

UNIVERSITE KASDI MERBAH- OUARGLA



**Faculté des sciences de la nature et de la vie et
des sciences de la terre et de l'univers**

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option : Biochimie et Analyse des Bioproduits

Par MAHBOUB Nasma

Thème

**Contribution à l'amélioration de la fromageabilité du
lait camelin : Etude des conditions de conservation
des enzymes gastriques camelines (type présure)**

Soutenu publiquement le : 30/11/2009

Devant le jury :

Mr. CHEHMA A.	Maître de conférences	Président	U.K.M. Ouargla
Mr. MATI A.	Professeur d'université	Promoteur	U.M.M.Tizi-Ouzou
Mme. SIBOUKEUR O.	Maître de conférences	Co- promotrice	U.K.M. Ouargla
Mr. OULD EL HADJ M.	Professeur d'université	Examineur	U.K.M. Ouargla
Mme. OULD EL HADJ A.	Maître de conférences	Examinatrice	U.K.M. Ouargla

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage, la persistance et m'a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce travail.

Au terme de ce travail, je tiens particulièrement à exprimer ma profonde gratitude à mon encadreur Monsieur MATI Abderrahmane, professeur à l'université de MOULOUD Mammeri de Tizi Ouzou pour m'avoir donné l'occasion de m'encadrer, je suis infiniment reconnaissante pour sa disponibilité, ses conseils et ses idées malgré ses préoccupations.

Je remercie infiniment ma co-promotrice Madame SIBOUKEUR Oumelkheir, maître de conférences à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (F.S.S.I.) de l'université KASDI Merbah de Ouargla, pour l'honneur qu'elle m'a fait en proposant et dirigeant ce travail, pour son aide, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Je dois également exprimer ma gratitude à :

A Monsieur CHEHMA Abdelmadjid maître de conférences à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (F.S.S.I.) de l'université KASDI Merbah de Ouargla pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider la commission d'examinations de ce mémoire.

Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements à Monsieur OULD EL HADJ Mohamed Didi, professeur au département de Biologie, Université KASDI Merbah pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Que Madame OULD EL HADJ- KHELIL- Aminata maître de conférences à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (F.S.S.I.) de l'université

KASDI Merbah de Ouargla, trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour avoir accepté de participer au jugement de ce mémoire.

J'adresse aussi, mes plus vifs remerciements A :

Monsieur SLIMANI Nouredine, enseignant vacataire à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (F.S.S.I.) de l'université KASDI Merbah de Ouargla, pour son soutien morale, ses précieux conseils.

Madame BOUDJENAH Saliha, maître assistante à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur (F.S.S.I.) de l'université KASDI Merbah de Ouargla, pour sa collaboration et sa gentillesse.

Monsieur CHÂABNA Ahmed Maître Assistant Chargé de Cours à la Faculté des Sciences et Sciences de l'Ingénieur à l'université Kasdi Merbah de Ouargla pour son aide et ses conseils.

Nos remerciements vont également à :

Messieurs : EDDOUD A. ; HANACHI S. et Melle MARFOUA M. pour leurs précieuses aides pour faire les analyses statistiques.

Que le personnel des laboratoires : pédagogique et de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi Arides et laboratoire d'analyse physico-chimiques surtout Mr IDDER Abdelhak ; Mr SAADINE S. ; Mr BEGGARI E.; Mme IDDER S. ; Melle BOUGHABA L. et Houria pour leurs précieuses aides et leurs patience tout au long de l'année pratique.

On ne saura oublier les personnels de la bibliothèque, pour leurs aides.

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

MAHBOUB Nasma

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mon cher père Lakhdar et ma chère mère Khadîdja, source de tendresse et la raison de mon existence, qui méritent tout le respect du monde pour leurs encouragements, leurs soutien et leurs conseils et sans les quels ce mémoire n'aurait pu être fait que Dieu leur accorde une longue vie.

Mon mari Mr SLIMANI Noureddine, pour ses précieux conseils et que Dieu le protège pour moi seulement.

Mes très chères sœurs : Aouatef et son mari Abdelrazak et son petit Abdessamde, Hayat et son mari Sadok et sa petite Ritage, Aïcha et son fiancé Abdelmalek.

Mes très chers frères : Ali et le petit Kheireddine.

Mes amies intimes : TELLI Alia, MARFOUA Mériem, TRABELSI Hafida, MABROUKI Fatiha, ACHOURI Amel.

A toute la première promotion de post graduation option Biochimie et Analyse des Bioproduits d'université KASDI Merbah de Ouargla.

MAHBOUB Nasma

Contribution à l'amélioration de la fromageabilité du lait camelin : Etude des conditions des conservations des enzymes gastriques camelines (type présure)

Résumé

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est un animal particulièrement adapté aux rudes conditions agro-climatiques des régions arides et semi-arides (reference). Il produit un lait de haute valeur nutritionnelle, riche en facteurs anti-microbiens (ce qui augmente naturellement sa durée de vie) mais possède des aptitudes limitées à la transformation en produits dérivés, notamment en fromage qui passe par l'étape clé de coagulation enzymatique. (reference). C'est dans le but de mieux comprendre et d'améliorer cette étape, que cette présente étude est menée en testant, d'une part, l'aptitude à la coagulation du lait camelin en utilisant des enzymes gastriques brutes issues de caillottes (dépourvues ou non de muqueuses) provenant de dromadaires âgés (entre 8 et 9 ans) et, d'autre part, d'essayer de déterminer le mode de conservation le plus approprié pour ces préparations enzymatiques parmi l'entreposage de ces extraits soit à température ambiante (25°C), soit sous forme réfrigéré (à 4°C), soit sous forme congelée (à -20°C) ou enfin sous forme lyophilisée. Parmi les différents modes de conservation testés, nous avons enregistré la plus grande valeur de l'activité coagulante pour les caillotte A (sans muqueuse) après 15 semaines de congélation ($0,277 \pm 0,000$ UP), correspondant à la 2^{ème} période de conservation (entre 8 et 18 semaines). Durant cette période, les enzymes coagulants extraites à partir de caillotte B (avec muqueuse) ont une activité protéolytique la plus faible quand ils sont conservés au réfrigérateur à + 4°C avec une valeur de ($0,34 \pm 0,050$). Ces deux extraits ainsi choisis seraient les plus indiqués pour la transformation fromagère du lait au niveau industriel, particulièrement au niveau de la phase de coagulation. Ce résultat est d'ailleurs confirmé par l'analyse en composante principale (ACP) où les différentes variables étudiées sont fortement corrélées.

Mots clés : *lait de dromadaire, caillotte, extrait enzymatique, conservation, activité coagulante, activité protéolytique.*

Contribution to the improvement of the fromageability of camel milk: Study of the conditions of conservation of the camel gastric enzymes (rennet type)

Summary

The dromedary (*Camelus dromedarius*) is an animal particularly adapted to the hard agro-climatic conditions of the arid and semi-arid areas. It produces a milk of high nutritional value, rich in antimicrobial factors (which naturally increases its life span) but has limited capabilities for processing into products, including cheese, which passes by the key stage of enzymatic coagulation. In order to better understand and improve this stage, that this present study is undertaken while testing, on the one hand, the aptitude for coagulation of camel milk by using the gastric enzymes resulting from abomasums (deprived or not of mucous membranes) coming from old dromedaries (between 8 and 9 years) and, in the other hand, trying to determine the mode of conservation more appropriate for these enzymatic preparations among storage of these extracts either to room temperature (25°C), or in form cooled (with 4°C), or in form frozen (with -20°C) or finally in freeze-dried form. Among the various modes of conservation tested, we recorded the highest value of the coagulating activity for the abomasum A (without mucous membrane) after 15 weeks of freezing (0.277 ± 0.000 UP), corresponding to the 2nd period of conservation (between 8 and 18 weeks). During this period, the gastric enzymes resulting from abomasum B (with mucous membrane) have the lowest proteolytic activity when they are preserved at the refrigerator at + 4°C with the value (0.34 ± 0.050). These two extracts thus chosen would be indicated for the cheese-making transformation of milk at the industrial level, particularly on the level of the phase of coagulation. This result is also confirmed besides by the principal component analysis (ACP) where the various studied variables are strongly correlated.

Key words: *camel milk, abomasum, enzymatic extract, conservation, coagulating activity, proteolytic activity.*

محاولة تحسين تحول حليب الناقة إلى جبن : دراسة شروط حفظ الإنزيمات المعدية المستخلصة من الجمال (نوع منفحة)

الملخص

الجمال (*Camelus dromadarius*) هو حيوان تكيف بشكل استثنائي مع الظروف الصعبة في المناطق الجافة و شبه الجافة ، ينتج لبن ذو قيمة غذائية عالية و غني بالمكونات المثبطة للبكتيريا مما يزيد من مدة صلاحيته و لكن في نفس الوقت هذه الخاصية تحد من قدرته في تصنيع المشتقات اللبنية بما فيها الأجبان التي تمر بمرحلة مهمة ألا و هي التخثر الأنزيمي. من أجل فهم أكثر لهذه المرحلة، دراستنا هذه تتضمن من ناحية إمكانية تخثر حليب الناقة و ذلك باستعمال الإنزيمات المعدية المستخلصة من منفحة (مع وجود أو عدم وجود المخاطية) جمال مسنة (تتراوح أعمارهم بين 8 و 9 سنين) و من ناحية أخرى، محاولة إيجاد أفضل طريقة حفظ لهذه الأنزيمات و ذلك بدراسة أربع طرق (في درجة حرارة عادية (25°م)، تبريد في ثلاجة (4°م)، تجميد (-20°م) أو على شكل مجفف (lyophilisé). من بين مختلف طرق الحفظ المدروسة، سجلنا أعلى قيمة نشاط تخثري للمنفحة أ (بدون مخاطية) بعد 15 أسبوعا من التجميد (0,277 ± UP 0,000) الموافقة للمرحلة الثانية من الحفظ المتزاوجة بين الأسبوع الثامن و الأسبوع الثامن عشر، خلال هذه المرحلة نلاحظ بأن الإنزيمات المستخلصة من المنفحة ب (وجود المخاطية) المبردة في 4°م تملك أدنى قيمة لقوة التحليل البروتيني بقيمة 0,34 ± 0,050. هذان المستخلصان هما الملائمان من أجل تصنيع الأجبان على المستوى الصناعي و بالخصوص على مستوى مرحلة التخثر. أكدت هذه النتائج عن طريق التحليل للمكون الرئيسي (ACP)، حيث تبين أن كل العوامل المدروسة مرتبطة ببعضها البعض ارتباط وثيق.

الكلمات الدالة: حليب الناقة، منفحة ، مستخلص إنزيمي، حفظ، النشاط التخثري ، قوة تحليل بروتيني.

Liste des abréviations

<i>abréviation</i>	<i>signification</i>
AC	Activité coagulante
AMAC1	Activité coagulante de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée à la température ambiante
AMAC2	Activité coagulante de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée au réfrigérateur
AMAC3	Activité coagulante de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée au congélateur
AMAC4	Activité coagulante de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée à l'état lyophilisé
AMAP1	Activité protéolytique de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée à la température ambiante
AMAP2	Activité protéolytique de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée au réfrigérateur
AMAP3	Activité protéolytique de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée au congélateur
AMAP4	Activité protéolytique de la préparation enzymatique avec muqueuse conservée à l'état lyophilisé
AP	Activité protéolytique
BSA	Albumine sérique bovine
D.O.	Densité optique
ECD	Extrait de caillettes de dromadaire
IEMVT	Département d'élevage et de médecine vétérinaire du CIRAD
F	Force coagulante de SOXHLET
FAO	Food and agricultur organisation of the united nations
K-CN	Kappa caséine
B-CN	Béta caséine
α S ₁ -CN	Alpha S ₁ caséine
α S ₂ -CN	Alpha S ₂ caséine

Pi	Point isoélectrique
P/V	Poids par volume
SMAC1	Activité coagulante de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée à la température ambiante
SMAC2	Activité coagulante de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée au réfrigérateur
SMAC3	Activité coagulante de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée au congélateur
SMAC4	Activité coagulante de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée à l'état lyophilisé
SMAP1	Activité protéolytique de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée à la température ambiante
SMAP2	Activité protéolytique de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée au réfrigérateur
SMAP3	Activité protéolytique de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée au congélateur
SMAP4	Activité protéolytique de la préparation enzymatique sans muqueuse conservée à l'état lyophilisé
S ₀	Semaine de l'extraction
S ₀ +1	La première semaine après l'extraction
T _c	Temps de coagulation
TCA	Acide trichloracétique
t _f	Temps de floculation
UP	Unité présure
V/V	Volume par volume

Liste des figures

<i>N°</i>	<i>Intitulé</i>	<i>Page</i>
01	Comparaison des régions de la caséine κ sensibles à la chymosine dans les laits bovin et camelin	11
02	Modèle d'organisation moléculaire de la micelle de caséine bovine selon SCHMIDT (1980)	13
03	Structure tridimensionnelle de la pepsine porcine (EC 3.4.23.2) selon STRYER <i>et al</i> , (2003)	19
04	Représentation schématique de l'estomac bovin (en haut) et Camelin (en bas), selon BERNARD (1997)	22
05	Images photographiques des caillettes issues de dromadaires adultes (âgés de 8 ans) utilisées pour extraire les enzymes coagulantes	23
06	Protocole d'isolement, selon SHAMET <i>et al</i> (1992), suivi pour l'isolement des caséines et des protéines sériques, à partir des échantillons de lait de dromadaire collecté dans la région d'El Oued	27
07	Protocole d'isolement, selon (VALLES et FURET, 1977), suivi pour l'isolement des extraits enzymatiques à partir des caillettes, issues de dromadaires âgés, prélevées à l'abattoir communal de Ouargla	29
08	Mesure du temps de coagulation par la méthode de BERRIDGE (1945) modifié par COLLIN <i>et al</i> (1977)	31
09	Courbe d'étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY <i>et al</i> (1951). L'albumine sérique bovine (BSA) est utilisée comme protéine étalon	38
10	Evolution de l'activité coagulante (UP) des cailllette A et B en fonction du temps d'entreposage à température ambiante (environ 25 °C)	41
11	Evolution de l'activité protéolytique (AP) des cailllette A et B en fonction du temps d'entreposage à température ambiante (25°C)	41
12	Evolution de l'activité coagulante (UP) des cailllette A et B en fonction du temps d'entreposage au réfrigérateur (4°C)	42
13	Evolution de l'activité protéolytique (AP) des cailllette A et B en fonction du temps d'entreposage au réfrigérateur (4°C)	42
14	Evolution de l'activité coagulante (UP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation au congélateur (-20°C)	44
15	Evolution de l'activité protéolytique (AP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation au congélateur (-20°C)	44

16	Evolution de l'activité coagulante (UP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation à l'état lyophilisé	45
17	Evolution de l'activité protéolytique (AP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation à l'état lyophilisé	45
18	Analyse en composantes principales des différentes variables étudiés	50
19	Combinaison des individus et des différentes variables étudiés	51

Liste des Tableaux

<i>N°</i>	<i>Intitulé</i>	<i>Page</i>
I	Composition du lait de dromadaire en pourcentage par comparaison aux laits bovin, caprin, ovin et humain	06
II	Distribution des teneurs en azote (mg/100ml) des laits de dromadaire et de vache (MEHAIA et ALKANHAL, 1992)	07
III	Caractéristiques physico-chimiques des caséines du lait de dromadaire comparées à celles du lait de vache (KAPPELER <i>et al</i> , 1997)	09
IV	Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (MIETTON <i>et al</i> , 1994)	18
V	Désignation des différents lots expérimentaux	30
VI	Mesure du pH, de l'acidité titrable et de la densité des échantillons du lait de dromadaire collecté dans la région d'El Oued	36
VII	Quelques paramètres concernant les caillettes de dromadaires : sans muqueuse (caillette A) et avec muqueuse (caillette B)	39
VIII	Analyse de variance multifactorielle sur l'activité coagulante (UP)	46
IX	Analyse de variance multi factorielle sur l'activité protéolytique (AP)	47
X	Tableau récapitulatif des principaux résultats relatifs à la caractérisation des ECD issus de deux types de caillette et stockés selon les quatre modes de conservation (température ambiante, réfrigération, congélation et lyophilisation)	49

Liste des Annexes

<i>N°</i>	<i>Intitulé</i>
I	(a) La séquence de l'ADNc de αs_1 CN cameline selon KAPPELER <i>et al</i> (1997). (b) La séquence des acides aminés de αs_1 CN cameline selon KAPPELER <i>et al</i> (1997)
II	La séquence de l'ADNc de αs_2 CN cameline selon KAPPELER <i>et al</i> (1997)
III	La séquence de l'ADNc de β CN cameline selon KAPPELER <i>et al</i> (1997)
IV	La séquence de l'ADNc de κ CN cameline selon KAPPELER <i>et al</i> (1997)
V	Détermination de pH et de l'acidité titrable
VI	Détermination de la densité selon SERRES <i>et al</i> , (1969)
VII	Epreuve au bleu de méthylène. PETTRANSXIENE et LAPIED (1981)
VIII	Lait écrémé filtré
IX	Dialyse de solution caséinique
X	La lyophilisation de la solution caséinique dialysée
XI	Solution macérée filtré et non filtré
XII	L'aspect de l'extrait coagulant de dromadaire (ECD) lyophilisé
XIII	Tableau de test de réductase
XIV	Variation de l'activité coagulante (UP) de caillette A et B conservées dans la température ambiante
XV	Variation de l'activité protéolytique (AP) de caillette A et B conservées dans la température ambiante
XVI	Variation de l'activité coagulante (UP) de caillette A et B conservées dans le réfrigérateur
XVII	Variation de l'activité protéolytique (AP) de caillette A et B conservées dans le réfrigérateur
XVIII	Variation de l'activité coagulante (UP) de caillette A et B conservées dans le congélateur
XIX	Variation de l'activité protéolytique (AP) de caillette A et B conservées dans le congélateur
XX	Variation de l'activité coagulante (UP) de caillette A et B conservées à l'état lyophilisé
XXI	Variation de l'activité protéolytique (AP) de caillette A et B conservées à l'état

	lyophilisé
XXII	Interaction entre la préparation enzymatique et le mode de conservation sur le plan Activité coagulante (AP)
XXIII	Interaction entre le temps, préparation enzymatique et le mode de conservation sur le plan Activité protéolytique (AP)
XXIV	Valeurs propres des axes
XXV	Cosinus carrés des individus
XXVI	Cosinus carrés des variables

Sommaire

Introduction générale.....	02
I- synthèse bibliographique.....	05
1.1. Aperçu sur le dromadaire.....	05
1.2. Caractéristiques du lait de dromadaire.....	06
1.2.1. Composition globale.....	06
1.2.2. Les protéines du lait	07
1.3. Aptitude à la transformation fromagère.....	15
1.3.1. La phase de coagulation	16
1.3.2. Les enzymes coagulantes.....	17
II. Matériel et méthodes.....	22
2.1. Matériel	22
2.1.1. Echantillon de lait.....	22
2.1.2. Caillettes de dromadaire	22
2.1.3. Poudre de lait de vache.....	22
2.1.4. Appareillage.....	23
2.1.5. Petit matériel	23
2.1.6. Produits chimiques, réactifs et matériel biologique.....	24
2.2. Méthodes de travail.....	24
2.2.1. Collecte du lait.....	24
2.2.2. Isolement et conservation des protéines	24
2.2.3. Extraction des enzymes coagulantes.....	28
2.2.4. Caractérisation des extraits coagulants.....	30
2.2.5. Analyses statistiques.....	33
III. Résultats et discussion.....	35
3. 1. Qualité hygiénique et physico-chimique du lait de dromadaire collecté... ..	35
3.1.1. Estimation de la flore mésophile totale	35
3.1.2 Mesure de quelques paramètres physico-chimiques	36
3. 2. Caractérisation des extraits coagulants	38
3.2.1. Activité coagulante des lots d'ECD en fonction du traitement administré aux caillettes (avec ou sans muqueuse)	39
3.2.2. Evolution des activités enzymatiques des extraits en fonction du mode de conservation	39
3.2.3. Analyse statistique des résultats	46
Conclusion générale.....	53

Références bibliographiques.....	57
Annexes.....	65

Introduction

Introduction

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est un animal particulièrement adapté aux rudes conditions agro-climatiques qui existent dans plusieurs régions du monde, notamment dans les zones steppiques et désertiques du Sahara algérien. Malgré l'aridité du milieu dans lequel il vit, cet animal produit un lait particulièrement riche en lipides, protides et glucides mais aussi en vitamines, (particulièrement la Vit. C) et en d'autres éléments minéraux.

Le lait ainsi produit, qui est un aliment de première importance, permet de répondre en partie aux besoins des éleveurs et des populations qui vivent dans ces régions mais aussi d'assurer la croissance et le développement du chamelon, surtout que sa durée de conservation à température ambiante est prolongée de quelques jours, du fait de l'existence en son sein d'un système antibactérien puissant (lysozyme, lactoperoxydase, lactoferrine...).

Ce lait possède néanmoins des aptitudes faibles à la transformation en produits dérivés (fromages, laits fermentés, beurre...etc.). Cette caractéristique est considérée comme un facteur limitant de son utilisation technologique, malgré une production quantitative et qualitative appréciable qui a donné lieu dans certains pays d'Afrique (Mauritanie) et du Golfe à la création de laiteries à base de lait de chamelles.

C'est pour tenter de lever cette contrainte que des travaux ont été menés ces dernières décennies par de nombreuses équipes de par le monde sur les possibilités d'amélioration de ces aptitudes technologiques, notamment fromagères. La phase de coagulation a été particulièrement explorée car certaines enzymes protéolytiques ont la propriété de déstabiliser les micelles de caséines et de coaguler le lait, parmi elles figurent les enzymes d'origine animale (présure, pepsine), végétale (bromeline, ficine), microbienne produites soit par des moisissures (*Endothia parasitica*, *Mucor pusillus*, *Mucor miehei*) soit par des bactéries (*Bacillus*).

Dans ces essais, la pepsine bovine est celle qui présente la meilleure affinité pour les caséines camelines, comparativement aux autres extraits enzymatiques. Plus récemment, les travaux menés par SIBOUKEUR *et al* (2005) ont montré que les protéases gastriques extraits de caillettes de dromadaires âgés (à dominance pepsine) possèdent une activité coagulante plus élevée que les protéases gastriques camelines à dominance chymosine.

Ces résultats encourageants obtenus avec les extraits enzymatiques issus de caillettes de dromadaires laissent augurer d'une réelle possibilité de transformation fromagère du lait camelin, sachant que la matière servant de milieu d'extraction est largement disponible. dans les abattoirs, contrairement aux caillettes de veaux non sevrés, utilisées pour la transformation du lait bovin, qui nécessitent la sacrifice d'un jeune animal.

Toutefois, avant d'envisager le passage au stade industriel, il ya lieu d'étudier les conditions de conservation de ces protéases. C'est précisément ce volet que nous sommes proposé d'aborder par cette modeste contribution, qui s'articule autour de trois parties complémentaires :

- essai d'optimisation de la méthode de préparation des caillettes avant extraction des enzymes (rôle de la muqueuse) ;
- extraction des enzymes coagulantes ;
- influence de la conservation sur l'activité enzymatique des extraits coagulants.

I. Synthèse bibliographique

1.1. Aperçu sur le dromadaire

Le dromadaire est un pseudo ruminant mammifère appartenant à la famille des Camélidés. Dans cette dernière, le genre le plus répandu *Camelus* comporte deux espèces : *Camelus dromedarius*, le dromadaire à une bosse et *Camelus bactrianus*, le chameau à deux bosses.

Le dromadaire est, de tous les animaux domestiques, le mieux adapté aux climats désertiques et sub-désertiques tropicaux et sub-tropicaux et à la rareté de l'eau et de fourrages maigres qui les caractérisent.

Son aire de distribution est limitée aux régions tropicales et subtropicales arides et semi-arides d'Afrique (18 pays) et d'Asie (18 pays). Cette aire représente environ 20 millions de km² (RICHARD, 1985).

L'élevage camelin en Algérie se caractérise par un système extensif où les troupeaux peuvent être soit gardés ou semi gardés ou libres «Hmils» (OULED BELKHEIR, 1999).

Le cheptel camelin total recensé dans le monde est d'environ 20 millions dont 18 millions de *Camelus dromedarius* et 2 millions de *Camelus bactrianus* (RAMET, 2003).

D'après les statistiques du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, le nombre de têtes du cheptel camelin algérien a été estimé à 333 933 en 2001, alors qu'il n'était que de 150 870 en 1997.

La production mondiale de lait de dromadaires est estimée officiellement à 1,3 million de tonnes en 2002. Cependant, si on tient compte de l'autoconsommation et du réel potentiel moyen des animaux en production, il est probable que cette production soit plus élevée (soit 5,4 millions de tonnes) (FAYE *et al*, 2003).

La durée de lactation de la chamelle varie de 9 à 18 mois (soit des durées plus importantes en moyenne que les vaches laitières dans les mêmes conditions) avec un rendement en lait compris entre 800 et 3600 litres. La production journalière moyenne semble se situer au voisinage de 2 à 6 litres en élevage extensif traditionnel contre 12 à 20 litres en élevage plus intensif (FAYE *et al*, 2003).

En Algérie, la production de lait varie de 0,5 à 10 kg par jour suivant les différentes populations camélines. Le lait produit est généralement utilisé pour l'allaitement des chamelons et pour l'autoconsommation (CHEHMA, 2003).

Enfin, notons que le dromadaire est exploité à des fins multiples, d'où son rôle capital dans un élevage. Il est utilisé principalement pour le transport des personnes et des marchandises, pour la fourniture du lait, de la viande ainsi que des peaux et des poils.

1.2. Caractéristiques du lait de dromadaire

1.2.1. Composition globale

Avec sa composition équilibrée en nutriments de base (protides, lipides et glucides) et sa richesse en vitamines et minéraux, notamment le calcium, le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme.

Le lait camelin est généralement blanc-opaque. Il a un goût sucré et acide, mais parfois peut aussi être salé (FARAH, 1996). Selon SAIDI *et al* (1999), ces changements de goût dépendent du stade et du rang de lactation (il est salé les derniers mois de lactation).

Le pH du lait camelin est d'environ 6,5 à 6,7. Sa densité oscille entre 1,025 à 1,032, alors que son point de congélation se situe entre -0,545 et -0,565 (FARAH, 1996).

Comparé aux laits des autres espèces (Tableau I), le lait de dromadaire présente une bonne valeur nutritionnelle avec des taux en protéines et matière grasse supérieurs à 35g/l.

Tableau I : Composition du lait de dromadaire en pourcentage par comparaison aux laits bovin, caprin, ovin et humain

		Eléments					Références
		Eau	Matière grasse	Matières protéiques	Lactose	Matières minérales	
Espèces	Dromadaire	87,4	3,6	3,6	4,7	0,7	RAMET, 2003
	Vache	87,3	3,8	3,3	4,7	0,9	
	Chèvre	87,1	4,1	3,5	4,5	0,8	
	Brebis	81,0	7,5	6,0	4,6	0,9	
	Femme	88,2	4	1,2	6,85	0,25	IREU, 2002

L'eau est un facteur important qui affecte la composition du lait de chamelle. Un régime riche en eau donne un lait ayant un taux de 86%, alors que dans un régime déficient (en période de sécheresse), la teneur s'élève à 90% (YAGIL et ETZION, 1980). Cette dilution pourrait être l'effet d'un mécanisme d'adaptation particulier, afin de couvrir les besoins des chameçons durant la période de sécheresse.

La composition minérale du lait de dromadaire diffère peu de celle du lait de vache. Toutefois ses teneurs en calcium, en phosphore et en sodium sont moindres. En revanche, ses teneurs en chlore et en potassium sont plus importantes (KAMOUN, 1990).

Le lait camelin a la particularité d'être relativement riche en vitamine C, dont la teneur peut atteindre en moyenne 37 mg/kg (FARAH *et al*, 1992) contre 19 mg/kg (POLONOVSKY *et al*, 1971) dans le lait de vache. La riboflavine et la niacine s'y trouvent aussi en teneurs plus élevées, contrairement à la vitamine A, l'acide pantothénique, l'acide folique et la vitamine E dont les concentrations sont plus faibles dans le lait camelin.

La présence dans ce lait de facteurs limitant la prolifération bactérienne a été mise en évidence. Il s'agit de protéines sériques (Lactoferrine, Lactoperoxydase et Lysozyme) qui par leurs actions bactériostatiques et/ou bactéricides confèrent au lait de dromadaire une capacité particulière à se conserver plus longtemps (quelques jours à des températures supérieures généralement à 25°C).

La consommation traditionnelle du lait de dromadaire est encouragée par un certain nombre de vertus thérapeutiques qu'on prête à ce lait (propriétés anti- infectieuses, antidiabétiques, anti-cancéreuses...) mais dont très peu ont fait l'objet d'investigations scientifiques. Toutefois, des travaux récents ont montré que ce lait posséderait une action hypoglycémiante et régulatrice de la glycémie chez les patients insulinodépendants (AGRAWAL *et al*, 2003 ; KONUSPAYEVA *et al*, 2004).

1.2.2. Les protéines du lait

De part son apport nutritionnel (source d'acides aminés essentiels) et ses propriétés techno-fonctionnelles particulières, la fraction azotée du lait (notamment la fraction protéique) revêt une importance considérable au double plan quantitatif et qualitatif.

Selon MEHAIA et ALKANHAL (1992), l'azote protéique du lait de chamelle représente 89,9% de l'azote total contre 94,26% dans le cas du lait bovin. Cependant, le taux d'azote non protéique (acides aminés libres, peptides, acide urique, urée, créatine, nucléotides...etc.) est nettement plus élevé (10,1% contre 5,7% de l'azote total, tableau II).

Tableau II : Distribution des teneurs en azote (mg/100ml) des laits de dromadaire et de vache (MEHAIA et ALKANHAL, 1992)

Forme d'Azote	Lait de chamelle	Lait de vache
L'azote protéique (PN)	436	509
L'azote non protéique (NPN)	49	31
L'azote total (TN)	485	540
NPN/ TN (%)	10,1	5,7

Selon leur solubilité ou non à pH 4,6 et à 20°C, les protéines du lait bovin se scindent en deux fractions : l'une est insoluble à ce pH et correspond aux caséines et l'autre, soluble à ce même pH, représente les protéines du lactosérum. (reference).

Pour le lait de dromadaire, WANGO *et al* (1998) ont étudié la précipitation des caséines à différents pH allant de 3,55 à 5,30 à 20°C. Ces auteurs ont constaté qu'une meilleure séparation entre les deux grands groupes de protéines a lieu à pH 4,3. Ce dernier pH (4,3) semble être le plus près du pH isoélectrique des caséines du lait camelin.

Les caséines, qui sont des protéines micellaires très peu organisées (type pelote statistique), comprennent 4 protéines majeures : les caséines α S1 (ou α S1-CN), α S2 (ou α S2-CN), β -CN et κ -CN ; alors que les protéines sériques (type globulaire) comprennent plusieurs protéines se trouvant à des teneurs variables (β -lactoglobuline, α -Lactalbumine, Albumine sérique, Immunoglobulines, Protéose-peptones...etc.) (CAYOT et LORIENT, 1998).

Etant donné que les enzymes coagulantes, qui font l'objet de notre présent travail agissent principalement sur les caséines(reference), nous ferons dans ce qui suit le point des connaissances relatives à ces protéines dans le cas du lait camelin.

1.2.2.1. Les caséines

Les caséines représentent entre 72 et 76% des protéines totales du lait camelin et 80% du lait bovin, ovin, caprin et seulement 40% du lait humain (FOX, 2001).

La proportion relative des caséines α S1, α S2, β et κ dans le lait camelin est de 36, 32, 23 et 5% respectivement. Ces proportions sont presque similaires à celles existant dans le lait bovin à l'exception de la caséine κ qui se retrouverait en une teneur plus faible (FARAH, 1996 ; FOX, 2001).

A partir du lait de dromadaire, LARSON-RAZNIKIEWIEZ et MOHAMED (1986) ont isolé par chromatographie échangeuse d'ion quatre fractions caséiniques qu'ils ont identifiées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. L'analyse de leur composition en acides aminés a révélé que ces protéines correspondent à leur homologue α S1, α S2, β et κ bovines.

FARAH (1993) affirme l'existence de fortes similitudes dans la composition en acides aminés entre les différentes caséines camelines et leur homologues bovines.

KAPPELER *et al* (1997), ont isolé par HPLC en phase inverse les quatre fractions caséiniques α S1, α S2, β et κ du lait camelin. Les caractéristiques physico-chimiques de ces dernières sont rapportées dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III : Caractéristiques physico-chimiques des caséines du lait de dromadaire comparées à celles du lait de vache (KAPPELER *et al*, 1997)

Origine du lait	Caséines	Résidus d'a.a.	Masse Moléculaire (Da)	pHi de la chaîne d'a.a.	Modification Des résidus d'a.a. chargés	% d'homologie avec les protéines bovines
Lait camelin	α_{S1} CN A	207	24 755	4,78	6 Ser p	39
Lait bovin	α_{S1} CN A	199	24 668	4,76	8 Ser p	
Lait camelin	α_{S2} CN	178	21 993	5,81	9 Ser p	56
Lait bovin	α_{S2} CN A	207	-	8,68	11 Ser p	
Lait camelin	β -CN	216	24 900	5,17	3 Ser p	64
Lait bovin	β -CN A	209	-	8,78	5 Ser p	
Lait camelin	κ -CN	162	22 294	8,27	1 Ser p +10 Thr NANA	56
Lait bovin	κ -CN A	169	-	5,97	1 Ser p +12 Thr NANA	

NANA : N-acetylneuraminique acide (Acide Sialique).

(-) : n'a pas été mesuré par les auteurs.

Ser p : Résidu phosphoseryl.

CN : Caséine

1.2.2.1.1. La Caséine α_{S1}

C'est une protéine de 207 acides aminés de poids moléculaire égale à 24 755 Da. La structure primaire de cette protéine (Annexe I) présente un faible pourcentage d'homologie (39%) avec celle du lait de vache. L'hydrophilie de l'extrémité N-terminal est légèrement plus marquée (KAPPELER *et al*, 1997).

La caséine α_{S1} a deux variants A et B qui sont phosphorylés au niveau des résidus serines : 18, 68, 70, 71, 72 et 73. Le variant α_{S1} B est constitué de 215 acides aminés avec une masse molaire de 25 293.

1.2.2.1.2. La Caséine α_2

Elle est composée de 178 acides aminés avec une masse molaire de 21 993. C'est la plus hydrophile des quatre caséines. Comparativement à α_2 bovine, on note une délétion dans la région de l'hélice α entre Glu⁴⁹ et Asn⁸³ bovine, accompagnée de l'absence des acides aminés Ser⁵⁶, Ser⁵⁷ et Ser⁵⁸. Cette absence pourrait avoir, selon KAPPELER *et al* (1997), une certaine implication dans l'assemblage et la stabilité des micelles (Annexe II).

1.2.2.1.3. La Caséine β

Elle est constituée d'une chaîne peptidique de 216 acides aminés pour un PM de 24 900 Da. La forme la plus fréquente de la caséine β a seulement trois groupes phosphates au lieu de quatre (Annexe III) (KAPPELER *et al*, 1997). Le même auteur suggère que la fraction γ -CN du lait de chamelle obtenue par BEG *et al* (1986a) pourrait être le variant B de la β -C N.

BAER *et al* (1994) ont montré par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant (PAGE-urée) que l'hydrolyse de la β -CN cameline par la plasmine (bovine et cameline), donne des résultats similaires. Ils ont suggéré ainsi que la β -CN du lait de chamelle est homologue à la β -CN bovine.

Selon les mêmes auteurs, les produits d'hydrolyse obtenus pourraient être des homologues aux γ -CN bovines.

1.2.2.1.4. La Caséine κ

La caséine κ qui empêche la précipitation des autres caséines en présence du calcium, joue un rôle important dans le maintien de la stabilité de l'édifice micellaire (CAYOT et LORIENT, 1998).

La proportion de caséine kappa est limitée à 5 % de la caséine totale alors qu'elle est de 13 % pour le lait de vache (RAMET, 1994).

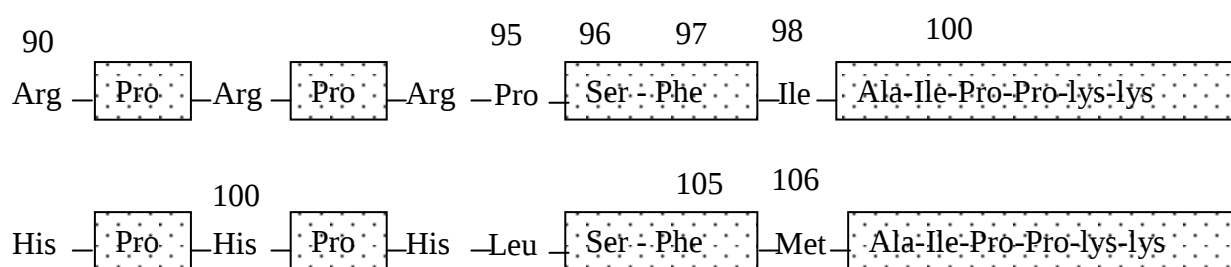
La caséine κ cameline est une phosphoglyco-protéine formée de 162 acides aminés et de masse molaire d'environ 22 294 (structure Iaire, annexe IV). Sa structure secondaire est

similaire à son homologue bovin. Elle renferme deux résidus cystéine au niveau de l'hélice α et du feuillet β , intervenant dans les liaisons intermoléculaires.

Il est intéressant de noter que par rapport à l'hydrolyse spécifique de la liaison Phe-Met (105-106) de la κ -CN du lait bovin, c'est la liaison Phe-Ile (97-98) qui est rompue sous l'action de la chymosine dans le cas de l'homologue camelin (Figure 1).

L'hydrolyse de cette liaison scinde la molécule en deux segments peptidiques : un macropeptide de 65 a.a. (77 74 Da) ayant un point isoélectrique (pI) égale à 4,13 et la para-caséine κ (1-97) qui contient les deux résidus cystéinyl (cys 10 et cys76).

Tous les résidus prolines (Pro) sont conservés dans la caséine κ du lait de dromadaire. Le résidu Leu¹⁰³ bovin est remplacé par Pro⁹⁵ qui joue un rôle important dans la stabilisation de la conformation de la caséine κ et dans l'adhésion de la chymosine au site de clivage (KAPPELER *et al*, 1997).



Chamelle

Vache

Figure 1 : Comparaison des régions de la caséine κ sensibles à la chymosine dans les laits bovin et camelin

 Résidus conservés

1.2.2.2. Organisation micellaire

Afin de se maintenir en solution dans le lait, les caséines forment entre-elles et avec des composants salins des ensembles sphériques dénommés micelles dont l'un des modèles les plus admis est celui de SCHMIDT (1980), (Figure 2). Dans cette représentation, les

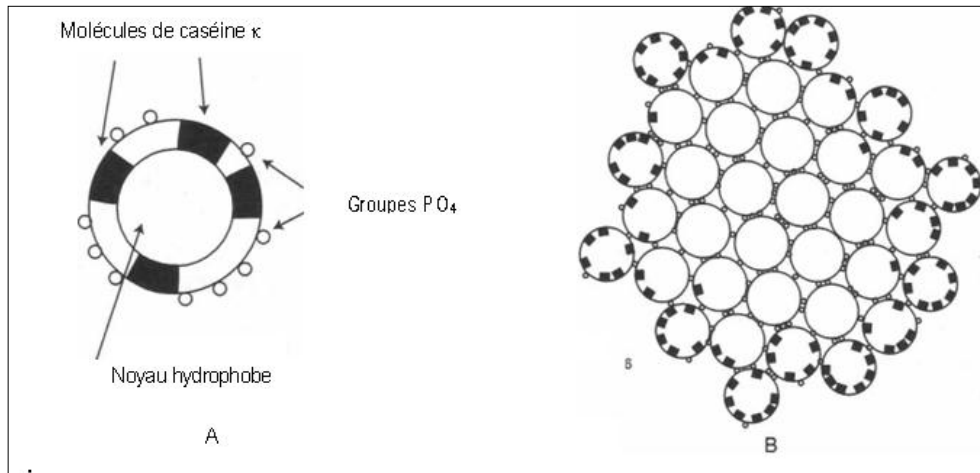
submicelles, de diamètre proche de 20 nm, sont constituées de caséines en proportions variables, associées entre elles par des liaisons hydrophobes et électrostatiques. L'agrégation de ces sous-unités en micelle se ferait par fixation de calcium et de phosphate minéral sur les sites phosphoséryls.

ATTIA *et al* (2000) et KHEROUATOU *et al* (2003) affirment que l'organisation de la micelle de caséine cameline est compatible avec le modèle moléculaire proposé par SCHMIDT (1980).

Les micelles de caséines camelines sont par contre plus agrégées et groupées entre elles que celles du lait bovin (FARAH et BACHMANN, 1987). Leur diamètre moyen est environ le double (300µm) de celui du lait de vache (160µm) (FARAH et RUEGG, 1989 ; JARDALI, 1988).

RAMET (1993) note que les micelles de caséines du dromadaire sont moins minéralisées et moins riches en caséines kappa. Ce caractère influe négativement sur son aptitude à la coagulation en donnant des gels moins fermes et frileux.

1



○ : amas de $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ A : sous unité micellaire B: micelle

2

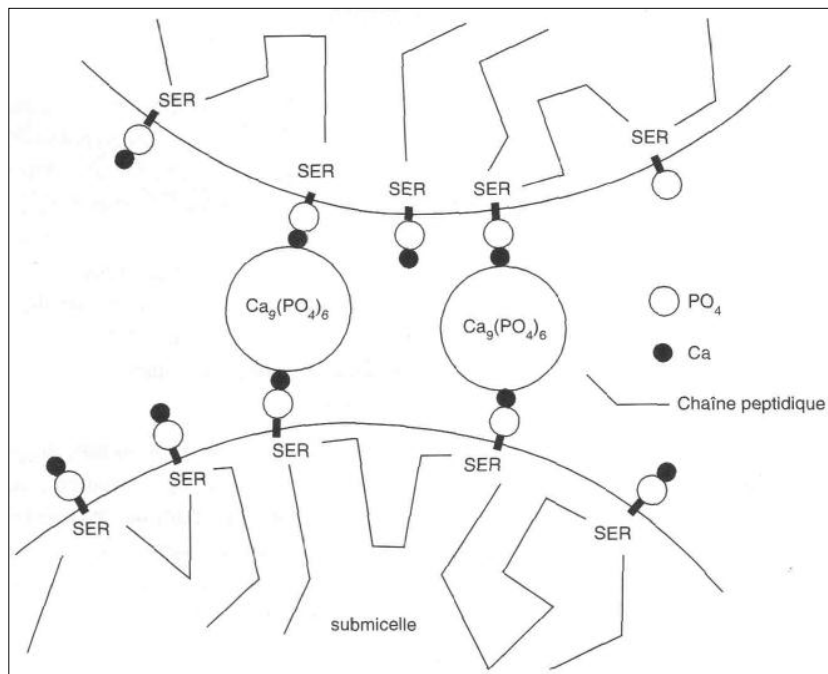


Figure 2 : Modèle d'organisation moléculaire de la micelle de caséine bovine selon SCHMIDT (1980)

1 : Structure de la micelle et de la submicelle

2 : Schéma de pontage de deux submicelles par le phosphate de calcium

1.2.2.3. Les protéines sériques

Le taux en protéines sériques du lait de dromadaire est légèrement plus élevé que celui du lait bovin (28 contre 22%) (URBISINOV *et al*, 1981 ; FARAH, 1996).

La β -Lactoglobuline est la protéine majeure du lactosérum bovin (50% des protéines sériques) (FOX, 2001). Néanmoins, cette protéine est peu présente ou absente dans le lait camelin et humain (MERIN *et al*, 2001 ; KAPPELER *et al*, 2003). Mise à part cette particularité, les autres protéines sériques ont été isolé et identifiées dans le lait camelin (CONTI *et al*, 1985 ; ELAGAMY *et al*, 1996 ; OCHIRKHUYAG *et al*, 1998 ; KAPPELER *et al*, 1999a ; MERIN *et al*, 2000)

Certaines entités, comme l' α -Lactalbumine existe en deux variants génétiques A et B ayant des caractères similaires. Quantitativement, cette métalloprotéine est majoritaire dans lactosérum du lait de dromadaire (taux moyen de 7g/l). Elle comporte 123 acides aminés (14 000 Da) et diffère de son homologue bovin par 39 résidus (BEG *et al*, 1985).

Nous retrouvons aussi dans ce lait l'existence de deux variants pour Le composant-3 des protéose-peptones qui ont respectivement 137 et 122 résidus d'a.a. (KAPPELER *et al*, 1999 b ; GIRARDET *et al*, 2000). Le variant A présente un pourcentage d'homologie appréciable (60%) par rapport au PP3 bovin. De même, il se trouverait dans le lait camelin à une teneur nettement plus élevée que celle rencontrée dans le lait de référence (900 contre 300 mg/l) (KAPPELER *et al*, 1999b). Récemment, SIBOUKEUR et MATI (2008) ont montré que ce composant possède aussi une activité antimicrobienne qui peut être complémentaire à celles mise en évidence pour la Lactoferrine, la Lacoperoxydase et le Lysozyme, dont les teneurs sont généralement le double de celles mesurées dans le lait bovin (DUHAIMAN, 1988 ; ELAGAMY *et al*, 1992 ; 1996 ; KAPPELER *et al*, 1997).

Notons enfin qu'en plus des entités citées ci-dessus, la bibliographie fait état d'autres protéines mises en évidence dans le lait de dromadaire et ne présentant pas d'homologue bovin. C'est le cas notamment :

- d'une protéine sérique acide ou « whey acidic protein » (WAP), constituée de 117 acides aminés (12 564 Da) et présentant 17 groupements thiols. Son point isoélectrique est à pH 4,7 (d'où son appellation de protéine acide). Elle se trouve dans le lait à une teneur de 157 mg/l (KAPPELER *et al*, 1997) ;
- d'une protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP) homologue à celle du lait humain. Elle est constituée de 172 acides aminés (19 110 Da) et a un pHi basique (8,73). Sa

teneur est de 370 mg/l. Cette protéine possède également un grand pouvoir d'inhibition de la croissance des bactéries Gram⁺ ainsi que d'autres germes pathogènes ;

- d'une protéine de 117 a.a. (14 000 Da) séquencée par BEG *et al* (1986b) dont l'extrémité N terminale présente une similitude de structure avec celle des caséines α et β ;
- enfin, d'une protéine de 112 résidus d'acides aminés (15 000 Da) dénommée « la protéine nouvelle du lactosérum camelin » (BEG *et al*, 1987) car ne présentant pas de similitude de structure avec une quelconque protéine de lait connue.

1.3. Aptitude à la transformation fromagère

Comparativement au lait des autres espèces qui sont aisément utilisés pour la fabrication de divers dérivés (fromages, beurre, lait fermentés, desserts lactés...), la transformation du lait camelin demeure assez rudimentaire à travers le monde, même si la production et la qualité de ce lait sont des plus appréciables.

En effet, le lait de dromadaire est peu transformé de manière traditionnelle en fromages mais consommé plutôt sous forme liquide après la traite, ce qui entraîne une sous-exploitation de sa production et des irrégularités dans sa disponibilité au cours de l'année.

Dans notre pays, cette tendance est de mise où selon une enquête menée par SIBOUKEUR (2007) dans la région de Ouargla, le lait de chamelle est consommé principalement à l'état frais et accessoirement en tant que lait fermenté (type leben).

Les difficultés de cette transformation fromagère sont liées aux caractéristiques de ce lait où des facteurs comme la faible proportion en κ -CN, les dimensions des micelles, la composition de la fraction minérale et enfin la présence d'un système antibactérien puissant sont de nature à contrecarrer la formation d'un coagulum lactique et sa maturation dans l'étape d'affinage (ELLOUZE *et al*, 1989 ; KAMOUN, 1990 ; RAMET, 1994).

Pendant ces dernières décennies, les travaux menés sur ce lait, ont permis de mieux comprendre ces difficultés et surtout de les contourner en apportant quelques aménagements appropriés. Même si certains pays (Kenya, Arabie Saoudite, Mauritanie, Niger, Mongolie...) se sont aidés de cette avancée scientifique en installant quelques unités fromagères, il n'en demeure pas moins que d'autres investigations sont requises pour pouvoir transformer aisément ce lait et avoir des productions diversifiés et de qualité.

1.3.1. La phase de coagulation

La fabrication fromagère passe par une étape clé qui est la phase de coagulation. Celle-ci équivaut à la déstabilisation des micelles de caséines qui peut être assurée par l'action acidifiante des bactéries lactiques rajoutées préalablement au lait et/ou par l'action d'une enzyme coagulante spécifique, généralement la présure (LENOIR *et al*, 1985).

Dans le cas de la coagulation acide du lait de dromadaire (cas de la fabrication de fromages à pâtes fraîches), la formation du caillé est assez lente, car l'acidification est limitée par le système antimicrobien du lait, ce qui retarde autant le phénomène de coagulation (BARBOUR *et al*, 1984 ; GNAN *et al*, 1994 ; ELAGAMY, 2000a).

Notons que les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel dans la production des fromages. La production d'acide lactique au cours de leur développement, en abaissant le pH du lait, modifie les conditions physico-chimiques de la matière première et contribue ainsi, avec les enzymes de coagulation, à donner une texture bien particulière à chaque type de fromage (CANTERI, 1997).

La coagulation enzymatique peut être appréhendée à travers le temps de floculation. Il s'agit du temps écoulé depuis l'emprésurage jusqu'à l'apparition des premiers flocons visibles à l'œil (BERGERE et LENOIR, 1997).

Comparé au lait de vache, le lait de dromadaire possède un temps de coagulation plus long (MOHAMED *et al*, 1989). FARAH et BACHMANN (1987) soulignent en outre que dans le lait de dromadaire, l'agrégation des micelles de caséine après emprésurage est plus tardive et le réseau formé est plus lâche et moins compacte.

RAMET (1993 ; 1994) observe quant à lui que l'appréciation empirique des propriétés physiques du lait lors de la phase de transition liquide-gel est peu aisée en raison de la persistance d'un pseudo gel très diffus à l'état floconneux.

Selon le même auteur, au moment de l'égouttage, la fragilité du gel provoque des pertes élevées de matière sèche par entrainement de particules de protéines et de matière grasse dans le lactosérum.

Cette fragilité mécanique des gels est accentuée lors d'utilisation des laits provenant d'animaux soumis à un stress hydrique. Dans ce cas, le taux de matière sèche chute fortement, ce qui accroît la dégradation des propriétés physiques du gel (YAGIL et ETZION, 1980 ; RAMET, 1987).

Afin d'améliorer les aptitudes à la transformation fromagère de ce lait, différents moyens de correction ont été envisagés. L'enrichissement en chlorure de calcium est parmi

les plus premières solutions utilisées, car l'apport de ce sel (utilisé à un taux de 0,01%) permet de réduire le temps de floculation et de renforcer la rigidité du gel obtenu (MEHAIA *et al*, 1988).

Le salage par addition du chlorure de sodium a été aussi testé. Ce sel, utilisé dans certaines limites (à moins de 0,4%) améliore sensiblement l'aptitude à la coagulation, en réduisant le développement des micro-organismes de contamination par abaissement de l'activité de l'eau (JARDALI-MAATOUK, 1991).

D'autres auteurs ont préconisés d'améliorer le taux de matières sèches (MEHAIA, 1993). C'est dans cette optique que certains auteurs ont suggéré de rajouter au lait de chamelle du lait de brebis ou de vache.

L'addition du lait ovin, très riche en matière sèche, entraîne une diminution du temps de coagulation et une augmentation de la fermeté du gel (OULD EHYA et RAMET, 1998) ; alors que les essais réalisés avec l'apport du lait de vache (à raison de 25 à 75%) ont permis d'améliorer les qualités texturales et gustatives des fromages obtenus (JARDALI-MAATOUK, 1991).

Les recherches se sont intéressées aussi à la nature et aux conditions d'utilisation de l'enzyme coagulante. Pour cela, différentes enzymes ont été testées telles celles d'origines animales : présure bovine (FARAH et BACHMANN, 1987 ; BAYOUMI, 1990), pepsine bovine (WANGOY *et al*, 1993) et présure cameline (WANGOY *et al*, 1993 ; ELAGAMY, 2000 b; SIBOUKEUR *et al*, 2005) ou d'origines microbiennes provenant de *Mucor miehei* ou d'*Endothia parasitica* (RAMET, 1985 et 1990).

1.3.2. Les enzymes coagulantes

Un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne (tableau IV) ont la propriété de déstabiliser les micelles de caséines et provoquer par voie de conséquences la coagulation du lait.

Tableau IV : Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait(MIETTON *et al*, 1994)

Origine		Enzymes
Animaux	Ruminants	
	• Veaux (*)	Chymosine + pepsine
	• Chevaux (*)	
	• Agneaux (*)	Pepsine + chymosine
	• Bovins adultes (*)	
	Monogastriques	
	• Porc	Pepsine
	Oiseaux	
	• Poulet	Pepsine
Végétaux	• Figuier (suc)	Ficine Broméline
	• Ananas (tige)	
	• Chardon, artichaut	
	• Gaillet	
	• Courge	
Moisissures	• <i>Endothia parasitica</i> (*)	Protéase
	• <i>Mucor pusillus</i> (*)	Protéase
	• <i>Mucor miehei</i> (*)	Protéase
	• <i>Aspergillus niger</i>	Chymosine "génétique"
Levures	• <i>Kluyvermyces lactis</i>	Chymosine "génétique"
Bactéries	• <i>Escherichia coli</i>	Chymosine "génétique"
	• <i>Bacillus subtilis</i>	Subtiline "génétique"

* coagulants autorisés en France

La présure, mélange de chymosine et de pepsine sécrété dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait, est l'enzyme coagulante la mieux connue et son mécanisme d'action est bien établi (BRULÉ et LENOIR, 1987).

Les préparations utilisées pour coaguler le lait comportent des protéases à caractère acide, dont l'activité optimale est généralement proche de pH 5,5 (DESMAZEAUD, 1990).

Les enzymes coagulantes, la présure ou ses substituts, sont des endopeptidases appartenant au groupe des aspartyl-protéases. Ces enzymes ont une double action dans la fabrication fromagère. L'une très spécifique sur la caséine kappa (κ -CN), l'autre de protéolyse générale, qui survient lors de la phase d'affinage des fromages, où les différentes protéines du caillé sont dégradées, pour donner les caractéristiques organoleptiques recherchées du fromage lors de cette phase de maturation (CHOISY *et al*, 1997).

La dénomination présure est réservée à l'extrait coagulant provenant de la troisième poche de l'estomac appelée abomasum ou caillette (RAMET, 1997). Ce sont des extraits qui proviennent de la caillette de jeunes bovidés nourris au lait et qui présentent un rapport :

$$\frac{\text{Masse de chymosine active}}{\text{Masse de pepsine bovine active}} \geq 1,38 \quad (\text{LUQUET, 1990}).$$

La présure renferme deux enzymes actives. La chymosine (EC 3.4.23.4), (la protéase majeure) est responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale. Le reste est couvert par la pepsine. Les deux enzymes sont excrétées à l'état de précurseurs inactifs (prochymosine et propepsine). Après hydrolyse dans le milieu acide de l'estomac, l'activité protéolytique est accrue considérablement (RAMET, 1997).

Dans la caillette des jeunes bovidés nourris au lait, la présure est constituée d'environ 80% de chymosine et 20% de pepsine (ALAIS *et al*, 2008). Ces proportions varient en fonction de l'âge de l'animale pour atteindre dans la caillette des adultes 20% de chymosine et 80% de pepsine.

La pepsine (EC 3. 4. 23. 1) sécrétée dans l'estomac des mammifères, est produite par les cellules de la muqueuse gastrique sous forme d'un précurseur inactif, le pepsinogène, qui est converti à pH acide ($\text{pH} < 5$) de façon autocatalytique en pepsine par clivage de la liaison peptidique $\text{Leu}^{59}\text{-Ile}^{60}$ (WEIL *et al*, 2005).

La pepsine commercialisée est généralement la pepsine A extraite d'estomacs de porcs. Elle a 326 résidus d'acides aminés (34 600 Da) et est constituée d'une seule chaîne peptidique (figure 3).

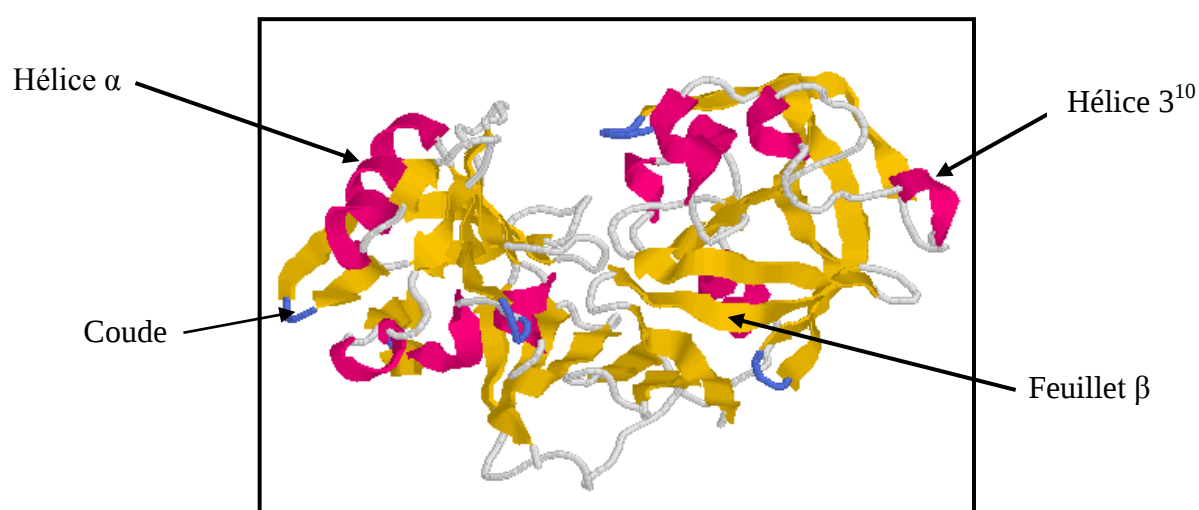


Figure 3 : Structure tridimensionnelle de la pepsine porcine (EC 3.4.23.2) selon STRYER *et al* (2003)

Les enzymes coagulantes, la présure ou ses substituts, sont des endopeptidases à caractère acide (activité optimale proche de 5,5), appartenant au groupe des aspartyl-protéases (site actif composé de deux acides aspartiques).

Ainsi le site actif de la pepsine comprend deux résidus d'acide aspartique proche géométriquement Asp³² et Asp²¹⁵ ainsi que d'autres acides aminés, formant une crevasse où vient se loger le substrat. Lors de la coupure de la liaison peptidique, les deux acides aspartiques jouent simultanément le rôle de donneur et de receveur de protons (STRYER *et al*, 2003).

La pepsine coupe préférentiellement, dans la région C terminale, des acides aminés aromatiques (Phe et Tyr) et hydrophobes (Leu, Ala, Glu et Gln).

Une des caractéristiques communes à toutes les pepsines est d'être plus active en milieu acide que la chymosine et la présure (RAMET, 1994).

Pour la plupart des enzymes coagulantes, il existe une relation pseudo linéaire entre le temps de coagulation et l'inverse de la concentration en enzyme. En effet, un doublement de la dose d'enzyme réduit de moitié le temps de floculation (RAMET, 1994).

Le temps de coagulation, désigne le temps qui s'écoule entre l'addition d'enzyme et l'apparition des premiers flocons, il correspond donc au temps de prise du fromager (BRULÉ et LENOIR, 1987). Le temps de coagulation visible pour le lait bovin et camelin est respectivement de 5 et 15 min (FARAH et BACHMANN, 1987).

Ainsi, il a été montré que la coagulation par la présure est 2 à 4 fois plus lente dans le lait de dromadaire que dans le lait de vache (RAMET, 1985 ; FARAH et BACHMANN, 1987).

Notons que des essais ont montré que la pepsine bovine présente une bonne affinité pour coaguler le lait de dromadaire (RAMET, 1993 ; EL-ABASSY 1987 ; EL-BATAWY *et al*, 1987 ; SIBOUKEUR *et al*, 2007).

Par ailleurs, en raison de l'existence dans le lait de dromadaire d'un équilibre salin particulier, l'ajout d'un sel de calcium apporté sous forme de chlorure ou de phosphate monocalcique entraîne un raccourcissement très marqué des temps de coagulation et renforce la fermeté des gels (RAMET, 1985 ; RAMET 1987 ; RAMET, 1990. In RAMET, 1994).

L'action bénéfique de ces sels est liée, d'une part, à un abaissement de pH qui favorise l'activité enzymatique de la protéase coagulante, et, d'autre part, à l'enrichissement du milieu en ions calciques qui créent des pontages renforçant la cohésion et la réticulation inter micellaires (RAMET, 1994).

II. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Echantillon de lait

Le lait est collecté à partir de chamelles des populations "Sahraoui" vivant en élevage extensif dans les parcours de la wilaya d'El-Oued.

2.1.2. Caillettes de dromadaire

L'estomac du dromadaire (figure 4) diffère de celui des ruminants où le troisième compartiment, qui n'a pas d'équivalent chez ces derniers, est assez variable. Dans cette poche, la caillette proprement dite correspond au dernier tiers du troisième compartiment (JOUANY; KAYOULI, 1989).

Les caillettes qui ont servi à cette étude (figure 5), issues de dromadaires adultes âgés de 8 à 9 ans, ont été prélevées au niveau de l'abattoir communal de Ouargla.

2.1.3. Poudre de lait de vache

La poudre de lait bovin utilisée type "low heat" qui est choisie pour sa bonne aptitude fromagère, provient de la firme Danone.

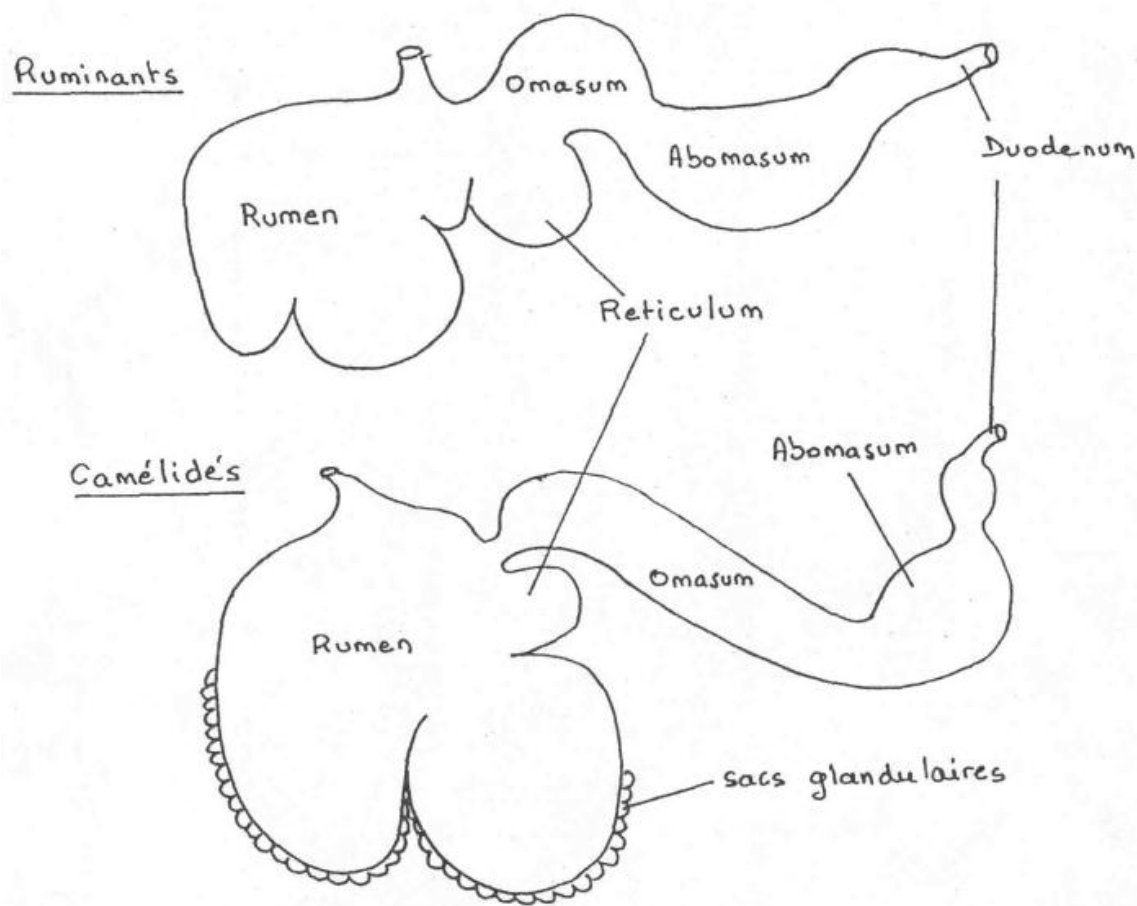


Figure 4 : Représentation schématique de l'estomac bovin (en haut) et Camelin (en bas), selon BERNARD (1997)



A



B

**Figures 5 : images photographiques des caillottes issues de dromadaires adultes (âgés de 8 ans) utilisées pour extraire les enzymes coagulantes
A : vue de la partie externe de la caillotte ; B : vue de la partie interne**

2.1.4. Appareillage

Un ensemble de matériel de laboratoire a permis de réaliser cette étude. Il s'agit notamment de :

- agitateur magnétique (Yellow line MSH basic, Allemagne) ;
- bain Marie (Memmert, Allemagne) ;
- balance électronique (max : 220 g ; précision : 0,0001 g) (KERN EG, Allemagne) ;
- centrifugeuse (max : 6 000 x g) (Hettich universal zentrifugen, Allemagne) ;
- congélateur (GFL, Allemagne).
- loupe binoculaire ;
- lyophilisateur à plateau (CHRIST, alpha 1-2 LD, Allemagne) ;
- pH-mètre (Hanna, Allemagne) ;
- spectrophotomètre UV-visible (UNICAM, Allemagne) ;

2.1.5. Petit matériel

Les manipulations ont nécessité l'emploi de petit matériel suivant : micropipettes, membrane de dialyse (seuil d'exclusion de 8000 Da), papier filtre, gants et masques pour l'usage de produits dangereux, différents types de verrerie (béchers, fioles jaugées, pipette graduées, burettes, cristallisoirs, tubes à essais en verre et en plastique ...).

2.1.6. Produits chimiques, réactifs et matériel biologique

Les expérimentations ont nécessité l'usage de produit et réactifs ci-dessous répertoriés :

- solvants (acide chlorhydrique, acide trichloracétique, éthanol, hydroxyde de sodium...);
- sels et tampons (sulfate d'aluminium, phosphate et sulfate di-sodique, chlorure de sodium, chlorure de calcium, tartrate de sodium et de potassium, thymol, carbonate de sodium anhydre, sulfate de cuivre anhydre) ;
- réactifs spécifiques : Folin Ciocalteu... ;
- matériels biologiques : estomacs de dromadaires, enzymes coagulants (pepsine cameline), lait en poudre écrémé type "low heat", albumine bovine sérique (BSA) utilisée comme protéine étalon.

2.2. Méthodes de travail

2.2.1. Collecte du lait

Le lait est trait à partir de chamelles en bon état de santé. Il est recueilli proprement et est acheminé au laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides (LPEZASA), dans une glacière contenant un bloc réfrigérant.

Une partie est aussitôt analysée sommairement en procédant à la détermination du pH, de l'acidité titrable (annexe V), de la densité (annexe VI) et de la flore totale par le test de la réductase (annexe VII). Une autre partie est répartie en petites fractions dans des flacons en verre de 100 ml préalablement stérilisés. Ces échantillons sont congelés à -18 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure.

2.2.2. Isolement et conservation des protéines

Les protéines camelines sont isolées selon le protocole expérimental proposé par SHAMET *et al* (1992), (Figure 6). Globalement, ce procédé s'articule autour de la séparation de composés non protéiques (écrémage, dialyse), de l'obtention de protéines tant caséiniques que sériques du lait et enfin de la conservation de ces préparations sous une forme exploitable au besoin (lyophilisation).

2.2.2.1. Ecrémage

Le lait de chamelle subit un écrémage par une centrifugation à 3500×g pendant 20 min. A la fin de cette opération, la crème est écartée à l'aide d'une spatule, par contre le lait écrémé est récupéré et filtré à travers un entonnoir contenant la laine de verre (Annexe VIII).

Pour cela, et afin d'avoir une meilleure dispersion des globules gras, le lait est préalablement chauffé et agité avec un barreau aimanté pendant quelques minutes à 30°C. A la fin de la centrifugation, les pots sont enlevés et entreposés délicatement au réfrigérateur pendant une heure afin de favoriser la prise en masse en surface de la matière grasse.

2.2.2.2. Isolement et séparation des protéines

Le lait écrémé est acidifié avec l'acide chlorhydrique (HCl), 4N à pH 4,3 qui correspond au pH isoélectrique des caséines camelines. Il est ensuite porté à centrifugation à 3500 ×g / 15 min, pour obtenir, d'une part, un précipité qui comprend principalement les caséines et, d'autre part, un surnageant qui contient les protéines du lactosérum, les composés azotés non protéiques, le lactose et les sels.

Le précipité de caséines est re-solubilisé dans un volume minimal d'eau distillée dont le pH est ajusté à 7 en utilisant l'hydroxyde de sodium (NaOH), 1N. Puis, une deuxième précipitation de cette solution à pH 4,3 est réalisée, dans les mêmes conditions que décrites plus haut, afin d'éliminer les traces de protéines sériques contaminants.

La même opération est réalisée aussi sur le surnageant de centrifugation afin de s'assurer que ce dernier ne contient pas de résidus caséiniques.

2.2.2.3. Dialyse

La dialyse est une méthode de séparation qui permet d'éliminer, d'une solution macromoléculaire, des ions ou de petites molécules, par le passage de ceux-ci à travers une membrane jouant le rôle de tamis moléculaire (AUDIGIÉ *et al*, 1995).

La solution caséinique et le surnageant sont dialysés à travers une membrane semi perméable ayant un seuil d'exclusion de 10 000 Daltons (Da). Afin d'éliminer les sels, le lactose et les divers composés azotés non protéiques. Cette diffusion est réalisée pendant 48 h contre l'eau distillée à +4 °C, en changeant l'eau de contre dialyse deux fois par jour sous une douce agitation (Annexe IX).

2.2.2.4. Lyophilisation

C'est une méthode de concentration et de conservation des produits par déshydratation qui met en œuvre une sublimation de la glace, c'est-à-dire un passage direct de l'eau de l'état solide à l'état vapeur sans passer par l'état liquide (AUDIGIÉ *et al*, 1995) (Annexe X).

Les fractions protéiques ainsi obtenues sont versées en fines couches dans des coupelles qui seront mises à congélation à -18°C et introduites au fur et à mesure des besoins dans le plateau du lyophilisateur pour l'obtention d'une poudre protéique, qui sera conservée sous cette forme au dessiccateur.

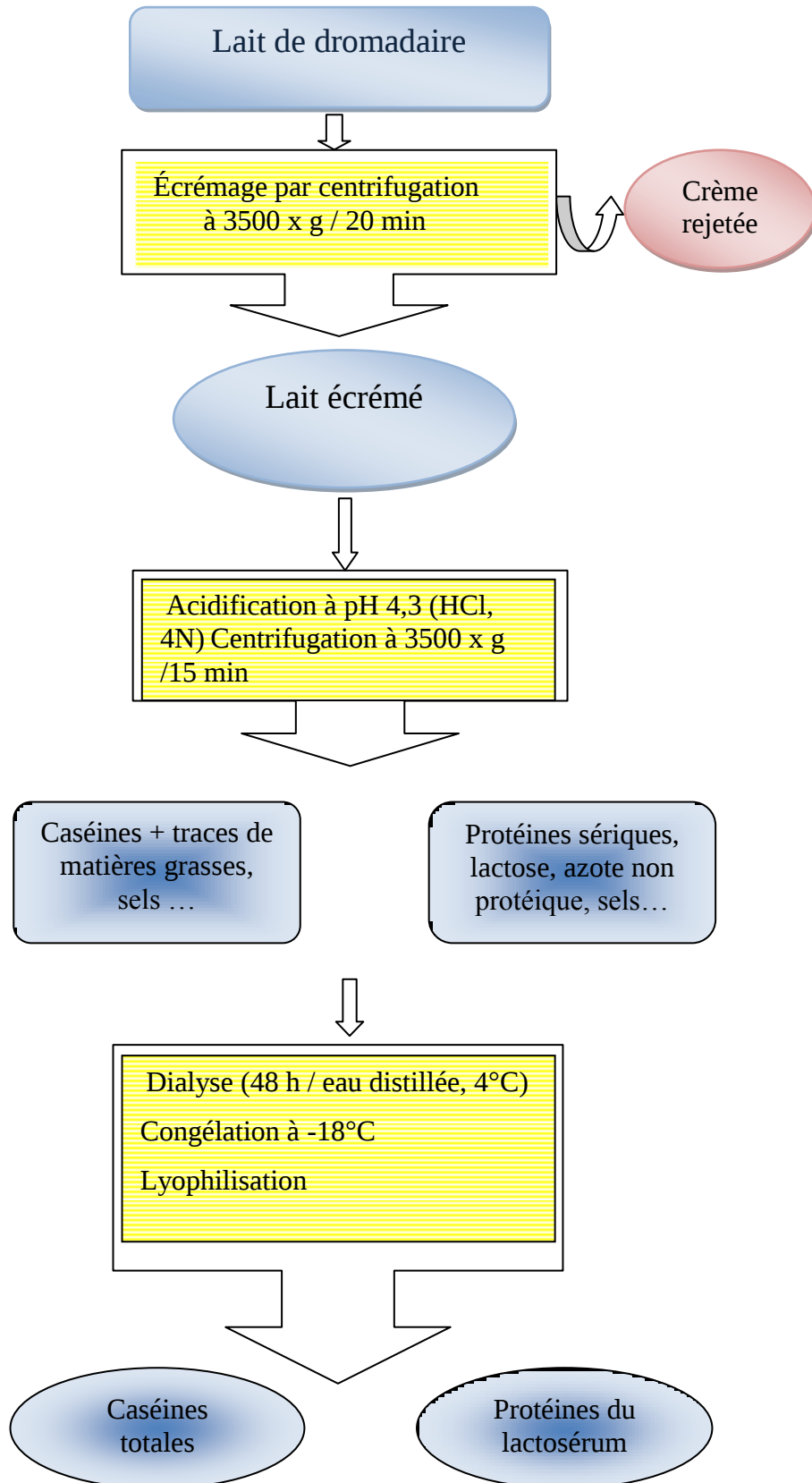


Figure 6 : Protocole d'isolement, selon SHAMET *et al* (1992), suivi pour l'isolement des caséines et des protéines sériques, à partir des échantillons de lait de dromadaire collecté dans la région d'El Oued

2.2.3. Extraction des enzymes coagulantes

Les caillettes prélevées au niveau de l'abattoir communal sont acheminées au laboratoire où elles sont lavées à l'eau du robinet, dégraissées, découpées en lanière puis congelées à -18°C. Une partie des caillettes est préalablement débarrassée de sa muqueuse.

2.2.3.1. Extraction

L'extraction des enzymes est réalisée selon le protocole préconisé par VALLES et FURET (1977), (Figure 7) aussi bien sur les caillettes entières que celles débarrassées de leur muqueuse.

Après décongélation, les caillettes, de poids (P), subissent une macération dans une solution (HCl 0,2 N) tel que le volume d'acide chlorhydrique utilisé sera égal à $(1,25 \times P)$ ml. Le mélange est porté à 42°C pendant 60 min avec agitation par intermittence. Le mélange est alors filtré à travers un filtre de verre poreux pour obtenir un extrait brut total (annexe XI).

2.2.3.2. Clarification des extraits

Pour avoir une solution protéique claire, débarrassée de différentes impuretés, l'extrait brut obtenu est additionné, d'une solution molaire de sulfate d'aluminium ($Al_2(SO_4)_3$), à raison de 1% et d'une solution molaire de sulfate di-sodique (Na_2SO_4), à raison de 5%. Le mélange est ensuite filtré à travers le papier Wathman. Au filtrat de poids P' (prime) résultant, correspondra une activité coagulante (UP/g).

Le rendement d'extraction R est défini comme étant le nombre d'unités coagulantes contenues dans l'extrait clarifié provenant de 1g de caillette mis en œuvre (VALLES et FURET, 1977).

2.2.3.3. Concentration des extraits clarifiés

Dans les trois heures qui suivent la filtration, l'extrait purifié de poids P est additionné à raison du double de son poids (2P) d'une solution saturée de chlorure de sodium (NaCl) et 1% (V/V) d'acide chlorhydrique concentré HCl (d=1,19).

Le mélange subit une agitation modérée, il est ensuite laissé au repos pendant une heure (1h) puis centrifugé à $2100 \times g$ / 20 min. Le précipité humide qui en résulte est pesé puis re-solubilisé sous agitation dans un volume minimal (de l'ordre de 10%, P/V) d'eau distillée. Le pH de l'ensemble est réajusté à 5,5 avec une solution de phosphate di-sodique 1M.

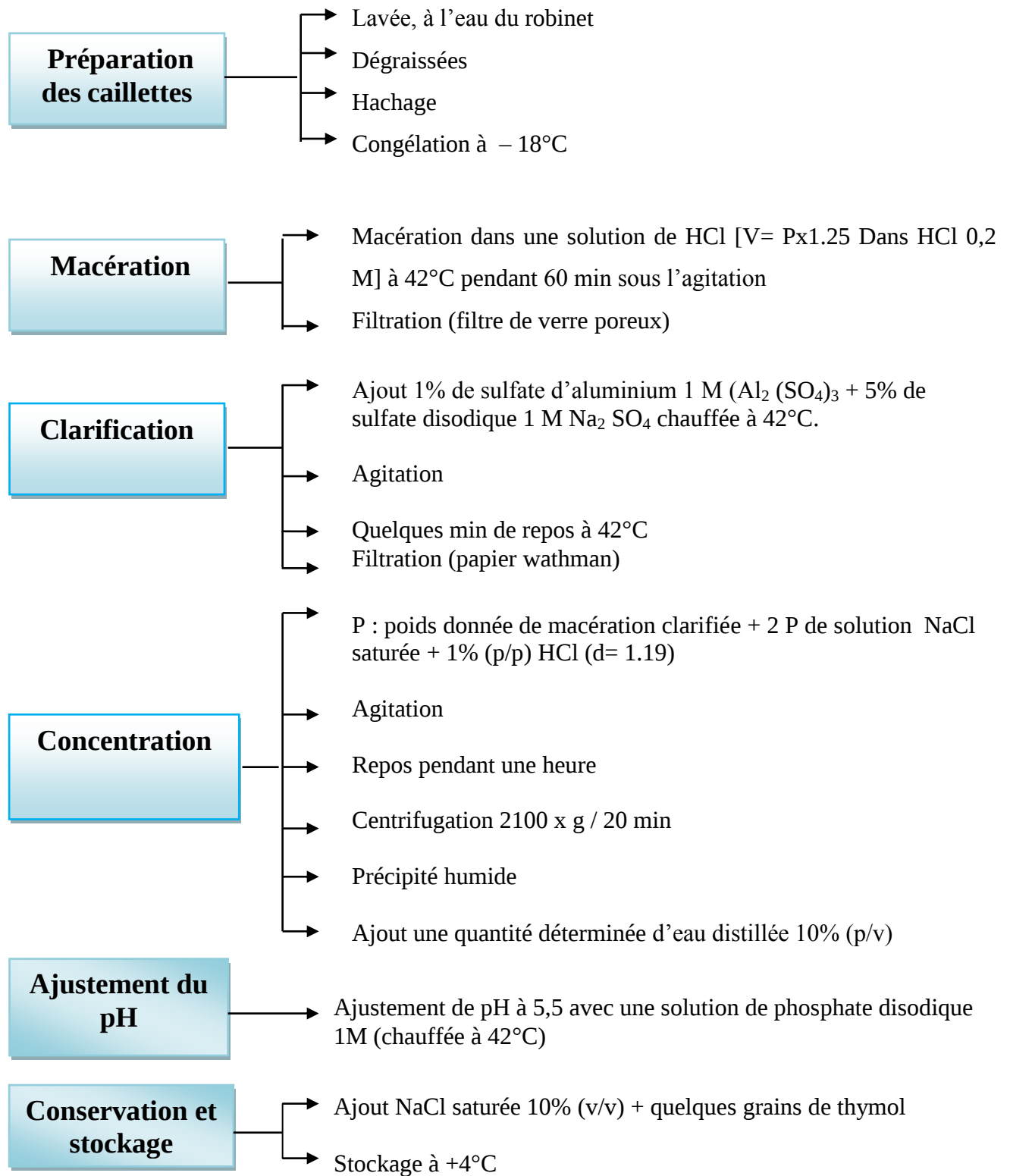


Figure 7 : Protocole d'isolement des extraits enzymatiques à partir des caillottes issues de dromadaires âgés (VALLES et FURET, 1977)

2.2.3.4. Conservation de l'extrait enzymatique

Afin d'évaluer l'effet de la nature de la conservation sur l'extrait enzymatique. Ce dernier, additionné d'une solution de NaCl saturée à raison de 10 % (V/V) et de quelques grains de thymol, est conservé selon les différents modes suivants :

- entreposage à température ambiante (de 20 à 30°C environ) ;
- réfrigération (à + 4°C) ;
- congélation (à – 20°C) ;
- lyophilisation.

Concernant le dernier type (lyophilisation), des extraits présentant des activités coagulantes différentes ont été conservés (annexe XII).

2.2.3.5. Constitution des lots expérimentaux

En fonction du type de caillette (avec/sans muqueuse) et des traitements de conservation, nous avons obtenu 8 lots d'extraits coagulants gastriques camelins (Tableau V).

Tableau V: Désignation des différents lots expérimentaux

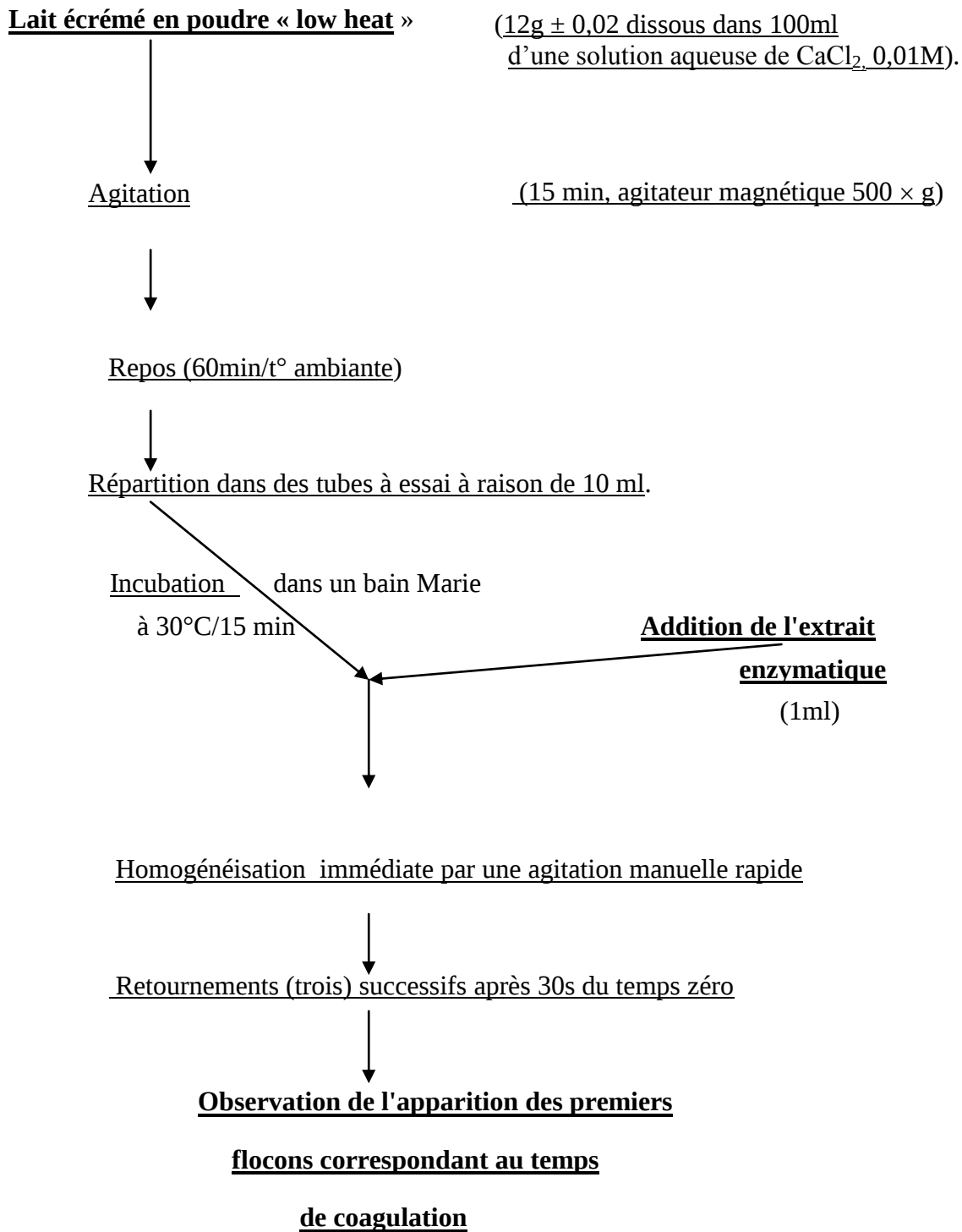
N° du lot	Type de caillette	Traitement de conservation
1	Sans muqueuse	Température ambiante
2		Réfrigération
3		Congélation
4		lyophilisation
5	Avec muqueuse	Température ambiante
6		Réfrigération
7		Congélation
8		lyophilisation

2.2.4. Caractérisation des extraits coagulants

2.2.4.1. Activité coagulante

L'activité coagulante est mesurée selon la méthode de BERRIDGE (1945) modifiée par COLLIN *et al* (1977), (Figure 8).

Elle consiste à ajouter 1 ml de la préparation enzymatique obtenue (selon le type de cailllette et le mode de conservation) à 10 ml de substrat standard (solution de poudre de lait bovin). Le temps de coagulation équivaut au temps d'apparition des premiers flocons.



**Figure 8 : Mesure du temps de coagulation par la méthode de BERRIDGE (1945)
modifié par COLLIN *et al* (1977)**

Il est relié à l'activité coagulante, exprimée en unité présure, par la relation :

$$UP = \frac{10xV}{TcxQ}$$

Où :

UP : unité présure ;

V : volume de substrat standard utilisé ;

Q : volume d'extrait coagulant ;

Tc : temps de coagulation.

2.2.4.2. Activité protéolytique

La mesure de l'activité protéolytique des extraits coagulants de dromadaire (ECD) est fondée sur l'intensité de la protéolyse des caséines camelines en solution sous l'action enzymatique de ces extraits (LENOIR, 1997). 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 %, utilisé pour arrêter la réaction enzymatique. La teneur en peptides dans le milieu est appréciée par la mesure de l'absorbance à 280 nm, en utilisant le spectrophotomètre UV-visible.

La quantité en peptides du filtrat obtenu est proportionnelle à l'activité protéolytique des extraits coagulants de dromadaire (ECD).

La procédure de mesure de l'activité protéolytique passe par les étapes suivantes de préparation de l'enzyme et de son substrat :

2.2.4.2.1. Préparation du substrat

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

2.2.4.2.2. Ajustement de l'activité coagulante

Cette étape consiste à ajuster l'activité des extraits coagulants avec le lait de chamelle pour obtenir un temps de coagulation proche de 15 min.

2.2.4.2.3. Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique est réalisée par l'incubation de 1ml d'extrait coagulant dilué additionné 1ml de substrat caséinique à 2% au bain marie à 35 °C pendant 60 min.

2.2.4.2.4. Blocage de la réaction enzymatique

Cette étape est réalisée par l'ajout au milieu réactionnel de 5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 12% final (P/V).

2.2.4.2.5. Mesure de la protéolyse

Le mélange subit à une filtration à travers un papier filtre Wathman n° 20 pour éliminer les protéines et polypeptides non hydrolysés. Ne subsistent en solution que les peptides de faible poids moléculaire. Après décantation, la densité optique est lue à 280 nm.

2.2.5. Analyses statistiques

Afin d'essayer de voir l'impact des résultats obtenus, nous avons déterminé le niveau de corrélation entre ces derniers par l'analyse des composants principales (ACP) en utilisant le logiciel xl- stat.

III. Résultats et discussions

3.1. Qualité hygiénique et physico-chimique du lait de dromadaire collecté

L'état de relative fraîcheur du lait de dromadaire collecté a été évalué, d'une part par l'estimation de sa charge en micro-organismes mésophiles et d'autres par la mesure du pH et de l'acidité titrable exprimée en Dornic (°D).

3.1.1. Estimation de la flore mésophile totale

L'activité métabolique des bactéries présentes dans le lait s'apprécie par la modification du potentiel d'oxydoréduction dû au pouvoir réducteur de certaines espèces microbiennes (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981). Ainsi, la rapidité de la décoloration du bleu de méthylène est directement proportionnelle au nombre des germes présents (LARPENT, 1997) (annexe XIII).

En général, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain, le lait contient peu de micro-organismes (moins de 1000 germes / ml). Cependant, au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, il peut être contaminé par une grande variété de micro-organismes qui peuvent s'y développer abondamment en entraînant par leur action des modifications de texture et de goût (RICHARD et DESMASEAUD, 1997 ; GUIRAUD, 1998).

L'estimation de la flore mésophile par le test sommaire de la réductase a montré, pour l'ensemble des échantillons analysés, correspondant au lait de dromadaire collecté dans la région d'El Oued, que la décoloration du bleu de méthylène a lieu à des durées supérieures à 4 heures. Ce lait, qui pourrait avoir de ce fait une charge microbienne comprise entre 2×10^5 et 2×10^6 bactéries / ml (LARPENT, 1970), peut être considéré comme ayant une bonne qualité hygiénique.

Notons que les échantillons de lait testé subissent un refroidissement précoce (congélation) avant leur analyse, ce qui retarde considérablement, selon LARPENT (1997), la durée de réduction des colorants. FAYE et LOISEAU (2002), estiment toutefois que le refroidissement freine la croissance bactérienne mais n'élimine pas les micro-organismes présents dans le lait. Ce traitement favorise par contre la prédominance des bactéries psychrotrophes, peu réductrices, qui secrètent des enzymes protéolytiques, à l'origine de la détérioration des aptitudes à la transformation du lait (PETRANSXIENNE et LAPIED, 1981).

Les teneurs élevées en facteurs antibactériens (Lactoferrine, Lactoperoxydase et Lysozyme) sont des facteurs qui confèrent au lait de chamelle une capacité particulière à se conserver plus longtemps (quelques jours), de plus à des températures ambiantes relativement plus élevées (généralement supérieures à 25 °C), comme celles ayant cours dans les régions désertiques. L'ensemble de ces protéines sériques sont en outre peu sensibles à l'action de la

chaleur quand le traitement appliqué ne dépasse pas 85°C (FARAH, 1986 ; EL-AGAMY, 2000a).

L'étude réalisée par BARBOUR *et al* (1984) met en évidence l'inhibition des bactéries pathogènes par le lait camelin. AL-MOHIZEA *et al* (1994), en s'appuyant sur la numération de quatre groupes de micro-organismes (flore aérobie totale, psychrotrophes, coliformes et bactéries sporulantes) déduisent que la qualité hygiénique du lait camelin est satisfaisante. YAGIL *et al* (1994) soutiennent que la pasteurisation du lait de chamelle n'est pas indispensable si tous les dromadaires du troupeau sont en bonne santé.

L'activité antimicrobienne du lait camelin, due à la synergie des effets précédemment cités, confère au lait camelin une bonne aptitude à la conservation, mais se répercute négativement sur ses aptitudes à la transformation en produits dérivés (RAMET, 1994 ; KAMOUN, 1995 ; ABU-TARBOUSCH *et al*, 1998).

3.1.2. Mesure de quelques paramètres physico-chimiques

L'état de fraîcheur du lait collecté et utilisé dans cette étude a été aussi évalué en mesurant son pH, son acidité totale ainsi que sa densité. Les résultats rapportés sur le tableau VI correspondent à la moyenne de trois échantillons.

Tableau VI : Mesure du pH, de l'acidité titrable et de la densité des échantillons du lait de dromadaire collecté dans la région d'El Oued

Paramètres physico-chimiques	moyenne	Ecart-type
pH (à 20 °C)	6,65	0,132
Acidité titrable (°D)	21,3	1,44
Densité	1,027	0,006

3.1.2.1. Mesure du pH et de l'acidité titrable

Le pH du lait est dû en grande partie aux groupements acides et basiques ionisables des protéines, aux groupements esters phosphoriques des caséines et aux acides phosphorique et citrique (MATHIEU, 1998). Sa diminution est le fait de bactéries lactiques qui, en dégradant le lactose par la voie glycolytique d'EMBDEN-MEYERHOFF vont produire de l'acide lactique (LARPENT, 1997).

Le pH du lait collecté à partir de chameaux implantés dans la région d'El-oued est de l'ordre de $6,65 \pm 0,132$. Ces résultats se différencient quelques peu de ceux rapportés par

SIBOUKEUR (2007) qui sont relatifs aux mesures opérées sur des laits collectés dans la région de Ouargla. Cependant, ils sont assez comparables à ceux d'autres auteurs, notamment KAMOUN (1990, 1994 et 1995) qui donne des valeurs respectives de 6,52 ; 6,53 et 6,51.

Concernant l'acidité, la moyenne des mesures effectuées est de $21,3 \pm 1,44$ °D. SIBOUKEUR (2007) a trouvé pour ses échantillons une acidité de l'ordre de 18°D, alors que KAMOUN (1990 ; 1995) a rapporté quant à lui des valeurs plus faibles se situant autour de 15°D.

Il est à relever que globalement, comme l'ont souligné différents auteurs (KAMOUN 1989, 1990 et MATI 1999), que le pH du lait camelin est légèrement plus acide que celui mesuré sur le lait bovin, ce qui a été vérifié pour les échantillons que nous avons analysés. Selon YAGIL *et al*, (1994) ainsi que RIAD (1995), cette acidité est corrélée aux teneurs plus élevées (de l'ordre de 50 mg/l) en Vitamine C présente dans le lait de dromadaire, par rapport au lait de référence (environ 20 mg/ l).

Notons que le fait que le lait camelin, qui est 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 (ABU-TARBOUSH, 1996).

3.1.2.2. Mesure de la densité

La densité du lait (D20/20) est exprimée par le rapport des masses d'un même volume de lait et d'eau à 20 °C (SERRES *et al*, 1969).

La densité des échantillons du lait de dromadaire analysé est égale en moyenne à $1,027 \pm 0,006$. Cette valeur est globalement comparable à celle signalée par différents auteurs qui mentionnent des valeurs comprises entre 1,023 et 1,028. Ces valeurs sont plus faibles que celles enregistrées sur le lait bovin (MOHAMED *et al*, 1989 ; KAMOUN, 1990, 1995).

3.1.2.3. Dosage des protéines totales

Le dosage de protéines du lait de dromadaire collecté et utilisé pour cette étude a été réalisé par la méthode de LOWRY *et al* (1951), en utilisant l'albumine sérique bovine comme protéine étalon (figure 09). La teneur en protéine des échantillons se situe à une valeur moyenne de 24,3 g/l. Comparée aux données bibliographiques, cette valeur paraît inférieure à celles rapportées par KAMOUN (1990 et 1995) qui donne des valeurs de $27,6 \pm 1,1$ g/l et $34,3 \pm 4,4$ g/l. Par contre, D'autres auteurs signalent des teneurs plus faibles 23,67g /l pour ELLOUZE et KAMOUN (1989) et 21,84g/l pour SAIDI *et al* (1999).

Ces variations sont sous l'influence tant des facteurs extrinsèques liés à l'animal (alimentation, climat, saison, conduite du troupeau...) que des facteurs intrinsèques (race, âge, stade de lactation, nombre de mise bas ...).

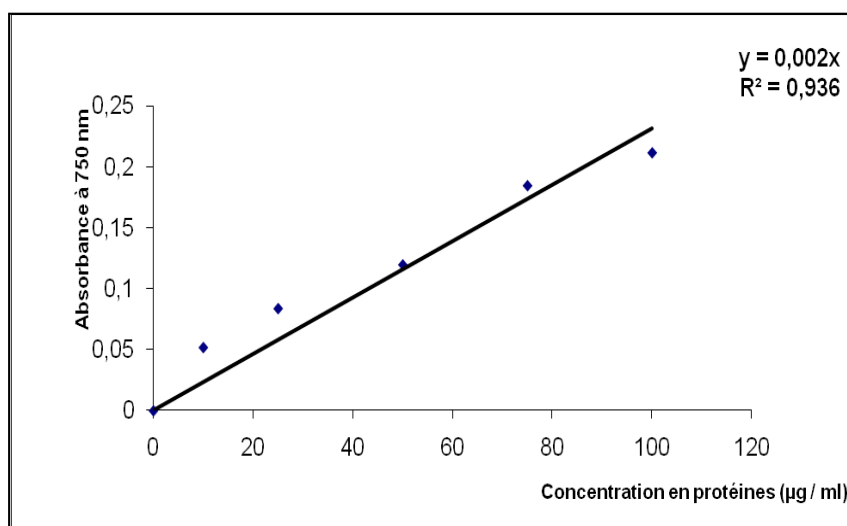


Figure 09 : Courbe d'étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY et al (1951). L'albumine sérique bovine (BSA) est utilisée comme protéine étalon ; R : coefficient de corrélation

3.2. Caractérisation des extraits coagulants

Afin de déterminer le rendement d'extraction de chaque caillotte (tableau VII), il nous fallait connaître les poids de ces dernières utilisées pour chaque expérimentation. Le poids mesuré de la première caillotte, dont on a éliminé la muqueuse (caillotte A), est de 215,2 g ; la deuxième caillotte, qui est préparée avec muqueuse (caillotte B), a donné un poids de 225,63 g. Les précipités humides ont été évalués respectivement à 3,94 et 7,05 g. De ce fait, Les rendements d'extractions des enzymes coagulants ont été estimés à 1,8% pour la caillotte A et 3 % pour la caillotte B.

Concernant la mesure de la teneur en protéines de ces extraits, Les différentes préparations ont donné des valeurs égales à 807,5 et 735 µg/ ml, respectivement pour les caillotte A (sans muqueuse) et B (avec muqueuse).

La teneur plus élevée en protéines dans le cas de la caillotte A s'expliquerait par un meilleur enrichissement du milieu, en procédant à l'élimination de la muqueuse qui contient aussi des composés non protéiques tels les mucopolysaccharides.

Tableau VII : Quelques paramètres concernant les caillettes de dromadaires : sans muqueuse (caillette A) et avec muqueuse (caillette B)

	Caillette A (caillette sans muqueuse)	Caillette B (caillette avec muqueuse)
Poids de caillette (g)	215,2	225,63
Poids de précipité humide (g)	3,94	7,05
Rendement (%)	1,8	3

3.2.1. Activité coagulante des lots d'ECD en fonction du traitement administré aux caillettes (avec ou sans muqueuse)

Les activités coagulantes mesurées pour les deux types de préparations (avec ou sans muqueuse) ont donné les résultats suivants :

Caillette sans muqueuse (ECD_A) = $0,101 \pm 0,004$ UP

Caillette avec muqueuse (ECD_B) = $0,081 \pm 0,003$ UP

Ce résultat est de nature à suggérer que les protéines coagulantes ne seraient pas situées au niveau de la muqueuse.

3.2.2. Evolution des activités enzymatiques des extraits en fonction du mode de conservation

3.2.2.1. Effet de l'entreposage à température ambiante

3.2.2.1.1. Evolution de l'activité coagulante

Afin de mieux apprécier les tendances enregistrées aux niveaux des différentes activités (résultats présentés en Annexe XIV à XXI), nous avons subdivisé ces dernières en trois périodes :

- la première période s'étale entre S_0 et $S_0 + 7$;
- la deuxième période s'étale entre $S_0 + 8$ et $S_0 + 18$;
- la troisième période s'étale entre $S_0 + 19$ et $S_0 + 23$.

Pour la première période, les deux types de caillettes (A et B) se caractérisent en générale par des valeurs relativement élevées qui sont respectivement $0,081 \pm 0,003$ UP et $0,101 \pm 0,004$ UP. Les valeurs mesurées sont consignées dans le tableau (annexe XIV).

L'évolution de cette activité en fonction du temps de conservation fait apparaître (figure 10) que celle-ci est optimale dans la deuxième période (entre la 8^{ème} et la 18^{ème}

semaine). Néanmoins, les activités enregistrées avec ce mode de conservation sont dans l'ensemble relativement faibles aussi, bien pour la caillette A ou B.

3.2.2.1.2. Evolution de l'activité protéolytique

Nous observons (figure 11) que l'activité protéolytique développée à température ambiante (25°C) au cours du temps a un comportement assez similaire entre les deux types de caillettes où nous constatons que les valeurs mesurées sont relativement faibles. Toutefois, aux valeurs les plus élevées, nous notons que celles ayant une muqueuse (ECD_B) présentent l'activité protéolytique la plus basse ($0,384 \pm 0,030$ contre $0,48 \pm 0,000$ Pour les ECD_A).

3.2.2.2. Effet de la réfrigération

3.2.2.2.1. Evolution de l'activité coagulante

D'après les résultats illustrées par les histogrammes de la figure 12, nous relevons que l'activité coagulante des ECD_A diminue progressivement avec le temps de conservation sous forme réfrigérée jusqu'à devenir pratiquement nulle après la septième semaine (S0+6). Par contre, les activités coagulantes des ECD_B augmentent au fur et à mesure du temps de conservation jusqu'à ce qu'elles atteignent une valeur maximale d'UP= $0,138 \pm 0,000$. à la 21^{ème} semaine. Ce phénomène peut être expliqué par l'activation tardive des enzymes contenus dans la muqueuse. Les travaux de SIDOUKI *et al* (2005), confirment que les enzymes coagulants sont sécrétés en premier temps sous forme inactive (prochymosine et pepsinogène) puis se transformeront en milieu acide en chymosine et pepsine respectivement.

Apparemment, les ECD_A réfrigérés sont désactivés après deux mois de conservation. Ce résultat n'est pas corrélé à celui de RAMET (1994) qui trouve que les extraits coagulants bovins préparés sans la muqueuse gardent leur activité maximale pendant trois mois au réfrigérateur.

3.2.2.2.2. Evolution de l'activité protéolytique

Concernant l'activité protéolytique des deux extraits observent une même évolution (figure 13). Néanmoins, nous enregistrons une activité plus réduite pour les ECD_B (à la 14^{ème} semaine) ($0,34 \pm 0,050$ contre $0,37 \pm 0,018$ pour les ECD_A).

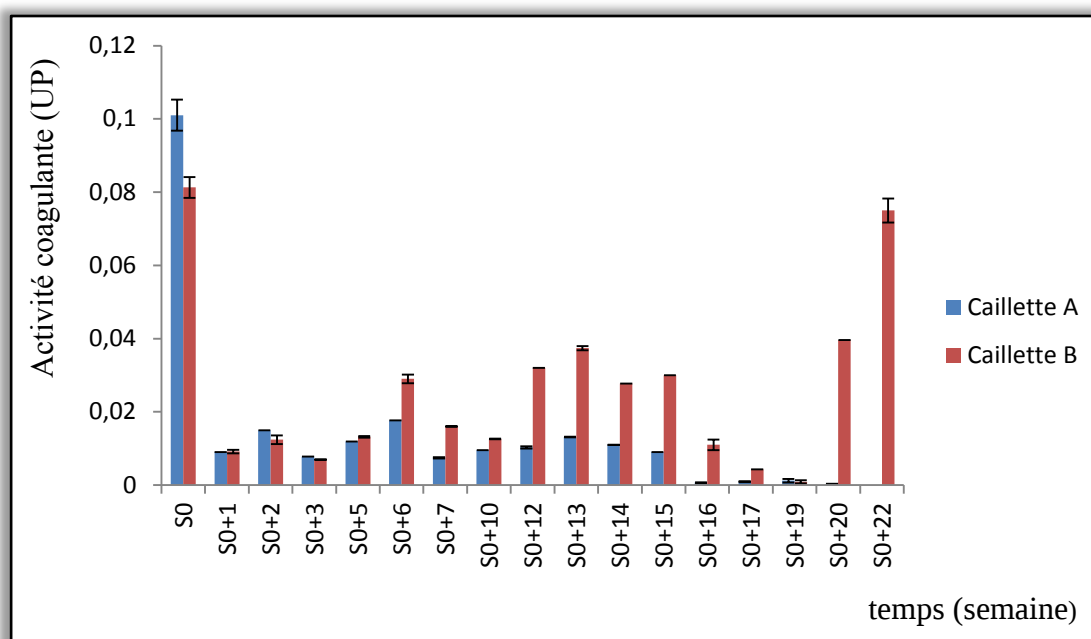


Figure 10 : Evolution de l'activité coagulante (UP) des caillette A et B en fonction du temps d'entreposage à température ambiante (environ 25 °C)

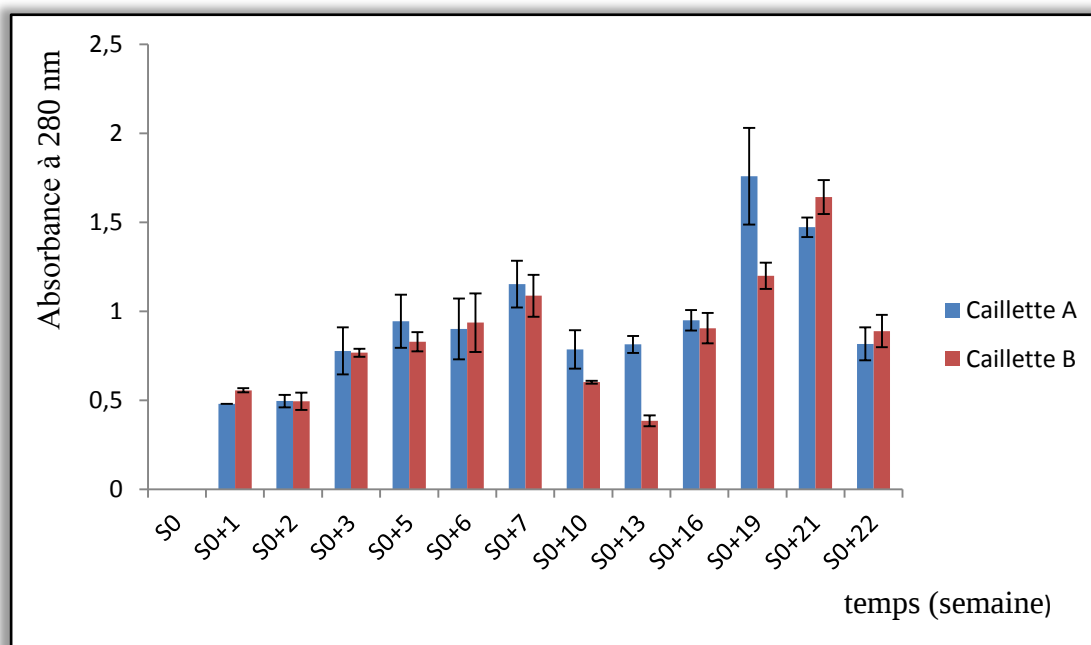


Figure 11 : Evolution de l'activité protéolytique (AP) des caillette A et B en fonction du temps d'entreposage à température ambiante (25°C)

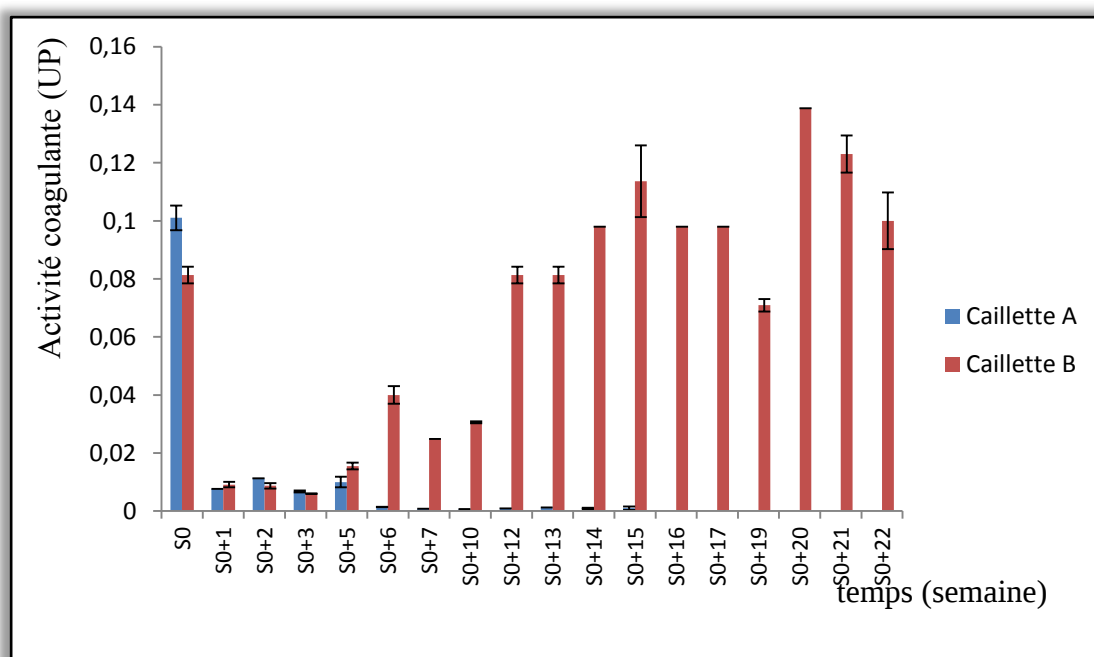


Figure 12: Evolution de l'activité coagulante (UP) des caillette A et B en fonction du temps d'entreposage au réfrigérateur (+4°C)

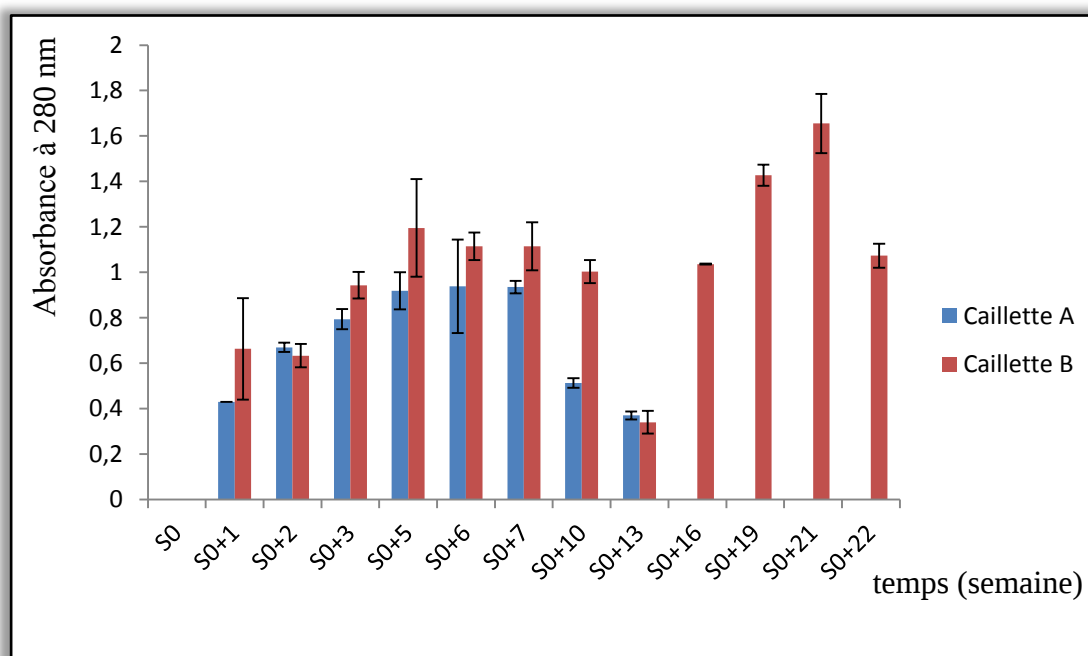


Figure 13 : Evolution de l'activité protéolytique (AP) des caillette A et B en fonction du temps d'entreposage au réfrigérateur (+4°C)

3.2.2.3. Effet de la congélation

3.2.2.3.1. Activité coagulante

La figure 14 montre que l'évolution de l'activité coagulante des extraits en fonction du temps de congélation est assez similaire entre les deux caillettes où nous notons que la deuxième période présente une activité coagulante optimale. Cette méthode de conservation semble être appropriée pour préserver l'action particulière des enzymes présentes. Cette tendance a d'ailleurs été signalée par VALLES et FURET (1981) qui ont trouvé que les solutions bovines de pepsine A et de présure commerciale conservées à -28°C donnaient des valeurs d'UP respectivement égales à (0,333 UP à 370 jours) et (0,298 UP à 410 jours). Dans cet essai, la pepsine A est celle qui a donné l'activité la plus élevée par rapport à pepsine B et la chymosine.

3.2.2.3.2. Activité protéolytique

L'évolution de cette activité, consignée sur la figure 15, est assez comparable selon l'origine des caillettes considérées. Les valeurs les plus faibles (donc les plus recherchées) sont données par les ECD_A ($0,44 \pm 0,000$) après une semaine de congélation et les ECD_B ($0,446 \pm 0,041$) après la quatorzième semaine. Nous remarquons aussi que la troisième période est celle où l'activité protéolytique est la plus intense.

3.2.2.4. Effet de la lyophilisation

3.2.2.4.1. Activité coagulante

La figure 16 qui montre l'évolution des extraits au cours de la conservation à l'état lyophilisé présentent des valeurs d'activité coagulante faibles qui diminuent brusquement avec le temps.

Ce procédé, qui est indiqué pour préserver l'altération des produits biologiques, notamment contre l'attaque des micro-organismes de contamination, du fait de la réduction de l'activité d'eau du milieu, altère l'activité enzymatique des extraits, probablement en induisant des changements de conformations néfastes, durant la phase de congélation / sublimation.

3.2.2.4.2. Activité protéolytique

Ce procédé présente une faible influence sur la qualité de la préparation enzymatique que ce soit les ECD_A ou les ECD_B tout au long de leur conservation (figure 17). Les meilleurs

résultats sont enregistrés au bout de la 15^{ème} semaine pour les extraits issus des deux types de caillettes : $(0,391 \pm 0,012)$ pour les ECD_B et $(0,423 \pm 0,055)$ pour les ECD_A.

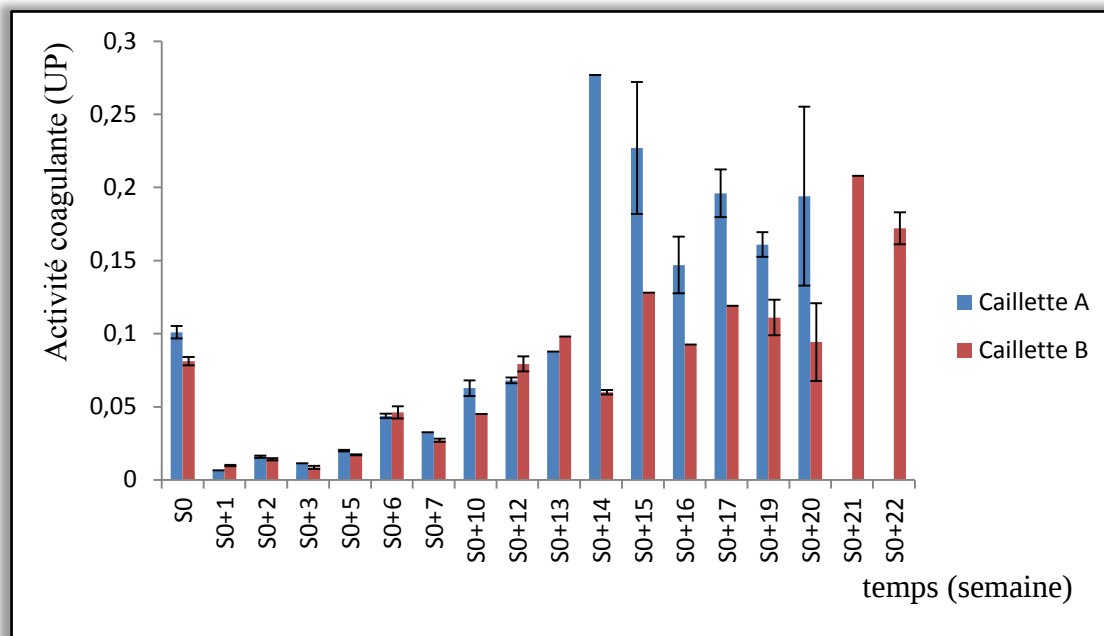


Figure 14 : Evolution de l'activité coagulante (UP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation au congélateur (-20°C)

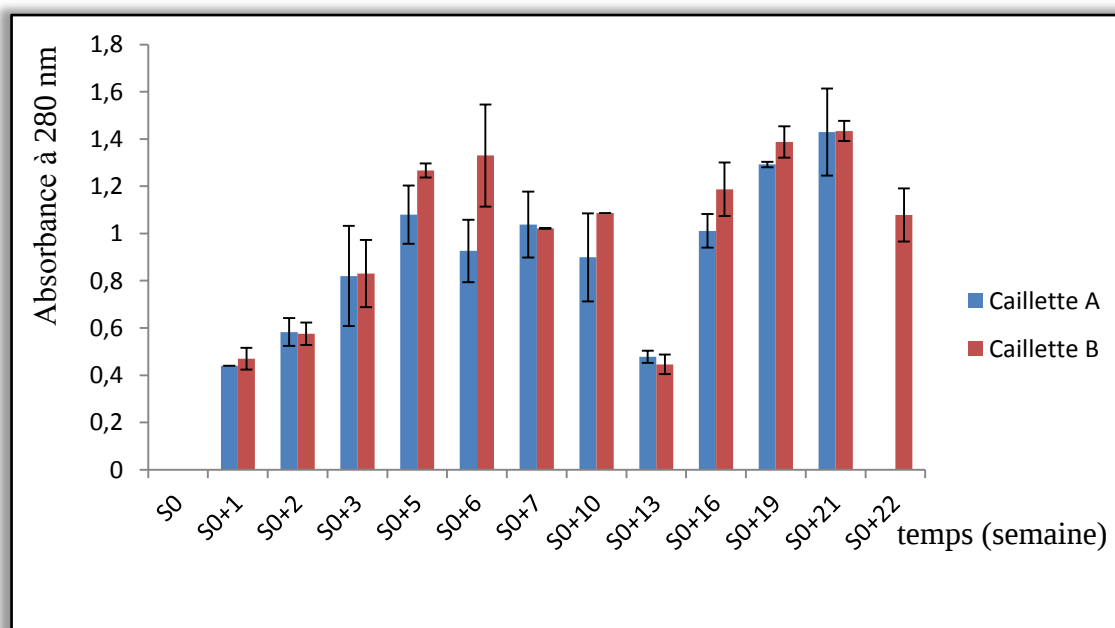


Figure 15 : Evolution de l'activité protéolytique (AP) des cailllette A et B en fonction du temps de conservation au congélateur (-20°C)

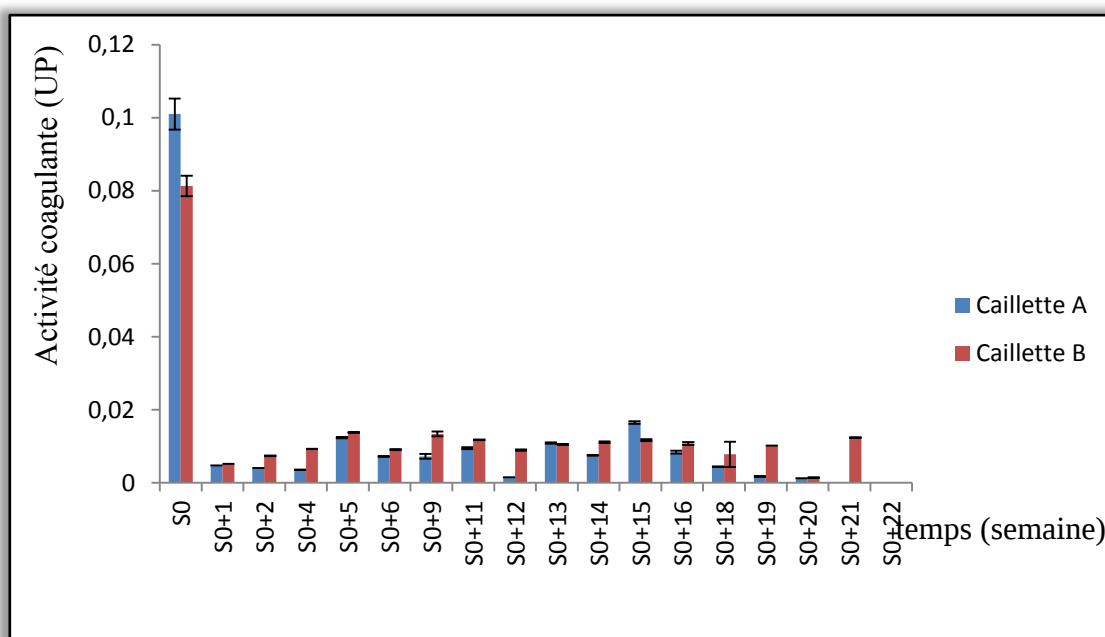


Figure 16 : Evolution de l'activité coagulante (UP) des caillette A et B en fonction du temps de conservation à l'état lyophilisé

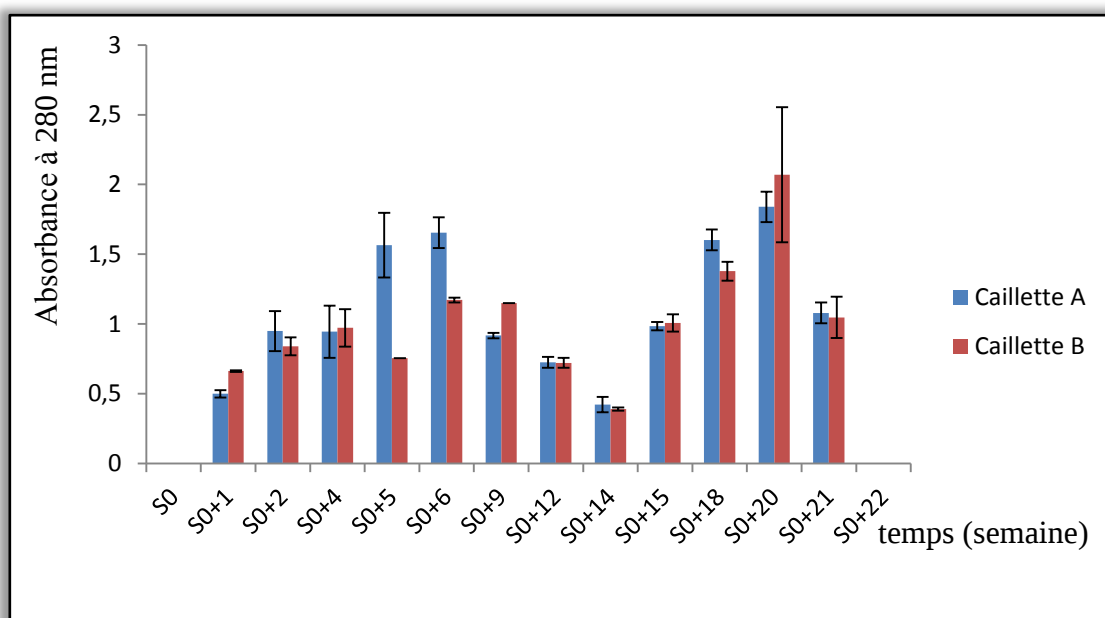


Figure 17 : Evolution de l'activité protéolytique (AP) des caillette A et B en fonction du temps de conservation à l'état lyophilisé

3.2.3. Analyse statistique des résultats

3.2.3.1. Analyse des variances

Dans le but de tirer les conclusions les plus appropriées sur ces différents modes de conservation, nous avons procédé à une analyse statique des résultats obtenus.

De l'analyse des variances (tableau VIII, IX), nous pouvons déduire que le temps de conservation et le type de la préparation enzymatique influent de façon hautement significative (HS) alors que le mode de conservation influe de façon très hautement significative (THS). A cet effet, il est important de mentionner que parmi les différents modes de conservation testés, nous avons enregistré la plus grande valeur de l'activité coagulante pour les caillotte A (sans muqueuse) après 15 semaines de congélation ($0,277 \pm 0,000\text{UP}$), correspondant à la 2^{ème} période de conservation. Durant cette période, les ECD_B ont une activité protéolytique la plus faible quand ils sont conservés au réfrigérateur à + 4°C. Ces deux extraits ainsi choisis seraient les plus indiqués pour la transformation fromagère du lait au niveau industriel, particulièrement au niveau de la phase de coagulation.

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

	Probabilité	DDL (K1)	Variab e résiduel (K2)	F observ é	F théoriqu e ($\alpha = 5$ %)	F théoriqu e ($\alpha = 1$ %)	F théoriqu e ($\alpha = 0,1$ %)	Significatio n
Temps de conservation (période)	0,0078	2	23	6,04	3,42	5,66	9,47	HS
Type de préparation enzymatique	0,0048	1	23	9,75	4,28	7,88	14,2	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 IX: Analyse de variance multi factorielle sur l'activité protéolytique (AP)

	Probabilité	DDL (K1)	Variab le résiduel (K2)	F observ é	F théoriqu e ($\alpha = 5\%$)	F théoriqu e ($\alpha = 1\%$)	F théoriqu e ($\alpha = 0,1\%$)	Significatio n
Temps de conservation (période)	0,0000	2	23	307,68	3,42	5,66	9,47	THS
Type de préparation enzymatique	0,0094	1	23	7,97	4,28	7,88	14,2	HS
Mode de conservation	0,0000	3	23	20,80	3,03	4,77	7,67	THS

HS : hautement significative ; THS : très hautement significative

Par ailleurs, les analyses statistiques (annexe XXII) montrent que les ECD_A congelés et les ECD_B réfrigérés appartiennent au même groupe sur le plan de l'activité protéolytique. D'où possibilité d'utiliser l'un à la place de l'autre sans effets néfastes. Dans ce cas, les ECD_A congelés seront éventuellement les extraits à sélectionner préférentiellement.

De même, la deuxième période de conservation apparaît comme une période optimale qui contient la plupart des meilleurs résultats sur les deux plans soit d'activité coagulante ou d'activité protéolytique (annexe XXIII).

Enfin, si la préparation de caillette sans muqueuse est celle qui fournit les meilleures aptitudes à la coagulation, la conservation par congélation est le mode qui préserve le mieux cette activité.

3.2.3.2. Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales (A.C.P.) est une technique statistique permettant de réduire un système complexe de corrélation en un petit nombre de dimension. L'A.C.P. a été appliquée pour explorer la possibilité de différencier les extraits coagulants issus de deux caillettes différentes (avec muqueuse, AM ou sans **muqueuse**, SM), et de contribuer à trouver le meilleur mode **de** conservation (température ambiante (1), réfrigération (2), congélation (3), lyophilisation(4)) dans le temps le plus optimal.

Les variables incluses dans la matrice de données sont au nombre de seize mesurées expérimentalement à savoir l'activité coagulante (AC) et l'activité protéolytique (AP) de caillette A et caillette B pour chaque mode de conservation durant les semaines de conservation.

Selon la matrice de corrélation, nous pouvons déduire que les différentes variables étudiées sont fortement corrélées. Donc, les activités coagulante et protéolytique mesurées

pour chaque mode de conservation présentent une corrélation plus ou moins importante avec le type de la préparation enzymatique en fonction de temps de conservation.

Les deux premiers axes renferment la majorité des informations, car ils rassemblent 72,41 %. Sur ce plan, cinq groupes sont distingués les uns des autres. L'axe 1 contient le groupe E qui représente l'activité coagulante des ECD_A réfrigérés (SMAC2).

L'axe 2 contient le groupe D qui représente l'activité protéolytique des ECD_A réfrigérés (SMAP2). Ces deux groupes (D et E) ont des caractères communs. La seule différence est que le groupe E concerne l'activité coagulante et le groupe D l'activité protéolytique. Autrement dit les ECD_A réfrigérés qui perdent leurs activités coagulante et protéolytique durant leur conservation, ce qui confirme les résultats mentionnés plus haut.

Le groupe B qui existe dans l'axe2, représente l'activité coagulante des ECD_B lyophilisés. Ces extraits sont isolés dans un groupe en raison des effets induits par le traitement lui-même sur l'enzyme.

Par contre les deux autres groupes A et C qui contiennent les autres lots expérimentaux. Le caractère commun dans le groupe A, c'est l'activité coagulante, indifféremment de la préparation enzymatique (caillette A ou caillette B) et du mode de conservation ; alors que l'activité protéolytique regroupe les différents individus (la plupart des individus de deuxième groupe appartiennent au groupe C). La deuxième période apparaît comme période optimale pour préserver le maximum d'activité enzymatique, surtout sur le plan de l'activité protéolytique.

L'analyse de l'A.C.P. confirme ainsi les résultats de l'analyse de variance multifactorielle étant donné que les ECB réfrigérés et les ECD_A congelés appartiennent au même groupe (C).

Tableau X : Tableau récapitulatif des principaux résultats relatifs à la caractérisation des ECD issus de deux types de caillette et stockés selon les quatre modes de conservation (température ambiante, réfrigération, congélation et lyophilisation)

Type de caillette		Première caillette (sans muqueuse)				Deuxième caillette (avec muqueuse)			
Période de conservation	Mode de conservation	UP	semaine	AP	semaine	UP	semaine	AP	semaine
deuxième période	Température ambiante	0,0131	S ₀ +13	0,786	S ₀ +10	0,0374	S ₀ +13	0,384	S ₀ +13
	Réfrigération	0,00127	S ₀ +13	0,37	S ₀ +13	0,1136	S ₀ +15	0,34	S ₀ +13
	Congélation	0,277	S ₀ +14	0,478	S ₀ +13	0,128	S ₀ +15	0,446	S ₀ +13
	lyophilisation	0,0165	S ₀ +15	0,423	S ₀ +14	0,0134	S ₀ +9	0,391	S ₀ +14
Troisième période	Température ambiante	-	-	0,817	S ₀ +22	0,075	S ₀ +22	0,889	S ₀ +22
	Réfrigération	-	-	-	-	0,1388	S ₀ +20	1,073	S ₀ +22
	Congélation	0,194	S ₀ +20	1,292	S ₀ +19	0,208	S ₀ +21	1,078	S ₀ +22
	lyophilisation	-	-	1,08	S ₀ +21	0,0124	S ₀ +21	1,048	S ₀ +21

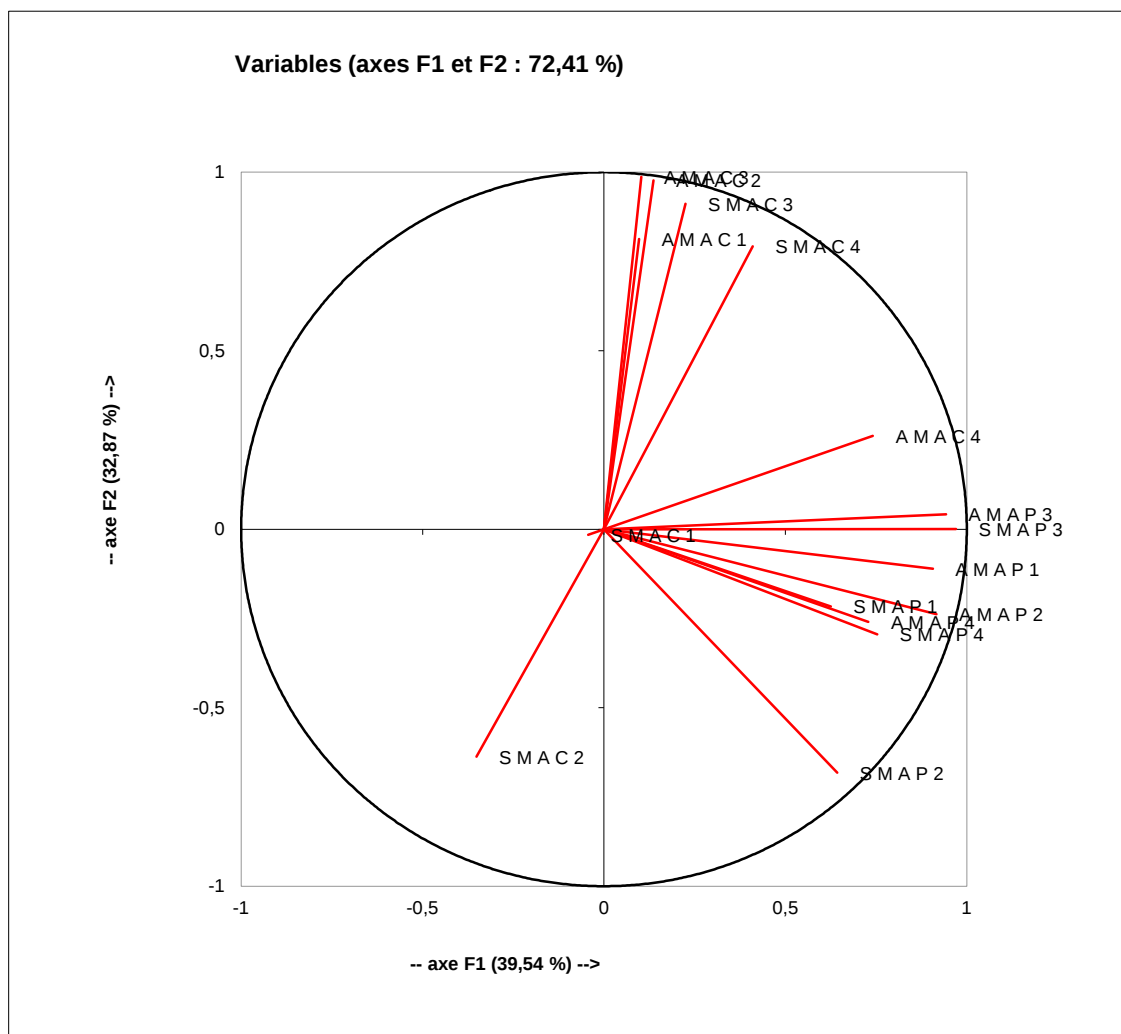


Figure 18 : Analyse en composantes principales des différentes variables étudiés

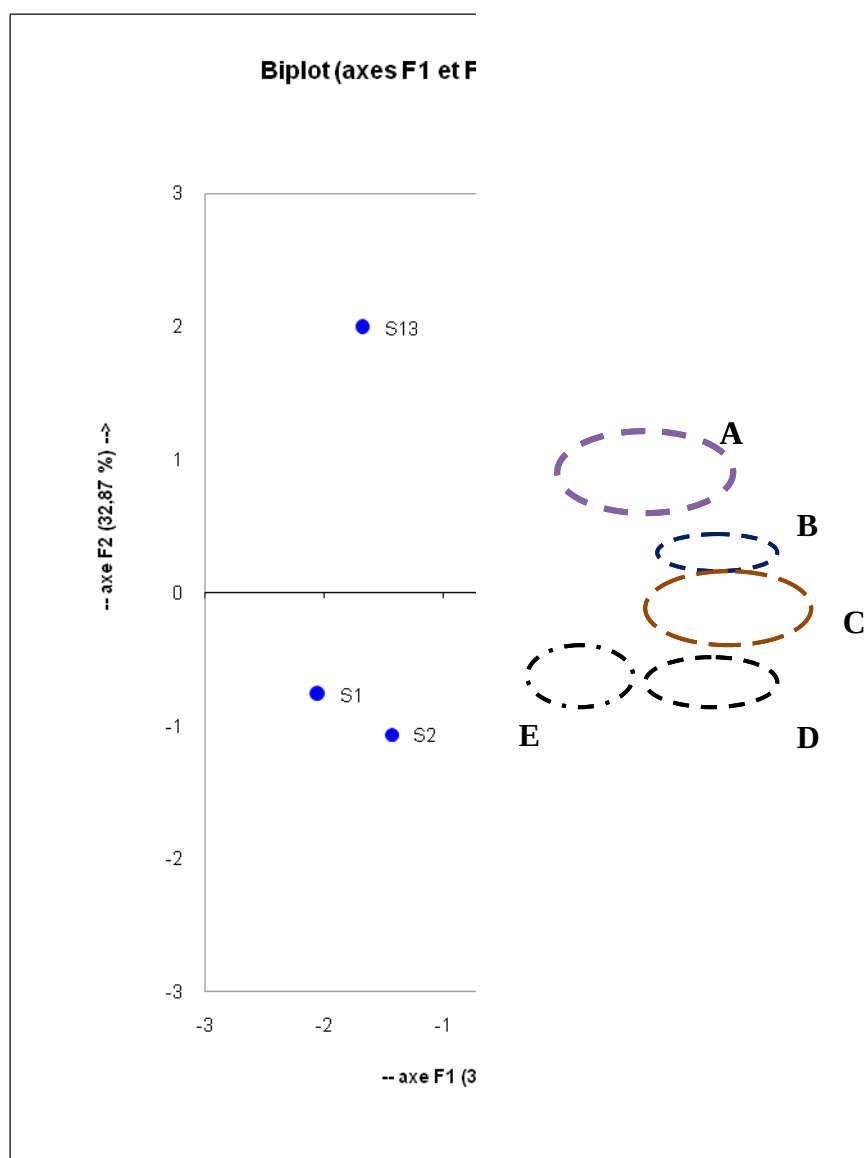


Figure 19 : Combinaison des individus et des différentes variables étudiés

Conclusion

Conclusion

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 tel que le manque d'eau et le manque de pâturages et de plus il est apte à produire un lait de bonne valeur nutritionnelle.

Ce lait, malgré sa richesse et ses vertus, supposées ou établies, est très peu transformé dans le monde en tant que produit dérivé, particulièrement en fromages. Il a en effet des aptitudes à la coagulation limitées, en raison de ses caractéristiques physico-chimiques particulières et de la nature de ses protéines.

Pour essayer d'améliorer un tant soit peu ce volet et permettre ainsi au lait de dromadaire, dont la production est loin d'être négligeable, d'avoir une utilisation plus variée sous forme de dérivés et une disponibilité plus grande dans le temps, plusieurs tentatives ont été menées ces dernières années sur la nature et l'origine de l'enzyme coagulante à utiliser à cette fin.

Ainsi, des travaux récents menés à l'université de Ouargla, ont montré que l'utilisation d'extraits coagulants, issus notamment de caillettes de dromadaires âgés, donnent des activités coagulantes plus intéressantes que celles obtenues dans les mêmes conditions avec la présure commerciale.

Dans ce cadre, nous avons tenté d'apporter, par ce modeste travail, une contribution à l'amélioration de la fromageabilité de ce lait en testant, d'une part, l'aptitude à la coagulation d'enzymes gastriques brutes issues de caillettes (dépourvues ou non de muqueuses) provenant de dromadaires âgés (entre 8 et 9 ans) et, d'autre part, en essayant de déterminer le mode de conservation le plus approprié pour ces préparations enzymatiques.

Concernant les analyses préliminaires réalisées sur le lait de dromadaire collecté, elles ont montré que ce lait possède globalement une bonne qualité hygiénique ayant un pH moyen de $6,65 \pm 0,13$ et une acidité égale à $21,3 \pm 1,44$ °D. Sa densité est de l'ordre de $1,027 \pm 0,006$, alors que la teneur protéique se situe autour de 24,3 g/l.

Les extraits enzymatiques ont été isolés avec des rendements estimés à 1,8% (pour la caquette A : sans muqueuse) et 3% (B : avec muqueuse). Les teneurs protéiques de ces extraits évaluées respectivement à 807,5 et 735 µg/ ml confirment que l'élimination de la muqueuse permet de diminuer aussi la concentration globale en composés non protéiques tels les mucopolysaccharides. L'activité coagulante de l'extrait issu de cette caquette (A) est d'ailleurs le plus élevé : $0,101 \pm 0,004$ UP contre $0,081 \pm 0,003$ UP pour la caquette (B).

L'évolution des activités coagulante et protéolytique des deux types de caillettes a été suivie au cours de leur conservation soit à température ambiante (à 25°C), soit sous forme réfrigérée (à 4°C), soit sous forme congelée (à -20°C) ou enfin sous forme lyophilisée pendant des temps allant à 23 semaines.

La variation de l'activité coagulante en fonction du temps de conservation à la température ambiante a montré que celle-ci est optimale dans la deuxième période (entre la 8^{ème} et la 18^{ème} semaine). Néanmoins, les activités enregistrées, tant coagulantes que protéolytiques, avec ce mode de conservation sont dans l'ensemble relativement faibles. Dans ces conditions, les caillettes à muqueuse (ECD_B) présentent l'activité protéolytique la plus basse ($0,384 \pm 0,030$ contre $0,48 \pm 0,000$ pour les ECD_A).

De même, nous avons pu relever que l'activité coagulante des ECD_A diminue progressivement avec le temps de conservation sous forme réfrigérée jusqu'à devenir pratiquement nulle après la septième semaine (S₀+6). Par contre, les activités coagulantes des ECD_B augmentent au fur et à mesure du temps de conservation jusqu'à atteindre une valeur maximale d'UP = $0,138 \pm 0,000$ à la 21^{ème} semaine. L'activité protéolytique enregistrée dans ces mêmes conditions présente la même évolution pour les deux extraits. Néanmoins, nous enregistrons une activité plus réduite pour les ECD_B (à la 14^{ème} semaine) ($0,34 \pm 0,050$ contre $0,37 \pm 0,018$ pour les ECD_A).

Concernant la conservation sous forme congelée, les résultats obtenus ont montré que l'évolution de l'activité coagulante des extraits est assez similaire entre les deux caillettes où nous notons que la deuxième période présente une activité coagulante optimale. Pour l'activité protéolytique, les valeurs les plus faibles (donc les plus recherchées) sont données par les ECD_A ($0,44 \pm 0,000$) après une semaine de congélation et les ECB ($0,446 \pm 0,041$) après la quatorzième semaine.

Pour la conservation sous forme lyophilisée, les résultats ont montré que les extraits donnaient des valeurs d'activité coagulante faibles qui diminuent brusquement avec le temps.

De l'analyse des variances, nous pouvons déduire que le temps de conservation et le type de la préparation enzymatique influent de façon hautement significative (HS) alors que le mode de conservation influe de façon très hautement significative (THS). Dans ce cadre et parmi les différents modes de conservation testés, nous avons enregistré la plus grande valeur de l'activité coagulante pour les caillette A (sans muqueuse) après 15 semaines de congélation ($0,277 \pm 0,000$ UP), correspondant à la 2^{ème} période de conservation. Durant cette période, les ECB ont une activité protéolytique la plus faible quand ils sont conservés au réfrigérateur à

+ 4°C. Ces deux extraits ainsi choisis seraient les plus indiqués pour la transformation fromagère du lait au niveau industriel, particulièrement au niveau de la phase de coagulation.

Ce résultat est d'ailleurs confirmé par l'analyse en composante principale (ACP) où les différentes variables étudiées sont fortement corrélées.

En effet, cette analyse a montré que les ECD_A congelés et les ECD_B réfrigérés appartiennent au même groupe sur le plan de l'activité protéolytique. De même, la deuxième période de conservation apparaît comme une période optimale qui contient la plupart des meilleurs résultats sur les deux volets liés à l'activité coagulante et protéolytique.

Enfin, si la préparation de caillettes sans muqueuse est celle qui fournit les meilleures aptitudes à la coagulation, la conservation par congélation est le mode qui préserve le mieux cette activité.

Ces résultats, qui répondent à des préoccupations pratiques liées à l'utilisation d'enzymes aux fins de transformations industrielles, particulièrement dans le cas de la mise en œuvre de petites unités laitières à base de lait de dromadaire, sont à compléter par d'autres investigations complémentaires notamment :

- un échantillonnage plus large des caillettes de prélèvement avec une plage d'âge plus variée et de préférence selon la nature de la population en présence ;
- l'utilisation d'extraits purifiés en parallèle aux effets des extraits bruts ;
- essai d'utilisation de ces extraits issus de caillettes de dromadaires sur la coagulation du lait bovin (comme succédané de la présure) ;
- réaliser des essais de fabrication sur le lait de dromadaire seul ou mélangé au lait bovin ; effet des sels rajoutés sur la phase de coagulation.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ABU-TARBOUSH H. M. (1996).** Comparision of associative growth and proteolytic activity of yogourt starters in whole milk from camels and cows. *J. Dairy Sci.*, **79**, 366-371.
- ABU-TARBOUSH H. M., AL-DAGAL M.M. and AL-ROYLI M.A. (1998).** Growth, viability and proteolytic activity of Bifidobacteria in whole camel milk. *J. Dairy Sci.*, **81**, 354-361.
- AGRAWAL R. P., SWANI S. C., BENIWAL R., KOCHAR D. K., SAHANI M. S., TUTEJA F. C. et GHOURI S. K. (2003).** Le lait de chamelle est-il efficace contre le diabète? Effect of camel milk on glycemic control, risk factors and diabetes quality of life in type-1 diabetes: a randomised prospective controlled study. *J. Camel Res. Pract.*, **10**, 45-50. CIRAD.
- ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L. (2008).** Biochimie Alimentaire. Dunod, 6ème Ed., Masson, Paris.
- AL-MOHIZEA I.S., ABU-LEHIA I.H. and EL-BEHERI M. (1994).** Bacterial growth pattern in pasteurized camel's milk. *Egypt. J. Dairy. Sci.*, **22**, 243-252.
- ANONYME (1980).** Analyses mesures préparations. Le laboratoire ITMA. Centre national pédagogique agricole. pp 23.
- ATTIA H., KHEROUATOU N., NASRI M. and KHORCHANI T. (2000).** Characterization of the dromadary milk casein micelle and study of its changes during acidification. *Lait*, **80**, 503-515.
- AUDIGIÉ CL., DUPONT G. et ZONSZAIN F. (1995).** Principes des méthodes d'analyse biochimique. Doin éditeurs, deuxième édition. Paris.
- BAER A., RYBA I. and FARAH Z. (1994).** Plasmin activity in camel milk. *Food Sci. Techn.*, **27**, 595-598.
- BARBOUR E.K., NABBUT N.H., FRERICHS W.N. and AL NAKHLI H.M. (1984).** Inhibition of pathogenic bacteria by camel's milk ; relation to whey lysozyme and stage of lactation. *J. Food Protect.*, **47**, 838-840.
- BAYOUMI S. (1990).** Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. *K. Milchwirtschaftliche Forsch.*, **42**, 3-8.
- BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM H.V., ZAIDI Z.H. and JÖRNVALL H. (1985).** The primary structure of α -Lactalbumin from camel milk. *Eur. J. Biochem.*, **147**, 233-239.
- BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM H.V., ZAIDI Z.H. and JÖRNVALL H. (1986a).** Characterization of a camel milk protein rich in proline identifies a new β -casein fragment. *Regulatory Peptides*, **15**, 55-62.
- BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM H.V., ZAIDI Z.H. and JÖRNVALL H. (1986b).** A camel milk whey protein rich in half-cystine. *Eur. J. Biochem.*, **159**, 195-201.
- BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM H.V., ZAIDI Z.H. and JÖRNVALL H. (1987).** Characterization of a heterogeneous camel milk whey non-casein protein. *Febbs L.*, **216**, 270-274.
- BERGERE J. L. et LENOIR J. (1997).** Les accidents de fromagerie et les défauts des fromages. In « Le fromage » ECK A. et GILLIS J.C. Tec & Doc- Lavoisier. Troisième édition. Paris.

- BERNARD (1997).** Milk production performance of the one humped camel (*Camelus dromedarius*) under pastoral management in semi-arid eastern Ethiopia. *Livestock Prod. Sci.*, **76**, 37-44.
- BERRIDGE N. J. (1952).** An improved method of observing the clotting of milk containing rennin. *J. Dairy Res.*, **19**, 328-332.
- BRULÉ G. et LENOIR J. (1987).** La coagulation du lait. In ANDRÉ ECK. « Le fromage». Deuxième édition (ENV).
- CANTERI G. (1997).** Les levains lactiques. In « Le fromage» ECK A. et GILLIS J.C. Tec & Doc- Lavoisier. Troisième édition. Paris.
- CAYOT P. et LORIENT D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Tec & Doc., Lavoisier, Paris.
- CHEHMA A. (2003).** Productivité pastorale et productivité laitière en Algérie. Lait de chamelle pour l'AFRIQUE. FAO ; Production et Santé Animale, **2**, 43-51.
- CHOISY C. , DESMAZEAUD M. , GRIPON J. C. , LAMBERT G., LENOIR J. (1997).** La biochimie de l'affinage. In « Le fromage» ECK A. et GILLIS J.C. Tec & Doc- Lavoisier. Troisième édition. Paris.
- COLLIN J.C., GRAPPIN R. et LEGREAT Y. (1977).** Etude de la méthode de mesure, selon BERRIDGE, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. *Rev. Lait. Fr.*, **355**, 389-394.
- CONTI A., GODOVAC-ZIMMERMANN J., NAPOLITANO L. and LIBERATORI J. (1985).** Identification and characterization of two α -lactalbumin from Somali camel milk (*Camelus dromedarius*). *Milchwissenschaft*, **40(11)**, 673-675.
- DESMAZEAUD M. J. (1990).** Les enzymes utilisées en industrie laitière ; in: Lait et Produits Laitiers: Vaches- Brebis- Chèvre. Tec. et Doc., Lavoisier, deuxième édition, Paris.
- DUHAÏMAN A.S. (1988).** Purification of camel milk lysozyme and its lytic effect on *Escherichia coli* and *Micrococcus lysodeikticus*. *Comp. Biochem. Phys.*, **91**, 793-796.
- EL-ABBASSY F. (1987) cité par WANGO H et al (1993).**
- EL-AGAMY E.I. (2000a).** Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors : a comparison with cow's and buffalo. *Food Chem.*, **68**, 227-232.
- EL-AGAMY E.I. (2000b).** Physico-chemical, molecular and immunological characteristics of camel calf rennet : a comparison with cow's and buffalo rennet. *J. Dairy Res.*, **67**, 73-81.
- EL-AGAMY E.I., RUPPANNER R., ISMAIL A., CHAMPAGNE C.P. and ASSAF R. (1992).** Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective protein. *J. Dairy Res.*, **59**, 169-175.
- EL-AGAMY E.I., RUPPANNER R., ISMAIL A., CHAMPAGNE C.P. and ASSAF R., (1996).** Purification and characterization of Lactoferrin, Lactoperoxydase, Lysozyme and Immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy J.*, **6**, 129-145.
- EL-BATAWY M.A., AMER S.N. et IBRAHIM S.A. (1987).** Camel Abomasum as a source of rennet substitute. *Egyptian J. Dairy Sci.*, **15**, 93-100.
- ELLOUZE S. et KAMOUN M. (1989).** Evolution de la composition du lait de dromadaire en fonction du stade de lactation. *Options Méd.*, **6**, 307-323.
- FARAH Z. (1986).** Effect of Heat Treatment on Whey Proteins of Camel Milk. *Milchwissenschaft* **41**, 763-765.
- FARAH Z. (1993).** Composition and Characteristics of Camel Milk ; review. *J. Dairy Res.*, **60**, 603-626.

- FARAH Z. and BACHMAN M.R. (1987).** Rennet coagulation properties of camel milk. *Milchwissenschaft*, **42**, 689-692.
- FARAH Z. and RÜEGG M.W. (1989).** The size distribution of casein micelles in camel milk. *Food Microstruct.*, **8**, 211-116.
- FARAH Z., RETTENMAIER R. and ATKINS D. (1992).** Vitamin content of camel milk. *Internat. J. Vitam. Nutr. Res.*, **62**, 30-33.
- FARAH Z. (1996).** Camel Milk Properties and Products. Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management, SKAT, Switzerland.
- FAYE B. et LOISEAU G. (2002).** Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. HANAK E. ; BOUTRIF E. ; FABRE P. et PINEIRO M. (éditeurs scientifiques). Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO, 11-13 décembre 2000, Montpellier, France, CIRAD-FAO. Cédérom du CIRAD, Montpellier, France.
- FAYE B., BENGOUNI M. et BARKAT A. (2003).** Le développement des systèmes camelins laitiers périurbains en Afrique ; Lait de chamelle pour l'Afrique, Production et Santé Animale, FAO, **2**, 115-125.
- FOX P.F. (2001).** Milk proteins as food ingredients. *Int. J. Dairy Tec.*, **54(2)**, 41- 55. 1379-1400.
- GIRARDET J. M., SAULNIER F., GAILLARD J.L., RAMET J.P. and HUMBERT G. (2000).** Camel (*Camelus dromedarius*) milk PP3 : evidence for an insertion in the amino-terminal sequence of the camel milk whey protein. *Biochem. Cell. Biol.*, **78**, 19-26.
- GNAN S.O., MOHAMED M.O., SHEREHA A.M. and IWEGBE A.O. (1994).** Antimicrobial activity of camel's milk. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.
- GUIRAUD J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Dunod édition. p652.
- IREU J. (2002).** Répertoire Général des Aliments. INRA, 2ème édition, PARIS.
- JARDALI Z. (1988).** Contribution à l'étude de la composition du lait de dromadaire. DEA présenté à l' ENSAIA, Nancy, France.
- JARDALI-MAATOUK Z. (1991).** Comparaison de la composition en caséines et de l'aptitude fromagère du lait de vache et du lait de dromadaire. Thèse de Doctorat de l'INPL de Nancy, France.
- KAMOUN M. (1989).** Un essai de production et de transformation de lait de dromadaire en Tunisie. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Tropicaux*, **42**, 113-115.
- KAMOUN M. (1990).** La production de fromage à partir du lait de dromadaire. *Option médit.*, **12**, 119-124.
- 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.
- KAMOUN M. (1995).** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *Option méditerranéennes*, **13**, 81-103.
- KAPPELER S., FARAH Z. and PUHAN Z. (1997).** Sequence Analysis of *Camelus dromedarius* milk caseins. *J. Dairy Res.*, **65**, 206-222.

- KAPPELER S., MANFRED A., FARAH Z. and PUHAN Z. (1999a).** Sequence Analysis of camel milk (*Camelus dromedarius*) lactoferrin. *Int. Dairy J.*, **9**, 481-486.
- KAPPELER S., FARAH Z. and PUHAN Z. (1999b).** Alternativ splicing of lactophorin mRNA lactating mammary gland of the camel (*Camelus dromedarius*). *J. Dairy Sci.*, **82**, 2084-2093.
- KAPPELER S., 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. *J. Dairy Sci.*, **86(2)**, 498-508.
- KHEROUATOU N., NASRI M. and ATTIA H. (2003).** A study of the dromadary milk casein micelle and its changes during acidification. *Brazilian J. Food Techn.*, **2**, 304-318.
- KONUSPAYEVA G., LOISEAU G. et FAYE B. (2004).** La plus-value "santé" du lait de chamelle cru et fermenté : l'expérience du Kazakhstan. *Renc. Rech. Ruminants*, 2004, 11. pp : 47-50.
- LARPENT J.P. (1970).** Microbiologie du lait et des produits laitiers. Edition Tec et Doc., première édition, Lavoisier. Paris. 584 p.
- LARPENT J. P. (1997).** Microbiologie alimentaire : techniques de laboratoire. Tec & doc-lavoisier.pp708-709.
- LARSSON-RAZNIKIEWICZ M. and MOHAMED M.A. (1986).** Analysis of the Casein in Camel (*Camelus dromedaries*) milk . *J. Agric. Res.*, **16** , 13-18.
- LENOIR J., LAMBERET G., SCHMIDT J. L. et TOURNEUR COLETTE (1985).** La maîtrise du bioréacteur fromage. BIOFUTUR-Décembre 1985.
- LENOIR J., REMEUF F. et SCHNEID N. (1997).** L'aptitude du lait à la coagulation par la présure ; in : "Le fromage" Eck et Gillis, éd. Tec. Doc. Lavoisier, troisième édition, Paris.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FARR A.L. and RANDALL R. J. (1951).** Protein measurment with Folin phenol reagent. *J. Biochem.*, **193**, 265-275.
- LUQUET F. M. (1990).** Laits et Produits Laitiers : Vache, Brebis, Chèvre ; 3 volumes. Tec. & Doc., Lavoisier, Paris.
- MATHIEU J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Tec & doc-Lavoisier. p 221.
- MATI A. (1999).** Le lait de chamelle : état des caractérisation par rapport au lait bovin : aptitudes à la conservation et à la transformation. Premières journées sur la recherche cameline- Ouargla 1999. pp 123-128.
- MEHAIA M.A. (1993).** Composition, yield and organoleptic evaluation of the fresh Domiati cheese made from a mixture of camel and cow Milk. *Aust J. Dairy Techn.*, **48**, 74-77.
- MEHAIA M.A. and ALKANHAL M.A. (1992).** Taurine and free amino acids in milk camel, goat, cow and man. *Milchwissenschaft*, **47**, 351-353.
- MEHAIA M.A., ABOU EL-KHEIR A..M. and HABLAS M.A. (1988).** Enzymatic coagulation of camel milk ; a. study using soluble and immobilized chymosin. *Milchwisenschaft*, **43**, 438-441.
- MERIN U., BERNSTEIN S., BLOCH-DAMTI A., YAGIL R., CREVELD C., LINDNER P. and GOLLOP N. (2000).** A comparative study of milk serum proteins in camel milk (*Camelus dromedarius*) and bovine colostrum. *Livestock Prod. Sci.*, **1**, 1-5.
- MERIN U., BERNSTEIN S., BLOCH-DAMTI A., YAGIL R., CREVELD C., LINDNER P. and GOLLOP N. (2001).** A comparative study of milk serum proteins in

camel milk (*Camelus dromedarius*) and bovine colostrum. *Livestock Prod. Sci.*, **67**(3), 297-301.

MIETTON B., DESMAZEAUD M., DE ROISSART H. ET WEBER F. (1994). Transformation du lait en fromage. in : « Bactéries Lactiques II » Tec. & Doc., Lavoisier, Paris.

MOHAMED M.A., MURSAL A.I. and MARTHA LARSSON-RAZNIKIEWICZ (1989). Separation of a camel milk casein fraction and its relation to the coagulation properties of fresh milk. *Milchwissenschaft* 44(5).

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.

OULD EHYA M. et RAMET J. P. (1998). Amélioration de l'aptitude à la coagulation des laits de dromadaire, chèvre et vache par supplémentation en lait de brebis. In Bonnet P, éd. 1998. Dromadaires et chameaux, animaux laitiers. Actes du colloque, 24-26 Octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie. Montpellier, France : cirad-emvt. (Collection colloques). pp 237-240.

OULED BELKHEIR A. (1999). Les systèmes d'élevage camelin en Algérie. Premières journées sur la recherche cameline- Ouargla 1999. pp 35-38.

PETRANSXIENE D. et LAPIED L. (1981). La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers analyses et tests. Technique et documentation, Lavoisier. Paris. pp 49-50.

POLONOVSKY M., BOULANGER P., MACHEBOEUF M. et ROCHE J. (1971). Biochimie Médicale. Fascicule III. Masson et Cie, 8ème édition, Paris.

RAMET J.P. (1987). Use of bovine calf rennet to coagulate raw camel milk. *Word Anim. Rev.*, **61**, 11-16.

RAMET J.P. (2003). Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", 5-8 novembre, Niamey, Niger.

RAMET J.P. (1985). Study of enzymatic coagulation of camel milk in Saudia-Arabia. Mission Report, FAO, 1-73.

RAMET J.P. (1990). Processing of Dairy Production from Camel Milk. Mission Report, FAO, 1-43.

RAMET J.P. (1993). La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelus dromedarius*). Etude F.A.O., Production et santé animales, 113.

RAMET J.P. (1994). Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.

RAMET J.P. (1997). Les agents de la transformation du lait ; in : "Le fromage" éd. Eck et Gillis. Tec. Doc., 3ème Ed., Lavoisier, Paris.

RICHARD (1985). Le dromadaire et son élevage I.E.M.V.T (1985) institut d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicales. Département du centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement.

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.

- RICHARD J. et DESMASEAUD M. (1997).** La flore microbienne du lait cru destiné à la fromagerie. In « Le fromage » ECK A. et GILLIS J.C. Tec & Doc- Lavoisier. Troisième édition. Paris.
- SAIDI M., SIBOUKEUR O., OULED BELKHEIR A. et GUERRADI (1999).** 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.
- SCHMIDT D. (1980).** Colloïdal aspects of casein. *Netherland Milk Dairy Journal*, **34**, 42-64.
- SERRES L., AMARIGLIO S. et PETRANSXIENE D. (1969).** Contrôle de la qualité des produits laitiers, tome 1 : Analyse physique et chimiques, ITDS, France.
- SHAMET K.M., BROWN R. J. and Mc MAHON D.J. (1992).** Proteolytic activity of some milk clotting enzymes on caseins. *J. Dairy Sci.* **75(6)** ; 1373-1379.
- 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. 135 p.
- SIBOUKEUR O. et MATI A. (2007).** Evolution de la flore microbienne d'origine exogène dans le lait de chamelle (*Camelus dromedarius*) lors de sa transformation artisanale en lait fermenté. *Annales de l'INRAT*, numéro 80.
- SIBOUKEUR O. et MATI A. (2008).** Etude de l'activité du composant 3 des protéoses-peptones du lactosérum camelin contre la flore microbienne de contamination et indigène du lait de chamelle (*Camelus dromedarius*). Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. *Revue Recherche Agronomique*, Numéro Spécial, 182-188.
- SIBOUKEUR O., MATI A. et HESSAS B. (2005).** 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.
- SIDIKOU I.D., REMY B., HORNICK J.L., LOSSON B., DUQUESNOY N., YENIKOYE A. et BECKERS J. F. (2005).** Le pepsinogène et la prochymosine des bovins : connaissances actuelles, applications et perspectives dans la stratégie de lutte contre les verminoses gastrointestinales. *Ann. Méd. Vét.*, 2005, **149**, 213-228.
- STRYER ; SAWAYA W. N., KHALIL J.K., AL-SHALHAT A. et AL-MOHAMMAD H. (2003).** Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food Sci.*, **49**, 744-747.
- STRYER L., BERG M. J. et TYMCCZKO J. L. (2003).** *Biochimie*. Flammarion, Medecine-Science, 5ème édition, France.
- URBISINOV ZH.K., SERVETNIK-CHALAIA G.K. and IZATULLAEV E.A. (1981).** Protein composition of camel's milk. *Voprosy Pitaniia*, **6**, 2-41. (Abstract).
- VALLES E. et FURET J. P. (1977).** 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.
- VALLES E. et FURET J.P. (1981).** 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*, (1981), **61**, 590-618.

- WANGO J., FARAH Z. and PUHAN Z. (1993).** Extraction of rennet and its omparison with calf rennet extract. *Milchwissenschaft*, **48**, 322-325.
- WANGO J., FARAH Z. and PUHAN Z. (1998).** Composition of Milk from 3 Camels (*Camelus dromedarius*) Breeds in Kenya during Lactation. *Milchwissenschaft*, **53**, 136-139.
- WEIL, KAMOUN M. et BERGAOUI R. (2005).** Un essai de production et de transformation de lait de dromadaire en Tunisie. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*
- YAGIL R. and ETZION Z. (1980).** Effect of drought conditions on the quality of camel milk. *J. Dairy. Res.*, **47**, 159-166.
- YAGIL R., SARAN A. and ETZION Z. (1984).** Camel milk for drinking only. *Comp. Biochem. Physiol.*, **78**, 263-266.
- YAGIL R., ZAGORSKI O. and VAN CREVELD C. (1994).** Science and Camel's Milk Production. Actes du Colloque : "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre, Nouakchott, Mauritanie.

Annexes

Annexe I : (a) La séquence de l'ADNc de α_1 CN cameline selon KAPPELER *et al* (1997)

(b) La séquence des acides aminés de α_1 CN cameline selon KAPPELER *et al* (1997)

(a)

```

cDNA      10      30      50      70
Protein   AGTTTGCTGCTTCTTCCAGTCTTGGGTTCAAGGTCTTGACCACCATGAAGCTTCTCATCCTTACCTGCCTTGTG
MetLysLeuLeuIleLeuThrCysLeuVal - 1

cDNA      90      110     130     150
Protein   GCTGTTGCGCTTGCCAGGCCTAAATATCTCTCAGGTACCCAGAAGTCTTTCAAAATGAACCAGACAGCATAGAG
AlaValAlaLeuAlaArgProLysTyrProLeuArgTyrProGluValPheGlnAsnGluProAspSerIleGlu 20
P

cDNA      170     190     210
Protein   GAAAGTCTCAACAAAAGAAAGATTCTTGAGTTAGCAGTGGTTTCACCCATTCAAGTTTAGACAGGAGAATCATCGAT
GluValLeuAsnLysArgLysIleLeuGluLeuAlaValValSerProIleGlnPheArgGlnGluAsnIleAsp 45

cDNA      230     250     270     290
Protein   GAACTGAAGGATACTAGGAACGAACCAACGAAGATCACATCATGGAAGACACTGAGCGAAAGGAATCTGGAAGC
GluLeuLysAspThrArgAsnGluProThrGluAspHisIleMetGluAspThrGluArgLysGluSerGlySer 70
P P P

cDNA      310     330     350     370
Protein   AGTTCAAGTGAGGAAGTTGTTTCCAGTACCACTGAGCAGAAGGACATTCTCAAGGAAGATATGCCCTCCCAACGC
SerSerSerGluGluValValSerSerThrThrGluGlnLysAspIleLeuLysGluAspMetProSerGlnArg 95
P P P

cDNA      390     410     430     450
Protein   TATCTGGAGAGCTTCACAGACTGAACAAATACAACTACTCCAAGCTGGAAGCTATCCGTGACCAGAACTTATT
TyrLeuGluGluLeuHisArgLeuAsnLysTyrLysLeuLeuGlnLeuGluAlaIleArgAspGlnLysLeuIle 120

cDNA      470     490     510
Protein   CCAAGAGTGAAGCTGTCTCCACCCATATCTGGAACAACCTTACAGAATAAATGAGGACAACCAACCCCAACTG
ProArgValLysLeuSerSerHisProTyrLeuGluGlnLeuTyrArgIleAsnGluAspAsnHisProGlnLeu 145

cDNA      530     550     570     590
Protein   GGGGAGCCTGTGAAAGTAGTGACTCAGCCTTTCCACAAATTCTTCCAGCTTGGTGCCTCTCCCTATGTTGCTTGG
GlyGluProValLysValValThrGlnProPheProGlnPhePheGlnLeuGlyAlaSerProTyrValAlaTrp 170

cDNA      610     630     650     670
Protein   TATTATCTCCACAAGTCATGCAATATATTGCTCACCCTCATCCTACGACACCCCTGAAGGCATTGCCTCTGAG
TyrTyrProPheGlnValMetGlnTyrIleAlaHisProSerSerTyrAspThrProGluGlyIleAlaSerGlu 195

cDNA      690     710     730     750
Protein   GACGGTGGAAAAACCGACGTTATGCCACAGTGGTGGTGTATGTGACTGAAATTCATGCTCTAAATTTCTCCTCCA
AspGlyGlyLysThrAspValMetProGlnTrpTrpEnd

cDNA      770     790     810
Protein   CGCCTATCATGTAAACCTTTCCATCCAAAGGCTTTGACTGTTGTCTTAGAATAGGACAATCCCAAATTGAAGGC

cDNA      830     850     870     890
Protein   AATCTTTCTCTTGAAGTTCTCTACTGTATATTTAAATAGTATATCATTCTTTTCTTAAGAAAAGTTGTCTTAACA

cDNA      910     930     950     970
Protein   GTTTATCCCAAGTTGTATCATGCCAGTATGAAGGCCACCAATAGAGGATATTAAGTCTTTATCAAATTTCTATA

cDNA      990     1010    1030    1050
Protein   TGGAAATCTTGCTTAAAAAGCCTTTGAATTGCTTCTCCTGTAAGTCCATCATTTCAAAAAATTGTGGCAGTAA

cDNA      1070    1090
Protein   CTGAGTTTTTTTCTTCTCTTTTCAATAAATTACATTTTAAG

(b)
RPKYPLRYPEVFQNEPDSIEEVLNKRKILDLAVVSPIQFRQENIDEIKDTRNEPTDIHIMEDTERKESGSSSEK 75
P P P P P

VVSSTTEQKDILKEDMPSORYLEELHRLNKYKLLQLEAIRDQKLIPIVKLSSHYPYLEQLYRINEDNHPQLGEPVK 150

VVTQEQAYYFHLKPPFPQFFQLGASPYVAWYPPQVMQYIAHPSSYDTPEGIASEDGKTDVMPQHW 215

```

Annexe II : La séquence de l'ADNc de α_2 CN cameline selon KAPPELER *et al* (1997)

```

cDNA      10      30      50      70
Protein   TCTGATCTCCCACTGCCTGGACTACTTGTCTTCCCTTCAGGAAATAAGGACTAAGTAAACATGAAATTTTTCATT
MetLysPhePheIle -11

cDNA      90      110      130      150
Protein   TTTACCTGCCTTTTGGCTGTTGTTCTTGCAAAGCATGAGATGGATCAGGGCTCTCCAGTGAGGAATCTATCAAC
PheThrCysLeuLeuAlaValValLeuAlaLysHisGluMetAspGlnGlySerSerSerGluGluSerIleAsn 15
P P P

cDNA      170      190      210
Protein   GTCTCTCAACAAAAATTTAAGCAGGTAAAGAAGGTGGCCATTTCATCCCAGCAAGGAGGACATCTGCTCCACATTT
ValSerGlnGlnLysPheLysGlnValLysLysValAlaIleHisProSerLysGluAspIleCysSerThrPhe 40
P

cDNA      230      250      270      290
Protein   TCGGAGGAAGCTGTAAAGGAACATAAAGGAAGTGGAATCAGCTGAAGTCCCCACAGAGAACAAAATCAGTCAATTT
CysGluGluAlaValArgAsnIleLysGluValGluSerAlaGluValProThrGluAsnLysIleSerGlnPhe 65
P

cDNA      310      330      350      370
Protein   TATCAGAAGTGGAATTCCTCCAGTATCTCCAGGCTCTTCATCAAGGTCAGATTGTGATGAACCCATGGGATCAG
TyrGlnLysTrpLysPheLeuGlnTyrLeuGlnAlaLeuHisGlnGlyGlnIleValMetAsnProTrpAspGln 90
P

cDNA      390      410      430      450
Protein   GGCAAGACAAGGGCTACCCCTTTATTCCCACTGTGAACACAGAGCAGCTCTCCATCAOTGAGGAATCAACTGAA
GlyLysThrArgAlaTyrProPheIleProThrValAsnThrGluGlnLeuSerIleSerGluGluSerThrGlu 115
P P

cDNA      470      490      510
Protein   GTTCCCAACAGAGGAATCAACAGAAAGTATTCACTAAGAAAACTGAAATGACTGAAGAAAGAAAAGGATCACCACAAA
ValProThrGluGluSerThrGluValPheThrLysLysThrGluLeuThrGluGluGluLysAspHisGlnLys 140
P

cDNA      530      550      570      590
Protein   TTTCTGAACAAAATCTACCAATATTATCAGACATTCCTCTGCCAGAGTATCTCAAGACTGTTTATCAATATCAG
PheLeuAsnLysIleTyrGlnTyrTyrGlnThrPheLeuTrpProGluTyrLeuLysThrValTyrGlnTyrGln 165

cDNA      610      630      650      670
Protein   AAAACTATGACTCCATGGAATCACATCAAGAGATACTTTTAAAGATTCTTGAACTAACTGCTTCTACTTGATTATG
LysThrMetThrProTrpAsnHisIleLysArgTyrPheEnd

cDNA      690      710      730      750
Protein   GCTCAACTGGAAAAATCGATCTTCTGCAGTTTCTTATCTACCACTTTACTTCACTCTACCGGCATGTTTAGAGAGA

cDNA      770      790      810
Protein   CCCATTAATAAGATAGAAAATATTGAAGAAAAAGGAAGACTGTGCAGAAATATTTCTGAAAGTATTTATACCATCCCO

cDNA      830      850      870      890
Protein   TTAGTTCATGTTGAGTATACTGGGTCTGTATTGTGGTTATATACGAACCTTAGCTGATGATTATGAAAATGTTTT

cDNA      910      930      950
Protein   CACTACTCTTTGAGTTATAGAACTACATTCTTTTCCATGAAAAATAAAATTCACCGTTGCTGTCTG

```

Annexe III : La séquence de l'ADNc de β CN cameline selon KAPPELER *et al* (1997)

```

cDNA      10          30          50          70
Protein   TTCACCTCTTTTCTCCACTTTTGAAATTTGGACTTGAGAGTCATGAAGTCTCATCCTTGCCTGCCGGGTGGCT
          MetLysValLeuIleLeuAlaCysArgValAla - 5

cDNA      90          110         130         150
Protein   CTTGCTCTTGCAAGAGAGAAGGAATTCAGACAGCCCGTGAGGCTTTGGAAAGCATTTCAGCAGTGAGGAA
          LeuAlaLeuAlaArgGluLysGluGluPheLysThrAlaGlyGluAlaLeuGluSerIleSerSerSerGluGlu 21
          P P P P

cDNA      170         190         210
Protein   TCTATTACACACATCAACAAGCAGAAAATTGAGAAGTTTAAATTTGAGGAACAGCAGCAAAACAGAGGATGAACAG
          SerIleThrHisIleAsnLysGlnLysIleGluLysPheLysIleGluGluGlnGlnGlnThrGluAspGluGln 46

cDNA      230         250         270         290
Protein   CAGGATATAAATCTACACCTTTCCCAAGCCCAAGTCTCTAATCTATTCTCACACTGAGCCCATCCCTTACCCTATC
          GlnAspLysIleTyrThrPheProGlnProGlnSerLeuValTyrSerHisThrGluProIleProTyrProIle 71

cDNA      310         330         350         370
Protein   CTTCCACAAAACCTTTCTGCGCCTCTTCAGCCTCTGTGATGGTACCTTTTCTTCAGCCTAAAGTAAATGGATGTC
          LeuProGlnAsnPheLeuProProLeuGlnProAlaValMetValProPheLeuGlnProLysValMetAspVal 96

cDNA      390         410         430         450
Protein   CCAAACTAAGGAGACCATCATTCCTAAGCGCAAGAAATGCCCTTGCTTCAGTCTCCAGTAGTGCCTTTACT
          ProLysThrLysGluThrIleIleProLysArgLysGluMetProLeuLeuGlnSerProValValProPheThr 121

cDNA      470         490         510
Protein   GAAAGCCAGAGCCTGACTCTCACTGATCTCGAAAATCTGCACCTTCCTCTGCCTCTGCTCCAGTCTTTGATGTAC
          GluSerGlnSerLeuThrLeuThrAspLeuGluAsnLeuHisLeuProLeuProLeuLeuGlnSerLeuMetTyr 146

cDNA      530         550         570         590
Protein   CAGATTCCTCCAGCCTGTTCTCAGACCCCATGATTCCTCTCAGTCCCTGCTGTCCCTTTCTCAGTTCAAAGTC
          GlnIleProGlnProValProGlnThrProMetIleProProGlnSerLeuLeuSerLeuSerGlnPheVal 171

cDNA      610         630         650         670
Protein   CTGCTGTTCCTCCAGCAAAATGGTGCCCTACCCCAAGAGAGCCATGCTGTGCAAGCGTTCTGCCCTTCCAGGAG
          LeuProValProGlnGlnMetValProTyrProGlnArgAlaMetProValGlnAlaValLeuProPheGlnGlu 196

cDNA      690         710         730         750
Protein   CCTGTACCTGACCCCGTCCGGGGCTCCACCCTGTGCCTCAACCACTTGTCCCTGTGATTGCCTAAGAAAGATTTC
          ProValProLysProValArgGlyLeuHisProValProGlnProLeuValProValIleAlaEnd

cDNA      770         790         810
Protein   AAGTTAATACCTCCTCCTCACTTTTGAATTGACTGCGACTGGAAATGTGGCACTTTTCAATCTTTGTATCATG
          830         850         870         890

cDNA      910         930         950         970
Protein   TTACCAAAACGATTTTAAATAACTCTCCATGGAAAAAATGAACTGTAGTCTTTATTTATTTATGCTTTAC
          990         1010        1030        1050

cDNA      1070        1090
Protein   AATACCATAACTTATCAAAAATGTTTATAAAAATCATTGTGTAAATTTGCTTATTATTATTTCTTTAAGAAT
          1110        1130

cDNA      1150
Protein   CTATTTCCAAACCAAGTCACCTCAATAAACTAATCCTTTAGGCAT

```

Annexe IV ; La séquence de l'ADNc de κ CN cameline selon KAPPELER *et al* (1997)

```

cDNA      10          30          50          70
Protein   CCAGCTCAACCTACTGCCAAGCAAGACCTGACAGGCACAAGGGAAGGTGCAATCATGAAGAAGCTTCTTCCTAGTT
                                         MetLysSerPhePheLeuVal -14

cDNA      90          110          130          150
Protein   GTGACTATCTGGCATTAACTCTACCTTTTTTGGGTGCAGAGGTGCAAAACCAGGAACAACCAACATOTTTTGAG
ValThrIleLeuAlaLeuThrLeuProPheLeuGlyAlaGluValGlnAsnGlnGluGlnProThrCysPheGlu 12

cDNA      170          190          210
Protein   AAGGTGGAAAGATTGCTCAATGAAAAACAGTCAAATATTTCCCAATTCAGTTCGTGCAGAGTAGATATCCTAGT
LysValGluArgLeuLeuAsnGluLysThrValLysTyrPheProIleGlnPheValGlnSerArgTyrProSer 37

cDNA      230          250          270          290
Protein   TATGGAATCAATTACTACCAACACAGACTAGCTGTACCAATTAATAACCAATTTATTCCTTACCCAAATTATGCC
TyrGlyIleAsnTyrTyrGlnHisArgLeuAlaValProIleAsnAsnGlnPheIleProTyrProAsnTyrAla 62

cDNA      310          330          350          370
Protein   AAGCCAGTTGCAATTAGACTACATGCTCAAATTCCTCAGTGCCCAAGCCCTGCCAAATATCGACCCACCTACTGTG
LysProValAlaIleArgLeuHisAlaGlnIleProGlnCysGlnAlaLeuProAsnIleAspProProThrVal 87

cDNA      390          410          430          450
Protein   GAACGTCGGCCACGCCACGTCATCATTTATTGCCATTCCCCCAAAGAAAACCCAGGATAAAACAGTCAACCT
GluArgArgProArgProArgProSerPheIleAlaIleProProLysLysThrGlnAspLysThrValAsnPro 112

cDNA      470          490          510
Protein   GCCATCAATACTGTTGCTACTGTTGAOCCTCCAGTTATACCTACCGCCGAACCAGCAGTGAACACTGTAGTTATT
AlaIleAsnThrValAlaThrValGluProProValIleProThrAlaGluProAlaValAsnThrValValIle 137

cDNA      530          550          570          590
Protein   GCAGAAAGCTTCCTCAGAAATTCATCACCACAAGCACACCCGAGACCACAGTCCAAATTACTTCGACTGAGATC
AlaGluAlaSerSerGluPheIleThrThrSerThrProGluThrThrThrValGlnIleThrSerThrGluIle 162

cDNA      610          630          650          670
Protein   TAAAACTAAGGAAACAGCAAAGAAGACAACACAGGTCTTGCTGAAACCAACGACCAAGTTCAAACCTCTCCTTGG
End

cDNA      690          710          730          750
Protein   OCCAGCTGTCTGCCTTCAGTCAAGAGAGAAATATGATTTTCACAGATTCAAGTCTTTCTCTCTCCCTTACATT

cDNA      770          790
Protein   TTACATTCATGCCACATTTAATTTTTTGATCTTGATAATAAAGCTAATTGATGCT

```

Annexe V : Détermination de l'acidité titrable

1. Réactifs

1.1. Solution titrée 0,111 N d'hydroxyde de sodium dont 1 ml correspond à 0,01 g d'acide lactique.

Cette solution est dite soude Dornic. On peut la préparer à partir de 111,1 ml de solution N d'hydroxyde de sodium, dilués à 1000 ml.

A défaut de soude Dornic, le dosage peut être effectué au moyen d'une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N.

1.2. Solution de phénophtaléine à 1p. 100 dans l'alcool éthylique à 95%.

2. Appareillage

Une burette graduée en 0,05 ml ou en 0,1 ml permettant d'apprécier la demi-division.

3. Mode opératoire

Dans un bécher de 100 ml introduire 10 ml de lait et 0,1 ml de la solution de phénophtaléine (1.2.). Titrer par la solution sodique (1.1.) jusqu'à début de virage au rose, facilement perceptible par comparaison avec un témoin constitué du même lait.

Après virage, la teinte rose disparaît progressivement. Il n'y a pas lieu de tenir compte de cette décoloration. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes.

4. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en grammes d'acide lactique au litre.

Si l'on utilise la solution sodique 0,111 N, le résultat est donné par le nombre de ml de solution versé.

Si l'on utilise la solution sodique 0,100 N, il faut multiplier ce nombre par 0,9.

Précision de la méthode : $\pm 0,05$ g d'acide lactique au litre.

5. Remarques

Il existe dans les usages d'autres modes d'expression des résultats. Par exemple :

1° En « degrés Dornic », c'est-à-dire en décigrammes d'acide lactique au litre. L'acidité exprimée en degrés Dornic est alors égale à : $n \times 10$, où n est le nombre de ml de solution sodique 0,111 N (soude Dornic) versé pour titrer l'acidité de 10 ml de lait.

2° En « degrés Soxhlet-Henkel », c'est-à-dire le nombre de ml d'une solution alcaline 0,250 N (N/4) nécessaire pour saturer l'acidité de 100 ml de lait.

Théoriquement, pour passer des degrés Dornic aux degrés Soxhlet-Henkel, il faut multiplier le premier résultat par 4/9.

D'après ANONYME (1980), le dosage de l'acide lactique par la soude se fait suivant le schéma ci- après :



De plus ce dosage se fait sur 10 ml de lait avec une solution de soude N/9, c'est- à -dire une solution contenant 4/9000 g de soude par 1/10 de ml (ANONYME, 1980).

MATHIEU (1998), exprime couramment l'acidité du lait en degrés Dornic ; officiellement et par convention, on la donne en grammes d'acide lactique par litre de lait. 1°D = 0,1 g d'acide lactique par litre de lait.

A cause de sa légère acidité, il faut ajouter une solution basique au lait de dromadaire pour le neutraliser, autrement dit pour avoir le changement de la couleur de l'indicateur coloré.

Annexe VI : Détermination de la densité selon SERRES *et al*, (1969)

1. Appareillage

Lactodensimètre présentant une graduation en 0,0005, à 20 °C, ou toute autre graduation permettant une approximation plus grande pour cette même température.

Thermomètre à mercure gradué en degrés centésimaux.

Les deux appareils précédents peuvent être remplacés par un lactodensimètre à l'intérieur duquel est disposé un thermomètre (thermo lactodensimètre).

Eprouvette sans bec de 200 à 250 ml dont les dimensions sont telles qu'elles permettent le libre mouvement du densimètre et l'immersion totale de la tige graduée.

Cuvette à fond plat ou récipient constituant un bain d'eau, et pouvant recevoir l'éprouvette précédente.

2. Mode opératoire

Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse. La remplir complètement, ou du moins jusqu'à niveau tel que le volume disponible soit nettement inférieur à celui de la panse du lactodensimètre. Il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette.

Placer l'éprouvette dans la cuvette, ou la plonger dans le bain d'eau à 20 °C, dont le niveau sera alors situé de 1 à 3 centimètres au-dessous du bord de l'éprouvette. L'emploi du bain d'eau est recommandé lorsque la température du laboratoire n'est pas comprise entre 18 °C et 22 °C.

Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en maintenant l'appareil dans l'axe de l'éprouvette et en le retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre.

Puis imprimer un léger mouvement de rotation. S'assurer que le mouillage de la tige provoqué par les oscillations atteint au moins 5 mm et au plus 10 mm au-dessus de la position d'équilibre.

Si l'appareil utilisé est très sensible (par exemple graduation à 0,0001), attendre trente secondes avant d'effectuer la lecture de la graduation au sommet du ménisque. On obtient la valeur de la densité brute. Noter également la température du lait, soit au thermolactodensimètre, soit à l'aide du thermomètre.

3. Remarques

Le volume de lait minimal pour effectuer une prise de densité dans de bonnes conditions (lactodensimètre) est de 250 ml.

L'introduction du densimètre dans l'éprouvette pleine de lait provoque un débordement de liquide que l'on recueille dans la cuvette. Ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture et il place la zone de lecture au-dessus du plan supérieur de l'éprouvette. Il faut absolument éviter de prendre la densité d'un échantillon qui ne déborderait pas après l'introduction du densimètre.



Annexe VII: Epreuve au bleu de méthylène. PETRANSXIENE et LAPIED (1981)

I. Mode opératoire

Introduire aseptiquement dans un tube à essais de 16 x 160 mm stérile 10 ml de lait.

Ajouter à l'aide d'une pipette stérile 1 ml de la solution de bleu de méthylène.

Boucher à l'aide d'un bouchon stérile en caoutchouc ou en polypropylène, stérilisé à l'autoclave (ou ayant été maintenu dans de l'eau à l'ébullition pendant 5 minutes).

Mélanger en retournant et redressant deux fois le tube.

1.2. Incubation

Porter au bain d'eau à 37 °C.

noter l'heure.

surveiller la coloration du lait

dès l'addition de la solution de bleu de méthylène,

après 15 minutes pour le lait cru,

après 1/2 heure pour le lait pasteurisé,

puis, toutes les heures (6 heures au maximum).

1.3. Lecture des résultats

Retirer le tube de lait du bain d'eau dès décoloration, noter l'heure. Considérer l'épreuve comme positive lorsque le lait présente une réduction sur 4/5 de son volume.

Annexe VIII : Lait écrémé filtré



Annexe IX : Dialyse de la solution caséinique



Annexe X: La lyophilisation de la solution caséinique dialysée



Annexe XI: Solution macérée filtré et non filtré



Photo A

Photo A : solution macérée non filtré



Photo B

Photo B : solution macérée filtré

Annexe XII: L'aspect de l'extrait coagulant de dromadaire (ECD) lyophilisé



Annexe XIII : tableau de test de réductase

On peut approximativement estimer les résultats du test de bleu de méthylène de la façon suivante : Selon (GUIRAUD, 1998). Tableau IX.

**IX: appréciation de la qualité du lait par la réduction de bleu de méthylène selon
(GUIRAUD, 1998)**

Note*	Appréciation	Temps de réduction de bleu de méthylène
1	Lait contaminé	T < 2h (< 1h30)
2	Lait peu contaminé	2h < t < 4h (1h30 < t < 3h)
3	Lait de bonne qualité	T > 4h (> 3h)

* Dans l'arrêté abrogé du 16 Décembre 1970.

Les valeurs entre parenthèse correspondent aux résultats obtenus en période chaude.
Selon (LARPENT, 1970), on peut estimer les résultats de ce test comme suit :

Tableau XII : Etude qualitative de germes existant dans le lait selon (LARPENT, 1970)

Durée de décoloration (h)	Nombre de germes/ml	Qualité du lait
5 h et plus	100000 à 200000	Bonne
2 à 4h	200000 à 2000000	Bonne à passable
Moins de 2h	2 à 10 millions	Insuffisant

Table des matières

Remercîments	
Résumes	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	02
I- synthèse bibliographique.....	05
1.1. Aperçu sur le dromadaire.....	05
1.2. Caractéristiques du lait de dromadaire.....	06
1.2.1. Composition globale.....	06
1.2.2. Les protéines du lait	07
1.2.2.1. Les caséines	08
1.2.2.1.1. La Caséine αS_1	09
1.2.2.1.2. La Caséine αS_2	10
1.2.2.1.3. La Caséine β	10
1.2.2.1.4. La Caséine κ	10
1.2.2.2. Organisation micellaire	11
1.2.2.3. Les protéines sériques	14
1.3. Aptitude à la transformation fromagère.....	15
1.3.1. La phase de coagulation	16
1.3.2. Les enzymes coagulantes.....	17
II. Matériel et méthodes.....	22
2.1. Matériel	22
2.1.1. Echantillon de lait.....	22
2.1.2. Caillettes de dromadaire.....	22
2.1.3. Poudre de lait de vache.....	22
2.1.4. Appareillage.....	23
2.1.5. Petit matériel	23
2.1.6. Produits chimiques, réactifs et matériel biologique.....	24
2.2. Méthodes de travail.....	24
2.2.1. Collecte du lait.....	24
2.2.2. Isolement et conservation des protéines	24

2.2.2.1. Ecrémage	25
2.2.2.2. Isolement et séparation des protéines.....	25
2.2.2.3. Dialyse.....	25
2.2.2.4. Lyophilisation.....	26
2.2.3. Extraction des enzymes coagulantes.....	28
2.2.3.1. Extraction.....	28
2.2.3.2. Clarification des extraits.....	28
2.2.3.3. Concentration des extraits clarifiés.....	28
2.2.3.4. Conservation de l'extrait enzymatique.....	30
2.2.3.5. Constitution des lots expérimentaux.....	30
2.2.4. Caractérisation des extraits coagulants.....	30
2.2.4.1. Activité coagulante.....	30
2.2.4.2. Activité protéolytique.....	32
2.2.4.2.1. Préparation du substrat	32
2.2.4.2.2. Ajustement de l'activité coagulante	32
2.2.4.2.3. Hydrolyse enzymatique.....	32
2.2.4.2.4. Blocage de la réaction enzymatique.....	33
2.2.4.2.5. Mesure de la protéolyse.....	33
2.2.5. Analyses statistiques.....	33
III. Résultats et discussion.....	35
3. 1. Qualité hygiénique et physico-chimique du lait de dromadaire collecté... .	35
3.1.1. Estimation de la flore mésophile totale	35
3.1.2 Mesure de quelques paramètres physico-chimiques	36
3.1.2.1. Mesure du pH et de l'acidité titrable	36
3.1.2.2. Mesure de la densité	37
3.1.2.3. Dosage des protéines totales.....	37
3. 2. Caractérisation des extraits coagulants	38
3.2.1. Activité coagulante des lots d'ECD en fonction du traitement administré aux caillettes (avec ou sans muqueuse)	39
3.2.2. Evolution des activités enzymatiques des extraits en fonction du mode de conservation	39
3.2.2.1. Effet de l'entreposage à température ambiante	39
3.2.2.1.1 Evolution de l'activité coagulante	39
3.2.2.1.2. Evolution de l'activité protéolytique.....	40
3.2.2.2. Effet de la réfrigération.....	40

3.2.2.2.1. Evolution de l'activité coagulante.....	40
3.2.2.2.2. Evolution de l'activité protéolytique	40
3.2.2.3. Effet de la congélation	43
3.2.2.3.1. Activité coagulante.....	43
3.2.2.3.2. Activité protéolytique.....	43
3.2.2.4. Effet de la lyophilisation	43
3.2.2.4.1. Activité coagulante.....	43
3.2.2.4.2. Activité protéolytique.....	43
3.2.3. Analyse statistique des résultats	46
3.2.3.1. Analyse des variances	46
3.2.3.2. Analyse en composantes principales.....	47
Conclusion générale.....	53
Références bibliographiques.....	57
Annexes.....	65

Résumé

Le dromadaire (*Camelus dromedarius*) est un animal particulièrement adapté aux rudes conditions agro-climatiques des régions arides et semi-arides. Il produit un lait de haute valeur nutritionnelle, riche en facteurs anti-microbiens (ce qui augmente naturellement sa durée de vie) mais possède des aptitudes limitées à la transformation en produits dérivés, notamment en fromage qui passe par l'étape clé de coagulation enzymatique. C'est dans le but de mieux comprendre et d'améliorer cette étape, que cette présente étude est menée en testant, d'une part, l'aptitude à la coagulation du lait camelin en utilisant des enzymes gastriques brutes issues de caillottes (dépourvues ou non de muqueuses) provenant de dromadaires âgés (entre 8 et 9 ans) et, d'autre part, d'essayer de déterminer le mode de conservation le plus approprié pour ces préparations enzymatiques parmi l'entreposage de ces extraits soit à température ambiante (25°C), soit sous forme réfrigéré (à 4°C), soit sous forme congelée (à -20°C) ou enfin sous forme lyophilisée. Parmi les différents modes de conservation testés, nous avons enregistré la plus grande valeur de l'activité coagulante pour les caillotte A (sans muqueuse) après 15 semaines de congélation ($0,277 \pm 0,000$ UP), correspondant à la 2^{ème} période de conservation (entre 8 et 18 semaines). Durant cette période, les enzymes coagulants extraites à partir de caillotte B (avec muqueuse) ont une activité protéolytique la plus faible quand ils sont conservés au réfrigérateur à + 4°C avec une valeur de ($0,34 \pm 0,050$). Ces deux extraits ainsi choisis seraient les plus indiqués pour la transformation fromagère du lait au niveau industriel, particulièrement au niveau de la phase de coagulation. Ce résultat est d'ailleurs confirmé par l'analyse en composante principale (ACP) où les différentes variables étudiées sont fortement corrélées.

Mots clés : lait de dromadaire, caillotte, extrait enzymatique, conservation, activité coagulante, activité protéolytique.

محاولة تحسين تحول حليب الناقة إلى جبن : دراسة شروط حفظ الإنزيمات المعدية المستخلصة من الجمال (نوع منفحة)

الملخص :

الجمال الجافة ، ينتج لبن ذو قيمة غذائية عالية و غني بالمكونات المثبطة للبكتيريا مما يزيد من (*Camelus dromedarius*) هو حيوان تكيف بشكل استثنائي مع الظروف الصعبة في المناطق الجافة و شبه مدة صلاحيته و لكن في نفس الوقت هذه الخاصية تحد من قدرته في تصنيع المشتقات اللبنية بما فيها الأجبان التي تمر بمرحلة مهمة ألا و هي التخثر الأنزيمي. من أجل فهم أكثر لهذه المرحلة، دراستنا هذه تتضمن من ناحية إمكانية تخثر حليب الناقة و ذلك باستعمال الإنزيمات المعدية المستخلصة من منفحة (مع وجود أو عدم وجود المخاطية) جمال مسنة (تتراوح أعمارهم بين 8 و 9 سنين) و من ناحية أخرى، محاولة إيجاد أفضل طريقة حفظ لهذه الأنزيمات و ذلك بدراسة أربع طرق (في درجة حرارة عادية (25°م)، تبريد في ثلاجة (4°م)، تجميد (-20°م) أو على شكل مجفف (lyophilisé). من بين مختلف طرق الحفظ المدروسة، سجلنا أعلى قيمة نشاط تخثري للمنفحة أ (بدون مخاطية) بعد 15 أسبوعاً من التجميد ($0,277 \pm 0,000$ UP) الموافقة للمرحلة الثانية من الحفظ المتواصلة بين الأسبوع الثامن و الأسبوع الثامن عشر، خلال هذه المرحلة نلاحظ بأن الإنزيمات المستخلصة من المنفحة ب (وجود المخاطية) المبردة في 4°م تملك أدنى قيمة لقوة التحليل البروتيني بقيمة $0,34 \pm 0,050$. هذان المستخلصان هما الملائمان من أجل تصنيع الأجبان على المستوى الصناعي و بالخصوص على مستوى مرحلة التخثر . أكدت هذه النتائج عن طريق التحليل للمكون الرئيسي (ACP)، حيث تبين أن كل العوامل المدروسة مرتبطة ببعضها البعض ارتباط وثيق.

الكلمات الدالة: حليب الناقة، منفحة ، مستخلص إنزيمي، حفظ، النشاط التخثري ، قوة تحليل بروتيني.

Summary

The dromedary (*Camelus dromedarius*) is an animal particularly adapted to the hard agro-climatic conditions of the arid and semi-arid areas. It produces a milk of high nutritional value, rich in antimicrobial factors (which naturally increases its life span) but has limited capabilities for processing into products, including cheese, which passes by the key stage of enzymatic coagulation. In order to better understand and improve this stage, that this present study is undertaken while testing, on the one hand, the aptitude for coagulation of camel milk by using the gastric enzymes resulting from abomasums (deprived or not of mucous membranes) coming from old dromedaries (between 8 and 9 years) and, in the other hand, trying to determine the mode of conservation more appropriate for these enzymatic preparations among storage of these extracts either to room temperature (25°C), or in form cooled (with 4°C), or in form frozen (with -20°C) or finally in freeze-dried form. Among the various modes of conservation tested, we recorded the highest value of the coagulating activity for the abomasum A (without mucous membrane) after 15 weeks of freezing (0.277 ± 0.000 UP), corresponding to the 2nd period of conservation (between 8 and 18 weeks). During this period, the gastric enzymes resulting from abomasum B (with mucous membrane) have the lowest proteolytic activity when they are preserved at the refrigerator at + 4°C with the value (0.34 ± 0.050). These two extracts thus chosen would be indicated for the cheese-making transformation of milk at the industrial level, particularly on the level of the phase of coagulation. This result is also confirmed besides by the principal component analysis (ACP) where the various studied variables are strongly correlated.

Key words: camel milk, abomasum, enzymatic extract, conservation, coagulating activity, proteolytic activity.

