sup>	9.5 ± 0.5 <sup>a</sup>	16.5 ± 0.5 <sup>a</sup>

Les valeurs avec différentes lettres minuscules en exposant (a, b, c et d) dans la même colonne sont significativement différentes à p <0.05.

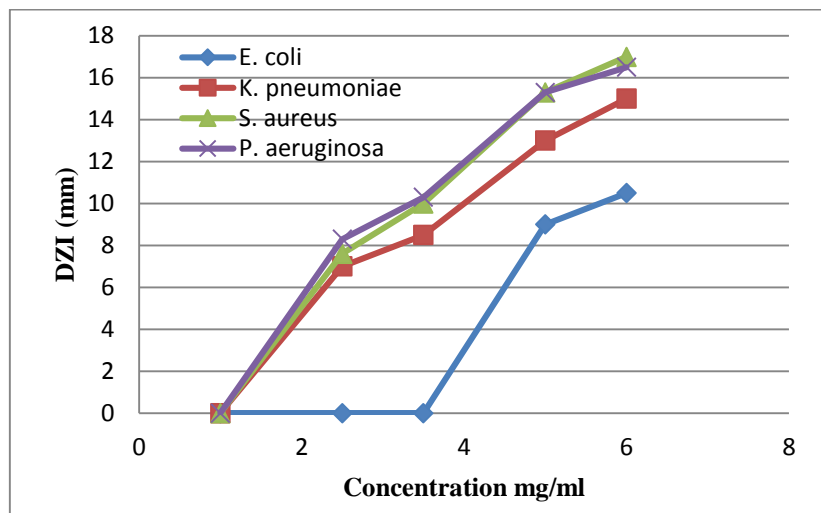
Les zones d'inhibition ont des diamètres variables. Ces derniers se situent entre 7 et 15 mm pour les protéines sériques du lait cru et entre 7 et 17 mm pour les protéines sériques du lait fermenté (Tableau X). Ces résultats obtenus par la technique des puits sont considérés comme positifs parce que la zone était supérieure à 8 mm de diamètre selon Mohankumar et Murugalatha, (2011). Ces auteurs ont montré que l'activité d'inhibition de la croissance microbienne est considérée très forte si elle donne une zone d'inhibition entre 15 et 18 mm, forte entre 10 et 14 mm, modérée entre 6 et 9 mm et aucune inhibition si la zone d'inhibition est égale à 0 mm. Alors on observe une inhibition très forte (15-18 mm) pour les protéines sériques du lait cru (6 mg/ml) sur *S. aureus*, par la zone d'inhibition donnée de  $15 \pm 1.0$  mm. Même cas pour les protéines sériques du lait fermenté (6mg/ml), donnent une zone inhibition de  $17 \pm 1.0$  et  $16.5 \pm 0.5$  mm respectivement sur *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Une forte inhibition (10-14 mm) pour les protéines sériques du lait fermenté (6 mg/ml), donnent une zone d'inhibition de  $10.5 \pm 0.8$  mm sur *E. coli*. Une inhibition modérée (6-9 mm) pour les protéines sériques du lait cru (6 mg/ml), donnent une zone inhibition de  $9.5 \pm 0.5$  mm sur *P. aeruginosa*. Aucune inhibition n'a été observée pour les protéines sériques du lait cru sur *E. coli* et *K. pneumoniae* (0 mm) (Tableau X).

L'activité antibactérienne des protéines sériques du lait de chamelle sur les souches testées varie en fonction de leur concentration (figure 15 et 16). Les résultats de cette étude indiquent que les protéines sériques du lait de chamelle cru n'a aucun effet significatif antibactérienne contre *E. coli* et *K. pneumoniae* (comme bactérie Gram-négative) avec les différentes concentrations utilisées par rapport à leur effet significatif ( $p < 0.05$ ) sur *S. aureus* (comme bactérie Gram-positive), qui a été sensible à partir des faibles doses (entre 1 et 2 mg/ml) (figure 15).

D'autre part les protéines sériques du lait de chamelle fermenté donnent une activité remarquable (entre 1 et 2.5 mg/ml) sur *K. pneumoniae* et (entre 3.5 et 5 mg/ml) sur *E. coli* (Figure 16), avec une différence significative ( $p < 0.05$ ) pour les concentrations supérieures à 3.5 mg/ml (Tableau X), mais reste tous jours moins que c'elles enregistrés sur *S. aureus* et *P. aeruginosa*, qui ont été sensible à partir des faibles doses (entre 1 et 2.5 mg/ml) (figure 16), avec une différence significative ( $p < 0.05$ ) pour les concentrations  $> 2.5$  mg/ml (Tableau X).



**Figure 15:** Variation de DZI en fonction de la concentration des protéines sériques du lait cru sur les souches bactériennes testées



**Figure 16:** Variation de DZI en fonction de la concentration des protéines sériques du lait fermenté sur les souches bactériennes testées

Au cours de la fermentation, il y a une augmentation exponentielle du nombre de bactéries lactiques (figure 14) et abaissement du pH (figure 7), parallèlement il y a synthèse et accumulation des métabolites comme composés antimicrobiens, qui peuvent être classés comme composés à faible masse moléculaire, tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le dioxyde de carbone ( $CO_2$ ), l'acide lactique, l'acide acétique, l'éthanol et des composés de masse moléculaire élevée comme les bactériocines. Ces substances sont capables d'inhiber ou de tuer les bactéries pathogènes dans le milieu (Yateem et al., 2008, Dortu et Thonart, 2009, Zagorec et Christieans, 2013).

Les bactériocines sont des protéines antibactériennes hautement spécifiques et actives principalement contre d'autres souches de la même espèce ou apparentées. Les bactériocines sont des agents bio-préservateurs puissants et les applications de ceux-ci dans le domaine alimentaire font actuellement l'objet des recherches approfondies (Djadouni et Kihal, 2012). Les types et les niveaux d'action des bactériocines dépendent des espèces ou des souches des bactéries lactiques productrices, de la composition de milieu de culture et des conditions de croissance (Ammor et al., 2006).

On observe dans ces résultats que l'action antimicrobienne est plus importante sur les bactéries Gram-positives par rapport aux bactéries Gram-négatives. Plusieurs auteurs ont montré que les bactériocines produites par certaines souches lactiques sont plus actives sur les bactéries Gram-positives que sur des bactéries Gram-négatives (Vignolo et al., 2000 ; Elmoualdi et al., 2008 ; Saraiva et al., 2014).

Les résultats obtenus montrent la sensibilité des bactéries Gram-positives aux protéines sériques surtout après la fermentation. Ceci est expliqué probablement par la différence morphologique de la paroi entre les deux groupes microbiens. Les bactériocines agissent sur les parois Gram-positives en formant des pores dans la membrane cytoplasmique qui entraînent des perturbations des fonctions cellulaires, mais les bactéries Gram-négatives possèdent une membrane externe riche en lipopolysaccharides pouvant protéger la membrane cytoplasmique et le cytoplasme contre l'action des composés antimicrobiens (Vignolo et al., 2000, Ammor et al., 2006).

Par contre, Yateem et al., (2008), ont montré dans leur étude l'effet bactéricide des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chamelle fermenté (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* et *Lactococcus lactis*) sur des souches à Gram-négatives (*Salmonella* spp. et *E. coli*) et au même temps l'absence de l'effet bactéricide de ces souches lactiques sur des bactéries Gram-positives comme les *Staphylococcus* spp. D'autre part, des chercheurs comme Mohankumar et Murugalatha, (2011), ont montré la sensibilité des bactéries Gram-positives et des bactéries Gram-négatives aux bactériocines produites par des souches lactiques.

Les protéines de lactosérum exercent des fonctions importantes sur la glande mammaire et sur l'intestin du nouveau-né. D'autre part, elles pourraient également être considérées comme des conservateurs dans différents produits alimentaires (Ripolles et al., 2015).

Salami et al., (2010) prouvent que les protéines sériques camelines possèdent des activités antimicrobiennes nettement plus élevées que celles bovines à l'état cru. Cette constatation s'explique par la teneur élevée de lait de chamelle en protéines protectrices comme facteurs antimicrobiens tels que le lysozyme, la lactoferrine et les immunoglobulines (El-Agamy et al., 1992).

Comme il a été montré précédemment par la caractérisation électrophorétique, les protéines du lait soit caséine ou lactosérum subissent une hydrolyse enzymatique au cours de la fermentation. Cette hydrolyse conduit à une libération des peptides bioactifs. Abdel-Hamid et al., (2016) ont montré que l'hydrolyse du lactosérum camelin par la papaine génère une vaste gamme de peptides antibactériens puissants contre certaines bactéries pathogènes tels que *S. aureus* et *E. coli* par rapport au lactosérum non hydrolysé.

Par contre, Ripolles et al., (2015) ont testé l'hydrolyse de lactoferrine bovine par les enzymes protéolytiques. Les hydrolysats obtenus avec chaque enzyme présentent une inhibition de la croissance de *Listeria monocytogenes*, bien que l'activité soit inférieure à celle exercée par la lactoferrine entière.

Face aux problèmes posés par les résistances aux antibiotiques dans le domaine clinique, actuellement existe de nouveaux produits antimicrobiens naturels pour lutter contre les agents pathogènes bactériens. Les constituants alimentaires peuvent être utilisés pour réduire le risque de développer ou d'aggraver des maladies humaines (Sboui et al., 2012). Sur la base des résultats obtenus, les dérivés de lait de chamelle peuvent constituer une source abondante de biomolécules contre plusieurs maladies infectieuses.

### 3.5.2. Activité anti oxydante

Les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), en anglais reactive oxygen species (ROS), sont des espèces chimiques, rendus chimiquement très réactifs par la présence d'électrons de valence non appariés. Il peut s'agir par exemple de l'ion superoxyde ( $O_2^-$ ), le radical hydroxyle ( $HO^*$ ), de l'oxygène singulet  $O_2^*$  ( $^1O_2$ ), du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), ou

encore de l'ozone O<sub>3</sub> (Zhou et al., 2012). Il est bien montré par la littérature que la génération incontrôlée de ROS, peut entraîner des dommages oxydatifs au niveau de l'ADN cellulaire, des protéines et des lipides, qui est un facteur majeur de la progression de nombreuses maladies humaines, telles que les maladies cardiaques, les accidents vasculaires cérébraux, l'athérosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer et les maladies inflammatoires (Ndhlala et al., 2010).

Des antioxydants synthétiques tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyanisole butylé (BHA) et la Butylhydroquinone tertiaire (BHQT), sont utilisés comme compléments alimentaires et pharmaceutiques en raison de leurs avantages comme antioxydants. Cependant, leur utilisation est associée à d'éventuels risques pour la santé (Zhou et al., 2012).

Pour ces raisons, les antioxydants naturels présents dans les fruits et les légumes (Polyphénols, flavonoïdes, iso-flavanones et les vitamines A, B, C, E), ont reçu une grande importance pour leurs effets potentiels dans la prévention des maladies par leurs actions antioxydantes consistent à minimiser les dommages cellulaires exercés par les radicaux libres et ne présentent pas des effets secondaires (Serrano et al., 2007).

Certains produits laitiers comme les fromages, le lactosérum et certaines protéines de ces produits, tels que la lactoferrine, la lactalbumine, la  $\beta$ -lactoglobuline, les caséines ou des enzymes spécifiques du lait, possédaient des propriétés anti-oxydantes importantes (Ripolles et al., 2016).

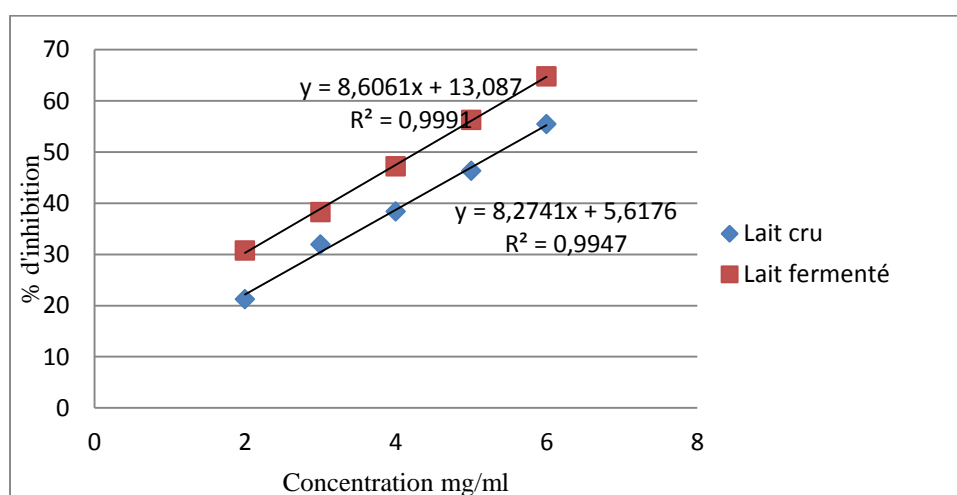
### **3.5.2.1. Activité anti oxydante par le test au DPPH**

Dans la présente étude, le pourcentage d'inhibition de DPPH augmente significativement avec l'augmentation de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle et de l'acide ascorbique (figure 17 et 18) l'activité anti oxydante des protéines sériques de lait de chamelle fermenté est supérieure à celle des protéines sériques de lait cru et donne une valeur de CI50 de 4.29 et 5.36 mg/ml respectivement (Tableau XI), mais elle est très inférieure à celle de l'acide ascorbique 0.092 mg/ml, par ce que est un antioxydant pure et fort.

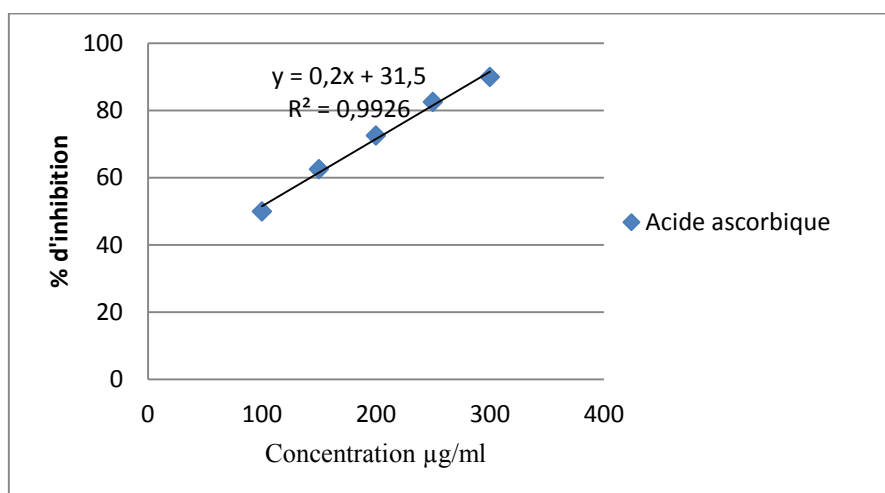
**Tableau XI:** La valeur de CI50 de l'acide ascorbique et des protéines sériques du lait cru (PSC) et (PSF) fermenté

Test	Valeur de CI50 (mg/ml)		
	PSC	PSF	Acide ascorbique
DPPH	5.36 ± 0.6	4.29 ± 0.8***	0.092 ± 0.01
β-carotène	1.61 ± 0.07	1.36 ± 0.05***	0.142 ± 0.08

\*\*\* : P<0.001 : la différence est très hautement significative



**Figure 17:** Variation de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle



**Figure 18:** Variation de pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique



Maryam et al., (2013) ont donné une valeur de CI50 d'inhibition de DPPH. Elle est proche de celle trouvée dans cette étude, sachant qu'ils ont testé l'inhibition de DPPH par le lactosérum de lait de vache fermenté par deux souches lactiques, *Lactobacillus plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides*. Ils ont obtenu un CI50 de 2.92 et 8.81 mg/ml respectivement.

Par contre, Homayouni-Tabrizi et al., (2016) ont donné une valeur très basse de CI50 d'inhibition de DPPH par deux polypeptides extraits du lait de chamelle par utilisation des hydrolases gastriques (0.04 and 0.02 mg/ml respectivement). Le premier est de 13 acides aminés et le second est de 15 acides aminés. Ce résultat peut être expliqué par la pureté des polypeptides utilisés par rapport au mélange de protéines dans le cas de notre étude.

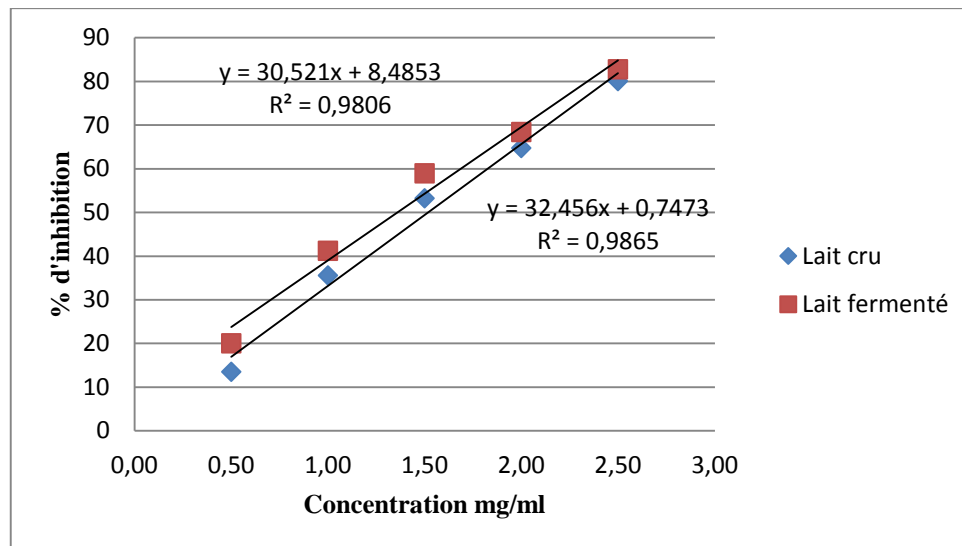
Shori, (2013) et Shori et Baba, (2014) ont noté l'augmentation de pourcentage d'inhibition de DPPH de 15.4 % à 58 % après deux semaines de fermentation de yaourt fabriqué à base de lait de chamelle à 4°C. Mais ce n'est pas le cas pour le yaourt fabriqué à base de lait de vache qui présente une stabilité de pourcentage d'inhibition de DPPH de 26.4 % à 30.5 % au cours de la fermentation.

De même façon, Balakrishnan et Agrawal (2014) ont noté l'augmentation de pourcentage d'inhibition de DPPH par le lactosérum après la fermentation de trois types de lait (vache, caprin et chamelle) par *Pediococcus pentosaceus* par rapport à l'état cru (de 38.7 à 78.0 %, de 54.0 à 92.7 %, de 64.4 à 84.3 % respectivement).

### **3.5.2.2. Activité anti oxydante par le test de $\beta$ -carotène / acide linoléique**

Pour les résultats de pourcentage d'inhibition de  $\beta$ -carotène / acide linoléique sont conformes aux celles obtenues par le test DPPH. Nous avons remarqué l'augmentation significative de l'inhibition de  $\beta$ -carotène / acide linoléique avec l'augmentation de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle et de l'acide ascorbique (Figure 19 et 20). Bien que, l'activité anti oxydante des protéines sériques de lait de chamelle fermenté est supérieure à celle des protéines sériques de lait cru et donne une valeur de CI50 de 1.36 et 1.61 mg/ml respectivement (Tableau XI), elle est dix fois inférieure à celle de l'acide ascorbique 0.142 mg/ml.

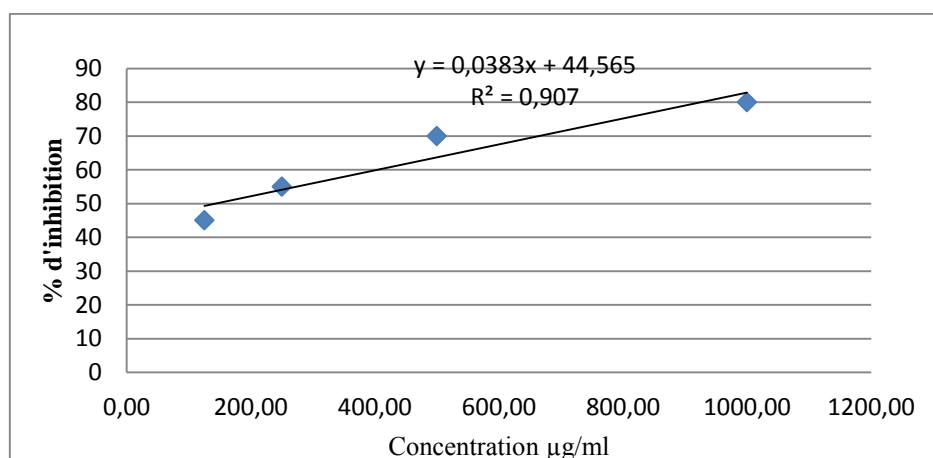
A notre connaissance, il n'existe pas des travaux bibliographiques sur l'activité anti-oxydante par utilisation du test  $\beta$ -carotène / acide linoléique du lait.



**Figure 19:** Variation de pourcentage d'inhibition de  $\beta$ -carotène / acide linoléique en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle

Cervato et al., (1999), ont montré que les protéines sériques du lait ont des propriétés anti-oxydantes et utilisées dans l'industrie alimentaire comme conservateurs naturelles.

Les protéines du lait sont une source abondante de peptides bioactifs. Ces peptides sont activés après leur libération dans le milieu à partir de leur protéine initiale du lait (caséine et albumines). Il existe plusieurs procédés de libération de peptides dans le milieu, tels que l'hydrolyse enzymatique par des enzymes digestives, ou bactériennes au cours de la fermentation du lait (Gjorgievski et al., 2014).



**Figure 20:** Variation de pourcentage d'inhibition de  $\beta$ -carotène / acide linoléique en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

Les protéines de lactosérum sont des éléments hautement fonctionnels contenant des proportions relativement élevées d'acides aminés essentiels. Par conséquent, une attention croissante a été donnée par les recherches sur la production de peptides bioactifs dérivés par les protéines de lactosérum. L'hydrolyse enzymatique des protéines de lactosérum au cours de la fermentation bactérienne donne des peptides qui peuvent améliorer certaines propriétés biologiques dans la santé humaine, y compris la fixation des minéraux, les facteurs de croissance, la réduction de la pression artérielle, l'activité anti-oxydante, l'activité anticancéreuse, la fonction immunomodulatrice, l'activité hypo-cholestérolémie et l'activité antimicrobienne (Pihlanto, 2006 ; Daliri et al., 2017).

Salami et al., (2010) ; Moslehisad et al., (2013) et Soleymanzadeh et al., (2016) ont montré que l'activité anti-oxydante de lait de chamelle et leurs hydrolysats est significativement plus élevée par rapport à celle du lait bovins, cela peut résulter de la différence en quantités des résidus d'acides aminés antioxydants présents et les peptides résultants de l'hydrolyse enzymatique au cours de la fermentation du lait de chamelle par rapport au lait bovin.

D'autre part Balakrishnan et Agrawal (2014) ont noté que le lactosérum de lait de chamelle à l'état cru donnait un pourcentage d'inhibition de DPPH important par rapport au lait de vache et caprin (64.4 %, 38.7 % et 54.0 % respectivement). Farah et al., (1992) ont montré que la teneur de lait de chamelle en de vitamine C est trois fois supérieur à celle du lait de vache, ce qui donne une activité anti-oxydante importante pour ce type de lait à l'état cru.

Kumar et al., (2016) ont remarqué que l'augmentation dans le temps d'hydrolyse enzymatique, c'est-à-dire l'augmentation de degré d'hydrolyse induit l'augmentation de l'activité anti-oxydante évaluée par le test ABTS, DPPH et FRAP, ce qui explique la différence significatif entre l'activité anti-oxydante du lait fermenté et le lait cru.

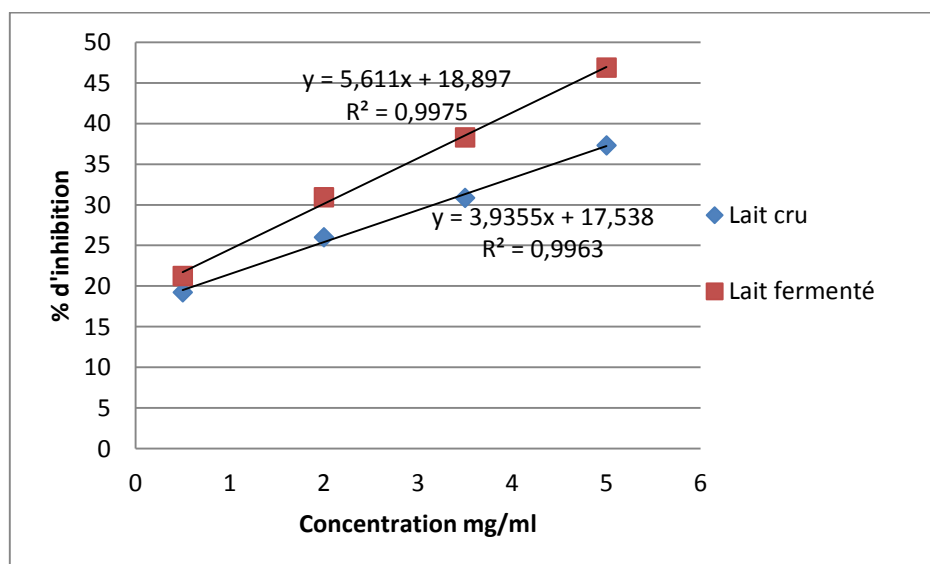
Hafeez et al. (2014) ont testé l'activité antioxydante par le test ABTS. Ils ont montré que les fractions peptidiques isolées à partir des yaourts traditionnels ont donné une activité anti-radicalaire plus élevée que les yogourts commerciaux. En outre, les fractions peptidiques purifiées à partir des yogourts présentaient une activité inhibitrice de l'ACE supérieure à celle du yogourt entier.

### 3.5.3. Activité anti inflammatoire

#### 3.5.3.1. Activité anti inflammatoire par inhibition de la dénaturation de l'albumine

La dénaturation des protéines par l'altération des liaisons covalentes ou non covalentes cause la perte de leur structure tertiaire et secondaire ainsi que leur fonction biologique. Cette dénaturation dans certaines maladies inflammatoires auto-immunes conduit à la production d'autoanticorps, ce qui conduit à l'apparition des maladies inflammatoires chroniques tels que les maladies rhumatoïdes (Grant et al., 1970).

Dans la présente étude, le pourcentage d'inhibition de la dénaturation d'albumine humaine augmente significativement avec l'augmentation de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle (Figure 21). L'activité d'inhibition de la dénaturation d'albumine par les protéines sériques de lait de chamelle fermenté est significativement supérieure à celle des protéines sériques de lait cru et donne une valeur de CI50 de 5.54, 8.23 mg/ml respectivement (Tableau XII). Mais cette inhibition est très inférieure à celle de diclofenac de sodium, qui est de 93.20 % d'inhibition pour une concentration de 0.1 mg/ml (Rahman et al., 2015), ce qui est expliqué par le fait que ce dernier est un anti-inflammatoire pure et fort.



**Figure 21:** Variation de pourcentage d'inhibition de la dénaturation de SAH en fonction de la concentration des protéines sériques du lait de chamelle

**Tableau XII:** La valeur de CI50 des protéines sériques du lait de chamelle cru (PSC) et (PSF) fermenté

Test	Valeur de CI50 (mg/ml)	
	PSC	PSF
Inhibition de la dénaturation de SAH	8.23 ± 0.8	5.54 ± 0.6***
Stabilisation de MHRBC	3.54 ± 0.05	2.65 ± 0.2***

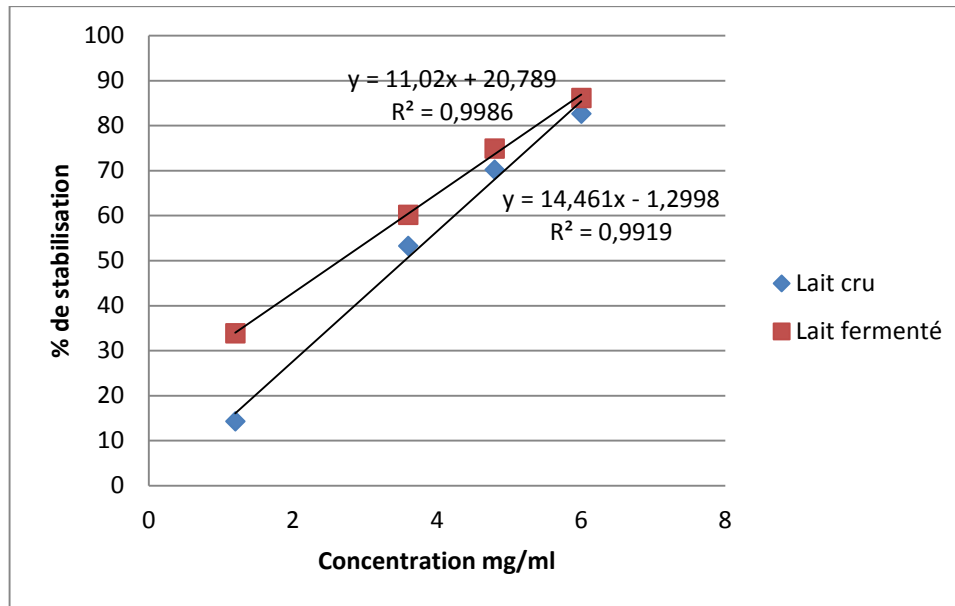
\*\*\* : P<0.001 : la différence est très hautement significative

### 3.5.3.2. Activité anti inflammatoire par stabilisation de la membrane des globules rouges humain

Il existe une ressemblance structurale entre la membrane plasmique érythrocytaire et la membrane du lysosome. La stabilisation de la membrane lysosomale est importante pour limiter la réponse inflammatoire qui provoque des dommages tissulaires supplémentaires. Cette limitation empêche la libération des constituants lysosomales comme les enzymes bactéricides et les protéases par les neutrophiles activés (Kar et al., 2013).

Les résultats ont montré que les protéines sériques du lait de chamelle fermenté protègent significativement ( $p < 0.05$ ) la membrane érythrocytaire contre la lyse d'une façon mieux que les protéines sériques du lait de chamelle cru et donnent une valeur de CI50 de 2.65, 3.54 mg/ml respectivement (Tableau XI). Cependant, à la concentration de 1 mg/ml, les protéines sériques du lait de chamelle fermenté ont montré une stabilisation ne dépassant pas 35 % (figure 22). Bien que le diclofenac de sodium à 0.1 mg/ml de concentration a montré une stabilisation de 73.83% (Rahman et al., 2015), par ce que est un anti-inflammatoire pure et fort.

D'après les résultats, la stabilisation de la membrane des globules rouges humains par les protéines sériques du lait de chamelle fermenté montre que les protéines peuvent aussi bien stabiliser les membranes lysosomales pour minimiser les problèmes inflammatoires.



**Figure 22:** Variation de pourcentage de stabilisation de MHRBC en fonction de la concentration des protéines sériques de lait de chamelle

Nous n'avons pas pu comparer nos résultats avec d'autres travaux vu l'absence des travaux relatifs aux études *in vitro* sur le potentiel anti-inflammatoire des protéines sériques du lait par le test de stabilisation de la membrane des globules rouges humains et par le test d'inhibition de la dénaturation d'albumine.

Plusieurs auteurs ont travaillé sur l'effet antiinflammatoire *in vivo* du lait de chamelle à l'état cru, on trouve Al-Hashem (2009), Darwish et al., (2012) et Al-Asmari et al., (2014) ont testé l'effet du lait de chamelle sur la protection contre l'inflammation hépatique. Ce qui concerne la protection du lait de chamelle contre les gastrites on trouve Arab et al., (2014) et Hu et al., (2017).

Mona et al., (2010), ont utilisé *in vivo* le lait de chamelle cru et fermenté pour voir leurs effets anti-diarrhéiques. Ils ont provoqué la diarrhée chez les rats par administration de virus de Ross River. Les rats traités par le lait de chamelle fermenté ont vu leur diarrhée arrêté contrairement à ceux traités par le lait de chamelle cru.

Sharma et al., (2011) ont isolé la protéine de reconnaissance du peptidoglycane à partir du lait de chamelle. Son addition dans la culture cellulaire des monocytes, donne une inhibition d'expression des cytokines pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-alpha) et l'interleukine-6 (IL-6) par la technique de cytométrie de flux. Dans la même voie, Nielsen et al., (2015) ont utilisé les hydrolysats de caséine bovine traitées par la corolase et la pepsine dans une culture cellulaire de macrophages et des cellules épithéliales intestinales conduit à l'abaissement de la production de TGF- $\beta$ 1 (Facteur de croissance transformant bêta 1), la cyclooxygénase-2 (COX-2) et NF- $\kappa$ B (facteur nucléaire kappa-light-chain-enhancer des cellules B activées) comme facteurs inflammatoires.

*CONCLUSION*  
*GENERALE*



## Conclusion générale

Le lait de chamelle (*Camelus dromaderius*) est un produit alimentaire complet, généralement consommé à l'état cru. Anciennement, il représentait la source importante et abondante en protéines, en calcium, en lipide et en vitamine C pour les peuples nomades. Actuellement, à côté des procédés traditionnels rares de transformation du lait de chamelle, la fermentation reste le moyen de conservation le plus pratique et le moins connu par les éleveurs urbain.

Ce type de lait reste un produit alimentaire à usages très limité vu sa transformation limitée en produits dérivés fermenté tels que fromage, l'ben et yaourt.

Dans la continuité des travaux déjà initiés par d'autres études, nous nous sommes tentés dans cette étude à élargir les champs de valorisation de lait de chamelle produit en Algérie. Cette étude est basée sur l'évaluation des effets de la fermentation spontanée sur l'amélioration des qualités physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques. Ainsi que l'investigation des vertus thérapeutiques du lait de chamelle par l'étude des activités biologiques des protéines sériques à l'état cru et fermenté.

Les analyses effectuées sur le lait camelin cru et fermenté ont donné des résultats encourageants sur le plan qualité.

A travers les analyses physico-chimiques, il a été montré que le pH diminue. Il est passé de 6.5 à 3.85 à la fin de la fermentation. Cependant, l'acidité Dornic a connu une augmentation jusqu'à atteindre 105.3 °D par rapport à celle du lait cru qui est égale à 18 °D. La densité du lait camelin cru a aussi augmenté au cours du processus de la fermentation, elle est passée de  $(1.020 \pm 0.02)$  à  $(1.033 \pm 0.03)$  après la fermentation. Quant à la matière sèche totale et les cendres, celles-ci ont connu une diminution significative. Nous avons enregistré des taux qui sont passés respectivement de  $(123.2 \pm 8.1)$  et  $(8.38 \pm 0.5)$  g/l pour le lait cru aux taux de  $(113.4 \pm 7.3)$  et  $(7.87 \pm 0.6)$  g/l après la fermentation.

Les analyses biochimiques ont révélé que le lait camelin fermenté renferme un taux de matière grasse significativement important par rapport au lait cru qui est de  $45.2 \pm 4.2$  et  $37.5 \pm 3.1$  g/l respectivement avant et après fermentation. Mais la teneur en lactose, en protéines totales et en caséines ont connu une diminution significativement importante. Les taux sont passés respectivement de  $42.2 \pm 2.03$ ,  $34.1 \pm 1.1$  et  $28.05 \pm 0.65$  g/l à  $23.4 \pm 1.13$ ,  $29.0 \pm 1.4$  et  $23.48 \pm 1.45$  g/l avant et après la fermentation.

La caractérisation électrophorétique des protéines du lait cru et fermenté confirme le résultat de diminution du taux des protéines totales et caséiques après la fermentation. Cette diminution est un résultat de protéolyse enzymatique bactérienne exprimée par la diminution de l'intensité des bandes de protéines sériques et caséiques ou leurs disparition après la fermentation sur les gèles d'électrophorèse. Les protéines concernées de cette protéolyse pourraient probablement correspondre aux Immunoglobulines, Sérums Albumine Camelin,  $\alpha$ -Lactalbumine,  $\alpha$ s-Caséine et  $\beta$ -Caséine.

En outre, les analyses microbiologiques ont confirmé la bonne qualité hygiénique du lait de chamelle cru vu le temps de réduction du bleu de méthylène qui a dépassé les 4 heures. Cette qualité est justifiée aussi par le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, les coliformes, les entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, les clostridium sulfite-réducteurs et *Salmonella spp* qui a donné des taux normaux de  $6.1 \cdot 10^4$ ,  $1.6 \cdot 10^3$ ,  $6.0 \cdot 10^2$ , 30.2, 3.98 et 0 ufc/ml respectivement. D'autre part, la flore lactique présente était d'une charge moyenne considérable de  $1.7 \cdot 10^4$  ufc/ml, ce qui enrichi le lait pour être probablement une source probiotique.

La bonne qualité hygiénique du lait fermenté peut être justifiée par la présence d'un taux important de la flore lactique de  $5.5 \cdot 10^7$  ufc/ml à la fin de la fermentation. Au même temps, on peut marquer l'abaissement du taux des germes de contamination tels que les coliformes et les entérobactéries de  $2.3 \cdot 10^2$  et  $3.7 \cdot 10^2$  ufc/ml respectivement et un taux nul pour les germes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* et les clostridium sulfite-réducteurs

En effet, les données obtenues confirment que certains changements microbiologiques présentent une concordance avec les variations physico-chimiques et biochimiques survenus pendant la fermentation du lait de chamelle dont l'effet principale est l'hydrolyse des glucides (notamment le lactose) et la protéolyse des caséines par les bactéries lactiques. Les métabolites produits sont utilisés par ces dernières comme sources d'énergie et d'azote pour leur croissance.

Les protéines sériques du lait de chamelle cru présentent une activité antimicrobienne contre *S. aureus* comme Gram positif d'une façon significative, mais d'une façon moins active contre les germes Gram négatifs testés. Après la fermentation, il y a un élargissement de spectre d'action contre les Gram négatifs tels que *E. coli* et *K. pneumoniae* et un spectre d'action très amélioré sur *S. aureus* comme Gram positif. Cette amélioration provient

probablement de la libération des peptides résultants de la protéolyse des protéines du lait par la flore lactique. Cette dernière inhibe la croissance d'autres germes de contamination et prolonge la durée de conservation du lait.

L'activité anti oxydante donnée par le test d'inhibition de la DPPH et de la  $\beta$ -carotène / acide linoléique présente une augmentation significative pour les protéines sériques du lait de chamelle fermenté par rapport aux protéines sériques du lait de chamelle cru. Cette différence est exprimée par l'abaissement de la valeur de CI50.

L'activité antiinflammatoire *in vitro*, donné par le test d'inhibition de la dénaturation de sérum albumine humain et par le test de stabilisation des membranes des globules rouges humain, a montré la capacité protectrice des protéines sériques du lait de chamelle fermenté vis-à-vis de la dénaturation des protéines et la stabilisation des membranes. Cette protection peut être à l'origine de l'effet antiinflammatoire de lait de chamelle dans les utilisations traditionnelles.

Les résultats obtenus ont démontré que la fermentation spontanée augmente la qualité nutritionnelle et hygiénique du lait camelin par le développement de la flore lactique et l'inhibition de la flore de contamination, et la libération des peptides bioactifs.

A l'avenir, nous préconisons de faire des tests *in vivo* pour confirmer les résultats précédemment obtenus. De même il serait souhaitable d'approfondir cette étude en isolant des peptides résultants de l'hydrolyse des protéines du lait et rechercher leurs activités biologiques possibles.

D'autres études sont nécessaires pour isoler et identifier des souches lactiques performantes à partir du lait de chamelle fermenté. Parmi ces souches celles responsables de la synthèse des exopolysaccharides et celles capables de dégrader les polluants et les métaux lourds.

Il semble important d'étudier les changements relatifs à la qualité des lipides après la fermentation du lait et de connaître leur origine.

La fermentation spontanée du lait camelin cru nécessite une bonne qualité microbiologique initiale pour une bonne valorisation de la flore lactique. Mais la pasteurisation peut être un très bon moyen pour maîtriser les conséquences de la fermentation et pour éviter les problèmes des contaminants.

Il est nécessaire d'instaurer une politique de qualité avec la vulgarisation des bonnes pratiques d'élevage et d'insister sur la bonne santé des animaux, de leur propreté d'environnement et de sensibilisation des éleveurs sur l'importance de l'hygiène. Cela permet d'obtenir du lait de bonne qualité bactériologique pour la production de produits biologiques au lait fermenté de bonne qualité hygiénique et gustative tels que l'ben, yaourt, s'men et fromages. Ces produits alimentaires vont être utilisés comme produits de nutrition et de prévention contre certains problèmes de santé quotidienne.

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

## Références bibliographiques

**Abdel All A.A.A., and Dardir H.A., 2009.** Hygienic quality of local traditional fermented skimmed milk (Laban Rayb) sold in Egypt. *World Journal of Dairy and Food Sciences* 4 (2): 205-209.

**Abdel Rahman I.E., Dirar H.A., and Osman M.A., 2009.** Microbiological and biochemical changes and sensory evaluation of camel milk fermented by selected bacterial starter cultures. *African Journal of Food Science*, 3(12): 398-405.

**Abdel-Hamid M., Goda H.A., De Gobba C., Jenssen H., and Osman A., 2016.** Antibacterial activity of papain hydrolysed camel whey and its fractions. *International Dairy Journal*. 61:91-98.

**Abou-Arab A.A.K., Abou-Bakr S., Maher R.A., El-Hendawy H.H., and Awad A.A., 2010.** Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Affected by some Lactic Acid Bacteria. *Journal of American Science*. 6(10):1237-1246.

**Aissaoui Zitoun O., and Zidoune M.N., 2006.** Le fromage traditionnel algérien *bouhezza*. Séminaire d'Animation Régional Technologies douces et procédés de séparation. AUF-GP3A-INSAT, Tunis, Tunisie, Actes des sommaires, pp.118-124.

**Aissaoui Zitoun O., Benatallah L., Ghennam E., and Zidoune M-N., 2011.** Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened *bouhezza* cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 9 (2): 96-100.

**Al Haj O.A., et Al Kanhal H. A., 2010.** Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal A review*. xxx 1-11.

**Al Salihi K., Al Khatib M.M., and Alkoofee W.M., 2017.** Physicochemical properties of Iraqi dromedary camel's milk. *Bas.J.Vet.Res.* 16(2): 45-53.

**Al-Asmari A.K., Abbasmanthiri R., Al-Elewi A.M., Al-Omani S., Al-Asmary S., and Al-Asmari S.A., 2014.** Camel Milk Beneficial Effects on Treating Gentamicin Induced Alterations in Rats. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Toxicology*, Article ID 917608, 7 pages.

**Al-Dobaib S.N., 2009.** Effect of palm oil supplementation on the milk yield and composition of dromedary she camels. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8 (6): 710-715.

**Alhaj O.A., 2017.** Identification of potential ACE-inhibitory peptides from dromedary fermented camel milk. *Journal of food*. 15 (2): 191-195.

**Al-Hashem F., 2009.** Camel's Milk Protects against Aluminum Chloride-Induced Toxicity in the Liver and Kidney of White Albino Rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 5 (3): 98-108.

**Alim N., Fondrini F., Bonizzi I., Feligini M., and Enne G., 2005.** Characterization of casein fractions from Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*) milk. *Pak. J. Nutr.* 4(2):112-116.

**Alloui-Lombarkia O., Ghennam E-H., Bacha A. et Abededdaim M., 2007.** Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. *Renc. Rech. Ruminants*. 14: 108-108.

**Al-Mohizea I.S., 1986.** Microbial quality of camel's raw milk in Riyadh Markets. *Egyptian. J. Dairy Sci.* 14 (2): 173-180.

**Al-Tahiri R., 2005.** A comparison of microbial conditions between traditional dairy products sold in Karak and same products produced by Modern Dairies. *Pak. J. Nutr.* 4(5): 345-348.

**Ammor S., Tauveron G., Dufour E., and Chevallier I., 2006.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*. 17: 454-461.

**Anusha R., and Bindhu O.S., 2016.** Bioactive Peptides from Milk, Milk Proteins - From Structure to Biological Properties and Health Aspects. Dr. Isabel Gigli (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/62993.

**Arab H.H., Salama S.A., Eid A.H., Omar H.A., Arafa E.A., Maghrabi I.A., 2014.** Camel's milk ameliorates TNBS-induced colitis in rats via downregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress. *Food and Chemical Toxicology* 69: 294–302.

**Attia H., Kherouatou N., and Dhouib A., 2001.** Dromedary milk lactic acid fermentation: microbiological and rheological characteristics. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 26(5):263-270.

**Attia H., Kherouatou N., Fakhfakh N., Khorchani T., and Trigui N., 2000.** Dromedary milk fat: biochemical, microscopic and rheological characteristics. *J Food Lipids*. 7(2): 95-112.

**Bahobail A.S., Ali A.A., and Alyan A.A., 2014.** Effect of Fermentation Process on the Improvement of Nutrition Value of Camel Milk. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research* 2(1): 78–82.

**Balakrishnan G., and Agrawal R., 2014.** Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. *J Food Sci Technol*. 51(12):4138–4142.

**Beg O.U., von Bahr-Lindström H.V., Zaidi Z.H., and Jörnvall H., 1985.** The primary structure of  $\alpha$ -Lactalbumin from camel milk. *European Journal of Biochemistry*. 147: 233-239.

**Bengoumi M., and Faye B., 2015.** Production laitière cameline au Maghreb. CIHEAM, Watch Letter n°35.

**Bengoumi M., Faye B., et Tressol J.C., 1998.** Composition minérale du lait de chamelle du Sud marocain. Congrès Dromadaires et chameaux, animaux laitiers. Colloque, Nouakchott, Mauritanie. (24/10/1994). 31:145-149.

**Benkerroum N., 2008.** Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *African Journal of Biotechnology*. 7(25): 4856-4867.

**Benkerroum N., 2013.** Traditional fermented foods of North African countries: technology and food safety challenges with regard to microbiological risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12: 54-89.



**Benkerroum N., and Tamime A.Y., 2004.** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (*lben, jben* and *smen*) to small industrial scale. *Food Microbiology*. 21: 399-413.

**Benkerroum N., Boughdadi A., Bennani N., and Hidane K., 2003.** Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 19: 645–648.

**Benkerroum N., Mekkaoui M., Bennani N. and Hidane K., 2004.** Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal Dairy Technology*. 57 (1):39-43.

**Bonczar G., Walczycka M., and Duda I., 2016.** The changes of proteins fractions shares in milk and fermented milk drinks. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 15(4): 379-389.

**Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E., 2002.** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Edition doin CRDP d'Aquitaine, Paris. 245 pages.

**Bornaz S., Sahli A., Attalah A., and Attia H., 2009.** Physicochemical characteristics and renneting properties of camels' milk: A comparison with goats', ewes' and cows' milks. *International Journal of Dairy Technology*. 62: 505-513.

**Borzouee F., Mofid M.R., Varshosaz J., Samsam Shariat S.Z., 2016.** Purification of lactoperoxidase from bovine whey and investigation of kinetic parameters. *Adv Biomed Res.* 5:189: 1-10.

**Boudjenah-Haroun S., 2012.** Aptitudes à la transformation du lait de chamelle en produits dérivés : effet des enzymes coagulantes extraites de caillettes de dromadaires. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. (Algérie); 123 pages.

**Bounous G., Batist G., Gold P., 1989.** Immunoenhancing property of dietary whey protein in mice: Role of glutathione. *Clin Invest Med.* 12:154-161.

**Bourgeois C.M., 1980.** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires -3- Le contrôle microbiologique. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, France. 384 pages.

**Brandelli A., Daroit D.J., Corrêa A.P.F., 2015.** Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Research International* 73: 149-161.

**Branger A., Richer M.M., and Roustel S., 2007.** Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques. Edicagri Edition. Dijon, France. 203 pages.

**Brody T., 1999.** Calcium and Phosphate: Nutritional biochemistry, 2<sup>nd</sup> edition, pp: 761–794. Academic Press, Boston, Massachusetts.

**Bruni N., Capucchio M.T., Biasibetti E., Pessione E., Cirrincione S., Giraud L., Corona A., and Dosio F., 2016.** Antimicrobial activity of lactoferrin-related peptides and applications in human and veterinary medicine. *Molecules*. 21, 752.

**Carter D.C., and Ho J.X., 1994.** Structure of serum albumin. *Adv. Protein Chem.* 45:153-203.

**Cervato G., Cazzola R., and Cestaro B., 1999.** Studies on the antioxidant activity of milk caseins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50: 291-296.

**Cho K.M., Math R.K., Asraful Islam S.M., Lim W.J., Hong S.Y., Kim J.M., Yun M.G., Cho J.J., and Yun H.D., 2009.** Biodegradation of Chlorpyrifos by Lactic Acid Bacteria during Kimchi Fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1882–1889.

**Chumchalova J., Josephsenb J., and Plockova M., 1998.** The antimicrobial activity of acidocin CH5 in MRS broth and milk with added NaCl, NaNO<sub>3</sub> and lysozyme. *International Journal of Food Microbiology* 43: 33–38.

**CLSI., 2015.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 236p.

**Conesa C., Rota C., Castillo E., Pérez M.D., Calvo M., and Sanchez L., 2010.** Effect of heat treatment on the antibacterial activity of bovine lactoferrin against three foodborne pathogens. *International Journal of Dairy Technology*. 63(2) : 209-215.

**Cordash R.A., and Insalata N.F., 1978.** Incidence and pathological significance of *Escherichia coli* and other sanitary indicator organisms in food and water. *Food Technology* 32: 54–58.

**Corry J.E.L., Curtis G.D.W., and Baird R.M., 2003.** Handbook of culture media for food microbiology, Progress in industrial microbiology, Volume 37. Elsevier Science B.V. 678 pages.

**Courtet-Leymarios F., 2010.** Qualité nutritionnelle du lait de vache et de ses acides gras. Voies d'amélioration par l'alimentation. Thèse doctorat vétérinaire. Université Paris-Est Créteil Val de Marne (UPEC). École nationale vétérinaire d'Alfort (EnvA). 120 p.

**Daley-Bauer L.P., Purdy S.R., Smith M.C., Gagliardo L.F., Davis W.C., and Appleton J.A., 2010.** Contributions of conventional and heavy-chain IgG to immunity in fetal, neonatal, and adult alpacas. *Clinical and Vaccine Immunology*. 17(12) : 2007-2015.

**Daliri E.B-M., Oh D.H., and Lee B.H., 2017.** Bioactive Peptides. *Foods*. 6 (32): 1-21.

**Darwish H A., Abd Raboh N. R., and Mahdy A., 2012.** Camel's milk alleviates alcohol-induced liver injury in rats. *Food and Chemical Toxicology* 50: 1377–1383

**Debon J., Prudêncio E.S., Petrus J.C.C., Fritzen-Freire C.B., Müller C.M.O., Amboni R.D. de M.C., and Vieira C.R.W. ,2012.** Storage stability of prebiotic fermented milk obtained from permeate resulting of the microfiltration process. *LWT-Food Science and Technology* 47: 96-102.

**Dell'Orto V., Cattaneo D., Beretta E., Baldi A., Savoini G., 2000.** Effects of trace element supplementation on milk yield and composition in camels. *International Dairy Journal*. 10: 873-879.

**Diniz R.O., Garla L.K., Schneedorf J.M., and Carvalho J.C.T., 2003.** Study of anti-inflammatory activity of Tibetan mushroom, a symbiotic culture of bacteria and fungi encapsulated into a polysaccharide matrix. *Pharmacol Res* 47(1):49-52.

**Djadouni F., and Kihal M., 2012.** Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria and the Spectrum of their Biopeptides Against Spoiling Germs in Foods. *Braz. Arch. Biol. Technol.*55(3): 435-443.

**Dortu C. et Thonart P., 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13(1) : 143-154.

**Downes F.P., and Ito K., 2001.** Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 676 pages.

**Duhaiman A.S., 1988.** Purification of camel milk lysozyme and its lytic effect on *Escherichia coli* and *Micrococcus lysodeikticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry*. 91 (4): 793-796.

**Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H. and Stackebrandt E., 2006.** The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. Edition of Springer Science and Business Media, LLC, 3<sup>rd</sup> edition. 1140 pages.

**Dziarski R., and Gupta D., 2006.** Protein family review, The peptidoglycan recognition proteins (PGRPs). *Genome Biology*. 7(8): 232.1-232.13.

**Dzomba P., Ngoroyemoto N., and Musarurwa R., 2013.** Antioxidant Capacity and Microbial Attributes of Raw Cow Milk Fortified with Hypotrigena Squamuligera Honey. *Global Journals Inc. (USA). Global Journal of Medical research*. 13 (3(1)): 9-12.

**Ebaid H., Abdel-salam B., Hassan I., Al-Tamimi J., Metwalli Ali., and Alhazza I., 2015.** Camel milk peptide improves wound healing in diabetic rats by orchestrating the redox status and immune response. *Lipids in Health and Disease* 14 (132): 1-10.

**Eberlein V., 2007.** Hygienic status of camel milk in Dubai (United Arab Emirates) under two different milking management systems. Thesis of doctora in Veterinary Medicine, the Veterinary Faculty Ludwig-Maximilians München University.

**Ebringer L., Ferencik M., and Krajcovic J., 2008.** Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products – Review. *Review Folia Microbiol*, 53(5): 378–394.

**El Marrakchi A., Berrada M., Chahboun M., and Benbouhou M., 1986.** Etude chimique du smen marocain. *Le Lait*, INRA Editions, 66 (2):117-133.

**El Ziney M.G., and Al-Turki A.I., 2007.** Microbiological quality and safety assessment of camel milk (*Camelus dromedaries*) in Saudi Arabia (Qassim region). *Applied ecology and environmental research*. 5(2): 115-122.

**El Zubeir I.E.M. and Ibrahim M.I., 2009.** Effect of pasteurization of milk on the keeping quality of fermented camel milk (Gariss) in Sudan. *Livestock research for rural development*. Volume: 21, Article: 19.

**El-Agamy E.I. and Nawar M.A., 2000.** Nutritive and immunological values of camel milk: A comparative study with milk of other species. In: 2nd International Camelid Conference. *Agroeconomics of Camelid Farming*, Almaty, Kazakhstan, 8-12 September.

**El-Agamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., and Assaf R., 1992.** Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *Journal of Dairy Research*. 59 (2): 169-175.

**El-Agamy I. E., 2006.** Camel Milk. *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Edited by Young W. Park and George F.W. Haenlein. Blackwell Publishing Professional. USA. 449 pages.

**El-Agamy I. E., 2009.** Camel Milk. *Handbook of Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Edited by Young W. Park, Ph.D. Wiley-Blackwell. 440 pages.

**El-Hatmi H., Girardet J.M., Gaillard J.L., Yahyaoui M.H., and Attia H., 2007.** Characterisation of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrums. *Small Ruminant Research*. 70: 267-271.

**El-Hatmi H., Jrad Z., Khorchani T., Dary A., and Girardet J.-M., 2014.** Fast protein liquid chromatography of camel  $\alpha$ -lactalbumin fraction with radical scavenging activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 26 (4): 309-316.

**El-Hatmi H., Jrad Z., Khorchani T., Jardin J., Poirson C., Perrin C., Cakir-Kiefere C., and Girardet J.M., 2016.** Identification of bioactive peptides derived from caseins, glycosylation dependent cell adhesion molecule-1 (GlyCAM-1), and peptidoglycan recognition protein-1 (PGRP-1) in fermented camel milk. *International Dairy Journal*. 56: 159-168.

**El-Hatmi H., Jrad Z., Salhi I., Aguib A., Nadri A., and Khorchani T., 2015.** Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk. *Mljekarstvo*. 65 (3): 159-167.

**El-Hatmi H., Khorchani T., Hammadi M., Abdennebi M., and Attia H., 2003.** Production et composition du lait de chamelle élevée dans le sud Tunisien. Prospects for a Sustainable Dairy Sector in the Mediterranean, Proceedings of the joint European Association for Animal Production, Food and Agriculture Organization of the United Nations. EAAP Publication N° 99.2003. pp. 62-68.

**Ellouze S., et Kamoun M., 1989.** Évolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de la lactation. CIHEAM - Options Méditerranéennes. Série Séminaires. **06:** 307-311.

**Elmoualdi L., Labioui H., Boushama L., Benzakour A., Ouhsine M., et El Yachioui M., 2008.** Activité bactéricide d'une souche de *Lactococcus Lactis* sub sp. Cremoris. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 147: 7-18.

**Ericsson M.H., and Sherris J.C., 1971.** Antibiotic sensitivity testing: report of an international collaborative study. Acta Path Micr 217: 1-90.

**FAO, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition n° 28.

**Farah Z., and Farah-Riesen M., 1985.** Separation and characterization of major components of camel milk casein. Milchwissenschaft. 40:669-671.

**Farah Z., and Rüegg M.W., 1989.** The size distribution of casein micelles in camel milk. Food microstructure, 8: 211-216.

**Farah Z., Rettenmaier R., and Atkins D., 1992.** Vitamin content of camel milk. International Journal of Vitamins and Nutrition. 62: 30-33.

**Farrell Jr.H.M., Jimenez-Flores R., Bleck G.T., Brown E.M., Butler J.E., Creamer L.K., Hicks C. L., Hollar C.M., Ng-Kwai-Hang K.F., and Swaisgood H.E., 2004.** Nomenclature of the proteins of cows' milk- Sixth Revision. J. Dairy Sci. 87:1641-1674.

**FAO, 2014.** The State of Food Insecurity in the World. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

**Faye B., Jouany J.P., Chacornac J.P., et Ratovonahary M., 1995.** L'élevage des grands camélidés: analyse des initiatives réalisées en France. INRA prod. Anim. **8(1):** 3-17.

**Ferranti P., Traisci M.V., Picariello G., Nasi A., Boschi V., Siervo M., Falconi C., Chianese L., and Addeo F. 2004 .** Casein proteolysis in human milk: tracing the pattern of casein breakdown and the formation of potential bioactive peptides. *J Dairy Res.* 71(1):74-87.

**Filipovitch D.J., 1954.** Etude sur les variations de la densité du lait de mélange, *Le lait.* 34 : 129-132.

**Frédéric M.C., 2014.** Ni cru ni cuit. Histoire et civilisation de l'aliment fermenté. Editions Alma, 359 pages.

**Gjorgievski N., Tomovska J., Dimitrovska G., Makarijoski B., and Shariati M.A., 2014.** Determination of the antioxidant activity in yogurt. *Journal of Hygienic Engineering and Design.* 146(3): 615-272.

**Gorban A.M.S., and Izzeldin O.M., 1997.** Mineral content of camel milk and colostrum. *J. Dairy Techn.* 64: 471-474.

**Grant N.H., Alburn H.E., and Kryzanaukas C., 1970.** Stabilization of serum albumin by anti-inflammatory drugs. *Biochem. Pharmacol.* 19 (3):715-722.

**Guiraud J-P., 1998.** Microbiologie alimentaire. Dunod. 652 p.

**Guiraud J-P., et Galzy P., 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. L'usine nouvelle, Paris, 236 pages.

**Habib H.M., Ibrahim W.H., Schneider-Stock R., and Hassan H.M., 2013.** Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. *Food Chemistry* 141: 148-152.

**Haddad I., Mozzon M., Strabbioli R., and Frega N.G., 2010.** Stereospecific analysis of triacylglycerols in camel (*Camelus dromedarius*) milk fat. *International Dairy Journal.* doi: 10.1016/j.idairyj.2010.06.006.

**Hafeez Z., Cakir-Kiefer C., Roux E., Perrin C., Miclo L., and Dary-Mourorot A., 2014.** Review Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *Food Research International* 63 : 71-80.

**Hamama A., and Bayi M., 1991.** Composition and microbiological profile of two Moroccan traditional dairy products: Raib and Jben. *J. Society Dairy Technol.* 44(4): 118-120.

**Hassan A.H., Hagrass A.I., Soryal K.A., and El-Shabrawy S.A., 1987.** Physicochemical properties of camel milk during lactation period in Egypt. *Egyptian Journal of Food Science* 15 (1): 1-14.

**Hassan R.A., El Zubeir I.E.M., and Babiker S.A., 2008.** Chemical and microbial measurements of fermented camel milk “Gariss” from transhumance and nomadic herds in Sudan. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(4): 800-804.

**Hassan R.A., El Zubeir I.E.M., and Babiker S.A., 2010.** Microbiology of Camel Fermented Milk (Gariss) in Sudan. *Research Journal of Microbiology.* 5(5): 440-445.

**Hassouna M., et Masrar F., 1995.** Evolution de la flore microbienne et des principales caractéristiques physico-chimiques au cours de la maturation du fromage industriel tunisien à pâte pressée cuite de type gruyère. *Industries alimentaires et agricoles.* 112 (12) : 911-922.

**Hawaz E., Guesh T., Kebede A., and Menkir S., 2016.** Characterization of lactic acid bacteria from camel milk and their technological properties to use as a starter culture. *East African Journal of Sciences.* 10(1) : 49-60.

**Hayes M., Stanton C., Fitzgerald G.F., and Ross R.P., 2007.** Putting microbes to work: Dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: Bioactive peptide functions. *Biotechnol. J.* 2: 435-449.

**Heita L.N., and Cheikhyoussef A., 2014.** Dominant lactic acid bacteria and their antimicrobial profile from three fermented milk products from northern Namibia. *Journal of Biosciences and Medicines.* 2: 8-13.

**Hillier R.M., 1976.** The quantitative measurement of whey proteins using polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Dairy. Res.* 43:259-265.

**Hinz K., O’Connor P.M., Huppertz T., Ross R.P., and Kelly A.L., 2012.** Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. *Journal of Dairy Research.* 79: 185-191.



**Homayouni-Tabrizi M., Shabestar H., Asoodeh A., and Soltani M., 2016.** Identification of two novel antioxidant peptides from camel milk using digestive proteases: Impact on expression gene of superoxide dismutase (SOD) in hepatocellular carcinoma cell line. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. (22) 2:187–195.

**Hu Z., Chang X., Pan Q., Gu K., Okechukwu P.N., 2017.** Gastroprotective and Ulcer Healing Effects of Camel Milk and Urine in HCl/EtOH, Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (Indomethacin), and Water-Restraint Stress-induced Ulcer in Rats. *Phcog Mag*. 13:559-565.

**Hussain M., Zahoor T., Anjum F.M., Shahid M., and Saeed F., 2015.** Isolation and characterization of buffalo milk lysozyme. *International Journal of Food Properties*. 18:1288-1297.

**Indra R., and Erdenebaatar B., 1994.** Camel's milk processing and its consumption patterns in Mongolia. In: P. Bonnet (ed.). *Proc. Workshop Dromedaries and Camels as Milking Animals*, Nouakchott, Mauritania, 24–26 October, p. 257–261.

**Ismael A.B., Abd El Hafez S.M., Mahmoud M.B., Elaraby A.-K.A., and Hassan H.M., 2013.** Development of new strategy for non-antibiotic therapy: Dromedary camel lactoferrin has a potent antimicrobial and immunomodulator effects. *Advances in Infectious Diseases*. 3 : 231-237.

**Ismail A.A., Ghaly M.F., and El-Naggar A.K., 2011.** Milk Kefir: Ultrastructure, Antimicrobial Activity and Efficacy on Aflatoxin B1 Production by *Aspergillus flavus*. *Curr Microbiol* 62:1602–1609.

**Jack R.W., Tagg J.R., and Ray B., 1995.** Bacteriocin of Gram positive bacteria. *Microbiol. Rev* 59: 171-200.

**Jacob B.M., Antony E.K., Sreekumar B. and Haridas M., 2000.** Thiocyanate mediated antifungal and antibacterial property of goat milk lactoperoxidase. *Life Sciences* 66 (25): 2433-2439.

**Jilo K., and Tegegne D., 2016.** Chemical composition and medicinal values of camel milk. *International journal of research studies in biosciences*, 4(4):13-25.

**Journal officiel des Communautés européennes N° L 268/1, Directive 92/46/CEE du Conseil du 16 juin 1992** arrêtant les règles sanitaires pour la production et la mise sur le marché de lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait. Page 28.

**Jrad Z., El Hatmi H., Adt I., Khorchani T., Degraeve P., and Oulahal N., 2015.**

Antimicrobial activity of camel milk casein and its hydrolysates. *Acta Alimentaria*. 44 (4): 609-616.

**Juillard V., Laan H., Kunji E. R.S., Jeronimus-Stratingh C.M., Bruins A.P., and Konings W.N., 1995.** The extracellular PI-type proteinase of *Lactococcus lactis* hydrolyzes  $\beta$ -casein into more than one hundred different oligopeptides. *Journal of Bacteriology*. 177 (12): 3472-3478.

**Kalli S., Saadaoui M., Ait Amokhtar S., Boussad B., Benidir M., Bitam A., et Benmebarek A., 2018.** Éléments d'enquête générale sur la filière lait en Algérie. *International Journal on Innovation & Financial Strategies (IFS)*. 1 : 12-19.

**Kamoun M., 1994.** Evolution de la composition du lait de dromadaire durant la lactation : conséquences technologiques. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie.

**Kamoun M., 1995.** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *Options Méditerranéennes*, 13: 81-103.

**Kappeler S.R., 1998.** Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. Ph.D. Thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland. 137page.

**Kappeler S.R., Ackermann M., Farah Z., and Puhan Z., 1999.** Sequence analysis of camel (*Camelus dromedarius*) lactoferrin. *International Dairy Journal*. 9: 481-486.

**Kappeler S.R., Farah Z., and Puhan Z., 2003.** 5'-flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Science*. 86 : 498-508.

**Kappeler S.R., Heuberger C., Farah Z., and Puhan Z., 2004.** Expression of the Peptidoglycan Recognition Protein, PGRP, in the lactating mammary gland. *J. Dairy Sci.* 87:2660-2668.

**Kar B., Nepal A., Kumar,R. S., Dolai N., Bhattacharya S., Mazumder U. K., and Haldar P. K., 2013.** Antioxidant and anti-inflammatory properties *Hymenodictyon excelsum* bark. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 13(2): 103–111.

**Karam H.Z., et Karam N-E., 2006.** Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie: mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura*. 24(3): 153-156.

**Karray N., Lopez C., Ollivion M., et Attia H., 2005.** La matière grasse du lait de dromadaire: composition, microstructure et polymorphisme. Une revue. *Fondamental*, 12 : 439–446.

**Kelen M., and Tepe B., 2007.** Screening of antioxidative properties and total phenolic compounds of various extracts of three different seed of grape varieties (*Vitis vinifera* L.) from Turkish flora. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10(3):403-408.

**Keykanlu H.R.I., Zibaei S., Ardjmand M., Safekordi A.A., 2016.** Fluorocarbon nanostructures (PFOB-NEP) as camel milk lactoferrin and its anti-cancer effects on human breast cancer cell line MCF7. *Bulgarian Chemical Communications*. 48(2): 323-331.

**Khaskheli M., Arain M.A., Chaudhry S., Soomro A.H., and Qureshi T.A., 2005.** Physico-chemical quality of camel milk. *J. Agri. Soc. Sci.* 1(2): 164-166.

**Khedid K., Faid M., Mokhtari A., Soulaymani A. and Zinedine A., 2006.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological Research* 164 (2009): 81-91.

**Klaenhammer T.R., 1993.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS. Microbiol. Rev.* 12: 39-86.

**Konuspayeva G., 2007.** Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* et hybrides) au Kazakhstan. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université Montpellier II (France) ; 269 pages.

**Konuspayeva G., Faye B., and Loiseau G., 2009.** The composition of camel milk: A meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22: 95–101.

**Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., and Levieux D., 2007.** Lactoferrin and immunoglobulin contents in camel's milk (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius*, and Hybrids) from Kazakhstan. *Journal of Dairy Science* 90 : 38-46.

**Konuspayeva G., Loiseau G., and Faye B., 2004.** La plus-value « santé » du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du Kazakhstan. *Renc. Rech. Ruminants*. 11 : 47-50.

**Korish A.A., Abdel Gader A., Korashy H.M., Al-Drees a A., Alhaider A.A., and Arafah M.M., 2015.** Camel milk attenuates the biochemical and morphological features of diabetic nephropathy: Inhibition of Smad1 and collagen type IV synthesis. *Chemico-Biological Interactions*. 229: 100-108.

**Kumar D., Kumar C.M., Singh R., Mehta N., and Kumar P., 2016.** Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxidant properties. *Dairy Science and Technology*. 96: 391-404.

**Kussendrager K.D., and van Hooijdonk A.C.M., 2000.** Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*. 84(1): 19-25.

**Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El Yachioui M., Berny E. et Ouhssine M., 2009.** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 148 : 7-16.

**Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., et Ouhssine M., 2005.** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 144: 237-250.

**Laemmli U.K., 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680–685.

**Laemmli UK., and Favre H., 1973.** Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *J. Mol. Biol.* 80: 575-599.

**Lafta H., Jarallah E.M., and Darwash A., 2014.** Antibacterial activity of fermented camel milk using two lactic acid bacteria. Journal of Babylon University, Pure and applied sciences, 9 (22): 2377-2382.

**Laguerre M., López-Giraldo L.J., Lecomte J., Pina M., et Villeneuve P., 2007.** Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. Fondamental. Publication CIRAD, 14(5) : 278-292.

**Larpent J.P., Copin M.P., Germonville A., Jacquet M. et Thetas J.L., 1997.** Microbiologie du lait et des produits laitiers ; in : « Microbiologie alimentaire ». ed. Larpent, Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris. 333 pages.

**Law B.A., and Kolstad J., 1983.** Proteolytic systems in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology. 49: 225-245.

**Layman D.K., Lönnerdal B., and Fernstrom J.D., 2018.** Applications for  $\alpha$ -lactalbumin in human nutrition. Nutrition Reviews, 76(6), 444–460.

**Leelaprakash G., and Mohan Dass S., 2011.** Invitro Anti-Inflammatory activity of Methanol extract of *Enicostemma Axillare*. Int. J. Drug Dev. & Res. 3(3): 189-196.

**Leksir C., et Chemmam M., 2015.** Contribution à la caractérisation du *klida*, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Livestock Research for Rural Development, 27 (5).

**Levieux D., Levieux A., El-Hatmi H., and Rigaudière J.-P., 2005.** Immunochemical quantification of heat denaturation of camel (*Camelus dromedarius*) whey proteins. Journal of Dairy Research. 72: 1-9.

**Leyral G. et Vierling E. 2007.** Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. Edition doin CRDP d'Aquitaine, Paris. 4ème édition. 287 pages.

**Magdi A.O., Ibrahim E.A., and Hamid A.D., 2010.** Biochemical changes occurring during fermentation of camel milk by selected bacterial starter cultures. African Journal of Biotechnology. 9(43): 7331-7336.

**Mahboub N., Telli A., Siboukeur O., Boudjenah S., Slimani N S., et MATI A., 2010.** Contribution à l'amélioration de l'aptitude fromagère du lait camelin : étude des conditions

de conservation des enzymes gastriques camelines. *Annales des Sciences et Technologie*. 2(1): 71-79.

**Mal G., Suchitra S.D., and Sahani M.S., 2007.** Changes in chemical and macro-minerals content of dromedary milk during lactation. *Journal of Camel Practice and Research*. 14(2): 195-197.

**Male M., Vias F.S.G., et Bengoumi M., 2003.** Contrôle enzymatique de la pasteurisation du lait de chamelle et mise au point d'un test pratique. « Lait de chamelle pour l'Afrique ». Atelier sur la filière laitière camelin en Afrique. *Comptes rendus de la FAO, Niamey*. pp. 101-111.

**Marchal N., Bourdon J.L. et Richard C.L., 1987.** Les milieux de culture ; pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. 3ème Ed., Doin, CRDP d'Aquitaine, Paris. 505 pages.

**Marco G.J., 1968.** A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 45(9) : 594-598.

**Maryam A.S.A., Zaiton H., and Galia S., 2013.** Antioxidant activity of milk fermented with *Lactobacillus plantarum* 1 and *Leuconostoc mesenteroides* isolated from non-dairy sources. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 1 (2):71–83.

**Mathieu J., 1998.** Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, France. 220 pages.

**Mati A., Senoussi-Ghezali C., Si Ahmed Zennia S., Almi-Sebbane D., El-Hatmi H., and Girardet J-M., 2017.** Dromedary camel milk proteins, a source of peptides having biological activities. A review. *International Dairy Journal*. 73: 25-37.

**Mehaia M.A., Hablas M.A., Abdel-Rahman K.M., and El-Mougy S.A., 1995.** Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 52(2): 115-122.

**Mehaia, M. A. 1996.** Chemical composition of camel skim milk concentrated by ultrafiltration. *International Dairy Journal*. 6 : 141-152.

**Meiloud G.M., Ould Bouraya I.N., Samb A., and Houmeida A., 2011.** Composition of Mauritanian camel milk: results of first study. *Int. J. Agric. Biol.* **13 (1):** 145-147.

**Meisel H. and Bockelmann W., 1999.** Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties. *Antonie Van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology.* 76: 207–215.

**Merin U., Bernstein S., Bloch-Damti A., Yagil R., van Creveld C., Lindner P., and Gollop N., 2001.** A comparative study of milk serum proteins in camel (*Camelus dromedarius*) and bovine colostrums. *Livest. Prod. Sci.* 67: 297-301.

**Meyer A., Deiana J. et Bernard A., 2004.** Cours de microbiologie générale. 2ème édition, Wolter Kluwer. France. 430 pages.

**Miller H.E., 1971.** A simplified method for the evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 48(2):91–91.

**Mohankumar A., and Murugalatha N., 2011.** Characterization and antibacterial activity of bacteriocin producing *Lactobacillus* isolated from raw cattle milk sample. *International Journal of Biology,* 3(3) : 128-143.

**Mona E.Y., Ragia O.M., Abeer A.K.H., Mosa T.E., 2010.** Biochemical Effects of Fermented Camel Milk on Diarrhea in Rats. *New York Science Journal.* 3(5): 106-111.

**Moslehisad M., Ehsani M. R., Salami M., Mirdamadi S., Ezzatpanah H., Niasari-Naslaji A., and Moosavi-Movahedi A.A., 2013.** The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637. *International Dairy Journal.* 29: 82-87.

**Moustafa S.I., Ahmed A.H., Saad N.M. and Mahmoud Y.H., 2000.** Quality evaluation of camels' milk in New Valley Governorate, Egypt. *J. Agric. Res.,* 78 (1): 241-248.

**Nagaharika Y., Kalyani V., Rasheed S., and Karthikeyan R., 2013.** Anti-inflammatory activity of leaves of *Jatropha gossypifolia* L. by hrbc membrane stabilization method. *Journal of Acute Disease.* 156-158.

**Ndhlala A.R., Moyo M., and Van Staden J., 2010.** Natural antioxidants: fascinating or mythical biomolecules. *Molecules*.15: 6905-6930.

**NF (Norme Française) V04-207 (septembre 1970).** Lait – Détermination de la matière sèche (Indice de classement : V04-207).

**NF (Norme Française) V04-208 (octobre 1989).** Lait – Détermination des cendres – Méthode de référence (Indice de classement : V04-208).

**NF (Norme Française) V04-210 (Septembre 2000).** Lait - Détermination de la teneur en matière grasse - Méthode acido-butyrométrique (Indice de classement : V04-210).

**Nielsen D.S.G., Theil P.K., Larsen L.B., and Purup S., 2015.** Effect of milk hydrolysates on inflammation markers and drug-induced transcriptional alterations in cell-based models. *J. Anim. Sci.*90:403-405.

**O'mahony F., et Peters K.J., 1987.** Techniques de traitement du lait adaptées aux petites exploitations de l'Afrique subsaharienne. *Bulletin Du CIPEA (B.P. 5689)*. Addis-Abeba (Ethiopie): CIPEA.

**Obeid A.I., Bagadi H.O., and Mukhtar M.M., 1996.** Mastitis in *Camelus dromedarius* and the somatic cell content of camels' milk. *Research in Veterinary Science* 61, 55–58.

**Ochirkhuyag B., Chobert J.M., Dagalarrondo M., Choiset Y., and Haertle T., 1998.** Characterization of whey proteins from Mongolian yak, Khainak and Bactrian camel. *J. Food Biochem.* 22: 105-124.

**Ochirkhuyag B., Chobert J.M., Dagalarrondo M., Choiset Y., and Haertlé T., 1997.** Characterization of caseins from Mongolian yak, khainak and bactrian camel. *Lait.* 77:601-613.

**Olaniyan B.A., Zhao X., Mustafa A.F., 2013.** Determination of caprine serum albumin in milk using bromocresol green dye. *Open Journal of Animal Sciences.* 3 (3): 261-267.

**Omar A., Harbourne N., and Oruna-Concha M.J., 2016.** Quantification of major camel milk proteins by capillary electrophoresis. *International Dairy Journal.* 58:31-35.



**Omer R.H., and Eltinay A.H., 2009.** Changes in chemical composition of camel's raw milk during storage. *Pakistan Journal of Nutrition*. 8(5): 607-610.

**Orsonneau J.L., Douet P., Massoubre C., Lustenberger P. and Bernard S., 1989.** An improved pyrogallol red-molybdate method for determining total urinary protein. *Clin Chem*. 35(11):2233-2236.

**Osman M.A., Abdel Rahman I.E., and Dirar H.A., 2010.** Biochemical changes occurring during fermentation of camel milk by selected bacterial starter cultures. *African Journal of Biotechnology*. 9(43): 7331-7336.

**Othman A.S., 2016.** Detection of bactericidal activity of camel's milk compared with raw and processed cow's milk against pathogenic bacteria. *Egypt Pharmaceut J*. 15 (1):31-37.

**Parejo I., Codina C., Petrakis C., and Kefalas P., 2000.** Evaluation of scavenging activity assessed by Co (II) / EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) free radical assay. *J Pharmacol Toxicol Method*, 44 : 507-512.

**Petsko G.A., et Ringe D., 2008.** Structure et fonction des protéines. De Boeck Supérieur, Paris. 212 pages.

**Piard J.C., and Desmazeaud M., 1991.** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria: 1. Oxygen metabolites and catabolism en-products. *Lait*, 71, 525-541.

**Pihlanto A., 2006.** Bioactive peptides: functionality and production. *Agro food industry hi-tech journal*. 17 (6): 24-26.

**Popovici C., Saykova I., et Tylkowski B., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*. 4 : 25-39.

**Prazeres A.R., Carvalho F., and Rivas J., 2012.** Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*. 110: 48-68.

**Prescott L., Harley J. and Klein D., 2002.** Microbiology. McGraw-Hill Companies, Inc, 3rd edition. 1164 pages.

**Ragot M., 2011.** Produire du lait biologique: conversion et témoignages. Edition Educagri, 2<sup>ème</sup> édition, Paris. 352 pages.

**Rahman H., Eswaraiah M.C., and Dutta A.M., 2015.** *In-vitro* Anti-inflammatory and Anti-arthritic Activity of *Oryza sativa* Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). American-Eurasian J. Agric. and Environ. Sci. 15 (1): 115-121.

**Ramet J.P., 2001.** The technology of making cheese from camel milk (*Camelus dromedarius*). FAO. Animal production and health. Paper 113.

**Redwan E.R.M., and Tabll A., 2007.** Camel lactoferrin markedly inhibits hepatitis C virus genotype 4 infection of human peripheral blood leukocytes. Journal of Immunoassay and Immunochemistry. 28: 267-277.

**Reiter B., 1985.** The biological significance and exploitation of the non-immunoglobulin protective proteins in milk: Lysozyme, lactoferrin, lactoperoxidase, xanthine oxidase. Bull. Intern. Dairy Fed. Nr. 191/1985.

**Ripolles D., Harouna S., Parron J.A., Calvo M., Pérez M.D., Carraminana J.J., and Sanchez L., 2015.** Antibacterial activity of bovine milk lactoferrin and its hydrolysates prepared with pepsin, chymosin and microbial rennet against foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*. International Dairy Journal. 45: 15-22.

**Ripolles D., Parron J.A., Calvo M., Perez M.D., FitzGerald R.J., and Sanchez L., 2016.** Antioxidant activity of co-products from milk fat processing and their enzymatic hydrolysates obtained with different proteolytic preparations. International Dairy Journal 60: 70-77.

**Rodríguez R.E.M., Alaejos M.S., and Romero C.D., 2001.** Mineral concentrations in cow's milk from the Canary Island. Journal of Food Composition and Analysis. 14(4): 419-430.

**Sakat S., Juvekar A.R., and Gambhire M.N., 2010.** In vitro antioxidant and inflammatory activity of methanol extract of *Oxalis corniculata* Linn. International Journal of Pharma and Pharmacological Sciences. 146-155.

**Salameh C., Banon S., Hosri C., and Scher J., 2016.** An overview of recent studies on the main traditional fermented milks and white cheeses in the Mediterranean region. *Food reviews international*. 32 (3): 256–279.

**Salami M., Moosavi-Movahedi A.A., Ehsani M.R., Yousefi R., Haertl T., Chobert J.-M., Razavi S.H., Thenrich R., Balalaie S., Ebadi S.A., Pourtakdoost S., and Niasari-Naslaji A., 2010.** Improvement of the antimicrobial and antioxidant activities of camel and bovine whey proteins by limited proteolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58: 3297-3302.

**Salami M., Yousefi R., Ehsani M.R., Razavi H., Chobert J.M., Haertle T., Saboury A.A., Atri M.S., Niasari-Naslaji A., and Moosavi-Movahedi A.A., 2009.** Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel  $\alpha$  lactalbumin: Possible significance for use in infant formula. *Int. Dairy J.* 19:518-523.

**Sanogo M., 1994.** Créer une petite fromagerie : Expériences et procédés. Paris, France : GRET. 96p.

**Saraiva M.A.F., Nes L.F., Baracat-Peraira M.C., Queiroz V., Mantovani H.C., and Moraes C.A., 2014.** Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* PD6.9. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 6(5): 79-87.

**Savadogo A., Ouattara C.A.T., Savadogo P.W., Ouattara A.S., Barro N., and Traore A.S., 2004.** Microorganisms involved in Fulani traditional fermented milk in Burkina Faso. *Pak. J. Nutri.* 3(2): 134-139.

**Sawaya W.N., Khalil J.K., Al-Shalhat A., and Al-Mohamed H., 1984.** Chemical composition and nutrition quality of camel milk. *J. Food Sc.*, 39: 744-747.

**Sboui A., Arroum S., Hayek N., Mekrazi H., and Khorchani T., 2015.** Etude comparative de l'effet de la pasteurisation et de l'ébullition sur la composition physicochimique des laits camelin et bovin. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, JS-INAT*. 18: 943-947.

**Sboui A., El-Hatmi H., Khorchani T., Djegham M., et Belhadj O., 2008.** Variations de la composition physicochimique du lait camelin du Sud tunisien sous l'effet du traitement

thermique et de la congélation : comparaison avec le lait bovin. *Microbiol. Hyg.* 20(57): 52-57.

**Sboui A., Khorchani T., Agrebi A., Djegham M., Mokni M., and Belhadj O., 2012.** Antidiabetic effect of camel milk on alloxan-induced diabetic dogs. *Afr J Microbiol Res.* 6 :4023–4029.

**Sboui A., Khorchani T., Djegham M., et Belhadj O., 2009.** Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien; variation du pH et de l'acidité à différentes températures. *Afrique Science* 05(2): 293 – 304.

**Schultz M.M., Hansen L.B., Steuernalgel G.R., and Kuck A.L., 1990.** Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *J.Dairy Sci.* **73**: 484-493.

**Serrano J., Goni I., and Saura-Calixto F., 2007.** Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Res. Int.* 40: 15-21.

**Shammet K.M., Brown R.J., McMahon D.J., 1992.** Proteolytic activity of some milk-clotting enzymes on  $\kappa$ -Casein. *Journal of Dairy Science*, 75(6): 1373-1379.

**Sharma P., Dube D., Singh A., Mishra B., Singh N., Sinha M., Dey S., Kaur P., Mitra D.K., Sharma S., and Singh T.P., 2011.** Structural Basis of Recognition of Pathogen-associated Molecular Patterns and Inhibition of Proinflammatory Cytokines by Camel Peptidoglycan Recognition Protein. *The journal of biological chemistry* . 286 (18): 16208–16217.

**Sharma P., Dube D., Yadav S.P, Sinha M., Kaur P., Sharma S., and Singh T.P., 2014.** Structural and functional studies of mammalian peptidoglycan recognition protein, PGRP-S. *Journal of the Indian Institute of Science.* 94(1): 109-117.

**Sharma S., Singh A.K., Kaushik S., Sinha M., Singh R.P., Sharma P., Sirohi H., Kaur P., Singh T.P., 2013.** Lactoperoxidase: Structural insights into the function, ligand binding and inhibition. *Int J Biochem Mol Biol.* 4(3):108-128.

**Shori A.B., 2012.** Comparative study of chemical composition, isolation and identification of micro-flora in traditional fermented camel milk products: Gariss, Suusac, and Shubat. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 11: 79–88.

**Shori A.B., 2013.** Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. *Journal of Taibah University for Science*. 7: 202–208.

**Shori A.B., and Baba A.S., 2014.** Comparative antioxidant activity, proteolysis and in vitro  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition of *Allium sativum*-yogurts made from cow and camel milk. *Journal of Saudi Chemical Society*. 18: 456–463.

**Shuiep E.S., El Zubeir I.E.M., El Owni O.A.O., and Musa H.H., 2008.** Influence of season and management on composition of raw camel (*Camelus dromedarius*) milk in Khartoum state, Sudan. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 8 (1): 101-106.

**Shuiep E.S., Jäger S., El Zubeir I.E.M., Yousif I.A., and Erhardt G., 2015.** Isolation and characterization of three camel (*Camelus dromedarius*) milk casein fractions. University of Khartoum. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Production*. (6)1: 43-50.

**Si Ahmed Z.S., Almi D., Senoussi C., Boudjenah H.S., and Mati A., 2013.** Separation and characterization of major milk proteins from Algerian Dromedary (*Camelus dromedarius*). *Emir. J. Food Agric*. 25 (4): 283-290.

**Siboukeur O., 2007.** Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique El-Harrach - Alger (Algérie); 135 pages.

**Siboukeur O., 2011.** Potentiel nutritif du lait collecté localement à partir de chamelle « Population Sahraoui » : un atout pour la sécurité alimentaire de la population locale. « L'effet du Changement Climatique sur l'élevage et la gestion durable des parcours dans les zones arides et semi-arides du Maghreb » Université KASDI MERBAH - Ouargla- Algérie, du 21 au 24 Novembre 2011. 66–74.

**Soleymanzadeh N., Mirdamadi S., and Kianirad M., 2016.** Antioxidant activity of camel and bovine milk fermented by lactic acid bacteria isolated from traditional fermented camel milk (Chal). *Dairy Science and Technology*. 96: 443-457.

**Srikanth R., Siddartha G., Reddy C.H.S.S.S., Harish B.S., Ramaiah M.J., and Uppuluri K.B., 2015.** Antioxidant and anti-inflammatory levan produced from *Acetobacter xylinum* NCIM2526 and its statistical optimization. *Carbohydrate Polymers*. 123: 8–16.

**Stahl T., Sallmann H.P., Duehlmeier R. and Wernery., 2006.** Selected vitamins and fatty acid patterns in dromedary milk and colostrum. *Journal of camel practice and research*. **13(1)**: 53-57.

**Tamime A.Y., Wszolek M., Bozanic R., and Özer B., 2011.** Popular ovine and caprine fermented milks. *Small Ruminant Research*. 101: 2-16.

**Tosun M., Ercisli S., Sengul M., Ozer H., Polat T., and Ozturk E., 2009.** Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia* species from Turkey. *Biol Res*. 42: 175-181.

**Tourette I., 2002.** Etude de l'influence des pratiques de traite et d'élevage sur la qualité sanitaire du lait de chamelle en république islamique de Mauritanie. Thèse de Doctorat en vétérinaire, l'école nationale vétérinaire de Toulouse, France.

**Tourette I., Messad S. et Faye B. 2003.** Interaction entre les pratiques de la traite et la qualité sanitaires du lait de chamelle en Mauritanie. « lait de chamelle pour l'Afrique ». Atelier sur la filière laitière camelin en Afrique. Comptes rendus de la FAO, Niamey. pp.61-70.

**Ueda T., Sakamaki K., Kuroki T., Yano I., and Nagata S., 1997.** Molecular cloning and characterization of the chromosomal gene for human lactoperoxidase . *European Journal of Biochemistry*. 243: 32-41 .

**Ueno H., Yamakura S., Arastoo R.S., Oshima T., and Kokubo K., 2014.** Systematic evaluation and mechanistic investigation of antioxidant activity of Fullerenols using  $\beta$ -Carotene bleaching assay. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Nanomaterials*. 7 pages.

**Veloso A.C.A., Teixeira N., and Ferreira I.M.P.L.V.O., 2002.** Separation and quantification of the major casein fractions by reverse-phase high-performance liquid chromatography and urea–polyacrylamide gel electrophoresis, detection of milk adulterations. *Journal of Chromatography A*, 967: 209-218.

**Vierling E., 2008.** Aliments et boissons: filières et produits. Edition doin CRDP d'Aquitaine, 3ème édition. Paris. 277 pages.

**Vignola C.L., 2002.** Science et technologie du lait. Presses internationale polytechnique Montréal, Québec. 600 pages.

**Vignolo G., Palacios J., Farias M.E., Sesma F., Schillinger U., Holzapfel W., and Oliver G. 2000.** Combined effect of bacteriocins on the survival of various *Listeria* species in broth and meat system. *Curr. Microbiol.* 41(6): 410-416.

**Virtanen T., Pihlanto A., Akkanen S., and Korhonen H., 2007.** Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology.* 102: 106–115.

**Wangoh J., Farah Z. and Puhan Z., 1998.** Iso-electric focusing of camel milk proteins. *Int. Dairy J.,* 8, 617-621.

**Widyastuti Y., Rohmatussolihat and Febrisiantosa., 2014.** The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences,* (5): 435-442.

**Yagil R., 1990.** Camel milk: A Rev. *Int. J. Anim. Sci.,* 2: 81-99.

**Yagil R., and Etzion Z., 1980.** Effect of drought condition on the quality of camel milk. *Journal of Dairy Research.* 47(2):159-166.

**Yassin M.H., Soliman M.M., Mostafa S.A., and Ali H.A., 2015.** Antimicrobial effects of camel milk against some bacterial pathogens. *Journal of Food and Nutrition Research.* 3 (3): 162-168.

**Yateem A., Balba M.T., Al-Surrayai T., Al-Mutairi B., and Al-Daher R., 2008.** Isolation of lactic acid acteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Science,* 1–6.

**Younan M., Kenyanjui M., Wangoh J., Nganga A., Farah Z., Wasem A., Galetti V., and Bornstein S., 2003.** Camel milk hygiene and mastitis: Examples from Kenya and Somalia. « Lait de chamelle pour l’Afrique ». Atelier sur la filière laitière camelin en Afrique. *Comptes rendus de la FAO,* Niamey. pp. 85-91.

**Zagorec M., et Christieans S., 2013.** Flores protectrices pour la conservation des aliments. Edition Quae RD 10, 78026 Versailles Cidex. 160P.

**Zhang X.Y., Zhao L., Jiang L., Dong M.L., and Ren F.Z., 2008.** The antimicrobial activity of donkey milk and its microflora changes during storage. Food Control 19: 1191–1195.

**Zhou D., Zhu B., Qiao L., Wu H., Li D., Yang J., and Murata Y., 2012.** In vitro antioxidant activity of enzymatic hydrolysates prepared from abalone (*Haliotis discus hannai* Ino) viscera. Food and Bioproducts Process 90: 148-154.



# *ANNEXES*

## **Annexes**

### **Annexe 01** : Le dosage de l'acidité Dornic (Vignola, 2002)

La solution de soude utilisée pour titrer l'acidité Dornic est préparée par dilution de 4,44 g de soude dans 1 litre d'eau distillée, ce qui nous donne une solution de soude de concentration N/9. Un échantillon de 10 ml de lait est placé dans un bécher en présence de trois gouttes de phénolphtaléine à 1% ; la soude Dornic est ajoutée à la burette graduée à 0,1 ml jusqu'à obtenir une coloration rose persistante du contenu du bécher. Le nombre de degrés Dornic correspond alors au nombre de dixième de ml de soude Dornic qu'il aura fallu ajouter pour obtenir le virage de l'indicateur coloré.

### **Annexe 02** : La détermination de la matière grasse selon la méthode acido butyrométrique de GERBER :

Mesurer 10 mL d'acide sulfurique concentré (densité 20°C : 1,820) et les introduire dans un butyromètre sec. Prélever 11 ml de lait (doucelement homogénéisé avec une baguette de verre) avec la pipette spéciale et les verser dans le butyromètre sans mouiller le col de celui-ci, de façon qu'il forme une couche au-dessus de l'acide, ajouter 1 mL d'alcool isoamylique (densité 20°C : 0,813). Bien boucher le butyromètre avec un bouchon sec sans perturber son contenu.

Envelopper le butyromètre dans un chiffon, puis, en maintenant le bouchon, le retourner lentement 3 ou 4 fois ; agiter alors énergiquement pour dissoudre complètement la caséine. Le mélange brunit, s'échauffe vers 80°C et s'homogénéise.

Centrifuger aussitôt en plaçant le butyromètre dans la centrifugeuse à butyromètres, bouchons vers la périphérie, pendant 5 minutes. Si la centrifugation ne peut pas avoir lieu immédiatement après l'homogénéisation, maintenir le butyromètre dans un bain thermostaté à  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  pour que la matière grasse reste en fusion. Réchauffer le butyromètre en le plaçant, bouchon vers le bas, dans un bain thermostaté à  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  quelques minutes. S'assurer que la colonne grasse est entièrement dans l'échelle graduée, si non agir sur le bouchon en conséquence. Repérer la position inférieure de la colonne grasse, soit x, lire aussitôt la position supérieure, soit x'.

Vérifier que la position du niveau inférieur n'a pas variée. Sinon, réajuster et refaire une nouvelle lecture de  $x'$ . Retenir  $x'$  lorsque deux lectures consécutives sont identiques. Si l'on n'a pas réussi ceci en 10 seconde, replonger le butyromètre dans le bain thermostaté et refaire un cycle de lecture après 2 à 3 minutes. La graduation est en g de matière grasse pour 100 mL de lait,  $x' - x$  représente la valeur recherchée (Konuspayeva, 2007).

**Annexe 03 :** Détermination du taux de protéines par la méthode colorimétrique de pyrogallol red-molybdate. (Citée par Orsonneau et al., 1989).

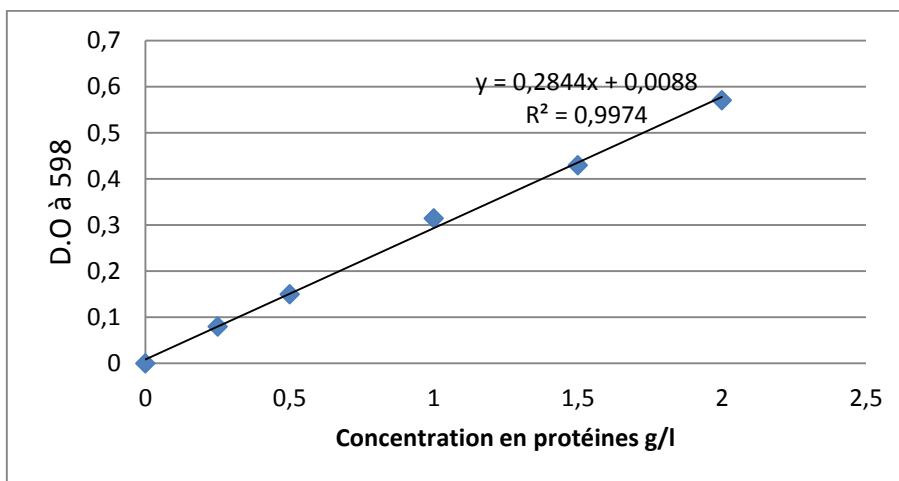
Composition du réactif (Prêt à l'emploi par le SPINREACT) :

- Rouge de Pyrogallol ..... 50 mmol/l.
- Molybdate de sodium ..... 0.04 mmol/l.

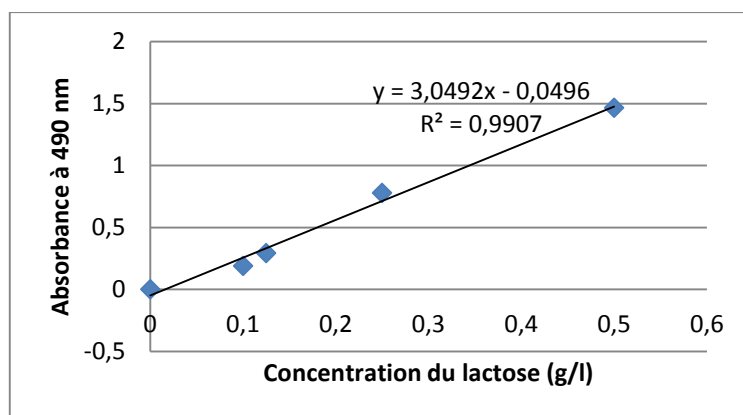
1. Traçage de la courbe d'étalonnage :

- Ajouter 1 ml de réactif avec 20  $\mu$ l de l'échantillon ou de la solution de BSA.
- Mixer et laisser 10 mn à la température ambiante.
- Lire les D.O à 598 nm.
- Tracer la courbe d'étalonnage  $D.O = f(C)$ .

Déterminer la concentration de la protéine inconnue X par le graphe.



Courbe d'étalonnage de l'albumine sérique bovine (BSA) pour dosage des protéines par la méthode de pyrogallol red-molybdate.

**Annexe 04** : Courbe d'étalonnage du lactose.**Annexe 05** : Gels et tampons de l'étude électrophorétique**A- Préparation et composition des gels**

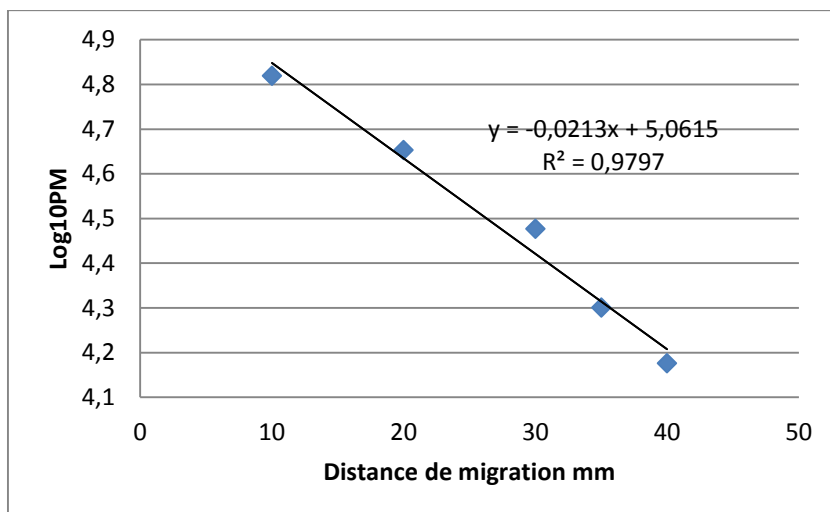
1- Gel de séparation (S)		
SDS-PAGE	Urée-PAGE	Native-PAGE
<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel séparation (S)</b> Tris : 18.15 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=15%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 4 ml Tampon de gel (S) : 1.80 ml H <sub>2</sub> O : 2.82 ml SDS (10%) : 80 µl PSA : 40 µl TEMED : 24 µl	<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g Urée : 24 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel séparation (S)</b> Tris : 18.15 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=15%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 4 ml Tampon (S) : 1.80 ml H <sub>2</sub> O : 2.82 ml PSA : 40 µl TEMED : 24 µl	<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel séparation (S)</b> Tris : 18.15 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=12%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 2.86 ml Tampon (S) : 1.05 ml H <sub>2</sub> O : 2.38 ml PSA : 40 µl TEMED : 24 µl

<b>2- Gel de concentration (C)</b>		
<b>SDS-PAGE</b>	<b>Urée-PAGE</b>	<b>Native-PAGE</b>
<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel concentration (C)</b> Tris : 6 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=4.8%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 292 µl Tampon (C) : 117 µl H <sub>2</sub> O : 1.33 ml SDS (10%) : 17.5 µl PSA : 40 µl TEMED : 14 µl	<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g Urée : 24 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel concentration (C)</b> Tris : 6 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=4.8%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 292 µl Tampon (C) : 117 µl H <sub>2</sub> O : 1.33 ml PSA : 40 µl TEMED : 14 µl	<b>Solution d'acrylamide (A)</b> Acrylamide : 37.5 g Bis-acrylamide : 1 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Tampon de gel concentration (C)</b> Tris : 6 g H <sub>2</sub> O : 100 ml <b>Gel (T=4.8%, C= 2.7%)</b> Solution (A) : 292 µl Tampon (C) : 117 µl H <sub>2</sub> O : 1.33 ml PSA : 40 µl TEMED : 14 µl

Persulfate d'Ammonium (PSA)

## B- Préparation et composition des Tampons

<b>1- Tampon d'électrode</b>		
<b>SDS-PAGE</b>	<b>Urée-PAGE</b>	<b>Native-PAGE</b>
Tris : 1.2g Glycine : 5.76g SDS : 0.2g H <sub>2</sub> O : 200 ml	Tris : 0.48 g Glycine : 0.30 g H <sub>2</sub> O : 200 ml	Tris : 0.2 g Glycine : 1.2 g H <sub>2</sub> O : 200 ml
<b>2- Tampon de dépôt d'échantillon</b>		
<b>SDS-PAGE</b>	<b>Urée-PAGE</b>	<b>Native-PAGE</b>
Tris : 6.0g SDS : 1g 2-mercaptoethanol: 1.56g Bleu de bromophenol 0.01% H <sub>2</sub> O : 100 ml	Tris : 2.5 g EDTA: 73 mg 2-mercaptoethanol: 1.56g Bleu de bromophenol 0.01% H <sub>2</sub> O : 100 ml	Tris : 0.91 g Glycérol 50% : 28.5 ml Bleu de bromophenol 0.01% H <sub>2</sub> O : 100 ml



**Courbe d'étalonnage du SDS-PAGE, en utilisant un marqueur de poids moléculaire d'une gamme compris entre 10 et 200 kDa (Kit de Bio Basic Inc, Canada)**

**Annexe 06 :** Composition des milieux de culture

**Milieu PCA** (Leyral et Vierling, 2007)

Tryptone	5 g
Extrait de levure	2.5 g
Glucose	1 g
Agar	9 g
Eau distillée	1000 ml
pH final 7.2.	

**Milieu VRBL** (Marchal et al., 1987):

Extrait de levure	3 g
Peptone	7 g
Désoxycholate de sodium	0.5 g
Lactose	10 g
NaCl	5 g
Mélange de sels biliaries	1.5 g
Rouge neutre	30 mg
Cristal violet	2 mg
Agar	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH final 7.4.	

**Milieu VRBG** (Branger et al., 2007)

Extrait de levure	3 g
Peptone pepsique de viande	7 g
Sels biliaires	1.5 g
Glucose	10 g
NaCl	5g
Rouge neutre	30 mg
Cristal violet	2 mg
Agar	13 g
Eau distillée	1000 ml
pH final 7.4.	

**Composition et préparation de milieu de Baird-Parker** (Marchal et al., 1987):

Le milieu de base (commercialisé sous forme déshydratée ou prête à l'emploi) a la formule (en g/l d'eau distillée) suivante :

Peptone trypsine de caséine	10
Extrait de viande	5
Extrait de levure	2
Pyruvate de sodium	10
Glycocolle	12
Chlorure de lithium	5
Agar	14
Eau distillée	1000 ml
pH final 7.2.	

Porter à l'ébullition en agitant jusqu'à dissolution complète, répartir en flacons et autoclaver pendant 20 min à 120°C.

Pour préparer le milieu complet, faire fondre le milieu de base au bain-marie bouillant. Refroidir à 50°C. Ajouter dans chaque flacon les solutions stériles suivantes, commercialisées en ampoules :

Tellurite de potassium à 1% (agent sélectif)	1 ml
Emulsion de jaune d'œuf à 10% en eau physiologique	5 ml
Sulfaméthazine à 0.2% (inhibiteur de <i>Proteus</i> )	2.5 ml

**Milieu de viande-foie sulfité (VF)** (Bonnefoy et al., 2002) :

Peptone trypsine	10g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	6g
Chlorure de sodium	5g
Glucose	2g
Chlorhydrate de cystéine	0.3g
Amidon soluble	5g
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

pH final 7.2.

**Milieu eau peptonée tamponnée** (Marchal et al., 1987)

Extrait de viande	10 g
Peptone	20 g
NaCl	6 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	9 g
Eau distillée	1000 ml

pH final 6.9.

**Bouillon au sélénite de sodium (SFB)** (Marchal et al., 1987)

Peptone de caséine	5 g
Cystine	10 mg
Lactose	4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 g
Sélénite de sodium	4 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7. Stériliser par filtration.



**Milieu Hektoen** (Marchal et al., 1987)

Extrait de levures	3 g
Peptone	12g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Salicine	2 g
Sels biliaires	9 g
Hyposulfite de sodium	5 g
Citrate de fer ammoniacal	1.5 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.6 g
Gélose	13.5 g
Bleu de bromothymol	64 mg
Fuchsine acide	40 mg
Eau distillée	1000 ml
pH = 7,6	

**Milieu de Man, Rogosa et Sharpe** (MRS) (Marchal et al., 1987) :

Peptone trypsine de caséine	15 g
Extrait de viande	10 g
Extrait de levure	5 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate bi-ammonique	2 g
Phosphate bipotassique	2.4 g
Tween 80	1 ml
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0.2 g
MnSO <sub>4</sub> , 4 H <sub>2</sub> O	0.05 g
Glucose	20 g
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml
pH final 6.5.	

**Milieu M17** (Dworkin et al., 2006):

Peptone phytone	5 g
Polypeptone	5 g
Extrait de viande	2.5 g

Extrait de levure	5 g
Acétate de sodium	5 g
Lactose	5 g
Acide Ascorbique	0.5 g
B-Disodium glycerophosphate	19 g
MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O (1 M)	1.0 ml
Agar	10 g
Eau distillée	1000 ml
pH final 7.1.	

# *PUBLICATIONS*