

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Département : Biologie

Thème : Etude de l'extraction de la pepsine de poulet et la ficine de figuier et leurs aptitudes à la coagulation du lait.

Présenté par :

- ❖ KHELIL Zeyneb
- ❖ TALEB Yasmine

Devant la commission composée de :

BOUDALIA Sofiane	Président	Université de Guelma
BAALI Salim	Examineur	Université de Guelma
GUEROUI Yacine	Encadreur	Université de Guelma
MERZOUG Abd Elghani	Membre	Université de Guelma
MEZROUAA Elyamine	Membre	Université de Guelma
SOUIKI Lynda	Membre	Université de Guelma

Juin 2017

Remerciements

Au terme de ce travail, Nous remercions le bon dieu tout puissant qui nous a donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à tous les membres de ce jury, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail.

Nous remercions Mr GUEROUI Yacine d'avoir accepté de diriger et de suivre constamment la progression de ce travail par ses suggestions, sa disponibilité et son aide.

Nous tenons à remercier Mr BOUDALIA. S maître assistant au département de biologie, d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance.

Nous tenons à remercier Mr BAALI .S maître assistant au département de biologie, de nous avoir pris le temps d'examiner ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères au Mr ZOUARA Mohamed directeur de L'ANDI pour son assistance dans notre stage de fin d'étude.

Nous remercions également Mr ABIDI Karim le directeur de la laiterie SAFIA de nous avoir permis d'effectuer notre stage au sein de son usine, notre formateur au laboratoire de la laiterie, ainsi que les laborantines de la faculté de Biologie M^{me} Ghania, M^{me} Ratiba et surtout M^{me} Bahia à son aide et sa gentillesse qui nous ont apporté leurs aides et leurs encouragements.

Nous remercions la boucherie de WLED Meddour, tonton Abderrahman et la voisine Imen de nous avoir aidé de collecter les matières premières.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants du parcours à savoir: Mr Mezrouaa, M^{me} Bousnen, M^{me} Benjeddou, M^{me} Braik, Mr Rouabhia, M^{me} Souikj, M^{me} Tabet, Mr Merzoug, Mr djekoun et la secrétaire Cherifa qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

C'est un plaisir autant qu'un devoir d'exprimer notre gratitude et notre reconnaissance à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin, pour la réalisation de ce modeste travail.

Merci à tous et à toutes

Dédicaces

Je dédie ce travail à celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi chère Maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance.

À Mon chère Papa de tout ce qu'il a fait pour moi ; par leur soutiens moral et économique.

*Aussi à **ami Brahim** et **tata Halima** qu'on m'a bien accueilli pendant ces cinq ans, et je les remercie pour leur encouragements et inestimable soutien.*

*À Mes chères frères : **Bachir, Moussa** et **mouhamed**.*

*À Mes chères sœurs : **ASMA, HADJER** et **SOUHA***

Mes grandes mères

*Ma sweety kabloucha **INESS***

*À mon amie intime, ma binôme **JAS** chez qui m'a supporté durant ces cinq ans. et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.*

Je remercie vivement et profondément toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

*Je ne saurais oublier de remercier mes ami(e)s **Selma, Lobna, Meriem, Abir, Mira, Mouna, Nihed, Chaima, Lajouje, Najeeb, Abdou, Riad** et **Youcef** pour les moments inoubliables avec eux.*

*Sans oublier tous mes amis surtout la promotion **QPSA 2017***

& à la fin : À vous cher lecteur d'avoir consacré votre temps à lire ce travail

Zeyneb 🎵😊

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère maman, raison de mon existence. Pour tes sacrifices, ton soutien et ta tendresse. Tu étais toujours la prés de moi, pour me soutenir, m'encourager et me guider avec tes précieux conseils. Aucun mot ne saurait exprimer ma grande reconnaissance, ma gratitude et mon profond amour, qu'ALLAH t'accorde la santé et la longue vie.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien morale et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour, qu'ALLAH te garde pour nous Papa.

*A mon grand frère **Mahdi**, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi, tu es mon ange gardien et mon fidèle accompagnant.*

*A mes chers et adorables petits frères **Anes** et **Adnan** qu'ALLAH soit à tes cotes et te procure la réussite et le bonheur.*

*A mes chères petites sœurs **Belkis** et **Zahra** je vous soubaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*A mes grands-parents et à la mémoire de mon grand-père **Smail ALLAH** yarhmo.*

*Une spéciale dédicace à ce que j'aime beaucoup, qui m'a toujours soutenue ma tante **Hazar**.*

*A mes tantes et oncles paternelle et maternelle en priori **Mouhamed Sghir** et **Salah Eddin**.*

A mes cousines et cousins.

*A la personne qui a partagée tous le travail, qui J'ai appris d'elle quand il y a le souci de réaliser un dessein tout devient facile pour arriver à nos fins malgré les obstacles qui s'opposent, merci pour ta patience et pour les bon moments qu'on a partagé ma binôme ma sœur **Zeynouba**, on termine un rêve héroïque espérant dès lendemain épique un avenir glorieux souhaitant que le fruit de nos efforts fournis, et un grand merci pour toute sa famille surtout **Tata Hakima**, **3ami Lhadj** et la petite **Iness**.*

*A mes meilleurs amies **Saloumi**, **Sissi** et **Rania** en témoignage de ma sincère reconnaissance et ma gratitude infinie.*

*A tous mes amies surtout **Chaima**, **Nihad**, **Sana**, **Meriem** ; **Selsa**, **Sawsen**, **Lamya**, **Houta**, **Marwa** et toute ma promo « **QPSA 2016-2017** ».*

Et enfin à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, de prés ou de loin.

Yasmine (SOLA)

Résumé

Ce travail est articulé autour de deux axes de recherche, le premier concerne les analyses physico-chimiques du lait et le second est l'extraction des enzymes coagulantes qui sont capable de succédané la présure par la pepsine à partir de proventricules de poulet, et la ficine à partir du latex du figuier, en vue de leurs utilisation dans la coagulation du lait (reconstitué et de vache). Les propriétés coagulantes de la pepsine de poulet et la ficine du figuier sont étudiées ainsi que la possibilité de conservation de la pepsine extraite.

L'activité et la force coagulante des enzymes extraites utilisés sont déterminées par mesure du temps de floculation du lait, et pour mieux caractériser le profil coagulant de la pepsine de poulet par comparaison à la ficine de figuier, nous avons procédé l'étude de la variation du temps de floculation en fonction des variations des facteurs du milieu réactionnel (pH et température). Et enfin la conservation de la pepsine de poulet est réalisée par réfrigération et congélation.

D'après les résultats obtenus, l'extrait clarifié de pepsine de poulet présente une activité coagulante de 1,587 UP pour le lait de vache et de 0,033 UP pour le lait reconstitué, l'optimum de cette activité est enregistré à des températures égales à 65 °C avec 11,11 UP pour le lait de vache et à 55 °C avec 0.266 UP pour le lait reconstitué. La force coagulante de cet extrait est égale à 3.63.

L'extrait brut de la ficine possède une activité coagulante de 25 UP pour le lait de vache et de 12.33 pour le lait reconstitué, alors que la force est variée de 400 pour le lait de vache à 117,64 pour le lait reconstitué. L'optimum de l'activité coagulante pour l'extrait de ficine est obtenu à une température égale à 70°C avec une valeur de 1111,11 UP pour le lait de vache et 333,33 UP pour le lait reconstitué.

Pour la zone de pH étudié (5,8-7,0), l'abaissement du pH du lait favorise l'activité coagulante de la pepsine et la ficine. L'influence du pH du lait est plus marquée pour la ficine que pour la pepsine.

La conservation de la pepsine par réfrigération permet une meilleure préservation de l'activité coagulante comparée à la congélation pour l'extrait clarifié et l'extrait concentré de pepsine de poulet.

Mots clés : Extraction, Coagulation, Pepsine de poulet, Ficine, Lait de vache, Lait reconstitué.

Abstract

This work is based on two research axes, the first concerns the physico-chemical analyzes of milk and the second is the extraction of coagulating enzymes that are capable of substitutes rennet by pepsin from chicken proventricles, and Ficin from fig latex, for use in the coagulation of milk (reconstituted and raw). The coagulating properties of chicken pepsin and ficin of the fig are studied and possibility of preserving the extracted pepsin.

The activity and the coagulation force of the extracted enzymes used are determined by measuring the time of flocculation of the milk, and in order to better characterize the coagulant profile of chicken pepsin compared to the ficin, We studied the time variation of the flocculation as a function of the variations of the factors of the reaction medium (pH and temperature). Finally the preservation of chicken pepsin is carried out by refrigeration and freezing.

The main results obtained have shown that the extract of chicken pepsin coagulant activity is 1.587 UP for cow's milk and 0.033 UP for the reconstituted milk, the optimum of this activity is recorded at temperatures equal to 65 ° C with 11,11 UP for cow's milk and 55°C with 0.266 UP for reconstituted milk. The coagulating force of this extract is equal to 3.63.

The crude extract of the ficin has a coagulant activity of 25 UP for the cow's milk and 12.33 for the reconstituted milk, while the force is varied from 400 for the cow's milk to 117.64 for the reconstituted milk. The optimum of the coagulant activity for the ficin extract is obtained at a temperature equal to 70°C. With a value of 1111, 11 UP for the cow's milk and 333, 33 UP for the reconstituted milk.

For the pH zone studied (5.8-7.0), the lowering of the pH of the milk favors the coagulation activity of pepsin and ficin. The influence of milk pH is more pronounced for ficin than for pepsin.

For clarified and concentrated pepsin extract, freezing is more preservative of milk clotting activity than refrigeration.

Key words: Extraction, Coagulation, Chicken Pepsin, Ficin, Cow Milk, Reconstituted Milk.

الملخص

تتضمن هذه الدراسة محورين من الابحاث، يتعلق الأول بالتحاليل الفيزيائية و الكيميائية للحليب والثاني يتمحور حول استخراج إنزيمات التخثير القادرة على استبدال نفحة العجل (la présure) بالبييسين (pepsine) المستخرج من معدة الدجاج (proventricule)، و بالفيسين المستخرج من لبن شجرة التين (le latex de figuier)، بغرض استخدامها في تخثير الحليب (حليب معاد تركيبه و حليب البقرة). تمت دراسة خصائص التخثير للبييسين الدجاج وفيسين شجرة التين وإمكانية حفظ البييسين المستخرج.

نشاط وقوة التخثير للأنزيمات المستخرجة المستخدمة حددتا بقياس وقت تلبد الحليب, و من اجل تشخيص أفضل لنشاط التخثير للبييسين الدجاج مقارنة بفيسين شجرة التين أجرينا دراسة تغيرات وقت التلبد بدلالة تغيرات عوامل وسط التفاعل (حموضة الوسط ودرجة الحرارة). وأخيرا تم حفظ بييسين الدجاج عن طريق التبريد والتجميد.

حسب النتائج التي تم الحصول عليها، أوضح بييسين الدجاج المستخرج نشاط تخثير قدر ب 587 UP، 1 لحليب البقر و 0.033UP لحليب المعاد تركيبه، حيث ان النشاط الامثل تم تسجيله في درجة حرارة تساوي 65 درجة مئوية حيث قدر ب 11.11 UP لحليب البقر وفي 55 درجة مئوية للحليب المعاد تركيبه ب 0.266 UP. قوة التخثير لهذا المستخرج قدرت ب 3.63.

الفيسين الخام المستخرج لديه نشاط تخثير 25 UP لحليب البقر ولحليب المعاد تركيب 12.33 UP في حين أن القوة فهي تتغير من 400 لحليب البقر إلى 117.64 للحليب المعاد تركيبه. تم الحصول على نشاط التخثير الأمثل للفيسين عند درجة حرارة تساوي 70 درجة مئوية مع قيمة 1111.11 UP للحليب البقر و 333.33 UP للحليب المعاد تركيبه.

بالنسبة لمجال درجة الحموضة المدروس (5-7)، انخفاض درجة حموضة الحليب يعزز نشاط التخثير للبييسين وفيسين. تأثير درجة حموضة الحليب المسجل اعلى للفيسين مقارنة بالبييسين.

الكلمات المفتاحية : استخراج, بييسين الدجاج, فيسين, حليب البقرة, حليب معاد تركيبه.

Liste des abréviations

FAO : Food and agriculture organisation.

Ac : Activité.

AFNOR : Association française de normalisation.

°D : degré Dornic.

F: Force de l'enzyme.

κ : kappa, κ –CN : kappa caséine.

LPC : lait pasteurisé conditionné.

MG : matière grâce.

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé.

O.N.S : Office National des Statistiques.

SNG : solide non gras.

U.A.C : Unité d'activité coagulante.

UHT : ultra haute température.

UP: unite pepsine.

Liste des tableaux

Nº	Titre	Page
Tableau 01	Composition générale du lait de vache	04
Tableau 02	Composition moyenne en g/L et distribution des protéines dans le lait	06
Tableau 03	Composition moyenne de la micelle de caséine	07
Tableau 04	Origine de différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait.	25
Tableau 05	Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait de vache	52
Tableau 06	Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait reconstitué	54
Tableau 07	Activité coagulante des enzymes extraites	56
Tableau 08	Force coagulante des enzymes extraites	57
Tableau 09	Effet de la conservation par le froid sur l'activité coagulante de la pepsine	61

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Micelle de caséine individuelle vue par un microscope électronique	08
Figure 02	Structure d'une micelle de caséine stable et d'une submicelle caséinique	09
Figure 03	Phases de coagulation de lait et formation de réseau	18
Figure 04	Hydrolyse de la caséine κ par la présure	19
Figure 05	Formation d'un caillé présure par action de la présure sur les caséines du lait	20
Figure 06	Facteurs influençant les paramètres de coagulation enzymatique du lait	22
Figure 07	Appareil digestif du poulet	27
Figure 08	Arbre de figuier	29
Figure 09	Site d'étude de la laiterie SAFIA	32
Figure 10	Diagramme de fabrication du lait reconstitué (SAFIA)	34
Figure 11	Diagramme de fabrication du lait de vache (SAFIA)	36
Figure 12	Mesure de densité du lait par le thermo-lactodensimètre	37
Figure 13	Test de bleu de bromothymol	39
Figure 14	Lactoscane	40
Figure 15	Anatomie du tractus du poulet	41
Figure 16	Proventricules de poulet : A : avant incision ; B : après incision.	41
Figure 17	Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet	42
Figure 18	Broyage de la solution saline de macération	43
Figure 19	Filtration du macérât	43
Figure 20	Ajustement du pH par pH mètre	44
Figure 21	Centrifugation de pepsinogène	44
Figure 22	Récupération du latex	45
Figure 23	Centrifugation du latex	46
Figure 24	L'extrait brut de l'enzyme	46
Figure 25	Bain Marie	48
Figure 26	Incubation des flocons à 35 °C dans un bain Marie	48

Figure 27	Centrifugation de la pepsine concentrée et la récupération du culot	50
Figure 28	Activité coagulante des extraits enzymatiques : A : Lait de vache, B : Lait reconstitué	56
Figure 29	Force coagulante de la ficine: A : Lait de vache, B : Lait reconstitué	57
Figure 30	Force coagulante de la pepsine: A : Lait de vache, B : Lait reconstitué	57
Figure 31	Effet du pH sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait de vache	58
Figure 32	Effet du pH sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait reconstitué	59
Figure 33	Effet de la température sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait de vache	60
Figure 34	Effet de la température sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait reconstitué	61

TABLE DES MATIÈRES

	Page
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	1
Chapitre I : Généralité sur le lait	
1. Historique	3
2. Définition	3
3. Composition du lait	3
3.1. Eau	4
3.2. Matières minérales	4
3.3. Vitamines	5
3.4. Matière grasse	5
3.5. Glucides	5
3.6. Matières azotées	5
3.6.1. Azote non protéique (ANP)	5
3.6.2. Azote protéique	5
a. Les caséines	6
a.1. Eléments constitutifs des caséines	6
a.2. Caractères généraux des caséines	7
b. Protéines de sérum	9
4. Facteurs influençant la composition du lait	9
4.1. Variabilité génétique entre individus	10
4.2. Stade de lactation	10
4.3. Age	10
4.4. Facteurs alimentaires	10

4.5. Facteurs climatiques et saisonniers	10
5. Propriétés physico-chimiques du lait	11
5.1. Masse volumique	11
5.2. La densité	11
5.3. Point de congélation	11
5.4. Point d'ébullition	11
5.5. Acidité du lait	12
6. Qualité organoleptique du lait	12
6.1. La couleur	12
6.2. L'odeur	12
6.3. La saveur	12
6.4. La viscosité	13
7. Les différents types du lait	13
7.1. Lait de consommation	13
7.1.1. En fonction du traitement thermique appliqué	13
7.1.2. En fonction du taux de la matière grasse	14
7.1.3. Autres types du lait	15

Chapitre II : Coagulation enzymatique du lait

1. Coagulation du lait	17
1.1. Définition	17
1.2. Différents types de coagulation	17
1.2.1. Coagulation acide	17
1.2.2. Coagulation mixte	17
1.2.3. Coagulation enzymatique	17
2. Etapes de coagulation	18
2.1. Phase primaire	18
2.2. Phase secondaire	19
2.3. Phase tertiaire	19
3. Facteurs influençant la coagulation	20
3.1. Concentration en enzyme	21
3.2. Température	21
3.3. pH	21

3.4. Teneur en calcium	21
3.5. Teneur en caséines	21
3.6. Dimension des micelles	21
4. Evaluation de la coagulation	23
4.1. Temps de coagulation	23
4.2. Temps de prise	23
4.3. Activité coagulante	23
4.4. Force coagulante	23
5. Enzymes coagulantes	23
5.1. Les enzymes d'origine animale	23
5.2. Enzymes d'origine microbienne	24
5.3. Enzymes d'origine végétale	24
6. Présure et succédanés de présure	24
6.1. La présure	24
6.1.1. Chymosine	25
6.1.2. Pepsine	26
6.1. Succédanés de présure	26
6.2.1. Succédanés d'origine animale	26
a. Pepsine porcine	26
b. Pepsine de poulet	26
6.2.2. Succédanés d'origine végétale	28
a. Généralité sur le figuier	28
b. Le latex	29
c. Caractéristiques de la ficine	29
d. Utilisation de la ficine	30

Chapitre III : Matériel et Méthodes

1. Matières premières	31
1.1. Le lait	31
1.2. Pepsine	31
1.3. La ficine	31
2. Présentation de l'unité de production (Laiterie SAFIA)	31
2.1. Procédé de fabrication du lait reconstitué	33

2.1.1. Matières premières	33
a. Poudre du lait	33
b. Eau de reconstitution	33
2.1.2. Reconstitution	33
2.1.3. Stockage	33
2.1.4. Filtration	33
2.1.5. Pasteurisation	34
2.1.6. Conditionnement	34
2.2. Procédé de fabrication du lait cru	35
2.2.1 Réception	35
2.2.2 Filtration	35
2.2.3 Stockage	35
2.2.4 Pasteurisation	35
2.2.5 Refroidissement	35
2.2.6 Conditionnement	36
3. Analyse physicochimique et biochimiques du lait	36
3.1. Prélèvement	37
3.2. Détermination de la densité	37
3.3. Détermination de l'acidité	38
3.5. Epreuve de l'ébullition	38
3.3. Détermination du pH	38
3.4. Test de bleu de bromothymol	39
3.5. Détermination la teneur en lactose, protéine, et matière grasse.	40
4. Extraction de la pepsine	40
4.1. Proventicules de poulet	40
4.2. Préparation des proventicules	41
4.3. Purification de la pepsine	42
5. Extraction de la ficine	45
5.1. Récupération du latex	45
5.2. Purification de la ficine	45
6. Caractérisation de l'activité enzymatique de l'extrait	46
6.1. Mesure du pH des extraits enzymatiques	46
6.2. Evaluation de l'activité coagulante	47

6.2.1. Mesure du temps de floculation	47
6.2.2. Activité coagulante	47
6.2.3. Force coagulante	48
6.3. Appréciation de l'effet du pH du lait	49
6.4. Appréciation de l'effet de la température du lait	49
7. Etude du mode de conservation de la pepsine extraite	49
7.1. Concentration	49
7.2. Conservation par réfrigération / congélation	51

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait	52
1.1. Lait de vache	52
1.1.1. Température et densité	52
1.1.2. pH et acidité titrable	52
1.1.3. Épreuve de l'ébullition	52
1.1.4. Point de congélation	53
1.1.5. Blue de bromothymol	53
1.1.6. Détermination du volume de sachet	53
1.1.7. Détermination de la teneur en lactose, protéine, et matière grasse	53
1.2. Lait reconstitué	53
1.2.1. Température et densité	53
1.2.2. pH et acidité Dornic	53
1.2.3. Détermination du volume de sachet	54
1.2.4. Epreuve de l'ébullition	54
1.2.5. Point de congélation	54
1.2.6. Détermination de la teneur en lactose, protéine, et matière grasse	54
2. Caractérisation de l'activité enzymatique des extraits	55
2.1. Rendement de l'extraction	55
2.2. pH des extraits enzymatiques	55
2.3. Propriétés coagulantes des extraits enzymatiques	55
2.3.1. Détermination de l'activité coagulante	55
2.3.2. Détermination de la force coagulante	56
2.3.3. Détermination des conditions optimales de coagulation	58

a. Effet du pH	58
b. Effet de température	60
2.3.4. Détermination de l'activité coagulante de pepsine après conservation	61
Conclusion	63
Références Bibliographiques	65
Annexes	

INTRODUCTION

Consommé depuis 12 000 ans, le lait est un aliment universel, présent dans toutes les civilisations. C'est l'aliment vital par excellence, à la fois ressource alimentaire et symbole de pureté, synonyme de richesse et d'abondance. Il a traversé les siècles et reste aujourd'hui un des aliments les plus ancrés dans notre consommation, les plus présents dans notre quotidien (Ghaoues, 2011).

L'intérêt majeur de la transformation du lait en fromage était de conserver les principaux constituants du lait (Eck & Gillis, 2006). La première étape de fabrication du fromage est la coagulation, considérée comme la clé de la réussite de n'importe quelle préparation. Elle consiste à la formation d'un gel suite à des modifications physico-chimiques intervenant sur les micelles de caséines. La présure de veau est l'agent coagulant le plus utilisé pour la coagulation du lait (Eck & Ghili, 2006).

Depuis quelques années, elle a connu une demande accrue en raison d'une augmentation régulière de la production mondiale du fromage. A l'inverse, son offre n'a pas toujours suivi cette demande en raison du prix élevé et aux difficultés d'approvisionnement, car la production de veaux de lait est fluctuante alors que l'industrie fromagère nécessite un approvisionnement suffisant et régulier (Banga-Mboko *et al.*, 2002).

Ces raisons ont fait que de nombreuses recherches ont été entreprises afin de trouver des succédanés efficaces et compétitifs utilisables industriellement. Parmi ces succédanés, les protéases d'origine végétale sont très anciennement utilisées dans des préparations traditionnelles telles que celles provenant de l'artichaut, du chardon et de latex du figuier. D'autres enzymes ont été testées telles que les protéases d'origine fongique synthétisées par diverses espèces. Il existe aussi des succédanés d'origine animale tels que les pepsines porcines, bovines et les pepsines extraites des proventricules des volailles (Siar, 2014).

Bien qu'elle ait un potentiel de production en succédanés capables de subvenir aux besoins en agents coagulants, l'Algérie reste dépendante des fournisseurs étrangers en matière d'approvisionnement et importe la quasi-totalité des quantités d'enzymes nécessaires à l'industrie fromagère. En 2011, environ 25 mille tonnes de fromages ont été vendus dans le marché algérien. Selon l'Office National des Statistique (O.N.S), l'industrie fromagère algérienne a utilisé près de 1,5 tonne de présure et ses substituts (Siar, 2014). Le coût élevé d'importation (plus de 102 millions de Dollars) ainsi que la dépendance de l'Algérie vis-à-vis

des fournisseurs étrangers en matière d'approvisionnement en présure et/ou ses succédanés, nous a encouragés à mettre en valeur des sources locales pour la production d'agents coagulants utilisables en industrie fromagère. Ces succédanés que nous envisageons d'étudier peuvent être obtenu à partir de matières premières locales et avec des prix convenables du fait que les abats de volailles et les jardins de figuier sont disponibles et ne sont pas valorisés dans notre pays (Siar, 2014).

L'objectif de ce travail est la contribution à la recherche des succédanés de présure utilisables industriellement et la possibilité de substituer la présure, valoriser la coagulation du lait par la caractérisation de l'extrait clarifié de la pepsine et de l'extrait brut de la ficine et faire la comparaison entre eux.

Notre étude s'articulera en quatre chapitres :

- Le premier chapitre présent des généralités sur le lait ;
- Le deuxième chapitre traite les différents types de coagulation enzymatique du lait ;
- Le troisième chapitre faisant appel à diverses méthodes utilisées dans cette étude ;
- Le quatrième chapitre est consacré pour les différents résultats obtenus des paramètres physicochimiques du lait ainsi que les résultats de coagulation par les deux extraits enzymatiques.

Enfin, on termine par une conclusion générale de ce travail.

1. Historique

Le lait est l'aliment universel par excellence consommé depuis 12 000 ans. Au fil des siècles, les procédés industriels améliorent sa conservation et son transport et garantissent sa qualité. Le lait reste au cœur de notre alimentation et de notre culture [1].

Il y eut vers 10 000 avant J-C une «révolution agricole» qui transforma les communautés nomades en sociétés sédentaires. Vint ensuite la domestication des animaux et la découverte de produits dérivés tels que le lait. En Égypte antique, le lait et d'autres produits laitiers étaient réservés à la royauté, les prêtres et les riches. En Europe, vers l'an 500, les vaches et les moutons étaient très prisés pour leur lait. Au 14^{ème} siècle, le lait de vache était devenu plus populaire que le lait de mouton. Les premières vaches laitières européennes sont arrivées en Amérique du Nord au début du 16^{ème} siècle. La première bouteille de lait est inventée en 1884, dans l'état de New York [1].

Louis Pasteur, un microbiologiste français, a effectué les premiers tests de pasteurisation en 1862. Cette découverte a permis d'assurer la salubrité du lait et la capacité de le conserver et de le distribuer à l'extérieur de la ferme. Des appareils pour la pasteurisation sont commercialisés en 1895. Dans les années 1930, les boîtes de lait furent remplacées par des réservoirs de stockage sur la ferme et les premiers cartons de lait enduits de plastique sont inventés, ce qui permit une meilleure distribution du lait frais [2].

2. Définition

Le lait est le produit intégral de la traite d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, tel que la vache, la chèvre, la brebis. Il est la principale source de nutriments pour les jeunes mammifères avant qu'ils puissent digérer d'autres types d'aliments (Sandra *et al.*, 2001).

C'est un liquide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en matière grasse, d'une saveur légèrement sucré, d'une odeur peu marquée mais reconnaissable et d'un pH (6,6 à 6.8) légèrement acide, proche de la neutralité [3].

3. Composition du lait

Le lait contient des nutriments essentiels au fonctionnement de l'organisme et il est une source importante d'énergie alimentaire ; c'est un milieu multiphasique: une phase aqueuse contenant essentiellement le lactose, les minéraux, une phase dispersée de nature lipidique (globules gras) et une phase de nature protéique (micelles de caséines) (**Tab. 01**). Cette composition varie selon différents facteurs liés aux animaux : la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge (Vignola, 2002).

Tableau 01 : Composition générale du lait de vache (Siar, 2014).

Constituants		Teneur du lait en ses constituants en g/l
Constituants minéraux	Eau	902
	Constituants salins minéraux	6,9
	Gaz dissous	0,1
Constituants organiques	Constituants salin	01,7
	Lactose	49
	Matière grasse	38
Protéique, ou constituants azoté	Protéique	32
	Caséine	26
	Protéines dites solubles	06
Constituants azotés non protéiques		1,5

3.1. Eau

L'eau représente environ 87 à 88 % du poids total du lait. Elle se trouve sous deux formes, l'eau libre (96 %) et l'eau liée (4 %) (Luquet, 1985).

3.2. Matières minérales

La quantité des minéraux contenue dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90 % (Vignola, 2002). Les principaux sont le potassium, le calcium, le chlore, le phosphore, le magnésium, et le sodium. On note également la présence des oligo-éléments. Ils se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous forme micellaire (Huppertz *et al.*, 2006).

Les éléments basiques majeurs (Ca, K, Mg et Na) forment des sels avec les constituants acides qui sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures (Vignola, 2002).

3.3. Vitamines

Le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. Ce sont surtout les vitamines A, B1 et B2 qui constituent leur valeur nutritive (Huppertz *et al.*, 2006).

3.4. Matière grasse

La matière grasse (MG) est présente dans le lait sous forme de globules gras de dimension de 0,1 à 10 µm ; essentiellement constitué de triglycérides (98 %), phospholipides (1 %) et d'une fraction insaponifiable (1 %) constituée en grande partie de cholestérol et de β-carotène. Elle est constituée de 65 % d'acides saturés et de 35 % d'acide gras insaturés (Vignola, 2002).

3.5. Glucides

Le sucre le plus abondant du lait est le lactose. C'est le constituant majeur de la matière sèche du lait (environ 40 %). C'est un disaccharide qui joue un rôle important, car il est fermenté lors de fabrication de divers produits laitiers (Mahaut *et al.*, 2000). On peut trouver d'autres glucides en faibles quantité tel que le glucose et le galactose qui provient de l'hydrolyse du lactose (Vignola, 2002).

3.6. Matières azotées

On distingue deux groupes de matières azotées dans le lait : la matière azotée protéique et la matière azotée non protéique (Mahaut *et al.*, 2000).

3.6.1. Azote non protéique (ANP)

L'azote non protéique représente en moyenne 5 % de l'azote total du lait et se présente sous forme d'urée, créatine, créatinine, ammoniacque, acides aminés libres, vitamines et nucléotides. (Mahaut *et al.*, 2000).

3.6.2. Azote protéique

Les protéines du lait sont probablement les constituants les plus importants du lait. La recherche sur des protéines du lait remonte au début du 19^{ème} siècle. Ils sont probablement les mieux caractérisées de toutes les protéines alimentaires (Huppertz *et al.*, 2006).

Les protéines du lait peuvent être divisées en deux classes selon leurs solubilité à pH 4,6 les protéines insolubles à pH 4,6 s'appellent les **caséines** et les protéines solubles à pH 4,6 sont les protéines de **sérum** ou les protéines de petit lait (**Tab. 02**) (Huppertz *et al.*, 2006).

Tableau 02: Composition moyenne en g/L et distribution des protéines dans le lait (Alais, 1984).

Matières azotées	Proportions moyennes (g/l)
Protéines	30,4
A. Caséine isoélectrique	25
a-caséine α 1	9,0
b-caséine α 2	2,5
c-caséine β	8,5
d-caséine κ	3,2
e-caséine γ 1, γ 2, γ 3	1,75
B. Protéines du lactosérum	5,4
B-1-albumines	
a- β -lactoglobuline	2,7
b- α -lactalbumine	1,2
c-sérum-albumine	0,25
B-2-globulines immunes	0,65
B-3-protéoses-peptones	0,60
Substances azotées non protéiques	1,6

a. Les caséines

Les caséines représentent 80 % des protéines totales du lait et elles sont une classe des phosphoprotéines, dont les propriétés diffèrent considérablement de la plupart des autres protéines. Les caséines sont hydrophobes et ont une charge relativement élevée et contiennent beaucoup de la proline et peu de résidus de cystéine (Huppertz *et al.*, 2006). Ces protéines possèdent un certain nombre de caractères communs, la présence de phosphore sous forme de groupements phosphoséryles, leur richesse en certains acides aminés et la forte proportion de résidus apolaires (Mahaut *et al.*, 2000).

a.1. Eléments constitutifs des caséines

Les caséines présentent une structure lâche et peu ordonnée ce qui les rend accessible aux enzymes protéolytiques (Eck & Ghilis, 2006). Les micelles de caséine sont constituées de 92 % de protéines et de 8 % de minéraux (**Tab. 03**). Les quatre principales protéines contenues dans les micelles sont les caséines α 1, α 2, β , et κ . Il existe également une caséine γ qui provient de l'hydrolyse de la caséine β par la plasmin. Leur constitution diffère entre le

centre et la périphérie, les caséines β et α_1 sont plus présentes au centre de la micelle et forment le cœur hydrophobe, tandis que la partie externe de la micelle est formée de caséines α_1 , α_2 et κ (Vignola, 2002).

Tableau 03: Composition moyenne de la micelle de caséine en g/100g (Eck & Ghilis, 2006).

		Constituants	Composition g/100g
Caséines		α_1	33
		α_2	11
		B	33
		K	11
		Γ	4
Composants sains		Calcium	2,9
		Magnésium	0,2
		Phosphate inorganique	4,3
		Citrate	0,5

a.2. Caractères généraux des caséines

- **Caséine α_2**

Cette caséine, présente en quantité modeste (8 à 11 %), possède 207 acides aminés. La fraction α s'est révélée hétérogène. L'ensemble des fractions α_2 , α_3 , α_4 , α_5 et α_6 est maintenant nommé caséine α_2 . Le poids moléculaire est situé entre 24000 et 30000 Daltons. Elle est fortement sensible au calcium à toute température et elle est la plus hydrophile de toutes les caséines vu sa richesse en groupements phosphorylés et en résidus cationiques (Benyahia, 2013).

- **Caséine β**

Elle est présente en quantité importante (25-35 %), et possède 209 acides aminés, pour une masse molaire d'environ 24000 Daltons. Elle est sensible au calcium à température ambiante. A une température inférieure de 10 °C, elle reste soluble en présence de calcium. C'est la plus hydrophobe des caséines (Benyahia, 2013).

- **Caséine κ**

Sa structure primaire comporte 169 résidus d'acide aminés, son poids moléculaire est de 19000 Daltons. Lors de leur hydrolyse, il y a une libération du caséinomacropéptide (CMP) ou il est fortement glycosylé formant les glycomacropéptides (GMP) et la para caséine κ .

La fraction CMP ou GMP confère à cette protéine son caractère hydrophile et la para caséine κ son caractère très hydrophobe. Ceci explique la perte de la solubilité des micelles de caséines (Benyahia, 2013).

- **Caséine γ**

La connaissance de la structure de la caséine β permet de montrer que la fraction γ est constituée de 3 fragments appelés γ_1 (20500 Daltons), γ_2 (11800 Daltons), γ_3 (11500 Daltons) qui proviennent de l'hydrolyse de la caséine β par la plasmine, une protéase endogène alcaline du lait (Benyahia, 2013).

- **Micelle de caséine**

La micelle de caséine est une particule sphérique d'un diamètre moyen de 50 à 200 nm formée par l'association des caséines (α_1 , α_2 , β , κ), de quelques fragments peptidiques (caséines γ) et de composants salins dont les deux principaux sont le calcium et le phosphore. Les associant qui constituent la micelle, sont appelées des submicelles (Eck & Ghilis, 2006).

Les submicelles s'agrègent entre elles principalement par des liaisons phosphocalciques et secondairement par le magnésium et le citrate (**Fig. 01**) (Mahaut *et al.*, 2000).

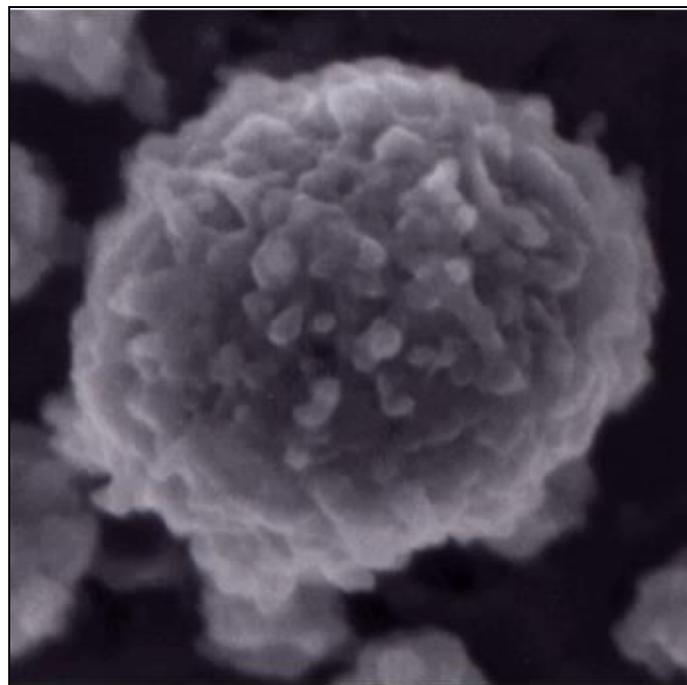


Figure 01: micelle de caséine individuelle vue par un microscope électronique (Benyahia, 2013).

Les submicelles à faible teneur en caséine κ sont localisées à l'intérieur de la micelle; celles, riches en caséines κ sont présentes à l'extérieur. Les submicelles périphériques riches en caséines κ comportent des chaînes flexibles (**Fig. 02**). Ces chaînes correspondant aux fragments COOH terminal des caséines κ auraient un rôle déterminant dans la stabilité des micelles (Eck & Ghilis, 2006).

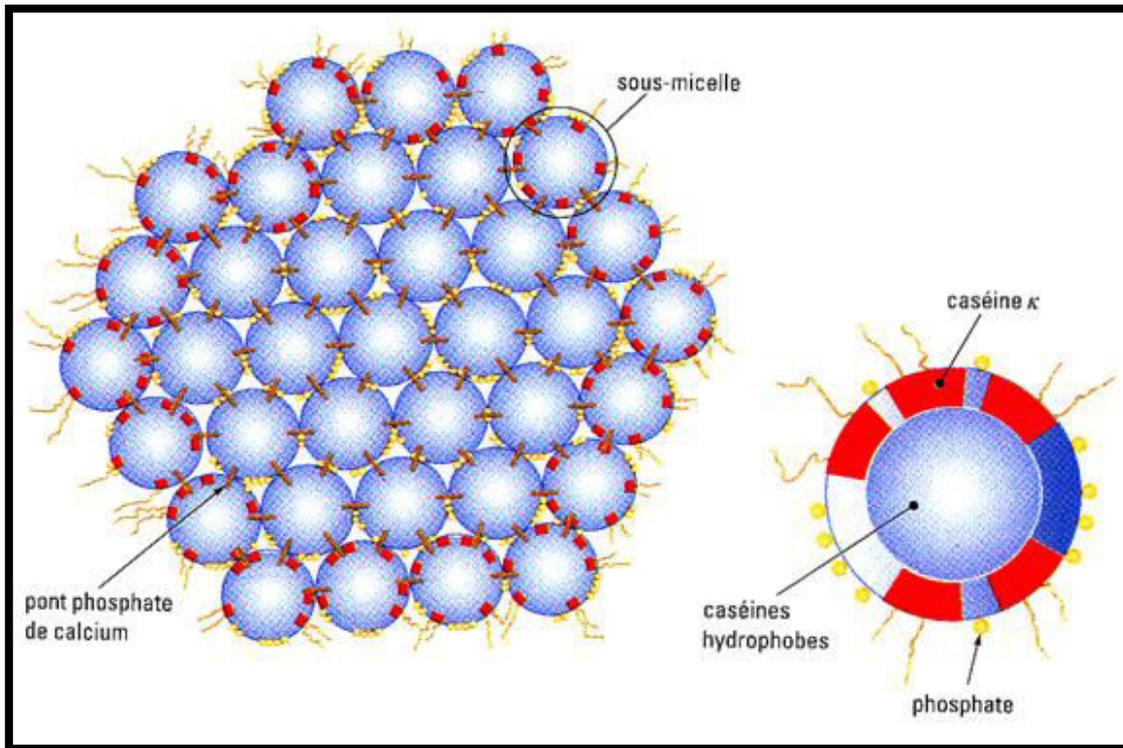


Figure 02 : Structure d'une micelle de caséine stable et d'une submicelle caséinique (Benyahia, 2013).

b. Les protéines de sérum

Les protéines de sérum représentent environ 20 % des protéines totales. Elle se trouve sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont β -lactoglobuline et α -lactoglobuline, les autres protéines du sérum sont des immunoglobulines. En plus de ces protéines, des enzymes sont présentes dans le sérum (Huppertz *et al.*, 2006).

4. Facteurs influençant la composition du lait

Selon Coulon, (1994), la composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs. Ces principaux facteurs de variation sont bien connus, ils sont liés soit à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...) soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation).

4.1. Variabilité génétique entre individus

D'après Pougheon et Goursaud, (2001), il existe des variabilités de composition entre les espèces et les races mais les études de comparaison ne sont pas faciles à mener, car les écarts obtenus lors des contrôles laitiers sont la combinaison des différences génétiques et des conditions d'élevage.

Généralement les races les plus laitières présentent un plus faible taux de matières grasses et protéiques ; c'est pourquoi un éleveur a tendance à privilégier les races qui produisent un lait de composition élevée. Il existe ainsi une variabilité génétique intra race élevée, c'est pourquoi une sélection peut apporter un progrès (Pougheon & Goursaud, 2001).

4.2. Stade de lactation

Les teneurs du lait en matières grasses et protéiques évoluent de façon inverse à la quantité du lait produite. Elles sont élevées au début de lactation (période colostrale), elles chutent jusqu'à un minimum au 2^{ème} mois de lactation après un palier de 15 à 140 jours. Les taux croissent plus rapidement dans les trois derniers mois de lactation (Magali, 2013).

4.3. Age

Selon Pougheon et Goursaud, (2001), on peut considérer que l'effet de l'âge est très faible sur les quatre premières lactations. On observe une diminution du taux butyreux de 1 % et du taux protéique de 0.6 %.

4.4. Facteurs alimentaires

L'alimentation n'est pas un des principaux facteurs de variation du lait mais elle est importante car elle peut être modifiée par l'éleveur. Une réduction courte et brutale du niveau de l'alimentation se traduit par une réduction importante de la quantité de lait produite et une baisse variable du taux protéique mais la mobilisation des graisses corporelles entraîne une augmentation très importante du taux butyreux associée à une modification de la composition en matière grasse (Pougheon & Goursaud, 2001).

4.5. Facteurs climatiques et saisonniers

La saison a une influence importante qui se rajoute aux autres facteurs (alimentation, stade de lactation, âge ...etc.) de façon permanente, le taux butyreux passe par un minimum en Juin-Juillet et par un maximum à la fin de l'automne. La teneur en protéines passe par deux minimums, un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été et par deux maximums à la mise à l'herbe et à la fin de la période de pâturage (Magali, 2013).

5. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot *et al.*, 2002).

5.1. Masse volumique

Selon Jeantet *et al.* (2008), la masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg.m^{-3} dans le système métrique.

5.2. La densité

La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau. La masse volumique de l'eau à 4 °C est pratiquement égale à 1000 Kg.m^{-3} tandis que la densité du lait à 20 °C par rapport à l'eau à 4 °C est d'environ 1.030 (Jeantet *et al.*, 2008).

5.3. Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a une addition d'eau au lait (Mathieu, 1999).

Sa valeur moyenne se situe entre (-0.54 °C) et (-0.55 °C), celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race et à la région de production. Le mouillage élève le point de congélation vers 0 °C, puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue. D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (Mathieu, 1999).

5.4. Point d'ébullition

Le point d'ébullition peut être défini comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5 °C (Amiot *et al.*, 2002).

5.5. Acidité du lait

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée dans la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D) (Mathieu ,1999).

$$1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g d'acide lactique par litre de lait.}$$

Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité $\leq 21^{\circ}\text{D}$. Un lait dont l'acidité est $\geq 27^{\circ}\text{D}$ coagule au chauffage ; un lait dont l'acidité est $\geq 70^{\circ}\text{D}$ coagule à froid.

6. Qualité organoleptique du lait

6.1. La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène.

Dans le lait, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche (Sandra *et al.*, 2001).

6.2. L'odeur

L'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (Ghaoues, 2011).

6.3. La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée.

L'alimentation à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi

apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extramammaire (Mathieu, 1999).

6.4. La viscosité

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques utilisés (Mathieu, 1999).

7. Les différents types du lait

7.1. Laits de consommation

Les laits de consommation se caractérisent notamment par le traitement thermique qui leur est appliqué pour leur conservation et le taux de la matière grasse :

7.1.1. En fonction du traitement thermique appliqué

- **Le lait cru**

Au moment de quitter le pis de la vache, le lait a une température d'environ 38 °C, température à laquelle il se détériore très rapidement. Le lait cru doit être immédiatement refroidi à 4 °C dans un refroidisseur. Le froid empêche les micro-organismes de se développer. Avant de le boire, il est vivement conseillé de le faire bouillir et doit être consommé dans les 48h (Luquet, 1985).

- **Le lait pasteurisé**

Il s'agit d'une méthode de conservation qui doit son nom à son inventeur : Louis PASTEUR qui s'est aussi rendu célèbre par la découverte du vaccin contre la rage.

La pasteurisation consiste à chauffer le lait pendant 15 secondes à une température inférieure à 100 °C particulièrement 72 °C puis à le refroidir. Ce procédé de chauffage modéré permet au lait de conserver son goût originel tout en le débarrassant des germes pathogènes.

Lorsque l'emballage n'a pas été ouvert, la pasteurisation assure au lait une durée de conservation de 7 jours au réfrigérateur [4].

- **Le lait stérilisé**

La dénomination « lait stérilisé » est réservée au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffer pendant 15 à 20 minutes à une température de 115 °C à 120 °C afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer. Le lait est ensuite rapidement refroidi. Il se conserve à une température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert [4].

- **Le lait UHT (Ultra Haute Température)**

C'est le procédé le plus moderne et le plus courant de nos jours. Il consiste à chauffer le lait pendant 2 à 5 secondes à une température de 135 °C à 150 °C puis à le refroidir quasi instantanément. La température est suffisante pour débarrasser le lait de tout germe nuisible à sa conservation. Le temps de chauffe très réduit permet de n'altérer ni le goût ni les valeurs nutritives du lait.

Le lait est ensuite versé dans un emballage stérile. Le lait UHT se vend en carton sous forme de brique ou en bouteilles blanches de polyéthylène. Il se conserve 3 à 4 mois à température ambiante fraîche [4].

- **Le lait frais micro filtré**

La dénomination « lait frais micro filtré » est réservée au lait obtenu par un traitement de microfiltration appliqué au lait cru, additionné ensuite éventuellement de crème traitée thermiquement ou de crème ayant subi tout traitement d'effet équivalent. Ce lait est conditionné et refroidi immédiatement après le traitement pour être ramené dans les meilleurs délais à une température ne dépassant pas 6 °C. Le lait frais micro filtré se conserve réfrigéré (Luquet, 1985).

7.1.2. En fonction du taux de la matière grasse

Par mélange du lait non écrémé et du lait écrémé, la laiterie produit 3 types des laits standardisés dont les teneurs en matières grasses sont fixées par la loi :

- **Le lait entier**

C'est un lait traité thermiquement qui, en ce qui concerne sa teneur en matière grasse, répond à l'une des formules suivantes :

- **Lait entier normalisé** : un lait dont la teneur en matière grasse s'élève à 3,50 % au minimum (Luquet, 1985).

- **Lait entier non normalisé** : un lait dont la teneur en matière grasse n'a pas été modifiée depuis le stade de la traite, ni par adjonction ou prélèvement de matières grasses du lait, ni par mélange avec du lait dont la teneur naturelle en matière grasse a été modifiée. Toutefois, la teneur en matière grasse ne peut être inférieure à 3,50 % (Luquet, 1985).

- **Le lait demi-écrémé**

C'est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse a été ramenée à un taux qui s'élève à 1,50 % au minimum et à 1,80 % au maximum [4].

- **Le lait écrémé**

C'est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse ne peut excéder 0,50 % [4].

7.1.3. Autres types du lait

- **Laits aromatisés**

Cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées, constituées exclusivement de lait écrémé ou non, sucré ou non, additionné de substances aromatiques naturelles. Toutefois, les laits aromatisés au chocolat ou au cacao peuvent aussi être mis en vente sous la dénomination de « lait chocolaté » ou « lait cacaoté ». Ils se conservent dans les mêmes conditions que le lait stérilisé (Mahaut *et al.*, 2000).

- **Le lait concentré**

Le lait concentré non sucré est obtenu par pasteurisation puis par concentration sous-vide. Après addition de stabilisateurs destinés à éviter le caillage, ce lait est conditionné et stérilisé. Le lait concentré sucré n'a lui pas besoin d'être stérilisé car le sucre empêche le développement des micro-organismes. Le goût sucré est obtenu par addition d'un sirop de saccharose. Il faut 2,2 L de lait pour obtenir 1 Kg de lait concentré. Dans le commerce, on trouve du lait concentré entier, demi-écrémé ou écrémé, du lait et de la crème pour café (Mahaut *et al.*, 2000).

- **Lait en poudre (Lait totalement déshydraté)**

Selon Mahaut (2000), le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait, du lait entièrement ou partiellement écrémé, de la crème ou d'un mélange de ces produits, et dont la teneur en eau n'excède pas 5 % en poids du produit fini. On distingue les laits en poudre suivants:

- **Le lait en poudre riche en matières grasses:** lait déshydraté contenant, en poids, au moins 42 % de matières grasses.
- **Le lait en poudre entier:** lait déshydraté contenant, en poids, au moins 26 % et moins de 42 % de matières grasses.
- **Le lait en poudre partiellement écrémé:** lait déshydraté dont la teneur en matières grasses est, en poids, supérieure à 1,5 % et inférieure à 26 %.
- **Le lait en poudre écrémé:** lait déshydraté contenant, en poids, au maximum 1,5 % de matières grasses.

1. Coagulation du lait

1.1. Définition

La coagulation est la première étape de transformation du lait en fromage. Cette coagulation se traduit par la formation d'un gel, résultant des modifications physico-chimiques intervenant au niveau des micelles de caséine. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement suivant que ces modifications sont induites par acidification ou par action des enzymes coagulantes [6].

1.1. Différents types de coagulation

1.1.1. Coagulation acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ($pH_i = 4,6$) par acidification biologique à l'aide des ferments lactiques qui fermentent le lactose en acide lactique, ou par acidification chimique l'addition d'un agent acidogène (glucono- δ -lactone) ou ajout de protéines sérique à pH acide. Le gel obtenu par acidification présente une bonne perméabilité mais une friabilité élevée. Le manque de structuration du réseau a pour conséquence une élasticité et une plasticité pratiquement nulle et une faible résistance aux traitements mécaniques (Abdellaoui, 2017).

1.1.2. Coagulation mixte

La coagulation mixte est réalisée par acidification du lait et adition des enzymes coagulantes. En pratique cette méthode est utilisée pour la fabrication des fromages frais ou fromages à pâte molle (boughellout, 2007).

Le coagulum obtenu présente des caractères intermédiaires entre ceux du gel lactique et présure. Il est caractérisé par une souplesse et une élasticité moins grande, une fermeté et friabilité plus accentuées que celle du gel présure (Jeantet *et al.*, 2008).

1.1.3. Coagulation enzymatique 1

La coagulation du lait par des enzymes protéolytiques est une des plus anciennes opérations de transformation alimentaire. Un grand nombre d'enzymes protéolytiques d'origine animale, végétale ou microbienne, présente la propriété de coaguler le complexe caséinique (Kellil, 2015).

La présure est l'enzyme coagulante la mieux connue et son mécanisme d'action est bien établi. Le processus de coagulation est influencé par la température, l'acidité et la teneur en calcium. La coagulation, provoquée par la présure (**Fig. 03**), résulte d'un processus en trois phases :

- Phase primaire ou enzymatique ;
- Phase secondaire ou phase d'agrégation des micelles déstabilisées ;
- Phase tertiaire ou phase de développement du réseau par réticulation et formation de gel (Alais, 1984; Brule *et al.*, 1997).

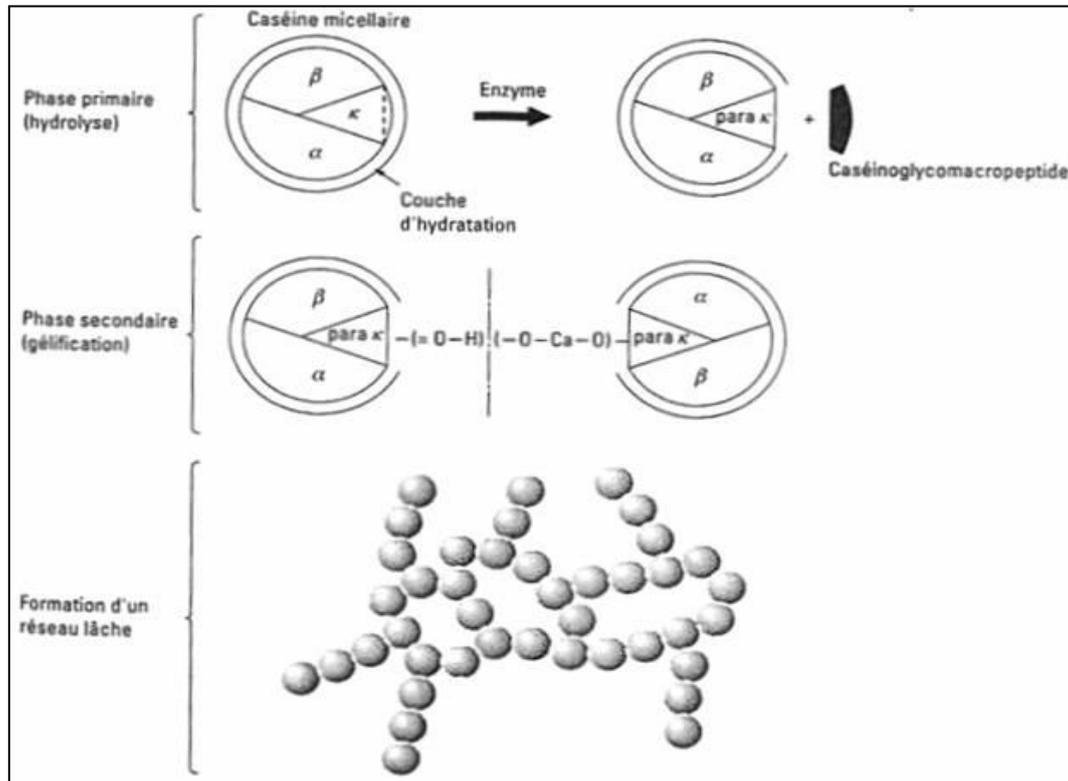


Figure 03 : Phases de coagulation de lait et formation de réseau [7].

2. Etapes de coagulation

2.1. Phase primaire

La micelle est principalement constituée de caséine κ avec son segment C-terminal hydrophile libre qui s'étend dans la phase aqueuse du lait assurant la stabilité stérique et agissant comme une barrière contre l'association des micelles (Eck *et Ghilis*, 2006).

Au cours de la phase enzymatique (primaire), il y'a une attaque de l'enzyme sur la caséine- κ (composante qui stabilise la micelle) au niveau de la liaison PHE105-MET106. La chaîne peptidique se trouve ainsi coupée en deux segments, le segment 1-105 est la paracaséine- κ (**Fig. 04**) et le segment 106-169 qui est le caséinomacropeptide (CMP). La paracaséine- κ liée aux caséines α et β reste intégrée à la micelle hydrophobe et le CMP contenant tous les glucides est libéré dans le lactosérum, ce qui entraîne une réduction de la charge négative et leurs degrés d'hydratation (Lij *et Daligleish*, 2006).

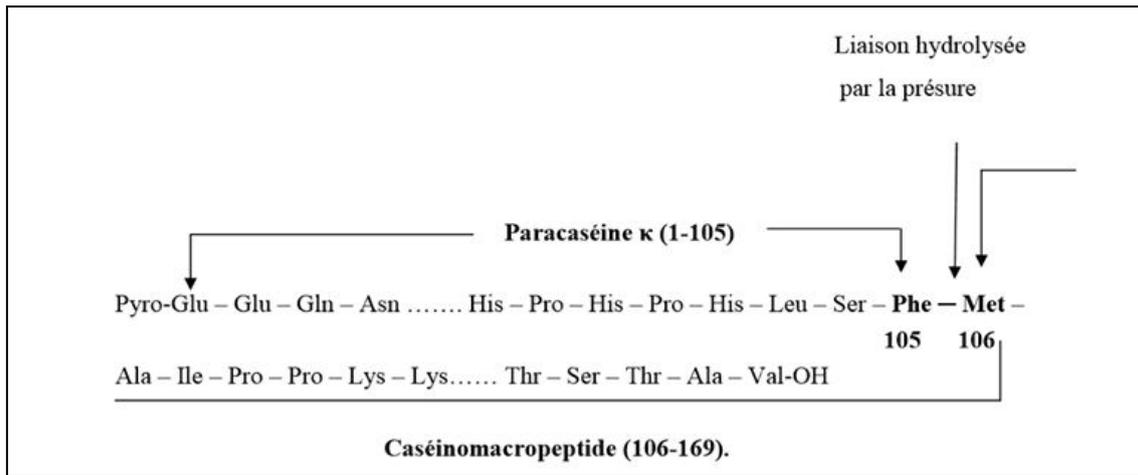


Figure 04 : Hydrolyse de la caséine κ par la présure (Fox *et al.*, 1994).

2.2. Phase secondaire

Cette phase commence dès que 85 % de la caséine-κ est hydrolysée. Elle est dite phase d'agglomération ou d'agrégation ou phase de coagulation proprement dit (Lucey, 2002). Durant laquelle la libération du macropeptide de la caséine-κ sous l'action de l'enzyme entraîne la réduction des répulsions électrostatiques entre les micelles de caséines hydrolysées. L'élimination de ces macropeptides entraîne également une réduction du diamètre hydrodynamique et une perte de la stabilité (Lucey, 2002).

La nature des interactions intervenant durant cette phase n'est pas encore bien connue. Toutefois, les ponts calciques et les forces de Van der Waals ainsi que les interactions hydrophobes semble être impliquées (Schmidt, 1982). Les micelles déstabilisées s'agrègent en présence des ions de calcium libres (Ca^{++}). Au début, il ya une formation de chaînes linaires de micelles qui continuent de s'agréger pour former des amas. Ces derniers constituent le gel protéique qui se sépare nettement de lactosérum (Lucey, 2002).

2.3. Phase tertiaire

Durant cette phase, les micelles agrégées subissent une profonde réorganisation par la mise en place de liaisons phosphocalciques et peut être de ponts disulfures entre les para caséines (Vignola, 2002).

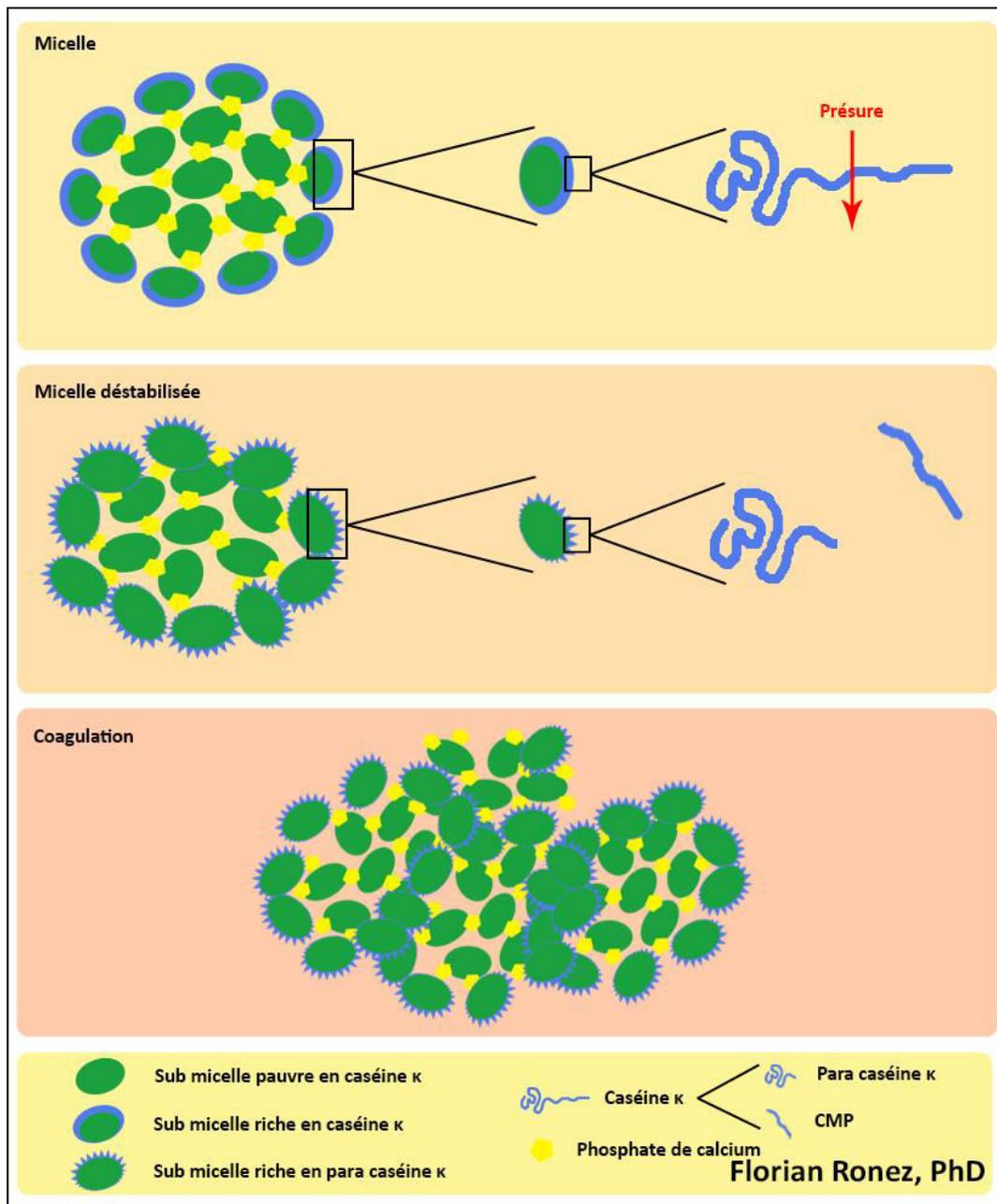


Figure 05 : Formation d'un caillé présure par action de la présure sur les caséines du lait [8].

3. Facteurs influençant la coagulation

De Nombreux facteurs sont susceptibles de modifier la coagulation du lait et les caractéristiques physiques des coagulums. Ces facteurs sont principalement liés à la concentration en enzyme, à la température, au pH, à la teneur en calcium, à la teneur en caséines et à la dimension des micelles (Eck *et* Ghilis, 2006).

3.1. Concentration en enzyme

La concentration en enzyme est inversement proportionnelle au temps de coagulation. Cependant, elle est proportionnelle à la vitesse d'hydrolyse de la caséine κ (phase enzymatique) et à la vitesse d'agrégation des micelles (phase physique) (Boughellout, 2007).

3.2. Température

La température optimale d'activité de la chymosine et de la pepsine est de 40-42 °C. A cet intervalle de température, le temps de floculation est minimal, puis augmente aux températures plus élevées et devient nul à 65 °C où la présure est inactivée. On note que le temps de raffermissement du gel diminue avec l'élévation de la température (Boughellout, 2007).

3.3. pH

En passant de pH 6,7 à 5,6, la vitesse de coagulation est accrue. Ceci résulte d'un accroissement de la vitesse d'hydrolyse et par suite une augmentation de la vitesse de raffermissement du gel. La fermeté est significativement importante de pH 6,6 à pH 6,0 due à une plus grande disponibilité du calcium ionisé. Au-dessous de pH 6,0, la caséine se déminéralise et la désagrégation de la structure micellaire est accentuée jusqu'à devenir totale à pH 5,2 (Boughellout, 2007).

3.4. Teneur en calcium

La réticulation du gel lors de la coagulation du lait par la présure, impliquant des liaisons phosphocalciques, est particulièrement influencée par la teneur et la nature du calcium présent. L'addition du CaCl_2 entraîne une augmentation du calcium ionisé et du calcium colloïdal ayant pour conséquence un temps de coagulation plus court et une fermeté du gel plus élevée (Kellil, 2015).

3.5. Teneur en caséines

La vitesse d'hydrolyse enzymatique est proportionnelle à la teneur en protéines. Ainsi, la vitesse d'agrégation et la fermeté des gels augmentent avec la teneur des caséines (Kellil, 2015).

3.6. Dimension des micelles

La relation entre les dimensions des micelles et le temps de coagulation est proportionnelle. Pour les micelles de faible diamètre, riches en caséine κ , la vitesse d'hydrolyse est plus rapide (Kellil, 2015).

Les effets des facteurs principaux qui influencent les paramètres de coagulation sont résumés à la figure 06.

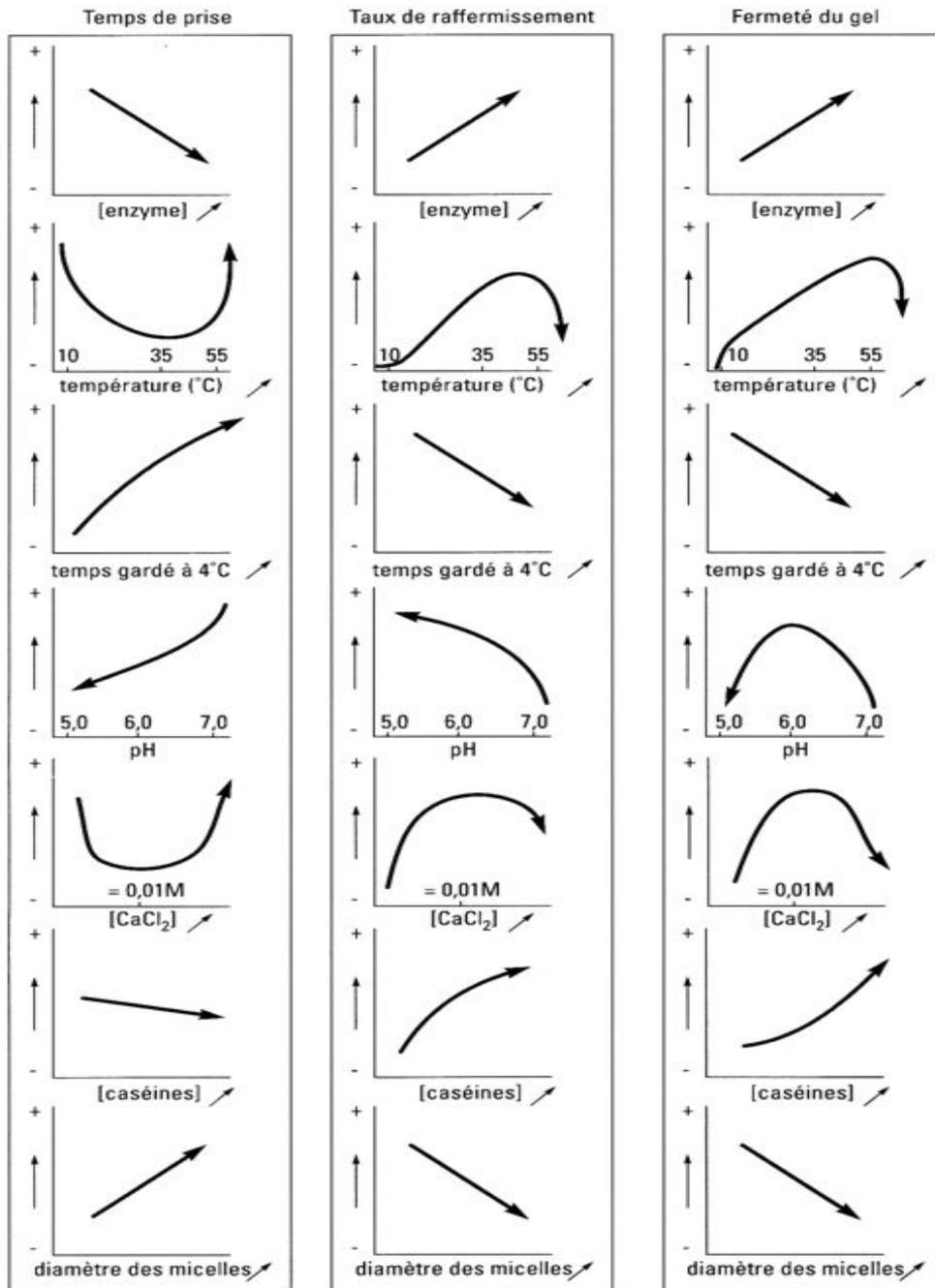


Figure 06 : Facteurs influençant les paramètres de coagulation enzymatique du lait [7].

4. Evaluation de la coagulation

4.1. Temps de coagulation

Le temps de coagulation correspondant au temps entre l'addition d'enzyme coagulante et le début de tranchage du gel (Eck *et* Ghilis, 2006).

4.2. Temps de prise

Le temps de prise ou durée de prise est le temps qui s'écoule entre l'emprésurage et le début de la floculation, c'est-à-dire, gélification apparente du lait (Luquet, 1985)

4.3. Activité coagulante

L'activité coagulante est définie par l'unité présure (UP). Selon Berridge (1955), cette unité correspond à la quantité d'enzyme contenue dans 1 centimètre cube (cm³), qui peut coaguler 10 centimètres cubes de substrat standard en 100 secondes à 30 °C (Alais, 1984).

4.4. Force coagulante

Les méthodes anciennes et les plus répandues ont été proposées par Soxhlet et Berridge. L'unité Soxhlet correspond au nombre d'unité de poids ou de volume du lait qui peuvent être coagulés par une unité de poids ou de volume de préparation coagulante en 40 min et à 35 °C (Alais, 1984).

5. Enzymes coagulantes

Les enzymes sont des catalyseurs biochimiques de nature protéique qui interviennent dans toutes les réactions métaboliques énergétiquement possibles, qu'elles accélèrent par activation spécifique dans des conditions douces de température et de pH (Cuvellier, 1993).

Ce sont des outils clés de la biotechnologie et de la bioindustrie. Un grand nombre d'enzymes protéolytiques, qui ont la propriété de coaguler le lait, sont présentés dans le tableau 04 (Cuvellier, 1993).

5.1. Les enzymes d'origine animale

Ce sont des protéases gastriques. Les plus employés sont la présure (constitué principalement de chymosine et pepsine); bovine, porcine et de poulet. Ces protéases sont formées à partir d'un précurseur (zymogène), forme inactive, secrété par la muqueuse gastrique (Gordin *et* Rosenthali, 1978).

5.2. Enzymes d'origine microbienne

L'industrie de fermentation est intéressée à la production de protéases susceptibles de remplacer la présure, à partir de microorganismes. Dans ce but, de multiples espèces de bactéries et de champignons inférieurs ont été étudiées afin de pallier la pénurie mondiale de présure (**Tab.04**) (Abdellaoui, 2007).

5.3. Enzymes d'origine végétale

Les protéases d'origine végétale sont par ordre d'intérêt en technologie laitière : la papaïne extraite d'une plante équatoriale et tropicale (*Carica papaya*), la broméline extraite de l'ananas (*Ananas comosus*) et la ficine issue de la figue (*Ficus glabrata*) (Cuvellier, 1993).

❖ La ficine

C'est une sulfhydryl enzyme, extraite du latex de *Ficus genus* ou *Ficus carica*. Comme la papaïne, elle a un pouvoir coagulant important mais son utilisation est limitée par son fort pouvoir protéolytique (Siar, 2014).

6. Présure et succédanés de présure

6.1. La présure

La dénomination « présure » est donnée à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants (Bovins) abattus avant sevrage. De nos jours on l'utilise toujours en technologie fromagère, principalement sous forme liquide ou en poudre.

La présure est constituée en majorité de chymosine, de pepsine et de trypsine en moindre quantité (Berridge, 1955) sécrétées dans le quatrième estomac des ruminants non sevrés. Ces enzymes font partie de la famille des protéinases aspartiques car elles possèdent deux résidus caractéristiques dans leur site actif. Chez l'animal, ces protéinases sont sécrétées sous la forme de précurseurs, la prochymosine et le pepsinogène, dans le mucus stomacal pour but de digérer le lait maternel (Luquet, 1985).

Les précurseurs sont appelées zymogènes et possèdent une région N-terminale qui va se loger dans leur site actif, les zymogènes sont ainsi auto-inactivés. Après leur sécrétion, les précurseurs sont activés suite à la perte d'une partie de leur région N-terminale. Cette réaction d'activation est effectuée par les conditions acides rencontrées dans l'estomac suite à différents changements conformationnels ainsi que des clivages inter et intra moléculaires [8].

La présure est constituée de deux enzymes bien distinctes la **Chymosine** et la **Pepsine**.

Tableau 04 : Origine de différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (Boughellout, 2007).

ORIGINES		ENZYMES
Animaux	Ruminants -Veaux -Agneaux -chevreaux -Bovins adultes	Chymosine + pepsine Chymosine + pepsine Chymosine + pepsine Chymosine + pepsine
	Monogastrique -Porcs	Pepsine
	Oiseaux -Poulets	Pepsine
Végétaux	-Figuier (suc) -Ananas (tige) -Chardon, artichaut -Gaillet -Courge...	Ficine Broméline Cardosines Cyprosine
Moisissures	- <i>Endothiaparasitica</i> - <i>Mucorpusillus</i> - <i>Mucormeihei</i> - <i>Aspergillus niger</i>	Protéase Protéase Protéase Protéase Chymosine (génétique)
Levures	- <i>Kiuyxeromyces lactis</i>	Chymosine (génétique)
Bactéries	- <i>Echerichia coli</i> - <i>Bacillus subtilis</i>	Chymosine (génétique) Subtiline (génétique)

6.1.1. Chymosine EC.3.4.23.4

La Chymosine est la protéase majeure responsable de l'activité coagulante totale. Elle est sécrétée inactive sous forme de prochymosine dans la caillette sous l'action de l'acidité sécrétée par cet organe, il y aura transformation en chymosine active (Abdellaoui, 2007).

C'est une holoprotéine, appartenant au groupe des protéases acides. Elle comporte 323 acides aminés ; stable au pH acide : 5,3 à 6,3, inactivée à pH basique vers 7,5 et dénaturée à pH 8,0 (Abdellaoui, 2007).

6.1.2. Pepsine EC.3.4.23.1

La pepsine est sécrétée en proportions plus importantes après sevrage, dès que la ration alimentaire renferme des aliments solides et que le jeune animal commence à brouter, la proportion de chymosine chute très fortement, c'est pourquoi la présure a toujours été extraite de jeunes ruminants avant sevrage (Eck & Ghilis, 2006).

A l'opposé de la chymosine, la pepsine possède une activité protéolytique élevée et une faible activité coagulante, 20% de l'activité coagulante est assurée par la pepsine dans la fabrication fromagère. La présure joue un rôle important sur les caractéristiques sensorielles des fromages produits (Eck & Ghilis, 2006).

6.2 Succédanés de présure

La forte demande de la présure par les industries fromagères et le prix relativement élevé de ce coagulant ont conduit à l'approvisionnement de plus en plus difficile de la présure traditionnelle. Par ailleurs, dans certains pays, pour des raisons philosophiques ou religieuses, l'utilisation de la présure est interdite. A cet égard, des recherches ont été entreprises, ces dernières années, afin d'exploiter d'autres sources potentielles de coagulases capables de remplacer la présure désignées sous le terme de succédanés de présure [8].

6.2.1. Succédanés d'origine animale

a. Pepsine porcine

La pepsine porcine est produite à partir de la muqueuse gastrique du porc. Elle est formée de 321 résidus d'acides aminés. Les principaux inconvénients limitant son utilisation comme agent coagulant de lait sont : la forte dépendance de son activité de pH. En effet, aux valeurs de pH utilisées en fromagerie (pH 6,5 et $T^{\circ} = 30^{\circ}\text{C}$) la pepsine porcine est partiellement inactivée et après une heure elle perd 50 % de son activité ainsi que sa forte activité protéolytique (Cuvellier, 1993).

b. Pepsine de poulet

Dans le tube digestif de poulet, la pepsine est sécrétée au niveau du proventricule qui est située légèrement à gauche dans la cavité abdominale entre le jabot et le gésier (**Fig. 7**). C'est un ronflement fusiforme (de 3 cm de long en moyenne chez la poule) dont la muqueuse est très riche en glandes à mucus. La paroi interne, très épaisse, est formée de lobules dont

chacun constitue une glande composée, disposée radialement à l'axe de l'organe. Ces glandes en tube ont des orifices formant des rangées de mamelons visibles à l'œil nu. Les alvéoles de ces glandes sont bordées de cellules très spécialisées sécrétant à la fois de l'acide chlorhydrique et une proenzyme protéolytique : le pepsinogène (Adoui, 2014).

Le pepsinogène de poulet et la pepsine correspondante ont été partiellement purifiés par Herriot, Bartz et Northop (1938). Ces auteurs ont observé que la pepsine de poulet diffère de la pepsine bovine et porcine par sa stabilité dans les solutions à pH neutre et modérément alcalin. La pepsine de poulet est stable aux pH de 8 à 8,5 (Tab. 4) (Siar, 2014).

Bohak (1969), estime que le pepsinogène de poulet possède 387 résidus d'acides aminés, alors que la pepsine purifiée a 308 résidus d'acide aminé ; Green et Llewellyn (1973), ont confirmé ces résultats (Siar, 2014).

Donta et Van vinakis (1970), ont pu séparer trois pepsinogènes de poulet (A, B et C) et leurs pepsines correspondantes présentent des différences dans la composition en acides aminés. La composition en acides aminés montre que cette pepsine est moins acide que les autres pepsines étudiées. La pepsine de poulet contient 39 groupements carboxyles libres et 16 groupements basiques alors que la pepsine porcine contient 40 groupements carboxyles libres et seulement 6 groupements basiques (Bohak, 1969).

L'activité catalytique de la pepsine de poulet est la plus élevée entre pH 1,5 et 4,5, à pH 1,5, il y a 90 % du maximum d'activité et à pH 4,5, 35 % du maximum d'activité. Le pepsinogène de poulet est stable à 24 °C au dessous de pH 10,5 alors que la pepsine de poulet est stable au dessous de pH 8,0. A pH 8,5 et au delà elle est rapidement dénaturée (Bohak, 1969).

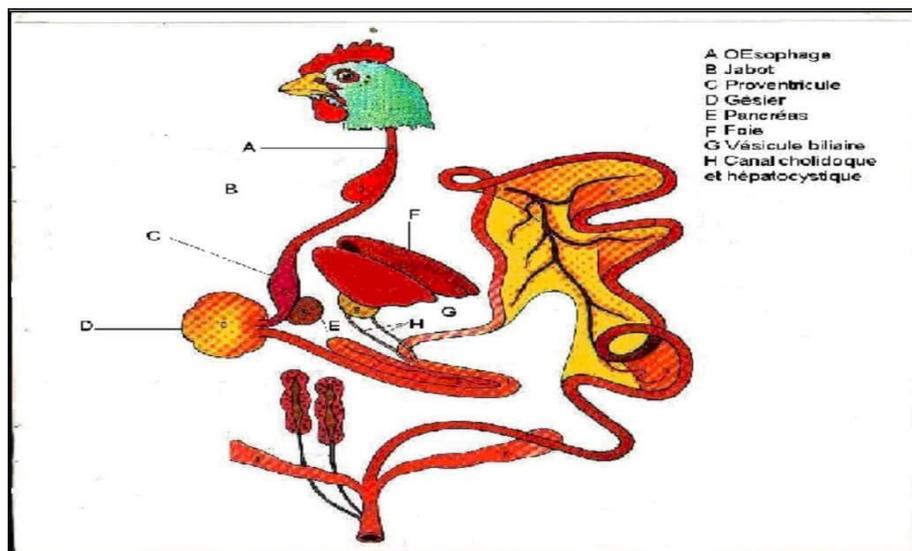


Figure 07: Appareil digestif du poulet (Alamareot, 1982).

6.2.2. Succédanés d'origine végétale

La coagulation du lait peut venir des pratiques que l'on retrouve dans le monde entier, par l'emploi, non pas d'acide lactique ou d'enzymes animales, mais d'extraits végétaux. De très nombreuses préparations coagulantes sont issues du règne végétal (Eck et Gillis, 2006).

L'Espagne et le Portugal ont la plus grande production de variété de fromages en utilisant l'extrait de *Cynara* (feuilles d'artichaut) comme agent coagulant. Ces extraits sont utilisés dans la fabrication des fromages portugais Serra et Serpa et l'Espagnol de Los Pedroches. Dans les régions chaudes plusieurs plantes renferment des principes coagulants tels que la ficine provenant du latex du figuier, la papaïne issue de papayer et la bromélaïne issue de l'ananas. Toutefois, la nature protéolytique excessive de la plupart des coagulants végétaux a limitée leur utilisation dans la fabrication des fromages en raison de rendements fromagères réduits et des défauts de saveur et de texture (Eck et Gillis, 2006).

a. Généralité sur le figuier

Le figuier dont le nom botanique *Ficus carica* L., est un arbre à feuilles caduques de la famille des *Moraceae* qui comprend environ 1500 espèces classées en 52 genres dont le genre est *Ficus* (Siar, 2014). Du point de vue systématique, la classification botanique du figuier comme décrite par Gaussen *et al.*, (1982), est la suivante :

- **Règne** Végétal
- **Embranchement** Phanérogames
- **Sous embranchement** Angiospermes
- **Classe** Dicotylédones
- **Sous classe** Hamamélidées
- **Série** Apétales unisexuées
- **Ordre** urticales
- **Famille** Moracées
- **Genre** *Ficus*
- **Espèce** *Ficus carica* L.

L'origine de figuier n'est pas déterminée. Selon Vidaud (1987), le figuier est originaire du bassin méditerranéen et du moyen orient. Vilmorin, (2003) rapporte qu'il est originaire d'Asie occidentale, d'Afrique du Nord ou des Canaries. Selon Forest *et al.*, (2003), il serait originaire d'Hawaï. Selon Mawa *et al.* (2013), il est originaire du Sud-ouest d'Asie et de la Méditerranée (Siar, 2014).



Figure 08 : Arbre de figuier.

c. Le latex

Le latex est un liquide visqueux de couleur blanche, il est largement distribué dans la plante. Ce matériel contient divers métabolites secondaires comme les composés phénoliques et des protéines à savoir les protéases à cystéine. Le latex est constitué de caoutchouc, résine, albumine, sucre et acide malique, enzymes protéolytiques, diastase, estérase, lipase, catalase et peroxydase. Traditionnellement, il est utilisé dans le traitement de la goutte, des ulcères et des verrues. Il contient une enzyme protéolytique capable de coagulation de lait et de digérer la caséine (Gaussen *et al.*, 1982)

d. Caractéristiques de la ficine EC 3.4.22.3

La ficine est connu depuis bien d'années que le latex contient une activité protéolytique, elle appartient à la famille des protéases à cystéine. Les informations disponibles indiquent que la ficine a beaucoup de propriétés communes avec la papaïne (Gaussen *et al.*, 1982).

Il s'agit d'une seule chaîne polypeptidique composée de 210 résidus d'acides aminés. Son site actif est constitué de deux acides aminés qui sont la cystéine et l'histidine. La ficine présente une grande stabilité thermique. Sa température d'activité est comprise entre 67 et 77 °C. L'activité maximale de la ficine est obtenue dans une gamme de pH de 5 à 8,5 (Siar, 2014).

e. Utilisation de la ficine

Les protéases végétales ont été employées depuis les périodes antiques. On indique que le latex du figuier est utilisé pour la fabrication du fromage et comme un antihelminthique, dans le secteur de la brasserie afin d'obtenir de bonnes propriétés colloïdales à de basses températures, ou dans le domaine pharmaceutique, la ficine est aussi utilisée pour l'attendrissement de la viande (Gaussen *et al.*, 1982). Traditionnellement, dans les montagnes d'Algérie, particulièrement la Kabylie, le latex de figuier (ficine brute) est utilisé comme agent coagulant pour la préparation d'un fromage connu sous le nom Agugli ou Iguissi selon la région (Siar, 2014).

La présente étude a été réalisée au niveau du laboratoire de la laiterie « SAFIA » et le laboratoire de la faculté SNV STU de l'Université 8 Mai 1945 Guelma, elle a été sous tendue sur le lait, la pepsine et la ficine comme des matières premières.

1. Matières premières

1.1. Le lait

Pour cette étude on a utilisé deux types de lait qui sont le lait de vache pasteurisé, plus le lait reconstitué, ce dernier a été reconstitué à partir d'une poudre de lait écrémé et une poudre de lait entier. Après la reconstitution, le lait est pasteurisé, puis conditionné. Il est ensuite stocké à 4°C dans une chambre froide. Les poudres de lait utilisées provient d'un seul et même lot pour chaque type, et conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité.

1.2. Pepsine

La pepsine est extraite à partir de proventricules de poulets selon la méthode de Bohak (1970), après une modification sur celle-ci.

1.3. La ficine

La ficine est extraite à partir du latex du figuier qui est le liquide blanc visqueux qui s'échappe des feuilles et des fruits quand ils sont séparés des tiges ou quand les jeunes tiges sont cassées. Le latex est récupéré durant les mois de mars et avril dans la cité 19 Juin (Wilaya de Guelma).

2. Présentation de l'unité de production (laiterie SAFIA)

L'unité SAFIA du groupe ABIDI exerce une activité dans le domaine agroalimentaire (laiterie) à la commune d'El Fedjoudj (cité Boudour Smail N°39), à quelques encablures au Nord du Chef-lieu de la Wilaya de Guelma (**Fig. 09**) ; elle a pris un démarrage le mois de Janvier 2012.

Au niveau de la dite laiterie, deux types de produits de lait en sachets sont produits à savoir:

- Le lait reconstitué pasteurisé à base de poudre de lait (LPC)
- Le lait de vache pasteurisé.

Cette unité est dotée d'un laboratoire d'analyses dans le but d'effectuer quotidiennement des analyses physicochimiques et bactériologiques et permettent de contrôler la qualité du lait reconstitué et du lait de vache.

Le moyen humain destiné a la production est réparti en employés cadres de maitrise et ouvriers avec l'existence du personnel technique approprié aux activités menées :

- 04 cadres ;
- 05 maitrises ;
- 20 ouvriers ;
- 03 laborantins.

La capacité de production de l'unité SAFIA théoriquement est de 6000 litres/heurs, mais réellement est variable : LPC selon quota de poudre de lait ; le lait de vache pasteurisé selon la réception quotidienne du celle-ci.

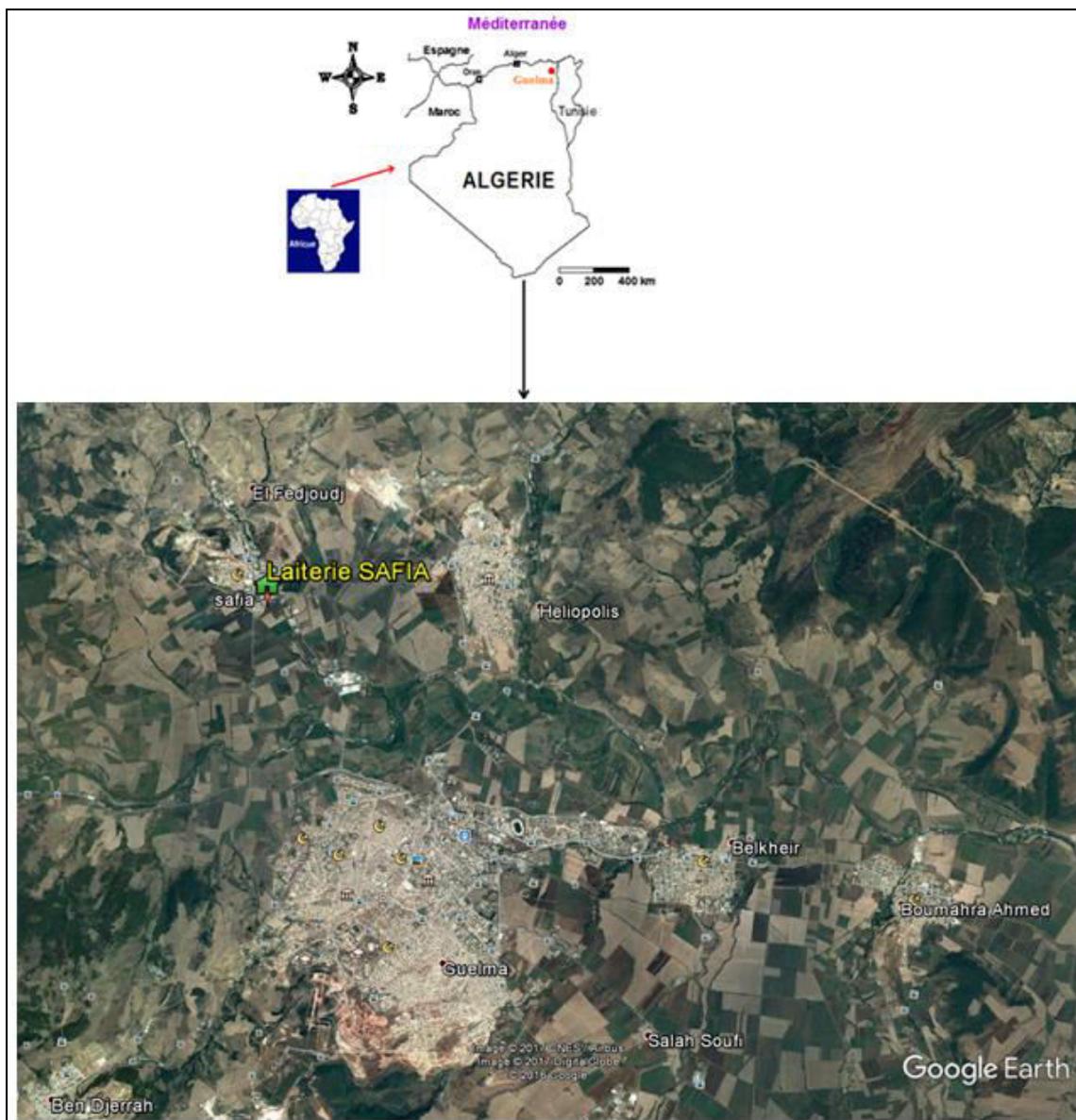


Figure 09 : Situation géographique de la laiterie SAFIA (modifiée) (Google Earth, 2017).

2.1. Procédé de fabrication du lait reconstitué

Le procédé de fabrication du lait reconstitué partiellement écrémé au niveau de l'unité de production SAFIA (**Fig. 10**) se fait selon les étapes suivantes :

2.1.1. Matières premières

a. Poudre du lait

Les types de poudres du lait utilisées lors de son fabrication sont :

- La poudre de lait écrémé [0 % de matière grasse] ;
- La poudre de lait entier [26 % de matière grasse].

b. Eau de reconstitution

La qualité de l'eau utilisée doit être primordiale pour reconstituer un lait de bonne qualité. La reconstitution se fait par une eau potable qui répond aux normes fixés par l'organisation mondiale de la santé (OMS) ; de point de vue microbiologique, elle ne doit pas contenir des germes pathogènes et elle ne doit contenir ni pesticides ni les métaux lourds avec un pH voisin de neutralité sur le plan physicochimique.

2.1.2. Reconstitution

La reconstitution est une conversion du lait en poudre au lait liquide basé sur un mélange de l'eau potable traité avec la poudre du lait en vue de rétablir: un rapport eau/matière sèche du produit initial. L'installation de reconstitution à proprement dite comprend un appareil semi-automatique où le lait en poudre est mis en contact avec l'eau préchauffée à température de 30 à 40 °C afin d'obtenir une dissolution rapide.

2.1.3. Stockage

Le mélange de reconstitution est stocké dans trois cuves d'agitation pour avoir une homogénéisation parfaite dans le but d'augmenter la dispersion des molécules, favoriser l'hydratation des composants colloïdaux et éviter la formation d'agglomérats.

2.1.4. Filtration

La filtration consiste à éliminer les impuretés macroscopiques et les grumeaux qui peuvent s'y trouver par des filtres cylindriques quand le lait est sorti de cuve par une pompe centrifuge.

2.1.5. Pasteurisation

Le lait doit passer par une première étape importante, la pasteurisation. Cette pasteurisation permet la destruction de la quasi-totalité des germes, elle s'effectue grâce au contact de plaques chaudes, à température de 85°C. Puis un refroidissement se fait dans un échangeur à plaque à eau glacée, afin de faciliter son stockage et d'éviter la réaction enzymatique trop rapide.

Le pasteurisateur est protégé par un boîtier en acier inoxydable est parfaitement adapté pour enregistrer la température pendant la pasteurisation. L'appareil est conforme aux exigences des réglementations en vigueur spécifiques à l'industrie laitière en matière de mesure, régulation, contrôle et sécurité des installations de transformation du lait

2.1.6. Conditionnement

Le conditionnement se fait dans des sachets d'un litre en polyéthylène non toxique, la soudure après remplissage est stérilisée par un rayonnement UV afin d'éviter toute contamination. Le conditionnement doit s'effectuer obligatoirement sur le lieu même de pasteurisation, il conserve au lait pasteurisé sa qualité hygiénique et lui assure une meilleure conservation. Le lait est ensuite conservé à une température recommandée de 4 °C.

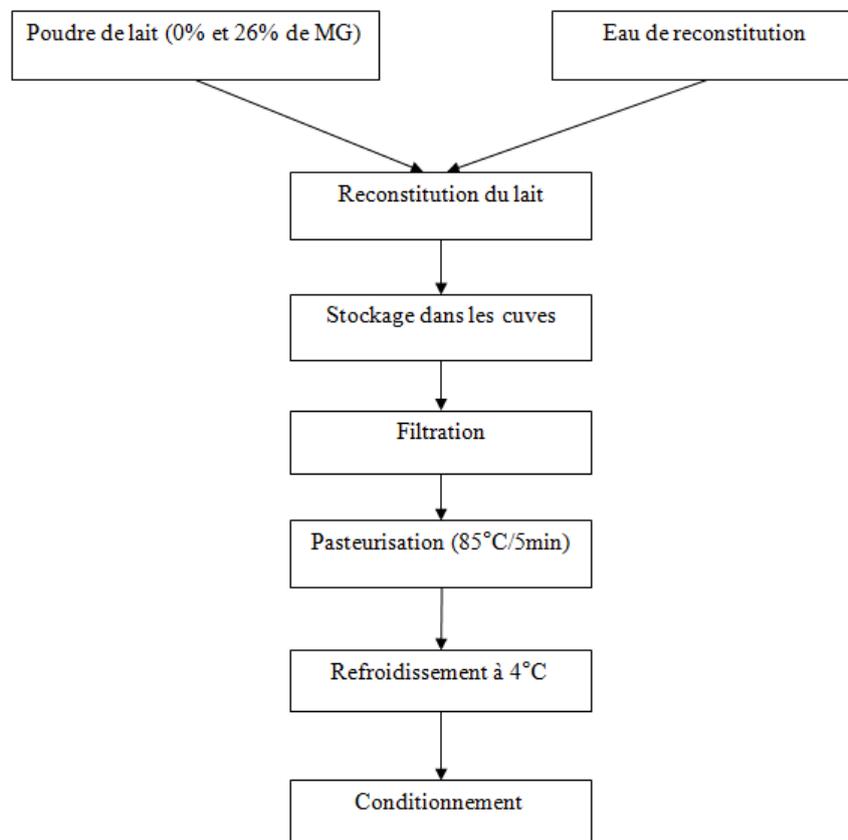


Figure 10: Diagramme de fabrication du lait reconstitué (SAFIA).

2.2. Procédé de fabrication du lait cru

Le lait de vache constitue la principale matière première de SAFIA. Il arrive à l'usine en vrac dans des camions citernes. Dès sa réception à la laiterie, un échantillon de lait est prélevé pour effectuer les tests rapides : acidité, densité, matière grasse et stabilité à l'ébullition. Dans le cas de résultat positif la vidange est effectuée et le procédé est résumé selon le diagramme ci-dessus (**Fig. 11**).

2.2.1 Réception

C'est une étape primaire qui consiste au ramassage ou à la collecte du lait cru à partir des fermes. Cette étape est assurée soit par les fermiers eux-mêmes soit par les collecteurs.

Le lait cru est transporté dans sa majorité dans des citernes isothermes comme le suggère la réglementation parfois dans des bidons en inox. Une fois arrivé à l'unité, un échantillon de lait est prélevé pour effectuer les tests rapides : acidité, densité, teneur en matière grasse et stabilité à l'ébullition.

2.2.2 Filtration

La citerne est connectée par un tuyau alimentaire à une pompe volumétrique dotée d'un compteur. Le lait passe par des filtres en tissu (cellulose, toiles métallique) où il subit une épuration physique destinée à éliminer les impuretés qui se trouvent accidentellement dans le lait (paille, poils, particules solides).

2.2.3 Stockage

Le lait est stocké dans des cuves isothermes ou la réfrigération intervient pour abaisser la température à +2/+6°C et il est continuellement agité dans ces cuves jusqu'à son utilisation effectuée.

2.2.4 Pasteurisation

Elle consiste à faire passer le lait dans un échangeur à plaques à une température de 85°C pendant 15 secondes.

2.2.5 Refroidissement

Une fois pasteurisé, le lait passe par le compartiment de récupération où sa température est ramenée à 4°C dans un échangeur à plaque à eau glacée.

2.2.6 Conditionnement

Le conditionnement se fait dans des sachets de polyéthylène de un litre. Le lait est ensuite conservé à une température recommandée de 4 °C.

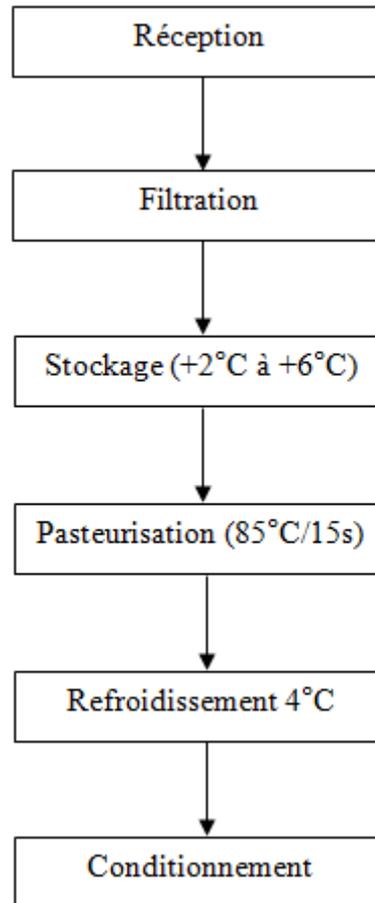


Figure 11: Diagramme de fabrication du lait de vache (SAFIA).

3. Analyse physicochimique et biochimique du lait

Pour déterminer les caractéristiques physicochimiques du lait cru et reconstitué partiellement écrémés, nous allons faire les analyses suivantes :

- Détermination de la densité (lactodensimètre)
- Détermination de l'acidité.
- Epreuve de l'ébullition.
- Mesure du pH.
- Test de bleu de bromothymol.
- Détermination de point de congélation (lactoscane).
- Détermination de la teneur en lactose, protéine, et matière grasse (lactoscane).

3.1. Prélèvement

On a prélevé trois échantillons du lait reconstitué et du lait de vache : après l'homogénéisation d'un sachet on le coupe avec un ciseau et on verse une quantité suffisante du lait dans un récipient à fin de prélever avec une pipette des échantillons pour analyser les paramètres ci-dessous.

3.2. Détermination de la densité

La densité d'un liquide est le rapport entre la masse volumique de ce liquide et celle d'un même volume d'eau à 15 °C (Afnor, 1993). La densité du lait est mesurée par un lactodensimètre renferme une table de correction et gradué.

➤ Mode opératoire

À l'aide d'un thermo lactodensimètre que l'on plonge en position verticale dans une éprouvette contenant le lait, la densité est lue sur le ménisque formé par le lait et la température est directement lue sur la partie graduée (**Fig. 12**). La densité relevée peut être corrigée, si la température du lait est différente de 15 °C, par la formule suivante valable pour une mesure faite entre 10 et 20 °C :

$$D = d + 0,2 (T^{\circ} - 15^{\circ}C)$$

D : densité corrigée, **d** : densité brute, **T°** : température, **0,2** : coefficient de correction de température.



Figure 12 : Mesure de densité du lait par le thermo-lactodensimètre.

3.3. Détermination de l'acidité

L'acidité titrable exprime le nombre de grammes d'acide lactique présent dans un litre du lait. Elle consiste en une neutralisation par la soude (N/9) des composants acides du lait en présence d'un indicateur coloré qui est la phénolphthaléine. L'unité conventionnelle de l'acidité est le degré Dornic (°D) où 1°D représente 0,1 g d'acide lactique par litre du lait (AFNOR, 1993).

➤ Mode opératoire

Introduction de 10 ml du lait reconstitué dans un bécher, ajout de 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine puis titration avec la soude (NaOH, 0,1N) jusqu'à apparition de la coloration rose pâle qui persistera pendant 10 secondes. Détermination du volume de NaOH utilisé pour la neutralisation.

➤ Expression des résultats

L'acidité est exprimée en gramme d'acide lactique par litre du lait, selon la formule suivante :

$$\text{Acidité} = 10 (V/V1) 0,9$$

V : volume de soude utilisée ; **V1** : volume de la prise d'essai.

3.4. Epreuve de l'ébullition

Introduire dans une casserole 200 ml du lait à examiner sur une source de chaleur pendant un certain temps jusqu'à l'ébullition.

➤ Expression des résultats

Si le lait s'écoule le long des parois de la casserole, sans laisser de traces de grumeaux ; le lait est donc normal. Mais Si le lait laisse des grumeaux le long des parois du tube, ce lait donc est coagulé.

3.5. Détermination du pH

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné et nous renseigne sur l'état de fraîcheur du lait, c'est une mesure de l'activité des ions H⁺ dans une solution dont le but est de déterminer quantitativement l'acidité ou la basicité de celle-ci.

➤ **Mode opératoire**

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique qui affiche la valeur sur son écran après avoir plongé son électrode dans un bécher contenant l'échantillon du lait. Cet appareil doit être étalonné avec deux solutions tampons à pH 7 et 4.

➤ **Expression des résultats**

La valeur de pH s'affiche sur l'écran de l'appareil, la mesure est réalisée avant chaque utilisation du lait.

3.6. Test de bleu de bromothymol

On met en œuvre le test de bleu de bromothymol avant de procéder au traitement du lait ou à sa commercialisation. Ce test présente une zone de virage de couleur pour des valeurs du pH voisines de celles du lait frais normal. L'emploi d'un tel indicateur permet de se rendre compte immédiatement si un lait frais a un pH normal, ou trop faible (laits acides), ou trop élevé (laits alcalins).

➤ **Mode opératoire**

Dans un bicher qui contient une quantité du lait récolté on dépose des gouttes de la solution de bleu de bromothymol. Le mélange « réactif-lait » se fait spontanément et le virage est instantané (**Fig. 13**).



Figure 13: Test de bleu de bromothymol.

➤ **Expression des résultats**

- Les laits normaux (pH = 6,6) donnent une coloration jaune verdâtre pâle ;
- Les laits anormaux dont le pH est augmenté (pH >7 les laits alcalins) provoquent un virage au vert ou au vert bleu;
- Les laits dont le pH est diminué (pH < 6,2 laits plus acides) donnent une coloration jaune serin.

3.7. Détermination la teneur en lactose, protéine, et matière grasse.

La détermination des teneurs en lactose, protéine et matière grasse est réalisée directement après le conditionnement du lait. Ces teneurs sont déterminées en utilisant un lactoscane qui affiche les valeurs sur son écran après avoir plongé son électrode dans un tube contenant l'échantillon de lait (**Fig. 14**).



Figure 14 : Lactoscane.

4. Extraction de la pepsine

4.1. Proventricules de poulet

Les poulets ont un système digestif très simple, un simple estomac avec un sac dans l'œsophage utilisé comme un lieu de stockage pour la nourriture (**Fig. 15**).

Les poulets ont pas de dents, ils dépendaient des enzymes dans leur système digestif pour décomposer les aliments en petites particules qui peuvent être absorbés ; la nourriture qui ne peut être décomposé par ces enzymes est donc impropre aux poulets (Aouissi & Brinet, 2016).

L'estomac glandulaire est le véritable estomac du poulet ; il est aussi appelé proventricule qui ressemble à une bulle à la fin de l'œsophage où l'acide chlorhydrique (HCL) et la pepsine sont sécrétés. L'acide chlorhydrique aide à décomposer les glucides et l'amidon, alors que la pepsine décompose les protéines en acides aminés (Aouissi & Brinet, 2016).

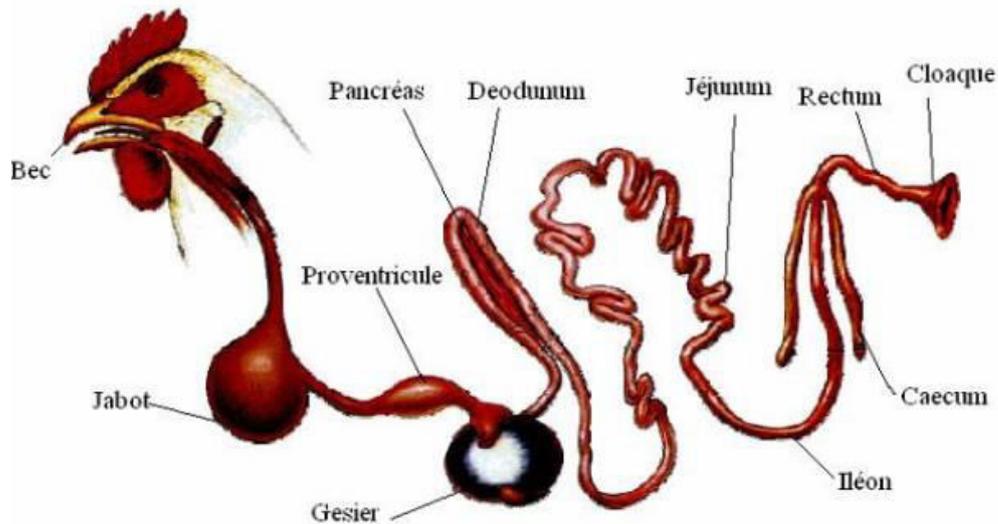


Figure 15 : Anatomie du tractus du poulet (Aouissi & Brinet, 2016).

4.2. Préparation des proventricules

Les proventricules sont récupérés d'une boucherie située dans la région de Guelma. Après abattage et éviscération des poulets, les proventricules sont séparés du tube digestif de poulet, débarrassé de la matière grasse qui l'entoure puis lavé. La figure 16 illustre la forme interne de proventricules.

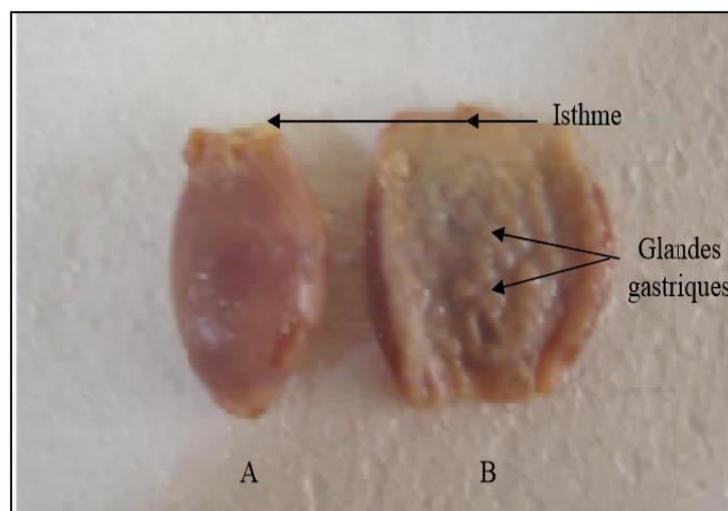


Figure 16 : Proventricules de poulet : **A** : avant incision ; **B** : après incision.

Les proventricules de poulet de poids variant entre 8 et 10 g sont réfrigérés et acheminés vers le laboratoire de la faculté SNVSTU où ils sont immédiatement ouverts par incision longitudinale et vidés de particules alimentaires adhérentes aux parois et rincés à l'eau courante pour éliminer les particules d'aliments adhérentes, ils sont repartis en lot de 100g environ, puis égouttés jusqu'à utilisation.

4.3. Purification de la pepsine

L'extraction de la pepsine est réalisée en suivant le protocole d'extraction proposé par Bohak (1970) ; les principales étapes sont présentées dans la figure 17.

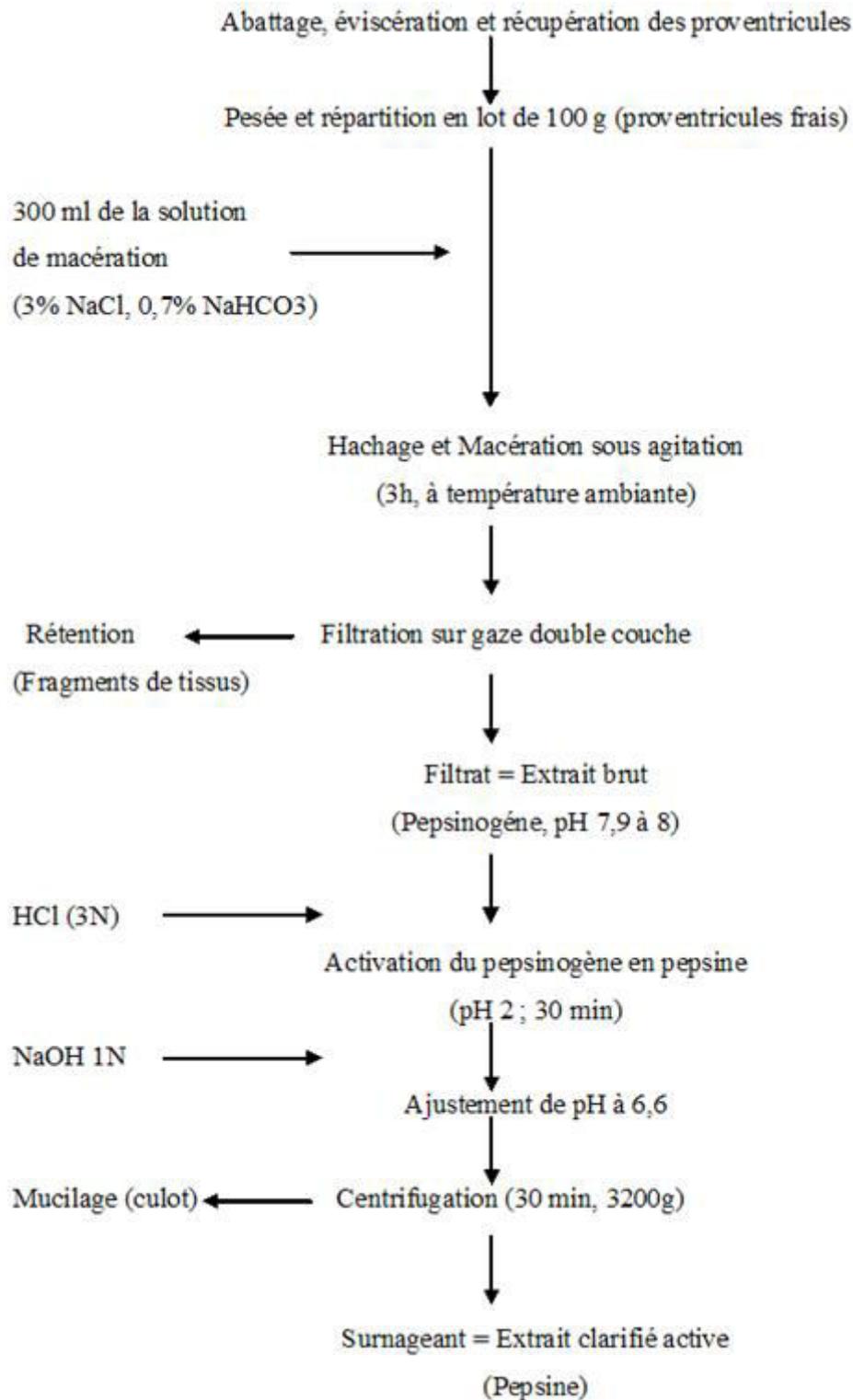


Figure 17 : Diagramme d'extraction de la pepsine de poulet selon Bohak, (1970).

Les proventricules récupérés sont versés dans une solution saline de macération (3 g/l de Na Cl et 0,7 g/l de NaHCO₃), à raison de 300 ml de la solution de macération pour 100 g des proventricules hachés puis ils sont hachés à l'aide d'un broyeur électrique pendant 3 heures (**Fig. 18**) (Nouani *et al.*, 2011).

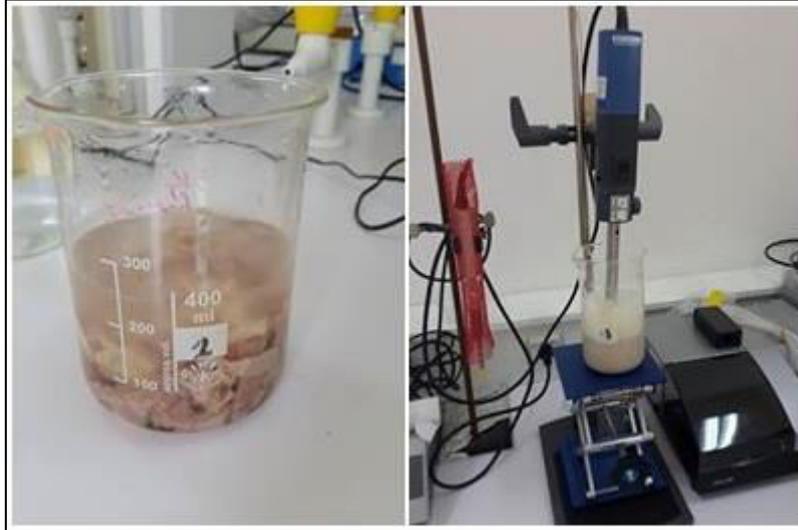


Figure 18 : Broyage de la solution saline de macération.

Le macérât est ensuite filtré à travers une gaze à double couche (**Fig. 19**).



Figure 19 : Filtration du macérât.

Le pepsinogène contenu dans l'extrait brut (filtrat) est converti en enzyme actif (pepsine) en abaissant le pH jusqu'à 2,0 à l'aide d'une solution d'HCl 3N, le mélange est maintenu pendant 30 min à température ambiante, (cette opération provoque, en outre, la

floculation du mucilage ; ce qui facilite par la suite, la clarification. Après activation, un ajustement du pH à 6,6 est réalisé par l'addition d'une solution de NaOH 1N (**Fig. 20**) (Addoui, 2014)

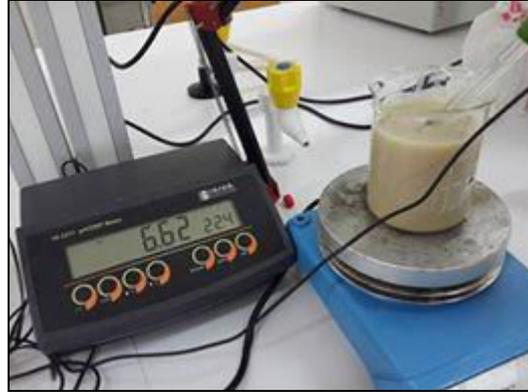


Figure 20 : Ajustement du pH par pH mètre.

Finalemnt centrifugé à une force centrifuge de 3200g pendant 30 min dans une centrifugeuse (SEGMA model 3-30K, Allemagne) permettant l'élimination du mucilage (**Fig. 21**). Le surnageant obtenu, représentant l'extrait d'enzyme clarifié est récupéré et conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation, alors que le culot qui représente le mucilage et les débris des tissus est éliminé.



Figure 21 : Centrifugation de pepsinogène.

5. Extraction de la ficine

5.1. Récupération du latex

Le latex est récupéré durant la période qui s'étale de la fin du mois de Mars jusqu'au Avril dans les jardins de 19 juin et Makam chahid, (Wilaya de Guelma).

Dans le but de caractériser l'extrait brut coagulant du figuier, le latex est récupéré dans des tubes à essai propres à l'aide des seringues jetable de 5 ml et protégé de l'air pour prévenir l'oxydation des constituants ainsi que la prise en masse des gommés de latex. On a fais des piques à la grande tige où les jeunes rameaux cassés car on n'est pas dans la saison d'arrachement des fruits pour récupérer le latex, deux à trois gouttes de latex s'échappent et sont directement récupérées dans un tube a essai propre conservé au réfrigérateur (4 à 8 °C) jusqu'à extraction de système enzymatique. Le volume total de latex récupéré pour cette étude est d'environ 100 ml (**Fig. 22**).



Figure 22 : Récupération du latex.

5.2. Purification de la ficine

Le latex est soumis à une centrifugation de 11000 tours/min pendant 15 min à une température de 4 °C, pour l'élimination de la gomme (Siar, 2014) (**Fig. 23**). Le surnageant, qui contient l'extrait brut de l'enzyme, est ajusté à pH 5 par utilisation de l'acide chlorhydrique à une concentration de 2M et maintenu au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation (**Fig. 24**).

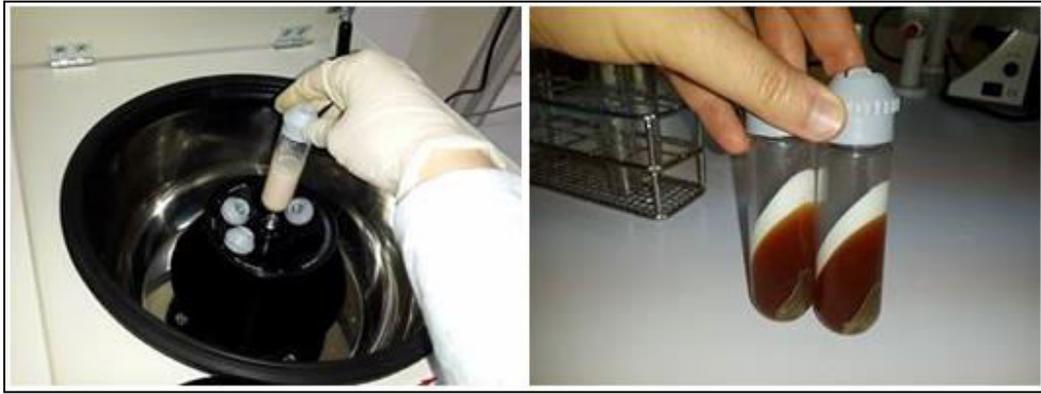


Figure 23 : Centrifugation du latex.



Figure 24 : L'extrait brut de l'enzyme.

6. Caractérisation de l'activité enzymatique de l'extrait

6.1. Mesure du pH des extraits enzymatiques

Le pH représente l'acidité des extraits enzymatiques à un moment donné et nous renseigne sur l'état de l'efficacité des enzymes, c'est une mesure de l'activité des ions H^+ dans une solution dont le but est de déterminer quantitativement l'acidité ou la basicité de celle-ci.

➤ Mode opératoire

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique qui affiche la valeur sur son écran après avoir plongé son électrode dans des béchers contenant les extraits enzymatiques.

6.2. Evaluation de l'activité coagulante

6.2.1. Mesure du temps de floculation

L'activité coagulante s'exprime par la rapidité avec laquelle l'enzyme coagule le lait ; elle est déterminée par mesure du temps de floculation selon la méthode de Berridge (Siar, 2014). Le temps de floculation est l'intervalle de temps compris entre l'addition de l'extrait enzymatique (l'emprésurage) et l'apparition des premiers fins flocons de caséines visibles à l'œil nu sur la paroi interne du tube à essai. (Gordin et Rosenthal, 1978).

6.2.2. Activité coagulante

Le pouvoir coagulant des protéases est déterminé par mesure de l'activité coagulante. Cette activité s'exprime par la rapidité avec laquelle l'enzyme employé coagule le lait. L'activité coagulante est testée sur le lait reconstitué et le lait de vache comme substrats par mesure du temps de floculation à 30 °C selon la méthode de Berridge, (1955).

L'unité d'activité coagulante (U.A.C.) ou unité présure (U.P.) est définie comme étant la quantité d'enzyme contenue dans 1ml de la solution enzymatique qui provoque la floculation de 10 ml de substrat à 30 °C (Allais, 1984) et elle est calculée comme :

$$\text{U. A. C./ml} = \frac{100 \times V}{10 \times T \times V'}$$

Où

V : Volume du lait en ml ;

T : temps de floculation en secondes ;

V' : volume de la solution enzymatique en ml ;

100 : 100 sec ;

10 : 10 ml du substrat.

Le procédé consiste à ajouter 1 ml d'extrait enzymatique à un volume de 10 ml du lait dans un tube à essai porté à 30 °C dans un bain Marie puis noter le temps de floculation. Le tube immergé est maintenu incliné, de telle sorte que le niveau de l'eau soit au-dessus de celui du lait. Le lait forme un film mince et homogène. Au moment de la floculation, des petits flocons apparaissent au sein de ce film (**Fig. 25**).



Figure 25 : Bain Marie.

6.2.3. Force coagulante

L'activité coagulante peut être également exprimée en force coagulante de Soxhlet. Cette force coagulante définit le volume du lait coagulé par unité de volume de l'extrait enzymatique ou d'une enzyme, en 40 minutes, à 35 °C et pH 6,4 du substrat (lait) (**Fig. 26**) (Benyahia, 2013).

La force coagulante est exprimée par la formule suivante :

$$F = \frac{2400 \times V}{T \times v}$$

F : Force de l'enzyme (Soxhlet) ;

V : Volume du lait ajusté (pH : 6,4, T° :35°C) ;

v : Volume de la solution enzymatique ;

T : Temps de coagulation du lait (en secondes) ;

Temps standard du test = 2400 secondes (40 min).



Figure 26: Incubation des flocons à 35 °C dans un bain Marie.

Nous avons procédé de la même manière que pour la détermination de l'activité coagulante sauf que des flacons à 500 ml du lait sont maintenus pendant 40 minutes à 35 °C au bain Marie pour la stabilisation du lait. Le temps de coagulation correspond au temps qui sépare le moment de l'emprésurage (ajout de 1 ml de l'extrait enzymatique) et la formation de gel (coagulation du lait).

6.3. Appréciation de l'effet du pH du lait

Le pH a une forte influence sur l'activité enzymatique et par conséquent sur le temps de floculation du lait (Huppertz *et al.*, 2006).

Pour étudier l'effet du pH sur l'activité coagulante des extraits enzymatiques, le pH du lait a été ajusté pour les valeurs de: 5,8; 6,0 ; 6,2 ; 6,4 ; 6,6 ; 6,8 et 7 par l'addition des solutions de HCl (0,1N) ou de NaOH (0,1 N) dans des tubes contenant chacun 10 ml du lait de même température (bain Marie 30 °C). Un volume de 1 ml pour chaque extrait enzymatique est rajouté et le temps de floculation est déterminé (Gordin et Rosenthal, 1978).

L'activité coagulante est mesurée pour chaque valeur de pH en U.A.C. /ml. L'effet du pH sur l'activité coagulante du lait est étudié pour les deux extraits enzymatiques en comparaison entre deux types du lait.

6.4. Appréciation de l'effet de la température du lait

Pour la température, des tubes contenant 10 ml de lait à pH 6,6 sont incubés dans un bain Marie, où les températures ont été fixées de 30 °C à 65 °C (intervalle de 5 °C). Après 5 minutes d'incubation, 1 ml d'extrait enzymatique (pepsine de poulet / ficine de figuier) est rajouté et le temps de floculation est déterminé (Gordin et Rosenthal, 1978). Le choix de ces températures est justifié par le fait que la coagulation du lait en fromagerie s'effectue à des températures supérieures à 30 °C, mais à partir de 70° C l'extrait enzymatique risque d'être inactivé (Eck & Ghilis, 2006).

L'activité coagulante mesurée pour chaque valeur de température est donnée U.A.C. /ml et tous les essais sont réalisés dans les mêmes conditions de pH.

7. Etude du mode de conservation de la pepsine extraite

Les modes de conservation étudiés sont la concentration, la réfrigération et la congélation.

7.1. Concentration

La concentration est réalisée en vue de l'étude de la stabilité de l'extrait de pepsine à l'état concentré. La concentration est effectuée par précipitation, au NaCl d'extrait clarifié maintenu à pH 2,0, à raison de 28g d'NaCl (cristaux) pour chaque 100 ml d'extrait, selon la méthode de Bohak, (1970). La concentration du sel utilisée permet la précipitation des fractions protéiques renfermant la pepsine. Cette précipitation est favorisée par le maintien de l'extrait traité à pH bas (Adoui, 2014).

Le mélange est agité pendant 30 min à température ambiante pour favoriser les interactions hydrophobes. La pepsine brute précipitée est collectée par centrifugation à 11000 g pendant 15 min (**Fig. 27**) (Adoui, 2014)

Afin de déterminer le taux de pepsine récupéré après précipitation, nous avons traité 100 ml d'extrait clarifié avec du NaCl et le précipité obtenu après centrifugation a été repris dans un volume d'eau distillée égale au volume initial (100 ml). L'extrait enzymatique est préalablement ajusté à pH 6,3 avant de compléter au volume final (Adoui, 2014).



Figure 27 : Centrifugation de la pepsine concentrée et la récupération du culot

7.2. Conservation par réfrigération / congélation

L'extrait concentré ainsi préparé est conservé par réfrigération et congélation comme décrit ci-dessous.

En vue d'étudier la stabilité de la pepsine de poulet en solution, l'extrait concentré est réparti en volumes de 50 ml chacun dans des flacons en verre et conservé par réfrigération à +4 °C et par congélation à -18 °C. L'extrait conservé est préalablement ajusté à pH 6,3 ce qui assure une meilleure stabilité de la pepsine pendant 28 jours de conservation, les échantillons seront prélevés après les 28 jours et leur stabilité est contrôlée par mesure de l'activité coagulante selon la méthode de Berridge, (1955) (Adoui, 2007).

1. Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait

1.1. Lait de vache

Les caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait de vache utilisé dans notre travail sont illustrées dans le tableau 05 :

Tableau 05 : Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait de vache.

Prélèvement	T °C	Densité	pH	Acidité Dornic	Point de congélation	Teneur en protéine (%)	Teneur en lactose	MG (g/l)
1 ^{er} prélèvement	6,5	1029,7	6,6	16	-0,459	2,68	4,03 %	34,3
2 ^{ème} prélèvement	7,1	1028,5	6,5	16	-0,450	2,68	4,04 %	34,5
3 ^{ème} prélèvement	6,6	1028,3	6,5	16	-0,460	2,67	4,02 %	34,7

a. Température et densité

Selon Alais, (1984), la densité du lait de vache est comprise entre 1028 à 1033 à une température de 20 °C. Pour notre étude, la densité est variée entre 1028,5 et 1029,7 avec une moyenne de 1028,8 à une température oscillant entre 6,5 et 7,1 °C.

b. pH et acidité titrable

Le pH et l'acidité titrable sont deux mesures d'acidité du lait. Le pH permet de déterminer les ions H⁺, alors que l'acidité titrable exprime la quantité d'acide lactique.

Selon Kersten, (1937) : « La valeur du pH du lait frais fourni par des vaches saines ne varie que très peu à l'intérieur de limites assez étroite comprises entre 6,4 et 6,6 ». Il est notamment semblable à celle de notre étude où le pH change normalement dans une marge relativement étroite de 6,5 à 6,6 avec une moyenne de 6,5, alors qu'on note une acidité titrable stable d'une valeur de 16 °D (1°D représente 0.1g d'acide lactique). Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité ≤ 16 °D (FAO, 1988).

c. Épreuve de l'ébullition

Le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants d'ébullition, il se forme en surface une pellicule blanche et plissée (formée principalement de carbonates de calcium, de protides et de matière grasse).

d. Point de congélation

Le point de solidification du lait de vache, mesurée individuellement à l'aide d'un lactoscane est compris entre - 0,45 et - 0,46 °C.

e. Bleu de bromothymol

Les résultats du lait frais étaient toujours négatives bien sur aux bons conditionnements et elles nous donnent une coloration jaune verdâtre (pH = 6,6).

f. Détermination du volume de sachet

On note pour le lait reconstitué une moyenne égale à 999,33 ml. D'après cette observation, on peut dire que le lait Safia est conforme aux normes. Durant les trois prélèvements le volume du sachet le plus faible est 998 ml et le volume le plus élevé est 1001 ml.

g. Détermination de la teneur en lactose, protéine, et matière grasse

D'après les résultats des trois prélèvements, Les valeurs moyennes du lactose sont identiques de celles du lait étudié par Mathieu, (1998) (49,00 g/l) donc la teneur en lactose est à la norme, la teneur en protéine est de 2,68 % à 2,67 % qui est correspondant aux valeurs de l'étude de Mouna, (2009). Selon Afnor, (2001) la teneur en matière grasse doit varier entre 28,5 à 34,5 g/l, dans notre étude elle est variée entre 34,3 et 34,7 (g/l) donc elle est à la norme.

1.2. Lait reconstitué

Les caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait reconstitué sont résumées dans le tableau 06.

a. Température et densité

Après la lecture de la densité à l'aide d'un thermo lactodensimètre, elle varie entre 1028,4 à 1028,9 avec une moyenne de 1028,6 avec une température changeant entre 6,1 °C et 6,8 °C.

La densité du lait reconstitué s'accorde proportionnellement à celle du lait de vache mentionné par Alais, (1984).

b. pH et acidité Dornic

La mesure du pH nous a donné des valeurs entre 6,5 et 6,7 avec une moyenne de 6,6 pour l'ensemble des échantillons. Ces résultats correspondent également à celui montré par Kersten, (1937) avec une acidité Dornic stable de 16 °D.

c. Détermination du volume de sachet

Selon la FAO, (1988), le contenant du sachet doit être convenir à 1000 ml, le sachet remplie du lait doit peser un volume net de 1,010 litre à 1,030 litre. On note pour le lait SAFIA un volume de 1 L. D'après ces observations, on peut dire que le lait est conforme aux normes.

d. Epreuve de l'ébullition

Les résultats du lait frais étaient toujours négatifs sauf si la conservation ne répondra pas aux normes des mesures du conditionnement où les résultats seront positifs.

e. Point de congélation

Le point de solidification du lait reconstitué, mesurée individuellement par le lactoscane est compris entre - 0,438 et - 0,461 °C.

f. Détermination de la teneur en lactose, protéine, et matière grasse

D'après les résultats des trois prélèvements, on a trouvé que la teneur en lactose varie entre 4,00 % et 4,07 %, la teneur en protéine est de 2,68 % à 2,71 %. Selon Afnor, (1993) la teneur en matière grasse doit être ≥ 15 (g/l), dans notre étude elle est variée entre 15,3 et 15,6 (g/l) donc elle est à la norme.

Tableau 06 : Caractéristiques physicochimiques et biochimiques du lait reconstitué.

Prélèvement	T °C	Densité	pH	Acidité Dornic	Point de congélation	Teneur en protéine	Teneur en lactose (%)	MG (g/l)
1 ^{er} prélèvement	6,1	1028,9	6,6	16	-0,45	2,71 %	4,02	15,3
2 ^{ème} prélèvement	6,8	1028,4	6,7	16	-0,438	2,68 %	4,07	15,3
3 ^{ème} prélèvement	6,5	1028,7	6,5	16	-0,461	2,67 %	4,00	15,6

2. Caractérisation de l'activité enzymatique des extraits

2.1. Rendement de l'extraction

➤ **Pepsine**

L'extrait clarifié de pepsine obtenu selon le protocole de Bohak, (1970), est une solution liquide de couleur jaunâtre.

Le rendement d'extraction est d'environ 84,43 % ; pour 100 g de proventricules nous avons récupéré 253,29 ml d'extrait enzymatique clarifié.

➤ **Ficine**

L'extrait de la ficine obtenu est une solution visqueuse de couleur brune claire. Ces caractéristiques sont semblables aux résultats de Siar, (2014). Le rendement est d'environ 74,04% (100 ml de la ficine brute pour 135 ml de latex).

2.2. pH des extraits enzymatiques

La mesure du pH et son ajustement est nécessaire pour renseigner sur l'état de l'efficacité des enzymes, elle est réalisée avant chaque analyse. Dans le cas du changement de pH, on doit le régler avec les solutions d'ajustement (HCl, NaOH). Le pH de la pepsine de poulet activée est de 6,6 alors que cela de la ficine de figuier est de 5.

2.3. Propriétés coagulantes des extraits enzymatiques

2.3.1. Détermination de l'activité coagulante

Nous avons étudié l'activité coagulante des extraits de pepsine de poulet et de ficine pour faire la comparaison entre eux. Les résultats ont montré que l'activité coagulante de l'extrait de ficine est très élevée et elle est 48 fois plus élevée que celle de la pepsine pour le lait de vache et 2 fois plus élevée que celle de la pepsine pour le lait reconstitué (**Fig. 28**).

En effet, nous avons obtenu des valeurs de 1.587 UP pour l'extrait de la ficine contre 0.0033 UP pour la pepsine de poulet pour le lait de vache et 25 UP pour l'extrait de ficine contre 12.33 UP pour l'extrait de pepsine pour le lait reconstitué (**Tab. 07**).

Donc, l'extrait végétal (ficine) a une activité coagulante plus élevée comparé à l'extrait d'origine animale (pepsine de poulet).

Tableau 07 : Activité coagulante des enzymes extraites.

Extrait enzymatique	Activité coagulante (UP)	
	Lait de vache	Lait reconstitué
Pepsine	1,587	0,033
Ficine	25	12,33

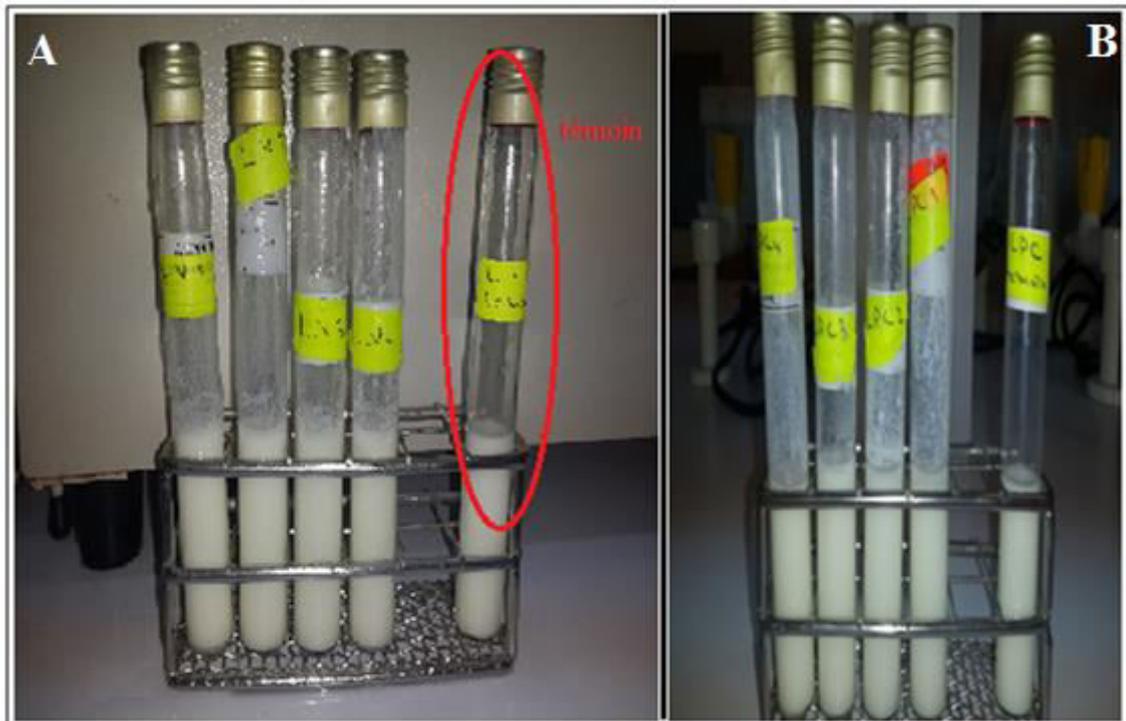


Figure 28 : Activité coagulante des extraits enzymatiques : **A** : Lait de vache, **B** : Lait reconstitué.

2.3.2. Détermination de la force coagulante

Les résultats obtenus ont montré que la force coagulante de l'extrait de ficine est 100 fois plus élevée que celle de la pepsine pour le lait de vache (**Tab. 08**).

D'après les résultats obtenus pour le lait reconstitué nous constatons que la force de coagulation de ficine est supérieure par rapport à la force coagulante de pepsine qu'est nulle (**Fig. 29**), puisque on a suivi l'analyse pendant 7 h est aucune apparition de floculation autour de paroi du flacon, donc on n'a pas pu arriver à la coagulation du lait reconstitué pour 1 ml de pepsine dans un volume de 500 ml de lait (**Fig. 30**).

Tableau 08 : Force coagulante des enzymes extraites.

Extrait enzymatique	Force coagulante (UP)	
	Lait de vache	Lait reconstitué
Pepsine	0,002222	/
Ficine	400	117,64



Figure 29 : Force coagulante de la ficine: A : Lait de vache, B : Lait reconstitué.



Figure 30 : Force coagulante de la pepsine: A : Lait de vache, B : Lait reconstitué.

2.3.3. Détermination des conditions optimales de coagulation

Plusieurs facteurs influent sur la coagulation tels que la concentration en enzymes, le pH du lait, la température, la teneur en calcium, la composition en caséines, la dimension des micelles et les traitements préalables du lait (Jeant *et al.*, 2008).

Dans le but de déterminer les conditions physicochimiques optimales pour l'action de l'extrait de pepsine et de ficine, nous avons essayé de voir l'influence de certains paramètres sur leur activité coagulante par comparaison entre eux.

a. Effet du pH

L'effet du pH sur l'activité coagulante de l'extrait de pepsine et de ficine a été étudié en ajustant le pH du lait (lait de vache et le lait reconstitué) aux valeurs de l'intervalle 5,8 à 7. La température d'incubation est fixée à 30 °C.

Le pH optimal de coagulation du lait est déterminé par observation du temps de floculation le plus court. Les figures 31 et 32 donnent l'évolution de l'activité coagulante des extraits enzymatiques étudiés en fonction du pH des deux types du lait.

Les résultats présentés par les courbes suivantes indiquent une diminution de l'activité coagulante des deux préparations enzymatiques au fur et à mesure que le pH du lait augmente quelque soit pour le cas du lait de vache ou bien pour le lait reconstitué.

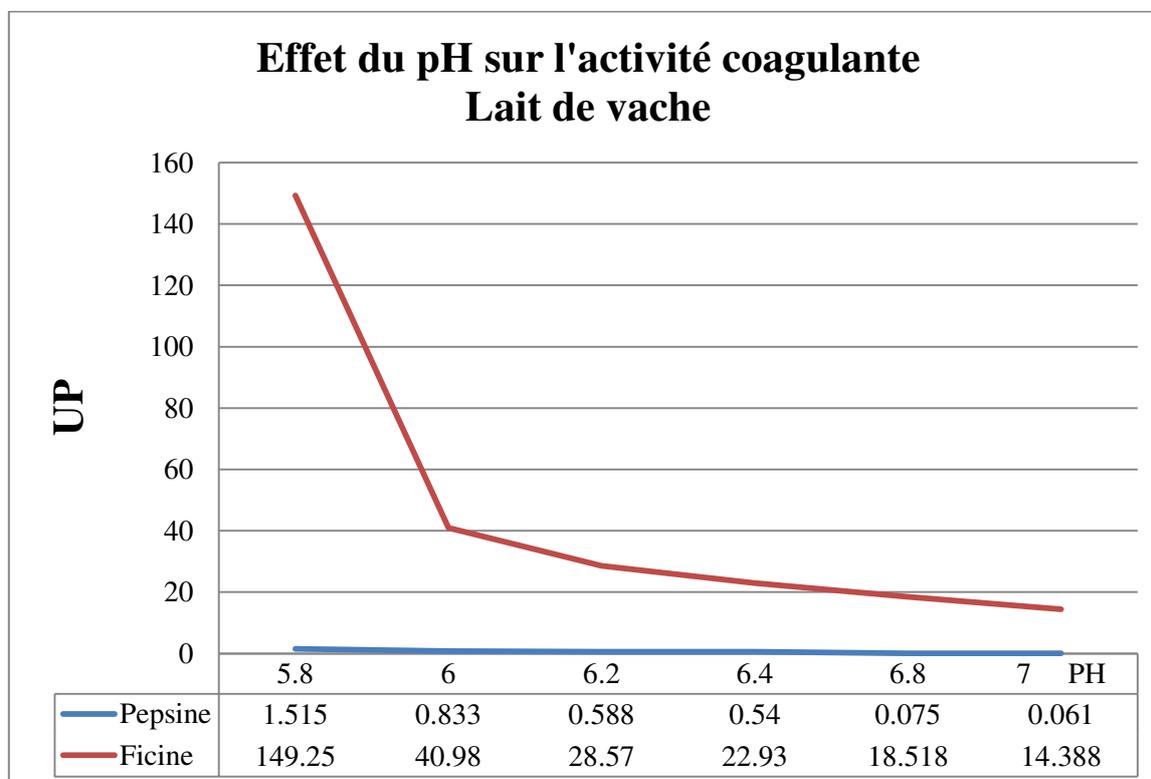


Figure 31 : Effet du pH sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait de vache.

Pour l'extrait de pepsine, dans le cas des deux types de lait, l'optimum d'activité est observé à pH 5.8 avec une activité coagulante de 1,515 UP pour le lait de vache et 0,357 U.P pour le lait reconstitué, puis elle diminue à pH 6 dans le cas des deux types du lait pour se stabiliser à pH 7 avec une activité coagulante de 0,016 UP pour le lait de vache et de 0,026 U.P pour le lait reconstitué. Adoui, (2007), rapporte que la pepsine de poulet est d'autant plus active que le pH est bas.

Pour la ficine, l'optimum d'activité est à pH 5,8 avec une activité coagulante de 149,25 UP pour le lait de vache. et de 27,77 U.P pour le lait reconstitué. Cette activité passe à 40,98 UP à pH 6 pour le lait de vache et 18,867 UP dans le cas du lait reconstitué pour se stabiliser à 14,833 UP pour le lait de vache et à 4,587 U.P pour le lait reconstitué à pH 7. Les résultats du lait reconstitué confirment ceux de Nouani *et al.*, (2009) qui ont estimé que le pH optimal d'activité pour la ficine est de 5.

D'après ces résultats, nous constatons que le pH joue un rôle très important dans la coagulation du lait. En effet, les extraits étudiés montrent un caractère acide (l'optimum d'activité à pH 5,8).

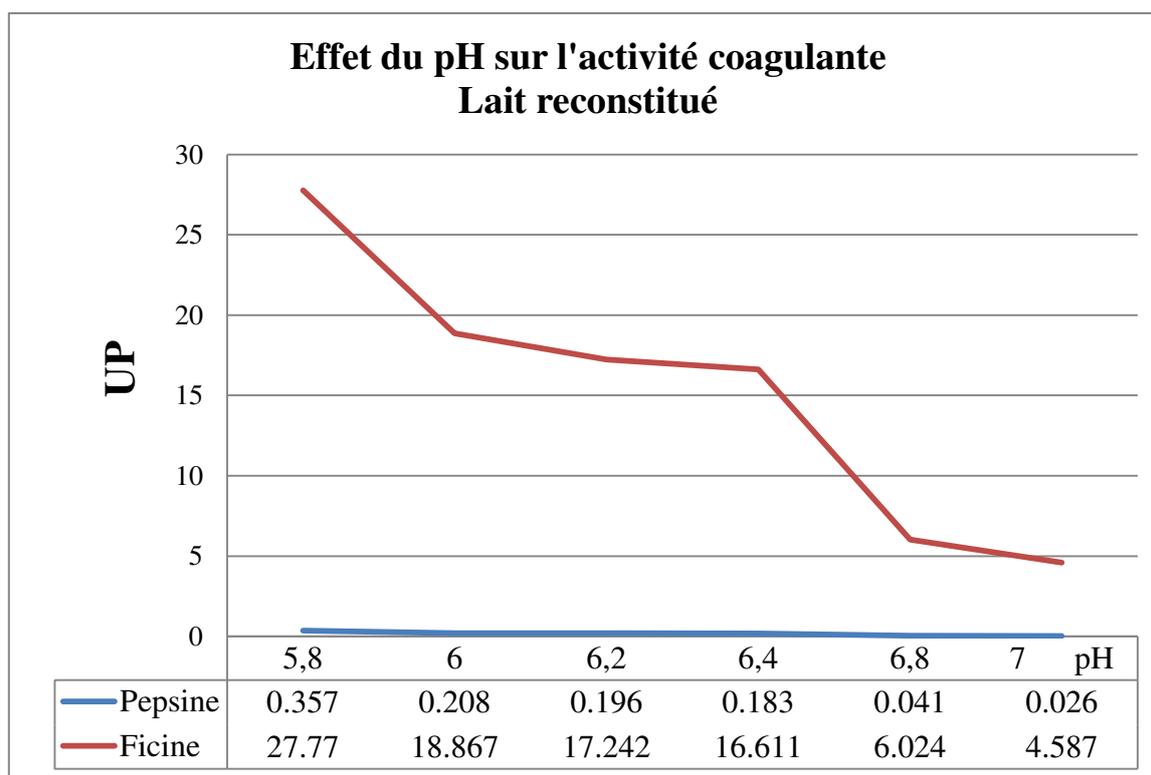


Figure 32 : Effet du pH sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait reconstitué.

b. Effet de température

L'effet de la température du lait sur l'activité coagulante des extraits enzymatiques étudiés est déterminé par la mesure de l'activité coagulante à différentes températures d'incubation avec un intervalle de 5 °C allant de 30 à 70 °C.

Les figures 33 et 34 montrent l'évolution de l'activité coagulante des extraits étudiés par comparaison entre eux en fonction de la température du lait (lait de vache et lait reconstitué).

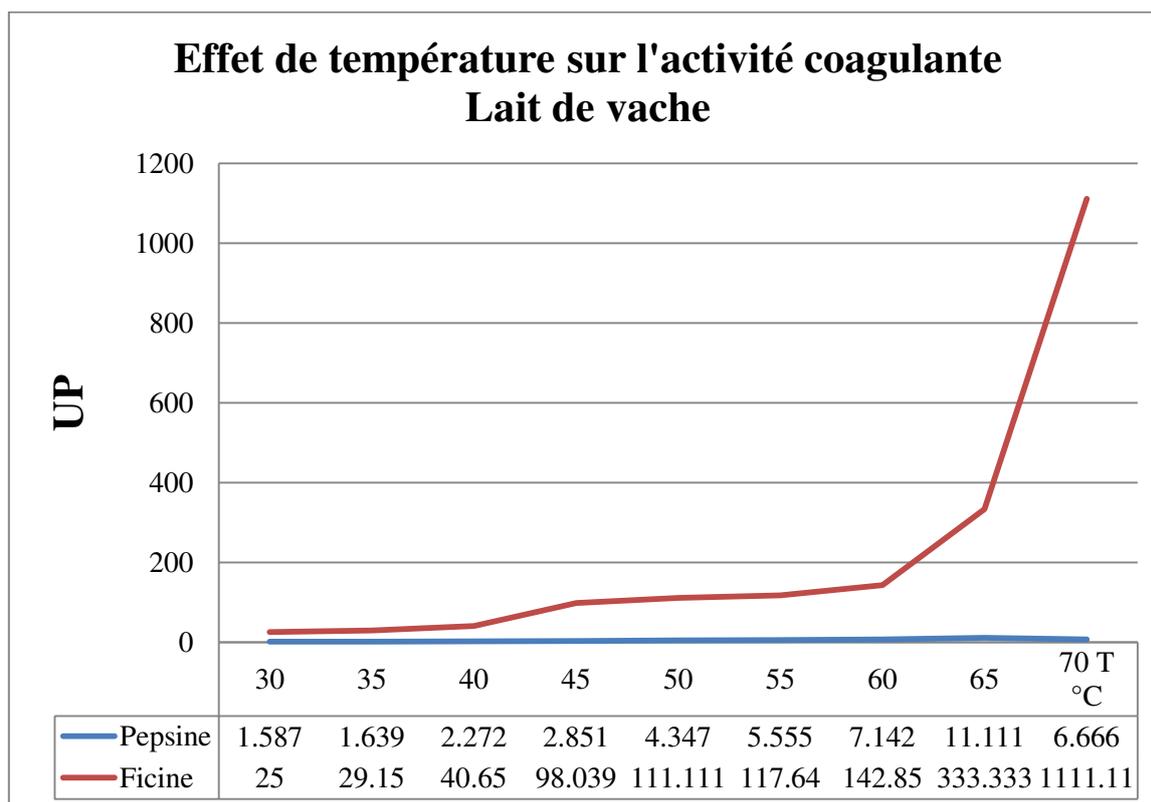


Figure 33: Effet de la température sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques :
Cas du lait de vache.

Nous avons constaté une différence de comportement entre les deux extraits enzymatiques suivant les températures étudiées. L'optimum d'activité coagulante pour l'extrait de ficine est obtenu à une température du lait égale à 70 °C avec une valeur de 1111,11 U.P pour le lait de vache et 333,33 U.P pour le lait reconstitué. Ces résultats sont proches de ceux donnés par Payne, (2009), qui est de 65 °C. Ces résultats confirment la grande stabilité thermique de la ficine.

Pour la pepsine l'activité optimale est enregistrée à des températures égales à 65 °C avec 11,11 U.P pour le lait de vache et à 50 °C et 55 °C avec 0,2604 U.P et 0,2666 U.P pour le lait reconstitué respectivement. Au delà de ces températures, nous avons constaté une

baisse d'activité. Les résultats du lait reconstitué obtenus pour la pepsine son proches de ceux donnés par Adoui, (2007), évalué à 55 °C. L'activité de l'extrait de pepsine diminue au-delà de 55 °C. Selon Adoui, (2007), la pepsine est inactivée aux températures dépassant 65 °C.

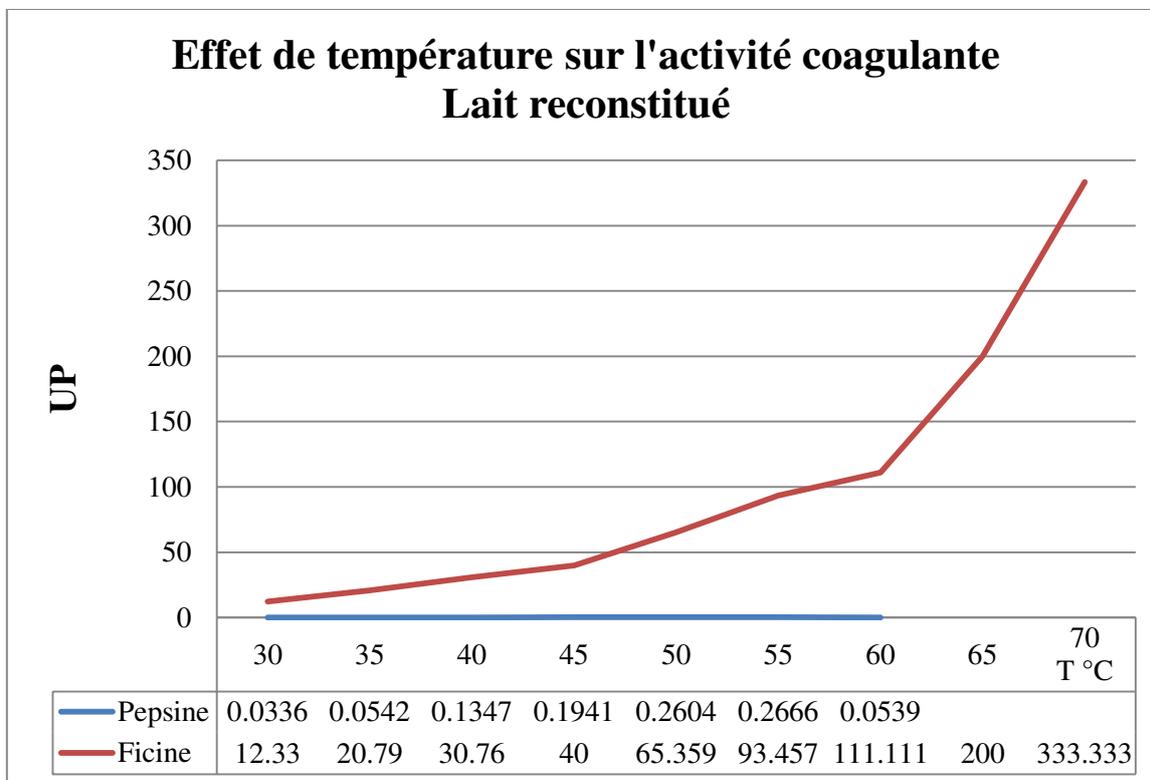


Figure 34 : Effet de la température sur l'activité coagulante des deux extraits enzymatiques : Cas du lait reconstitué.

2.3.4. Détermination de l'activité coagulante de pepsine après conservation

Le calcul de l'activité après conservation qui suit les mêmes étapes précédentes est illustré dans le tableau 09.

Tableau 09 : Effet de la conservation par le froid sur l'activité coagulante de la pepsine.

Type de conservation	Activité coagulante (UP)	
	Lait de vache	Lait reconstitué
Réfrigération (+4 °C)	0,156	0,024
Congélation (-18 °C)	0,141	0,015

- Après réfrigération (+4 °C) : l'activité coagulante de pepsine avec le lait de vache est de 0.156 UP et dans le cas du lait reconstitué est de 0,024 UP.
- Après congélation (-18°C) : on a noté une activité coagulante de 0,141 UP pour le lait de vache et de 0,015 UP pour le lait reconstitué.

Donc l'activité coagulante de pepsine quel que soit pour le lait de vache ou bien pour le lait reconstitué est plus élevée après une réfrigération que après la congélation. En outre, l'extrait enzymatique clarifié et concentré a conservé 41,27 % de son activité initiale à l'état réfrigérée contre 26,5 % à l'état congelée.

CONCLUSION

Notre travail est porté sur la contribution à la recherche des succédanés de présure utilisables industriellement. Nous avons étudié la possibilité de substituer la présure par l'extrait clarifié de la pepsine de poulet (d'origine animale) et l'extrait brut de ficine (d'origine végétale).

Ce travail vise à étudier les caractéristiques des deux agents coagulants proposés et les possibilités d'assurer la conservation de l'extrait clarifié de la pepsine. Notre démarche a comporté trois étapes. Premièrement, la récupération des matières premières renfermant les systèmes enzymatiques recherchés puis l'extraction des enzymes (pepsine de poulet et ficine), deuxièmement, la caractérisation des extraits de point de vue activité et force coagulante et conditions optimales d'activité (température, pH) et troisièmement, nous avons essayer de conserver par réfrigération et congélation l'extrait clarifié et concentré de pepsine de poulet pour assurer une meilleure préservation de l'activité coagulante en comparant entre les deux types de conservation.

L'extraction selon le digramme appliqué nous a permis d'avoir des extraits enzymatiques de ficine et de pepsine de poulet dont les caractéristiques sont respectivement les suivantes :

- La pepsine a une activité coagulante de 1,587 U.P pour le lait de vache et de 0,033 U.P pour le lait reconstitué, une force coagulante de 0,002222 U.P pour le lait de vache. Le rendement d'extraction est estimé à 84,43 %.
- La ficine a une activité coagulante de 25 U.P pour le lait de vache et de 12,33 U.P pour le lait reconstitué, une force coagulante de 400 U.P pour le lait de vache et de 117,64 U.P pour le lait reconstitué et un rendement d'extraction de 74,04 %.
- L'étude des conditions optimales d'activité a montré des différences de comportement entre les deux extraits enzymatiques. Le pH optimal de coagulation pour l'extrait de ficine et de pepsine est le même avec les deux types de lait évalué à 5,8. Pour la température optimale de coagulation, les résultats obtenus révèlent une différence entre les deux enzymes. En effet, l'optimum d'activité pour la ficine est obtenu à une température de 70 °C pour les deux types de lait, la pepsine à 55 °C pour le lait reconstitué et à 65 °C pour le lait de vache.

- La conservation par réfrigération permet une meilleure préservation de l'activité coagulante comparée à la congélation pour l'extrait clarifié et concentré de pepsine de poulet pour les deux types de lait (le lait reconstitué et le lait de vache), la pepsine de poulet réfrigérée a conservé 41,27 % de son activité coagulante initiale par contre l'extrait enzymatique congelée retient 26,5 %.

Pour conclure, nous pouvons dire que les résultats obtenus semblent intéressants d'autant qu'ils montrent la possibilité d'obtention des extraits enzymatiques capables de remplacer la présure dans l'industrie fromagère. Ces extraits sont obtenus à partir de matières assez disponibles et inexploitées.

Cependant il est intéressant de poursuivre ce travail par :

- L'étude des paramètres influençant l'extraction de ces deux enzymes afin d'améliorer la qualité des extraits et le rendement d'extraction;
- La possibilité d'utilisation des extraits de la ficine et de la pepsine dans la fabrication de différents types de fromages ;
- L'étude de leur effet sur la qualité des fromages obtenus.

Références Bibliographiques

Abdellaoui R. (2007) : Obtention et caractérisation d'une enzyme coagulant le lait d'*aspergillus niger* isolé sur Sole de la région de Boumerdes. Mémoire de Magister, Université M'hamed Bougara, Boumerdes. 3-7 p.

Adoui F. (2007) : Extraction d'enzyme Coagulant le lait à partir de proventricules de poulet. Mémoire de Magister. Université Mentouri, Constantine. 10-15-64 p.

Afnor, (1993) : Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers : analyses physicochimiques. Paris La Défense : AFNOR, 4e éd., 581 p.

Afnor - Lait - Détermination de la teneur en matière grasse Méthode gravimétrique (méthode de référence). NF EN ISO 1211, décembre 2001, 21 p.

Alais C. (1984) : Sciences du lait, principes des techniques laitières, 4ème édition, SEPAIC, 818 p.

Alamareot J. (1982) : Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaire, édition du point vétérinaire-Alfort 1982, 289 p.

Amiot J., Fournier S., Leboeuf Y., Paquin P. et Simpson R. (2002): Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait, in Science et technologie du lait transformation du lait coordonnateur Vignola C.C, Fondation de technologie laitière du Québec 395 p.

Aouissi L et Brinet H. (2016) : Extraction de la pepsine à partir des proventricules des volailles et aptitude à la coagulation du lait. Mémoire de master académique, Université 8 Mai 1945 Guelma. 45 p.

Banga M.H., Godeau J.M., Drion P.V., El Amiri B., Perenyi Z., Souna N.M., Beckers J.F., (2002): Evaluation de l'utilisation du pepsinogène sanguin comme bio marqueur de l'intégrité de la muqueuse gastrique chez le porc. Ann. Méd. Vét.,146, 339-346.

Benyahia F. (2013) : Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie. Thèse de Doctorat, Université Constantine 1. 13-10 p.

Bohak Z. (1970): Chicken pepsinogen and chicken pepsin in Methods in enzymology, Proteolytic Enzymes. Ed., Perlmann G.E. and Lorand L , Acad.Press Inc., New York Volume 19, pp347-358, 1042 p.

Bohak Z. (1969): Purification and characterisation of chicken pepsinogen and chicken pepsin J. biological chemistry.Vol. 244, N°.17: p.4638-4648

Boughellout H. (2007) : Coagulation du lait par la pepsine de poulet. Mémoire de Magister, Université Mentouri, Constantine. 13 p.

Brridge N.J. (1955). Purification and assay of rennin. Methods in enzymology. Ed. Perlmann G.E. and Loran Acad. Press Inc., New York. Vol. 2. 69-77 p.

Brule G., Lenoir J. et Remeuf F. (1997) : La micelle de caséine et la coagulation du lait, In: Le fromage. Ed. A. Eck, et Gillis J.C. (coordonnateurs), pp 7-41, 3ème édition, Lavoisier Tec &Doc Paris. 891 p.

Coulon JB. (1994) : Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. Rec. Med. Vét, 170 (6/7): 367-374 p.

Cuvellier G.F. (1993) : Production des enzymes in Biotechnologie. Coord Scriban R. 4ème édition Tec&Doc, Lavoisier. 948 p.

Eck A et Ghilis J. (2006) : Le fromage., lavoisier TEC et DOC 3 eme edition .,891 p.

FAO (1988). Lambert J.C. La transformation laitière au niveau villageois. Etude FAO production et santé animales. 69 p.

Fox P.F., Singh T.K. et Mc Sweenely P.L.H. (1994): Proteolysis in cheese during ripening. 1-32 p.

Gausсен H. Leroy JF. Et Ozenda P. (1982) : Précis de botanique, tome II : végétaux supérieure. Masson : 558-560 p.

Ghaoues S. (2011) : Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien.

Gorden S et Rosenthal I. (1978): Efficacy of chicken pepsin as a milk-clotting enzyme. Journal of food protection September Vol. 41 N° 9. 684-688 p.

Huppertz T., Upadhyay V.K., Kelly A.L. et Tamime A.Y. (2006): Constituents and Properties of Milk from Different Species. Brined Cheeses. Edited by Dr Adnan Tamime. Copyright © 2006 by Blackwell Publishing Ltd. 1-34 p.

Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et BRULE G. (2008) : Les produits laitiers. Ed. Tec& Doc, Lavoisier, 185 p.

Kellil S. (2015) : Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie. Thèse de Doctorat, Université M'hamed Bougara, Boumerdes. 24 p.

Kersten. A. (1937): Le lait. 918-927p. 53-59 p.

Lij D et Daligleish G. (2006): Mixed coagulation of milk – gel formation and mechanism, J. Agric. Food Chem. 54, 4687–4695.

- Lucey J.A. (2002):** Formation and physical properties of milk protein gels. *J. Dairy Sci.* 8: 281-294.
- Luquet M. (1985):** Lait ET produits laitiers. Vache, brebis, chevre. 1. Les laits. De la mamelle a la laiterie. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 884p
- Magali P. (2013) :** la transformation fromagère caprine fermière, Tec&Doc., Lavoisier, 350p.
- Mahaut M., Jeantet R., Schuck P. et Brule G. (2000) :** Les produits industriels laitiers Ed Tec et Doc. – Lavoisier, 26-40p.
- Mathieu J. (1999) :** Initiation à la physicochimie du lait, Tec&Doc., Lavoisier, 220p.
- Nouani A, Hamrani L, Bellal M. (2011) :** Purification et caractérisation de protéase coagulant le lait extraite à partir du proventricule de poulet (*gallus gallus*). Neuvièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours, 29 et 30 mars 2011.
- Mouna O. (2009) :** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés "ben" et Jben" d'origine marocaine. Thèse de Doctorat, Université MOHAMMED V- AGDAL-Faculté des Sciences Rabat, N° d'ordre 2475, 132p.
- Payne T.C. (2009):** Enzymes in Meat Systems Enzymes. Chapter 8. R. Tarté (ed.), *Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications.* 26 p.
- Pougheon et Goursaud, (2001):** Le lait et ses constituants : caractéristiques physicochimiques In: *Lait, nutrition et santé.* Ed., G. Débry, Techniques et documentation, p. 4-41, 566p.
- Sandra P et al. (2001) :** Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.
- Schmidt L. (1982).** Association of caseins and casein micelle structure. In: *Developments of dairy chemistry 1-proteins.* Applied science publishers. 61-86 p.
- Siar H. (2014) :** Utilisation de la pepsine de poulet et de la ficine du figuier comme agents coagulants du lait. Mémoire de Magister, Université Constantine 1. 17-32 p.
- Vignola C.L. (2002) :** Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales polytechnique, Québec; 608 p.

Site web

- [1] <http://www.maison-du-lait.com/fr/filiere-laitiere/lhistoire-lait-au-fil-des-siecles> (Consulter le 05.02.2017 à 23.00 h).
- [2] <https://www.plaisirslaitiers.ca/le-lait/l-histoire-du-lait> (Consulter le 07.02.2017 à 19.00 h).
- [3] <http://www.ulb.ac.be/sciences/cudec/LaitComposition.html> (Consulter le 20.02.2017 à 23.00 h).
- [4] <http://www.apaqw.be/Productions/Le-lait/Les-types-de-lait.aspx> (Consulter le 20.02.2017 à 23.00 h).
- [5] <http://mrserge91.forumactif.org/t32-morphologie-de-la-poule> (Consulter le 22.02.2017 à 10.00 h).
- [6] http://www.memoireonline.com/04/10/3418/m_lait-et-fromage-au-Benin3.html (Consulter le 25.02.2017 à 22.00 h).
- [7] <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/23497/ch02.html> (Consulter le 04.03.2017 à 17.00 h).
- [8]. <https://www.youlab.fr/blog/ressources-scientifiques-bibliographie/le-lait-et-sa-coagulation/> (Consulter le 05.02.2017 à 23.00 h).

Annexe n°01

Le temps de floculation de l'activité et la force coagulante

Pepsine de poulet :

- Activité coagulante :

	Temps (min)	UP
Lait de vache	1,3	1,587
Lait reconstitué	49,5	0,033

- La force coagulante :

	Temps	UP
Lait de vache	1h 50min	3,63
Lait reconstitué	/	/

- Activité coagulante après conservation

		Temps	UP
Après Réfrigération	Lait de vache	10min 37s	0,156
	Lait reconstitué	1h 07min 55s	0,024

		Temps	UP
Après Congélation	Lait de vache	11min 45s	0,141
	Lait reconstitué	1h 45min 15s	0,015

Ficine de figuier :

- Activité coagulante

	Temps (s)	UP
Lait de vache	4	25
Lait reconstitué	8,11	12,33

- La force coagulante

	Temps (min)	UP
Lait de vache	1	400
Lait reconstitué	3,24	117,64

Annexe n°02

Le temps de floculation de l'activité coagulante spécifique

Pepsine de poulet :

- Effet de pH

pH	Temps (min)		UP	
	Lait de vache	Lait reconstitué	Lait de vache	Lait reconstitué
5,8	1,6	4,40	1,515	0,357
6	2,0	8,0	0,833	0,208
6,2	2,50	8,30	0,588	0,196
6,4	3,05	9,06	0,540	0,183
6,8	22,0	40,27	0,075	0,041
7	27,0	63,02	0,061	0,026

- Effet de température

Température (°C)	Temps (min)		UP	
	Lait de vache	Lait reconstitué	Lait de vache	Lait reconstitué
30	1,3	49,30	1,587	0,0336
35	1,1	30,45	1,639	0,0542
40	0,44	12,22	2,272	0,1347
45	0,35	8,35	2,851	0,1941
50	0,23	6,24	4,347	0,2604
55	0,18	6,15	5,555	0,2666
60	0,14	30,52	7,142	0,0539
65	0,09	/	11,111	/
70	0,15	/	6,666	/

Ficine de figuier

- Effet de pH

pH	Temps (s)		UP	
	Lait de vache	Lait reconstitué	Lait de vache	Lait reconstitué
5,8	0,67	3,6	149,25	27,77
6	2,44	5,3	40,98	18,867
6,2	3,50	5,8	28,57	17,241
6,4	4,36	6,02	22,93	16,611
6,8	5,40	16,6	18,518	6,024
7	6,95	21,8	14,388	4,587

- Effet de température

Température (°C)	Temps (s)		UP	
	Lait de vache	Lait reconstitué	Lait de vache	Lait reconstitué
30	4	8,11	25	12,33
35	3,43	4,81	29,15	20,790
40	2,46	3,25	40,65	30,76
45	1,02	2,50	98,039	40
50	0,9	1,53	111,111	65,359
55	0,85	1,07	117,64	93,457
60	0,7	0,9	142,85	111,111
65	0,3	0,5	333,333	200
70	0,09	0,3	1111,1111	333,333