REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
L'UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE- MICROBIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté Pour l'obtention du diplôme Master II
Spécialité : Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée.

Thème :

EVALUATION PHYSICO-CHIMIQUE DE QUELQUES PRODUITS ALIMENTAIRES COMMERCIALISES

Réalisé par :

Melle OULD OUALI FATMA
Melle LOUMANI ZAKIA

Devant le jury :

Président de jury: Mme SENOUSSI Chahra	**Maitre assistante classe A**
Promotrice : Mme Si AHMED Saliha	**Maitre assistante classe A**
Examinateur: Mme ISSELMANE Souad	**Maitre assistante classe A**
Examinateur : Mme BEDOUHANE Samia	**Maitre assistante classe A**

Promotion :
2014 - 2015

Remerciements :

Arriver au terme de la rédaction de ce mémoire, nous tenons à remercier tout particulièrement :

Dieu le clément de nous avoir aidés durant toute notre scolarité et sur lequel nous comptons tous pour atteindre nos buts.

Notre encadreur Mme SI AHMED S : « vous nous avez accordé votre confiance en acceptant de diriger ce mémoire, malgré les obligations professionnelles et les multiples occupations qui sont les vôtres. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect. »

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant d'évaluer notre travail et de l'enrichir par leurs propositions :
Mme SENOUSSI C, pour avoir bien accepté de présider le jury.
Mme ISSELMANE S et Mme BEDOUHANE-FENNANE S, pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Il nous est particulièrement agréable d'exprimer nos remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, Leur soutien et leurs conseils, nous ont aidés à la réalisation de ce modeste travail

Dédicace

C'est avec une immense joie que je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de tous ce qui nous on quitter, mais toujours présents dans nos cœurs, qu'ils se reposent en paix et que dieu les accueillent dans son vaste paradis ;

A ma chère grande mère, que j'aime beaucoup et à qui je souhaite une longue vie plaine de joie et de bonheur.

A mes chers parents qui m'ont donné la vie, la tendresse, et le courage pour réussir. Tous ce que je peux leur offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je leur porte ;

A mes chers frères : AMAZIGH, RAHIM et MESSAOUD ;

A mes chers oncles et tantes paternels et maternels ;

A mes chers cousins et cousines ;

A tous mes amis, particulièrement Yasmine, et à tous ce qui m'ont aidé de prés et de loin.

FATMA

Dédicace

Je dédie avant tout cette œuvre à l'eternel dieu qui m'a accordé la grâce, la santé, la protection et la volonté, ce dieu si paternel qui m'aime malgré mes défauts.

Je remercie mes très chers parents « Saïd et Fatma », En témoignage de tant d'années de sacrifices, d'encouragement et de prières , qui ont toujours été là pour moi, pour ces 5 années, et aussi pour les précédentes : « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts, que Dieu vous protège »

A mes chers frères, « Mourad et Hakim » ;

A mes adorables sœurs « Souad, Leila, et Melissa »,

Je ne trouve pas les mots pour vous remercier de l'amour que vous m'avez témoigné au cours de ces années, des paroles d'encouragements que vous avez su prononcer et le soutien extraordinaire que vous m'avez offert ».

A toutes mes amies surtout « Saïda », qui m'a soutenue et encouragée pendant tous les moments difficiles vécus

Finalement, à toutes celles et tous ceux que je n'ai pas cités, qui m'ont consacré de leur temps et m'ont donné de bons conseils durant ces années.

ZAKIA

Résumé :

Le tryptophane est un acide aminé indispensable pour le développement et la maturation cérébrale de l'enfant, qui doit donc être apporté par son alimentation avec une quantité suffisante. La majeure partie du tryptophane absorbé est consacré à la synthèse du squelette polypeptidique des protéines. Alors que le reste est métabolisé selon deux voies principales : la voie de Kynurénine et la voie sérotoninergique pour donner naissance à des molécules à activités biologiques importantes telle que : la niacine précurseur de deux coenzymes (NAD, NADP) qui, participent dans presque toutes les réactions d'oxydoréductions de l'organisme. La sérotonine intervient dans l'hémostase primaire, la transmission de l'information nerveuse (neurotransmetteur) et la régulation du cycle veille-sommeil en se transformant en mélatonine (neurohormone chronobiotique). La malabsorption de cet acide aminé chez l'enfant, suite à une mutation du gène codant pour son transporteur, induit la maladie d'Hartnup, dont les symptômes ressemblent ceux observés dans le cas d'une carence en niacine.

Mots clés : Tryptophane, acide aminé indispensable, niacine, NAD, NADP, maladie de Hartnup.

Abstract:

Tryptophan is an essential amino acid for development and brain maturation of the child, which must be provided by diet with sufficient amount. Most of the absorbed tryptophan is devoted to the synthesis of the polypeptide backbone of proteins. While the rest is metabolised according to two main routes: Route kynurenine and serotonin pathway to give rise to molecules with important biological activities such as: niacin precursor of two coenzymes (NAD, NADP) which are involved in almost all reactions 'oxydoréductions the body, serotonin, which is involved in primary hemostasis, transmission of nervous information (neurotransmitter) and regulating the sleep-wake cycle by transforming into melatonin (neurohormone chronobiotic). Malabsorption of this amino acid in children, result in a mutation of the gene encoding its carrier induced disease of which Hartnup, symptoms resemble those observed in the case of niacin deficiency.

Keywords: Tryptophan, essential amino acid, niacin, NAD, NADP, Hartnup disease.

LISTE DES ABREVIATIONS :

AA	Acide aminé
AC	Adénylate cyclase
Ac CoA	Acétyl- coenzyme A
ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acide gras
AGS	Acide gras saturé
AGL	Acide gras libre
AGMI	Acide gras mono insaturé
AGPI	Acide gras poly insaturé
α-La	α-Lactalbumine
α s_1/α s_2-CN	Caséine α s_1/α s_2
ADP	Adénosine diphosphate
ATP	Adénosine triphosphate
B-CN	Caséine-β
B-Lg	β-Lactoglubumine
BSA	Sérum Albumine Bovin
CSA	Albumine sérique Cameline
CaM	Calmoduline
DCPIP	2,6 dichlorophénol- indo-phénol
DNS	Acide 3,5- dinitrosalycilique
DO	densité optique
FMN	Flavine mononucléotide
FAD	Flavine adénine dinucléotide
Gln	Glutamine
GCS	Ganglion cervical supérieur
HIOMT	Hydroxy-indole-o-méthyle transférase
HPLC	Chromatographie en phase liquide de haute performance
5-HTP	5-Hydroxy tryptophane
5-HT	5-Hydroxy tryptryptamine
HCl	Chlore d'hydrogène
Igs	Immunoglobulines

IP_3	Inositol-3-phosphate
k-CN	k-Caséine
LM	Lait maternel
MAO	Monoamine oxydase
NAT	N-acétyl transférase
NA	Noradrénaline
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NSC	Noyaux suprachiasmatiques
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAGE	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
Protéine G_s	Protéine G stimulatrice
PVN	Noyau para ventriculaire
PP	Pellagra preventis (niacine)
PAL	Pyridoxal phosphate
PIP_2	Phosphatidyl inositol bisphosphate
PLC	Phospholipase C
pHi	pH isoélectrique
SDS	Dodecyl sulfate de sodium
SERT	Transporteur de sérotonine
SNC	Système nerveux centrale
TGase	Transglutaminase
T%	% d'acrylamide et de bis acrylamide dans un volume V de tampon
TCA	Acide trichloroacétique
Trp	Tryptophane
TEMED	N, N, N', N'-tétraméthyléthylène diamine
TRIS	Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
UV	Ultra violet
Ve	Volume d'elution
VK	Voie de kynurénine
VMAT	Transporteur vésiculaire des monoamines

LISTE DES TABLEAUX

N° du Tableau	Titre du tableau	N° de page
I	Structure des acides aminés constitutifs des protéines.	**02**
II	Acides aminés essentiels et non essentiels.	**05**
III	Principales sources d'acides aminés indispensables.	**05**
IV	Besoins en protéines selon l'âge de l'enfant	**09**
V	Besoins en tryptophane selon l'âge de l'enfant	**10**
VI	Besoins en vitamine B_3 selon l'âge de l'enfant	**11**
VII	Composition des différents laits infantiles (taux maximaux et minimaux établis par la directive européenne **2006/ 141/CE**).	**14**
VIII	composition en tryptophane de divers aliments animaux et végétaux	**16**

LISTE DES FIGURES

N° de figure	Titre de figure	N° de page
01	Formule générale de base d'un acide aminé.	**02**
02	Réaction de désamination oxydative d'un acide aminé.	**06**
03	Réaction de transamination d'un acide aminé.	**06**
04	Réaction de décarboxylation d'un acide aminé.	**07**
05	Structure du tryptophane.	**17**
06	Schéma récapitulatif des principales voies métaboliques du tryptophane.	**17**
07	Voie de synthèse du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD).	**19**
08	Voie de synthèse de la sérotonine.	**20**
09	Devenir de la sérotonine synthétisée dans les neurones sérotoninergiques.	**22**
10	Voie de synthèse de mélatonine à partir de la sérotonine	**22**
11	Représentation schématique d'une plaquette.	**23**
12	Exocytose des granules α-plaquettaires induite par la sérotonine durant le processus d'agrégation plaquettaire.	**25**
13	Voie polyneuronale de la transmission de l'information photopériodique.	**26**
14	Variation du taux plasmatique de mélatonine selon l'âge	**27**
15	Réaction d'oxydoréduction de la vitamine C.	**33**
16	Courbe étalon pour le dosage des protéines par la méthode de **Lowry et al, (1951)** avec BSA comme protéine étalon.	**34**
17	Réaction de réduction du 3,5 DNS.	**35**

18	Courbe étalon pour le dosage des glucides par la méthode de 3,5 (DNS) avec la solution de glucose comme étalon.	**36**
19	Structure du dodecyl sulfate de sodium (SDS).	**40**
20	Histogramme de la teneur en vitamine C dans différents jus Commercialisés.	**41**
21	Histogramme de la teneur en glucides dans différents jus commercialisés.	**42**
22	stogramme de la teneur en protéines dans différents echantillons.	**44**
23	Histogramme des indices d'iode et d'acide de différents corps gras commercialisés.	**45**
24	Chromatogramme de séparation des protéines sériques du lait de vache en utilisant la chromatographie de pérméation sur gel de séphacryl S 200.	**48**
25	Chromatogramme de séparation des protéines sériques du lait camelin en utilisant la chromatographie de pérméation sur gel de séphacryl S 200.	**48**
26	Profile électrophorétique (PAGE-native) des séroprotéines bovines.	**49**
27	Profile électr.ophorétique (PAGE-native) des séroprotéines camelines.	**49**
28	Profiles électrophorétiques (PAGE-SDS) des hydrolysats protéiques obtenus sous l'action de la papaine à différents temps d'incubation $T_{0,}$ T_{15}, $T_{30,}$ $T_{60,}$ T_{120}.	**52**

Table des matières

I-Synthèse bibliographique

Introduction 01

I-1- Aperçus général sur le tryptophane :

I-1-1-Définition 02

I-1-2-Classification et structure des acides aminés 03

I-1-3- Rôles des acides aminés 04

I-1-4- Acides aminés indispensables et non indispensables.....04

I-1-5- Catabolisme des acides aminés ..... ……...05

I-1-5-1- Catabolisme du groupement NH_2 06

I-1-5-2- Désamination oxydative ..... ……06

I-1-5-3- Transamination ..... ….....06

I-1-5-2- Catabolisme du groupement COOH..... ……07

I-5-2-1- Décarboxylation..... ……07

I-1-6- Devenir des produits du catabolisme des acides aminé 07

I-1-6-1- Les acides α-cétoniques…….….07

I-1-6-2- L'ammoniaque…….……07

I-2- Alimentation infantile :

I-2-1- Besoins nutritionnels de l'enfant..... 09

I-2-1-1- Besoins azotés……..09

I-2-1-2-Besoins en vitamines…….10

I-2-2- Allaitement maternel……...11

I-2-2-1- Composition chimique du lait maternel……..11

I-2-2-2- Avantages du lait maternel……...12

I-2-2-3- Contres indications du lait maternel……12

I-2-3- Allaitement artificiel……13

I-2-3-1- Les Préparations pour nourrissons……...13

I-2-3-2- Les Préparations de suite…….13

I-2-3-3- Lait de croissance…….14

I-2-4- La diversification alimentaire…….14

I-2-4-1- Définition……..14

I-2-4-2- Age de la diversification alimentaire……...15

I-2-4-3- Conduite pratique de la diversification alimentaire……....16

1-3-Importance du tryptophane présent dans l'alimentation infantile :

I-3-1-Structure du tryptophane..... ……17
I-3-2-Métabolisme du tryptophane…… ……..17
I-3-2-1- Voie de kynurénine..... ..18-19
I-3-2-2- Voie sérotoninergique..... ……20
I-3-3-Devenir et effets des métabolites issus de la dégradation du tryptophane……..21
I-3-3-1- NAD et NADP ..... ……21
I-3-3-2- Sérotonine..... ..21-23
I-3-3-3-Effets de la sérotonine……23
I-3-3-3-1-Dans l'hémostase primaire……....23
I-3-3-3-1-1-Définition……..23
I-3-3-3-1-2-Physiologie de l'hémostase primaire……...24
I-3-3-3-1-3-Mécanisme d'exocytose des granules α-plaquettaire…….....24
I-3-3-3-2-Dans la régulation du cycle veille-sommeil ……...25
I-3-3-3-2-1-Transformation de l'information photopériodique en message hormonal…….25
I-3-3-3-2-2-Stimulation noradrénergique…….26
I-3-3-3-2-3-Sécrétion de mélatonine……....26
I-3-4-Pathologie liée à un défaut de transport du tryptophane…….27
I-3-4-1- Syndrome d'Hartnup……27
I-3-4-1-1- Symptômes……27
I-3-4-1-2- Diagnostic et traitement…….28
Conclusion

II-stage pratique

Introduction…….....30
II-1-Matériel et méthodes…….31
II-1-1-Matériel……..31
II-1-1-1-Matière première……....31
II-1-1-2-Matériel biologiques……...31
II-1-1-3-Produits chimiques, réactifs, et solvants……...31
II-1-1-4-Appareillage……...32
II-1-1-5-Autres…….32

II-1-2-Méthodes……..……32
II-1-2-1- Méthodes physicochimique…….…...32
II-1-2-1-1- Dosage de la vitamine C dans les jus par la méthode utilisant la 2,6 DCPIP….32
II-1-2-1-2- Dosage des protéines par la méthode de Lowry *et al.*……..…..33-34
II-1-2 -1-3- Dosage des sucres réducteurs dans les jus par la méthode utilisant le 3, 5 DNS ……35
II-1-2-1-4- Détermination des indices d'iode et d'acidité des corps gras…….36-37
II-1-2-2 -Méthodes enzymatiques……..37
II-1-2-2-1- Hydrolyse enzymatiques des protéines du lait (caséines bovins) et de l'albumen par la papaïne……...37
II-1-2-3- Méthodes chromatographique …….38
II-1-2-3-1- Chromatographie de filtration sur gel de SEPHOCRYL S 200……38
II-1-2-4- Méthodes électrophorétiques……38
II-1-2-4-1- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide…….....39
II-1-2-4-1-1-Electrophorèse en conditions non dissociant es et nos dénaturantes……39
II-1-2-4-1-2- Electrophorèses en conditions dissociant et dénaturante……..39-40
II-2-Résultats et discussion :…….41
II-2-1-méthodes physicochimiques……..41
II-2-1-1-Détermination de la teneur en vitamine C dans le jus……..41-42
II-2-1-2-Détermination de la teneur en sucres réducteurs dans les jus……..42-43
II-2-1-3-Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Lowry et al……..43-44
II-2-1-4-Détermination des indices d'iode et d'acidité d'une matière grasse……...45-46
II-2- 2-Méthodes de purifications……....47
II-2-2-1-séparation des protéines du lactosérum bovin et camelin par chromatographie sur gel de Séphacryl S 200……..47-48
II-2-2-2-caractérisation des séroprotéines bovines et camelines en condition non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native)…….. 49 -50
II-2-2-3-hydrolyse des protéines de l'œuf et des caséines bovines par la papaïne et caractérisation éléctrophorétiques des hydrolysats …….……51-52-53
Conclusion……..……..55
Références bibliographiques
Annexes

Introduction :

L'alimentation représente dans la vie de l'enfant l'un des éléments essentiels pour son développement somatique et cérébral, mais également psychomoteur, social et affectif. **(DAELMAN et al, 2011).** Cette alimentation doit être parfaitement adaptée à l'âge de l'enfant et à ses capacités digestives, rénales, et hépatiques, c'est pourquoi il est indispensable de bien connaitre les besoins et les apports nutritionnels **(TREMBLEN, 2009)**.

Le maintien donc d'un bon état de santé et d'une bonne croissance de l'enfant repose entre autres sur un apport nutritionnel adapté c'est-à-dire l'adéquation entre les besoins et les apports en micro et macronutriments et parmi ces derniers, les protéines qui représentent la part souvent la plus difficile à fournir en raison de leurs qualité donc leurs composition et leurs teneurs en AA dont les AA essentiels **(Goyens, 2009)**. Donc, il faut tenir compte du phénomène de « facteur limitant » car une carence en un acide aminé indispensable peut perturber l'assimilation des autres donc, une diversification des sources protéiques peut être une solution pour limiter les carences (**BOURILLON, 2005).**

. Parmi ces AA essentiels que l'organisme de l'enfant est incapable de synthétiser ou qu'il synthétise en très petite quantité par apport à ses besoins et qui doit donc être apporté via la dégradation des protéines alimentaires on distingue le tryptophane **(BOUTRY *et al.*, 2008).** Ce dernier joue des rôles très importants en contribuant à la synthèse des protéines endogènes de l'organisme et au développement cérébrale de l'enfant **(Heine *et al.*, 1996).** En outre, c'est un précurseur de nombreuses molécules biologiques actives telles que la niacine (un précurseur de deux coenzymes importants qui sont le NAD et le NADP), la mélatonine et la sérotonine qui joue le rôle de neurotransmetteur et qui intervient dans divers fonctions biologiques telle que la régulation du cycle veille-sommeil et l'hémostase primaire **(GARRIDO *et al.*, 2012).**

Cette synthèse bibliographique a pour objectif de présenter l'importance de l'apport du tryptophane selon l'âge de l'enfant, ainsi que les différents rôles qu'il accomplit au cours de son développement. Un exemple de pathologie liée à sa malabsorption sera élucidé.

I-1-Aperçus générale sur les acides aminés :

I-1-1- Définition :

Un AA est une molécule organique, possédant donc une chaine carbonée (ou squelette carboné), montrant un groupement fonctionnel acide (-COOH) et un groupement amine (-NH2) portés par un même carbone appelé carbone α. Outre un hydrogène, à ce carbone est associée une chaine carbonée constituant le radical R. Tous les acides aminés ont la même formule générale de base à l'exception de la proline **(figure 1) (GOUDET *et al.*, 2008).**

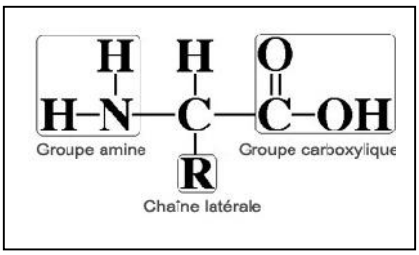
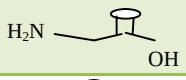
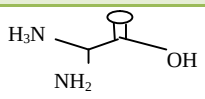
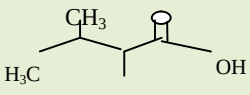
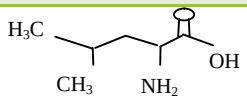


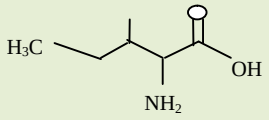
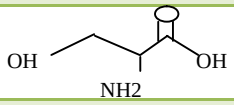
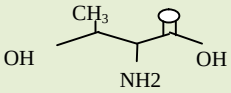
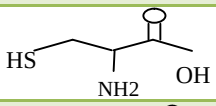
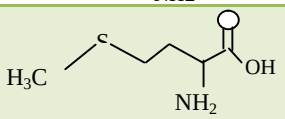
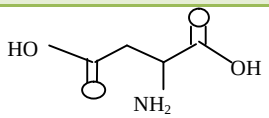
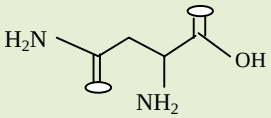
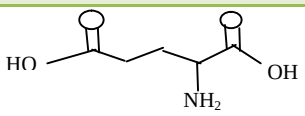
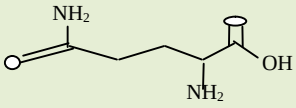
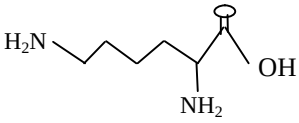
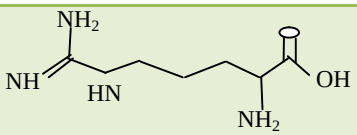
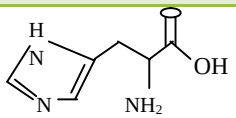
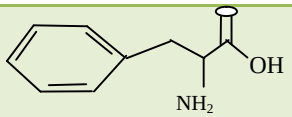
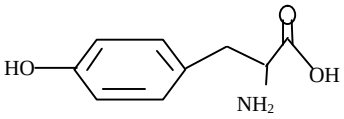
Figure 1 : Formule générale de base d'un acide aminé.

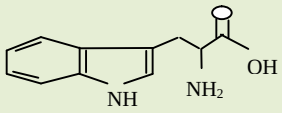
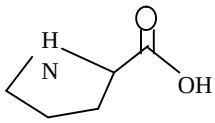
I-1-2- Classification et structure des acides aminés :

Il existe vingt AA principaux constitutifs des protéines, qui sont produits au niveau de l'ADN par un code génétique appelés AA protéinogénes. Ces derniers sont classés selon la composition de leur chaine latérale (R) en 7 groupes représentés dans le tableau I.

Tableau I : Structure des acides aminés constitutifs des protéines.

Groupe de l'acide aminé	Nom de l'aide aminé	Structure de l'acide aminé
Acides aminés aliphatiques	Glycine (glycocolle)	
	Alanine	
	Valine	
	Leucine	

	Isoleucine	
Acides aminés alcool	Sérine	
	Thréonine	
Acides aminés soufrés	Cystéine	
	Méthionine	
Acides aminés dicarboxyliques	Acide aspartique	
	Asparagine	
	Acide glutamique	
	Glutamine	
Acides aminés dibasiques	Lysine	
	Arginine	
	Histidine	
Acides aminés aromatique	Phénylalanine	
	Tyrosine	

	Tryptophane	
Acides ∝- iminé (iminoacide)	Proline	

I-1-3-Rôles des acides aminés :

Les AA jouent un rôle en tant que constituant des protéines. Ils peuvent aussi, sous forme libre, participer à des nombreux métabolismes ou processus physiologiques **(MASSON, 2002).** Ainsi, ils contribuent au transport de l'azote et à son élimination sous forme d'urée (uréogenèse et ammoniogenèse) qui, en parallèle participe à l'équilibre acido-basique **(SABLONNIERE, 2010).** Ils contribuent aussi au métabolisme énergétique (acides aminés glucoformateurs et cétoformateurs), et peuvent servir de précurseurs pour la biosynthèse de médiateurs chimiques (hormones, neurotransmetteurs) **(BORG *et al*., 2008).**

I-1-4-Acides aminés essentiels et non essentiels:

Quand on parle d'AA, les termes « essentiels » et « non essentiels » prêtent à confusion puisque la totalité des vingt acides aminés courants est essentielle pout être en bonne santé **(Tableau II) (MURRAY *et al*., 2011).**

Huit de ces vingt AA dits « essentiels » que l'organisme humain ne peut pas synthétiser ou qu'il synthétise trop lentement par rapport aux exigences continues de la protéogenèse, donc ils doivent impérativement être apportés par l'alimentation **(Tableau III) (MAROUF *et al*., 2009).**

Deux AA dits « Semi-essentiels » dont les possibilités de synthèse sont limitées, rendant nécessaire, en particulier chez l'enfant un apport alimentaire complémentaire : Histidine et Arginine **(HECKETS WEILER *et al*., 2004).**

Dix AA dit « non essentiels » puisque il n'est pas nécessaire de les trouver dans l'alimentation, car les possibilités de synthèse par l'organisme humain couvrent les besoins nutritionnels **(BOUTRY *et al*., 2004).** Une protéine aura donc une valeur biologique d'autant meilleure qu'elle apportera les acides aminés en proportions équilibrées et en particulier les acides aminés indispensables **(MAROUF *et al*., 2009).**

Tableau II : Acides aminés essentiels et non essentiels **(LAFAY *et al.*, 2010).**

Acides aminés Essentiels	Acides aminés non essentiels
- Arginine*	- Alanine
- Histidine*	- Asparagine
- Isoleucine	- Aspartate
- Leucine	- Cystéine
- Lysine	- Glutamate
- Méthionine	- Glutamine
- Phénylalanine	- Glycine
- Thréonine	- Proline
- Tryptophane	- Sérine
- Valine	- Tyrosine

***Acides aminés semi essentiels.**

Tableau III : Principales sources d'acides aminés indispensables **(MAROUF *et al.*, 2009).**

Acides aminés	Sources
Isoleucine	Fromages à pâte dure, lait, levure de bière, saumon, viandes rouges, volailles
Leucine	Blanc d'œuf, fromage à pâte dure, foie de veau, lait, légumes secs, levure de bière
Lysine	Fromage, foie de veau, lait, légumes secs, levure de bière, viandes rouges
Méthionine	Blanc d'œuf, lait, levure de bière, poissons de mer, volailles
phénylalanine	Farine de soja, fromages, graines de céréales, lait, levure de bière, volailles
Thréonine	Fromages, lait, légumes secs, levure de bière, saumon, viandes rouges
Tryptophane	Blanc d'œuf, fois de veau, lait, levure de bière, viandes, volailles.
Valine	Fromages, lait, légumes secs, levures de bière, viandes, volailles

I-1-5-Catabolisme des acides aminés :

L'absence d'un stockage d'excès en AA et le renouvellement (turn over) constant des protéines, conduit à une dégradation permanente des AA **(HAMES *et al.*, 2006).** En effet, il existe trois voies générales de dégradation de ces derniers : la désamination oxydative, la décarboxylation et la transamination. **(MAYER ROGGE, 2012).**

I-1-5-1-Catabolisme du groupement NH_2 :

I-1-5-1-1-Désamination oxydative :

La désamination oxydative est la voie la plus fréquente qui permet d'enlever le groupement NH_2 d'un AA. La réaction globale fait intervenir des AA-déshydrogénases utilisant le NAD comme coenzyme (ou NADP, FAD, FMN) **(BENSEGUENI *et al.*, 2006).** Elle se déroule en deux étapes : la première consiste à une déshydrogénation de l'AA ce qui forme un iminoacide, la seconde correspond à l'hydrolyse de l'iminoacide en ammoniaque (NH_3) et en α- cétoacide **(BEAUMONT, 2010)** comme le montre la figure suivante :

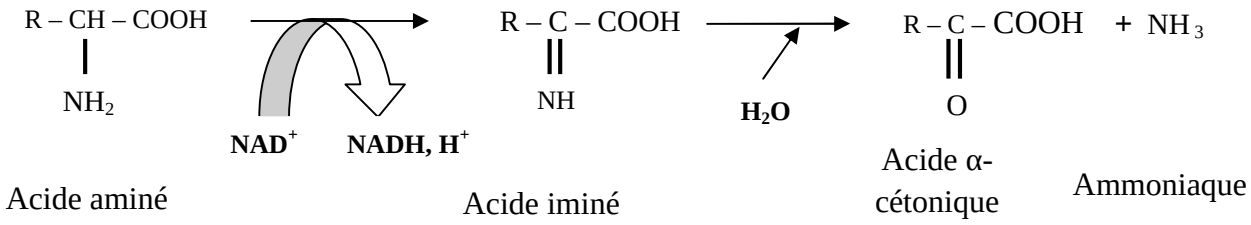


Figure 2 : Réaction de désamination oxydative **(BENSEGUENI *et al.*, 2006).**

I-1-5-1-2-Transamination :

La transamination est la réaction la plus importante du catabolisme des AA. Elle consiste en un transfert de la fonction amine (du carbone α) d'un AA à la place de la fonction cétone d'un acide α-cétonique. Ainsi, l'acide α-cétonique devient un AA et l'AA initial s'est transformé en un nouvel acide α-cétonique. Cette réaction réversible est catalysée par des transaminases utilisant comme coenzyme un dérivé de la vitamine B_6 : le pyridoxal phosphate (PAL) **(MASSON, 2002).**

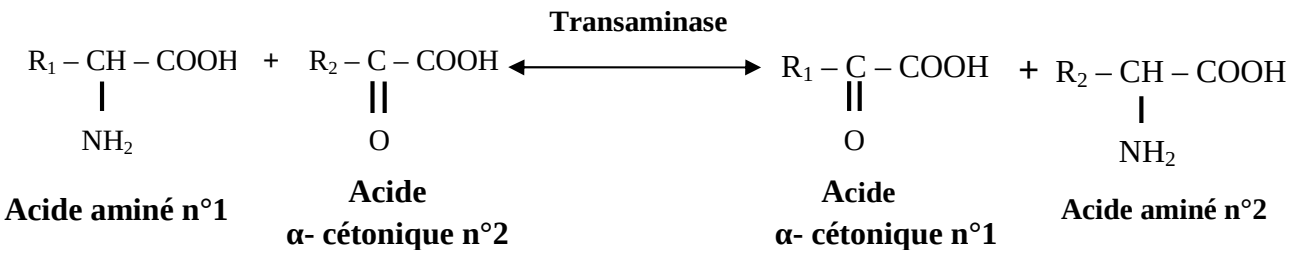


Figure 3 : Réaction de transamination d'un acide aminé **(BERG *et al.*, 2008).**

I-1-5-2-Catabolisme du groupement COOH :

I-1-5-2-1-Décarboxylation :

Une faible partie des AA subit dans son métabolisme une décarboxylation, catalysée par des décarboxylases, utilisant souvent le phosphate de pyridoxal comme coenzyme. Le mécanisme de cette réaction conduit à la formation d'amine primaire correspondante et du CO_2 **(HORN *et al.*, 2005).** Certaines de ces amines ont un rôle physiologique ou pharmacologique important, d'où le nom d'amines biogènes qu'on leur donne parfois. Citons à titre d'exemple la dopamine, la sérotonine et l'histamine qui jouent le rôle de véritables hormones **(HENRY WEIL, 2009)**.

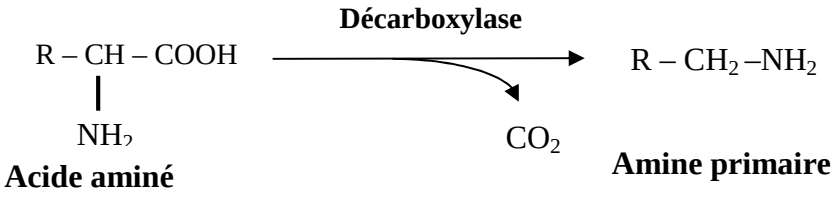


Figure 4 : Réaction de décarboxylation d'un acide aminé **(GUILLAND *et al.*, 2009).**

I-1-6-Devenir des produits du catabolisme des acides aminés :

I-1-6-1-Les acides α- cétoniques :

Les acides α-cétoniques résultant de la perte du groupement -NH_2 peuvent emprunter plusieurs voies : être reconvertis en AA par réamination ou par transamination, accroitre l'ensemble des corps cétoniques de l'organisme si leur production est trop abondante, et s'intégrer au métabolisme général selon leur structure spécifique pour y être transformés en glucose ou tout simplement oxydés en CO_2 et H_2O **(TREMBLAY, 1986).**

I-1-6-2- L'ammoniaque (NH_3) :

Le NH_3 libéré au cours du catabolisme des acides aminés peut subir deux voies principales d'élimination : L'ammoniogenèse et l'uréogenèse.

- **Ammoniogenése :**

L'ammoniaque issu de la désamination oxydative est très toxique, dés sa formation dans les tissus, il réagit avec l'acide glutamique pour donner une molécule non toxique : la glutamine qui est une forme de transport d'ammoniaque entre les cellules **(BENSEGUENI *et***

***al* ., 2006).** Une fois formée, cette dernière passe dans la circulation sanguine pour être captée par le foie et le rein où la réaction inverse, se produit pour libérer de nouveau le glutamate et l'ammoniaque **(HORN *et al* ., 2005).**

- **Uréogenèse :**

L'uréogenèse (ou cycle de l'urée) est une voie métabolique, exclusivement hépatique **(SABLONNIERE *et al*., 2010)**, qui permet de transformer l'ammoniaque toxique pour le système nerveux central en urée, produit non toxique qui passera dans le sang qui l'acheminera vers le rein pout être éliminer dans les urines **(VALDIGUIE, 2000).**

I-2-Alimentation infantile :

Une bonne nutrition pendant l'enfance est déterminante pour la santé et le bien-être tout au long de l'existence **(OMS, 2011).** Les enjeux d'une alimentation équilibrée chez l'enfant sont multiples : permettre une croissance harmonieuse et un développement optimal par un apport nutritionnel adapté à l'âge, la croissance et l'activité physique, prévenir certaines pathologies à moyen et long termes de carences ou déséquilibres alimentaires **(GOYENS, 2009).**

I-2-1- Besoins nutritionnels :

Les besoins nutritionnels correspondent aux quantités de nutriments devant être ingérés pour couvrir les besoins nets, compte tenu du taux d'absorption **(BOURILLON, 2005).** Ces derniers sont très variables et sont en fonction de l'âge, la vitesse de croissance, l'activité physique, les caractères génétiques et les facteurs environnementaux. C'est pourquoi il est indispensable de bien connaitre ces besoins nutritionnels **(PORTIER DE COURCY *et al*., 2003).**

I-2-1-1- Besoins azotés :

- **Quantitatif :**

Les protéines sont une source d'azote et d'acides aminés nécessaire à une croissance normale. Leurs apports ne doit pas dépasser les capacités d'élimination du foie et des reins. Ces derniers doivent également être qualitatifs, mettant en particulier l'accent sur les acides aminés essentiels **(BEYLOT, 2009).** Les besoins protéiques **(Tableau IV)** représentent la somme du besoin lié à l'entretien et du besoin lié à la croissance **(BEAUFRERE *et al*., 1997).** Ces besoins évoluent en sens inverse, le besoin lié à l'entretien augmente avec le temps, tandis que la croissance se ralentissant progressivement, le besoin diminu **(AFFSSA, 2007).**

Tableau IV : Besoins en protéines selon l'âge de l'enfant **(DAELMAN *et al.*, 2011).**

Age	Besoins en protéines en g/ Kg / Jour
0 à 2 mois	**2 - 2.2**
3 à 6 mois	**1.8 – 2**
1 à 3 ans	**1.2**
4 à 6 ans	**1.1**
7 à 9 ans	**1**

- **Qualitatifs :**

Le besoin nutritionnel en un AA spécifique peut être défini comme étant la quantité minimale de cet AA qui doit être régulièrement consommée pour assurer la nutrition adéquate d'un individu bien portant ou encore pour assurer l'entretien, le fonctionnement métabolique et physiologique **(BOUTRY *et al*., 2008).** Parmi les 20 A.A composant la matière protéique, le tryptophane est un acide aminé essentiel non synthétisable par l'enfant, il doit ainsi être présent en quantité suffisante dans son alimentation **(MAROUF *et al*., 2009).** Les besoins en tryptophane sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V: Besoins en tryptophane selon l'âge de l'enfant **(APFELBAUM *et al*., 2004 WHO, 2007)**

Age	Besoins en Trp en mg/ kg / Jour
1 mois	**29**
2 mois	**21**
3 mois	**19**
4 mois	**17**
6 mois	**16**
10 à 12 ans	**11.3**

I-2-1-2-Besoins en vitamines :

Les vitamines sont des composés organiques sans valeur énergétique, dont l'apport exogène est nécessaire à la croissance et au maintien de l'état de santé. L'homme ne sait pas en effectuer la synthèse ou au mieux ne peut l'assurer qu'en quantité insuffisante **(TOUITOU, 2007 ; GUILLAND *et al*., 2009)**. Il existe deux groupes : les vitamines liposolubles (A, D, E, K) et les vitamines hydrosolubles (vitamine C et 8 groupes de vitamines B), dont la vitamine B_3 (niacine) (**TOUITOU, 2007).** Cette dernière peut être synthétisée à partir du tryptophane, elle joue un rôle important dans le métabolisme cellulaire en tant que précurseur de NAD et NADP qui interviennent dans presque toutes les réactions d'oxydoréductions **(APFELBAUM *et al*., 2009 ; ANDRES, 2011).** Les besoins en niacine sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Besoins en vitamine B_3 selon l'âge **(DAELMAN *et al.*, 2011).**

Age	Besoins en mg / Kg /Jour
De 6 à 12 mois	6
1 an - 3 ans	9
4 ans - 9 ans	12
10 à 12 ans	14

I-2-2- Allaitement maternel :

Depuis toujours, le lait maternel constitue l'aliment de choix et de référence des premiers mois de vie **(GOULET *et al.*, 2002).** Il apporte, en quantité comme en qualité tous les nutriments nécessaires au développement optimal de l'enfant, sans risque de carence ni de surcharge et sous la forme la plus digeste, la plus facilement assimilable **(DAELMAN *et al.*, 2011).** L'OMS recommande un allaitement maternel exclusif pendant 6 mois et sa poursuite après diversification jusqu'à l'âge de 2 ans **(OMS, 2011).**

I-2-2-1- Composition chimique du lait maternel :

- **En protéines :**

Les protéines du lait maternel sont très assimilables (100 %) par le système digestif du nourrisson **(DAELMAN *et al.*, 2011).** Leurs teneur est remarquablement faible entre 8 et 10 g/ L, ce qui témoigne d'une excellente absorption et d'une parfaite adéquation du profile des acides aminés consécutifs avec les besoins du nourrisson **(TURCK *et al.*, 2013).** Les acides aminés indispensables sont présents en quantité notables dans le lait maternel. Il existe deux types de protéines en fonction de leurs précipitations à pH acide : les caséines (40%) et les protéines solubles (60%). Parmi ces protéines solubles, certaines ont des rôles essentiels comme : les immunoglobulines (Ig A), lactoferrine, enzymes, facteurs de croissance… **(PICAUD, 2008)**.

Qualitativement, le lait maternel est caractérisé par sa richesse en α-lactalbumine la principale protéine du LM. Cette dernière présente une teneur très élevé en tryptophane (6%) qui est un acide aminé précurseur de la sérotonine impliqué dans la régulation du sommeil **(CROGUENNEC *et al.*, 2008).**

- **En glucides :**

Globalement, le lait de femme comporte 75 g /L de glucides dont 63 g de lactose et 12g d'oligosaccharides. Le lactose représente à lui seule 40% de l'énergie totale du lait, qui participe au développement des structures cérébrales, et les oligosaccharides qui sont des sucres non digestibles participant à la défense de l'organisme **(PICAUD, 2008).**

- **En lipides :**

Le taux de lipides contenu dans le lait maternel est d'environ 35 g /L. Ce sont pour la plupart des triglycérides (plus de 90%), mais également des acides gras libres, du cholestérol (200à 300 mg/ l) et des phospholipides **(ARSAN *et al*., 2003).** La richesse du LF en AGPI (acide linoléique, acide α-linolénique) est d'une importance majeure en raison de leurs rôles **(PUEL, 1995)**

I-2-2-2-Avantages du lait maternel :

L'allaitement maternel possède de multiples avantages : Il procure une ration équilibré, qui sert de modèle nutritionnel, il assure une protection contre les infections : infections gastro-intestinales, infections urinaires, rhinites, otites, bronchites…. **(RIGOURD *et al*., 2013).** Cette protection est due, d'une part, aux propriétés du lait qui contient des anticorps, des oligosaccharides, des lymphocytes, des polynucléaires, des macrophages…et, d'autre part, à une moindre exposition aux germes pathogènes de l'environnement **(BEAUFRERE *et al*., 2000).** Il permet également la prévention de nombreuses maladies, de l'obésité infantile et la réduction du risque de développement de phénomènes allergiques **(TURCK *et al*., 2013).**

1-2-2-3- Contres indications du lait maternel :

Selon **TURCK (2005),** les contre-indications de l'allaitement sont exceptionnelles. Il s'agit de certaines pathologies infectieuses évolutives de la mère (infection à VIH, tuberculose), des affections viscérales graves (cardiaques, respiratoires..), des affections hématologiques, oncologiques et des maladies chroniques pouvant s'aggraver ou dont le traitement est incompatible à l'allaitement. D'autres sont liées à l'enfant comme : la phénylcétonurie, la galactosémie congénitale, la tyrosinémie héréditaire… **(TOUNIAN *et al*., 2011).**

I-2-3- Allaitement artificiel :

Lorsque le recours à l'allaitement naturel n'est pas possible, les préparations lactées, dont la composition est la plus proche possible du lait maternel, sont préférables au lait de vache. De nombreuses formules existent : les unes sont adaptées à l'âge de l'enfant (préparations pour nourrissons, préparations de suite, laits de croissance), les autres à certains troubles ou carence **(BEYLOT, 2009).**

I-2-3-1-Les préparations pour nourrissons : (Lait premier âge)

Durant les premiers mois de vie, l'alimentation du nourrisson doit être exclusivement lactée, car ses capacités rénales ne peuvent supporter de trop grandes quantités de protéines. Elles sont conçues pour répondre à elles seules, comme le lait maternel, aux besoins nutritionnels de la naissance à l'âge de 4 à 6 mois **(GHISOLFI, 2010).**

Des progrès technologiques remarquables ont été réalisés pour mettre au point des formules lactées, dont la composition se rapproche le plus possible du lait maternel. **(BEYLOT, 2009)** Parmi leurs caractéristiques essentielles la diminution de la teneur en protéines qui permet d'obtenir un profil en AA comparable à celui du lait maternel. A titre d'exemple le lait Modilac enrichi en alpha-lactalbumine et en AGPI. Ce dernier bénéficie d'un rapport protéines solubles/ caséines de 60/40, identique à celui du lait maternel **(CHAURAQUI *et al*., 1994).** Son enrichissement en α-lactalbumine lui procure un aminogramme proche de celui du lait maternel **(LIEN *et al*., 2004),** et leurs apportent des AA indispensables au développement et à la maturation cérébrale de l'enfant, en particulier du tryptophane et de la cystéine **(HEINE *et al*., 1996).**

I-2-3-2- Les préparations de suite : (Lait deuxième âge)

De 6 mois à 1 an, l'alimentation du nourrisson connait une période de transition, avec la diversification alimentaire. Ces préparations ont une composition assez peu différente des préparations pour nourrissons, adaptée à leurs besoins nutritionnels **(BEYLOT, 2009)**. Les variations reposent essentiellement sur la teneur en glucides et en protéines qui est plus élevé avec un contenu lipidique abaissé. Elles assurent un apport protéique suffisant mais non excédentaire, avec un rapport caséine /protéines solubles plus élevé (supérieur ou égal à 1). Leurs objectifs est de palier les éventuelles carences liées à la diversification alimentaire **(GOULET *et al*., 2002).**

I-2-3-3- Lait de croissance : (laits 3éme âge)

Après un an, l'enfant est toujours en phase de croissance relativement rapide, même si la vitesse de croissance s'est un peu ralentie par apport aux premiers mois. Son développement et sa maturation se poursuivent rendant ses besoins en protéines encore très importants Ainsi, l'utilisation d'un lait de croissance apporte de nombreux avantages nutritionnels, Il contient environ 2.2 à 3g /100ml de protéines, c'est-à-dire une valeur intermédiaire entre celle des laits de suite et celle du lait de vache **(CAMPEOTTO, 2003)**.

Tableau VII : Composition des différents laits infantiles (taux maximaux et minimaux établis par la directive européenne **2006/ 141/CE**).

Pour 100ml de Lait	**Protéines (g)**	**Caséines (%)**	**Protéines Solubles (%)**
Lait maternel	1.1 (0.9-1.3)	40	60
Lait pour nourrisson	1.4 (1.2- 1.6)	40 (30-60)	60 (40-100)
Lait de suite	1.6 (1.3-1.6)	63 (40-83)	37(17-100)
Lait de croissance	2.6 (2.2-3.2)	80	20

I-2-4- La diversification alimentaire :

I-2-4-1-Définition :

La diversification alimentaire est le passage d'une alimentation exclusivement lactée à une alimentation type omnivore se rapprochant progressivement de celle de l'adulte **(DJOFFON, 2005)**. Il s'agit d'une période de transition, capitale et nécessaire pour des raisons à la fois nutritionnelle et liées au développement normal du nourrisson **(DUBERN, 2008).** Pendant cette période l'enfant est exposé à un risque de déséquilibre nutritionnel tant par carences que par excès, pour cela le lait doit rester la base de son alimentation **(BELON, 2009).**

I-2-4-2-Age de la diversification alimentaire :

Un certain degré de maturation de fonctions rénales et digestives est nécessaire pour métaboliser une alimentation autre que le lait. Par ailleurs, un certain développement physiologique est nécessaire pour la progression de la diversification alimentaire et cela vers l'âge de 4 à 6 mois et jamais avant 4 mois **(LEMALE *et al*., 2014).**

I-2-4-3-Conduite pratique de la diversification alimentaire :

L'introduction de divers aliments se fait selon un ordre bien précis qui s'adapte à un certain niveau de développement à la fois pour des raisons nutritionnelles, psychomotrices et sensorielles.

- **De 4-6 mois à 1 an :**

La période située entre 6 mois et 1 an est celle des premiers déséquilibres alimentaires. Les laits de suite (lait 2^{ém} âge) constitue un complément de la diversification alimentaire et peuvent être considérer comme un facteur de régulation des apports nutritionnels pour les enfants de 6 à 12 moi **(GOULET, 2002 ; BELON, 2009 ; BEYLOT, 2009)**.

- Vers 4 mois, une bouillie préparée avec une farine sans gluten instantanée ou cuite peut déjà être donné au nourrisson. A cette même période l'introduction de légumes sauf les féculents et les choux peut être faite avec les petits pots (**BELON, 2009 ; GOYENS, 2009)**.

- A partir de 5 mois, les produits laitiers comme les yaourts, les fromages frais peuvent être utilisés (1 yaourt= 2 petits suisse=150 ml de lait) **(BELON, 2009 ; LEMALE, 2015)**.

- Vers 5-6 mois, les fruits (pommes, bananes…..) peuvent être donné, tandis que les pattes et les biscuits seront utilisés vers le 7- 8 mois et le riz vers 1 an **(DUBERN, 2008 ; LEMALE, 2015)**.

- L'introduction d'aliments riches en protéines tels que les viandes, les œufs, poissons….doivent être donnés progressivement à partir de 6 mois **(DUBERN, 2008 ; LEMALE**, **2015 ; DUPONT, 2005).** Ces derniers assurent un apport important en AA, notamment en AA indispensables dont le tryptophane, précurseurs de molécules importantes : la vitamine B_3, la sérotonine et la mélatonine **(GARRIDO *et al*., 2012)**. Les teneurs en Trp de quelques aliments sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : composition en tryptophane de divers aliments animaux et végétaux **(BOUTRY *et al*., 2008).**

Aliments	Tryptophane (mg/g de protéines)
Viande	11
Œuf	17
Lait de vache	14
Céréales	10-15
Blé	12
Riz	11
Maïs	7
Légumes	10-15
Pois	9
Graine de soja	14
Tournesol	13
Colza	12

- **De 1 à 3 ans et au-delà :**

Après 9 à 12 mois, une croissance encore relativement rapide, un développement et une maturation rendant les besoins en protéines, fer, calcium et acides gras essentiels toujours importants. A cette période de la vie, le type varié de l'alimentation est quasiment celui de type adulte **(BELON, 2009).**

1-3-Importance du tryptophane présent dans l'alimentation infantile :

I-3-1-Structure du tryptophane :

Le tryptophane est un AA aromatique de formule brute $C_{11}H_{12}N_2O_2$. Son radical comprend un seul carbone suivi d'un carbure aromatique composé de deux noyaux accolés : benzène et pyrrole. Ce noyau est un noyau indole **(MOUSSARD, 2006).** Il représente environ 1% des AA des protéines végétales et 1.5% des protéines animales **(SIDANSKY, 2001).**

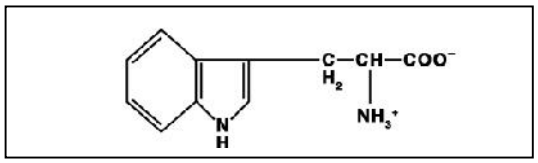


Figure 5: Structure du tryptophane**.**

I-3-2- Métabolisme du tryptophane :

L'utilisation du tryptophane est quantitativement dominante, puisque 90% des apports sont consacrés à la synthése des protéines endogénes **(APFELBAUM *et al.*, 2004)**. Le Trp non utilisé dans la synthése protéique est métabolisé selon deux voies principales : seulement 2% est transformé en sérotonine, tandis que 8% restant sont métabolisés en acide nicotinique via la voie de kynurénine **(FRENOT *et al.*, 2001).**

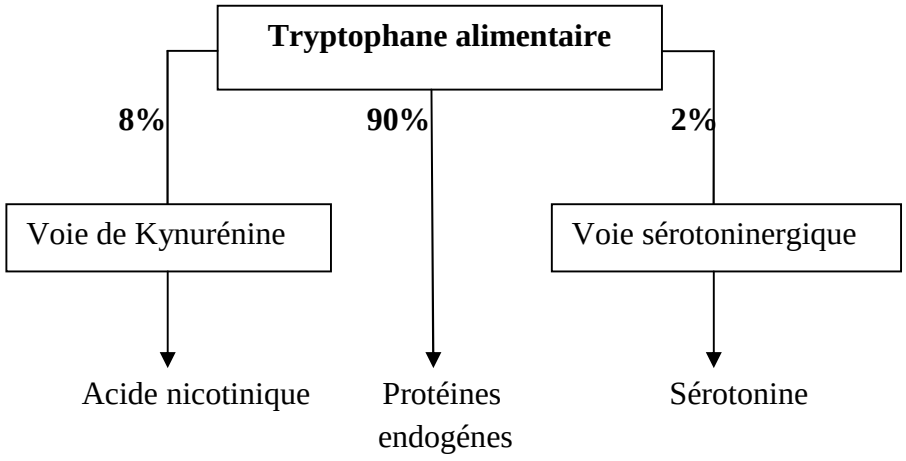


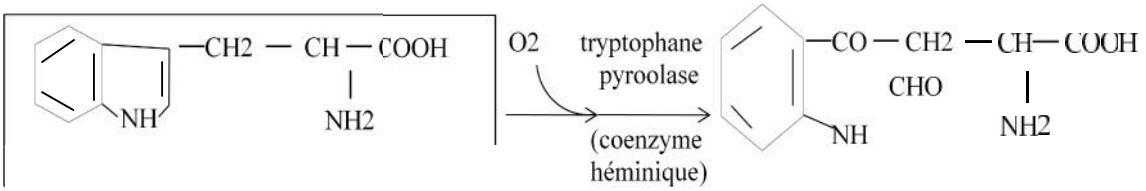
Figure 6 : Schéma récapitulatif des voies métaboliques principales du tryptophane **(APFELBAUM *et al.*, 2004).**

I-3-2-1- Voie de kynurénine : (Trp précurseur de NAD^+)

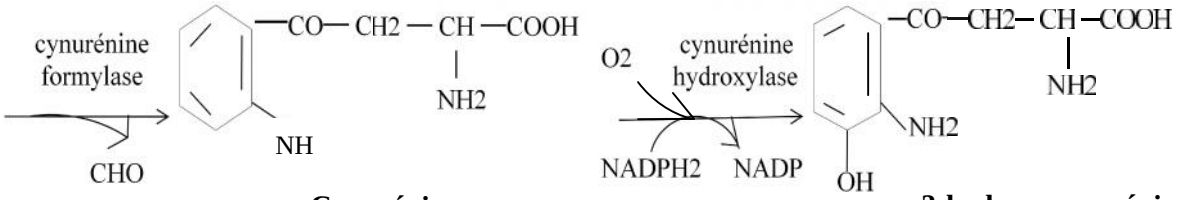
La VK est la voie majoritaire de métabolisation non protéique du Trp, qui conduit à la formation de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) **(ALLAIN, 2008)**. Elle permet de couvrir une partie des besoins en acide nicotinique **(MARSHALL *et* BANGERT, 2005).**

Elle commence par le clivage du cycle pyrrole du tryptophane en présence d'O2, et il se forme de la formylcynurénine sous l'action de tryptophane 2,3-dioxygénase **(WEIMAN, 2004).** La formylcynurénine libère son formyl en présence de cynurénine formylase en donnant la cynurénine. Cette dernière est hydroxylée sur le noyau en formant le 3-hydroxycynurénine en présence de cynurénine hydroxylase **(MURRAY *et al*., 1996).** L'hydroxycynurénine libère de l'alanine de sa chaine latérale en formant l'acide 3-hydroxyanthranilique en présence de cynuréninase dont le coenzyme est le phosphate de pyridoxal. Chez les individus carencés en vitamine B6, il ya une forte excrétion urinaire de cynurénine **(GUILLAND *et al*., 2009).**

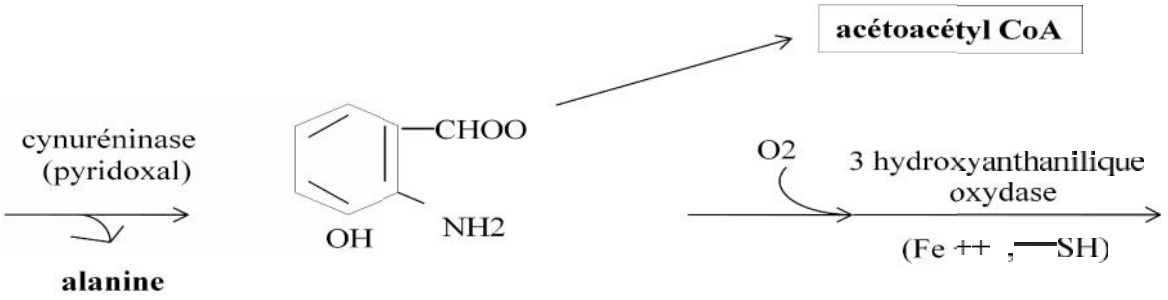
L'acide 3-hydroxyanthranilique subit une réaction complexe en présence de 3-hydroxyanthranilique oxydase, enzyme à SH, comprenant du Fe2+, il ya ouverture du noyau phénol et formation d'un noyau pyridinique. On obtient l'acide nicotinique qui sera incorporé dans un nucléotide pour donner l'acide nicotinique mononucléotide, le nucléotide réagit avec une molécule d'ATP pour former l'acide nicotinique adénine dinucléotide. Ce dernier est amidé par la Gln en nicotinamide adénine dinucléotide (NAD)**.** Sachant qu'une deuxième molécule d'ATP est nécessaire pour former NADP à partir de NAD qui sont des coenzymes actifs **(figure 7) (KRUH, 1989).**



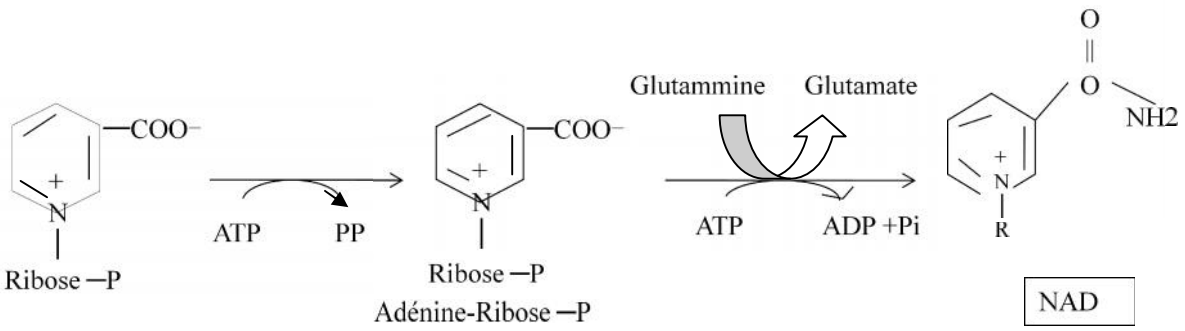
Tryptophane **Formylcynurénine**



Cynurénine **3-hydroxycynurénine**



Acide 3-hydroxyanthranilique



Acide nicotinique mononucléotide **Acide nicotinique adénine dinucléotide**

Figure 7: La voie de kynurénine **(kRUH, 1989).**

I-3-2-2- Voie sérotoninergique : (Trp précurseur de sérotonine)

La sérotonine ou 5-hydroxytryptamine (5-HT) est une amine biogène appartenant à la famille des indolamines, synthétisée de façon endogène à partir du tryptophane **(MEUNIER *et* SHVALOFF, 1995 ; BELZUNG, 2010)**. C'est une petite molécule dont le poids moléculaire est de **176 daltons**, principalement connue pour son rôle de neurotransmetteur **(GARNIER *et al*., 2003)**. Elle a été isolé et caractérisé dans le sérum il ya plus d'un siècle (en 1868), mais ce n'est que dans les années 1930 qu'on lui donne le nom de sérotonine (Séro, pour indiquer sa présence dans le sérum et tonine, pour indiquer sa fonction tonique). Plus tard, on découvrait que cette substance se trouve également dans le cerveau **(BELZUNG, 2010).**

Elle est produite au niveau des neurones sérotoninergiques qui innervent pratiquement toutes les parties du SNC, dont les corps cellulaires concentrés dans les noyaux du raphé du tronc cérébral. Tandis qu'au niveau périphérique sa production se fait principalement dans les cellules entérochromaffines du tube digestif **(HORN *et al*., 2005).**

Elle est synthétisée en deux étapes **(figure 8) :** La première étape est l'hydroxylation du tryptophane en 5- hydroxytryptophane (5-HTP), sous l'action de tryptophane hydroxylase qui est une enzyme à bioptérine activée par phosphorylation**.** La réaction fait intervenir la NADPH2 et l'O2 **(MOUSSARD, 2006 ; SABLONNIERE, 2010)**. La 5-HTP subit en suite une décarboxylation sous l'action de l'hydroxytryptophane décarboxylase, qui est une enzyme ubiquitaire pour former la 5- hydroxytryptamine ou sérotonine **(BEAUMONT, 2010 ; NIEOULLON, 2010)**. Etant donné que cette dernière ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique, le taux de sérotonine cérébral dépend de la disponibilité en tryptophane dans le cerveau **(RICHARD *et* ORSAL, 2007).**

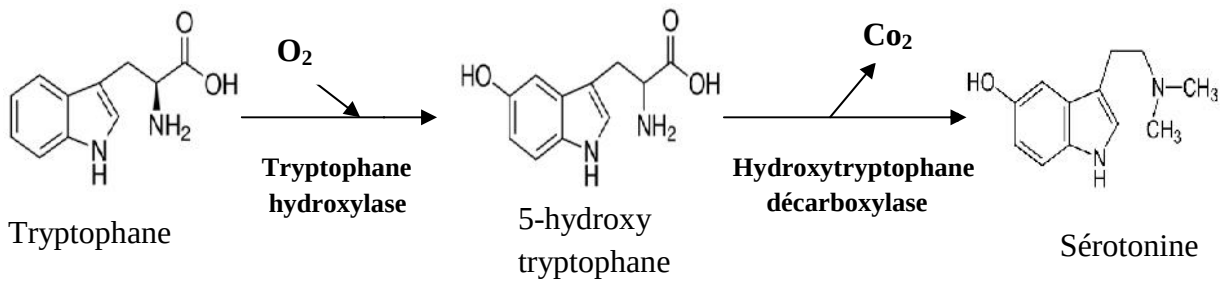


Figure 8 : voie de synthése de sérotonine **(NADEAU *et al*., 2006).**

I-3-3-Devenir et effets des métabolites issus de la dégradation du tryptophane :

I-3-3-1- Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) :

Le nicotinamide joue un rôle extrêmement important en tant que constituant de deux coenzymes très répandues : le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et sa forme phosphorylée (NADP) **(BOURGEOIS, 2003)**

Ce sont des accepteurs ou des donneurs d'ions hydrures (H-) et d'électrons dans les réactions d'oxydoréduction **(MOUSSARD, 2006)**, ils ont la propriété de pouvoir être alternativement oxydés et réduits et participent de ce fait à un grand nombre de réactions **(FRENOT *et* VIERLING, 2001)**. Les électrons ou les atomes d'hydrogène libérés dans les réactions d'oxydoréductions biologiques sont souvent transférés à l'un des deux agents oxydants : soit le NAD, soit NADP **(GUILLAND *et al*., 2009).**

Les produits de réduction du NAD+ et du NADP+, le NADH et le NADPH ont des fonctions très différentes :

- Le NAD est surtout mitochondrial : c'est l'accepteur d'atomes d'hydrogène dans les grandes réactions d'oxydations de l'organisme (glycolyse, lipolyse, et cycle de Krebs). Le NADH ainsi produit est reconverti en NAD+ avec production concomitante d'ATP : c'est la voie de la phosphorylation oxydative **(Le MOEL *et al*., 1998)**;
- Le NADP est surtout cytosolique : c'est un donneur d'atomes d'hydrogène sous forme de NADPH. Le NADPH produit dans la voie des pentoses phosphate, fournit des anions hydrure aux réactions de réduction de la plupart des processus de biosynthèse **(GUILLAND *et al*., 2012).**

I-3-3-2- Sérotonine :

Le devenir de la sérotonine synthétisée à partir du tryptophane dépend de sa localisation **:**

- **Dans les neurones sérotoninergiques :**

La sérotonine synthétisée dans les neurones sérotoninergiques, est stockée dans des vésicules synaptiques via un système de transport antiport proton /sérotonine commun aux monoamines par l'intermédiaire de transporteur vésiculaire des monoamines nommés VMAT. L'arrivé d'un potentiel d'action à la terminaison synaptique, entraîne l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. L'entrée d'ions Ca^{2+} va entraîner la fusion des vésicules à la membrane neuronale et, ainsi, la libération de sérotonine par exocytose dans la fente

synaptique pour activer les récepteurs sérotoninergiques post- synaptiques **(NICHOLS *et al.*, 2008) (figure 9).**

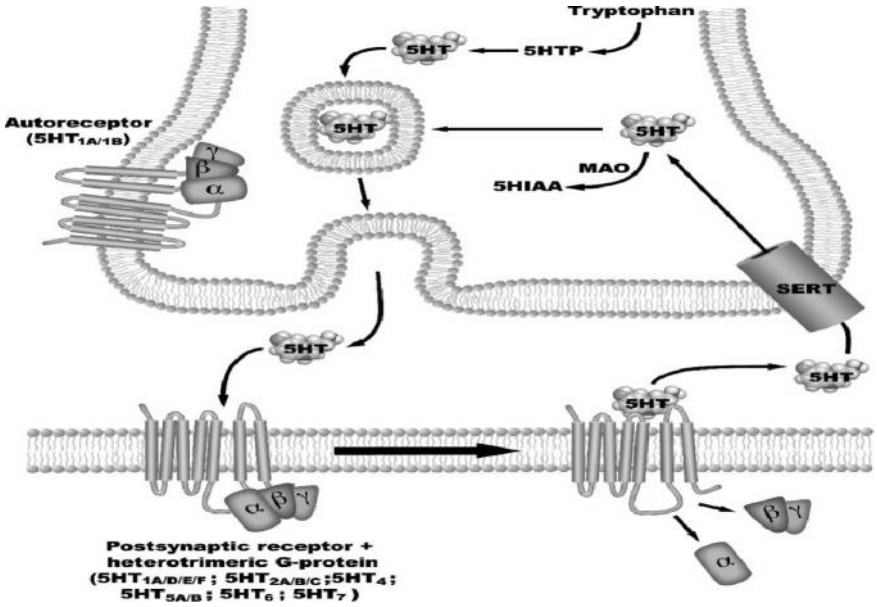


Figure 9 : Devenir de la sérotonine synthétisée dans les neurones sérotoninergiques **(NICHOLS *et al.*, 2008).**

- **Dans la glande pinéale :**

La sérotonine epiphysaire synthétisée à partir du tryptophane est transformée dans la glande pinéale en mélatonine, neurohormone chronobiotique qui sera responsable du cycle veille-sommeil **(BACIU, 2011)**. Et ceci par la N-acétylation de la chaine latérale de la sérotonine par une N-acétyle transférase (NAT) puis sa méthylation par l'hydrox-indole-O-méthyle transférase (HIOMT) **(figure 10) (TOUITOU, 2008 ; BOUTTEN, 2005 ; ClAUSTRAT, 2009)**

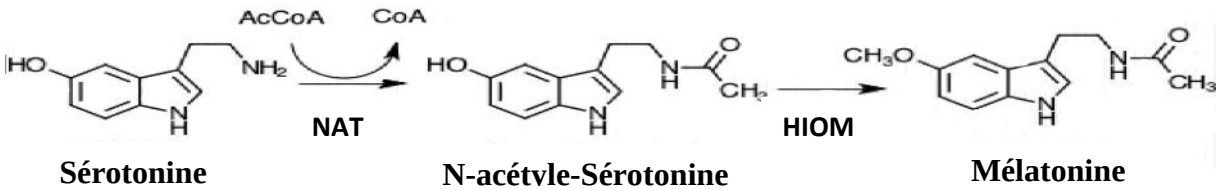


Figure10 : Synthèse de la mélatonine à partir de la sérotonine **(MEUNIER *et al.*, 1995). ; ALLAIN, 2008).**

➢ **Dans les plaquettes :**

La sérotonine synthétisée par les cellules chromaffines de la muqueuse gastro-intestinale est sécrétée dans le sang, ou elle est capturée rapidement par les plaquettes sanguines qui la stockent dans ses granules denses de sécrétions **(figure 11) (ALLAIN, 2008 ; VAROQUAUX, 2012).**

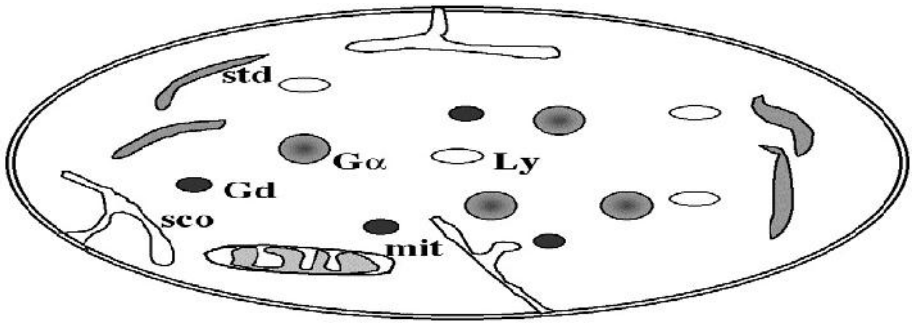


Figure 11 : Représentation schématique d'une plaquette. **Ga :** granules α ; **Gd :** granules denses ; **Ly** : lysosomes ; **sco :** système canaliculaire ouvert ; **mit :** mitochondrie ; **std :** système tubulaire dense **(REVEL *et* DOGHMI, 2004)**.

I-3-3-3-Effets des métabolites de la sérotonine :

En plus de son rôle comme neurotransmetteur majeur du SNC, la sérotonine est impliquée dans plusieurs fonctions telle que : le contrôle de la satiété, la perception de la douleur, le sommeil, l'humeur, la thermorégulation, régulation de la motricité intestinale**,** l'activation du transit**… (BEUMONT, 2010).**

I-3-3-3-1-Dans l'hémostase primaire :

I-3-3-3-1-1-Définition :

L'hémostase primaire est la première étape d'urgence du contrôle hémorragique, lors de la formation d'une brèche vasculaire. Elle met en jeu l'adhésion des plaquettes sanguines circulantes à l'endothélium, leur activation et agrégation pour former le thrombus plaquettaire en une durée de 3 à 5 minutes **(REVEL *et* DOGHMI, 2004).**

I-3-3-3-1-2-Physiologie de l'hémostase primaire :

L'adhésion des plaquettes aux protéines sous endothéliales des vaisseaux sanguins (collagène, facteur de van wailebrand …) via leurs récepteurs membranaires glycoprotéiques

Ia /IIa, induit le changement de forme de ces dernières qui deviennent sphériques et forment des pseudopodes (**HUISSE *et al*., 2015).**

Les granules plaquettaires : les granules α qui contient des protéines pro-coagulantes (fibrinogène, facteur de Von wailebrand …….) et les granules denses qui contiennent des protéines pro-agrégantes (ATP, ADP, ca^{2+}, et sérotonine) libèrent leurs contenus dans le sang **(BELLUCI, 2002).** Les produits sécrétés (ADP, sérotonine), ou formés (thromboxane A) lors de l'activation plaquettaire ont leurs propres récepteurs spécifiques à la surface des plaquettes : ils se fixent sur ces dernières qui passent à proximité et les recrutent, amplifiant ainsi le processus d'activation plaquettaire **(DUBOEUF *et* PILLON, 2010).**

Les glycoprotéines IIb /IIIa de surface, subissent une modification conformationelle qui leur permet de fixer le fibrinogène en présence de calcium et la constitution des ponts interplaquettaires (agrégation réversible). Grâce à la libération des enzymes et du contenu granulaire des plaquettes, le caillot se consolide (agrégation irréversible) **(ELALAMY *et al*., 2001).**

I-3-3-3-1-3-Mécanisme d'exocytose des granules α-plaquettaires :

L'analyse des fonctions plaquettaires des souris à conduit **WALTHER et COLL** à démontrer l'implication de la sérotonine dans l'hémostase primaire, via un mécanisme de signalisation intracellulaire responsable de l'exocytose des granules α plaquettaires.

La stimulation du récepteur $5\text{-}HT_{2A}$ couplés aux protéines G_{aq} par la sérotonine induit l'activation de la voie de phosphatidyl-inositol, ce qui entraine l'augmentation du taux de Ca^{2+} intra cellulaire. Cette augmentation active les transglutaminases (TGase), qui utilisent la sérotonine pour transamider les petites protéines G (Rho et Rab4) les rendant ainsi actives car incapable d'hydrolyser le GTP en GDP. Cette activation entraine des réarrangements cytosquelettiques et l'exocytose des granules α **(WALTHER *et* COLL, 2003).**

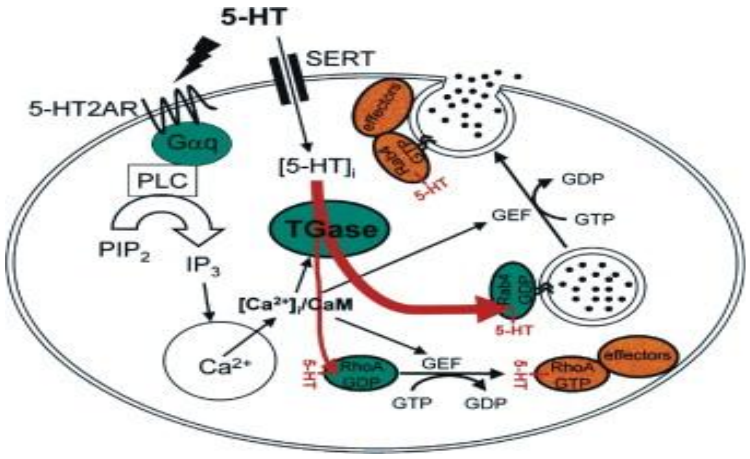


Figure 12 : Exocytose des granules α plaquettaires induite par la sérotonine durant le processus d'agrégation plaquettaire. **(WALTHER *et* COLL, 2003).**

I-3-3-3-2-Dans la régulation du cycle veille-sommeil :

La répartition du cycle veille-sommeil est principalement sous la dépendance de l'hypothalamus et plus précisément, des noyaux suprachiasmatiques **(AUGUSTINE *et al.*, 2005).** Il convient de noter aussi que ses derniers agissent sous l'influence des noyaux du raphé, par l'intermédiaire de la sérotonine **(BACIU, 2011)**. Sous l'effet de l'obscurité, la sérotonine épiphysaire accumulée dans les pinéalocytes est transformée en mélatonine, hormone qui règle l'horloge interne sur la position du sommeil **(VAROQUAUX, 2012).** Le niveau de cette dernière atteint son maximum au milieu de la nuit et diminue progressivement pendant la deuxième partie de la nuit **(HUNKELER *et al.*, 2013)**. Lorsque l'aube paraît, la lumière inhibe sa sécrétion et l'horloge se met en position d'éveil. **(BOUTRON, 2007).**

I-3-3-3-2-1-Transformation de l'information photopériodique en message hormonal :

Le tractus rétino-hypothalamique est la voie principale de transmission de l'information photopériodique de la rétine a la glande pinéale. Le neurotransmetteur principal impliqué dans cette étape est le glutamate **(KOLB *et al.*, 2008).** L'information est ensuite transmise des NSC (noyaux suprachiasmatiques) par des voies multisynaptiques complexes au GCS (ganglion cervical supérieur), qui envoie vers la glande pinéale des prolongements axonaux à terminaisons noradrénergiques **(figure 13).** Le neuromédiateur principal impliqué

au final dans le contrôle de l'activité de la glande pinéale est la noradrénaline **(De LEERSNYDER *et al*., 2001)**.

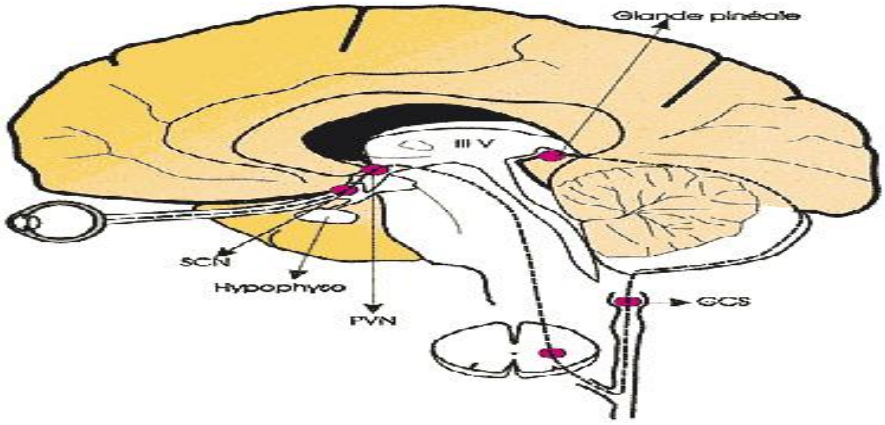


Figure13 : voie polyneuronale de la transmission de l'information photopériodique **(CHIQUET *et al*., 2001).**

I-3-3-3-2-2--Stimulation noradrénergique :

La lumière agit en bloquant la libération de la NA (noradrénaline) par les fibres sympathiques, alors que l'obscurité la stimule**.** La noradrénaline libérée dans la fente synaptique epiphysaire stimule les récepteurs noradrénergique α et β de la membrane plasmique des pinéalocytes **(VAROQUAUX, 2012).**

La stimulation du récepteur B_1 adrénergique couplé à une protéine $G_{s,}$ active l'adénylate cyclase membranaire (AC), qui entraine l'élévation de la concentration de l'AMP_C **(TZAVARA *et al*., 1996).** Cette augmentation stimule la synthèse de la NAT (N-acétyltransférase), enzyme qui catalyse la synthèse de mélatonine à partir de la sérotonine **(RICHARD *et* ORSAL, 2007).** La stimulation du récepteur α_1 intervient sur le système du phosphatidyl-inositol impliqué dans la pénétration des ions Ca^{2+}, ce qui potentialise les effets liés à l'activation des récepteurs β_1 **(GIROD, 1990).**

I-3-3-3-2-3-Sécrétion de mélatonine :

La sécrétion de mélatonine varie en fonction de l'âge. Chez le fœtus, la synchronisation de l'horloge endogène par la photopériode est en relation avec la sécrétion de mélatonine maternelle **(TOUITOU, 2008).** Pendant l'enfance, sa sécrétion apparaît vers

l'âge de trois mois et atteint son pic vers l'âge de 3-5 ans puis diminue progressivement pour atteindre un niveau minimal autour de la puberté. La sécrétion reste alors stable jusqu'à 40 ans, puis diminue progressivement avec le vieillissement **(figure 14) (De LEERSNYDER *et al*., 2001).**

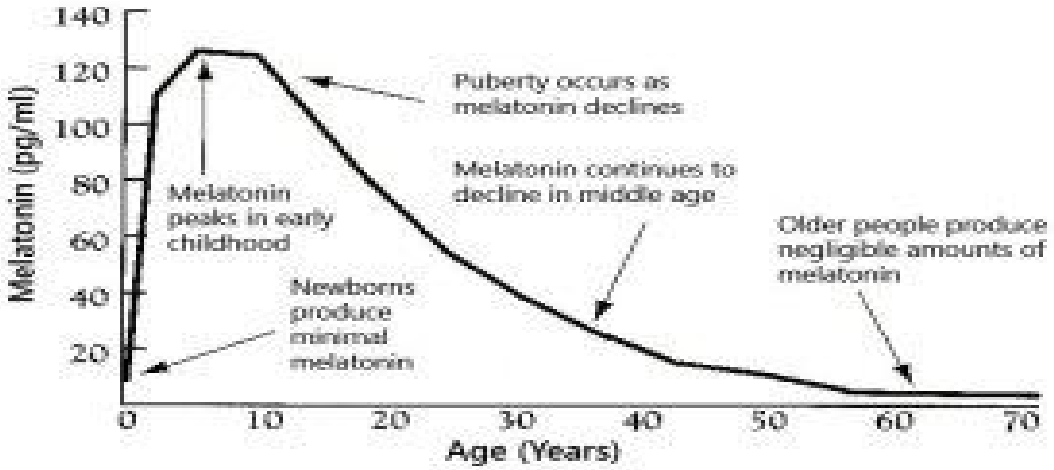


Figure 14 : Variation du taux plasmatique de mélatonine selon l'âge**.**

I-3-4- Pathologie liée à un défaut de transport du tryptophane :

I-3-4-1- Syndrôme d'Hartnup :

Le syndrome d'Hartnup est une maladie métabolique rare à caractère autosomique récessif **(BROER *et al*., 2005).** Elle est liée à des mutations du gène SLC6A19, codant pour un transporteur d'acides aminés neutres aromatiques sodiums dépendant, exprimé sur les membranes des cellules de la muqueuse intestinale du tubule rénal proximal **(KLETA *et al*., 2005).**

Les AA non absorbés dans l'intestin sont exposés à une dégradation par la flore bactérienne colique. La dégradation intestinale du tryptophane produit une grande quantité de composés indoles qui sont excrétés dans l'urine **(MURRAY *et al*.,1996)**,ainsi qu'une une diminution de tryptophane disponible pour la production de nicotinamide (composé de la vitamine B3) qui serait à l'origine de manifestations cliniques semblables à celles observées dans les cas de déficience nutritionnelle en niacine (symptômes pellagroïdes) **(FERNAND *et al*., 2006).**

I-3-4-1- 1-Symptômes :

Les symptômes apparaissent le plus souvent dans l'enfance (3-9 ans), mais des débuts très précoces (une dizaine de jours après la naissance) et plus tardifs chez le jeune adulte ont également été décrits. La plupart des individus sont asymptomatiques. Les patients symptomatiques présentent une photosensibilité cutanée (érythème pellagroïde : plaques rouges caractérisée par une sensation de brûlure), une atteinte neurologique (ataxie cérébelleuse, spasticité, instabilité émotionnelle, délires et hallucinations), et une hyper-aminoacidurie **(PALOKINAM, 2005 ; PATEL *et al*., 2008).**

I-3-4-1-2-Diagnostic et traitement :

Le diagnostic est définitivement établi par la détection d'une hyperaminoacidurie par chromatographie des urines **(CIECIEREGA *et al*., 2014).** L'administration orale d'acide nicotinique ou, mieux encore, de nicotinamide aux patients dont les symptômes suggèrent une déficience en vitamine B3 permet habituellement de faire disparaître rapidement les dermatites et les symptômes neurologiques **(SCRIVER *et al*., 2001).** Une diète élevée en protéines (ou suppléments en protéines) peut prévenir les symptômes de la maladie. On a recours à une forme de tryptophane modifié (ester éthylique du tryptophane) pour contourner les défauts de transport **(FERNAND *et al*., 2006).**

Conclusion :

Depuis toujours, le tryptophane est considéré comme un AA essentiel pour la croissance, le développement et la maturation cérébrale de l'enfant. Pour cela l'α-lactalbumine une des protéines majeures du lactosérum riche en cet AA (6 % des AA totaux soit environ 6g/ Kg de lactalbumine) est exploitée commercialement en alimentation infantile.

Cet AA une fois absorbé par le sang, suit différentes voies métaboliques dont la majeure partie (80%) est utilisée pour la synthèse des protéines endogènes de l'organisme. Alors que 8% sont utilisés par le foie pour la synthèse de la vitamine B3 via la voie de kynurénine. Cette vitamine contribue à la synthèse de deux coenzymes très importants qui sont le NAD et le NADP qui intervient dans presque toutes les réactions d'oxydoréduction. Donc le tryptophane peut remplacer la niacine puisque il permet de couvrir une partie importante des besoins en cette vitamine.

Tandis que les 2% restant sont utilisés par les cellules entérochromaffines du tube digestif et les neurones sérotoninergiques localisées dans le noyau du raphé du tronc cérébral pour la synthèse de la sérotonine. La sérotonine synthétisée au niveau du S.N.V joue différents rôles en intervenant comme neurotransmetteur et comme précurseur de mélatonine qui est une neurohormone responsable de la régulation des rythmes circadiens tel que la régulation du cycle veille-sommeil. Alors que celle synthétisée au niveau périphérique (cellules entérochromaffines du tube digestif) est sécrétée dans le sang puis stockée dans les granules denses de sécrétions des plaquettes sanguines pour être utilisée lors de l'hémostase primaire**.**

La malabsorption du tryptophane chez l'enfant suite, à une mutation du gène codant pour son transporteur induit la maladie d' Hartnup dont, les symptômes ressemblent celles observées dans le cas d'une carence en niacine. Pour cela l'acide nicotinique ou une forme modifiée de tryptophane (ester éthylique du tryptophane) est utilisé comme traitement pour contourner les défauts de transport**.**

Introduction :

Les industries agro-alimentaires ont élaboré des produits destinés à répondre tout particulièrement aux exigences qualitatives du consommateur. Cependant, ces exigences sont de plus en plus précises et segmentés, car l'aliment doit présenter une sécurité absolue, absence de défaut et de falsification, avoir un profile nutritionnel le plus proche possible de celui recommandé par les nutritionnistes, satisfaire les besoins sensoriels, intégré de la praticité (facilité de stockage et de mise en œuvre), en restant à un prix accessible.

L'évaluation des paramètres physicochimiques des produits alimentaires constitue une étape importante pour le contrôle de la qualité de ces derniers, c'est l'analyse de ces paramètres qui pourra confirmer ou infirmer la validité d'un produit donné. Depuis toujours l'un des objectifs de la biochimie alimentaire est la quantification et la séparation des différents constituants présents dans les aliments. Cette séparation permet leur identification ultérieure (nature des constituants) et leur quantification (détermination de la teneur relative des constituants). Suivant le but recherché, cette quantification peut se faire par différentes méthodes qui sont principalement titrimétriques (indice d'acide, indice d'iode, vitamine C); spectrophotométriques (dosages des protéines, glucides…..) ; electrophorétiques et chromatographiques. Ces méthodes sont utilisées dans les laboratoires de recherches, mais aussi dans les laboratoires de contrôles des industries alimentaires.

II-Stage pratique :

II-1-Matériel et méthodes :

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB) du département Biochimie-Microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERI de TIZI-OUZOU. Elle a été sous tendue par le matériel énuméré ci-dessous.

II-1-1-Matériel :

II-1-1-1-Matières premières :

Echantillons variés de jus	Matières grasses	Protéines
- Jus Ruiba ; -Jus Ramy ; -Jus lacté (Olé) ; -Jus Ifruit ; -Jus Light.	-Huile d'olive ; -Huile de soja ; -Smen Médina ; -Beurre président.	-Lait de vache ; -Protéines sériques lyophilisées (bovines, camelines) ; -Caséines du lait de vache ; -Protéines du blanc d'œuf.

II-1-1-2-Matériel biologique :

Sérum albumine bovine (BSA).

Enzyme : papaïne.

Bleu de dextran.

II-1-1-3- Produits chimiques:

- **Sels et tampons:** Bicarbonate de sodium ($NaCo_3$), potasse KOH, thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$), sulfate de cuivre, tartrate double de sodium et de potassium, hydroxyde de sodium (NaOH), carbonate de soude anhydre, tris-Hcl,
- **Solvants :** acide acétique glacial, acide trichloracétique (TCA), méthanol, éthanol, Glycérol.
- **Colorants et réactifs :** Acide ascorbique, 2,6 dichlorophénol indophénol (DCPIP), acide 3,5 dinitrosalycilique (DNS), réactif folin ciocalteu, phénolphtaléine, empois d'amidon, lugol, acrylamide, dodécyl sulfate de sodium (SDS), glycine, N ,N-méthylène- bis-acrylamide, persulfate d'ammonium, Tris-Hcl, N,N,N,N' tetraméthyléthyléne diamine (TEMED), bleu de bromophénol, 2-mércaptoéthanol, bleu de Coomassie R250.

II-1-1-4-Appareillage :

*** Unité de chromatographie basse pression composée de :** pompe péristaltique, colonne de séparation, détecteur UV, enregistreur graphique, collecteur de fractions.

*** Unité d'électrophorèse sur mini-cuve verticale composée de :** cuve d'électrophorése, générateur de courant (250 V, 100 mA), plaques en verre et en hydroxyde d'alumine, espaceurs de 1 mm d'épaisseur.

***** Balance de précision, Spectrophotomètre UV-visible, Bain marie, pH mètre, agitateur variés, vortex, centrifugeuse.

II-1-1-5- Autres :

Burettes, béchers, fioles jaugés, éprouvettes graduées, tubes à essais, erlenmeyer, entonnoirs, pipettes, micro-seringue, micropipettes, gants…..

II-1-2-Méthodes :

II-1-2-1-Méthodes physico-chimiques :

II-1-2-1-1- Dosage de la vitamine C par la méthode utilisant le 2,6 DCPIP :

La vitamine C ou acide ascorbique dont la formule brute est $C_6H_8O_6$, composant essentiel de l'alimentation de l'homme, se trouve à l'état naturel dans les fruits et légumes. Elle intervient dans de grandes fonctions de l'organisme telles que : la défense contre les infections virales et bactériennes, la protection de la paroi des vaisseaux sanguins, l'assimilation du fer, la détoxication de substances cancérigènes. Cette vitamine hydrosoluble est également un antioxydant puissant qui agit en éliminant les dérivés toxiques de l'oxygène. **(GUILLAUM *et al*., 2009).**

Le dosage de la vitamine C est effectué par titrimétrie, à l'aide d'une solution de 2,6 dichlorophénol indophénol, préalablement étalonné par une solution d'acide ascorbique de concentration connue (C_1=0.4g/l), dont les conditions expérimentales sont présentées en **annexe 01.**

L'acide ascorbique est oxydé en acide deshydroascorbique par le 2,6-dichlorophénol indophénol (2,6 DCPIP) **(figure 15)**. Ce dernier sert également d'indicateur coloré qui est bleu en milieu neutre et rose pâle en milieu acide**.**

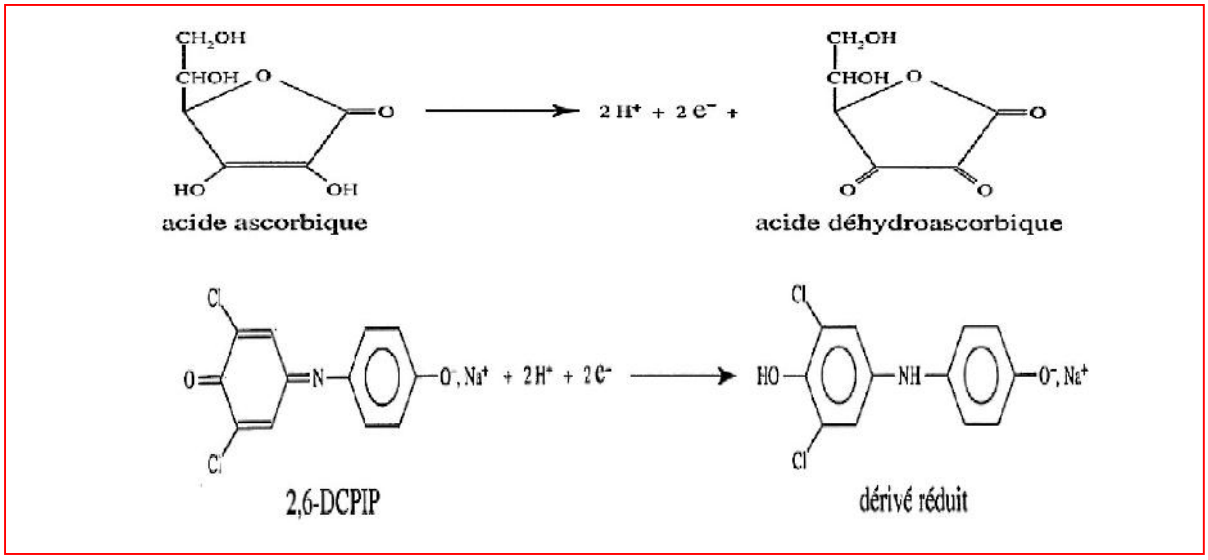


Figure15 : Réaction d'oxydoréduction de la vitamine C **(BOURGEOIS, 2003)**.

Les méthodes de dosage de la vitamine C sont très variées et utilisent principalement ces propriétés réductrices. Le choix de la méthodologie dépend surtout de sa concentration et de la complexité du milieu dans le quel on la dose. Elles peuvent être réalisées en utilisant soit une méthode chimique qui est basée sur la titration par l'iode, ou colorimétrique et volumétrique (méthode utilisant le 2,6-DCPIP), ou spectrométrique (méthode utilisant la dinitro-2 ,4-Phényl Hydrazine), ou enzymatique qui consiste à la transformation de l'acide ascorbique par l'ascorbate oxydase en acide dihydroxyascorbique **(GAVRILOVIC *et al* ., 1996).**

II-1-2-1-2-Dosage des protéines par la méthode de Lowry *et al* :

Le dosage des protéines des échantillons (jus lacté, lait de vache) est réalisé par spectrophotométrie selon la méthode de **Lowry *et al* (1951).** Elle est basée sur deux réactions chimiques simultanées :

- Une réaction de réduction des ions de cuivre sous conditions alcalines, qui forment un complexe avec les peptides ou protéines (réaction du Biuret) **(AUGERE, 2001)**.

- Une réaction de réduction du réactif Folin-Ciocalteu (un mélange d'acide phosphotungstiques et phosphomolybdiques) par les protéines, notamment les groupements phénoliques du tryptophane, de la tyrosine, et de la cystéine et dans une moindre mesure celui

de l'histidine. Cette réaction donne naissance à un complexe de coloration bleue : le bleu de molybdène dont l'intensité peut être mesuré au spectrophotomètre à 750 nm **(PELMONT, 1995 ; GAVRILOVIQUE *et al*., 1996).**

Les densités optiques (DO) obtenues permettent de déterminer la concentration en protéines des échantillons analysés. Celle-ci est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage, DO = f (C) établie avec l'albumine sérique bovine comme standards protéiques. **(Figure16).**

Le mode opératoire est donné en **annexe 03.**

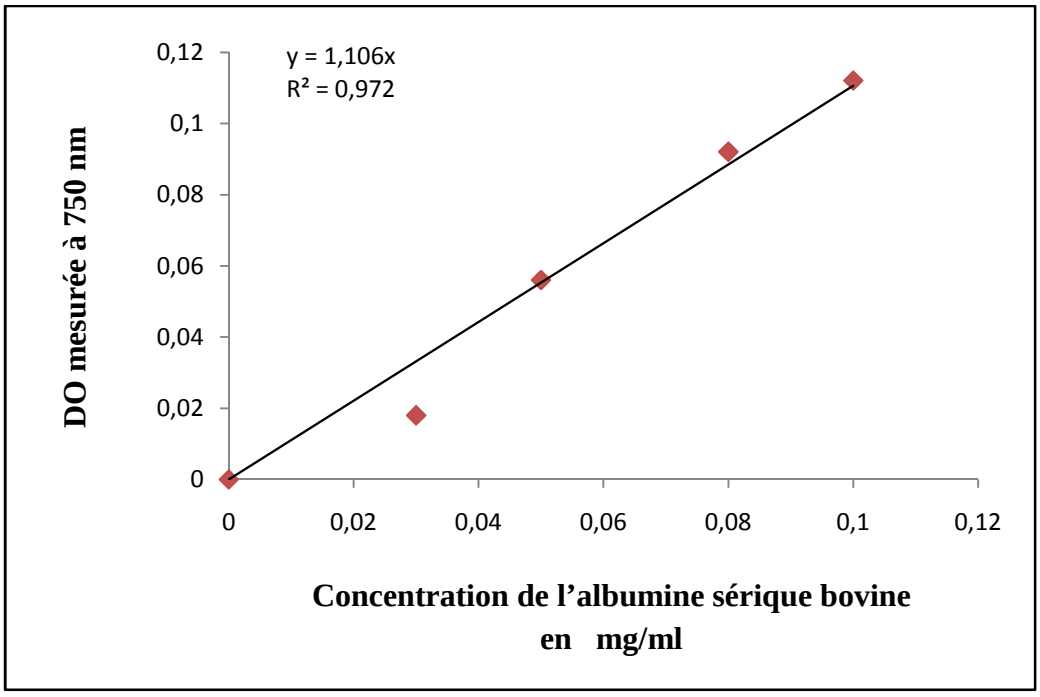


Figure 16 : Courbe étalon pour le dosage des protéines par la méthode de **Lowry *et al* ., (1951)** avec BSA comme protéine étalon**.**

Il existe d'autres méthodes de dosage des protéines :

La méthode de Kdjeldahl est une méthode de référence pour la détermination de l'azote contenu dans un produit. Elle s'effectue en plusieurs étapes :

- Les échantillons sont minéralisés en présence d'acide sulfurique concentré et à chaud (250° c), les molécules organiques sont transformées en gaz carbonique et en vapeur d'eau, tandis que l'azote organique est réduit en ammoniaque, fixés sous forme de sulfate d'ammonium.

- L'ajout d'un excès d'hydroxyde de sodium (NAOH) permet la transformation de l'azote sous formes de sulfate d'ammonium, en ammoniac (NH3). Ce dernier est distillée dans un excédant d'acide borique et déterminée par titrage avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) **(GUILLOU *et al* ., 1976).**

La méthode de Biuret est basée sur la formation, en milieu alcalin, d'un complexe de coloration violet pourpre entre les ions cuivriques et les liaisons peptidiques des protéines en présence de réactif de Gronall. Elle est peu sensible, elle ne permet pas le dosage de solutions peu concentrés en protéines. Le risque de réduction des ions cuivriques par les sucres réducteurs, en milieu alcalin, limite l'utilisation de cette méthode, notamment en agroalimentaire **(CAVRILOVIC *et al* ., 1996 ; AUGERE, 2001).**

II-1-2-1-3-Dosage des sucres réducteurs par la méthode utilisation le 3,5 DNS :

Les sucres réducteurs ont été dosés par la méthode de **Miller (1959)**. En raison de leurs groupement carbonyl libre C=O, en milieu alcalin et à chaud, permettent de réduire l'acide 2,3-dinitrosalicylique (DNS) de couleur jaune en acide 3-amino-5-nitrosalicylique rouge orangé à reflets pourpres dont l'intensité à été mesuré à 530 nm **(figure 17).** Les différentes concentrations des échantillons sont déterminées à partir de la gamme étalon, réalisée avec une solution de glucose de 1 g /l **(figure 18).** Les conditions expérimentales sont présentées en **annexe 02.**

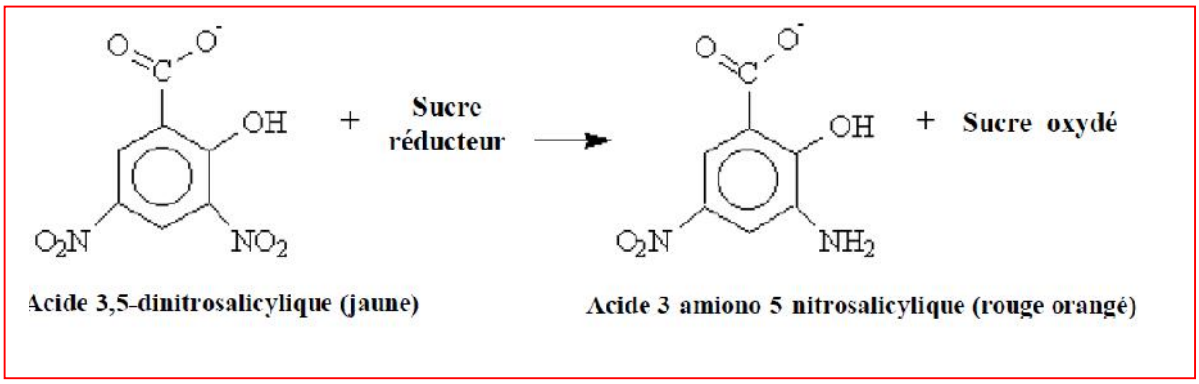


Figure 17 : Réaction de réduction du 3,5 DNS.

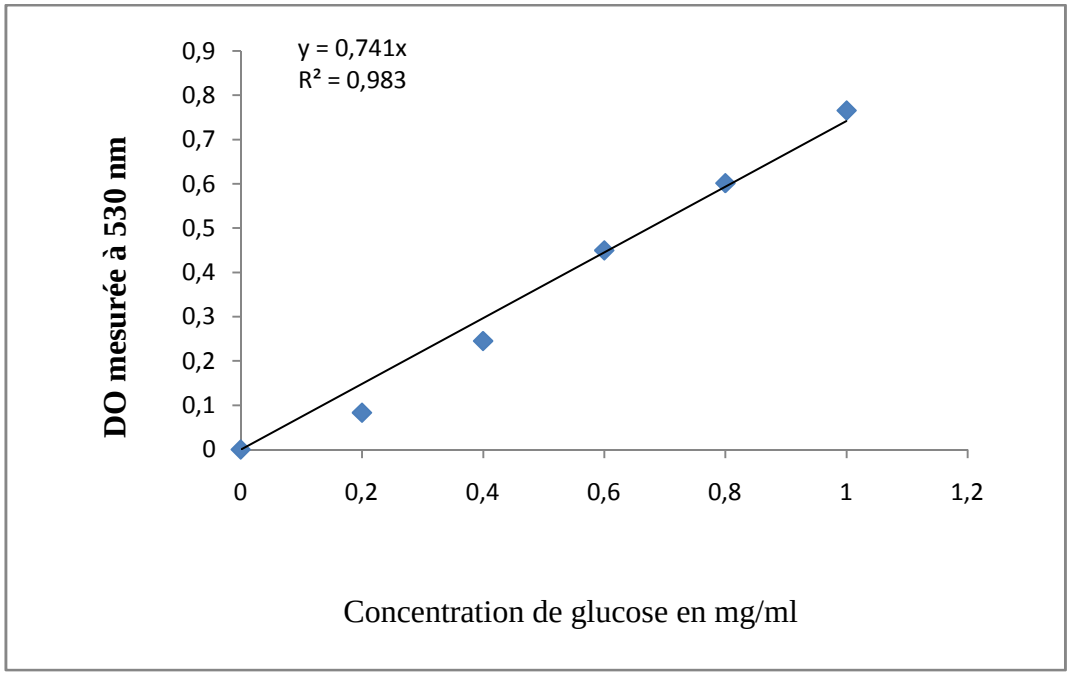


Figure 18 : Courbe étalon pour le dosage des glucides par la méthode de 3,5 (DNS) avec la solution de glucose comme étalon.

II-1-2-1-4-Détermination des indices d'iode et d'acidité des corps gras:

Les propriétés physicochimiques importantes des huiles (liquides) et des graisses (solides) sont dues en majeure partie aux acides gras qui rentrent dans leurs compositions. D'une part, les acides gras libres peuvent réagir par leur fonction acide (COOH) soit avec les bases pour donner les sels ou savons, ou bien avec les alcools pour former des esters. D'autre part, les acides gras insaturés peuvent fixer sur leurs doubles liaisons des hydrogènes formant ainsi des acides gras saturés.

❖ **Indice d'acide :**

Cet indice représente le nombre de milligramme (mg) d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme (gr) de corps gras **(NJUSSA, 1999).** Cet indice permet de mesurer la quantité d'acides gras libres résultant des réactions d'hydrolyse et d'oxydation des triglycérides **(NDEYE, 2001).**

Il est déterminé par titrimétrie à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) ou de soude (NaOH) de concentration connue (solution titrante). Le corps gras étant mit en solution dans un mélange d'oxyde diéthylique et d'éthanol. Ce dosage est effectué en présence de phénolphtaléine qui sert d'indicateur coloré, il indique la limite de la

neutralisation par changement de couleur (virage de l'incolore au rose pâle). Le mode opératoire est donné en **annexe 04.**

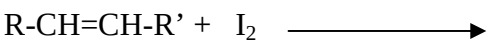
La réaction est donnée par la formule suivante :

❖ **Indice d'iode :**

L'indice d'iode est la masse d'iode exprimé en gramme, que l'on peut fixer sur 100 grammes de corps gras **(SARGAROLO, 2003)**. Il nous renseigne sur le degré d'instauration du corps gras et par suite sa prédisposition à l'oxydation. Les acides gras insaturés sont des acides éthyléniques possédant une ou plusieurs doubles liaisons **(DJOM, 1993).** .

Le principe de la méthode repose sur le traitement d'une prise d'essai (corps gras) en solution dans l'acide acétique par une solution de lugol suivi de titrage par une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) en présence d'empois d'amidon et cela jusqu'à décoloration complète des deux phases . Le mode opératoire est donné en **annexe 05.**

La réaction est donnée par la formule suivante :



II-1-2-2-Méthodes enzymatiques :

II-1-2-2-1-Hydrolyse enzymatique des protéines du lait (caséines bovines) et de l'albumen par la papaïne :

La papaïne est une enzyme protéolytique d'origine végétale (extraite de *papaye : Carica papaya L.*) avec un PM de 23.406 et un pH optimal pour son activité variant entre 3 et 9 selon le substrat. Cette protéase de spécificité large hydrolyse les liaisons peptidiques impliquant préférentiellement des acides aminés basiques dont, l'arginine, la lysine et les résidus qui suivent la phénylalanine **(MACALOOD et al, 2013).**

Afin de tester la sensibilité de deux types de protéines de structures différentes (caséines bovines et protéines du blanc d'œuf) à l'action de la papaïne, ces dernières ont été isolées, lyophilisées et soumises à l'action de l'enzyme dont les conditions expérimentales sont représentées en **annexe 06.**

A la fin de l'hydrolyse par la papaïne, une électrophorèse en PAGE-SDS est effectuée afin de visualiser les hydrolysats protéiques obtenus à différents temps d'incubations T_0, T_{15}, T_{30}, T_{60}, T_{120}.

II-1-2-3-Méthodes chromatographiques :

II-1-2-3-1-Chromatographie de filtration sur gel de SEPHACRYL S200 :

La chromatographie de filtration sur gel également appelé chromatographie d'exclusion ou tamisage moléculaire, vise à séparer les molécules en fonction de leur taille et leur forme moléculaire **(ROUESSAC et al, 2009)**. Le principe de cette méthode consiste à faire passer l'échantillon à analyser à travers une phase stationnaire composée de billes poreuses de dimension précises et uniformes. Elle permet l'élution des molécules selon l'ordre décroissant de leurs poids moléculaires. Les grosses molécules avec un diamètre supérieur à celui des pores sont exclues et sont éluées les premières au niveau du volume mort. Les petites et moyennes molécules sont éluées plus tardivement, car inclues dans le gel, leur migration est ainsi freinée **(KAMOUN, 1977).**

Dans cette manipulation, les protéines sériques du lait de vache et du lait camelin sont fractionnées par chromatographie de perméation sur Séphacryl S200. Ce dernier est un gel préparé par réticulation covalente d'un allyle de dextrane avec du N, N' méthyléne bisacrylamide. Il est caractérisé par une grande résistance, stabilité, facilité de mise en œuvre et un domaine de fractionnement large situé entre 5.10^3 et $2.5.10^5$ Da. Les conditions expérimentales sont représentées en **annexe 07**.

II-1-2-4-Méthodes éléctrophorétiques :

L'électrophorèse est une méthode d'analyse et de purification, basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'effet d'un champ électrique. Certaines substances, notamment les protéines qui ont une densité de charge non nulle à un pH autre qu'à leur point isoélectrique vont se déplacer à une vitesse (mobilité éléctrophorétique) qui dépend étroitement de leur charge globale et de leur poids moléculaire **(AUDIGIE et al, 1995)**.

II-1-2-4-1-Electrophorèse sur gel de polyacrylamide :

Les séparations éléctrophorétiques ont été réalisées sur le gel de polyacrylamide qui constitue un des supports solide le plus utilisé en raison d'un certain nombre d'avantages : transparence du gel, permettant une analyse quantitative des protéines par densitométrie,

reproductibilité élevée, facilité de mise en œuvre, et possibilité de servir comme tamis moléculaire.

La technique électrophorétique possède de nombreuses variantes : dans notre cas elle à été conduite dans deux conditions expérimentales différentes (PAGE- native et PAGE-SDS) :

II-1-2-4-1-1-Électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native) :

Dans L'électrophorèse en PAGE- native, les protéines sont séparées en fonction de leur charge et de leur poids moléculaire tout en gardant leur état natif. C'est une technique résolutive et bien adaptée à la séparation des protéines sériques du lait bovin (protéines globulaires) **(MATI, 1992)**. La méthode de **HILLIER (1976)**, adapté à un système de mini cuves en plaques verticales est utilisée avec un gel de polyacrylamide à T= 12% et C= 2.7%. Les conditions expérimentales sont représentées en **Annexe 08.**

II-1-2-4-1-2-Electrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes (PAGE-SDS) :

L'électrophorèse PAGE-SDS, repose comme toute technique électrophorétique, sur la séparation de molécules chargées sous l'effet d'un champ électrique. La particularité de cette dernière est de soumettre les échantillons protéiques à un traitement dénaturant sous l'action de deux agents :

Le dodecyl sulfate de sodium (SDS) : un détergent anionique, qui se fixe sur les protéines dans un rapport de masse relativement constant (1.4g de SDS par gramme de polypeptide) et leur confère une charge globale négative. Il joue également un rôle dans la solubilisation des protéines et la dissociation des polypeptides **DUCAUZE, (2003).**

Le β-mercaptoéthanol ($HS-CH_2-CH_2-OH$) qui est un agent réducteur chargé de rompre les ponts disulfures (S-S) des protéines, et un traitement thermique des échantillons à 100°Cpendant quelques minutes afin de désorganiser les structures tridimensionnelles, les déplier et dissocier les sous unités sous forme d'entités monomériques **DAMERVAL et al, 1993).**

Dans ces conditions l'effet de charge entre constituant est annulé, et leur migration dans le support se fait essentiellement en fonction de leur poids moléculaire **DUCAUZE, 2003).**

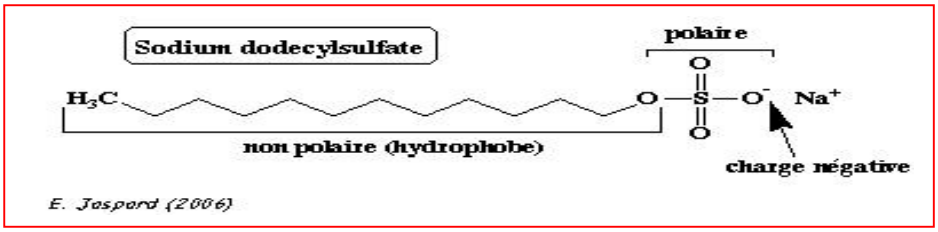


Figure 19 : Structure du dodecyl sulfate de sodium (SDS).

Suivant le protocole de **LAEMMLI et FAVRE, (1973)** basé sur un système bi phasique, nous avons réalisé deux gels superposés de concentration et de pH différents :
Un gel de concentration (T=4% et C= 2.7%) en tampon (Tris-HCl, pH=6.8), dont l'objectif est la concentration des protéines pour une migration homogène dans le gel de séparation. Un gel de séparation qui se caractérise par (T= 17% et C=2.7%), en tampon (Tris-HCl, pH=8.8). Le mode opératoire est donné en **annexe 09.**

II-2-Résultats et discussion :

II-2-1- Méthodes physicochimiques :

II-2-1-1-Détermination de la teneur en vitamine C dans les jus :

La dégradation de la vitamine C dans un jus de fruit provoque une perte de sa qualité nutritionnelle, mais aussi organoleptique par l'apparition de composés volatils odorants à impact négatif, et la formation de composés bruns responsables d'un changement de couleur (brunissement non enzymatique).

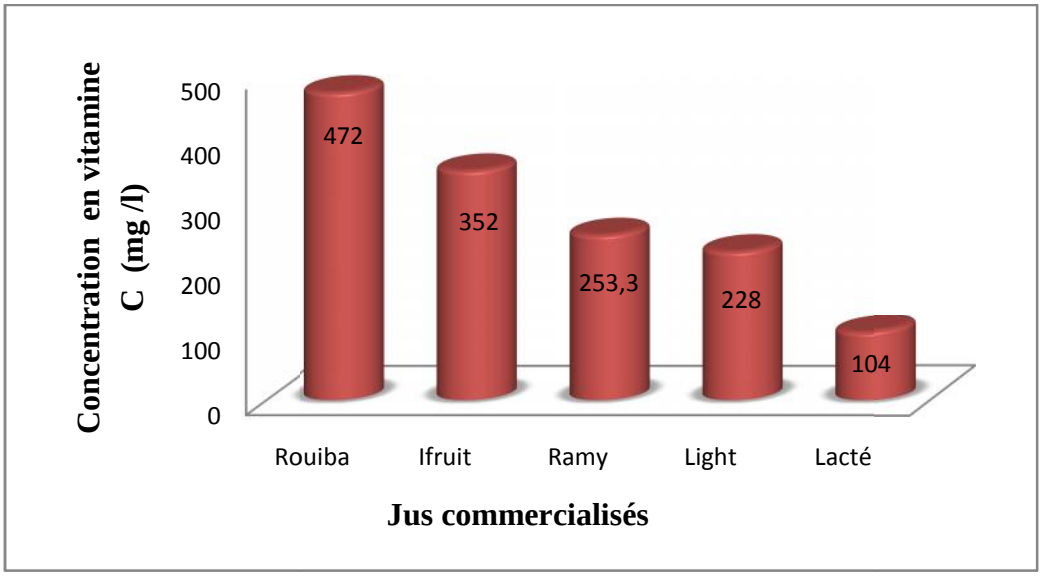


Figure 20 : Histogramme de la teneur en vitamine C dans différents jus Commercialisés.

D'après les résultats d'analyses obtenus **(figure 20)**, on remarque une variation de la teneur en vitamine C dans les différents jus commercialisés. Nous avons enregistré des valeurs élevées en cette vitamine dans les jus Rouiba et Ifruit qui sont respectivement 472 mg/l et 352 mg/l. Alors que le jus Ramy et Light présentent des teneurs moyennes de 228 mg/l et 253,3 mg/l respectivement. Tandis que le jus lacté présente la teneur la plus faible qui est de 104 mg/l.

Les fortes teneurs en vitamine C dans les jus Ruiba et Ifruit peuvent s'expliqués par leurs enrichissements en cette vitamine afin d'en faire un argument de vente en offrant au consommateur des jus à teneur garantie en vitamine C , améliorer sa qualité nutritionnelle initialement présente et perdue lors du processus de fabrication et du stockage. Elle est également utilisée comme antioxydant sous la référence E300 pour assurer une meilleur

conservation des jus. Cet antioxydant réagit avec le dioxygène de l'air afin de l'empêcher d'oxyder d'autres molécules organiques **(MAREZ *et al*., 2004).**

La faible teneur en vitamine C dans le jus lacté peut s'expliquée par la nature très instable de cette dernière (présence de deux fonction énols) et aux mauvaises conditions de stockages et d'entreposages. Cette dégradation résulterait donc entre autre d'une oxydation favorisé par la température **(ANSE *et al*., 1999)**, le pH (la vitamine C est facilement oxydée en milieu alcalin et stable en milieu neutre), la transmission d'une certaine quantité d'oxygène et de lumière à travers l'emballage **,** ainsi que la quantité d'oxygène dissoute dans le produit et la qualité d'eau utilisée lors du processus de fabrication. En effet **SIZER *et al* (1988)** ont montré que la température, l'oxygène et la durée du stockage semble être les facteurs les plus critiques favorisant la dégradation de cette vitamine.

La vitamine C prend depuis plusieurs années une part importante dans différents domaines. L'industrie agro alimentaire utilise cette dernière comme adjuvant technologique pour éviter le rancissement oxydatif des aliments, son action peut être plus efficace lorsque elle est associée a des techniques réduisant l'apport en oxygéne.par exemple, en stockant ou en opérant sous vide ou sous azote ou en abaissant la température pour ralentir la réaction d'oxydation.

II-2-1-2-Détermination de la teneur en sucres réducteurs dans les jus :

Les sucres ont une place irremplaçable et importante dans notre alimentation puisqu'ils possèdent un rôle nutritionnel par l'apport d'énergie (400 à 600 Kcal dans le cas des jus de fruits), un rôle organoleptique par la contribution au goût, la texture et un rôle technologique en tant qu'agent de conservation par leur capacité de réduire la teneur en eau **(JEANTET *et al*., 2006).**

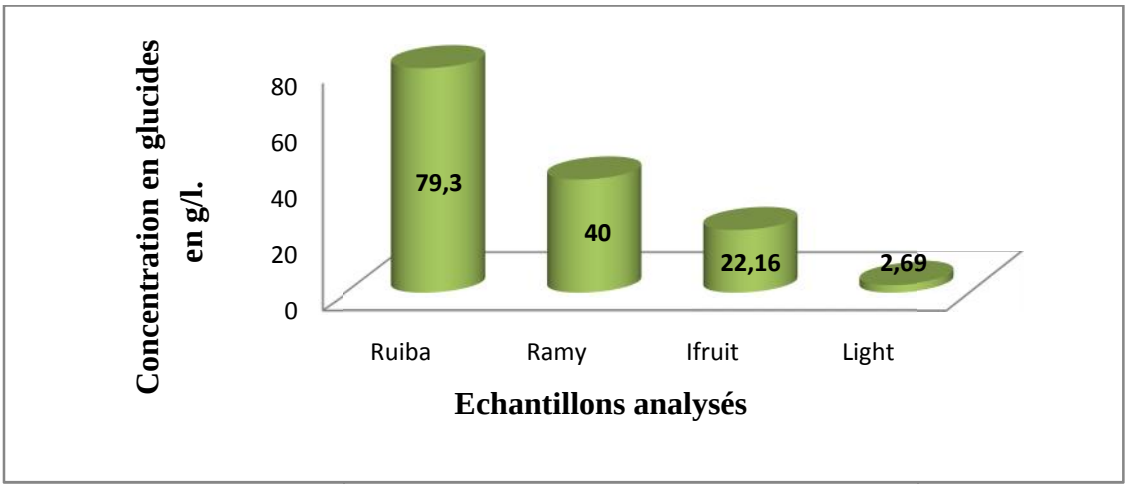


Figure 21 : Histogramme de la teneur en glucides dans différents jus commercialisés.

D'après les résultats représentés dans la **figure 21,** on remarque une variation de la teneur en sucres dans les différents jus analysés. Cette variation peut dépendre de plusieurs facteurs tels que : l'espèce et le niveau de maturité du fruit utilisé donc sa teneur en sucres, les procédés de fabrication et les traitements subis, ainsi que la durée et les différentes conditions de conservation et de stockage des jus.

Pour le jus light on a enregistré une faible valeur (2,69 g/l) qui peut s'expliquer par le faite que ce dernier est fabriqué à partir d'une matière première (fruit) ayant subit une réduction en sucres car il est destiné aux diabétiques. Tandis que pour les jus Rouiba et Ramy on a enregistrés des valeurs élevées (79,3 g/l et 40 g/l respectivement) par apport à celle du jus Ifruit qui est de 22,16 g/I. Ces résultats peuvent s'expliqués par l'ajout des sucres réducteurs dans ces derniers ou par l'inversion du saccharose en glucose et en fructose.

Ces teneurs restent inferieurs aux valeurs des différentes entreprises de fabrication de jus (Ramy : 125gr/l, Rouiba : 120 g/l, Ifruit : 104 g/l) et à celle citée par **(FRENOT *et* VIERLING, 2002)** qui est de 10 g/100ml. Cela peut être du à la dégradation des sucres suite aux mauvaises conditions de conservations et de stockages, ou aux différents traitements subits lors de la fabrication de ces jus.

II-2-1-3-Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Lowry et al (1951) :

Les protéines du lait représentent une part importante de l'apport protéique dans les rations alimentaires et tous particulièrement dans les pays industrialisés. Ces protéines présentent un triple intérêt : nutritionnel (une excellente digestibilité, composition équilibrée en AA essentiels…), technofonctionnel (aptitude du lait à la transformation en une multitude de produits) et physiologique (immunité…) **(DEBRI, 2007)**.

L'analyse des résultats représentés dans la **figure 22** montre que le jus lacté présente une teneur élevée en protéines (18,9 g/l), qui peut s'expliquer par le faite que ce dernier contient du lait. Par contre pour le lait de vache, on a enregistré une valeur de 26,3 g/l qui est inférieure à celle citée par **AFNOR** avec des valeurs comprises entre 34 et 36 g/l, et celle trouvée par **DEBOUZ *et al.*, (2014)** avec une valeur de 34,97 g/l et celle trouvée par **ABDOUN *et al.*, (2008)** avec une valeur de 30 g/l. Ce résultat peut s'expliqué par la dégradation des protéines du lait bovin (protéolyse) par la plasmine qui est une protéase (thermostable) alcaline naturelle du lait ou suite à différents traitements subis en industries ou

aux mauvaises conditions de conservation et de stockage (la température par exemple) qui induisent le développement de bactéries protéolytiques.

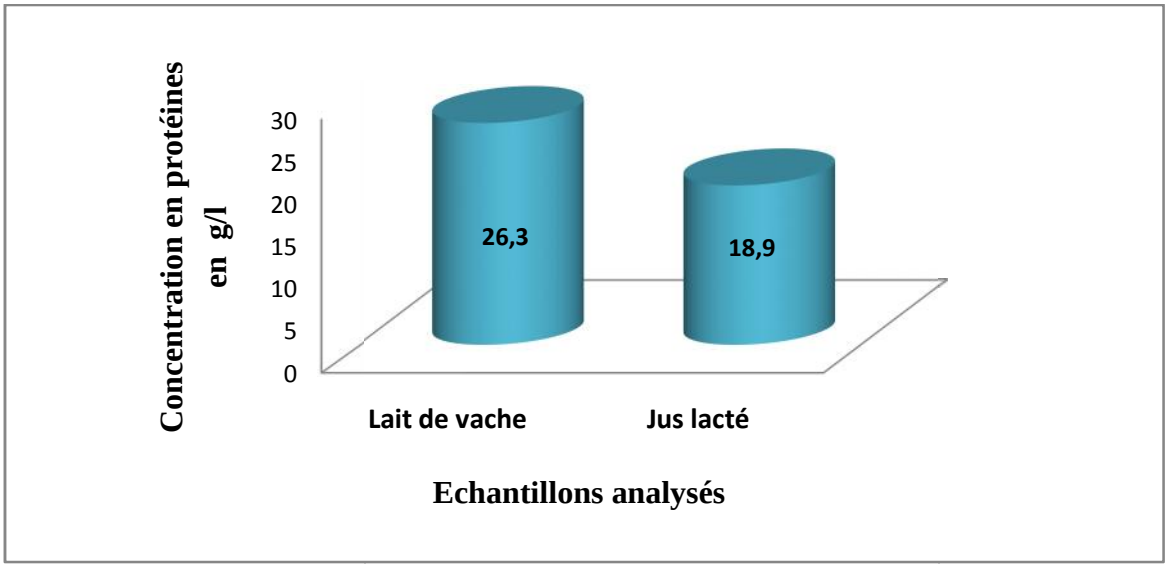


Figure 22 : Histogramme de la teneur en protéines dans différents échantillons.

Il est bien admis que le nombre de germes du lait s'élève d'autant plus haut durant le stockage sous réfrigération que le nombre de germes initiales est élevé **(MOTTAR, 1984)** et que cette augmentation dépend aussi bien de la durée que de la température de refroidissement. **BLOQUEL *et* VEILLET, (1980)**, indiquent qu'après le stockage du lait à 4°C pendant 4 jours, il s'ensuit une sélection bactérienne qui favorise la prolifération des bactéries psychrotrophes Gram négatives présentes initialement en petit nombre dans le lait. De ce faite la flore psychrotrophe devient dominante pendant le stockage réfrigéré du lait et leurs enzymes extracellulaires, particulièrement les protéases thermorésistantes, contribuent à la dégradation des protéines laitières **(HANTSIS-ZACHAROV et HALPERN, 2007).**

Il faut noter que, beaucoup de facteurs sont susceptibles d'influer négativement sur le taux protéique du lait. Outre l'alimentation quotidienne déficiente en fourrages et plantes herbacées, l'effet de la race, l'âge, la saison, le climat, l'état sanitaire (**Martin et Coulon, 1995).**

Selon **Croguennec *et al* (2008)**, Lors d'une infection mammaire la fraction protéique subit d'importantes modifications, à savoir une réduction importante du taux caséique et une augmentation des protéines solubles d'origine sanguines (immunoglobulines, lactoferrine…).

Par ailleurs, les protéines sont plus facilement dégradées par protéolyse car le lait provenant d'une mamelle infectée est beaucoup plus riche en enzymes d'origine diverse (sérum sanguin, leucocytes, bactéries…..).

II-2-1-4-Détermination des indices d'iode et d'acidité d'une matière grasse :

Les corps gras (huiles et graisses végétales) jouent un rôle majeur dans notre alimentation, nous les consommons directement sous forme d'huile raffinée ou vierge, ou bien indirectement via de nombreux produits de l'industrie agroalimentaire.

Chaque corps gras a son empreinte spécifique, sa signature en acides gras qu'il soit d'origine animale ou végétale. Ils ne représentent pas uniquement une réserve de calories mais aussi une source d'acides gras, dont les acides gras saturés et les acides gras insaturés (AG mono-insaturés et polyinsaturés). Parmi ces derniers on distingue les AG essentiels (oméga 3 et oméga 6) que l'organisme humain ne peut pas les synthétisés, ils doivent donc être apportés par son alimentation **(FRENOT et VIERLING, 2002).**

On utilise comme indicateur de qualité des corps gras différents indices, dont chacun a une signification dans sa propre limite. Dans notre manipulation on s'est intéressés à la détermination des indices d'iodes et d'acidité de certaines huiles et graisses commercialisés, dont les résultats sont représentés dans la figure suivante:

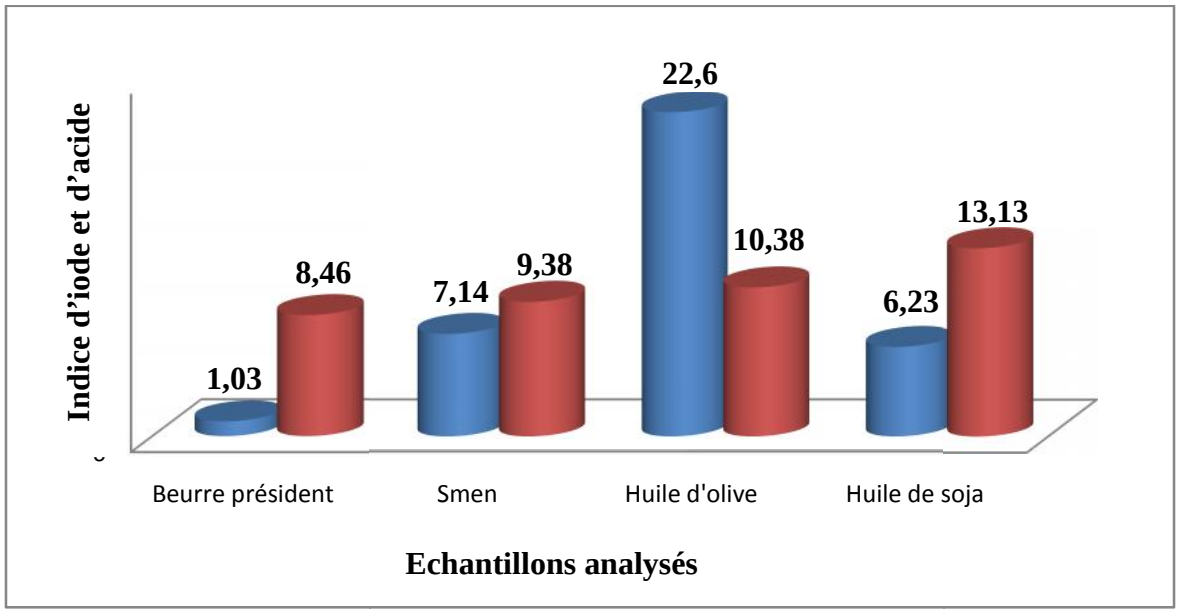


Figure 23: Histogramme des indices d'iode et d'acide de différents corps gras commercialisés.

- **Indice d'acide :**

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres dans une matière grasse. Elle renseigne principalement sur l'altération des triglycérides d'une matière grasse à la suite d'une hydrolyse chimique ou enzymatique. Les AG libres non oxydés présentent un intérêt nutritionnel quasiment équivalent aux même AG sous forme glycéridique **(FODHIL, 2011)**.

D'après la **figure 23**, on remarque que les indices d'acides des différents corps gras analysés varient entre 1,03 et 22,14. L'huile d'olive présente l'indice d'acide le plus élevé (22,14), qui peut s'expliqué par sa teneur élevée en AG libres suite à l'hydrolyse des triglycérides. Cette dernière est l'une des principales voies d'altération des corps gras au cours de la production, du stockage et de la transformation. Elle peut être chimique (présence d'eau) ou enzymatique par les enzymes lipolytiques (lipases, estérases…) qui hydrolysent les liaisons esters des glycérides et libèrent à partir des triglycérides des AG, des di-glycérides et des mono-glycérides. Les AG libres formés peuvent ensuite servir de substrat pour les réactions d'oxydations **(YACOUB, 2009)**.

- **Indice d'iode :**

L'indice d'iode indique le nombre d'instaurations globales d'une matière grasse et renseigne sur sa stabilité oxydative. C'est une évaluation de sa facilité à rancir, puisque plus il contiendra d'instaurations plus il sera sensible à l'O2. Il est directement proportionnel aux nombre d'instaurations ce qui permettra d'effectuer un classement entre les différentes sortes d'acides gras.

Les corps gras liquides dont, l'huile de soja et l'huile d'olive possèdent les indices d'iode les plus élevés vu leurs origines végétales et leurs richesses en AGI. L'huile de soja est riche en AGPI dont l'acide linoléiques (55-75%) et l'acide linolénique (5-11%) tandis que l'huile d'olive est riches en AGMI principalement l'acide oléique (56-85%) **(BRUNETON, 2009).**

Les corps gras solides dont, le smen et le beurre possèdent un indice d'iode relativement faible qui s'explique par leurs fortes teneurs en AGS et faible teneur en AGI. Le smen qui est un corps gras généralement produit à partir des huiles végétales dont, la plus utilisée est l'huile de palme qui présente un taux élevé en AG saturés**.** Le beurre est composé principalement de triglycérides, qui sont constitués d'AGS (60-65%) dont, l'acide palmitique (31,95%), myristique (11,3%) et laurique (15,33%) **(CROGUENNEC *et al*., 2008)**.

D'après les résultats de nos manipulations, on remarque que les valeurs d'indices d'iode obtenus pour l'huile de soja (13,13) et l'huile d'olive (10,38) sont inférieures aux normes fixées par le Codex Alimentarius avec des valeurs de (124-139) pour l'huile de soja et (75-94) pour l'huile d'olive. Les résultats enregistrés pour le smen (9,38) et le beurre (8,46) restent loin des valeurs citée dans la bibliographie par **(BESSON et GARNEAU, 2003)** qui à donné une valeur qui se situe entre 26 et 28 pour le beurre.

Les faibles teneurs d'indices d'iodes des échantillons analysés peuvent être dues à l'oxydation et à la durée de stockage. Cette réaction chimique s'effectue lorsque les AGI constituant la matière grasse (à l'état libre ou estérifié en triglycérides), porteur d'un ou plusieurs sites réactionnels que sont les doubles liaisons rentrent en contact avec l'oxygène de l'air.

Il est bien connu que le degré d'oxydation des huiles et des graisses est lié à leurs niveaux d'instaurations, tout en dépendant encore de beaucoup d'autres facteurs. Parmi ces derniers on peut citer : le type des corps gras et leurs passé, le taux AG libres, les traitements technologiques subis, le transport et les conditions de conservation dont, l'emballage utilisé, la durée de stockage, l'accessibilité pour l'O_2, la présence de traces métalliques et d'eau, l'exposition à la lumière du jour pour les emballages transparents, la température ambiante…..

Notons à ce stade que la lumière et la température sont des facteurs accélérateurs mais ne sont pas des éléments nécessaires et suffisants pour déclencher des phénomènes d'oxydations. Ce phénomène chimique se caractérise par son caractère évolutif (dû à la succession, dans le temps, de différentes réactions chimiques, conduisant à plusieurs familles de produits réactionnels intermédiaires et finaux), irréversible et altératif (puisque l'attaque des acides gras par l'oxygène atmosphérique conduit à des dégradations organoleptiques et fonctionnelles, affectant directement la qualité marchande des corps gras et conditionnent leur durée) **(ARMELL, 2004 ; VILLIERE *et* GENOT, 2006).**

II-2-2-Méthodes de purifications :

II-2-2-1-Séparation des protéines du lactosérum bovin et camelin par chromatographie sur gel de séphacryl S 200 :

Les protéines sériques du lait sont les protéines qui restent solubles après précipitation des caséines à pH isoélectrique. Ce sont des protéines globulaires diversifiés en structure et en propriétés **(VIGNOLA et AMIOT, 2002).**

Nous avons essayé de fractionner les protéines sériques bovines et camelines, en utilisant la chromatographie sur gel de séphacryl S200. Après optimisation des paramètres de séparation, les séroprotéines ont été élués comme indiqués dans les chromatogrammes suivants **(figure 24 et figure 25)** en 5 pics pour le lait bovin et 4 pics pour le lait camelin notés F1, F2, F3, F4, F5 et F1', F2', F3', F4' respectivement.

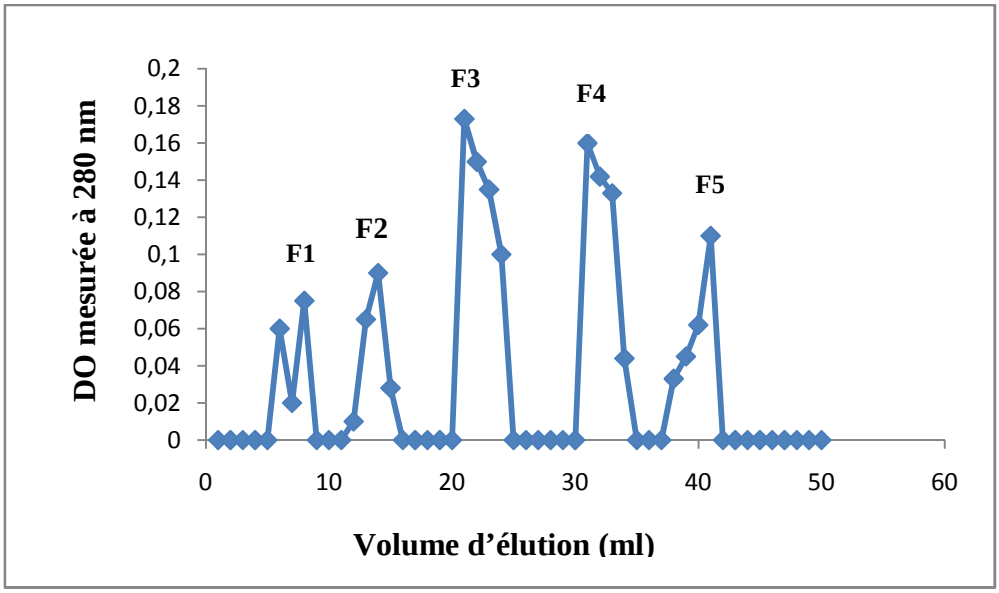


Figure 24 : Chromatogramme de séparation des protéines sériques du lait de vache en utilisant la chromatographie de perméation sur gel de séphacryl S 200.

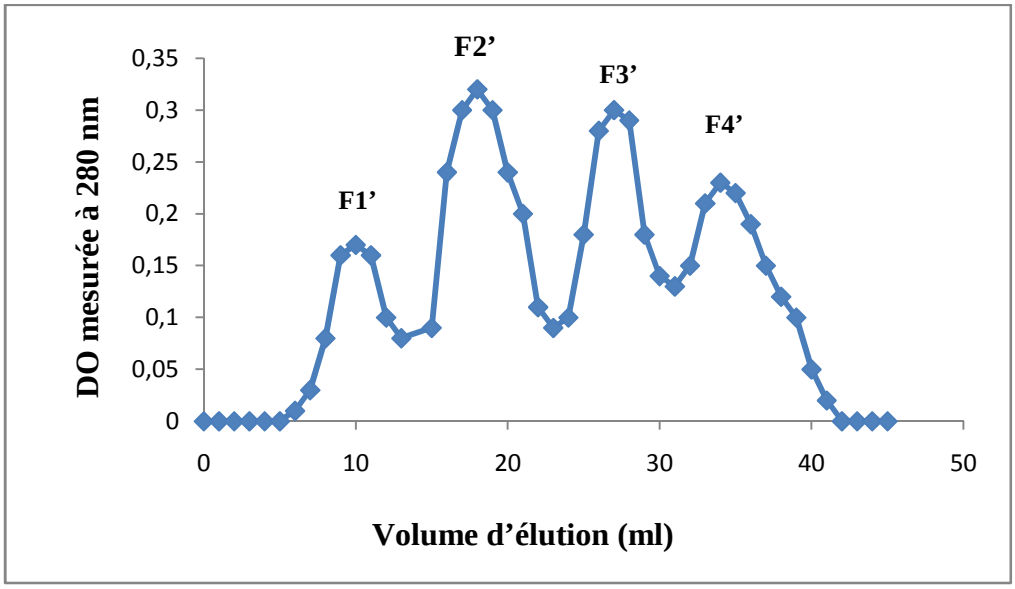


Figure 25: Chromatogramme de séparation des protéines sériques du lait camelin en utilisant la chromatographie de perméation sur gel de séphacryl S 200.

II-2-2-2-Caractérisation électrophorétique des séroprotéines bovines et camelines en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE- native) :

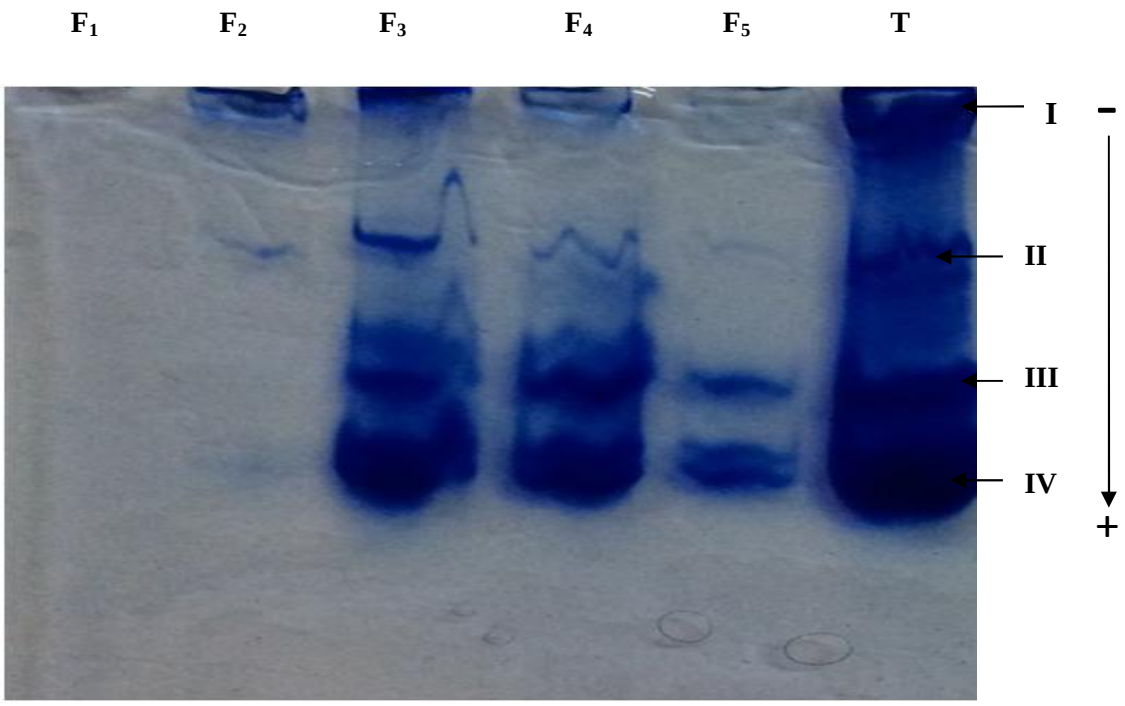


Figure 26 : Profile électrophorétique (PAGE-native) des séroprotéines bovines. **T :** témoin contenant les séroprotéines bovines

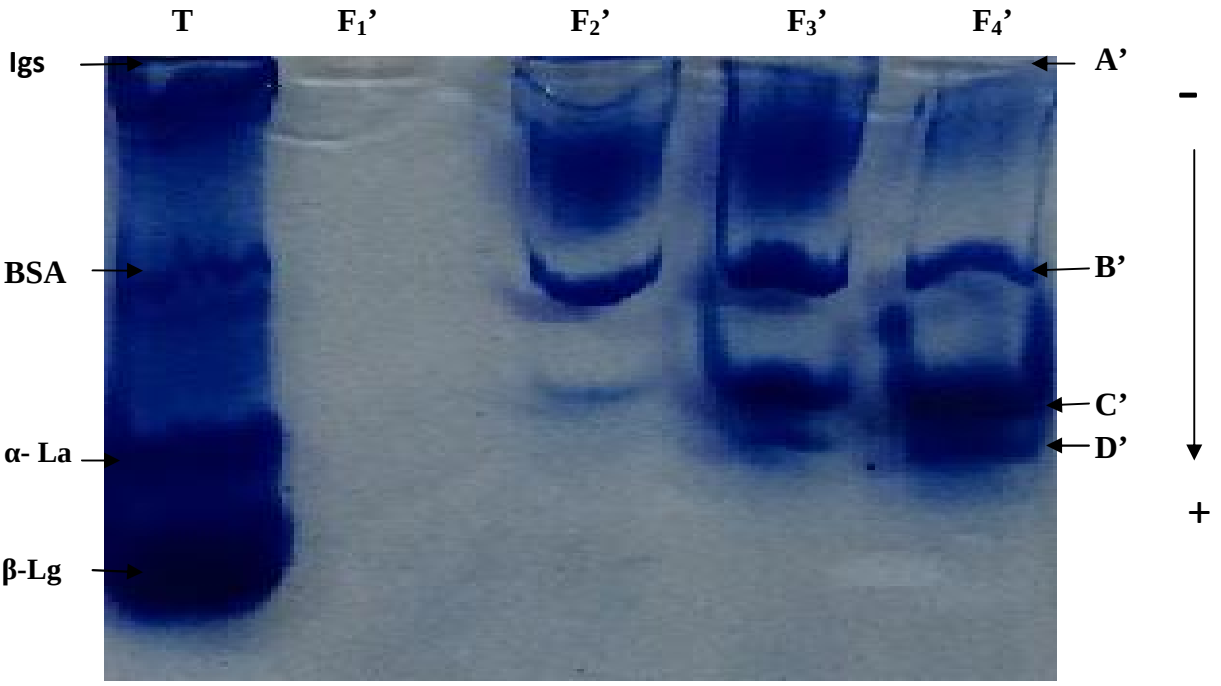


Figure 27 : Profile électrophorétique (PAGE-native) des séroprotéines camelines. **T :** témoin contenant les séroprotéines bovines

Selon, **CROGUENNEC *et al*, (2008),** les protéines sériques bovines migrent en cinq bandes correspondantes dans l'ordre croissant de leur mobilité electrophorétique aux immunoglobulines (Igs), sérum albumine bovine (BSA), alpha lactalbumine (α-La) et en dernier la béta-lactoglobuline (β-Lg) (deux variantes A et B).

Le contrôle électrophorétique, en PAGE native **(Figure 26)** réalisée sur les fractions obtenues par chromatographie de perméation sur gel séphacryl S 200, montre, pour le lait de vache, l'existence de quatres bandes I, II, III et IV au niveau de l'échantillon (tube témoin) contenant les standards (protéines sériques bovines) qui correspondent respectivement aux Igs, BSA, α-La et β-Lg (bande intense). Les Igs ont une mobilité très faible, vu leurs poids moléculaire très élevé qui ne leur permet pas de migrer plus loin. Alors que la β-Lg présente une mobilité élevée (le niveau de migration le plus loin).

Pour la fraction F1 du lait bovin, il n'ya pas eu révélation de bandes alors que, on a obtenu une bande dans la fraction F2 qui correspond aux Igs bovin et quatre bandes dans la fraction F3 (1,2, 3,4) qui correspondent respectivement aux Igs, BSA, α-La, β-Lg et 3 bandes dans la fraction F4 qui correspondent aux Igs, BSA, α-La et β-Lg. Pour la fraction F5 nous avons pu isoler 3 protéines (3 bandes) qui correspondent à l'α-La et aux deux variantes génétiques de la β-Lg.

La distribution des protéines laitières diffère d'une espèce animale à une autre. Cette distribution est particulière dans le lait camelin, puisque certaines protéines importantes du lait bovin telle que la β-lactoglobuline ne sont pas retrouvés dans le lait camelin **(MERIN *et al* ., 2001 ; FARAH *et al*., 2004).** Par contre d'autres protéines lui sont spécifiques et ne sont pas retrouvés dans le lait bovin **(KAPPELER *et al*., 2003).**

L'analyse du profile électrophorétique du lait camelin en PAGE native **(Figure 27)** montre l'absence de bandes dans la fraction F1' et deux bandes dans la fraction F2', une qui migre au même niveau que la BSA qui pourrait correspondre à la CSA (albumine sérique cameline). Alors que les fractions F3' et F4' ont révélés 4 bandes : A', B', C' et D'. Les bandes (A') se situant au même niveau que les Igs bovin pourraient correspondre à leurs homologue camelin (Igs camelin), les bandes (B') pourraient correspondre à la CSA, les bandes (D'), désignent l'α-lactalbumine cameline qui se trouve au même niveau que l'α-lactalbumine bovine. Quant aux bandes (C') qui n'ont pas d'homologue camelin peuvent correspondre à l'une des variantes génétiques de l'α-lactalbumine cameline. Plusieurs travaux

(BEG *et al.*, 1985 ; OCHIRKHUYAG *et al.*, 1998) ont fait état de la présence de deux formes génétiques de l'α-La cameline.

Le profile électrophorétique montre la présence de trainées de couleurs qui peut s'expliquée par une mauvaise qualité du gel utilisé ou à des contaminations lors du dépôt des échantillons.

Les résultats obtenus en électrophorèse PAGE-native que se soit pour les séroprotéines bovines ou camelines peuvent s'expliquer par une mauvaise séparation de ces dernières en chromatographie de perméation sur gel, ou bien aux erreurs de manipulations. Ils peuvent s'expliquer également par la présence d'impuretés dans les fractions collectés ou à la mauvaise qualité des échantillons utilisés.

La non révélation de bandes dans certaines fractions : F1 pour le lait bovin et F1' pour le lait camelin peut s'expliquée par la faible teneur en protéines dans ces dernières. Pour cela il fallait faire un dosage par la Lowry avant d'effectuer l'électrophorèse. Ce qui n'a pas été le cas dans notre manipulation.

II-2-2-3-Hydrolyse enzymatique des protéines de l'œuf et des caséines bovines par la papaïne et caractérisation électrophorétique des hydrolysats (PAGE SDS).

Après hydrolyse par la papaïne de deux types de protéines (les caséines bovines et les protéines du blanc d'oeuf), nous avons essayé de suivre la cinétique de cette enzyme par électrophorèse en condition non dissociante et non dénaturante (en présence du SDS et du β-mércaptoéthanol), dont on a obtenu des hydrolysats à différents temps d'incubation : T_{15}, T_{30}, T_{60}, T_{120}.

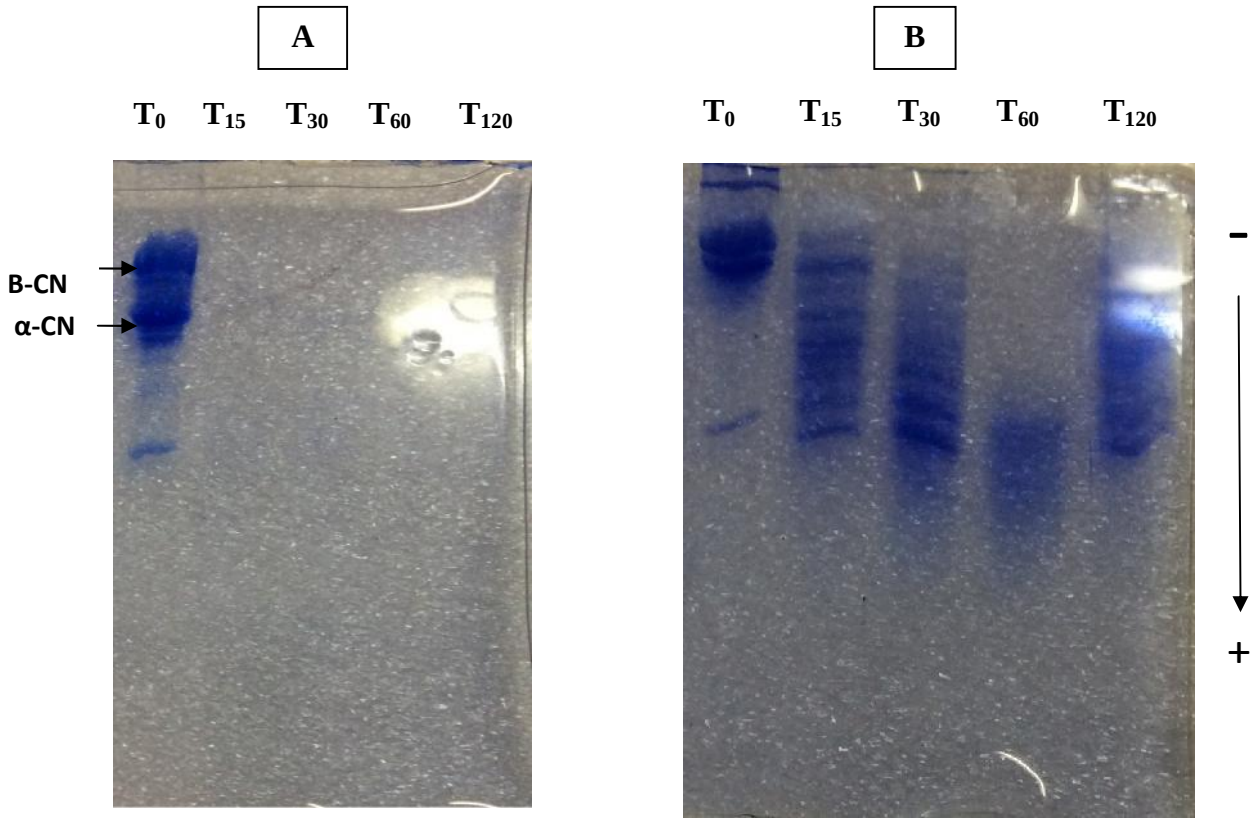


Figure 28 : Profiles électrophorétiques (PAGE-SDS) des hydrolysats protéiques obtenus sous l'action de la papaine à différents temps d'incubation T_0, T_{15}, T_{30}, T_{60}, T_{120}.
A : Caséines du lait de vache. **B :** protéines du blanc d'œuf (albumen).

Les caséines bovines sont définies comme des phosphoprotéines qui précipitent à partir du lait cru par acidification à pH de 4.6 à 20°c **(VIGNOLA et AMIOT, 2002)**. Ces dernières (en PAGE-SDS) migrent en 5 bandes correspondantes dans l'ordre croissant de leur poids moléculaire aux : γ-CN, κ-CN, β-CN, α S2 et α S1.

L'analyse du profile électrophorétique (PAGE-SDS) des caséines bovines **(figure 28 A)** révèle l'absence de bandes pour les caséines bovines à différents temps d'incubation (T_{15}, T_{30}, T_{60} et T_{120}) qui peut s'expliquer par leur hydrolyse totale par la papaïne en peptides de petite taille ou en acides aminés. Cette hydrolyse peut s'expliquer par la forte teneur en enzyme utilisé ou le non respect de la durée d'incubation, car les caséines présentent une organisation micellaire sous forme de pelote statistique (structure native dénaturée) donc sensibles à l'hydrolyse par les enzymes (facilité d'accessibilité de l'enzyme aux sites de coupures).

L'albumen est composé en majeur partie d'eau et de protéines (88% et 10,6% respectivement). Ces dernières ont été largement étudiées en raison de leurs nombreuses propriétés nutritionnelles, technofonctionnelles et biologiques **(NAU *et al.*, 2010)**. Malgré cela, la composition en protéines et notamment celles en protéines mineurs n'est certainement pas complètement achevée puisque de nouvelles protéines viennent d'être mise en évidence dans l'albumen. Jusqu'à très récemment, le nombre de protéines habituellement référencées dans l'albumen était de 13 **(Li-CHAN et NAKAI, 1989).** En effet, il existe des protéines de très haut poids moléculaire (Ovomucine, Ovostatine…….) et d'autres de très faible poids moléculaire (lysozyme par exemple) **(NAU *et al.*, 2010)**.

L'analyse du profile électrophorétique (PAGE-SDS) de l'albumen **(figure 28B)** montre l'existence de seulement cinq bandes pour le tube témoin, et ceci peut être expliqué par la condensation des protéines entre elles, ou à une perte de certaines suite à des altérations lors de la conservation. Il montre également la présence de plusieurs bandes fine à différents temps d'incubation (T_{15}, T_{30}, T_{60} et T_{120}) qui peut s'expliquer par l'hydrolyse partielle des protéines par la papaïne en polypeptides. Vu la structure globulaire organisée que présente ces dernières, leur hydrolyse nécessite l'exposition des sites catalytiques de l'enzyme, initialement enfuies à l'intérieur des protéines.

Le profile électrophorétique des protéines du blanc d'œuf révèle une mauvaise hydrolyse enzymatique de ces dernières, car on s'attendait que les bandes denses révélés dans le tube témoin s'éclaircis et augmente dans le nombre avec l'augmentation de la durée d'incubation. Ceci peut être dû à des erreurs de manipulation, au non spécificité de l'enzyme pour son substrat, au non respect de la température d'incubation ou du pH optimal de l'activité de l'enzyme, ou à un rapport enzyme/substrat non adéquat (quantité d'enzyme inférieur à celle du substrat).

Conclusion :

Les travaux menés dans la partie expérimentale ont eu pour objectif l'analyse de quelques produits alimentaires commercialisés par différentes méthodes analytiques dont les méthodes spectrophotométriques, titrimétriques, chromatographiques et electrophorétiques (PAGE-native, PAGE-SDS). Ces dernières permettent d'une part, le dosage et la détermination des teneurs relatives de certains constituants d'un aliment, d'autre part de contrôler la conformité et de montrer les modifications éventuelles subis par cette matière au cours de sa fabrication ou de sa conservation dont l'oxydation et l'hydrolyse (chimique, enzymatique….).

Les analyses physico-chimiques effectuées (dosage de la vitamine C, des sucres réducteurs, des protéines, détermination des indices d'iode et d'acidité) ont révélé des résultats non conformes aux normes d'ou la grande nécessité d'améliorer sans cesse les conditions de conservation et de production et de veiller à la qualité. En effet, la maitrise de cette qualité et le développement de nouveaux produits en adéquation avec les multiples exigences du marché implique de la part des responsables techniques du secteur agroalimentaire une démarche de plus en plus rigoureuse. Celle-ci s'appuie notamment sur les acquis scientifiques en microbiologie et physicochimie des aliments, et sur les technologies mises en œuvre dans leur élaboration et leur conservation.

Concernant les résultats de purification et de caractérisation obtenus (séparation des séroprotéines bovines et camelines, hydrolyse enzymatique des caséines bovines et de l'albumen par la papaïne) il est préconisé d'optimiser les conditions opératoires, de faire des analyses complémentaires et d'utiliser des méthodes plus performantes.

Références bibliographiques

AUDIGIE C.L., DULONON G. et ZONSGAIN F. (1995). Principes des méthodes d'analyses biochimiques. 2éme Edition Doin, Paris, p 44.

AUGERE B. (2001). Les enzymes, biocatalyseurs protéiques. Edition Ellipses, Paris, p 61.

ARSAN A., VERMEIL G et DARTOIS A. M. (2003). Alimentation de l'enfant de la naissance à 3 ans. Rueil-Malmaison : Edition Doin, 198 p.

APFELBAUM M., **ROMON M et DUBUS M.** (2004). Diététique et nutrition, 6éme Edition Masson, Paris.

ARMELLE J. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? *OCL-Journal,* 6(11), 414-418.

AFSSA, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. (2007). Apports en protéines : consommation, qualité, besoins et recommandations[en ligne], http://www.anses.fr/Documents/ NUT-Ra-Protéines.pdf.

ALLAIN P. (2008). Pharmacologie : les médicaments. 3 éme Edition CdM.

ABDOUNE S, MESBAHI M et MATI A. (2008). Evaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage de fromage à pâte molle type camembert fabriqué à partir du lait frais seul ou mélangé au lait recombiné. Séminaire Internationale sur la filière lait, Chlef, Algérie.

APFELBAUM M., ROMON M et DUBUS M. (2009).Diététique et nutrition, 7éme Edition Issy-Les-Moulineaux, p 516.

ANDRES E. (2011). Carences vitaminiques ; in « nutrition clinique pratique ». Elsevier Masson, P141-150.

BLOQUEL R. et VEILLET P. (1980). Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigérer en fonction du temps. *Le lait*, 474-486.

BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM M.V., ZAIDI Z.H and JÖRNVALL H. (1985). The primary structure of α-Lactalbumine from camel milk. *Eur.Journ.Biochem*, 147, 233-239.

BELUCCI S. (2002). Physiologie de l'hémostase primaire. *EMC-Hématologie,* 1-9 [Article 13-019-A-05]. Elsevier Masson.

BOURGEOIS C. (2003). Les vitamines dans les industries agro-alimentaires. Edition Lavoisier, Paris. P 69.

BOUTTEN A. (2005). Mélatonine. EMC, *Biologie médicale,* 1-0 [Article 90-10-0645]. Elsevier Masson.

BOURILLON A. (2005). Pédiatrie : connaissances et pratique. 3éme Edition Masson, P46.

BROËR S., **CAVANAUGH J.A., RASKO J.E.** (2005). Neutral amino acid transport in epithelial cells and its malfunction in Hartnup disorder. *Biochemical society transactions,* 33 (1), P 233-6.

BERG J.M., TYMOCZKO J.L et STRYER L. (2008). Biochimie. Médecine-Sciences, 6éme Edition Flammarion, Paris, P656.

BORG J.A., REEBER A. (2008). Biochimie métabolique. 2éme Edition Ellipses. P 285.

BELON J.P. (2009). Eléments de diététique pédiatrique ; in « Conseils à l'officine ». 7éme Edition Masson, P 349-352.

BOUTRY C., BOS C., et TOME D. (2008). Le besoin en acides aminés. *Nutrition clinique et métabolisme,* 4(22), P151-160.

BEYLOT G. (2009). Les laits infantiles. *Actualités pharmaceutiques,* 488(48), P51-56.

BRUNETON J. (2009). Pharmacognosie : phytochimie et plantes médicinales, 4émé Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

BELZUNG C. (2010). Biologie des émotions. Edition De Boeck Supérieur.

BEAUMONT S. (2010). Biochimie. Ediscience, 3éme Edition Dunod, Paris, P182, p183, P397, P399.

BACIU M. (2011). Bases de neurosciences : Neuroanatomie fonctionelle.1ére Edition De Boeck.

CHOURAQUI J.P et DIETSCH J. (1994). Les laits infantiles à l'heure européenne. *Intern Ped*, 24, P18-24.

Comité de nutrition de la société française de pédiatrie, BEAUFRERE B., BRESSON J.L., BRIEND A., GHISOLDI J. (1997). Besoins en protéines des nourrissons et des enfants en bonne santé. *Archives de pédiatrie,* 4(4), P373-382.

Comité de nutrition de la société française de pédiatrie, BEAUFRERE B., BRESSON J.L., BRIEND A., GHISOLFI G., GOULET O., NAVARRO J., PUTET G., RICOUR C…(2000).La promotion de l'allaitement maternel : c'est aussi l'affaire des pédiatres. *Archives de pédiatrie,* 11(7), P1149-1153.

CHIQUET C., DKHISSI O., BENYAHYA H.D., COOPER H.M., CLAUSTRAT B. DENIS P. (2001). Œil et rythmes circadiens. *Journal Français d'ophtalmologie,* 6(24), P 659-671.

CAMPEOTTO F. (2003). La place des laits de croissance dans l'alimentation du nourrisson et du petit enfant. *Journal de pédiatrie et de puériculture,* 4(16), P216-217.

CAMPBELL P.N et SMITH A.D. (2006). Biochimie illustrée. Edition Maloine, Paris, p 363.

CROGUENNEC T., JEANTET R et BRULE G. (2008). Fondements physicochimiques de la technologie laitière. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

CLAUSTRAT B. (2009). Mélatonine et troubles du rythme veille-sommeil. *Médecine du sommeil,* 1(46), 12-24.

Comité de nutrition de la société française de pédiatrie, TURCK D., VIDAILHER M., BRESSON J.L., BRIEND A., CHOURAQUI J.P., DARMOUN D., DUPOND C., FRELUT M.L., GIRARDET J.P., GOULET O…(2013). Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Archives de pédiatrie,* 2(20), P29-48.

CIECIEREGA T., DWEIKAT I., AWAR M., SHAHRUR M., MUTAZ S. (2014). Severe persistent diarrhea and hypoalbuminemia in a child: Hartnup disease in setting of celiac disease. *Bio Med Central,* P 311.

DJOM J. H. (1993). Suivi de la palmisterie du processus de fabrication de l'huile de palme et contrôle de qualité des produits finis. Mémoire de fin d'étude. ENSIAAAC .Université de Ngaoundéré. 52 P

DAMERVEL C., VIENNE D., ZIVY M., TARROUX P et VINCENS P. (1993). Electrophorèse bidimensionnelle des protéines, *Biofutur*, 123,p 3-10.

DE LEERSNYDER H., MUNNICH A. (2001). Mélatonine chez l'enfant : mise au point et approches thérapeutiques. *Mélatonine thérapeutiques/Pédiatrie,* 1(4), P 67-71.

DUCAUZE C. (2003). Fraudes alimentaires : Approche réglementaire et méthodologie analytique. Coll. Sciences et techniques agroalimentaires. Edition, Tec et doc, Lavoisier, Paris, P 204-205.

DJOFFON G. (2005). La diversification alimentaire. *Pratiques en nutrition,* 4(2005), 50-54.

DEBRY G. (2007). Lait, nutrition et santé. Edition, Tec &Doc, Lavoisier, Paris, 566p.

DUBERN B. (2008). Diversification alimentaire chez le jeune enfant. EMC - Pédiatrie - Maladies infectieuses, 1-10 [Article 4-002-H-25].Elsevier Masson.

DUBOEUF S et PILLON F. (2010). L'hémostase, quelques notions de physiologie. *Actualités pharmaceutiques,* 501(49), P 14-15.

DAELMAN C et GASSIER J. (2011).Guide de l'alimentation de la naissance à l'adolescence. Edition, Elsevier Masson.

DEBOUZ A., GUERGUER L., OUDJANA A et HADJ SEYD AEK. (2014). Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache dans la wilaya de Ghardaïa. *El Wahat pour les recherches et les études*, 2(7), 10-17.

ELALAMY I., SAMAMA M.M. (2011). Physiologie de l'hémostase. *EMC-Angéiologie,* 1-6 [Article-19-0100]. Elsevier Masson.

FRENOT M et VIERLING I. (2001).Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant. Edition Doin.

FARAH H.M., JIMENEZ FLORES R., BLECK G.T., BROWN E.M., BUTLER J.E., CREAMER L.K., HICKS C.L., HOLLAR C.M., KWAI HANG K.F. and SWAIS GOOD H.E. (2004). Nomenclature of cow milk-sixth revision. *Journal of Dairy Science,*87,1641-1674.

FERNANDES J., SAUDUBRARY J.M., VAN DEN BERGHE G., WALTER J.H. (2006). Inborn metabolic diseases: diagnostic and treatment. 4^{éme} Edition Heidelberg, P 321-328.

FODHIL K. (2011) ; Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive ; Mémoire de magistère de chimie, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.

GIROD C. (1990). Epiphyse. EMC-Endocrinologie-Nutrition,1-10 [Article 10-025-A-10]. Elsevier Masson.

GUILLOU H., PELISSIER J.P., et CRAPPIN R. (1976). Le lait. *Laboratoire de biochimie et technologie laitière,* 66, p 143-175.

GAVRILOVIC M., MAGINOT M.J., WALLACH J. (1996)**.** Manipulations d'analyses biochimiques. 3^{émé} Edition Doin, Paris, P35-P40.

GOULET O., VIDAIHET M et TURCK D. (2002). Alimentation de l'enfant en situations normale et pathologique, Edition Doin, p 440.

GARNIER J.P., BENLAKEHAL M., BRICON T. (2003). Sérotonine. *EMC-Biologie médicale* [Article 90-10-0850]. Elsevier Masson.

GOUDET P., YINDOULA J. (2008). Manuel de chimie- Biochimie alimentaire. Edition Educagri, Dijon, P 117.

GUILLAND J.C et LEQUEU B. (2009). Encyclopédie des vitamines : Du nutriment au médicament .Vol 1 : Données fondamentales : métabolisme et fonctions. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

GUILLAND J.C et LEQUEU B. (2009). Encyclopédie des vitamines : Du nutriment au médicament. Vol 2 : Aspects nutritionnels. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

GUILLAND J.C et Lequeu B. (2009). Encyclopédie des vitamines : Du nutriment au médicament. Vol 3 : Aspects médicaux. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

GOYENS P. (2009). Besoins nutritionnels ; in « enfant et nutrition : guide à l'usage des professionnels ». Edition One (Office de la Naissance et de l'Enfance), Bruxelles. P13.

GHISOLFI J. (2010). Place des laits au cours de la diversification alimentaire des nourrissons et enfants en bas âge en France. *Archives de pédiatrie,* 5(17), P195-198.

GUILLAND J.C (2012). Vitamines hydrosolubles : thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, vitamine B_6 et biotine. *Endocrinologie-Nutrition,* 9(4), 1-27.

GARIDDO M., ESPINO J., TORIBIO-DELGADO A.F., CUBERO J., MAYNAR-MARINO J.I., BORRIGA C., PAREDS S.D et RODRIGUEZ A.B. (2012). A Jerte Valley Cherry-based product as a supply of tryptophan. *International Journal of Tryptophan Research, 5, p* 9-14.

HILLER R.M. (1976). The quantitative measurement of whey protein using polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Research,* 43, 259-265.

HEINE W., RADKE M., WUTZKE K.D., PETERS E et KUNDT G. (1996). Alpha-lactalbumin-enriched low –protein infant formulas: a comparaison to breast milk feeding. *Actalités Paediatriques*, 85, 1024-8.

HORN F., LINDENMEIER G., MOC I., GRILLHOSL C., BERGHOLD S., SCHNEIDER N., et MÜNSTER B. (2005). Biochimie humaine. Medecine Sciences, Edition Flammarion, Paris, P168-172, P430-431.

HAMES B.D., HOOPER N. et HOUGHTON J.D. (2006). L'essentiel en biochimie. Edition Port Royal, Paris, P413.

JEANTET R., CROGUENNES T., SCHUCK et BRULE G. (2006). Science des aliments. Vol 2 : Technologie des produits alimentaires. Edition Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

HANTSIS Z.E and HALPERN M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (22) ,7162-7168.

HENRY J.W. (2009). Biochimie générale. 11^{éme} Edition Dunod, Paris.

HUNKELER P.Z. (2013). Mélatonine et troubles du sommeil chez l'enfant. *Pédiatric,* 4(24), P 17.

HUISSE M.G., FAILLE D et AJZENBERG N. (2015). Exploration de l'hémostase primaire. *Hématologie,* 10(1), 1-7.

KAMOUN P (1977). Appareils et méthodes en biochimie. Edition, Flammarion, 2^{éme} Edition, Médecine Sciences, Paris, P 236.

KRUH J. (1989). Biochimie: metabolism. Edition Hermann, Paris, P 282.

KAPPELER S., FARAH Z. and PUHAN Z. (2003). 5-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Science*, 86, 198-508.

KOLB B., WHISHAW I.Q. (2008). Neurosciences : cerveau et comportement. Edition DE Boeck, P913.

KELTA R., ROMEO E., RISTIC Z., OHUR A.T., STUART C., ACROSS-BURGOS M., DAVE M.H., WAGNER C.A., CAMARGO S.R., INOUE S., MATSUURA N et al…. (2005). Mutation in SLC6A19, encoding B0AT1, cause Hartnup disorder. *Nature genetics*, 36 (8), P999-1002.

LI-CHAN E., NAKAI S. (1989). Biochemical basis for the properties of egg white. *Critical Reviews in Poultry Biology***,** 2, 21-57.

LOWRY O., ROSEBROGH N.J., FARR A.L et RANDALL A.L. (1995). Protein measurement with folin phénol regent. *The Journal of Biological chemistry*, 193, 265-275.

LAEMMLI U.K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T_4. *Nature*, 227, 680-684.

LAFAY O. et MANOLOV P. (2010). Méthodes de nutrition. Edition Amphora, Paris, P 334.

LE MOËL G., DAUVERGNE A.S., GOUSSON T., GUEANT J.L. (1998). Le statut vitaminique. Edition, Techniques et documentation, P 541.

LIEN E.L., DAVIS A.M et EULER A.R. (2004). Growth and safty in term infants fed reduced- protein formula with added bovine alpha-lactalbumin. *Journal de pédiatrie*, 38, 70-6.

LEMALE J. (2014). Diversification alimentaire chez le jeune enfant. *EMC-Pédiatrie-maladies infectieuses*, 9(4), 1-8.

MILLER G.L. (1959). Use of DinitrosaIicyIic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *ANALYTICAL CHEMISTRY*, 3(31), 426-428.

MOTTAR. (1984). Influence de la durée de conservation sous réfrigération du lait cru sur la conservabilité du lait U.H.T. *Le lait*, 64,29-45.

MATI A. (1992). Les protéoses peptones dans les laits bovins et caprins : isolement, caractérisation, origine et évolution de la fraction hydrophobe contenant le composant-3. Thèse Doctorat. Université de Nancy I.

MARTIN B et COULON J.B. (1995). Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages .1.influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de tropeaux. *Le lait*, 75,61-80.

MEUNIER M.M., SHVALOFF A. (1995). Neurotransmetteurs : bases neurobiologiques et pharmacologiques. 2éme Edition. Masson, Paris.

MURRAY R.K., GRANNER D. K., MAYES P.A., et RODWELL V.W. (1996). Précis de Biochimie de Harper. Edition De Boeck et Larcier, P365.

MERIN U., BERNSTEIN S., BLOCH DAMTI A., YAGIL R., VAN CREVELD C., LINDNER P et GOLLOP N. (2001). A comparative study of milk serum protein in camel (*Camelus dromedarus)* and bovine colostrums. *Livestock Production Science,* 67, 297-301.

MASSON O. (2002). Biochimie : Bases biochimiques de la diététique. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris. P 582.

MAREZ M., JEHL B. et MADET N. (2004). L'acide ascorbique et son utilisation en tant qu'additif dans les industries alimentaires. Université Paris XII, Val de Marne : Licence IUP SIAL, p 23.

MARSHALL W.J et BANGERT S.K. (2005). Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic. Edition, Elsevier Masson, Paris, P275, P308, P333.

MOUSSARD C. (2006). Biochimie structurale et métabolique. 3éme Edition, De Boeck et Larcier, P 331.

MAROUF A et TREMBLIN G. (2009). Abrégé de Biochimie Appliquée. Edition EDP. Science, P54-P 55.

MADER S. (2010).Biologie humaine. 1ére Edition De boeck et Larcier, P 311.

MURRAY R.K., BENDER D.A., BOTHAN K.M., KENNELLY P.J., RODWELL V.W et WEIL P.A. (2011). Biochimie de Harper. 4éme Edition De Boeck Université, P 651.

MAYER ROGGE S. et MAYER ROGGE K. (2012). Biochimie métabolique. Edition De Boeck, Paris, P 18.

MACALOOD J.S., VICENTE H.J., BONIAO R.D., COROSPE J.G et ROA E.C. (2013). *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1941-1948.

NJUSSA M. (1999). Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, 50 P

NDEYE A.K. (2001). Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées aux SENEGAL. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie.

NADEAU S.E., FERGUSON T.S., VALENSLEIN E., VIERCK C.D., PETRUSKA J.C., STREIT W.J., RITZ L.A. (2006). Neuroscience médicales. Edition, Elsevier Masson.

NICHOLS D. E., NICHOLS C.D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, 5(108), P1625.

NIEOULLON A. (2010). Neurobiologie cellulaire et moléculaire. EMC-Neurologie, 1-22 [Article 17-003-A-10], Elsevier Masson.

NAU F., GUERIN-DUBIARD C., BARON F et THAPON J.L. (2010). Science et technologie de l'œuf. Edition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 370P.

OCHIRKHUYAG B., CHOBERT J.M., DALGALARRONDO M., CHOISET Y and HAERTLE. (1998). Characterization of whey proteins from Mongolian yak, Khainak and Bacterian camel. *Journal of Food Biochemistry*, 22,105-124.

OMS, Organisation Mondiale de la Santé. Alimentation au sein exclusive pendant 6 mois pour les nourrissons du monde entier, [en ligne], http**://** www.who.int/ mediacentre / news / statements /2011/ breastfeeding-20110115/fr / index.html.

PUEL O. (1995). L'alimentation du nourrisson au cours de la 1^{ére} année de la vie. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 6(8).

PELMONT. (1995). Enzymes : catalyseurs du monde vivant. 2^{éme} Edition, EDP science. 1040P.

PORTIER DE COURCY G., FRELUT M.L et DUPIN H. (2003) ; Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins ; *Encyclopédie-médico-chirurgicale, endocrinologie-nutrition* [Article10-308-A-10], P1-30.

PICAUD J.C. (2008). Allaitement maternel et lait maternel : quels bénéfices pour la santé de l'enfant. *Nutrition clinique et métabolique*, 22 (2), P 71-74.

PATEL A.B., PRABHU A.S. (2008). Hartnup disease. *Indian journal of dermatology*, 53(1), P 31-32.

REVEL T., Doghmi K. (2004). Physiologie de l'hémostase. *EMC- Dentisterie*, 1(1), P 71-8, Elsevier Masson.

PALOKINAM T. Santé : Pellagre et erythémes pellagroîdes. *Cahiers d'etudes et de recherches francophones*, 3(15), P205-8.

RICHARD D., ORSAL D. (2007). Neurophysiologie : organisation et fonctionnement du système nerveux. 3^{éme} Edition Dunod, Paris.

ROUESSAC F., ROUESSAC A., CRUCHE D., DUVERGER C et MARTEL A. (2009). Analyses chimiques : méthodes et techniques instrumentales. 7^{éme} Edition Dunod, Paris, P 24.

RIGAURD V., AUBRY S., TASSEAU A., GOBALAKICHENANE P., KIEFFER F., ASSAF Z., NICLOUX M et MAGNI J.F. (2013). Allaitement maternel : Bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, 2 (26), P90-99.

SIZER C.E., WAUGH P L et CHERMANN P. (1988). Maintaining flavor and nutriment quality of aseptic orange juice. *Food and technology*, 10(6), 152-159.

Scriver C.R., SLY W. S., CHILDS B., BAUDET A.L., VALLE D., KINZLER K.W et VOGELSTEIN B. (2001). The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8éme Edition Mc Graw-Hill, New York.

SIDRANSKY H. (2002). Tryptophane: biochimical and health implications. *CRC Series in Modern Nutrition,* P 280.

SALGAROLO P. (2003). Pratique des manipulations de chimie à l'usage des biologistes. Edition, Techniques & documentation, Lavoisier, Paris, P 229-237.

SABLONNIERE B. (2010). Chimie-Biochimie et Biologie Moléculaire. 2éme Edition Omniscience. P 150, P301-302, P418.

TREMBLAY M.A. (1986). Biochimie générale. Edition Griffon d'argile, 275.

TZAVARA E., **HAROUNE J.** (1996). Rythmes circadiens de l'adénylyl cyclase dans l'épiphyse. *Médecine sciences,* 12(12), P 1425.

TURCK D. (2005). Allaitement maternel : les bénéfices pour la santé de l'enfant et de sa mère. Archives *de pédiatrie,* 3(12), P145-165.

TOUITOU Y. (2007). Vitamines ; in « pharmacologie ».11éme Edition, Elsevier Masson, P299-309.

TUITOU Y. (2008). Mélatonine : de la physiologie à la pathologie. *EMC-Endocrinologie-Nutrition,* 1-7 [Article 10-025-A-10]. Elsevier Masson.

TREMBLIN Anne-Laure. (2009). Nutrition de l'enfant sain né à terme de la naissance à trois ans : de l'alimentation lactée exclusive à la diversification alimentaire, 141 p. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université d'Angers.

TOUNIAN P et SARRIO F. (2011). Allaitement maternel ; in « Alimentation de l'enfant de 0 à 3 ans ». 2éme Edition. Issy-les-Moulineaux : Edition, Masson, P1-2.

VALDIGUIE P. (2000). Biochimie clinique. 2émé Edition, Technique et documentation, P 332.

VIGNOLA C., AMIOT J. (2002). Science et technologie du lait. Transformation du lait. Edition, Presses Internationales Polyte.

VILLIERE A et GENOT C. (2006). Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions. *OCL-Journal,* 2(13), 152-159.

VAROQUAUX O.S. (2012). Sérotonine: aspects biologiques et cliniques. Edition. Médecine science, Lavoisier, Paris.

WALTHER D.J., PETER J.U., WINTER S., HOLTJE M., PAULMANN N., GROHMANN M et al. (2003). Serotonylation of small GTPases is a signal transduction pathway that triggers platelet alpha-granule release. *Cell,* 115 (7), P 851-62.

WEIMAN S et MEHUL P. (2004). Toute la biochimie. Edition Dunod, Paris, P410.

WHO, World Health Organization. (2007).Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint FAO/ WHO/ UNU. Expert consultation (Who Technical Report Series, n° 935), p 265.

YACOUB R. (2009). Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux. Thèse de doctorat, Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement.

Annexes :

Annexe 01 : Détermination de la vitamine C par la méthode au 2,6-DCPIP.

1-Solutions :

- **Solution de 2-6- dichlorophénol indophénol à 0.5 gr/L :**

  DCPIP……0.5 gr

  Bicarbonate de sodium……..0.2 gr

  Eau distillée chaude……300 ml

  Laisser refroidir et ajuster à 1000 ml avec de l'eau distillée froide, puis filtrer.

- **Solution d'acide ascorbique :**

  Acide ascorbique……..0.4 gr

  Eau distillée……..….1000 ml

2-Mode opératoire :

Dans un bécher de 20 ml, introduire :

- 5 ml de l'échantillon à doser (jus de fruit) ;
- Ajouter 1 ml d'acide acétique glacial, mélanger ;
- Verser, goutte à goutte la solution de 2-6-DCPIP à l'aide d'une burette, jusqu'à apparition d'une coloration rose pâle persistante.
- Lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V_2 (ml).

3-Etalonnage de la solution d'acide ascorbique :

L'étalonnage est fait à l'aide d'une solution étalon de concentration C_1=0.4 g /l. Elle correspond à une chute de burette de V_1 (ml).

4-Expression des résultats :

La teneure en vitamine C en mg/l, est donné par la relation suivante :

$$C_2 = (C_1 \times V_1 / V_2) \times 1000$$

C_1 : concentration en acide ascorbique de la solution étalon (gr/l).

C_2 : concentration en vitamine C dans l'échantillon (jus) (mg/l).

V_1 : chutte de burette mesurée dans le cas de la solution étalon (ml).

V_2 : chutte de burette dans le cas de jus (ml).

Annexe 02 : Dosage des glucides par la méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalycilique (DNS).

1-Solution :

- **Solution de glucose :**

  Glucose……..……...1 g

  Eau distillée……..……1000 ml

Gamme étalon :

A partir de la solution de glucose des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessus :

N° de tube	01	02	03	04	05	06
Solution de glucose (ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Eau distillée (ml)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0

2-Mode opératoire :

-Mettre 1 ml de la solution à doser (ou des différentes dilutions) dans un tube à essai ;

-Ajouter 2 ml du réactif (3,5 DNS) ;

-Chauffer au bain marie bouillant pendant 5 min ;

-Refroidir par écoulement d'eau sous le robinet ;

-Ajouter 7 ml d'eau distillée et homogénéiser ;

-Laisser reposer pendant 15 min à température ambiante ;

-Faire la lecture à 350 nm contre le blanc.

3- Détermination de la teneur en sucres réducteurs :

Une courbe étalon est tracé en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en solution de glucose des dilutions (gamme étalon) préalablement préparée et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution. La concentration en sucres de l'échantillon analysé est déterminée par la relation suivante :

$$C = Y / 0.741$$

C : concentration en sucres réducteurs de l'échantillon analysé.

Y : la DO correspondante à la dilution 10^{-3} de l'échantillon analysé.

0.714 : constante trouvée par Excel.

N° de tube	1	2	3	4	5	6	10^{-2}	10^{-3}
C (mg/ ml)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	0.218	
DO	0	0.083	0.245	0.413	0.602	0.766	0.162	0.043

Annexe 03 : Dosage des protéines par la méthode de Lowry et al (1951).

1- Solutions :

- **Solution A :**

  Soude 0.1 N…….500 ml

  Carbonate de sodium anhydre (Na_2CO_3) ……...……...10 gr

- **Solution cuivrique B :**

  Sulfate de cuivre ($CuSO_4$, 5 H_2O) (0.5 gr/100ml)……..…….…….....…2 ml

  Tartrate double de Na et de K (1gr /100 ml).....……...…….……...…...2ml

- **Solution C :**

  Solution A……...……..……...…..50 ml

  Solution B……...……..…..……1 ml

Gamme étalon :

A partir de la solution mére de BSA, des dilutions sont préparées selon le tableau suivant :

N° de tube	**01**	**02**	**03**	**04**	**05**
Concentration (ug/ml)	0	30	50	80	100
Solution mère d'albumine sérique bovine (BSA) (ul)	0	150	250	400	500
Eau distillée (ul)	500	350	250	100	0

2-Mode opératoire :

- A 0.5 ml de la solution d'échantillon **:**
- Ajouter 2.5 ml de la solution C et mélanger ;
- Laisser 5 à 10 min à température ambiante ;
- Ajouter 250 ul de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Homogénéiser rapidement et mettre les tubes 30 min à l'obscurité.

- Après 30 min, homogénéiser les solutions rapidement et lire la DO à 750 nm contre le blanc.

3- Détermination des teneurs protéiques :

Une courbe étalon est tracée DO = f (concentration en BSA) puis la concentration de la protéine X inconnue est déterminée par la formule suivante :

$$C = Y / 1.106$$

C : concentration en protéines de l'échantillon analysé.

Y : la DO correspondante à la dilution 10^{-3} de l'échantillon analysé.

1.106 : constante trouvée par Excel.

N° du tube	1	2	3	4	5	10^{-2}	10^{-3}
C (mg/ml)	**0**	**0.03**	**0.05**	**0.08**	**0.1**		**0.0189**
DO	**0**	**0.018**	**0.056**	**0.092**	**0.112**	**0.162**	**0.021**

Annexe 04 : Détermination d'indice d'acide.

1-Préparation de la solution de potasse KOH (0.1 N) :

Potasse alcoolique……..2.8 mg

Eau distillée……500 ml

2- Mode opératoire :

- Peser 2.5 g de matière grasse dans un erlenmeyer ;
- Les dissoudre dans 5 ml d'éthanol ;
- Titrer immédiatement avec de la potasse alcoolique (0.1N) en présence de phénolphtaléines (quelque goutes) jusqu'à apparition d'une coloration rose-pale persistante.

3- Expression des résultats :

L'indice d'acide des différents corps gras analysés est déterminé par la formule suivante :

$$IA = V_{KOH} \times C_{KOH} \times M_{KOH} / m\ (MG)$$

Ou :

V : volume de KOH titré **;**

N : normalité de KOH (0.1 N) **;**

M : masse molaire de KOH (56.11) **;**

m : masse de la prise d'essaie.

Annexe 05 : Détermination d'indice d'iode :

1-Préparation de la solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$) :

Thiosulfate de sodium……12.4gr

Eau distillée……500 ml

2-Mode opératoire :

Préparation de deux tubes (tube témoin et tube échantillon) **:**

a)- Tube témoin : introduire dans un tube à essai 5 ml de lugol et quelques gouttes d'amidon (mélange bleu). Déterminer le volume V_1 de thiosulfate de sodium nécessaire pour neutraliser l'iode contenu dans ce tube.

b)- Tube échantillon : introduire dans un tube à essai 5 ml de lugol, 0.5 ml de matière grasse puis chauffer pendant 5 min (bien homogénéiser le long du chauffage). Après refroidissement, ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon (mélange bleu) puis verser le thiosulfate goute à goute en agitant, jusqu'à décoloration. Déterminer le volume V_2 nécessaire pour neutraliser l'iode contenu dans l'échantillon.

3-Expression des résultats :

Les résultats ont été trouvés par la formule suivante :

$$I_I = (V_T - V_E) \times 0.01269 \times 100 / m \text{ (MG)}$$

V_T : Volume de thiosulfate utilisé pour l'essai à blanc ;

V_E : Volume de thiosulfate de sodium nécessaire pour la neutralisation de l'excès d'iode ;

N : Normalité de thiosulfate de sodium ;

m : Masse de la prise d'essai d'échantillon ;

M : Masse molaire de l'iode.

Annexe 06 : Séparation des séroprotéines bovines et camelines par chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S 200.

1-Préparation des solutions :

Tampon Tris-HCL (0.02 M, pH=8.4)

Tris……..…..……1.21gr

Eau distillée……..……..500 ml

Solution de bleu de dextrane :

Bleu de dextrane……...5 mg

Eau distillée……..……..……5 ml

2- Préparation de l'echantillon :

Protéines lyophilisées…….……...……100 mg

Tampon tris-Hcl……..…5 ml

Annexe 07: Hydrolyse enzymatique des protéines par la papaïne :

1-Préparation des solutions :

Tampon Tris (0.5 M) :

Tris…….3.02 gr

Eau distillée……..……50 ml

Tampon d'échantillon :

Solution C……....500 ul

Eau distilée……..……250 ul.

SDS (10%)…….…..…250 ul.

2-mercaptoéthanol……...……...50 ul

+ Dissoudre 2 mg de protéines lyophilisées dans 1 ml de ce tampon.

+ Chauffer à 100°c pendant 4 à 5 min puis refroidir dans un bain d'eau froide.

+ 200 ul d'une solution de glycérol 50% (V/V) et quelques graines de bleu de bromophénol.

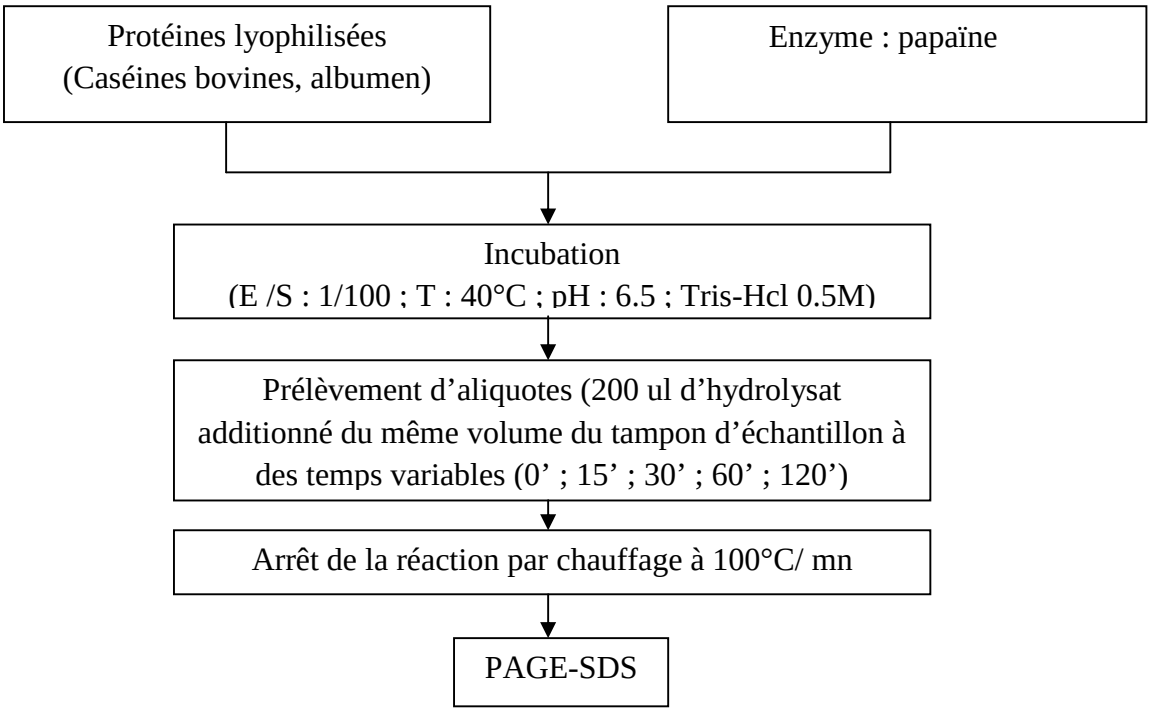
Solution enzymatique :

Papaine……1 mg

Eau distillée……..1 ml

2- Mode opératoire :

Les étapes de l'hydrolyse enzymatique des protéines (caséines bovines, albumen) par la papaïne sont présentées dans le schéma suivant :



Annexe 08 : électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native)

Solution d'acrylamide (A) :

Acrylamide…… 36g

Bisacrylamide……..1g

Eau distilée……...100 ml

Tampon de gel (B) :

TRIS……...…….9.14 g

Eau distilée……..…100 ml

Ajuster à pH 8.9 avec de HCl 4N

Tampon d'électrode :

Tris…….0.12g

Glycine……5.76 g

Eau distilée…….....200ml

Ajuster à pH 8.3 avec du Tris

Tampon d'échantillon :

Solution du gel (B)……..……100 ul

Eau distillée…….700 ul

Glycérol 50%……..…….200 ul

Bleu de Bromophénol……..……...……...…….....une tète d'aiguille

Dissoudre 1 mg de protéines lyophilisées dans 1 ml de ce tampon.

Electrophorèse :

Préparation du gel : T= 12% et C=2.7% (pour une plaque).

Solution (A)……..…3.25 ml

Solution (B)……..5 ml

Eau distilée……...…1.68 ml

Dégazer le mélange (maximum 2 mn)

TEMD…….10 ul

Solution de persulfate d'ammonium 10%…….….75 ul

Couler et mettre le peigne immédiatement

Dépôt d'echantillon : 10 à 20 ul

Mise sous tension : 20 mA ,25V

Fixation : 45 min dans la solution de fixation.

Solution de fixation :

TCA……..... 12 gr

Eau distilée……100 ml

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration.

Solution de coloration :

Bleu de coomassie R250…….....0.5g

TCA…….4 g

Méthanol……....100 ml

Eau distillé…….100 ml

Décoloration : dans la solution de décoloration.

Solution de décoloration :

Acide acétique……..…35.7 ml

Eau distilée……..312.5 ml

Méthanol……..….150 ml**.**

Annexe 09 : électrophorése en conditions dissociantes et dénaturantes en présence du SDS et du 2- β mercaptoethanol (PAGE-SDS)

Solution d'acrylamide :

Acrylamide…….……36 gr

Bisacrylamide…….…….……1 gr

Eau distilée……..100 ml

Tampon de gel de séparation :

Tris…….……6.25

Eau distilée…….……50 ml

Ajuster à pH 8,8 avec de HCl 4N

Tampon de gel de concentration (Solution C) :

Tris…….…….3 gr

Eau distilée……..….50 ml

Ajuster à pH 6.8 avec de HCl 4N

Tampon d'electrode :

Tris…….…….….……1.2 gr

Glycine…….….…….5.75 gr

SDS…….....….….……0.2 gr

Eau distilée…….……200 ml

Tampon d'echantillon :

Solution (C)……..…….....500 ul

Eau distilée……..……...….250 ul

SDS (10%)…….…..……..…250 ul

2-mercaptoéthanol……..……50 ul

Dissoudre 1 à 2 mg de protéines lyophilisées dans 800 ul de ce tampon.

Chauffer à 100°c pendant 4 à 5 min puis refroidir dans un bain d'eau froide.

Ajouter 200 ul d'une solution de glycérol 50% (V/V) et quelques graines de bleu de bromophénol.

Electrophorése :

Préparation du gel de séparation : T=17% et C=2.7% (pour une plaque) :

Solution (A)……...….4.60ml

Solution(S)……..…...….2.51 ml

Eau distilée…….……2.73 ml

(Dégazer pendant 2 mn maximum)

SDS 10%……..……..……..100 ul

TEMED……..……..……..13 ul

Persulfate d'ammonium à 10% …….……..……..75 ul

Couler à environ 1.5 cm du sommet de la plaque de moindre hauteur.

Préparation du gel de concentration : T=4.8% et C=2.7% (pour une plaque).

Solution (A)……1.3 ml

Solution(C)…….2.5 ml

Eau distilée…….5.8 ml

Dégaser quelques secondes

Solution de SDS à 10%…….…….100 ul

TEMED……...….20 ul

Persulfate d'ammonium……..….10 ul

Couler immédiatement sur le gel de séparation polymérisé et mettre le peigne

Dépôt des d'echantillon : 10 à 20ul.

Mise sous tension : 20 mA ,250V.

Fixation : 45 min dans la solution de fixation**.**

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration.

Décoloration : dans la solution de décoloration.