

## CONTRIBUTION A L'AMELIORATION DE L'APTITUDE FROMAGERE DU LAIT CAMELIN : ETUDE DES CONDITIONS DE CONSERVATION DES ENZYMES GASTRIQUES CAMELINES

N. MAHBOUB<sup>1\*</sup>, A. TELLI<sup>1</sup>, O. SIBOUKEUR<sup>1</sup>, S. BOUDJENAH<sup>1</sup>, N. SLIMANI<sup>2</sup>  
et A. MATI<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides, Université Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla 30000 (Algérie).*

<sup>2</sup> *Laboratoire de bioressources sahariennes préservation et valorisation, Université Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla 30000 (Algérie).*

<sup>3</sup> *Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou 15000 (Algérie).*

\*E-mail : [bioch\\_nasma@yahoo.fr](mailto:bioch_nasma@yahoo.fr)

**RÉSUMÉ :** Dans la présente étude, nous avons réalisé une extraction des enzymes coagulants (ECD) à partir de caillettes entières de dromadaires adultes (entre 8 et 9 ans) et étudié l'effet de quatre modes de conservation de ces extraits dans le but de rechercher la méthode optimale permettant de préserver leurs activités, coagulante et protéolytique. Le lait camelin utilisé dans ce travail présente un pH, une densité et une acidité titrable, égales respectivement à  $6,65 \pm 0,13$ ,  $1,027 \pm 0$  et  $21,3 \pm 1,44$ . La teneur en protéines des extraits coagulants gastriques des dromadaires est égale à  $735 \mu\text{g/ml}$  avec un rendement d'extraction de 3%. Les résultats obtenus montrent que les ECD congelés pendant 14 semaines, présentaient les meilleurs résultats tant sur l'activité coagulante que protéolytique soient  $0,128 \text{ UP}$  et une densité optique de  $0,446$  respectivement.

**MOTS-CLÉS :** lait de chamelle, activité coagulante, activité protéolytique, caillette, conservation.

**ABSTRACT:** In this study, we performed an extraction of coagulant enzymes (ECD) from abomasum whole camel adults (between 8 and 9 years) and studied the effect of four methods of preservation of these extracts in order to seek optimal method for preserving their activities, and proteolytic coagulant. The camel milk used in this work has a pH, density and titratable acidity, respectively equal to  $6.65 \pm 0.13$ ,  $1.027 \pm 0$  and  $21.3 \pm 1.44$ . The protein content of extracts of gastric coagulants camel is equal to  $735 \text{ g/ml}$  with an extraction yield of 3%. The results show that EDC frozen for 14 weeks, showed the best results on both the coagulant that proteolytic activity is  $0.128 \text{ UP}$  and an optical density of  $0.446$  respectively.

**KEYWORDS:** camel milk, coagulant activity, proteolytic activity, abomasum, conservation.

### 1. Introduction

Le dromadaire occupe une place de choix dans les zones arides et semi arides, en raison de son excellente adaptation aux mauvaises conditions de vie, tels que le manque d'eau et de pâturage ; mais malgré tout cela, il est apte à produire un lait de bonne qualité.

Le lait de chamelle constitue la principale ressource alimentaire pour les éleveurs de dromadaires au Sahara, il ne semble pas différent de celui des autres animaux domestiques et constitue un très bon apport en minéraux pour le chamelon et le consommateur [1]. La transformation du lait de dromadaire en fromage est réputée difficile, voire impossible [2]. Par ailleurs, des essais ont été conduits dans le but de produire du fromage à partir du lait de chamelle. Les résultats obtenus confirment que ce lait peut être transformé [3].

Récemment, [4] ont montré que la substitution des enzymes habituellement utilisées en fromagerie, par des protéases gastriques issues de caillettes de dromadaires adultes et donc à dominance pepsine, était concluante.

Toutefois, les conditions de conservation de l'activité enzymatique de ces protéases n'a pas fait jusqu'à l'heure actuelle, l'objet de travaux approfondis. C'est dans cet esprit que nous nous sommes proposé d'entreprendre la présente étude qui vise principalement à déterminer les conditions optimales de conservation de ces extraits.

## 2. Matériel et méthodes

Des caillettes, prélevées au niveau de l'abattoir de Ouargla, à partir des estomacs de dromadaires âgés de 8 à 9 ans, sont acheminées au laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi- arides (LPEZASA) de l'université KASDI Merbah de Ouargla, où elles sont lavées à l'eau du robinet, dégraissées, découpées en lanières puis congelées à -18°C.

Du lait de mélange, prélevé tôt le matin, à partir de chamelles de la population "Sahraoui" vivant en élevage extensif dans les parcours de la wilaya d'El-oued a été également utilisé dans cette étude. Les échantillons de lait sont acheminés dans une glacière contenant un bloc réfrigérant au laboratoire de (LPEZASA). Une partie est aussitôt soumise au test de la réductase, aux mesures du pH, de la densité et de l'acidité titrable.

Du lait reconstitué à partir d'une poudre de lait écrémé type "Low Heat" est utilisé. Il provient de la firme "Danone". Il est utilisé comme substrat standard afin de mesurer le temps de coagulation selon la formule de BERRIDGE.

Les caséines camelines lyophilisées, sont isolées à partir du lait camelin frais selon le protocole expérimental proposé par [5].

L'extraction des enzymes est réalisée selon le protocole préconisé par [6]. La conservation se fait selon quatre modes de conservation : la température ambiante (à 20°C), la réfrigération (à +4°C), la congélation (à -20°C) et la lyophilisation. La détermination du taux de protéines totales des ECD est réalisée par la méthode de LOWRY.

L'activité coagulante des ECD peut être également exprimée en "force coagulante de SOXHLET" (F), selon la relation suivante :  $F = UP / 0,0045$  [7].

Un substrat caséinique à 2 % (P/V) est préparé en utilisant les caséines camelines lyophilisées additionnées d'eau distillée.

Par ailleurs, la mesure de l'activité protéolytique des ECD est fondée sur l'intensité de la protéolyse des caséines camelines en solution sous l'action enzymatique de ces extraits [8]. Le résultat de cette protéolyse est la libération de peptides de faible poids moléculaire. Ces derniers restent solubles après l'ajout de l'acide trichloracétique (TCA) à 12 % qui est utilisé afin de bloquer la réaction enzymatique ; la quantité de ces peptides est mesurée par leur absorbance à 280 nm en utilisant le spectrophotomètre UV-visible. La concentration en peptides du filtrat obtenu est proportionnelle à l'activité protéolytique des extraits coagulants de dromadaire (ECD).

## Analyses statistiques

L'analyse de la variance est réalisée avec le logiciel STATI\_TCF et l'Analyse en Composantes Principales (ACP) sont réalisées avec le logiciel xl-stat.

## 3. Résultats et discussions

### 3. 1. Qualité microbiologique du lait camelin : test de réductase

La durée de décoloration du bleu de méthylène des échantillons de lait étudiés est supérieure à 4 heures. On peut dire qu'ils sont de bonne qualité bactériologique [9, 10]. Ils contiennent entre  $10^5$  à  $2.10^5$  germes /ml [10]. Le lait de chamelle caractérisé par sa richesse en lysozyme et en vitamine C, est naturellement protégé contre les attaques extérieures. En plus, le milieu naturel du dromadaire, caractérisé par de fortes insulations, des températures élevées et de faibles humidités relatives, limite le développement des microorganismes [11].

### 3. 2. Caractéristiques physico-chimiques du lait camelin

Le tableau I résume les principaux résultats.

**Tableau I : Analyses physiques des échantillons du lait camelin**

Paramètres physiques	moyenne	Ecart-type
pH (à 20 °C)	6,65	± 0.132
Densité	1,027	± 0.0066
Acidité titrable °D	21,3	± 1.44

Le pH du lait est de l'ordre de  $6,65 \pm 0,132$ . Ce lait est légèrement acide en comparaison avec le lait bovin (pH=6,6 ; [12]) et plus acide que le lait humain (pH=7,0 ; [13]).

Le pH est du en grande partie aux groupements basiques ionisables et acides dissociables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphorique et citrique [14].

Par ailleurs selon [15], l'acidité pourrait être expliquée par une grande richesse en vitamine C du lait camelin, de l'ordre de 50 mg/l [16]. En parallèle, [17] trouvent que la teneur de vitamine C du lait camelin représente trois fois d'environ plus grande que ceux du lait bovin avec une valeur de 37,4 mg/l, par contre est deux fois pour [18].

La densité des échantillons de lait est égale à  $1,027 \pm 0,006$ . En comparaison avec le lait de vache, de bufflesse et de mouton, le lait de chamelle possède une faible densité [19]. Le lait de dromadaire est en effet, pauvre en matière sèche totale, en matière protéique et surtout en caséines [20].

L'acidité titrable du lait camelin collecté à partir de la traite de matin est égale à  $21,3 \pm 1,44$  D° (tab I). L'acidité d'un lait frais immédiatement après la traite varie de 1,5 à 1,7g d'acide lactique par litre (de 15 à 17 D°). Cette acidité provient des protéines, des phosphates et du CO<sub>2</sub> dissous essentiellement [21].

Le lait camelin caractérisé par un effet tampon plus élevé par rapport au lait bovin, permet d'expliquer l'absence de relation directe entre le pH et l'acidité titrable [22].

### 3. 3. Caractérisation des extraits coagulants

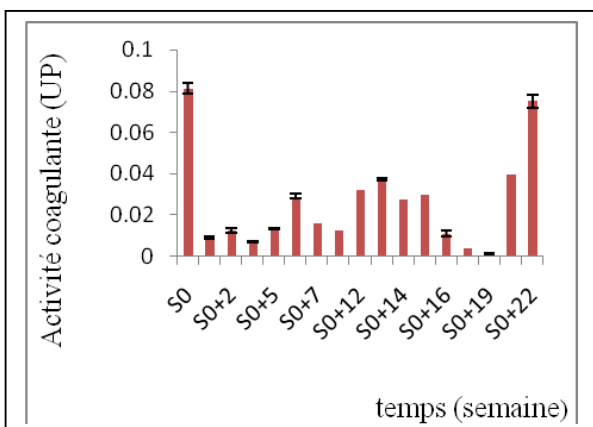
#### 3.3.1. Activité coagulante

Le rendement d'extraction des enzymes à partir des caillettes camelines est égal à 3 % environ. La teneur en protéines des ECD est égale à 735 µg/ ml.

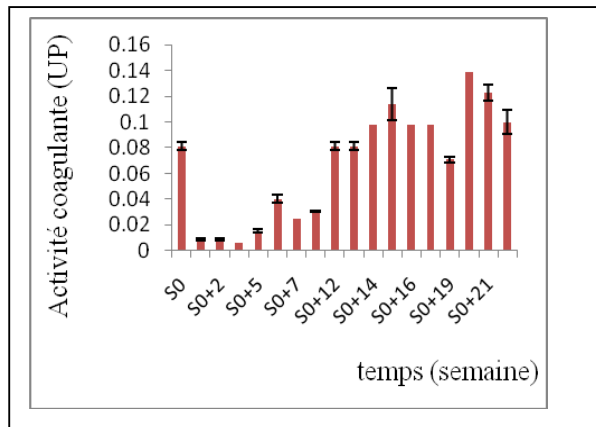
L'analyse de variance (tableau II), montre que le mode de conservation influe d'une façon très hautement significative (THS) et la période de conservation d'une façon hautement significative (HS) sur l'activité coagulante des lots d'ECD.

Concernant l'évolution de l'activité coagulante des lots d'ECD, trois périodes d'activité semblent se dégager en fonction de la température de l'air au moment de l'analyse (figures 1, 2, 3 et 4).

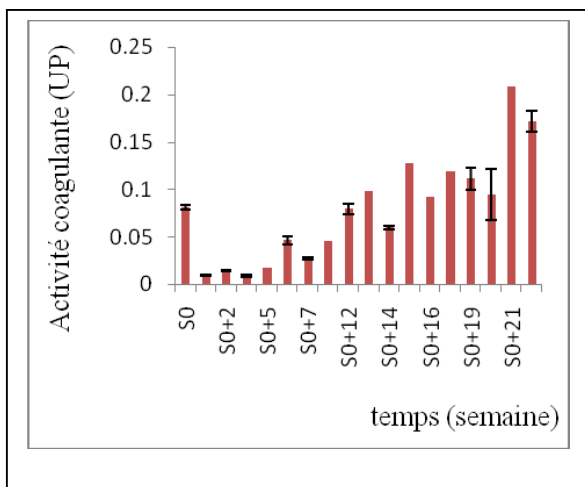
- la première période s'étalant entre  $S_0$  et  $S_0 + 7$  où la température était de 15 à 20°C environ, sachant que  $S_0$  c'est la semaine de l'extraction enzymatique;
- la deuxième période s'étalant entre  $S_0 + 8$  et  $S_0 + 17$  où la température avoisinait les 30 °C ;
- la troisième période s'étalant entre  $S_0 + 18$  et  $S_0 + 23$  où la température se situait entre 35 et 40°C environ.



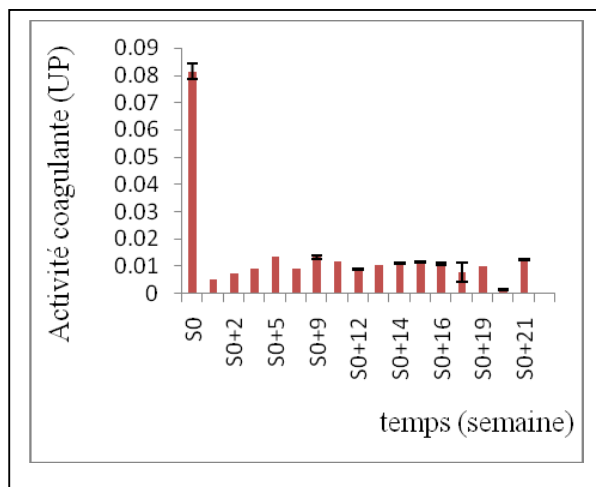
**Figure 1: Activité coagulante (UP) des ECD conservés à température ambiante**



**Figure 2: Activité coagulante (UP) des ECD conservés dans le réfrigérateur**



**Figure 3 : Activité coagulante (UP) des ECD conservés dans le congélateur**



**Figure 4: Activité coagulante (UP) des ECD conservés à l'état lyophilisé**

Les résultats semblent indiquer que la première période, correspond à une période de latence, puisque l'activité coagulante des ECD y est globalement faible.

La congélation semble donner les meilleurs résultats sur le plan de l'activation enzymatique des ECD puisque celle-ci atteint une valeur de 0,208 UP à (S<sub>0</sub> +21) contre 0,1388 UP à (S<sub>0</sub> +20) pour le mode de réfrigération et 0,128 UP à S<sub>0</sub>+15 pour la réfrigération dans la deuxième période.

Ce résultat va dans le même sens que celui de [23] qui ont trouvé une très bonne conservation de la solution de pepsine A bovine et d'une solution de présure commerciale bovine à -28°C avec des valeurs d'UP (0,333 UP à 370 jours) ; (0,298 UP à 410 jours) respectivement.

Parallèlement, il semble que la troisième période présente les meilleurs résultats en matière d'activité coagulante. Ce résultat peut être expliqué par l'activation tardive des

enzymes contenus dans la muqueuse. Les enzymes coagulantes sont en effet sécrétées sous forme inactive (prochymosine et pepsinogène) puis se transforment en milieu acide en chymosine et pepsine respectivement [24].

En conclusion, les résultats obtenus sont de nature à suggérer que la méthode de congélation est plus intéressante sur le plan de l'activité coagulante des ECD issus de caillette par rapport aux autres modes de conservation.

**Tableau II : Analyse de variance multifactorielle sur l'activité coagulante (UP)**

	probabilité	DDL (K1)	Variable résiduel (K2)	F observé	F théorique ( $\alpha = 5\%$ )	F théorique ( $\alpha = 1\%$ )	F théorique ( $\alpha = 0,1\%$ )	signification
Temps de conservation (période)	0,0078	2	23	6,04	3,42	5,66	9,47	HS
Mode de conservation	0,0000	3	23	222,89	3,03	4,77	7,67	THS

HS : hautement significative

THS : très hautement significative

**Tableau III : Interaction entre le mode de conservation et le temps sur le plan Activité coagulante (UP)**

individu	Moyenne	Groupes homogènes				
p2 - Con	202.50	A				
p3 - Con	201.25	A				
p1 - Con	91.15		B			
p1 - Tam	91.15		B			
p1 - Réf	91.15		B			
p1 - Lyo	91.15		B			
p3 - Réf	69.40		B	C		
p2 - Réf	59.58			C		
p3 - Tam	37.88				D	
p2 - Tam	25.27				D	E
p2 - Lyo	14.82				D	E
p3 - Lyo	8.45					E

P1 : première période de conservation  
 P2 : deuxième période de conservation  
 P3 : troisième période de conservation

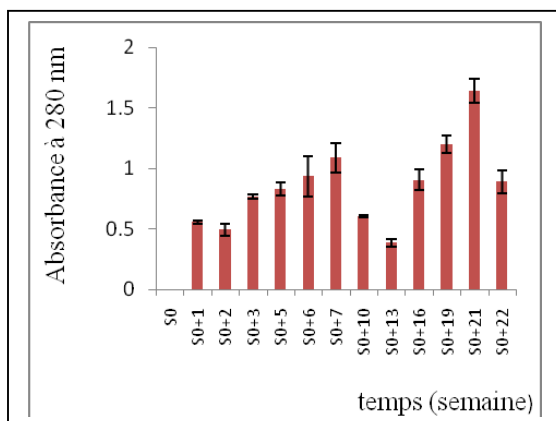
Tam : température ambiante

Lyo : lyophilize

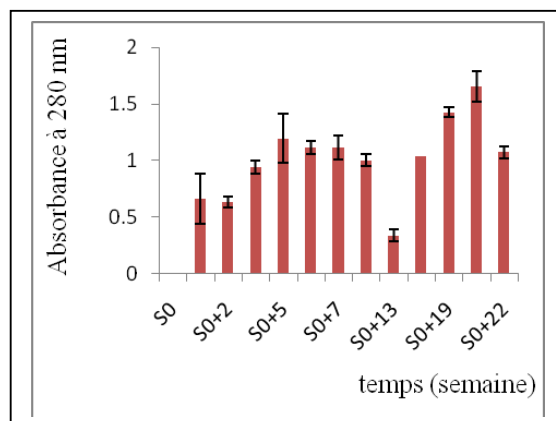
Réf : réfrigérateur

Con : congelé

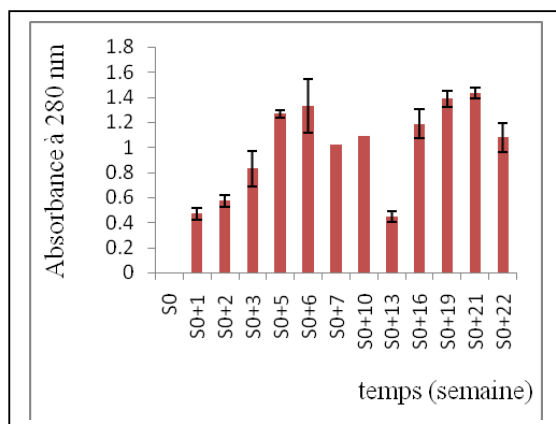
### 3. 3. 2. Activité protéolytique



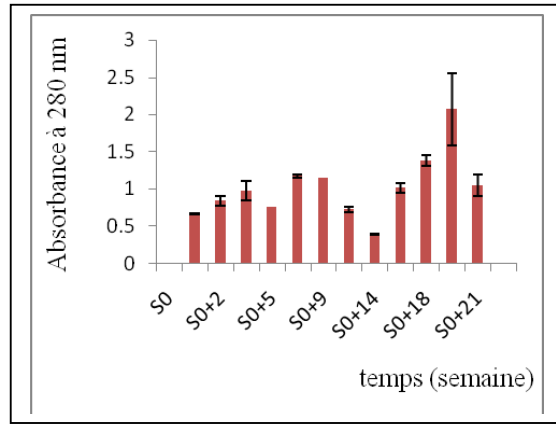
**Figure 5 : Activité protéolytique des ECD conservés à température ambiante**



**Figure 6 : Activité protéolytique des ECD conservés dans le réfrigérateur**



**Figure 7 : Activité protéolytique des ECD conservés dans le congélateur**



**Figure 8 : Activité protéolytique des ECD conservés à l'état lyophilisé**

D'après les figures (5, 6, 7 et 8) et l'analyse de variance (tableau IV), on peut dire que le mode et la période de conservation influent d'une façon très hautement significative (THS) sur l'activité protéolytique des lots d'ECD.

Les ECD conservés dans le réfrigérateur semblent donner les meilleurs résultats sur le plan de l'activité protéolytique puisque celle-ci atteint une valeur de (0,34) à S<sub>0</sub>+13 (deuxième période) contre (0,446) à S<sub>0</sub>+13 pour les ECD conservés dans le congélateur. En conclusion, les résultats obtenus sont de nature à suggérer que la méthode de réfrigération est la plus intéressante sur le plan de l'activité protéolytique des ECD.

**Tableau IV : Analyse de variance multifactorielle sur l'activité protéolytique (AP)**

	probabilité	DDL (K1)	Variable résiduel (K2)	F observé	F théorique ( $\alpha = 5\%$ )	F théorique ( $\alpha = 1\%$ )	F théorique ( $\alpha = 0,1\%$ )	signification
Temps de conservation (période)	0,0000	2	23	307,68	3,42	5,66	9,47	THS
Mode de conservation	0,0000	3	23	20,80	3,03	4,77	7,67	THS

HS : hautement significative

THS : très hautement significative

On peut considérer sur le plan activité coagulante, la valeur de 0,128 UP à S<sub>0</sub>+15 représentés par les ECD congelés puisque selon les analyses de variance, on trouve que les ECD congelés de deuxième et troisième période appartiennent au même groupe (tableau III) sur le plan Activité coagulante, donc on peut prendre l'un à la place de l'autre sans effets néfastes. Par ailleurs, sur le plan d'activité protéolytique, on trouve que les valeurs de deuxième période sur le plan activité protéolytique que ce soit réfrigéré ou congelé appartient au même groupe tableau V. Autrement dit, on peut donc considérer que la congélation c'est la méthode optimale dans la conservation des extraits coagulants.

**Tableau V : Interaction entre le mode de conservation et le temps sur le plan Activité protéolytique (AP)**

Individu	Moyenne	Groupes homogènes						
p3 -Réf	1087.00	A						
p3 - Con	1072.00	A						
p3 - Lyo	1069.00	A						
p3 - Tam	905.50		B					
p1 - Lyo	663.50			C	D			
p1 - Réf	647.50			C	D	E		
p1 - Tam	508.50				D	E	F	
p1 - Con	465.00					E	F	G
p2 - Con	456.50					E	F	G
p2 - Lyo	387.50						F	G
p2 - Tam	384.50						F	G
p2 - Réf	340.50						F	G

P1 : première période de conservation

P2 : deuxième période de conservation

P3 : troisième période de conservation

Tam : température ambiante

Réf : réfrigérateur

Con : congelé

Lyo : lyophilisé

**Tableau VI : Récapitulation des principaux résultats relatifs à la caractérisation des ECD issus de caillette entière et stockés selon les quatre modes de conservation (température ambiante, réfrigération, congélation et lyophilisation)**

Période de conservation	Mode de conservation	UP	semaine	AP	semaine
deuxième période	Température ambiante	0,0374	S <sub>0</sub> +13	0,384	S <sub>0</sub> +13
	Réfrigération	0,1136	S <sub>0</sub> +15	0,34	S <sub>0</sub> +13
	Congélation	0,128	S <sub>0</sub> +15	0,446	S <sub>0</sub> +13
	Lyophilisation	0,0134	S <sub>0</sub> +9	0,391	S <sub>0</sub> +14
Troisième période	Température ambiante	0,075	S <sub>0</sub> +22	0,889	S <sub>0</sub> +22
	Réfrigération	0,1388	S <sub>0</sub> +20	1,073	S <sub>0</sub> +22
	Congélation	0,208	S <sub>0</sub> +21	1,078	S <sub>0</sub> +22
	Lyophilisation	0,0124	S <sub>0</sub> +21	1,048	S <sub>0</sub> +21

#### 4. Conclusion générale

Le lait de dromadaire est réputé pour son inaptitude à la coagulation. A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à l'amélioration de l'aptitude à la coagulation de ce lait en utilisant des enzymes gastriques brutes issues de caillettes de dromadaires adultes (entre 8 et 9 ans).

L'étude visait à rechercher des conditions optimales de conservation des ECD. Pour se faire, différentes conditions de stockage ont été étudiées : à la température ambiante, dans un réfrigérateur, dans un congélateur et lyophilisés. Il s'agissait de déterminer le type de conservation permettant de maintenir une bonne activité coagulante, une activité protéolytique faible et une durée de conservation la plus longue possible.

Les résultats obtenus montrent que la congélation est la méthode la plus intéressante puisque les lots ainsi conservés présentent l'activité coagulante la plus élevée (0,128 UP) et l'activité protéolytique la plus faible (0,446) à S<sub>0</sub> +13. La durée optimale de conservation de ces protéases gastriques est donc égale à environ trois mois et demi.

#### Références

- [1] BENGOUMI M., FAYE B. et TRESSOL J. C. ; Composition minérale du lait de chamelle du sud marocain. In Bonnet P, éd. Dromadaires et chameaux, animaux laitiers. Actes du colloque, 24-26 Octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie. Montpellier, France : cirad, (1998).
- [2] GAST et al, 1969 ; WILSON, 1984 ; YAGIL, 1982 et YAGIL et al, 1984. In KAMOUN M. et RAMET J.P. (1989).
- [3] MOSLAH M. et MEGDICHE F. ; L'élevage camelin en Tunisie. Options méditerranéennes, série Séminaires numéro 2. pp. 33-36 (1989).
- [4] SIBOUKEUR O., MATI A. et HESSAS B. ; Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait cameline (*camelus dromedarius*) : utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. Cahiers agricultures **Vol. 14**, n° 5, septembre-octobre. 5(14), 473-478 (2005).
- [5] SHAMET K.M., BROWN R. J. and Mc MAHON D.J. ; Proteolytic activity of some milk clotting enzymes on caseins. *J. Dairy Sci.* **75**(6) ; 1373-1379 (1992).



- [6] VALLES E. et FURET J. P. ; Étude des caillettes des bovins à l'état ruminant pour l'obtention d'extraits coagulants à base de pepsine bovine. Méthode d'extraction. In le lait : 601-17 (1977).
- [7] BOUDIER J. F. et LUQUET F. M. ; Dictionnaire laitier. Paris : tec & doc-Lavoisier (1981).
- [8] BERGERE J. L. et LENOIR J. ; Les accidents de fromagerie et les défauts des fromages. In « Le fromage» ECK A. et GILLIS J.C. Tec & Doc- Lavoisier. Troisième édition. Paris (1997).
- [9] GUIRAUD J. P. ; Microbiologie alimentaire. Dunod édition. p652 (1998).
- [10] LARPENT J. P. ; Microbiologie du lait et des produits laitiers. Edition Tec et Doc., première édition, Lavoisier. Paris. 584p., (1970).
- [11] SAIDI M., SIBOUKEUR O., OULED BELKHEIR A. et GUERRADI ; Caractéristiques physico-chimiques, composition et qualité bactériologique du lait de chamelle population sahraoui (wilayates de Ouargla et Ghardaïa). Aptitudes technologiques. Premières journées sur la recherche cameline- Ouargla 1999. pp 129-133 (1999).
- [12] YAGIL R., SARAN A. and ETZION Z. ; Camel milk for drinking only. Comp. Biochem. Physiol., **78**, 263-266 (1984).
- [13] KAMOUN M. (1994). Evolution de la composition du lait de dromadaire Durant la lactation : conséquences technologiques. In Bonnet P, éd. (1998). Dromadaires et chameaux, animaux laitiers. Actes du colloque, 24-26 Octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie. Montpellier, France : cirad.
- [14] MATHIEU J. ; Initiation à la physicochimie du lait. Tec & doc-Lavoisier. p 221 (1998).
- [15] YAGIL R., ZAGORSKI O. and VAN CREVELD C. ; Science and Camel's Milk Production. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie (1994).
- [16] RIAD F. (1995). ; La chamelle allaitante face au stress calcique : une fonction endocrine adaptée aux conditions désertiques. Science et changements planétaires. Sécheresse, Volume **16**, numéro 4, octobre-novembre-décembre 2005. pp 261-267.
- [17] FARAH Z., RETTENMAIER R. and ATKINS D. ; Vitamin content of camel milk. Internat. J. Vitam. Nutr. Res., **62**, 30-33 (1992).
- [18] MEHAIA M. A. ; Vitamin C and riboflavin content in camels milk : effects of heat treatments. *Food Chemistry* **50**, 153-155 (1994).
- [19] MOHAMED M.A., MURSAL A.I. and MARTHA LARSSON-RAZNIKIEWICZ ; Separation of a camel milk casein fraction and its relation to the coagulation properties of fresh milk. *Milchwissenschaft* **44**(5) (1989).
- [20] KAMOUN M. ; Un essai de production et de transformation de lait de dromadaire en Tunisie. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Tropicaux, **42**, 113-115 (1989).
- [21] ANONYME ; Analyses mesures préparations. Le laboratoire ITMA. Centre national pédagogique agricole. pp 23 (1980).
- [22] ABU-TARBOUSH H. M. ; Comparision of associative growth and proteolytic activity of yogourt starters in whole milk from camels and cows. J. Dairy Sci., **79**, 366-371 (1996).
- [23] VALLES E. et FURET J.P. ; Etude des caillettes des bovins à l'état ruminant pour l'obtention d'extraits coagulants à base de pepsine bovine. Influence de la race, de l'âge et du sexe sur leur contenu enzymatique. In Le Lait, **61**, 590-618 (1981).
- [24] SIDIKOU I.D., REMY B., HORNICK J.L., LOSSON B., DUQUESNOY N., YENIKOYE A. et BECKERS J. F. ; Le pepsinogène et la prochymosine des bovins : connaissances actuelles, applications et perspectives dans la stratégie de lutte contre les verminoses gastrointestinales. Ann. Méd. Vét., **149**, 213-228 (2005).