

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE MOULOU MAMMERI DE TIZI OUZOU, ALGERIE  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUE  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE – MICROBIOLOGIE**



**Mémoire**

Présenté en vue de l'obtention du master

Spécialité : Sciences biologiques

Option : Biochimie Appliquée

**THEME**

**Comparaison de la sensibilité des caséines bovines, camelines, caprines et ovines à l'action de la chymotrypsine et l'évaluation de l'activité antioxydante.**

Présenté par : BOUHALA Tassadit

CHALLAL Chafiaa

Devant le jury :

Président : M<sup>me</sup> SENOUSSE- GHEZALI C. Maitre assistante classe A

Promoteur : M<sup>me</sup> ALMI-SEBBANE D. Maitre assistante classe A

Examineurs : M<sup>me</sup> SENANI-OULARBI N. Maitre assistante classe A

M<sup>me</sup> BEDOUHENE- FENAN S. Maitre de conférence classe B

**Année universitaire : 2017-2018**

## *Remerciements*

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promotrice Madame ALMI-SEBBANE D., Maître assistante au département des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont également à Madame SENOUSSI-GHEZALI C. pour l'aide qu'elle nous a apporté lors de notre stage pratique au laboratoire de Biochimie et pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

A Mesdames BEDOUHEN-FENAN S. et SENANI-OULARBI N., nous les remercions d'avoir fait partie des examinateurs, nous connaissons leurs savoirs et leurs savoir-faire dans la matière.

Tous nos enseignants trouvent ici l'expression de nos profonds respects.

Un grand merci à tous les membres du laboratoire de biochimie pour leur disponibilité et leur soutien.

Nos remerciements s'adressent finalement à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide pour la réalisation de ce travail. Que toutes ces personnes soient assurées de notre reconnaissance.

## *Dédicace*

### *Je dédie ce modeste travail ...*

A mon père et à ma mère qui sont une réserve inépuisable de courage. Puisse ce travail récompenser votre patience et persévérance et tous les sacrifices que vous avez consentis.

A mes frères et sœurs pour leurs sincères ententes, solidarité, compréhension  
et leurs esprits de fraternité.

A ma tante Nora qui a toujours été là pour moi.

A mes chers neveux Alicia et Younes.

A mon ami BELLOUT Hakim qui est une source de confiance et d'encouragement.

A tous mes vrais amis pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir.

A tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail.

*Tassadit*

## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père  
qui m'a toujours soutenu et qui a été toujours présent pour moi.

A la plus chère au monde, ma mère qui m'a toujours offert ses aides morales durant mes  
études.

A mon frère et mes deux sœurs, qui étaient toujours à mes côtés en m'apportant leur aide

A mes deux grandes mères,

A mes tantes et mes oncles chacun son nom

A mes amis et à toute la promotion de master 2 biochimie appliquée.

*Chafiaa*

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

<b>Introduction Générale</b> .....	1
------------------------------------	---

## Synthèse bibliographique

I.1. Présentation et caractéristiques des différents laits .....	3
I.1.1. Présentation du lait .....	3
I.1.2. Elevage et production laitière .....	3
I.1.2.1. Production laitière mondiale .....	4
I.1.2.2. Production laitière en Algérie .....	5
I.1.3. Caractéristiques des différents laits .....	6
I.1.3.1. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques .....	6
I.1.3.2. Propriétés nutritionnelles .....	7
I.1.4. Aptitudes à la transformation.....	13
I.2. Présentation du système caséinique des différents laits.....	14
I.2.1. Caséines .....	14
I.2.1.1. Caséines $\alpha$ S .....	15
I.2.1.2. Caséines $\beta$ .....	18
I.2.1.3. Caséine $\kappa$ .....	19
I.3. Hydrolyse enzymatique .....	21
I.3.1. Les enzymes digestives.....	22
I.3.1.1. La chymotrypsine .....	22
I.3.2. Peptides bioactifs .....	24
I.3.3. Commercialisation des peptides bioactifs.....	25

## Matériel et méthodes

II.1 Matériel .....	28
II.1.1. Matière première .....	28
II.1.2. Produits chimiques .....	28
II.1.3. Matériel biologique.....	28
II.1.4. Appareillage.....	29
II.2. Méthodes .....	29
II.2.1. Collecte du lait .....	29
II.2.2.1. Mesure du pH .....	29
II.2.2.2. Isolement des caséines totales .....	30
II.2.2.3. Dosage des protéines .....	32
II.2.2.4. Méthodes électrophorétiques .....	33
II.2.2.4.1. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide.....	33
II.2.2.4.2. Conduite de l'électrophorèse .....	34
II.2.2.4.3. Révélation des bandes de migration électrophorétiques .....	36
II.2.2.5. Hydrolyse chymotrypsique des caséines .....	37
II.2.2.6. Test de DPPH .....	37

## Résultats et discussion

III.1. Mesure du pH .....	39
III.2. Teneur en protéines .....	40
III.3. Comportement électrophorétique des caséines des différentes espèces.....	42
III.4. La sensibilité des caséines des différentes espèces à la chymotrypsine.....	45
III.5. Activité antioxydante .....	46
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>49</b>

Références bibliographiques.

Annexes.

## *Liste des abréviations*

aa	Acide aminé
Ac lac	Acide lactique
BSA	Sérum albumine bovine
DPPH	2-diphényl-1-picrylhydrazyl
CN	Caséine
CN- $\alpha$ S	Caséine $\alpha$ S
CN- $\beta$	Caséine $\beta$
CNIEL	Economie laitière en chiffres
DO	Densité optique
FAO	Food and Agriculture Organization
J.O.	Journal officiel
kcal /litre	Kilo calorie /litre
kDa	Kilo dalton
PM	Poids moléculaire
P/v	Poids /volume
TCA	Acide trichloracétique
TEMED	N, N, N', N' tétra méthyl-éthylène diamine
TRIS	Tris- hydroxy – méthyl – amino- méthane

## *Liste des figures*

N°	Titres	Pages
<b>01</b>	La production laitière mondiale des différents types de laits	<b>04</b>
<b>02</b>	Représentation de la micelle de caséines bovines selon le modèle de SCHMIDT (1980)	<b>15</b>
<b>03</b>	Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles ainsi que les modèles de liaisons des caséines $\alpha$ , $\beta$ et $\kappa$	<b>21</b>
<b>04</b>	Les différents mécanismes pour la libération des peptides bioactifs à partir des caséines	<b>22</b>
<b>05</b>	Structure 3 D de la chymotrypsine.	<b>23</b>
<b>06</b>	Triade catalytique et mécanisme d'action de la chymotrypsine	<b>24</b>
<b>07</b>	Etapas suivies lors de l'isolement des caséines issues du lait bovin, camelin, caprin et ovin	<b>31</b>
<b>08</b>	Courbe étalon pour le dosage des protéines par la méthode de LOWRY <i>et al.</i> (1951) avec comme protéine étalon la BSA	<b>32</b>
<b>09</b>	Unité d'électrophorèse sur mini-cuve SE280	<b>34</b>
<b>10</b>	Structure du dodécylsulfate de sodium (SDS)	<b>35</b>
<b>11</b>	Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS, en utilisant des marqueurs de taille (l' $\alpha$ -lactalbumine, la $\beta$ -lactoglobuline, l'ovalbumine et l'albumine sérique bovine).	<b>36</b>
<b>12</b>	Structure et principe de la stabilité du DPPH et sa réduction par l'antioxydant (AH)	<b>38</b>
<b>13</b>	Electrophorègramme en PAGE-SDS (T=15% ; C=2,7% ; pH=8,8) des caséines du lait des différentes espèces. LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis ; M : Marqueur de taille	<b>42</b>
<b>14</b>	Electrophorègramme des caséines du lait des différentes espèces en PAGE-urée (T=13% ; C=2,7% ; pH=8,8). LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis.	<b>44</b>
<b>15</b>	Electrophorègramme en PAGE-SDS des hydrolysats protéiques libérés après l'action de la chymotrypsine sur les caséines totales de différentes espèces. 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 et 8 : temps d'incubation correspondant respectivement à 1/4, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5 et 24 h ; M : marqueurs de taille ; Cx : caséines totales ; CN : caséines ; LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis	<b>45</b>
<b>16</b>	Pourcentages d'inhibition du DPPH pour les caseines non hydrolysées (CN-NH) et celles hydrolysées (CN-H) des quatres espèces. LV (lait de vache), LCH (lait de chamelle), LC (lait de chèvre), LB (lait de brebis).	<b>47</b>

## *Liste des tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>I</b>	Evolution de la production laitière totale dans le monde selon les espèces animales	<b>05</b>
<b>II</b>	Evolution de la production laitière totale en Algérie	<b>06</b>
<b>III</b>	Caractéristiques physicochimiques des différents laits	<b>07</b>
<b>IV</b>	Teneur en eau dans le lait des différentes espèces	<b>08</b>
<b>V</b>	Teneurs en éléments minéraux majeurs des laits de vache, chamelle, chèvre et brebis	<b>09</b>
<b>VI</b>	Pourcentages lipidiques dans le lait des différentes espèces	<b>10</b>
<b>VII</b>	Concentrations protéiques des différents types de laits	<b>13</b>
<b>VIII</b>	Principales fonctions des caséines du lait	<b>14</b>
<b>IX</b>	Les principales caractéristiques physicochimiques des caséines $\alpha_S$ des différentes espèces	<b>17</b>
<b>X</b>	Les principales caractéristiques physicochimiques de la caséine $\beta$ des différentes espèces	<b>18</b>
<b>XI</b>	Les principales caractéristiques physicochimiques de la caséine $\kappa$ des différentes espèces	<b>20</b>
<b>XII</b>	Quelques exemples de peptides bioactifs issus des caséines	<b>26</b>
<b>XIII</b>	Certains exemples de peptides bioactifs commercialisés issus des caséines	<b>27</b>
<b>XIV</b>	Echantillons de lait collectés	<b>28</b>
<b>XV</b>	Valeurs du pH mesurées pour les différents laits	<b>39</b>
<b>XVI</b>	Teneurs des différentes fractions protéiques dans les échantillons de lait étudiés.	<b>40</b>
<b>XVII</b>	Poids moléculaires (kDa) des caséines majeures du lait des différentes espèces.	<b>43</b>

## *Listes des annexes*

<b>N°</b>	<b>Titres</b>
<b>I</b>	Protocole de détermination de la teneur en protéines par la méthode de LOWRY <i>et al</i> (1951)
<b>II</b>	Protocole d'électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes en présence du SDS et du 2-mercaptoethanol (PAGE-SDS)
<b>III</b>	Protocole d'électrophorèse en conditions dissociantes en présence d'urée et du 2-mercaptoethanol (PAGE-urée)
<b>IV</b>	Préparation du tampon phosphate
<b>V</b>	Structure primaire de la caséine $\alpha$ S1 bovine
<b>VI</b>	Structure primaire de la caséine $\alpha$ S2 bovine
<b>VII</b>	Structure primaire de la caséine $\beta$ bovine
<b>VIII</b>	Structure primaire de la caséine k bovine
<b>VIII</b>	Séquence primaire du variant génétique B de la caséine $\alpha$ S1 cameline
<b>X</b>	Séquence primaire de la caséine $\alpha$ S2 cameline
<b>XI</b>	Séquence primaire de la caséine $\beta$ cameline
<b>XII</b>	Séquence primaire de la caséine k cameline
<b>XIII</b>	Séquence primaire de la caséine $\alpha$ S1 ovine
<b>XIV</b>	Séquence primaire de la caséine $\alpha$ S2 ovine
<b>XV</b>	Séquence primaire de la caséine $\beta$ ovine
<b>XVI</b>	Séquence primaire de la caséine k ovine
<b>XVII</b>	Séquence de la chymotrypsine bovine

## *Résumé*

Dans la présente étude, les caséines ont été choisies comme matière première pour plusieurs raisons, d'une part elles représentent la constituante majeure du lait, d'autre part, leur forme flexible et leur structure ouverte leur procure une plus grande susceptibilité aux différentes protéases. Dans le but de rechercher des peptides bioactifs qui peuvent remplacer les antioxydants synthétiques, nous avons mené une étude qui vise dans un premier temps à déterminer la teneur protéique des quatre échantillons bovin, camelin, caprin et ovin, celle-ci montre la richesse du lait de brebis en protéines totales et en caséines. Par la suite, nous avons procédé à l'isolement et à la caractérisation électrophorétique des caséines. Les profils électrophorétiques résultants ont révélé la faible mobilité des caséines camelines comparativement à leurs homologues dans le lait bovin. Dans un deuxième temps, nous avons testé la sensibilité des caséines des différentes espèces à la chymotrypsine. Les caséines du lait de vache sont les plus sensibles à cette enzyme comparé à celles du lait du dromadaire qui sont plus résistantes. Enfin, une évaluation de l'activité antioxydante des caséines ainsi que leurs hydrolysats a été effectuée par le test de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'activité antioxydante été plus importante après hydrolyse pour les quatre espèces et les peptides issus des caséines du lait de brebis et de chamelle présentent les activités antioxydantes les plus élevées.

**Mots clés :** Caséines / Lait / Bovin / Camelin / Caprin / Ovin / chymotrypsine /DPPH.

## *Abstract*

In this study, caseins were chosen as raw material for various reasons, on the one hand they represent the major constituent of milk, they are valued in the agri-food industries and are considered to be a major cheese component. On the other hand, their flexible form and open structure gives them greater susceptibility to different proteases. We conducted a study that initially aims to determine the protein content of four samples (cattle, camel, goat and sheep), it shows the richness of sheep's milk in total protein and casein. Subsequently, we proceeded to the isolation and the electrophoretic characterization of the caseins. The resulting electrophoretic profiles revealed the low mobility of camel caseins compared to their counterparts in bovine milk. In a second step, we tested the casein sensitivity of different species to chymotrypsin. Caseins from cow's milk is determined to be the most sensitive to this enzyme compared to those of camel's milk which are more resistant. Finally, an evaluation of the antioxidant activity of the caseins as well as their hydrolysates was carried out by the DPPH test. The results obtained showed that the antioxidant activity was greater after hydrolysis for the four species and the peptides derived from caseins from ewe and camel milk had the highest antioxidant activity.

Key words: Casein / Milk / Cattle / Camel / Goat / Ovine / Chymotrypsin / DPPH.

# **Introduction**

## **Générale**

Le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population mondiale. Ce produit est l'aliment de base de tout jeune mammifère au début de sa vie, est aussi vital pour les autres tranches d'âge. Il doit contenir tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance (protéines, peptides, lactose, matière grasse) et les éléments minéraux, notamment le calcium et les vitamines.

Les laits des différentes familles de mammifères ont dans l'ensemble des compositions semblables. Toutefois, les proportions des principaux constituants peuvent varier de façon notable d'une famille à l'autre, et au sein d'une même famille d'une espèce à l'autre. En revanche, les variations sont moindres d'une race à l'autre au sein d'une même espèce.

Il est, comme la plupart des matières premières d'origine biologique, très périssable, ce qui a contraint l'homme à inventer des moyens de différer son altération. Ainsi plusieurs procédés de transformation du lait en produits dérivés (fromages, laits fermentés, laits en poudre) sont connus depuis des siècles. Ces procédés ancestraux sont encore de nos jours utilisés dans la préparation des produits laitiers ayant des fonctionnalités nouvelles, fabriqués dans les usines modernes.

La transformation des protéines du lait en particulier celles des caséines en fromage est l'une des plus importantes transformations technologiques dans le domaine des industries agroalimentaires. En plus de leur rôle nutritionnel et fonctionnel, les caséines sont actuellement recherchées pour les activités biologiques de leurs peptides constitutifs.

Ces peptides présentent différentes activités ; ils réduisent le risque de maladie cardiaque, de diabète, de cancer. Ils sont surtout connus pour leurs activités antioxydantes élevées, d'ailleurs ils sont utilisés dans les industries alimentaires comme des aliments fonctionnels réduisant ainsi le risque d'oxydation des aliments. En raison de leur forte digestibilité, les peptides caséiniques sont également utilisés dans les industries pharmaceutiques comme formules infantiles pour les enfants qui présentent des allergies vis-à-vis de certains composants du lait en particulier celui de vache.

Afin de remplacer les antioxydants synthétiques utilisés dans les produits alimentaires pour retarder l'oxydation qui présente un risque sur la santé, plusieurs études ont été menées dans le but de rechercher des antioxydants naturels.

## **Introduction Générale**

---

Dans cette optique, l'objectif de cette étude est d'une part, la comparaison de la sensibilité des caséines du lait des différentes espèces (bovines, camelines, caprines, ovines) à l'action de la chymotrypsine, et d'autre part d'évaluer l'activité antioxydante des hydrolysats chymotrypsiques des espèces étudiées.

**Synthèse**  
**bibliographique**

## **I.1. Présentation et caractéristiques des différents laits.**

### **I.1.1. Présentation du lait**

Le lait a été défini, lors du Congrès International de la répression des fraudes qui s'est tenu à Paris en 1909, comme : "le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière, bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum". Cette définition à caractère général est applicable aux laits de vache, de chamelle, de chèvre, de brebis et bien qu'ancienne mais reste valable.

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles après la naissance du jeune, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique. Il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en  $\beta$ -carotène, de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité (ALAIS, 1984 cité in OULD ELEYA, 1996 ; J.O, 1993).

La dénomination «lait» sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination «lait», suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient (J. O, 1993).

Le lait est composé principalement d'eau, de matière grasse, de protéines, de lactose et de sels minéraux. D'un point de vue physico-chimique, il peut être considéré comme une suspension colloïdale polydisperse, dans laquelle les particules de matière grasse (globules gras) et de caséines (micelles de caséine) sont en suspension. Le lactose, la plupart des minéraux et une faible partie des protéines sont solubilisés dans la phase aqueuse non micellaire du lait : le lactosérum.

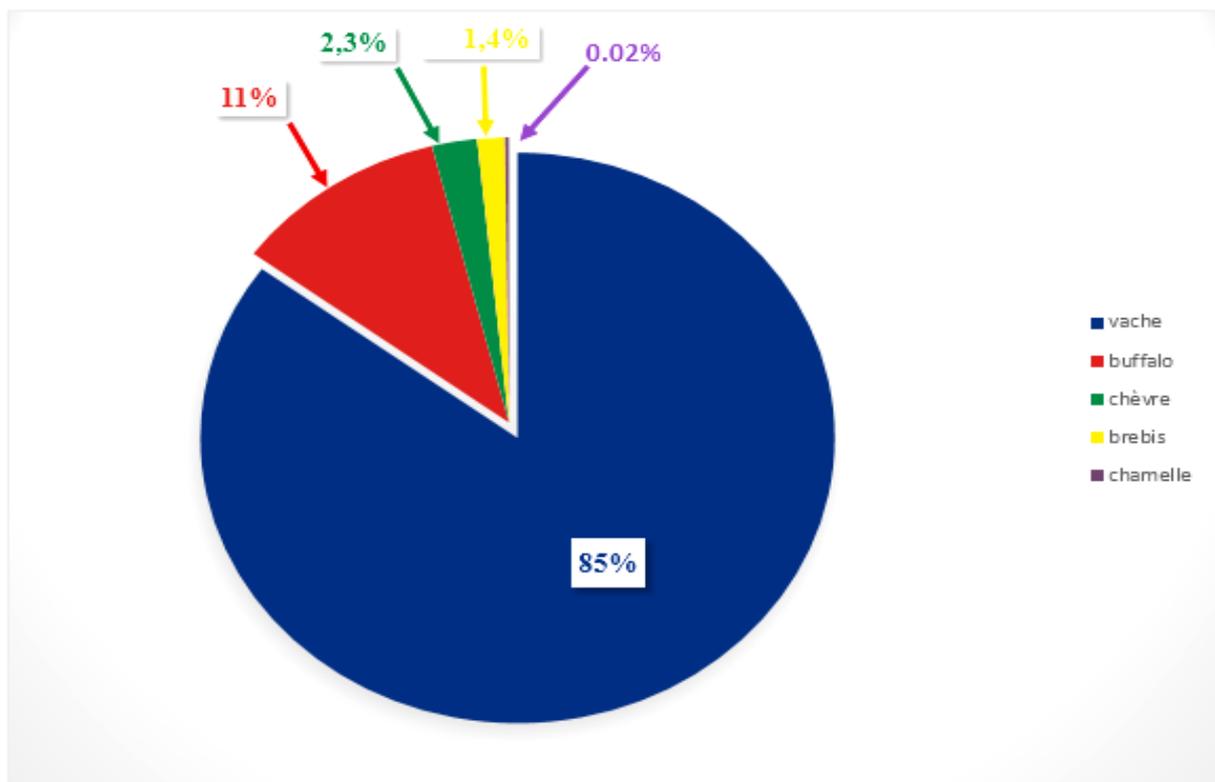
### **I.1.2. Elevage et production laitière**

Selon la FAO (2018), l'élevage de bovins peut s'effectuer dans un large éventail d'environnements, quant aux autres espèces laitières qui permettent de produire du lait dans des environnements marginaux caractérisés par la rareté des pâturages et des conditions climatiques défavorables. Les brebis permettent de produire du lait dans les régions semi-arides du pourtour méditerranéen, les chèvres dans les régions d'Afrique avec des sols pauvres. Les chamelles qui résistent aux conditions désertiques et de sécheresse, sévissent dans les régions arides et semi arides (CHEHMA, 2003).

### I.1.2.1. Production laitière mondiale

Le lait est l'une des matières premières agricoles les plus produites dans le monde et l'une des plus précieuses. Il est produit et consommé dans pratiquement tous les pays du monde et se classe parmi les cinq matières les plus importantes, tant en quantité qu'en valeur, dans la plupart d'entre eux (FAO, 2013). Sa production totale a atteint en 2016 les 826 milliards de litres (CNIEL, 2018).

Selon des statistiques publiées par la FAO en 2015, la production mondiale de lait est dominée par 5 espèces animales : les vaches laitières, les bufflonnes, les chèvres, les brebis et les chamelles (figure 01).



**Figure 01** : La production laitière mondiale des différents types de laits (FAO, 2015).

Par espèce, il est à noter aussi que l'essentiel de la croissance de la production laitière mondiale repose sur celle de lait de vache qui progresse pourtant toujours moins vite (+ 25 % depuis 2000) que celles des autres ruminants (+ 40 %). En outre, la structure de la répartition de la production totale de lait au niveau mondial entre les différents ruminants n'a pas connu des changements significatifs durant toute cette dernière décennie. Cette structure est restée pratiquement stable et invariable comme le fait ressortir le tableau I pour l'année 2012.

**Tableau I** : Evolution de la production laitière totale dans le monde selon les espèces animalières (Unité : %).

	2008	2009	2010	2011	2012
<b>Lait de vache</b>	83,8	83,5	83,2	83,4	83,2
<b>Lait de chèvre</b>	2,23	2,2	2,3	2,2	2,24
<b>Lait de brebis</b>	1,3	1,4	1,4	1,3	1,58
<b>Lait de chamelle</b>	0,26	0,25	0,3	0,3	0,4
<b>Total</b>	100	100	100	100	100

Source : CNIEL, 2013.

### I.1.2.2. Production laitière en Algérie

Considérée comme étant une source de protéine animale importante et ayant un rôle vital dans l'alimentation humaine, le lait revêt en Algérie un caractère hautement stratégique (GHOZLANE *et al.*, 2003).

En amont de la filière, l'essentiel de la production nationale est assurée par le cheptel bovin laitier à hauteur de 80% (KACIMI EL HASSANI, 2013), le reste par le lait de brebis et le lait de chèvre, alors que la production laitière cameline est marginale (DRISS, 2017).

Un accroissement notable de la production a été remarqué ces dernières années, dont la production est passée de 1,5 milliards de litres en 2000 à 2,9 milliards de litres en 2011, avec un taux annuel de (+6%) par an depuis 2000 pour atteindre les 3,08 milliards de litres en 2012 et 3.5 milliards en 2014 (Tableau II) dont 73 % de lait de vache, 16 % de lait de brebis, 9 % de lait de chèvre et 2 % de lait de chamelle (ZAIDA, 2016).

La moyenne de la consommation algérienne en lait est estimée de 110 à 120L/habitant/an (KADI *et al.*, 2007 ; ZAIDA, 2016). Les besoins des algériens en lait sont très importants et sont estimés à 7 milliards de litres en 2015 (ZAIDA, 2016), en particulier relativement aux pays voisins du Maghreb (KACIMI EL HASSANI, 2013 ; MANSOUR, 2015).

La production nationale Algérienne du lait en contrepartie couvre environ 40% de la demande et demeure insuffisante pour couvrir les besoins des consommateurs (KACIMI EL HASSANI, 2013 ; DAOUDI *et al.*, 2017) car l'accroissement du cheptel arrive à peine à suivre l'évolution de la population, le reste des besoins est alors comblé et couvert par des importations.

Malgré les efforts fournis par le pouvoir public à travers divers programmes visant la garantie de la disponibilité du lait, les importations algériennes en lait occupent la deuxième place des importations alimentaires (ZAIDA, 2016).

**Tableau II :** Evolution de la production laitière totale en Algérie  
(Unité : millions de litres).

Années	Quantités produites
1997 <sup>a</sup>	1,05
2000 <sup>a</sup>	1,58
2004 <sup>a</sup>	1,63
2006 <sup>a</sup>	1,75
2010 <sup>b</sup>	1,96
2012 <sup>b</sup>	3,08
2014 <sup>b</sup>	3,5

Source : (a) (MADR 2007 in ZAIDA (2016) ; (b) Déclaration de la Direction Générale de l'office interprofessionnel du lait)

### I.1.3. Caractéristiques des différents laits

#### I.1.3.1. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques

Sur le plan organoleptique, le lait est un liquide blanc opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en  $\beta$  carotène. Il a une odeur marquée mais caractéristique. Son goût est variable selon les espèces animales (KUZDZAL-SAVOIE et KUZDZAL, 1959).

Selon YABRIR *et al.* (2016), les proportions en matières grasses et en acides gras influencent les propriétés organoleptiques des laits et des produits laitiers, le type de fourrage et la disponibilité en eau causent également des changements de goût (KHAN et IQBAL, 2001).

Le lait de chèvre ne contient pas de  $\beta$ -carotène alors que ce pigment liposoluble est au contraire toujours présent dans le lait de vache (KUZDZAL-SAVOIE et KUZDZAL, 1959).

En raison de l'absence de  $\beta$ -carotène, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache qui est jaunâtre (CHILLIARD, 1997).

Le lait de brebis est de couleur blanc nacré, plus visqueux comparé aux laits des autres espèces, il présente une odeur, dite de suint, discrète quand il est récolté dans de bonnes conditions (YABRIR *et al.*, 2014).

Le lait de dromadaire quant à lui est d'une couleur blanc mat en raison notamment de la structure et de la composition de sa matière grasse, pauvre en  $\beta$ -carotène (SAWAYA *et al.*, 1984), a un goût assez doux, légèrement âpre et parfois salé, acide ou encore amer (RAMET, 2003).

Les caractéristiques physico-chimiques sont liées en particulier à la composition de chaque espèce laitière (tableau III).

**Tableau III** : Caractéristiques physicochimiques des différents laits.

Propriétés	Viscosité	Acidité (% a lac)	Densité	pH
LV	1,0231-1,0398 <sup>a</sup>	0,15-0,18 <sup>a</sup>	1,032 <sup>b</sup>	6,65-6,71 <sup>a</sup>
LCH	3,21 <sup>c</sup>	0,13 <sup>d</sup>	1,026-1,038 <sup>b</sup>	6,57-6,97 <sup>b</sup>
LC	1,029-1,039 <sup>a</sup>	0,14-0,23 <sup>a</sup>	1,0299 <sup>e</sup>	6,50-6,80 <sup>a</sup>
LB	1,0347-1,0384 <sup>a</sup>	0,22-0,25 <sup>a</sup>	1,036 <sup>f</sup>	6,51-6,85 <sup>a</sup>

<sup>(a)</sup>PARK *et al.* (2007) ; <sup>(b)</sup> KAMOUN (1995) ; <sup>(c)</sup> SBOUI *et al.* (2009) ; <sup>(d)</sup> SAWAYA *et al.* (1984) ; <sup>(e)</sup> VEINOGLU *et al.* (1982) ; <sup>(f)</sup> ASSENAT(1985)

Le lait de brebis possède une plus grande viscosité, acidité et densité comparé aux laits de chèvre et de vache (PARK *et al.*, 2007). Le lait de dromadaire est moins acide et moins dense que le lait de vache (KAMOUN, 1995 ; SBOUI *et al.*, 2009 ; AL HAJ OMAR *et al.*, 2010), son pH est similaire à celui du lait de brebis (YAGIL *et al.*, 1994) mais il est légèrement inférieur à celui du lait de vache (SAWAYA *et al.*, 1984).

### I.1.3.2. Propriétés nutritionnelles

Comme pour le lait de vache, les teneurs en nutriments des différents laits sont susceptibles de variations, liées par exemple à la durée de la lactation ou à l'alimentation (type de fourrage utilisé). Les variations sont beaucoup plus marquées chez les camélidés (FAO, 1998).

#### ▪ **Energie**

L'apport en énergie d'un litre de lait différencie les espèces animales. Selon FAO (1995), de larges variations existent à l'intérieur d'une même espèce (cela étant, bien entendu, lié à la teneur en lipides du lait).

L'apport énergétique est en moyenne de 1 100 kcal/litre pour le lait de brebis, plus faible pour le lait de chamelle avec  $759 \pm 4,51$  (SHAMSIA, 2009) et une valeur de 630 qui est encore plus faible pour le lait de vache et celui de chèvre (RAZAFINDRAKOTO *et al.*, 1993).

#### ▪ **L'eau**

L'eau est un facteur important qui affecte la composition du lait. Sa teneur varie entre 86 et 88%, cette variation est due à son apport dans l'alimentation (KHAN et IQBAL, 2001).

L'établissement d'un comparatif de la teneur en eau entre le lait de chamelle, de chèvre et de vache montre peu de différence, seul le lait de brebis présente une teneur légèrement inférieure (tableau IV).

**Tableau IV** : Teneur en eau dans le lait des différentes espèces (HAILU *et al.*, 2016).

<b>Espèce laitière</b>	<b>Eau (%)</b>
<b>Vache</b>	87,3
<b>Chamelle</b>	88,1
<b>Chèvre</b>	87,7
<b>Brebis</b>	80,7

En cas de déshydratation, la teneur en eau du lait de chamelle augmente (passant de 86 à 91 %), ce qui constitue une adaptation naturelle au milieu afin d'assurer en priorité les besoins des jeunes chamelons (YAGIL et ETZION, 1980).

### ▪ Minéraux

La teneur totale en minéraux est généralement exprimée en cendres totales. Bien que les sels représentent dans la plupart du temps moins de 1% du lait, ils influent sur l'état physique et la stabilité des protéines du lait, en particulier le complexe phospho-caséinates (BLOOMFIELD et MEAD, 1974). Les variations de la teneur en minéraux ont été attribuées à la race, l'alimentation, les procédures analytiques (AL HAJ OMAR *et al.*, 2010), l'apport en eau (SAWAYA *et al.*, 1984 ; HADDADIN *et al.*, 2008 ; AL HAJ OMAR *et al.*, 2010), l'état sanitaire de l'animal et le stade de la lactation (PARK *et al.*, 2007).

Une vue d'ensemble de la composition minérale du lait de vache, chamelle, chèvre et brebis est donnée dans le tableau V.

**Tableau V** : Teneurs en éléments minéraux majeurs des laits de vache, chamelle, chèvre et brebis (mg/100g).

Laits	Eléments minéraux						Références
	Ca	P	Mg	K	Na	Cl	
<b>Vache</b>	107-133	63-102	09-16	144-178	40-58	90-106	ZAMBERLIN <i>et al.</i> (2012)
<b>Chèvre</b>	106-192	92-148	10-21	135-235	34-50	100-198	
<b>Brebis</b>	136-200	95-145	08-19	174-190	29-31	71-92	
<b>Chamelle</b>	116	67	11	99	33	280	RAMET (2001)

Les laits de vache, de chèvre et de brebis sont plus riches en minéraux que le lait de dromadaire. La concentration moyenne des éléments minéraux majeurs des laits de chèvre et de brebis est plus élevée que celle du lait de vache à l'exception du sodium (ZAMBERLIN *et al.*, 2012). Le lait de brebis précisément est deux fois plus minéralisé que celui de vache (DELACROIX-BUCHET *et al.*, 1994).

D'après SAWAYA *et al.* (1984), les teneurs en Ca, P et Mg du lait de chamelle sont proches de celles du lait de vache. Ces derniers ont également rapporté la richesse du lait de chamelle en chlorure et en fer, dont la teneur en fer est six fois plus élevée que celle du lait de vache.

### ▪ Vitamines

La teneur totale en vitamines du lait est très variable et dépend du régime alimentaire de la femelle laitière (le niveau de vitamines hydrosolubles étant plus influencé par l'alimentation que le niveau de vitamines liposolubles) (CLAEYS *et al.*, 2014).

Le taux de vitamine C est relativement élevé dans le lait de chamelle, celui-ci peut contenir trois fois plus de vitamine C que le lait bovin (FARAH *et al.*, 1991 ; CLAEYS *et al.*, 2014). La teneur en niacine (B3) est également élevée au niveau du lait de chamelle (HADDADIN *et al.*, 2008). En revanche, la teneur en vitamine A et en riboflavine (B2) y est plus faible que dans le lait bovin (FARAH *et al.*, 1991).

De plus, il est à noter que le lait de brebis et de chèvre ont une teneur en vitamine A supérieure à celle du lait de vache en raison de leur capacité à convertir la  $\beta$  carotène (PARK *et al.*, 2007 ; ABD EL-SALAM et EL-SHIBINY, 2011).

### ▪ Lipides

La matière grasse du lait est considérée comme une source d'énergie. Elle agit comme un solvant pour les vitamines liposolubles et fournit des acides gras essentiels. Les pourcentages lipidiques du lait des différentes espèces sont représentés dans le tableau VI.

**Tableau VI** : Pourcentages lipidiques dans le lait des différentes espèces.

Laits	Taux lipidiques en (%)	Références
Vache	2,8 – 4,8	HUEBNER (2012)
Chamelle	3,15	ELAMINE et WILCOX (1992)
Chèvre	4,5	HAILU <i>et al.</i> (2016)
Brebis	4,96 – 9,60	KUCHTIK <i>et al.</i> (2008) SIMOS <i>et al.</i> (1996)

Le lait de brebis est réputé pour sa richesse en matière grasse et y contient globalement 2 fois plus que les laits de vache ou de chèvre (DELACROIX-BUCHET *et al.*, 1994).

La matière grasse bovine, ovine et caprine est constituée de 97 à 98 % de triglycérides, peu de phospholipides (0.5 à 1.5 %) et d'acides gras libres (0.7 à 1.5 %) (JENSENS *et al.*, 1990 ; PARK *et al.*, 2007). Une proportion de triglycérides estimée à 96 % des lipides totaux a également été rapportée par KARRAY *et al.* (2006) pour le lait camelin.

Les taux en acides gras à chaîne courte et moyenne sont significativement plus élevés chez la brebis et la chèvre que chez la vache dont (2,9%, 2,4%, 1,6%) dans le cas l'acide caproïque (C6: 0), (2,6%, 2,7%, 1,3%) pour l'acide caprylique (C8: 0). Des taux plus importants sont observés pour l'acide caprique (C10: 0) avec (7,8%, 10,0%, 3,0%) et laurique (C12: 0) avec (4,4%, 5,0%, 3,1%) (PARK *et al.*, 2007). Comparée au lait de vache, la matière grasse du lait de chamelle contient moins d'acides gras à chaîne courte (ABU-LEHIA, 1989 ; KARRAY *et al.*, 2005) mais contient des concentrations plus élevées d'acides gras à longues chaînes (KARRAY *et al.*, 2005 ; KARRAY *et al.*, 2006 ; KONUSPAYEVA *et al.*, 2008).

### ▪ Glucides

Le sucre du lait, le lactose, est le principal carbohydrate du lait de chèvre, de brebis, de vache et de chamelle. Le lactose se trouve à des concentrations variables dans le lait de tous les mammifères. Sa teneur dans le lait de chèvre est inférieure d'environ 0,2-0,5% à celle du lait de vache (HAENLEIN et CACCESE, 2006). Le lactose dans le lait de brebis comme chez les autres ruminants est plus faible au début de la lactation (le colostrum) et vers sa fin, contrairement au comportement des graisses et des protéines. Dans le lait de brebis, le lactose est à peu près au même niveau que celui du lait de vache (PARK *et al.*, 2007). En ce qui concerne le lait de chamelle, sa quantité varie de 2,91 g à 4,12 g pour 100 g (KHASKHELI *et al.*, 2005), ce qui est supérieur à la teneur contenue dans le lait de vache (FARAH, 1993).

De grandes différences de cette teneur peuvent être conditionnées par la nutrition animale, c'est-à-dire dépendant des types de plantes avec lesquelles les animaux sont nourris (KHASKHELI *et al.*, 2005).

### ▪ Protéines

Les protéines du lait sont des constituants essentiels et vitaux et font une partie intégrante de la nourriture en tant que source d'énergie et d'acides aminés exogènes nécessaires à la croissance d'un organisme (SZWAJKOWSKA *et al.*, 2011).

La quantité totale de protéines camelines varie de 2,15 à 4,90% (KONUSPAYEVA *et al.*, 2009 ; BREZOVECKI *et al.*, 2015), celle-ci est légèrement inférieure à celle du lait de vache qui est d'environ 3,5 % (KABIL *et al.*, 2015). La composition en acides aminés de ces protéines est aussi très similaire à celle rapportée dans le lait de référence (SAWAYA *et al.*, 1984). La teneur en protéines caprine (2.9%) est également inférieure à celle obtenue pour le lait de vache (ROUDJ *et al.*, 2005 ; HAILU *et al.*, 2016) comparée au lait de brebis qui présente des teneurs protéiques beaucoup plus importantes que celles des laits des autres espèces (OULD ELEYA, 1996) avec une gamme protéique comprise entre 5,32 et 7,74% (KANWAL *et al.*, 2004), ce dernier présente presque deux fois plus de matière azotée totale que le lait de vache (DELACROIX-BUCHET *et al.*, 1994).

Selon son organisation tridimensionnelle, la fraction protéique du lait peut être scindée en deux grands groupes. Le premier, représente environ 80% des protéines totales, est de type micellaire, peu organisé et qui a la particularité de précipiter entièrement à son pH isoélectrique. Cette fraction est constituée de 4 protéines différentes : ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$  et  $\kappa$ ). Le second d'environ 20% à 25 % restant, comprend des protéines relativement organisées, pour la plupart de type globulaires à savoir les protéines du lactosérum. Ces protéines sont essentiellement représentées par l' $\alpha$ -Lactalbumine ( $\alpha$ -La), la  $\beta$ -Lactoglobuline ( $\beta$ -Lg), les immunoglobulines (Ig), la sérum albumine (SA), les protéose-peptones (PP) et d'autres protéines mineures tels la lactoferrine (Lf), la plasmine, la lactoperoxydase (Lp)...etc.

Le lait contient également un certain nombre de protéines présentant des propriétés biologiques variées (enzymes, facteurs de croissances, immunoglobulines ...etc).

Les proportions protéiques des différents types de laits étudiées sont données dans le tableau ci-dessous.

**Tableau VII** : Concentrations protéiques des différents types de laits.

Laits	Protéines totales (g/l)	Caséines (%)	Protéines sériques (%)
Vache	33,5 <sup>a</sup>	80,59 <sup>a</sup>	19,40 <sup>a</sup>
Chamelle	31 <sup>b</sup>	73-83 <sup>c</sup>	18,5-27 <sup>c</sup>
Chèvre	28,18 <sup>d</sup>	71,3 <sup>e</sup>	20,09 <sup>e</sup>
Brebis	58 <sup>a</sup>	76-83 <sup>a</sup>	17-22 <sup>a</sup>

(<sup>a</sup>) PARK *et al.* (2007) ; (<sup>b</sup>) HAILU *et al.* (2016) ; (<sup>c</sup>) MEHAIA *et al.* (1995) ; SOOD et SIDHU (1979) ; (<sup>d</sup>) GRAPPIN *et al.* (1980) ; (<sup>e</sup>) JENNESS (1980)

Le lait de chèvre contient moins de caséines que les autres types de laits ce qui est responsable du faible rendement et la fragilité de la texture des produits laitiers tandis que le lait de brebis possède une très bonne aptitude à la coagulation vu sa richesse en ce constituant (PARK *et al.*, 2007).

#### I.1.4. Aptitudes à la transformation

La transformation en beurre ou en fromage constitue un moyen classique de conservation du lait. Cette forme de stockage permet de reporter dans l'espace et dans le temps la consommation du lait.

Le lait de chèvre a un comportement technologique différent de celui du lait de vache en raison de sa forte variabilité protéique (REMEUF *et al.*, 1989). Selon ces derniers, le comportement du lait de chèvre vis-à-vis la présure diffère de celui du lait de vache même avec des teneurs protéiques similaires. La grande taille des micelles des caséines caprines explique la faible fermenté de ce gel (OULD ELEYA *et al.*, 1998).

Comparé au lait de vache, le lait de dromadaire présente un ensemble de particularités qui limitent sa transformation, à savoir les facteurs antimicrobiens contenus en grandes quantités ce qui rend difficile son acidification même après thermisation (KAMOUN, 1995 ; ATTIA *et al.*, 2000), la faible teneur en extrait sec (KAMOUN et RAMET, 1989; KAMOUN, 1995), particulièrement en caséines (K-CN), la grande taille des micelles de caséines (ATTIA *et al.*, 2001), la teneur réduite en calcium ainsi que la matière grasse du lait de dromadaire qui est difficile à séparer par écrémage à cause de la faible taille des globules gras (FARAH *et*

RÜEGG, 1989 ; KAMOUN, 1995) et à leur composition particulière en acide gras (KAMOUN, 1995).

Le lait de brebis quant à lui est destiné essentiellement à la production fromagère et se distingue du lait de vache et celui de chèvre par sa richesse en composants fromagers principalement les caséines. En coagulation par la présure, celui-ci a un temps de gélification court, le gel s'organise vite et devient très ferme (STORRY *et al.*, 1983).

### I.2.Présentation du système caséinique des différents laits

#### I.2.1. Caséines

Les micelles de caséines sont des particules colloïdales, dont la matière sèche est constituée de 93% de protéines (caséines) et de 7% de minéraux (essentiellement du phosphate de calcium colloïdal). Elles se divisent en quatre grands groupes : les caséines  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$  et  $\kappa$ . Ces caséines ont tendance à s'associer en particules sphériques ou micelles, de tailles variables, fortement hydratées et minéralisées. L'assemblage et la cohésion de cette structure micellaire sont assurés par des liens phosphocalciques.

A la différence des protéines solubles qui ont une structure globulaire compacte et résistante à l'attaque protéolytique, les caséines présentent une structure lâche et peu ordonnée qui les rend accessibles aux enzymes protéolytiques (SCHMIDT, 1980).

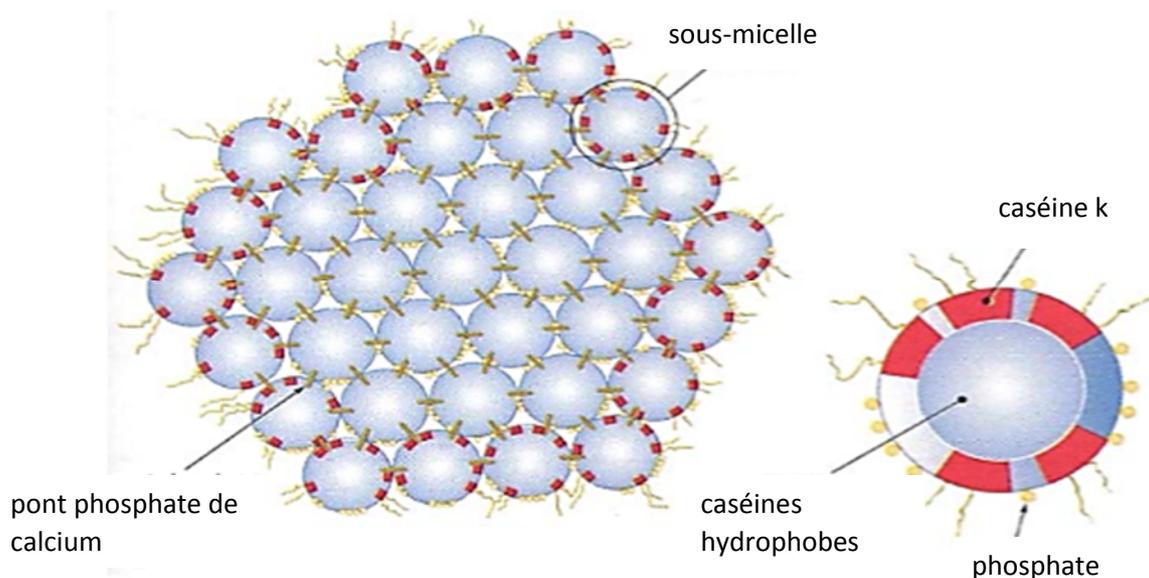
Les caséines des différentes espèces laitières présentent un grand intérêt biologique et technologique (tableau VIII).

**Tableau VIII:** Principales fonctions des caséines du lait (KAPPELER *et al.*, 2003).

Protéine	Fonction principale
$\alpha$ S1 Caséine	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
$\alpha$ S2 Caséine	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
$\beta$ -Caséine	Nutritive (acides aminés, Ca, P)
$\kappa$ -Caséine	Stabilisation et coagulation de la micelle de caséine.

Les caséines sont hétérogènes et comprennent chacune entre deux et huit variantes génétiques (OTTER, 2003), elles se distinguent les unes des autres par leurs tailles, leurs compositions en acides aminés, le niveau de phosphorylation et le nombre de glycosylation de la  $\kappa$  caséine (PARK *et al.*, 2007).

Les caséines des différents ruminants présentent des micelles d'une même forme qui est sphérique mais de dimensions variables. PARK *et al.* (2007) ont enregistré une dimension de 193 nm pour le lait ovin contre 260 nm pour le lait caprin ce qui a été également confirmé par les travaux de POTOČNIK *et al.*, 2011 (210 contre 260 nm). Ainsi les micelles du lait de brebis sont de dimensions légèrement réduites par rapport à celles du lait de chèvre mais supérieures à celle du lait de vache (193 contre 180 nm) (PARK *et al.*, 2007) et (210 contre 182 nm) (POTOČNIK *et al.*, 2011). Les dimensions des caséines camelines (260 à 300 nm) sont également supérieures à celles du lait de référence (FARAH et RUEUGG, 1989). Une représentation schématique des micelles des caséines bovines est illustrée dans la figure ci-dessous.



**Figure 02** : Représentation de la micelle de caséines bovines selon le modèle de SCHMIDT (1980).

### I.2.1.1. Caséines $\alpha$ S

Les structures primaires des caséines  $\alpha$ S1 et  $\alpha$ S2 pour les trois espèces bovine, cameline et ovine sont représentées en annexes (V, VI, IX, X, XIII, XIV). Ces caséines sont des chaînes polypeptidiques phosphorylées. La localisation des charges et des chaînes latérales hydrophobes est très irrégulière au niveau de la caséine  $\alpha$ S1, ce qui confère à la molécule un

comportement dipolaire avec un pôle plutôt hydrophobe et un pôle chargé, comparée à la caséine  $\alpha$ S2 qui a l'hydrophobie moyenne la plus faible en raison de sa richesse en groupements phosphorylés et en résidus glutamyls.

La caséine  $\alpha$ S2 cameline présente des délétions au niveau de sa structure primaire, cette délétion entraîne la perte de trois sérines phosphorylées successives présentes dans la caséine  $\alpha$ S2 bovine. Ce qui n'est pas sans conséquence dans l'assemblage de la micelle, dans sa stabilité et dans ses propriétés nutritionnelles (FERRANTI *et al.*, 1995). Le tableau IX porte sur les principales caractéristiques des caséines du lait bovin, camelin, caprin et ovin.

La caséine  $\alpha$ S1 est la protéine la plus abondante du lait bovin (FARREL, 1973). Les caséines caprines et ovines, comparativement aux caséines bovines, contiennent moins de caséine  $\alpha$ S1 et une proportion semblable de caséine  $\alpha$ S2 (OULD ELEYA, 1996). Les caséines  $\alpha$ S1 et  $\alpha$ S2 de ces deux dernières espèces présentent 99% de similarité entre elles mais comportent des différences considérables par rapport à celles de vache (BALTHAZAR *et al.*, 2017).

**Tableau IX :** Les principales caractéristiques physicochimiques des caséines  $\alpha$ S des différentes espèces.

	$\alpha$ S1					$\alpha$ S2				
	(%)	PM (kDa)	pHi	Nombre d'aa	Phosphorylation	(%)	PM (kDa)	pHi	Nombre d'aa	Phosphorylation
<b>LV</b>	39,7 <sup>a</sup>	23,615 <sup>b</sup>	4,26 <sup>c</sup>	199 <sup>b</sup>	08 <sup>b</sup>	10,3 <sup>a</sup>	25,226 <sup>b</sup>	4,78 <sup>c</sup>	207 <sup>b</sup>	10 - 13 <sup>b</sup>
<b>LCH</b>	22 <sup>d</sup>	25,29 <sup>d</sup>	4,4 <sup>d</sup>	207 <sup>d</sup>	06 <sup>d</sup>	9,5 <sup>d</sup>	21,993 <sup>d</sup>	4,5 <sup>d</sup>	178 <sup>d</sup>	9 <sup>d</sup>
<b>LC</b>	5,6 <sup>a</sup>	25 <sup>e</sup>	-	199 <sup>f</sup>	07 - 09 <sup>f</sup>	19,2 <sup>a</sup>	25 <sup>e</sup>	-	208 <sup>f</sup>	9 - 11 <sup>f</sup>
<b>LB</b>	6,7 <sup>a</sup>	23,41 <sup>g</sup>	-	199 <sup>h</sup>	10 <sup>h</sup>	22,8 <sup>a</sup>	25,616 <sup>g</sup>	-	208 <sup>h</sup>	13 <sup>h</sup>

(<sup>a</sup>) BALTHAZAR *et al.* (2017) ; (<sup>b</sup>) FARREL *et al.* (2004) ; (<sup>c</sup>) ADOUI(2014) ; (<sup>d</sup>) KAPPELER *et al.* (1998) ; (<sup>e</sup>)NASALEAN *et al.* (2017)  
 (<sup>f</sup>) MARLETTA *et al.* (2007) ; (<sup>g</sup>) TRUJILLO *et al.* (2000) ; (<sup>h</sup>) PARK *et al.* (2007)

## I.2.1.2. Caséines $\beta$

La caséine  $\beta$  est la plus hydrophobe de toutes les caséines bien qu'elle ait un caractère amphipolaire assez marqué (BALTHAZAR *et al.*, 2017). En effet, les charges négatives de la caséine  $\beta$  sont essentiellement présentes dans la partie N-terminale, contenant les résidus phosphorylés ce qui rend cette partie fortement hydrophile. Alors que la partie C-terminale est très riche en groupements apolaires. Cette protéine est dépourvue de résidus glucidiques et de cystéine, les principales caractéristiques relatives à la  $\beta$ -CN sont représentées dans le tableau X.

Les structures primaires de la caséine  $\beta$  pour les trois espèces bovine, cameline et ovine sont représentées en annexes VII, XI, XV.

L'action de la plasmine sur cette fraction génère les fragments  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$  et  $\gamma 3$  qui sont insolubles à pH 4,6 (FARREL *et al.*, 2004).

**Tableau X** : Les principales caractéristiques physico chimiques de la caséine  $\beta$  des différentes espèces.

	(%)	PM (kDa)	pHi	Nombre d'aa	Phosphorylations
<b>LV</b>	32,7 <sup>a</sup>	23,983 <sup>b</sup>	4,49 <sup>c</sup>	209 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
<b>LCH</b>	65 <sup>d</sup>	24,9 <sup>d</sup>	4,66 <sup>d</sup>	217 <sup>d</sup>	4 <sup>d</sup>
<b>LC</b>	54,8 <sup>a</sup>	23 <sup>e</sup>	-	207 <sup>f</sup>	3 – 6 <sup>f</sup>
<b>LB</b>	61,6 <sup>a</sup>	23,750 <sup>g</sup>	-	209 <sup>h</sup>	5 – 6 <sup>h</sup>

(<sup>a</sup>) BALTHAZAR *et al.* (2017) ; (<sup>b</sup>) FARREL *et al.* (2004) ; (<sup>c</sup>) ADOUI (2014) ; (<sup>d</sup>) KAPPELER *et al.* 1998 ; (<sup>e</sup>) NASALEAN *et al.* (2017) ; (<sup>f</sup>) MARLETTA *et al.* (2007) ; (<sup>g</sup>) TRUJILLO *et al.* (2000) ; (<sup>h</sup>) PARK *et al.* (2007)

La proportion en  $\beta$  caséine du lait bovin est similaire à celle de la  $\alpha S1$ . Le nombre d'acides aminés de la séquence primaire de la caséine  $\beta$  est similaire pour le lait de brebis et celui de vache.

Les caséines camelines, caprines et ovines contiennent plus de  $\beta$  caséine que de  $\alpha$ S et de  $\kappa$  caséine (WANG *et al.*, 2017). Selon BALTHAZAR *et al.* (2017) et BREZOVECKI *et al.* (2015), la concentration élevée en  $\beta$  caséine peut être la raison de la bonne digestibilité de ces laits et la diminution des allergies infantiles car la  $\beta$ -CN est plus sensible à l'hydrolyse peptidique que les caséines  $\alpha$ S (EL AGAMY *et al.*, 2009).

### I.2.1.3. Caséine $\kappa$

La répartition des résidus chargés et hydrophobes de la chaîne peptidique de la caséine  $\kappa$  est comparable à celle de la caséine  $\beta$  (PAYENS, 1982). Toute fois, elle est caractérisée par la présence d'une portion glycomacropéptide, du côté C-terminal contenant des résidus glucidiques à caractère très hydrophile, par contre le reste de la chaîne protéique est de nature très hydrophobe, cela confère à cette protéine un caractère amphipolaire (HILL et WAKE, 1969). C'est la caséine la plus étudiée en raison de son importance dans la stabilité de la micelle et de son intérêt en transformation laitière. L'hydrolyse de la liaison Phe 97-Ile 98 pour le lait camelin et en Phe 105-Met 106 pour le lait bovin par la chymosine entraîne la libération du caséinomacropéptide très hydrophile et la formation de la paracaséine  $\kappa$ , hydrophobe et insoluble (BREZOVECKI *et al.*, 2015). Les principales caractéristiques des caséines  $\kappa$  de différentes espèces sont représentées dans le tableau suivant.

Seulement 3,47 % de la caséine totale correspond à la caséine  $\kappa$  dans le lait de chamelle (KAPPLER *et al.*, 2003) comparé aux autres laits où des concentrations plus élevées sont signalées.

La  $\kappa$  caséine est stable en présence d'ions de calcium, les micelles de caséines dans le lait de brebis sont plus riche en calcium que celles du lait de vache ou de chèvre et ne nécessite pas l'addition de  $\text{CaCl}_2$  lors de la production des fromages ce qui constitue un avantage technologique pour le lait de brebis (BALTHAZAR *et al.*, 2017).

Les annexes VIII, XII et XVI représentent les structures primaires de la caséine  $\kappa$  des trois espèces bovine, cameline et ovine.

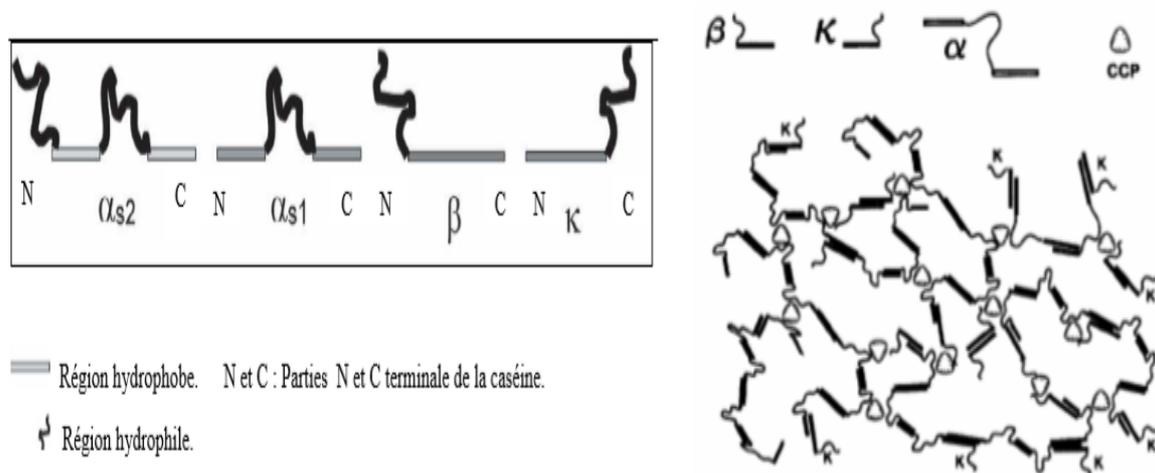
**Tableau XI** : Les principales caractéristiques physicochimiques de la caséine  $\kappa$  des différentes espèces.

\	(%)	PM (kDa)	pHi	Nombre d'aa	Phosphorylation	Glycosylation
<b>LV</b>	11,6 <sup>a</sup>	19,037 <sup>b</sup>	3,97 <sup>c</sup>	169 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>	+
<b>LCH</b>	3,5 <sup>d</sup>	22,294 <sup>d</sup>	4,10 <sup>d</sup>	162 <sup>d</sup>	2 <sup>d</sup>	5 <sup>d</sup>
<b>LC</b>	20,4 <sup>a</sup>	20 <sup>e</sup>	-	171 <sup>f</sup>	2 – 3 <sup>f</sup>	+ <sup>f</sup>
<b>LB</b>	8,9 <sup>a</sup>	19,373 <sup>g</sup>	-	172 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>	3 <sup>h</sup>

<sup>(a)</sup> BALTHAZAR *et al.* (2017) ; <sup>(b)</sup> FARREL *et al.* (2004) ; <sup>(c)</sup> ADOUI (2014) ; <sup>(d)</sup> KAPPELER *et al.* (1998) ; <sup>(e)</sup> NASALEAN *et al.* (2017) ;

<sup>(f)</sup> MARLETTA *et al.* (2007) ; <sup>(g)</sup> TRUJILLO *et al.* (2000) ; <sup>(h)</sup> PARK *et al.* (2007)

Les chaînes hydrophiles et hydrophobes des différentes caséines bovines citées précédemment sont représentées dans la figure 03.



**Figure 03 :** Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles ainsi que les modèles de liaisons des caséines  $\alpha$ S,  $\beta$  et  $\kappa$  (PHOEBE, 2007 ; CHANOKPHAT, 2005).

### I.3. Hydrolyse enzymatique

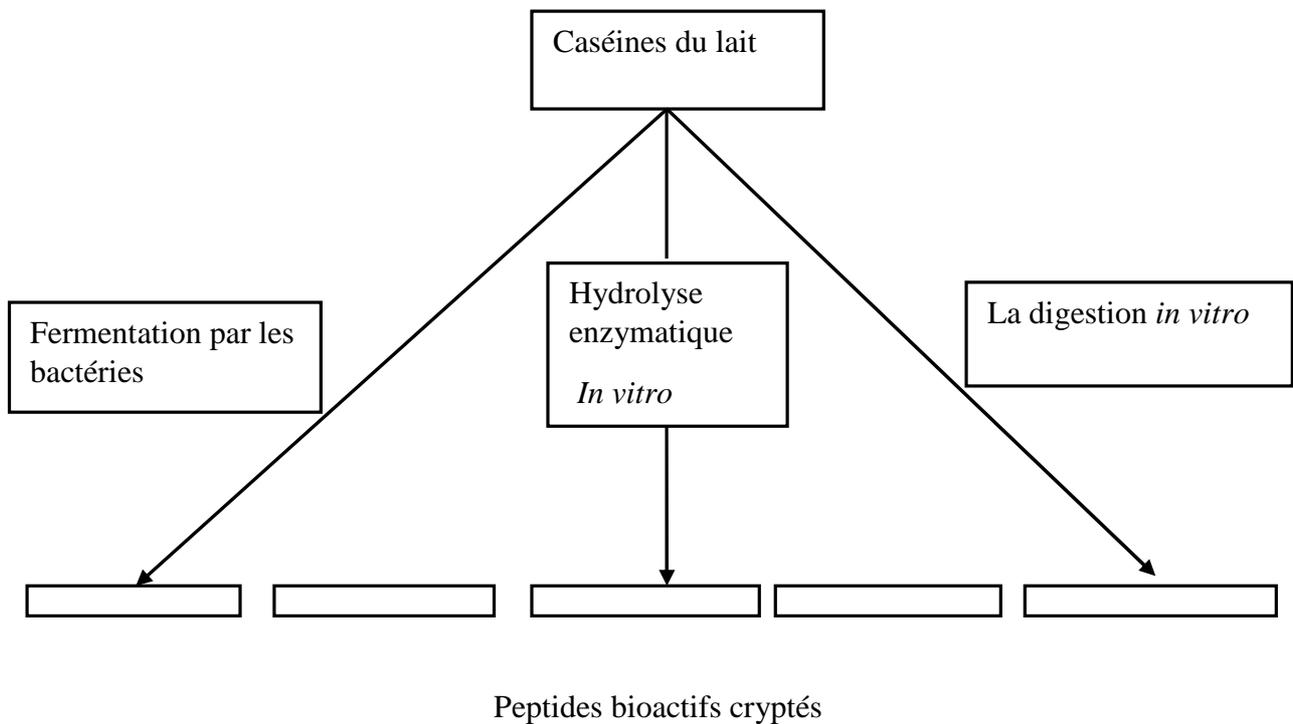
Les protéases catalysent la rupture des liens peptidiques des protéines conduisant à une modification de leur conformation, à une diminution du poids moléculaire des chaînes peptidiques et à une augmentation du nombre de groupements polaires ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ).

Par rapport à d'autres méthodes physiques ou chimiques utilisées pour modifier les protéines, l'hydrolyse enzymatique conserve aux hydrolysats produits toute leur valeur nutritionnelle. De plus, la réaction est relativement spécifique à certains liens peptidiques ; l'enzyme est active à basse concentration dans des conditions douces et par conséquent la production de sous-produits indésirables est minimale (POULIN, 1995).

Durant ces dernières décennies, plusieurs études ont montré la possibilité que les peptides bioactifs contenues dans les protéines sous forme de séquences inactives peuvent être libérés *in vivo* par des protéases digestives (CHABANCE *et al.*, 1998 ; FERRANTI *et al.*, 2004) ou *in vitro* par hydrolyse enzymatique par des protéases digestives, microbiennes, végétales ou par fermentation en utilisant différentes cultures (figure 04) (PESCUMA *et al.*, 2011 ; ASSEM *et al.*, 2018).

*In vivo*, les protéines ingérées sont d'abord hydrolysées par des protéases comme la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine dans le tractus gastro-intestinal pour produire des peptides de différentes tailles. Ces peptides sont ensuite digérés par des peptidases à la surface

des cellules épithéliales intestinales pour produire des acides aminés. Cependant, certains oligopeptides restent intacts (PHELAN *et al.*, 2009).



**Figure 04 :** Les différents mécanismes pour la libération des peptides bioactifs à partir des caséines (MOHANTY *et al.*, 2015).

### I.3.1. Les enzymes digestives

Les enzymes protéolytiques sont habituellement synthétisées sous forme de précurseurs inactifs appelés zymogènes (proenzymes). Elles sont produites dans l'appareil digestif par les différents organes et glandes qui le composent.

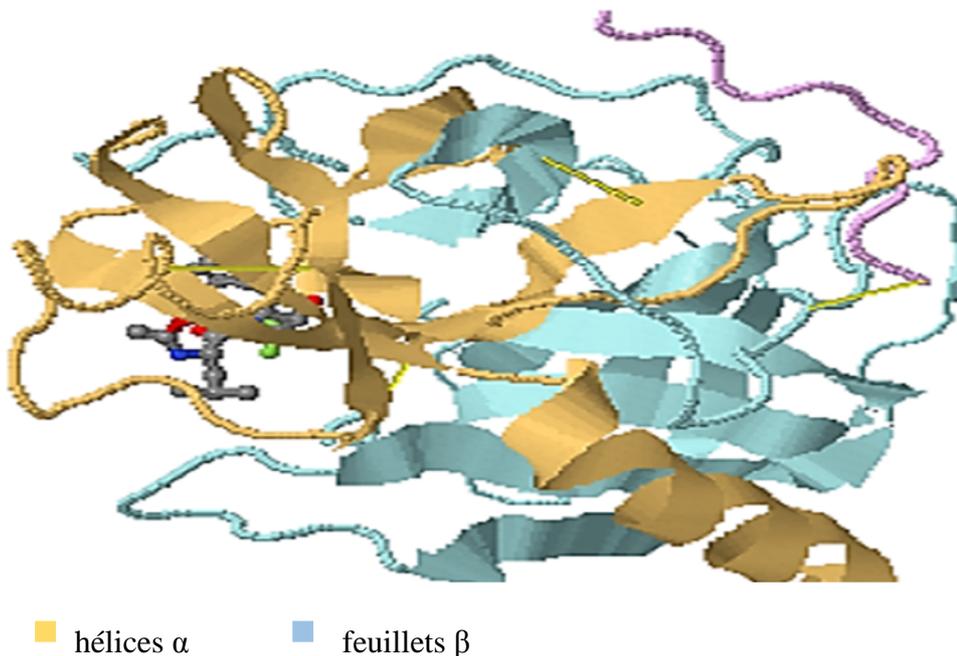
Il existe un grand nombre d'enzymes digestives, les plus étudiées et utilisées pour l'hydrolyse des caséines *in vitro* sont : la pepsine qui est une enzyme gastrique, la trypsine et la chymotrypsine qui sont des enzymes pancréatiques.

#### I.3.1.1. La chymotrypsine

- **Structure**

La chymotrypsine est synthétisée dans le pancréas et sécrétée dans l'intestin grêle sous forme d'un zymogène, le chymotrypsinogène (KIEL *et al.*, 1963). L'activation est amorcée par la trypsine qui scinde la liaison entre les acides aminés 15 et 16. La chymotrypsine s'autolyse ensuite pour exciser deux dipeptides : Ser14-Arg15 et The147-Asn148 (FREY *et al.*, 1994).

La chymotrypsine dont la structure primaire et celle en 3D sont représentées en annexe XVII et en figure 05 respectivement. Cette enzyme est composée de 241 aa avec un poids moléculaire de 25,230 kDa. Elle présente une structure globulaire compacte de trois chaînes reliées par deux ponts disulfures, inter chaînes, Cys1-Cys122, Cys136-Cys201 et repliées en 2 domaines de 120 acides aminés, chacun étant constitué essentiellement d'un tonneau  $\beta$ , formé de 6 brins  $\beta$  antiparallèles. Il y a une certaine similarité de séquences entre les deux domaines. Elle possède également trois ponts disulfures intra chaîne Cys42-Cys58, Cys168-Cys182 et Cys191-Cys220 (BROWN et HARTLEY, 1966).



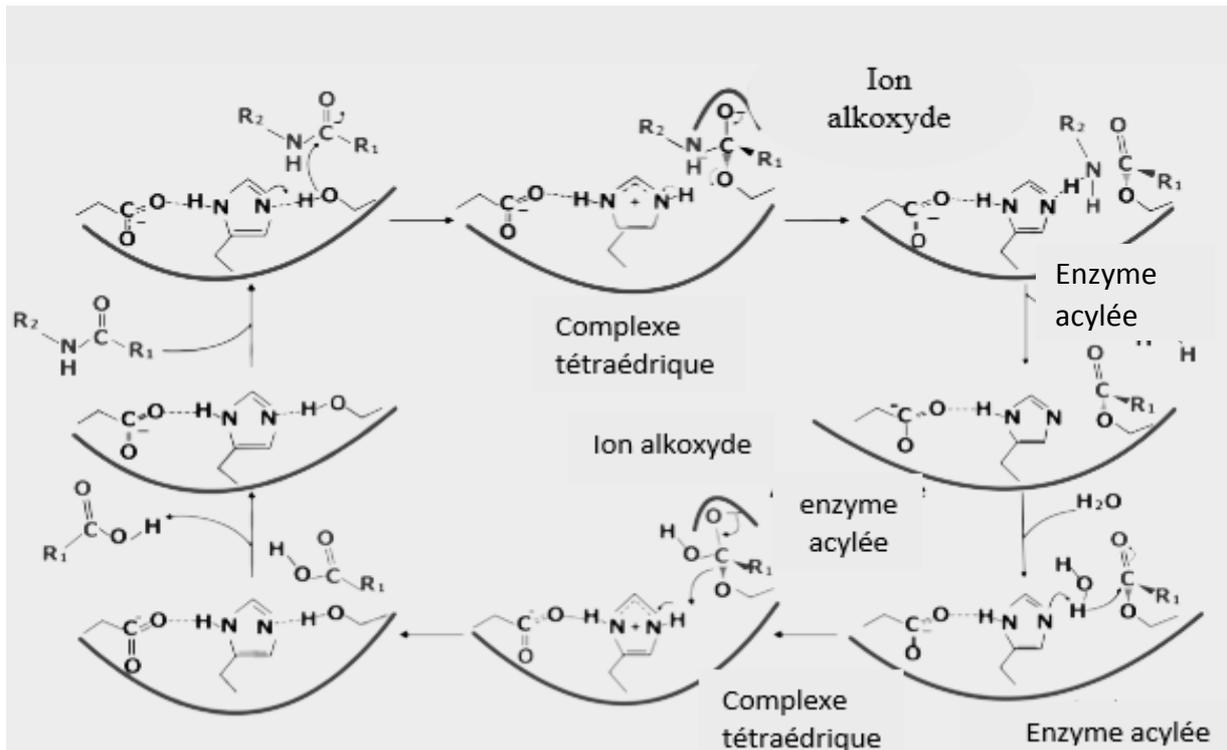
**Figure 05** : Structure 3 D de la chymotrypsine (BRIK TOFT et BLOW, 1977).

### ▪ Mécanisme d'action

La chymotrypsine comme les protéases à sérine dont elle fait partie, possède une triade catalytique caractéristique comprenant une sérine, une histidine et un acide aspartique. Cette dernière ainsi que son mode d'action sont représentés dans la figure 06. Les éléments de la triade sont fixés sur les deux domaines, qui participent ainsi tous les deux au même acte catalytique : l'histidine et l'acide aspartique sur le domaine 1, tandis que la sérine est sur le domaine 2. La chymotrypsine et la trypsine possèdent une structure tertiaire semblable, les positions des résidus clés, telles que celles de la triade, sont identiques dans les deux protéases. Toutefois, elles présentent une similitude de structure primaire de 50 % et elles diffèrent dans la spécificité du substrat (WALSH et NEURARATH, 1964). La trypsine agit

sur les résidus de lysine et d'arginine, alors que la chymotrypsine agit sur de grands résidus hydrophobes tels que le tryptophane, la tyrosine et la phénylalanine.

Le site actif de la chymotrypsine consiste en une région ressemblant à une crevasse bordée d'acides aminés hydrophobiques, accueille la chaîne latérale volumineuse de résidus d'acides aminés comme Phe, Trp, Tyr et Met. La chymotrypsine attaque en priorité en C terminal des acides aminés aromatiques ; Phe, Trp et Tyr.



**Figure 06** : Triade catalytique et mécanisme d'action de la chymotrypsine (BRUICE, 1961).

### I.3.2. Peptides bioactifs

Les peptides bioactifs peuvent être définis comme des fragments de protéines qui sont inactifs au sein de leur protéine d'origine ayant des impacts positifs sur les fonctions ou les conditions du corps, ce qui peut finalement influencer la santé (KITTS et WEILER, 2003). Ils sont aussi appelés peptides fonctionnels. Ces peptides sont habituellement classés en fonction de leurs activités biologiques (HAQUE *et al.*, 2009). Les peptides dérivants des protéines du lait exercent diverses fonctions telles que les activités antioxydantes, les activités anticancéreuses, la réduction de la tension artérielle, les activités opioïdes, la stimulation de la croissance et les activités antimicrobiennes (CLARE et SWAISGOOD, 2000), ils agissent aussi comme des antithrombotiques et immunomodulateurs (ATANASOVA et IVANOVA, 2014). Par conséquent, les peptides issus des caséines présentent aussi des activités biologiques, ils réduisent le risque de maladie cardiaque, de diabète et de cancer (RIVAL *et*

*al.*, 2001). Les peptides dérivés de la caséine ont été également étudiés pour leur activité antioxydante (JUNG *et al.*, 1995). Généralement, chaque peptide bioactif présente une seule fonction, mais plusieurs peptides ont des activités multifonctionnelles (ASSEM *et al.*, 2018).

Certains exemples de peptides bioactifs sont représentés dans le tableau XII. .

### **I.3.3. Commercialisation des peptides bioactifs**

Actuellement, les composés bioactifs du lait offrent de nombreux débouchés commerciaux. Ainsi, l'activité antimicrobienne de la lactoferrine rend celle-ci idéale dans les préparations pour nourrissons, les tablettes nutritives et les produits pour sportifs et de performance. Le système lactoperoxydase est utilisé pour la préparation de produits contre l'acné, de shampoings, de dentifrices, de crème glacée molle et de crème pâtissière. Les hydrolysats protéiques de lactosérum entrent de leur côté dans la préparation de boissons pour sportifs et d'aliments nutritifs. Les caséinophosphopeptides sont aussi utilisés et sont ajoutés comme ingrédients ou fortifiants à certains aliments (gommes à mâcher), boissons, dentifrices, gels ou gargarismes (PATTERSON, 2008). Quelques exemples de peptides bioactifs commercialisés issus des caséines sont illustrés dans le tableau XIII.

**Tableau XII :** Quelques exemples de peptides bioactifs issus des caséines.

Laits	CN	Fragments peptidiques	Séquences	Activités biologiques	Références
<b>LV</b>	$\alpha$ S1	1–23	RPKHPIKHQGLPQEVLNENLLRF	Activité antimicrobienne	LAHOV et REGELSON (1996)
		23–24	FF	Activité anti-hypertensive	MARUYAMA et SUSUKI (1982)
		144–149	YFYFQL	Activité antioxydante	SUETSUNA <i>et al.</i> (2000)
	$\alpha$ S2	164–179	LKKISQRYQKFALPQY	Activité antimicrobienne	RECIO et VISSER (1999)
	$\beta$	193–209	YQEPVLGPVRGPFPIIV	Activité antimicrobienne	SANDRE <i>et al.</i> (2001)
		74–76	IPP	Activité anti-hypertensive	NAKAMURA <i>et al.</i> (1995)
98-105		VKQAMAPK	Activité antioxydante	RIVAL <i>et al.</i> (2001b)	
<b>LC</b>	$\alpha$ S1	1-23	-	Activité antimicrobienne	HILL <i>et al.</i> (1974).
	$\alpha$ S2	203-208	-	Multifonctions	LOPEZ-EXPOSITO <i>et al.</i> (2007)
<b>LB</b>	$\beta$	25–29	RINKK	Multifonctions	LOPEZ-EXPOSITO <i>et al.</i> (2007)
	k	18–24	FSDKIAK	Multifonctions	LOPEZ-EXPOSITO <i>et al.</i> (2007)
<b>LCH</b>	K	-	IPP	Activité hypertensive	TAGLIAZUCCHI <i>et al.</i> (2016)

**Tableau XIII :** Certains exemples de peptides bioactifs commercialisés issus des caséines (CARRASCO-CASTILLA *et al.*, 2012).

Nom de la marque	Type de produit	Peptides bioactifs	Santé / allégations fonctionnelles	Fabricants
PeptoPro <sup>®</sup>	Ingrédient / hydrolysat	Peptide dérivé de la caséine	Améliore la performance athlétique et la récupération musculaire	DSM Food Specialties, The Netherlands
MI paste <sup>™</sup> /MI paste plus <sup>™</sup>	dentifrice	Caseinophosphopeptides	Anticariogène	GC America, USA
Kotsu Kotsu calcium	Boisson non-alcoolisée	Caseinophosphopeptides	Aide à l'absorption des minéraux	Asahi Soft Drinks Co. Ltd., Japan
Mousse dentaire GC	Crème à base d'eau	Caseinophosphopeptides	Anticariogène	GC Europe N. V., Belgium
Glycomacropéptide (GMP)	Petit lait	Casein $\kappa$ (106–169)	Anticariogène, antimicrobien, antithrombotique	Davisco Foods International Inc., USA
Tri dent xtra care <sup>™</sup>	Chewing-gum	Caseinophosphopeptides	Anticariogène	Cadbury Adams, USA

# **Matériel et méthodes**

## II. Matériel et méthodes

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire pédagogique de Biochimie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

### II.1 Matériel

#### II.1.1. Matière biologique

Les échantillons de lait utilisés dans le cadre de cette étude proviennent de quatre espèces différentes (bovine, cameline, caprine et ovine). Ces échantillons sont collectés au cours du mois de mars de l'année 2018 (tableau XIV).

**Tableau XIV** : Echantillons de lait collectés.

<b>Laits</b>	<b>Abréviation donnée à l'échantillon</b>	<b>Région d'origine</b>
<b>Lait de vache</b>	LV	Larbââ-Nath-Irathen
<b>Lait de dromadaire</b>	LCH	Hassi-Messaoud
<b>Lait de chèvre</b>	LC	Larbââ-Nath-Irathen
<b>Lait de brebis</b>	LB	Larbââ-Nath-Irathen

- Sérum albumine bovine (BSA), chymotrypsine.

- Kit pour étalonnage des gels d'électrophorèse en PAGE- SDS, il comprend 4 protéines de PM connu : l' $\alpha$ -Lactalbumine (14 kDa), la  $\beta$ -lactoglobuline (18 kDa), l'ovalbumine (47 kDa) et l'albumine sérique bovine (67 kDa).

#### II.1.2. Produits chimiques

- Colorants et réactifs spécifiques : acrylamide, bleu de bromophenol, bleu de coomassie R250, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dodecyl sulfate de sodium (SDS), glycine,  $\beta$ -mercaptoéthanol, N, N, N', N' tetra methyl éthylène diamine (TEMED), N, N-méthylène-bisacrylamide, persulfate ammonium, réactif de folin-ciocalteu.

- Sels et tampons : carbonate de sodium, hydroxyde de sodium, Persulfate d'ammonium, phosphate de sodium, soude, sulfate de cuivre, tartrate double de sodium et de potassium, tris-hydroxy – méthyl – aminométhane (TRIS), urée,

- Solvants : acide acétique, acide chlorhydrique, acide trichloracétique, glycérol, éthanol, méthanol.

### II.1.4. Appareillage

- Unité d'électrophorèse sur mini cuves verticales (HOEFFER SE 200, USA) comprenant : cuves d'électrophorèse, générateur de courant Consort ; Belge (max : 250V et 100 mA), plaque en verre et en hydroxyde d'alumine (10 x 8 cm), espaceurs d'épaisseurs variées ;

- Spectrophotomètre UV-visible (HELIOS HEPSILON, USA) ;

- pH mètre (HANNA instruments) ;

- Centrifugeuse (max 15300 x g ; SIGMA, USA) ;

- Balance de précision 0.01 mg (OHAUS) et balances analytiques à affichage digital (0,01-610g) (Denver Instrument, USA) ;

- Lyophilisateur à plateau (BETA, Allemagne) ;

-Bains marie (Memmert, Allemagne) et (IKA-WERK) ;

- Agitateurs variés (de tubes, à plateau, à barreaux magnétiques chauffant et non chauffant.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Collecte du lait

Les différents laits sont collectés à partir de femelles laitières saines, acheminés au laboratoire et congelés pour une utilisation ultérieure.

### II.2.2. Méthodes d'analyse

#### II.2.2.1. Mesure du pH

La mesure du pH est effectuée à une température du lait de + 20°C, la valeur de pH est lue directement sur le pH mètre après immersion de son électrode dans le lait. Cette opération est répétée 3 fois, avec rinçage de l'électrode de l'appareil entre chaque mesure avec de l'eau distillé. Les mesures sont précédées d'une étape d'étalonnage qui consiste en un ajustement du cadre de lecture du pH à l'aide d'une solution de pH connue.

### II.2.2.2. Isolement des caséines totales

#### ▪ Ecrémage

L'écrémage du lait est la première étape du protocole d'isolement des protéines bovines, camelines, caprines et ovines. Cette étape consiste en l'élimination de la matière grasse du lait par centrifugation à 3500 x g pendant 20 minutes et à 4°C.

A la fin de la centrifugation, nous notons une séparation de phase avec la formation d'une couche en surface correspondant à la crème du lait, une fois celle-ci écartée à l'aide d'une spatule, le lait écrémé est filtré.

#### ▪ Séparation des caséines totales

L'isolement des caséines des différentes espèces a été réalisé par précipitation différentielle à leurs pH isoélectriques, 4.6 pour le lait bovin, 4.3 pour celui de chamelle et 4.2 pour le lait caprin et ovin. Cette opération est effectuée par l'addition d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 4N, suivie d'une centrifugation à 3500 x g pendant 15 minutes à 20°C.

Il en résulte une différence de phase, où les culots correspondant aux caséines sont récupérés dans un minimum d'eau distillée.

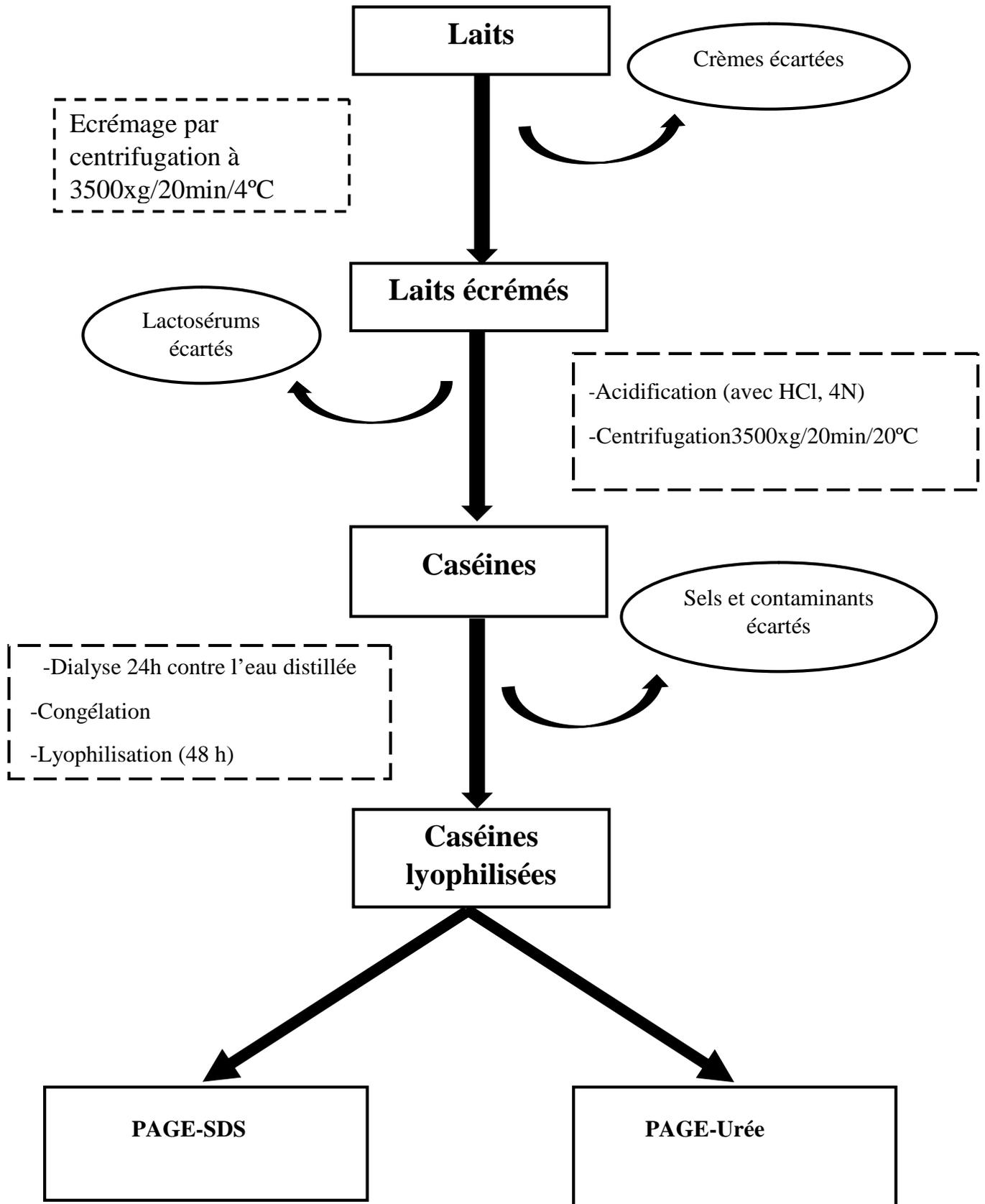
#### ▪ Dialyse

Les caséines ainsi isolées sont dialysées contre de l'eau distillée, pendant 24 h à 4 °C et sous agitation douce à travers une membrane semi-perméable (seuil d'exclusion de 18000 Da) qui permet de retenir les protéines.

#### ▪ Congélation et lyophilisation

Les caséines ainsi obtenues sont congelées en fines couches dans des cristallisoirs à -20°C et lyophilisées. Les poudres de caséines ainsi obtenues sont fractionnées puis conservées sous cette forme avant leur étude.

Toutes les étapes de l'isolement des caséines des différents laits sont illustrées dans la figure suivante.



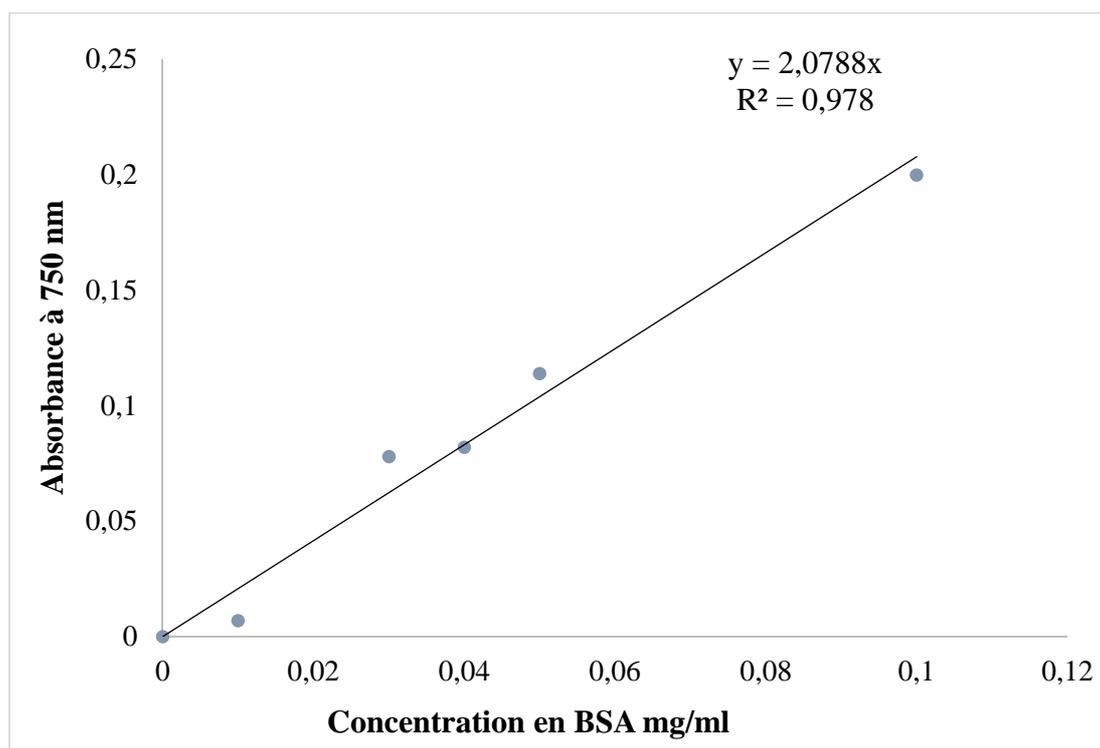
**Figure 07 :** Etapes suivies lors de l'isolement des caséines issues du lait bovin, camelin, caprin et ovin.

### II.2.2.3. Dosage des protéines

La détermination de la concentration en protéines des échantillons se fait par un dosage colorimétrique selon la méthode de LOWRY *et al.* (1951) (annexe I), en utilisant l'albumine sérique bovine comme protéine de référence.

Cette méthode est basée sur l'obtention d'un composé chromogène par une réaction d'oxydo réduction. Cette dernière résulte de deux réactions simultanées : une réaction de type Biuret, par laquelle les molécules polypeptidiques qui contiennent au moins quatre groupements (-CO-NH-) donnent en milieu alcalin un complexe cuivrique coloré et une réaction par laquelle les noyaux phénoliques de la tyrosine et du tryptophane et à un degré moindre la cystéine et l'histidine, réduisent le réactif de Folin (tungsto-phospho-molybdique).

Cette réaction donne naissance à un complexe coloré : le bleu de molybdène (couleur bleue foncée) dont l'intensité est mesurée à 750 nm. Ainsi les D.O obtenues à cette longueur d'onde permettent de déterminer les concentrations des échantillons analysés en se référant à une courbe d'étalonnage  $DO=f(C)$  (figure 08).



**Figure 08 :** Courbe étalon pour le dosage des protéines par la méthode de LOWRY *et al.* (1951) avec comme protéine étalon la BSA.

La concentration des protéines sériques est estimée dans le surnageant de l'isoélectroprécipitation des caséines après abaissement du pH du lait, alors que la teneur en caséines est obtenue par différence entre les protéines totales et les protéines du lactosérum.

### II.2.2.4. Méthodes électrophorétiques

#### ▪ Définition et principe général

L'électrophorèse est une méthode d'analyse basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'effet d'un champ électrique. Les protéines du fait de leur caractère amphotère peuvent se comporter comme des anions ou des cations et se déplacer de ce fait soit vers l'anode ou la cathode. Selon leurs caractéristiques physico-chimiques, elles apparaissent sur l'électrophorègramme sous forme de bandes de migration plus ou moins distinctes.

Les protéines majeures du lait sont solubilisées dans un tampon de pH supérieur à leur pHi (pH alcalin). Il en résulte leurs acquisition d'une charge négative et migrent sous l'effet du champ électrique appliqué vers le pôle positif.

#### II.2.2.4.1. Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide est la technique la plus utilisée en raison des avantages qui sont offerts par les propriétés du gel qui sont la transparence, la reproductibilité et la bonne résolution liée à sa porosité.

Les gels de polyacrylamide sont constitués d'acrylamide (unité de base) ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) et de bisacrylamide (agent pontant) (N, N méthylène-bis acrylamide), qui en présence de TEMED et le persulfate d'ammonium se polymérisent. Les caractéristiques du gel sont en fonction de la concentration, du degré de réticulation et de pontage des constituants du gel et sont déterminés par les indices T et C. La porosité de ces gels est ajustée en faisant varier les concentrations relatives de a et b, la taille effective des pores d'un gel est d'autant plus petite que sa concentration en acrylamide est élevée.

$$\mathbf{T (\%) = (a + b/v) \times 100} \quad \mathbf{C (\%) = (b/a + b) \times 100}$$

**Avec :**

**a :** acrylamide (g)

**b :** méthylène-bis-acrylamide (g) et

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

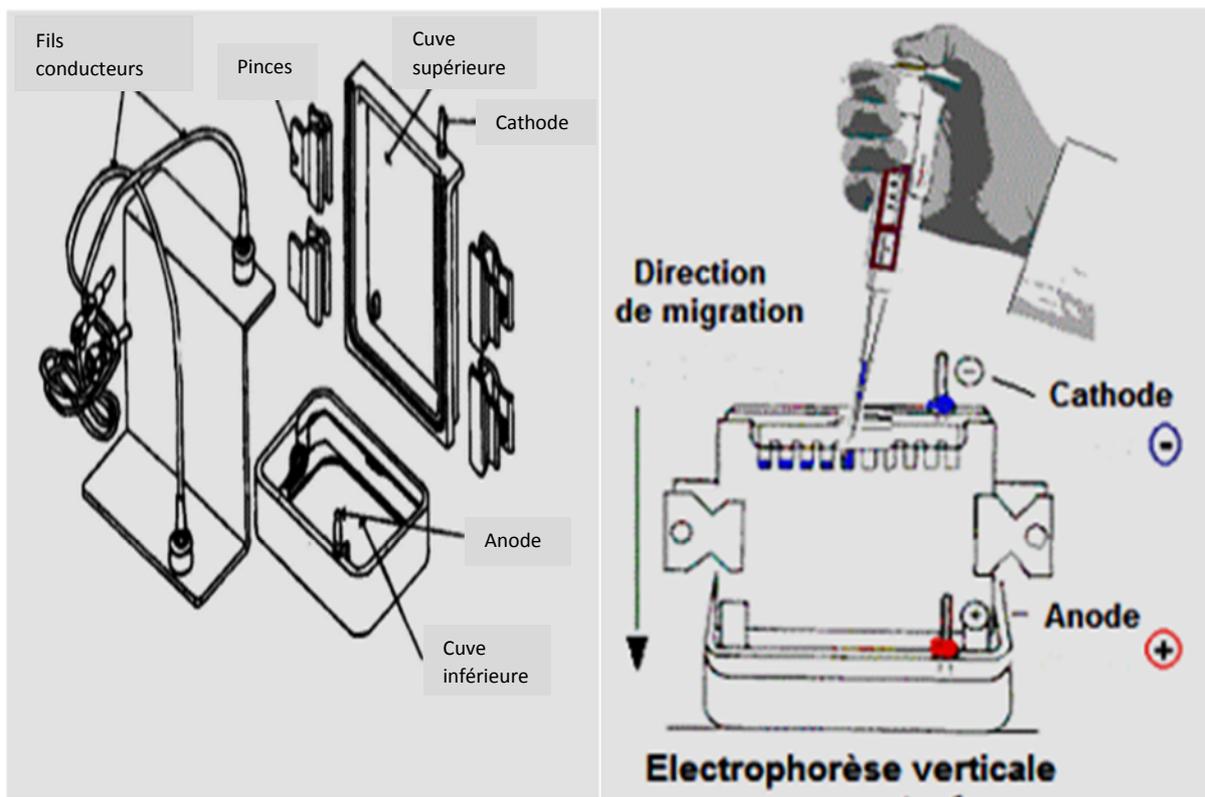
### II.2.2.4.2. Conduite de l'électrophorèse

Le gel de polyacrylamide est préparé en mélangeant les solutions d'acrylamide et de bis acrylamide avec une solution tampon à pH précis, l'ensemble est dégazé puis additionné à des agents initiateurs (le persulfate d'ammonium et le TEMED).

Le mélange ainsi obtenu, est coulé entre une plaque en verre et une autre en alumine séparées par des espaceurs. Un peigne est également introduit afin de permettre la formation des puits après polymérisation du gel.

Les échantillons à analyser sont dissous à raison de 1 à 2 mg/ml dans un tampon approprié contenant du bleu de bromophenol qui est un indicateur de la progression de la migration électrophorétique et permet de repérer la fin de l'électrophorèse.

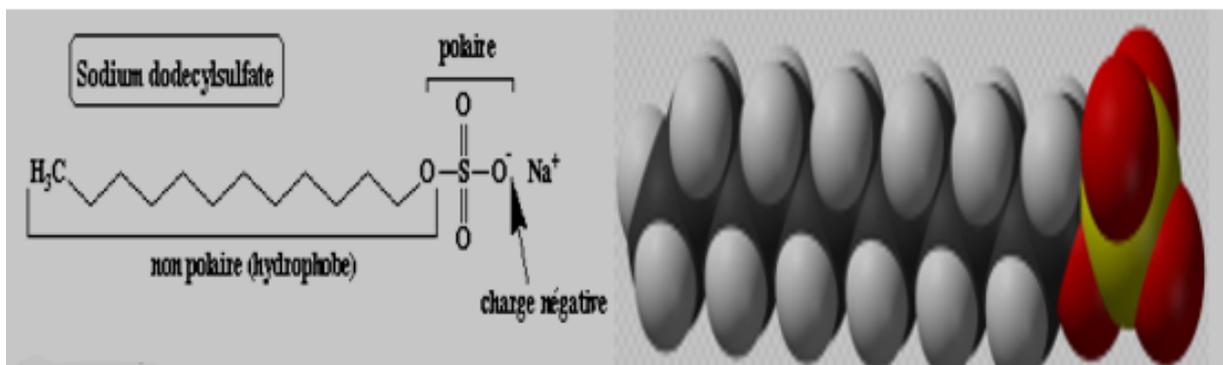
Après avoir monté sur l'unité de l'électrophorèse les 2 plaques renfermant le gel et remplis les cuves inférieures et supérieures de tampon d'électrode, l'unité est alors mise sous tension (courant et voltage constants : 20 mA, 250V). Le dispositif décrit précédemment est représenté en figure 09.



**Figure 09** : Unité d'électrophorèse sur mini-cuve SE280.

- **Electrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes, en présence de SDS et de  $\beta$ -Mercaptoéthanol (PAGE-SDS).**

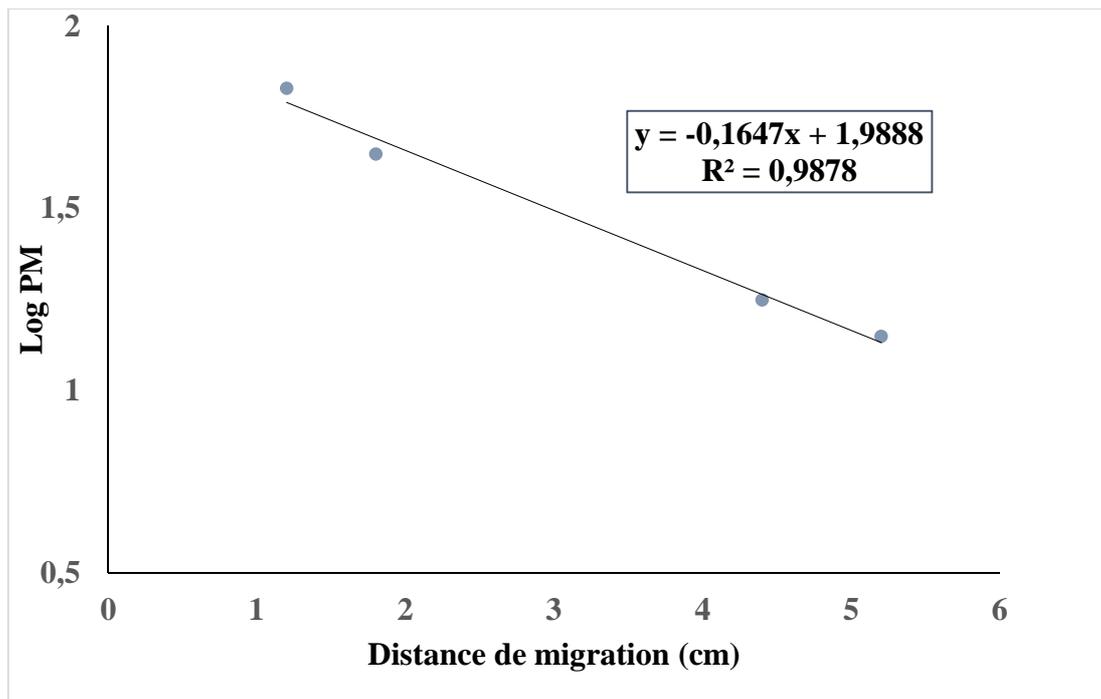
Les échantillons protéiques sont chauffés à 100°C pendant 5 min, en présence d'un détergent anionique le dodécylsulfate de sodium ou laurylsulfate de sodium (SDS ; 10% p/v) dont la structure est représentée en figure 10 et d'un agent réducteur chargé de rompre les liaisons disulfures, le 2-mercaptoéthanol. La plupart des polypeptides sont dans ce cas dissociés, ce qui permet la fixation du SDS sur les zones hydrophobes des chaînes peptidiques, les polypeptides acquièrent alors une forte charge négative et ne seront séparés que suivant leurs tailles dans un gel de porosité appropriée.



**Figure 10 :** Structure du dodécylsulfate de sodium (SDS).

La PAGE-SDS (annexe II) utilise un système de tampons discontinus de LAEMMLI *et* FAVRE (1973), comportant un gel de concentration (T = 4% et C = 2,7%), en tampon (TRIS - HCl, pH 6,8) et un gel de séparation (T = 15% et un C = 2,7%), en tampon (TRIS - HCl, pH 8,8). Le gel de concentration faiblement réticulé permet de concentrer les protéines au même niveau, le deuxième exerce plutôt un effet de tamisage moléculaire et sépare les protéines selon leurs tailles. La migration a lieu en présence d'un tampon de migration ou d'électrodes (pH=8,3) composé de 50 mM de Tris, de 384 mM de glycine et de 0,1% (m/v) de SDS et les échantillons (sous forme lyophilisés) sont dissous à raison de 1 à 2 mg/ml dans du tampon Tris-HCl.

La détermination du poids moléculaire des protéines d'intérêt est effectuée en faisant migrer en parallèle (dans les mêmes conditions), des protéines étalons de poids moléculaire connus, L'albumine sérique bovine (67 kDa), l'ovalbumine (45 kDa), la  $\beta$ -Lactoglobuline (18 kDa) et l' $\alpha$ -Lactalbumine (14 kDa) dont la courbe de calibration du gel est représentée ci-dessous.



**Figure 11** : Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS, en utilisant des marqueurs de taille (l' $\alpha$ -lactalbumine, la  $\beta$ -lactoglobuline, l'ovalbumine et l'albumine sérique bovine).

- **Electrophorèse en présence d'urée et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE -Urée).**

La PAGE-urée est une méthode particulièrement adaptée pour la séparation des caséines qui sont difficilement séparables en conditions natives. L'urée à forte molarité élimine les liaisons faibles, plus particulièrement les liaisons hydrogènes et hydrophobes.

L'électrophorèse en présence d'urée et de 2-mercaptoéthanol a été réalisée en préparant un gel de concentration (T = 4% et C = 2,7 %) en tampon, (urée 9 M, TRIS 0,5 M à pH 6,8), ainsi qu'un gel de séparation à (T = 13% et C = 2,7%) dans un tampon (urée 9 M, TRIS, 2M, pH de 8,8). Les échantillons sont dissouts dans un tampon de même composition que celui du gel de concentration. Le tampon d'électrode est identique à celui de l'électrophorèse en PAGE- native et contient du TRIS à 50 Mm et de la glycine à 0.384 M. Le protocole détaillé de l'électrophorèse en PAGE-urée est représenté en annexe III.

### II.2.2.4.3. Révélation des bandes de migration électrophorétiques

A la fin de l'électrophorèse et après démoulage du gel, les protéines sont tous d'abord fixées dans une solution d'acide trichloracétique (TCA) de 12 % (P/V) pendant 45 min puis colorées pendant 2 h par une solution de bleu de Coomassie R250, 0,1 % (P/V). La décoloration du gel s'effectue sous agitation douce dans des solutions renouvelées plusieurs fois contenant le mélange (eau, méthanol, acide acétique).

### II.2.2.5. Hydrolyse chymotrypsique des caséines

Dans la présente étude, des caséines entières provenant du lait bovin, camelin, caprin et ovin ont été utilisées comme substrats pour une protéase pancréatique qui est la chymotrypsine. Une hydrolyse a été menée afin de déterminer la sensibilité des caséines des différentes espèces laitières à cette enzyme et tester l'activité antioxydante des peptides engendrés.

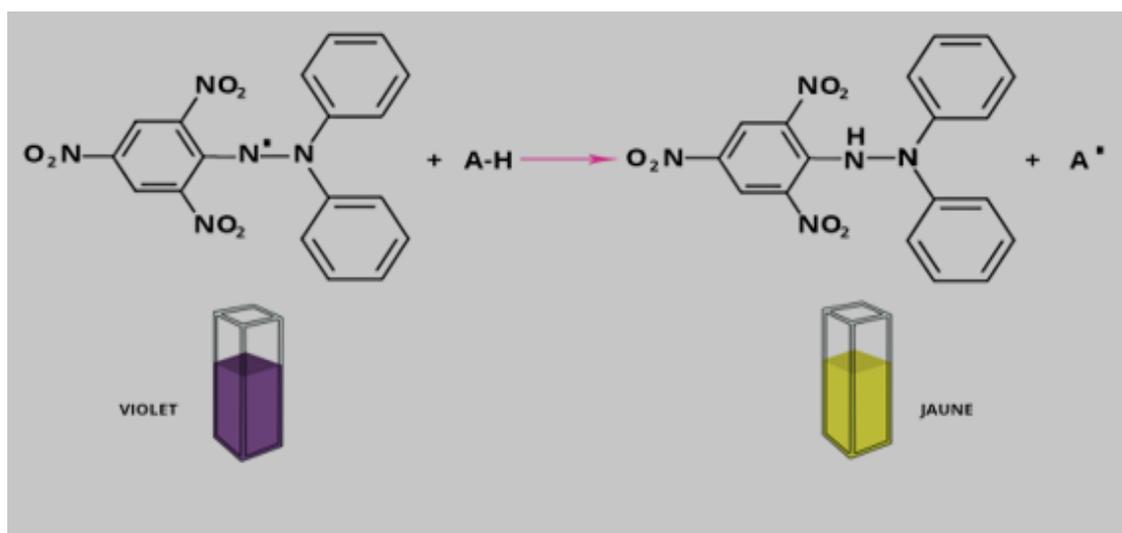
Suivant le protocole de SALAMI *et al.* (2008), les caséines des différentes espèces sont dissoutes à raison de 1% dans le tampon phosphate de sodium 0.066 M (pH=8), la préparation de ce tampon est donnée en annexe IV, le rapport enzyme/substrat est également de 1%.

L'hydrolyse a été réalisé à 37 °C dans un bain marie, des aliquotes pour chaque espèce ont été prises à différents intervalles de temps 0 min, 15 min, 30 min, 1h, 2 h, 3 h, 4 h, 5 h et 24 h, des étapes d'homogénéisation ont été effectuées à plusieurs reprises durant l'incubation. Pour finir, 100 µl du tampon d'échantillon SDS a été additionné pour chaque aliquote prélevée. L'arrêt de l'hydrolyse a été fait par chauffage des aliquotes prélevées à 100°C pendant 5 min pour dénaturer l'enzyme. Ainsi les différentes fractions ont été analysées par l'électrophorèse SDS-PAGE.

### II.2.2.6. Test de DPPH

Le DPPH (2-diphényl-1-picrylhydrazyl) c'est une poudre cristalline composée de molécules de radical libres stables de couleur violette intense, sa structure ainsi que le principe de sa stabilité sont représentés dans la figure 12. Ce test est largement utilisé *in vitro* pour l'évaluation de l'activité des piègeurs des radicaux libres (antioxydants).

Ce radical libre est stabilisé par des dons d'hydrogènes ou d'électrons libérés par des peptides antioxydants, conduisant ainsi à un composé non réactif (2,2-diphényl-picrylhydrazinede) qui ne peut pas déclencher des réactions d'oxydations. En particulier, la détermination de l'activité antioxydante se fait en mesurant par spectrophotométrie UV-Visible à 517 nm la diminution de la coloration qui tend vers le jaune.



**Figure 12:** Structure et principe de la stabilité du DPPH et sa réduction par l'antioxydant (AH).

L'activité antioxydante des échantillons caséiniques des différentes espèces ainsi que leurs hydrolysats a été déterminée selon le protocole suivi par ESPEJO-CARPIO *et al.* (2016) en mélangeant un volume de 1 ml de chaque échantillon (hydrolysé et non hydrolysé) ayant une concentration de 10 mg/ml avec 2 ml de DPPH 0.1mM dans l'éthanol. Le mélange a été homogénéisé et incubé pendant 24 heures à température ambiante dans l'obscurité. Ensuite, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée par spectrophotométrie à 517 nm. Un contrôle contenant 2 ml de DPPH a été également préparé.

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité anti-radicalaire ou d'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [(A_B - A_E) / (A_B)] \times 100\%$$

I% : pourcentage d'inhibition ;  $A_B$  : absorbance du blanc ;  $A_E$  : absorbance de l'échantillon.

# **Résultats et discussion**

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Mesure du pH

Les valeurs du pH obtenues lors de cette étude pour les quatre types de laits sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau XV** : Valeurs du pH mesurées pour les différents laits.

Echantillons	LV	LCH	LC	LB
<b>pH</b>	6,26 ± 0,15	6,71 ± 0,02	6,65 ± 0,02	6,38 ± 0,01

La valeur moyenne de pH du lait bovin mesurée lors cette analyse est estimée à  $6,26 \pm 0,15$ , celle-ci est inférieure à celles rapportées par plusieurs travaux, notamment celle rapportée par IMRAN (2008) qui est de  $6,76 \pm 0,51$ , cette acidité élevée peut résulter du développement d'une charge microbienne SCHMIDT *et al.* (1996) mais aussi du facteur génétique (races) et du stade de lactation CAULFIELD et RIDDELL (1935).

Une valeur de  $6,71 \pm 0,02$  est obtenue pour le lait camelin, cette dernière rentre dans les gammes de (6,57-6,97) et ( $6,51 \pm 0,31$ ) rapportées par KHASKHELI *et al.* (2005) et ALLOU-LOMBARKIA *et al.* (2007) respectivement mais supérieure à la valeur obtenue par SAWAYA *et al.* (1984) et KAMOUN (1995).

Le pH moyen du lait de chèvre présente une valeur de  $6,65 \pm 0,02$ , celle-ci est en concordance avec celle rapportée par un bon nombre d'auteurs tel que DRACKOVA *et al.* (2008) ( $6,63 \pm 0,01$ ) ; IMRAN (2008) ( $6,59 \pm 0,59$ ) ; MAYER et FIECHTER (2012) ( $6,59 \pm 0,07$ ). Cette valeur rentre aussi dans la gamme (6,45-6,90) obtenue par RAMEUF *et al.* (1989).

Pour le lait de brebis, la valeur moyenne de pH ( $6,38 \pm 0,01$ ) est inférieure à celle rapportée par FAVA *et al.* (2014) mais rentre dans l'intervalle (6,18-6,82) rapporté par DELACROIX BUCHET *et al.* (1994) et celui rapporté par YABRIR (2014) à (6,25-6,68).

Toutefois, nous observons que le lait des trois espèces (cameline, caprine et ovine) présente un pH élevé comparé au lait de vache.

### III.2. Teneur en protéines

Les teneurs moyennes des fractions protéiques contenues dans le lait des différentes espèces (bovine, cameline, caprine, ovine) sont représentées dans le tableau suivant.

**Tableau XVI :** Teneurs des différentes fractions protéiques dans les échantillons de lait étudiés.

Echantillons	LV	LCH	LC	LB
<b>Protéines</b>				
<b>totales(PT)(g/l)</b>	32,87±5,73	25,65±3,20	31,91±4,1	49,23±4,34
<b>Protéines</b>	8,48 ±0,24	6,92±0,67	5,58±0,2	3,18±0,35
<b>sériques(PS)</b> <b>(g/l)</b>	(26,31± 4,46 %)	(27,52±6,34%)	(17,72±2,72%)	(6,46±0,92%)
<b>Caséines(CN)</b> <b>(g/l)</b>	24,39±5,56 (73,69±4,47%)	18,73±5,56 (72,28±6,1%)	26.33±4.29 (82.27 ±2.72%)	46,05±4,43 (93,54±0,92%)

Le dosage de la fraction protéique du lait de vache donne une teneur moyenne en protéines totales de 32,87±5,73 g/l, cette concentration rentre dans la gamme rapportée par KABIL *et al.* (2015) allant de 27 g/l au printemps jusqu'à 39 g/l en hiver.

La teneur moyenne enregistrée pour le lait camelin (25,65±3,20 g/l) est comprise dans l'intervalle (18-32 g/l) rapporté par KHASKHELI *et al.* (2005), proche de la moyenne (26,6 g/l) avancée par YOGANANDI *et al.* (2015) mais inférieure à celles obtenues par plusieurs auteurs à savoir : 34,6 g/l rapportée par SHAMSIA (2009) et 29,42 g/l et 29,48 g/l respectivement pour les échantillons de lait des régions sahariennes et steppiques d'Algérie (ALLOUI-LOMBARKIA *et al.*, 2007).

La teneur obtenue pour le lait de chèvre (31,91±4,1 g/l) se situe dans l'intervalle (22,7-46,2 g/l) évoquée par MEYER et FIECHTER (2012) alors que ROUDJ (2005) a rapporté une valeur très inférieure (20,85 g/l).

En ce qui concerne le lait de brebis, la valeur obtenue est de  $49,23 \pm 4,34$  g/l, celle-ci rentre dans les deux gammes ( $38,6-67,7$  g/l) et ( $45-70$  g/l) rapportées par YABRIR (2014) et CLAEYS *et al.* (2014) respectivement.

Ce dernier lait présente la teneur protéique totale la plus élevée et lui seul présente une quantité protéique supérieure à celle du lait de vache.

La teneur en caséines de l'échantillon du lait bovin obtenue lors de cette analyse est estimée à  $24,39 \pm 5,56$  g/l, cette valeur est similaire à celle évoquée par IMRAN *et al.* (2008) et PARK *et al.* (2007).

Pour le lait camelin, la valeur enregistrée ( $18,73 \pm 5,56$  g/l) est semblable à celles rapportées par ALLOUI-LOMBARKIA *et al.* (2007) pour les échantillons provenant des régions sahariennes ( $19,80 \pm 5,56$  g/l) et steppiques, ( $21,30 \pm 1,25$  g/l), elle est également comprise dans l'intervalle de KHASKHELY *et al.* (2005).

La teneur caséinique du lait caprin qui est de  $26,33 \pm 4,29$  g/l rentre dans les gammes trouvées par MEYER et FIECHTER (2012) et celle de REMEUF *et al.* (1989).

Les caséines du lait de brebis présentent une concentration ( $46,05 \pm 4,43$  g/l) qui rentre dans la gamme évoquée par STORRY *et al.* (1982), elle est aussi similaire à la valeur maximale avancée par CLAEYS *et al.* (2014) mais supérieure à celle rapporté par PARK *et al.* (2007).

La teneur en caséines dans le lait ovin est supérieure à celle du lait bovin ce qui correspond aux résultats de DELACROIX BUCHET *et al.* (1994). Celle-ci est suivie de celle de l'espèce caprine. Le lait de chamelle quant à lui présente une concentration en caséine similaire à celle du lait de vache.

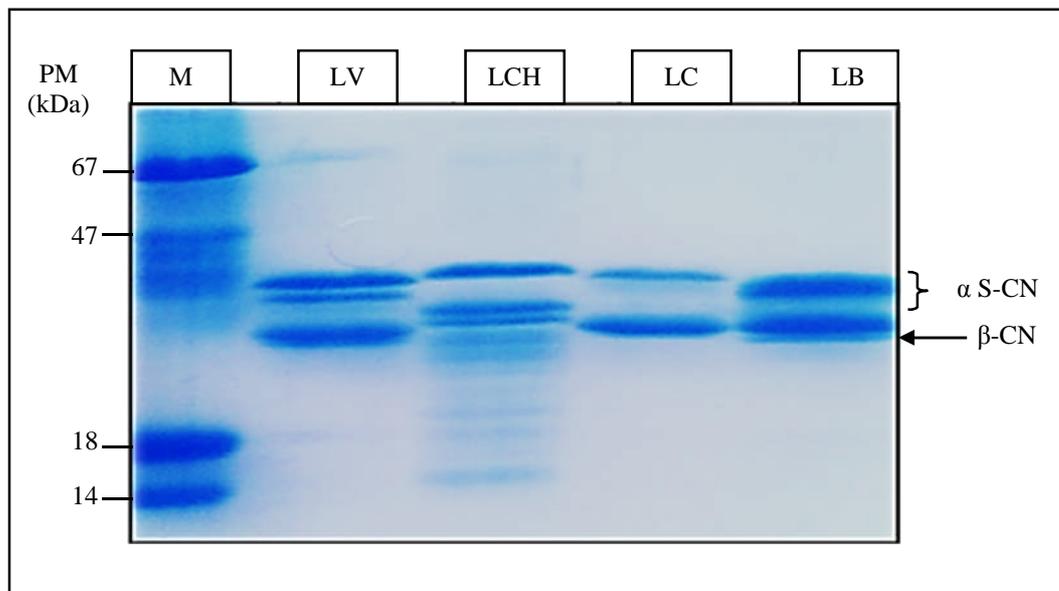
Comme pour tous les composants chimiques du lait, la teneur en protéines est affectée par plusieurs paramètres à savoir les facteurs environnementaux tels que l'alimentation, le climat (KHASKHELI *et al.*, 2005 ; KONUSPAYEVA *et al.*, 2008) et la saison (KABIL *et al.*, 2015 ; DELACROIX-BUCHET *et al.*, 1994) mais aussi le stade de la lactation (DELACROIX-BUCHET *et al.*, 1994 ; KAMOUN, 1995), la variabilité génétique (IMRAN *et al.* 2008) et l'adaptation physiologique particulière dans le cas du dromadaire (FARAH, 1993).

### III.3. Comportement électrophorétique des caséines des différentes espèces

#### ▪ Electrophorèse en milieu dissociant, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

Nous avons analysé les caséines du lait bovin, camelin, caprin et ovin en PAGE-SDS. L'objectif de cette technique est la détermination du poids moléculaire des protéines d'intérêt en comparant leurs niveaux de migration à ceux des protéines de référence. Ces dernières sont la BSA, l'ovalbumine, la bêta-lactoglobuline et l'alpha-lactalbumine avec des masses moléculaires respectives de 67 000, 47000, 18000 et 14000.

Il est admis qu'en PAGE-SDS, les caséines du lait migrent en 4 bandes selon une mobilité qui est de l'ordre suivant : la caséine  $\alpha$ -S2, la caséine  $\alpha$ -S1, la bêta caséine et la caséine kappa (VAIRO CAVALLI *et al.*, 2008). La migration des caséines des différentes espèces est mise en évidence dans la figure ci-dessous.



**Figure 13 :** Electrophorègramme en PAGE-SDS (T=15% ; C=2,7% ; pH=8,8) des caséines du lait des différentes espèces. LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis ; M : Marqueur de taille.

Le profil électrophorétique obtenu révèle la présence de deux bandes bien focalisées et d'intensités variables.

La bêta caséine du lait de chamelle présente la migration la plus faible et se trouve à un niveau de migration légèrement inférieur à celui du lait de vache, chèvre et de brebis qui présentent des distances de migration similaires. En ce qui concerne la caséine  $\alpha$ S, nous avons constaté qu'elle migre de façon similaire pour les espèces bovine et ovine et dans un moindre degré pour les espèces cameline et caprine. Il est à noter que la caséine  $\alpha$ S bovine, caprine et

ovine présentent le même nombre d'acides aminés ce qui explique leur apparition presque au même niveau.

Nous signalons la présence de bandes supplémentaires dans le lait de chamelle, ceci peut être dû à son état de fraîcheur.

Les poids moléculaires des deux bandes principales de caséines étudiées sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau XVII :** Les poids moléculaires des caséines majeures du lait des différentes espèces (unité kDa).

	LV	LCH	LC	LB
$\alpha$ S-CN	31,61	32,08	30,80	29,90
$\beta$ -CN	28,50	27,85	28,96	29,23

Le PM de la  $\beta$ -CN du lait de chamelle (27.85 kDa) est similaire à celui trouvé par LARSSON-RAZNIKIOWIEZ et MOHAMED (1986) (27 kDa) et à celui de MOHAMED (1993) (28,6 kDa), la CN- $\alpha$ S présente un PM qui concorde aussi avec les résultats de LARSSON-RAZNIKIOWIEZ et MOHAMED (1986).

EL AGMAY *et al.* (1997) ont avancé des PM de 32,2 et 32,6 kDa pour la CN- $\alpha$ S bovine et caprine respectivement, ces derniers sont proches des PM obtenus lors de la présente étude pour ces deux espèces.

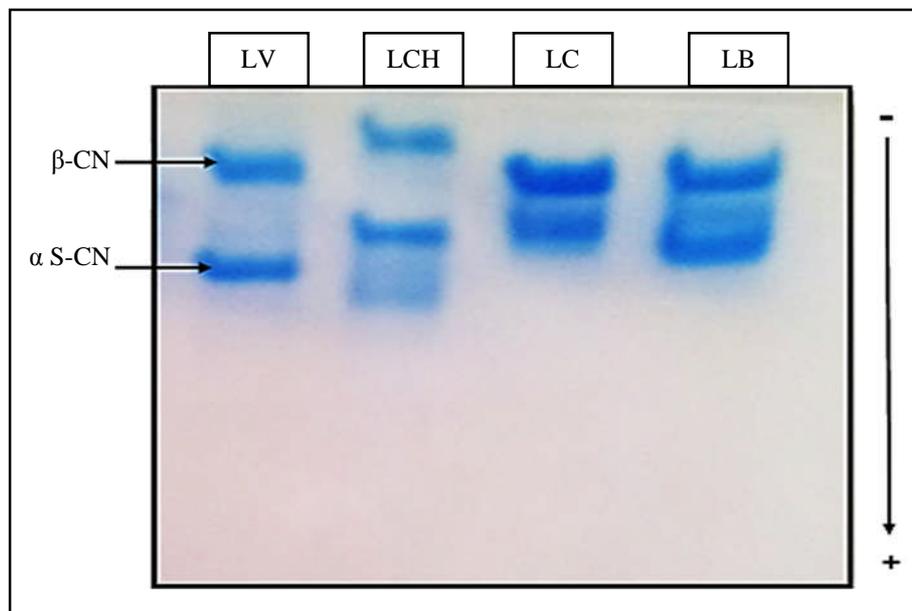
Néanmoins, les résultats obtenus pour le lait bovin, caprin et ovin sont supérieurs à ceux rapportés par certains auteurs. Pour le lait caprin, PIERRE *et al.* (2001) ont rapporté des PM allant de 23,44 à 25,60 kDa pour la CN- $\alpha$ S et de 23,66 à 23,85 kDa pour la  $\beta$ -CN. FARREL *et al.* (2004) ont aussi rapporté des PM inférieurs à ceux obtenus pour le lait bovin. Les PM des caséines ovines rapportés par TRUJILLO *et al.* (2000) sont de 23,41 kDa pour la CN- $\alpha$ S et de 23,75 kDa pour la  $\beta$ -CN.

Cette différence entre les valeurs obtenues et celles citées dans la bibliographie peut être expliquée par deux phénomènes, l'un étant la forte association des caséines ce qui leur confère ainsi un poids moléculaire plus élevé que leur poids moléculaire réel, ce qui se traduit par une faible migration en PAGE-SDS. L'autre, est la faible fixation du SDS aux caséines,

cette caractéristique est aussi remarquée pour les caséines de plusieurs espèces (BOUMAHROU *et al.*, 2009).

- **Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant en présence d'urée et du 2-mercaptoéthanol (PAGE urée)**

La séparation électrophorétique des caséines a été rendue possible par l'utilisation d'agents comme l'urée et le 2-mercaptoéthanol, ces deux agents agissent en dénaturant les molécules protéiques par destruction de leurs structures tridimensionnelles natives en rompant les interactions entre les différents composants, par rupture des liaisons hydrogènes et des ponts disulfures. La figure 14 montre les résultats d'une analyse électrophorétique des caséines du lait des quatre espèces en présence d'urée.



**Figure 14 :** Electrophorogramme des caséines du lait des différentes espèces en PAGE-urée (T=13% ; C=2,7% ; pH=8,8).

LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis.

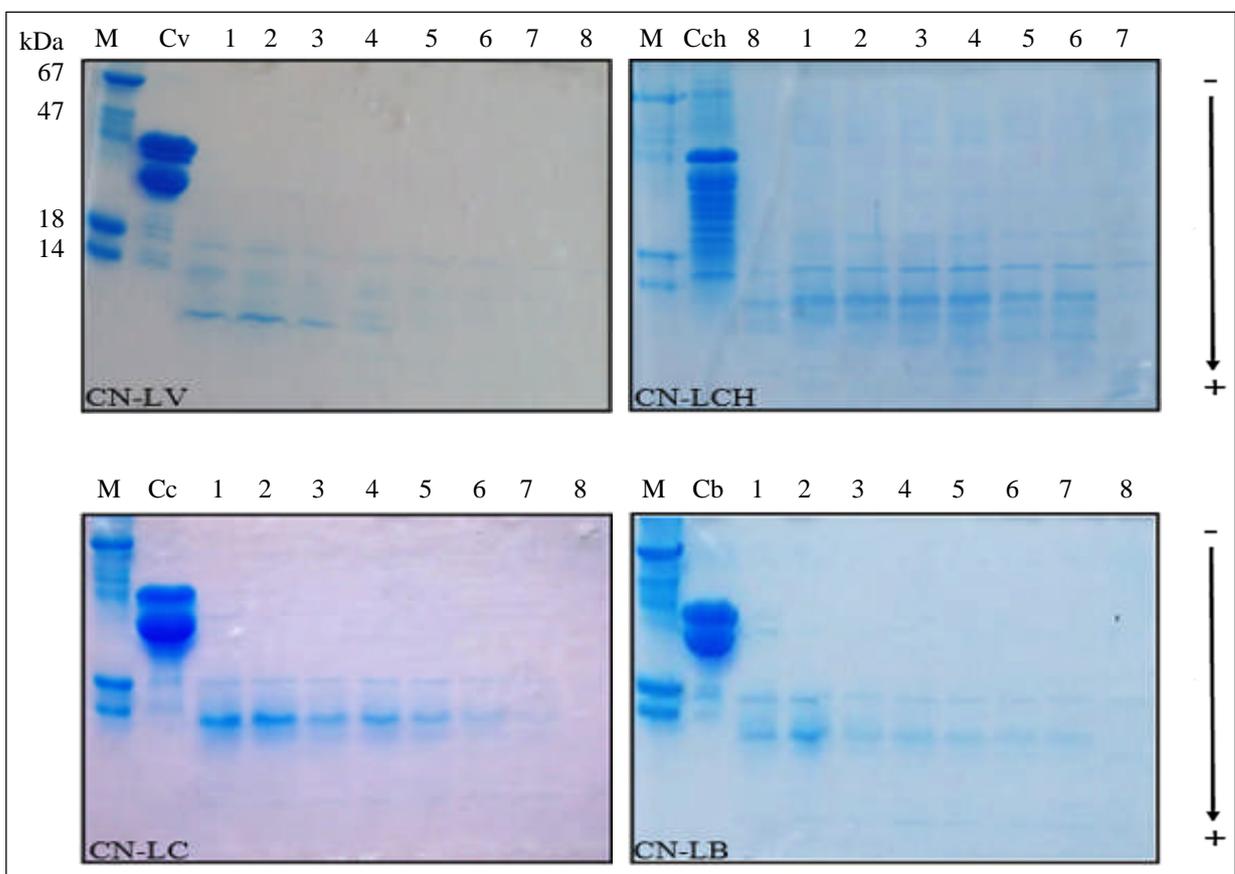
La figure montre que les caséines des différentes espèces migrent en deux bandes bien séparées et qui correspondent, en partant du dépôt, aux caséines  $\beta$  et  $\alpha$ S selon leur mobilité électrophorétique croissante. La distance de migration des caséines camelines est inférieure à celle de leurs homologues dans le lait bovin, ceci est en concordance avec les résultats de SI AHMED ZENNIA *et al.* (2013), notamment, la  $\beta$  caséine cameline qui présente une faible mobilité électrophorétique en PAGE-urée (LARSSON-RAZNIKI AWIEZ et MOHAMED,

1986 ; OCHIRKHUYAG *et al.*, 1997). Cela peut dépendre du degré de phosphorylation (MOHAMED et LARSSON-RAZNIKIEWCZ, 1991).

Les caséines du lait caprin et ovin se situent au même niveau, ces dernières migrent moins que celles du lait bovin. Ce phénomène est comparable aux résultats obtenus par plusieurs auteurs tels que CALAVIA et BURGOS, 1998 ; MOATSOU *et al.*, 2004.

### III.4. La sensibilité des caséines des différentes espèces à la chymotrypsine

La sensibilité des caséines totales de différentes espèces (bovine, cameline, caprine et ovine) à l'action de la chymotrypsine se traduit par des électrophorogrammes distincts les uns des autres. En PAGE-SDS (figure 15), il y a disparition progressive des bandes correspondantes aux caséines majeures et apparition de plusieurs fragments peptidiques.



**Figure 15 :** Electrophorègramme en PAGE-SDS des hydrolysats protéiques libérés après l'action de la chymotrypsine sur les caséines totales de différentes espèces. 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 ; 7 et 8 : temps d'incubation correspondant respectivement à 1/4, 1/2, 1, 2, 3, 4, 5, 24 h ; M : marqueur de taille ; Cx : caséines totales ; CN : caséines ; LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis.

La cinétique de l'hydrolyse pour les caséines des quatre espèces montre qu'il ya disparition des bandes caractérisant les deux caséines  $\beta$  et  $\alpha$  après 15 min.

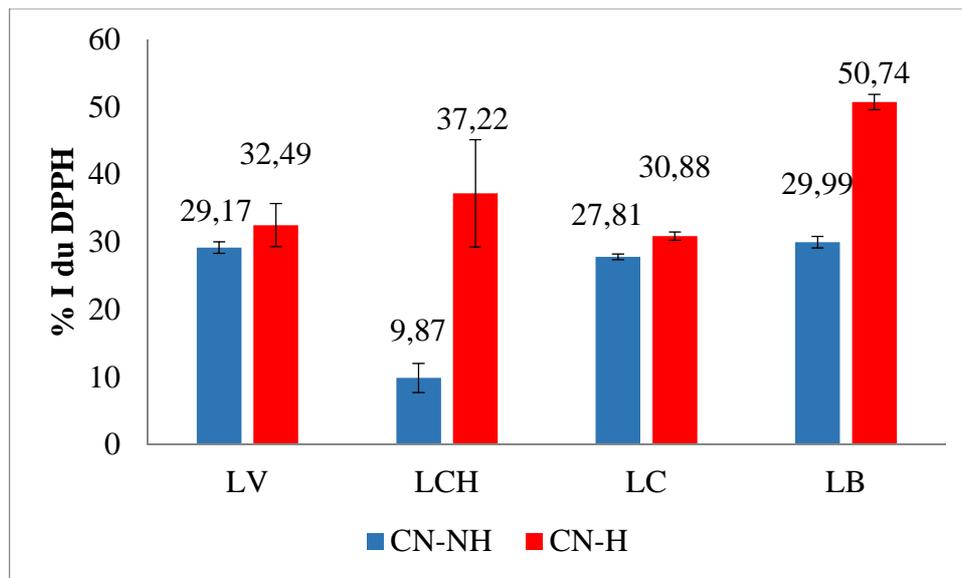
Selon les électrophorégrammes obtenus, les caséines bovines sont les plus sensibles et les plus hydrolysées par la chymotrypsine comparées aux trois autres espèces étudiées. Les caséines du lait de chamelle quant à elles sont les plus résistantes à cette enzyme. Nos résultats correspondent à ceux obtenus par ASSEM *et al.* (2018) mais sont en désaccord à ceux de SALAMI *et al.* (2008) qui ont signalé un degré d'hydrolyse chymotrypsique plus élevé pour les caséines du lait camelin que pour celles du bovin. KUMAR *et al.* (2016) ont également signalé que la caséine du lait de chamelle était plus sensible à l'hydrolyse par la chymotrypsine que l'alcalase et la papaine.

Selon SALAMI *et al.* (2008), l'étendue de l'hydrolyse chymotrypsique des caséines bovines et camelines est élevée par rapport à celle obtenue par l'hydrolyse trypsique. Ces mêmes auteurs ont signalé que la caséine  $\alpha$ S est la plus hydrolysée que la  $\beta$ -CN au niveau des quatre espèces cela est dû au nombre de sites cibles qui sont plus importants au niveau de la  $\alpha$ -CN que ceux de la  $\beta$ -CN.

Même si la plupart des animaux présentent des protéines qui possèdent des séquences d'acides aminés similaires, leur comportement suite à une digestion peut être assez différent lorsque l'on utilise une seule enzyme (SOUSA et MALCATA, 2002). L'étendue de la protéolyse des caséines du lait par différentes enzymes dépend du nombre de sites cibles disponibles pour chaque enzyme, de l'accessibilité des sites cibles aux enzymes digestives qui dépendent finalement de la structure finale des protéines du lait et du nombre de groupements phosphate contenus dans ces caséines (TEZCUCANO *et al.*, 2007 ; SALAMI *et al.*, 2008).

### III.5. Activité antioxydante

Le test DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des différentes caséines totales ainsi que leurs hydrolysats chymotrypsiques. Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH sont présentés dans la figure 16.



**Figure 16 :** Pourcentages d'inhibition du DPPH pour les caséines non hydrolysées (CN-NH) et celles hydrolysées (CN-H) des quatres espèces. LV (lait de vache), LCH (lait de chamelle), LC (lait de chèvre), LB (lait de brebis).

L'activité antioxydante des peptides issus de l'hydrolyse des caséines des différentes espèces est plus importante que celle obtenue pour les caséines non hydrolysées, ceci correspond aux résultats de KUMAR *et al.* (2016) qui ont observé l'augmentation de l'activité antioxydante des caséines camelines après leurs hydrolyses par trois proteases (l'alcalase, l' $\alpha$ -chymotrypsine et la papaine).

Il existe une relation étroite entre le degré d'hydrolyse et l'activité antioxydante des hydrolysats de caséines, ceci peut être expliqué par la libération de peptides exposant plus de fonctions intervenant dans la réaction antioxydante. Par conséquent, la mesure du degré d'hydrolyse de la caséine permet la prédiction de l'activité antioxydante de ces hydrolysats.

Les mesures de l'activité antioxydante obtenues pour l'hydrolyse des caséines des différentes espèces par la chymotrypsine lors de cette étude sont de l'ordre suivant : LB >LCH >LV > LC. ASSEM *et al.* (2018) ont signalé un même ordre de l'activité antioxydante pour les trois dernières espèces (cameline, bovine, caprine).

Les hydrolysats chymotrypsiques du lait de vache et de chèvre présentent des valeurs d'activité antioxydante proches qui sont de 32,49 et 30,88 % respectivement. Ces résultats sont comparables à ceux obtenues par ASSEM *et al.*, 2018 qui ont enregistré des activités antioxydantes de 28,08 et 27,78 %.

L'activité antioxydante des hydrolysats caséiniques est plus importante dans le lait de brebis suivie de celle du lait de chamelle, leurs pourcentages d'inhibitions sont de 50,74 et 37,22 respectivement.

La valeur obtenue pour le lait camelin concorde avec celle rapportée par KUMAR *et al.* (2016) (37,65%) lors de l'hydrolyse des caséines camelines par la chymotrypsine. MOSLEHISHAD *et al.* (2013) ont également signalé une activité antioxydante plus élevée dans le lait de chamelle fermenté que le lait de vache fermenté.

Nous devons également signaler la grande élévation de l'activité antioxydante des caséines du lait de brebis et celui de chamelle avant et après l'hydrolyse qui sont de 29,99 à 50,74% et de 9,87 jusqu'à 37,22% respectivement. Cela peut être dû à la richesse du lait camelin et ovin en  $\beta$ -caséine. Selon JRAD *et al.* (2014), cette composante peut être la meilleure source de peptides antioxydants.

Selon ASSEM *et al.* (2018), les hydrolysats des caséines du lait de chamelle présentent des activités antioxydantes plus élevées que les hydrolysats d'autres espèces ce qui peut partiellement expliquer les résultats de El-AGAMY *et al.* (2009) sur l'effet thérapeutique du lait de chamelle. Ceci peut être expliqué par l'hydrophobicité élevée par rapport au lait de vache (KAPPELER, 1998). La  $\beta$ -CN de chameau a montré une activité antioxydante élevée après hydrolyse avec la chymotrypsine (SALAMI *et al.*, 2011).

Les activités antioxydantes des peptides dépendent de leur composition, de la taille et de la séquence d'acides aminés. Des études ont montré que les acides aminés libres ont une activité antioxydante plus faible que les hydrolysats de caséine, ce qui signifie que la structure primaire de la caséine joue un rôle important (SILK *et al.*, 1973). Les peptides antioxydants peuvent ainsi jouer un rôle important dans le système antioxydant par leur action directe ou synergique à des antioxydants non peptidiques tels que la vitamine C et la vitamine E. Cependant, les caséines du lait de différentes espèces sont caractérisées par des différences qualitatives et quantitatives variables dans leurs structures primaires (ABD EL-SALAM et EL-SHIBINY, 2013).

# **Conclusion**

### Conclusion

Plusieurs travaux existant portent sur l'étude du lait bovin, caprin et ovin. Actuellement, le lait de chamelle préoccupe les chercheurs ce qui lui a permis de développer une réputation comme aliment d'une grande valeur thérapeutique.

Au cours de cette étude, les paramètres physicochimiques étudiés montrent que le lait des trois espèces cameline, caprine et ovine présente un pH élevé comparativement au lait de vache. En matière de protéines, le lait de brebis est le plus riche tant en protéines totales ( $49,23 \pm 4,34$  g/l) qu'en caséines ( $46,05 \pm 4,43$  g/l).

Le contrôle électrophorétique des caséines des trois espèces révèle une faible mobilité comparativement à leurs homologues dans le lait bovin.

Il existe une relation étroite entre le degré d'hydrolyse et l'activité antioxydante. Néanmoins, les résultats révèlent que les caséines bovines sont plus sensibles à la chymotrypsine mais c'est les peptides issus des caséines ovines et camelines qui présentent une meilleure activité antioxydante.

Les mesures de l'activité antioxydante des caséines des quatre espèces sont de l'ordre suivant : LB, LCH, LV et LC, notons que celles-ci sont plus importantes que celles des caséines non hydrolysées.

Ces résultats ont montré la génération de peptides antioxydants en particulier à partir du lait de chamelle et de brebis. Des études supplémentaires sont nécessaires afin d'isoler les différents peptides constituant les caséines de ces espèces, tester leur activité antioxydante après une hydrolyse chymotrypsique par d'autres méthodes (ABTS et FRAP) et vérifier l'activité de ces hydrolysats sur des aliments, tester d'autres activités biologiques telle que l'activité antibactérienne et étudier également la sensibilité de ces caséines à d'autres protéases digestives comme la trypsine et la pepsine. Ces études doivent être entreprises afin d'élargir leur domaine d'application.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

**ABD EL-SALAM M. H. and EL SHIBINY S. (2011).** A comprehensive review of the composition and properties of buffalo milk. *Dairy Science and Technology*, **91**, 663-699

**ABU-LEHIA I. H. (1989).** Physical and chemical characteristics of camel milk fat and its fractions. *Food Chemistry*, **34**, 261-271.

**ADOUI F. (2014).** Peptides antimicrobiens : préparation à partir de protéines laitières. Thèse de doctorat en science, spécialité : Sciences Alimentaire. Université de Constantine. Algérie.

**ALAIS C. (1984).** Science du lait. Principe des techniques laitières. In **OULED ELEYA M. El M. (1996).** Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Lorraine, France.

**AL HAJ OMAR A., HAMAD A. and AL KANHAL A. (2010).** Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk: review. *International Dairy Journal*, **20**, 811-821.

**ALLOUI-LOMBARKIA O., GHENAM E-H., BACHA A., ABEDEDDAIM M. (2007).** Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle et séparation de ses protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, **14**, 108.

**ASSEM F. M., ABD EL-GAWAD M. A. M., KASSEM J. M and ABD EL-SALAM M. H. (2018).** Proteolysis and antioxidant activity of peptic, tryptic and chymotryptic hydrolysates of cow, buffalo, goat and camel caseins. *International Journal of Dairy Technology*, **71**, 236-242.

**ASSENAT L. (1985).** Le lait de brebis. Composition et propriétés. In **YABRIR B. (2014).** Etude de la qualité du lait de brebis collecté dans la région de Djelfa : effet des facteurs de production sur ses caractéristiques, évolution au cours de l'entreposage réfrigéré, aptitudes technologiques. Thèse de doctorat en sciences biologiques, option : biochimie. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.

**ATANASOVA J. and IVANOVA I. (2014).** Antibacterial Peptides from Goat and Sheep Milk Proteins. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **24**, 1799-1803.

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

**BALTHAZAR C. F., PIMENTEL T. F., FERRAOL L. L., ALMADA C. N., SANTILLO A., ALBENZIO M., MOLLAKHALILI N., MORTAZAVIAN A. M., NASCIMENTO J. S., SILVA M. C., FREITAS M. Q., SANT'ANA A. S., GRANATO D. and CRUZ A. G. (2017).** Sheep Milk : Physicochemical Characteristics and Relevance for Functional Food Development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **16**, 247-262.

**BLOOMFIELD V. A. and MEAD R. J. (1974).** Structure and stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, **58**, 592-601.

## Références bibliographiques

---

**BREZOVECKI A., CAGALJ M., FILIPOVIO DERMIT Z., MIKULEC N., BENDELJA-LJOLJIC D. and ANTUNAC N. (2015).** Camel milk and products. *Mljekarstvo*, **65**, 81-90.

**BRIGNON G., RIBADEAU-DUMAS B., MERCIER J. C., PELISSIER J. P. and DAS B. C. (1977).** Complete amino acid sequence of bovine  $\alpha$ S2 casein. *F.E.B.S. Lett.*, **76**, 274-279.

**BRIK TOFT J. J. AND BLOW D. W. (1977).** The structure of crystalline alpha-chymotrypsine. Protein DATA BANK.

**BROWN J. R. and HARTLEY B. S. (1966).** Location of Disulphide Bridges by Diagonal Paper Electrophoresis. The disulphide bridges of bovine chymotrypsinogen A. *Biochemical Journal*, **101**, 214-228.

**BRUCE T. C. (1961).** The mechanism for chymotrypsin. *Biochemistry*, **47**, 1924-1928.

**BOUMAHROU N., ANDREI S., MIRANDA G., HENRY C., PANTHEIR J. J., MARTINP. and BELLIER S. (2009).** The major protein fraction of mouse milk revisited using proven proteomic tools. *Journal of Physiology and Pharmacology*, **60**, 113-118.

**CALAVIA M. C. and BURGOS J. (1998).** Ovine  $\kappa$ -casein in milk from lacha Spanish she heterogeneity and total content. *International Dairy Journal*, **8**, 779-785.

**CARRASCO-CASTILLA J., HERNANDEZ-ALVAREZ A., JIMENZ- MARTINEZ C. and GUTIERREZ- LOPEZ G. (2012).** Use of proteomics and peptidomics methodes in food bioactive peptide. *Science and Engineering Reviews*, **4**, 224-243.

**CAULFIELD W. J. and RIDDELL W. H. (1935).** Some factors influencing the acidity of freshly drawn cow's milk. *Kensas Agricultural Experiment Station*, xxx, 235-242.

**CHABANCE B., MARTEAU P., RAMBAUD J. C., MIGLIORE-SAMOUR D., BOYNARD M. PERROTIN P., GUILLET R., JOLLES P., FIAT A. M. (1998).** Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yoghurt. *Biochimie*, **80**, 155-165.

**CHANOKPHAT P. (2005).** Casein micelle structure : a concise review. *Journal of Science Technology*, **27**, 202-212.

**CHEHMA A. (2003).** Productivité pastorale et productivité laitière en Algérie in : lait de chamelle pour l' Afrique, Niamey, Niger, 43-51.

**CHILLIARD. Y. (1997).** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, **59**, 1-51.

**CLAEYS W. L., VERRAES C., CARDOEN S., DE BLOCK J., HUYGHEBAERT A., RAES K., SEWETTINCK K. and HERMAN T. (2014).** Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional potential health benefits. *Food Control*, **42**, 188-201.

## Références bibliographiques

---

**CLARE D. A. and SWAISGOOD H. E. (2000).** Bioactive milk peptides: a prospectus. *Journal of Dairy Science*, **83**, 1187–1195.

**CNIEL (2013).** *Economie laitière en chiffres*. Édition 2013, 179p.

**CNIEL (2018).** *Economie laitière en chiffres*, Edition 2018, p 164.

**DAOUDI A., COLIN J. P., TERRANTI S. et ASSASSI S. (2017).** L'agriculture contractuelle en Algérie : radiographie de dispositifs public-privé. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, xxx, 1-17.

**Déclaration de la direction générale de l'office interprofessionnel du lait.** Disponible sur : [www.almanch-dz.com](http://www.almanch-dz.com), 2016.

**DELACROIX-BUCHET A., BARILLET F. et LAGRIFFOUL G. (1994).** Caractérisation de l'aptitude fromagère des laits de brebis Lacaune à l'aide d'un formagraph. *Lait INRA*, **74**, 173-186.

**DRACKOVA M., HADRA L., JANSTOVA B., NAVRATILOVA P., PRIDALOVA H. and VORLOVA L. (2008).** Analysis of goat milk by near-infrared spectroscopy. *Acta Veterinaria*, **77**, 415-422.

**DRISS A. (2017).** Besoins de l'Algérie en lait : production national stagne. *L'écho D'Algérie Information et Penser Librement*.

**EI-AGAMY E. I., ABOU –SHLOUE ZEINAB I., ABDEL –KAADER Y. I. (1997).** A comparative study of milk proteins from different species. II. Electrophoretic patterns, molecular characterization, amino acid composition and immunological relationships. **In SALEM S. A., EL-AGAMY E. I., SALAMA F. A. and ABO-SOLIMAN M. H. (2009).** Isolation, molecular and biochemical characterization of goat milk casein and its fractions. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, **11**, 29-35.

**EL AGAMY E. I., NAWAR M., SHAMSIA S. M., AWAD S. and HAENLEIN G. F. W. (2009).** Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children. *Small Ruminant Research*, **82**, 1-6.

**ELAMINE F. M. and WILCOX C. J. (1992).** Milk composition of Majaheim camels. *Journal of Dairy Science*, **75**, 3155-3157.

**ESPEJO-CARPIO F. J., GARCIA-MORENO P. J., PEREZ-GALVEZ R., MORALES-MEDINA R., GUADIX A. and GUADIX E. M. (2016).** Effect of digestive enzymes on the bioactive properties of goat milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, **54**, 21-28.

## Références bibliographiques

---

- FAO (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Alimentation et nutrition. Disponible sur : <http://www.fao.org/T4280F00.htm#Contents>.
- FAO (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Alimentation et nutrition, 28, Rome, Italie.
- FAO (2013).** À propos du lait – Le rôle du lait et des produits laitiers dans la nutrition humaine. Disponible sur : <http://www.fao.org/>.
- FAO (2015).** FAO STAT: Statistics division. food and agriculture organization of the United Nations 2010. Disponible sur : <http://faostat.fao.org/>.
- FAO (2018).** Passerelle sur la production laitière et les produits laitiers. Disponible sur : <http://www.fao.org>.
- FARAH Z. (1993).** Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, **60**, 603-626.
- FARAH Z. and RÜEGG M. W. (1989).** The size distribution of casein micelles in camel milk. *Food Microstruct*, **8**, 211-116.
- FARAH Z., RETTENMAIER R. and ATKINIS D. (1991).** Vitamin contain of camel milk. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **62**, 30-33.
- FARRELL H. M. JR. (1973).** Models for casein micelle formation. *Journal of Dairy Science*, **56**, 1195-1206.
- FARREL J. H. M., JIMENEZ-FLORES R., BLECK G. T., BROWN E. M., BUTLER J. E., CREAMER L. K., HICKS C. L., HOLLAR C. M., NG-KWAI-HANG K. F. and SWAISGOOD H. E. (2004).** Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, **87**, 1641-1674.
- FAVA L. W., KULKAMP-GUERREIRO I. C. and PINTO A. T. (2014).** Evaluation of physico-chemical characteristics of fresh, refrigerated and frozen Lacaune ewes' milk. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterináriae Zootecnia*, **66**, xxx-xxx.
- FERRANTI P., MALORNI A., NITTI G., LAEZZA P., PIZZANO R., CHIANESE L. and ADDO F. (1995).** Primary structure of ovine  $\alpha$ s1- casein: Localization of phosphorylation sites and characterization of genetics variants A, C, and D. *Journal of Dairy Research*, **62**, 281-296.
- FERRANTI P., TRAISCI M. V., PICARIELLO G., NASI A., BOSCHI V., SIERVO M., FALCONI C., CHIANESE L. and ADDEO F. (2004).** Casein proteolysis in human milk: tracing the pattern of casein breakdown and the formation of potential bioactive peptides. *Journal of Dairy Research*, **71**, 74-87.
- FREY P., WHITTIN S. and TOBIN J. (1994).** A low-barrier hydrogen bond in the catalytic triad of serine protease. *Science*, **264**, 89-91.
- GHOZIANE F., YAKHLEF H. and YAICI S. (2003).** Performances de reproduction et de production laitière des bovins laitiers en Algérie. *Annales de l'Institut National Agronomique - El-Harrach*, **24**, 55-68.

## Références bibliographiques

---

- GRAPPIN R., JEUNET R., PILLET R., et LE TOQUIN A. (1981).** Etude des laits de chèvre. I. Teneur du lait de chèvre en matière grasse, matière azotée et fractions azotées. *INRA*, **61**, 117-133. <hal-00928884>.
- HADDADIN M. S. Y., GAMMOH S. I. and ROBINSON R. K. (2008).** Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, **75**, 8-12.
- HAILU Y., HANSEN E. B., SEIFUD E., ESHETU M., IPSENL R. and KAPPELER S. (2016).** Functional and technological properties of camel milk proteins: a review. *Journal of Dairy Research*, **83**, 422–429.
- HAQUE E., CHAD R. and KAPILA S. (2009).** Biofunctional properties of bioactive peptides of milk origin. *Food Reviews International*, **25**, 28–43.
- HEINLEIN G. F. W. and CACCESE R. (2006).** Goat milk versus cow milk. *Dairy Goat Journal*, **3**, 1-5.
- HILL R. D., LAHOV E. and GIVOL D. (1974).** *Research Journal of Dairy*, **41**, 147-153.
- HILL R. J. and WAKE R.G. (1969).** Amphiphile nature of  $\kappa$ -casein as the basis for its micelle stabilizing property, *Nature*, **221**, 635-639.
- HINRICHS J. (2004).** Mediterranean milk and milk preproducts. *European Journal of Nutrition*, **43**, 12-17
- HUEBNER D. (2012).** The art in the science of sheep cheese making. Proceedings of the 18th Annual Dairy Sheep, October 18 - 20, Virginia, USA.
- IMRAN M., KHAN H., HASSAN S. S. and KHAN R. (2008).** Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Zhejiang University Science B*, **9**, 546-551.
- JENNESS R. (1980).** Composition and Characteristics of Goat Milk: Review 1968-19791. *Journal of Dairy Science*, **63**, 1605-1630.
- JENSENS R., FERRIS A., LAMMI-KEEFE C. and HENDERSON R. (1990).** Lipides of bovine and Human milks: A Comparison. *Journal of Dairy Science*, **73**, 223-240.
- J. O. (1993).** Arrêté interministériel du 18 Aout, relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
- JRAD Z., EL-HATMMI H., ADT I., GIRARDET J. M., CAKIR-KIEFER C., JARDIN J., DEGRAEVE P., KHORCHANI T. and OULAHAL N. (2014).** Effect of digestives enzymes on antimicrobial, radical scavenging and angiotensin I converting enzyme inhibitory activities of camel colostrums and milk proteins. *Dairy Sciences and Technology*, **94**, 205-224.
- JUNG M. Y., KIM S. K. and KIM S. Y. (1995).** Riboflavin-sensitized photooxidation of ascorbic acid: kinetics and amino acid effects. *Food Chemistry*, **53**, 397–403.

## Références bibliographiques

---

- KABIL O. I., IBRAHIM E. M. A., EL BARBARY H. A. and ALILM A. (2015).** Effect of seasonal variation on chemical composition of Cow's milk. *Benha Veterinary Medical Journal*, **28**, 150-154.
- KACIMI EI HASSANI S. (2013).** La Dépendance Alimentaire en Algérie : Importation de Lait en Poudre versus Production Locale, Quelle Evolution ? *Mediterranean Journal of Social Sciences MC SER*, **4**, 52-158.
- KADI S. A., DJELLAL F. et BERCHICHE M. (2007).** Caractérisation de la conduite alimentaire des vaches laitières dans la région de Tizi-Ouzou, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*, **19**, xxx-xxx.
- KAMOUN M. (1995).** Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. CIHEAM- IMAZ, Séminaires Zaragoza. Spain, xxx, 81-103
- KAMOUN M. et RAMET J. P. (1989).** Conservation et transformation du lait de dromadaire. CIHEAM-IAMM. Options méditerranéennes. Séries séminaires, **6**, 229-231.
- KANWAL R., TOQEER A. et MIZRA B. (2004).** Comparative analysis of quality of milk collected from buffalo, cow, goat, and sheep of Rawalpindi/Islamabad region of Pakistan. *Asian Journal of Plant Sciences*, **3**, 300-305.
- KAPPELER S., FARAH Z. and PUHAN Z. (1998).** Sequence Analysis of Camelus dromedaries milk caseins. *Journal of Dairy Research*, **65**, 206-222.
- KAPPELER S., FARAH Z. and PUHAN Z. (2003).** Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *American Dairy Science Association*, **87**, 498–508.
- KARRAY N., DANTHINE S., BLECKER C. and ATTIA H. (2006).** Contribution to the study of camel milk fat globule membrane. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **57**, 382-390.
- KARRY N., LOPEZ C., OLLIVON M. et ATTIA H. (2005).** La matière grasse du lait de dromadaire : composition, microstructure et polymorphisme. *Fondamentale*, **12**, 439-446.
- KEIL B., PRUSIK Z. et ŠORM F. (1963).** Disulphide bridges and a suggested structure of chymotrypsinogen. *Biochimica et Biophysica Acta*, **78**, 559-561.
- KHAN B. B. and IQBAL A. (2001).** Production of Camel Milk .... Review. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, **38**, 64-68.
- KHASKHELI M., ARAIN M. A., CHAUDHRY S., SOOMRO A. H. and QURESHI T. A. (2005).** Physico-chemical quality of camel milk. *Journal of Agriculture and Social Sciences*, **2**, 164-166.
- KITTES D. and WEILER K. (2003).** Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design*, **9**, 1309–1323.
- KONUSPAYEVA G., FAYE B., and LOISEAU G. (2009).** The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**, 95-101.

## Références bibliographiques

---

- KONUSPAYEVA G., LEMARIE E., FAYE B., LOISEAU G. and MONTET D. (2008).** Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. *Dairy Science and Technology*, **88**, 327-340.
- KUCHTIK J., SUSTOVA K., URBAN T. and ZAPLETAL D. (2008).** Effect of stage of lactation on milk composition, its properties and the quality of rennet curdling in East Friesian ewes. *Czech Journal of Animal Science*, **53**, 55-63.
- KUMAR D., KUMAR-CHTLI M., SINGH R., MEHTA N. and KUMAR P. (2016).** Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxidant properties. *Dairy Science and Technology*, **96**, 391-404.
- KUZDZAL-SAVOIE S. et KUZDZAL W. (1959).** La recherche du lait de vache ajouté au lait de chèvre. Application au cas du fromage. *Annales de technologie agricole*, **131**, 393-407.
- LAHOV E. and REGELSON W. (1996).** Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk: Caseicidin, isracidin peptides. *Food and Chemical Toxicology*, **34**, 131-145.
- LARSSON-RAZNIKIEWIEZ M. and MOHAMED M. A. (1986).** Analysis of the caseins in camel (*Camelus dromedaries*) milk. *Journal Agriculture Research*, **16**, 13-18.
- LOPEZ-EXPOSITO I., QUIROS A., AMIGO L. and RECIO I. (2007).** Casein hydrolysates as a source of antimicrobial, antioxidant and antihypertensive peptides. *Lait*, **87**, 241-249.
- MADR (2007).** In **ZAIDA W. (2016).** Evaluation de la performance de la nouvelle politique de régulation de la production national du lait cru. *Revue Nouvelle Economie*, **2**, 51-67.
- MANSOUR L. M. (2015).** Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation. Thèse de doctorat. Filière : agronomie ; spécialité : Production Animale. Université Ferhat Abas. Sétif.
- MARLETTA D., CRISCIONE A., BORDONARO S., GUASTELLA A. M. and D'URSO G. (2007).** Casein polymorphism in goat's milk. *Lait*, **87**, 491-504.
- MARUYAMA S. and SUZUKI H. (1982).** A peptide inhibitor of angiotensin I-converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agricultural and Biological Chemistry*, **46**, 1393-1394.
- MAYER H. K. and FIECHTER G. (2012).** Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria—seasonal variations and differences between six breeds. *Dairy Science and Technology*, **92**, 167-177.
- MEHAIA M. A., HABLAS M. A., ABDEL-RAHMAN K. M. and EL-MOUGY S. A. (1995).** Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, **52**, 115-122.
- MERCIER J. C., GROSCLAUDE F. et RIBADEAU-DUMAS B. (1971).** Structure primaire de la caséine  $\alpha$ S1 bovine, Séquence complète. *European Journal of Biochemistry*, **23**, 41-51.

## Références bibliographiques

---

- MERCIER J. C., BRIGNON G. et RIBADEAU-DUMAS B. (1973).** Structure primaire de la caséine  $\kappa$  bovine, Séquence complète. *European Journal of Biochemistry*, **35**, 222-235.
- MOATSOU G., VAMVAKAKI A., MOLLE D., ANIFANTAKIS E. and LEONIL J. (2006).** Protein composition and polymorphism in the milk of skopelos goats. *Lait*, **86**, 345-357.
- MOHAMED A. (1993).** Characterization of camel milk  $\beta$ -casein. In **RIVAL S. G., BOERIU C. G. and WICHER H. J. (2001).** Casein and casein hydrolysates .2. antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **49**, 295–302.
- MOHAMED M. A. and M. LARSSON –RAZNIKIEWICZ (1991).** Heat treatment of camel milk. Effects upon casein fraction. *Milchwissenschaft*, **46**, 562-565.
- MOHANTY D. P., MOHAPATRA S., MISTRA S. and SAIHU P.S. (2015).** Milk derived bioactives peptides and their impact on human health. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **xxx**, xxx-xxx.
- NAKAMURA Y., YAMAMOTO N., SAKAI K., OKUBO A., YAMAZAKI S. and TAKANO T. (1995).** Purification and characterization of angiotensin-I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science*, **78**, 777–783.
- NASALEAN A., OGNEAN L., MUNTEAN S., BALICI S. and MATEI H. (2017).** Comparative Analysis of Electrophoretic Profile of Major Proteins of Milk from Alpine and Carpathian Goats. *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*, **74**, 20-25.
- OCHIRKHUYAG B., CHOBERT G.M., DAGLARRONDO M., CHOISSET Y. and HAERTLE T. (1997).** Characterization of caseins from Mongolian yak, Khainak and Bacterian camel milk. *Lait*, **77**, 601-613.
- OTTER D. (2003).** Milk/Physical and chemical properties. *Elsevier Science*, **xxx**, 3957-3963.
- OULED ELEYA M. El M. (1996).** Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative. Thèse de doctorat de l'institut national polytechniques de Lorraine, France.
- PARK Y. W., JURAZ M., RAMOS M., HAENLEIN G. F. W. (2007).** Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, **68**, 88-113.
- PATTERSON C. A. (2008).** Substances lactières bioactives. Plus que du calcium. Agriculture et Agri-Food. Disponible sur : [www.agr.gc.ca](http://www.agr.gc.ca)
- PAYENS T. A. (1982).** Les propriétés physico-chimiques des caséines alpha s1, bêta et kappa. *Lait*, **62**, 306-320.
- PESUMA M., HEBERT E. M., RABESONA H., DROUET M., CHOISSET Y., HAERTLE T, MOZZI F., FONT DE VALDEZ G. and CHOBERT J. M. (2011).** Proteolytic action/ activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL656 reduces antigenic response to bovine  $\beta$ -lactoglobulin. *Food Chemistry*, **127**, 487–492.

## Références bibliographiques

---

- PHELAN M., AHERNE A., FITZ GERALD R. J. and O' BRIEN N. M. (2009).** Casein derived bioactive peptides: biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *International Dairy Journal*, **19**, 643-654.
- PHOEBE X. QI. (2007).** Studies of casein micelle structure: The past and the present. *Lait*, **87**, 363-383.
- PIERRE A., MOLLE D., MOLLE D. and ZAHOUTE L. (2001).** Characterisation of the casein variants in goat bulk milks using on-line RP-HPLC/ESI-MS. *Lait*, **81**, 667-678.
- POTOCNIK K., GANTNER V., KUTEROVAC K. and CIVIDINI A. (2011).** Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo*, **62**, 107-113.
- POULIN C. (1996).** Préparation et caractérisation d'hydrolysats de caséines destinées à la culture cutanée. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maitre de sciences, université de Laval, Canada.
- RAMET J. P. (2001).** La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelus dromedarius*). Etude FAO production et santé animales, 113, Rome, Italy.
- RAMET J. P. (2003).** Aptitude à la conservation et à la transformation fromagère du lait de chamelle. Actes de l'Atelier International sur : "Lait de chamelle pour l'Afrique", 5-8 novembre, Niamey, Niger.
- RAZAFINDRAKOTO O., RAVELOMANANA N., RASOLOFO A., RAKOTOARIMANANA R., GOURGUE P., COQUIN P., BRIEND A. et DESJEUX J. (1993).** Le lait de chèvre peut-il remplacer le lait de vache chez l'enfant malnutri ? *Le Lait, INRA*, **73**, 601-611. <Hal-00929374>.
- RECIO I. and VISSER S. (1999).** Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine  $\alpha_2$ -casein. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1428**, 314–326.
- REMEUF F. et LENOIR J. (1985).** Caractéristiques physico-chimiques de lait de chèvre. *Revue Laitière Française*, **446**, 32-40.
- REMEUF F., LENOIR J., DUBY C., LETILLY M. T. et NORMAND A. (1989).** Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Le lait, INRA*, **69**, 499-518. <Hal-00929180>.
- RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F. et MERCIER J.C. (1972).** Structure primaire de la caséine  $\beta$ - bovine. Séquence complète. *European Journal of Biochemistry*, **25**, 505-514.
- RIVAL S. G., FORNAROLI S., BOERIU C. G. and WICHERS H. J. (2001b).** Caseins and casein hydrolysates. 1. Lipoxygenase inhibitory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 287–294.
- ROUDJ S., BESSADAT A. et KARAM N. E. (2005).** Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, **12**, 400.

## Références bibliographiques

---

- SALAMI M., YOUSEFI R., EHSANI M. R., DALGALARRONDO M., CHOBERT J. M., HAERTLE T., RAZAVI S. H., SABOURY A. A., NIASARI-NASLAJI A. and MOOSAVI-MOVAHEDI A. A. (2008).** Kinetic characterization of hydrolysis of camel and bovine milk proteins by pancreatic enzymes. *International Dairy Journal*, **18**, 1097–1102.
- SALAMI M., MOOSAVI-MOVAHEDI A. A., MOOSAVI-MOVAHEDI F., EHSANI M. R., YOUSEFI R., FERHADI M., NIASARI-NASLAJI A., SABOURY A. A., CHOBERT J. M. and HAERTLE T. (2011).** Biological activity of camel milk casein following enzymatic digestion. *Journal of Dairy Research*, **78**, 471-478.
- SANDRE C., GLEIZES A., FORESTIER F., GORGES –KERGOT R., CHILMONCZYK S., LEONIL J., MOREAU M. C. and LABARRE C. (2001).** A peptide derived from bovine b-casein modulates functional properties of bone marrow-derived macrophages from germfree and human flora-associated mice. *The Journal of Nutrition*, **13**, 2936–2942.
- SAWAYA W. N., KHALIL J. K., AL-SHALHAT A. and AL-MOHAMMAD H. (1984).** Chemical Composition and Nutritional Quality of Camel Milk. *Journal of Food Science*, **49**, 744-747.
- SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM M. et BELHAD O. (2009).** Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien, variation du pH et de l'acidité à différentes températures. *Afrique Science*, **05**, 293-304.
- SCHMIDT D. (1980).** Colloïdal aspects of casein. *Netherland Milk Dairy Journal*, **34**, 42-64.
- SCHMIDT K.A., STUPAR J., SHIRLEY J. E. and ADAPA S. (1996).** Factors affecting titratable acidity in raw milk. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, **2**, 60-62.
- SHAMSIA S.M. (2009).** Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, **2**, 52-58.
- SI AHMED ZENNIA S., ALMI D., SENOUSSE C., BOUDJENAH S. and MATI A. (2013).** Separation and characterization of major milk proteins from Algerian. Dromedary (*Camelus dromedarius*). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, **25**, 283-290.
- SIBOUKEUR O., MATI A. et HESSAS B. (2005).** Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait camelin (*Camelus dromedarius*) : utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. *Cahiers Agricultures*, **5**, 473-478.
- SILK D. B. A., MARRS T. C., ADDISON J. M., BURSTON D., CLARK M. L. and MATTHEWS D. M. (1973).** Absorption of amino acids from an amino acids mixture simultaneous casein and a tryptic hydrolysate of casein in man. *Clinical Science and Molecular Medicine*, **45**, 515-719.
- SIMOS E. N., NIKOLAOU E. M. and ZOIPOULOS P. E. (1996).** Yield, composition and certain physicochemical characteristics of milk of the Epirus mountain sheep breed. *Small Ruminant Research*, **20**, 67-74.

## Références bibliographiques

---

- SOOD M. and SIDHU K. S. (1979).** Heat stability, the voluminosity and hydration of casein micelles from milks of different species. *New Zeland Journal of Dairy Sciences Technoogy*, **14**, 217-225.
- SOUSA M. J. and MALCATA F. X. (2002).** Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheese from several milk species. *Lait*, **82**, 151–170.
- STORRY J. E., GRANDISON A. S., MILLIARD D., OWEN A. J. and FORD G. D. (1983).** Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant. *Journal of Dairy Research*, **50**, 215-229.
- SUETSUNA K., UKEDA H. and OCHI H. (2000).** Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **11**, 128–131.
- SZWAJKOWSKAL M., WOLANCIUK A., BARLOWSKAL J., KROLL J. and LITWINCZUK Z. (2011).** Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system – a review. *Animal Science Papers and Reports*, **29**, 269-280.
- TAGLIAZUCCHI D., SHAMSIA S. and CONTE A. (2016).** Release of angiotensin converting enzyme-inhibitory peptides during in vitro gastro-intestinal digestion of camel milk. *International Dairy Journal*, **56**, 119–128.
- TEZCUCANO MOLINA A. C., ALLIA I., KONISHI Y. and KERMASHA S. (2007).** Effect of dephosphorylation on bovine casein. *Food Chemistry*. **101**, 1263–1271.
- TRUJILLO A. J., CASALS I. and GUAMIS B. (2000).** Analysis of major ovine milk proteins by reversed phase high-performance liquid chromatography and flow injection analysis with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal Chromatography*, **870**, 371-380.
- VAIRO CAVALLI S., SILVA S. V., CIMINO C., MALCATA F. X. and PRIOLO N. (2008).** Hydrolysis of caprine and ovine milk proteins, brought about by aspartic peptidases from *Silybum marianum* flowers. *Food chemistry*, **106**, 997-1003.
- VEINOGLU B., BALTADJIEVA M., KALATZOPOULOS G., STAMENOVA V. et PAPAPOPOULOU E. (1982).** La composition du lait de chèvre de la région de Plovidiv en Bulgarie et de Ionnina en Grèce. *Lait*, **62**, 155-165.
- WALSH K. A. and NEURATH H. (1964).** Trypsinogen and chymotrypsinogen as homologous proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **52**, 884-889.
- WANG X., ZHAO X., HUANG D., PAN X., QI Y., YANG Y., ZHAO H. and CHENG G. (2017).** Proteomic analysis and cross species comparison of casein fractions from the milk of dairy animals. *Scientific Reports*, **7**, 1-9.
- YABRIR B. (2014).** Etude de la qualité du lait de brebis collecté dans la région de Djelfa : effet des facteurs de production sur ses caractéristiques, évolution au cours de l'entreposage réfrigéré, aptitudes technologiques. Thèse de doctorat en sciences biologiques, option : biochimie. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.

## Références bibliographiques

---

**YABRIR B., HAKEM A., MOSTEFAOUI A., TITOUCHE Y., BOUZIDI A. and MATI A. (2014).** Nutritional value of Algerian breed ewe's milk related to its mineral content. *Pakistan Journal of Nutrition*, **13**, 176-180.

**YABRIR B., LABIAD M., MOSTEFAOUI A., HAKEM A., TITOUCHE Y., GAUCHERON F. and MATI A. (2016).** Profils en acides gras libres, cholestérol et indices lipidiques du lait cru ovin issu de deux races algériennes (Ouled-Djellal et Rumbi) collecté en milieu steppique. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **20**, 17-24.

**YAGIL R. et ETZION Z. (1980).** Effect of drought condition on the quality of camel milk. *Journal of Dairy Research*, **47**, 159-166.

**YAGIL R., ZAGORSKY O. and VAN CREVELD C. (1994).** Science and camel's milk production. Actes du Colloque "dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26 Octobre, Nouakchott, Mauritanie.

**YOGANANDI J., MEHTA B. M., WADHWANI K. N., DARJI V. B. and APARNATHI K. D. (2015).** Evaluation and comparison of camel milk with cow milk and buffalo milk for gross composition. *Journal of Camel Practice and Research*, **21**, 259-265.

**ZAIDA W. (2016).** Evaluation de la performance de la nouvelle politique de régulation de la production nationale du lait cru. *Revue Nouvelle Economie*, **2**, 51-67.

**ZAMBERLIN S., ANTUNAC N., HAVRANEK J. and SAMARZIJA D. (2012).** Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo*, **62**, 111-125.

# **Annexes**

**Annexe I** : Protocole de détermination de la teneur en protéines par la méthode de LOWRY *et al.* (1951).

**1- Solutions**

▪ Solution alcaline A :

- Soude 0,1 N .....500 ml
- Carbonate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).....10 g

▪ Solution cuivrique B

- Sulfate de cuivre hydraté CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>O (0,32g / 100 ml)..... 2 ml
- Tartrate double de Sodium et de Potassium (1g / 100 ml).....2 ml

▪ Solution C

- Solution A.....50 ml
- Solution B.....1 ml

▪ Solution mère de BSA

- BSA.....10 mg
- Eau distillée .....100 ml

▪ Gamme étalon

A partir de la solution mère de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous:

Concentration en BSA (mg/ml)	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.1
BSA (mg)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0

**2- Méthode**

- Prendre 1 ml de l'échantillon à doser ;
- ajouter 5 ml de solution C et mélanger ;
- laisser 10 mn à température ambiante ;
- ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- laisser 30 mn à l'obscurité ;
- lire la DO à 750 nm ;

## 3- Expression des résultats

Une courbe étalon est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution.

La concentration en protéines inconnue X, est déterminée à partir de cette courbe par projection sur l'axe des abscisses.

**Annexe II** : Protocole d'électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes en présence du SDS et de 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

### Solutions

- Solution d'acrylamide (A)

- Acrylamide .....36 g
- Bisacrylamide.....1g
- Eau distillée.....100 ml

- Tampon de gel de séparation (S)

- Tris.....18,15 g
- Eau distillée.....100 ml

Ajuster à pH 8,8 avec HCl 4N

- Tampon de gel de concentration (C)

- Tris.....6g
- Eau distillée.....100 ml

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

- Tampon d'électrode

- Tris .....1,2 g
- Glycine.....5,76 g

- SDS.....0,2 g
- Eau distillée.....200 µl

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

- Tampon d'échantillon

- Solution (C) .....500 µl
- Eau distillée.....250 µl
- SDS (10%).....250 µl
- 2-mercaptoéthanol.....50 µl

Dissoudre 1 mg de protéines lyophilisées dans 1 ml de ce tampon chauffage à 100°C pendant 5 mn puis refroidir dans un bain d'eau froide.

- Solution de fixation

- TCA.....12g
- Eau distillée ..... 100 ml

- Solution de coloration

- Bleu de coomassie R250.....0,5 g
- TCA.....4 g
- Méthanol.....100 ml
- Eau distillée..... 100 ml

- Solution de décoloration

- Acide acétique .....37,5 ml
- Eau distillée.....312,5 ml
- Méthanol.....150 ml

- Solution de persulfate d'ammonium

- Persulfate d'ammonium.....0,1 g
- Eau distillée (qsp).....1 ml

### Electrophorèse

- Préparation du gel de séparation T = 17% et 2,7%

- Solution (A).....	4,6 ml
- Solution (S).....	2,51 ml
- Eau distillée.....	2,73 ml

Dégazer le mélange pendant 2 mn maximum

- SDS (10%).....	100 µl
- TEMED.....	13 µl
- Persulfate d'ammonium 10%.....	75 µl

Couler à environ 1,5 cm du sommet de la plaque

- Préparation du gel de concentration : T = 4,8% et C = 2,7%

- Solution (A).....	1,3 ml
- Solution (C).....	2,5 ml
- Eau distillée.....	5,8 ml

Dégazer le mélange quelques secondes

- SDS 10%.....	100 µl
- TEMED.....	20 µl
- Persulfate d'ammonium à 10%.....	10µl

Couler immédiatement sur le gel de séparation puis introduire le peigne

-Dépôt d'échantillon : 10 µl

-Mise sous tension : 20 mA, 250 V

-Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

-Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

-Décoloration : dans la solution de décoloration

**Annexe III** :Protocole d'électrophorèse en condition dissociantes et en présence d'urée et de 2-mercaptoéthanol (PAGE-urée)

**Solution :**

- Tampon de gel de séparation (S) :

- Tris.....	18,15g
- Eau distillée.....	100 ml

Ajuster à pH 8,8 avec du HCl 4N

- Tampon de gel de concentration (C) :

- Tris.....	6g
- Eau distillée.....	100 ml

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

- Tampon d'électrode

- Tris.....	1,12 g
- Glycine.....	0,58 g
- Eau distillée.....	200 ml

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

- Tampon d'échantillon

- Solution (C).....	100 µl
- Urée.....	700 µl
- 2-mercaptoéthanol.....	200 µl
- Glycérol 50%.....	200 µl
- Bleu de bromophénol.....	une tête d'aiguille

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

Electrophorèse

▪ Préparation du gel de séparation T = 13% et 2,7%

- Acrylamide.....1,26 g
- Bisacrylamide.....0,04 g
- Urée.....2,4 g
- Solution (S).....10 ml

Dégazer le mélange 2 mn

- TEMED.....30  $\mu$ l
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....75  $\mu$ l

Couler à environ 1,5 cm du sommet de la plaque

▪ Préparation du gel de concentration : T = 4% et C = 2,7%

- Acrylamide .....0,38 g
- Bisacrylamide.....0,01 g
- Urée.....0,5 g
- Solution (C).....10 ml

Dégazer le mélange pendant 2 mn

- TEMED.....30  $\mu$ l
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....150  $\mu$ l

-Dépôt d'échantillon : 10  $\mu$ l

-Mise sous tension : 20 mA, 250 V

-Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

-Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

-Décoloration : dans la solution de décoloration

## Annexe IV : Préparation du tampon phosphate 60 mM

-Phosphate monopotassique (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) .....163,308 g/l-Phosphate dissodique (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>).....170,352 g/lAnnexe V : Structure primaire de la caséine αS1 bovine (MERCIER *et al.*, 1971)

1	10	20
Hi-Arg-Pro-Lys-His-Pro-Ile-Lys-His-Gln-Gly-Leu-Pro-Gln-Glu-Val-Leu-Asn-Glu-Asn-Leu-		
21	30	40
Leu-Arg-Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro-Glu-Val-Phe-Gly-Lys-Glu-Lys-Val-Asn-Glu-Leu-		
41	50	60
SeP-Lys-Asp-Ile-Gly-SeP-Glu-SeP-Thr-Glu-Asp-Gln-Ala-Met-Glu-Asp-Ile-Lys-Gln-Met-		
61	70	80
Glu-Ala-Glu-SeP-Ile-SeP-SeP-SeP-Glu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-SeP-Val-Glu-Gln-Lys-His-		
81	90	100
Ile-Gln-Lys-Glu-Asp-Val-Pro-Ser-Glu-Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu-Glu-Gln-Leu-Leu-Arg-		
101	110	120
Leu-Lys-Lys-Tyr-Lys-Val-Pro-Gln-Leu-Glu-Ile-Val-Pro-Asn-SeP-Ala-Glu-Glu-Arg-Leu-		
121	130	140
His-Ser-Met-Lys-Glu-Gly-Ile-His-Ala-Gln-Gln-Lys-Glu-Pro-Met-Ile-Gly-Val-Asn-Gln-		
141	150	160
Glu-Leu-Ala-Tyr-Phe-Tyr-Pro-Glu-Leu-Phe-Arg-Gln-Phe-Tyr-Gln-Leu-Asp-Ala-Tyr-Pro-		
161	170	180
Ser-Gly-Ala-Trp-Tyr-Tyr-Val-Pro-Leu-Gly-Thr-Gln-Tyr-Thr-Asp-Ala-Pro-Ser-Phe-Ser-		
181	190	199
Asp-Ile-Pro-Asn-Pro-Ile-Gly-Ser-Glu-Asn-Ser-Glu-Lys-Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp-OH		

Annexe VI : Structure primaire complète de la caséine αS2 bovine (BRIGNON *et al.*, 1977)

1	10	20
Hi-Lys-Asn-Thr-Met-Glu-His-Val-SeP-SeP-SeP-Glu-Glu-Ser-Ile-Ile-SeP-Gln-Glu-Thr-Tyr-		
21	30	40
Lys-Gln-Glu-Lys-Asn-Met-Ala-Ile-Asn-Pro-Ser-Lys-Glu-Asn-Leu-Cys-Ser-Thr-Phe-Cys-		
41	50	60
Lys-Glu-Val-Val-Arg-Asn-Ala-Asn-Glu-Glu-Gul-Tyr-Ser-Ile-Gly-SeP-SeP-SeP-Glu-Glu-		
61	70	80
SeP-Ala-Glu-Val-Ala-Thr-Glu-Glu-Val-Lys-Ile-Thr-Val-Asp-Asp-Lys-His-Tyr-Gln-Lys-		
81	90	100
Ala-Leu-Asn-Glu-Ile-Asn-Gln-Phe-Tyr-Gln-Lys-Phe-Pro-Gln-Tyr-Leu-Gln-Tyr-Leu-Tyr-		
101	110	120
Gln-Gly-Pro-Ile-Val-Leu-Asn-Pro-Trp-Asp-Gln-Val-Lys-Arg-Asn-Ala-Val-Pro-Ile-Thr-		
121	130	140
Pro-Thr-Leu-Asn-Arg-Glu-Gln-Leu-SeP-Thr-SeP-Glu-Glu-Asn-Ser-Lys-Lys-Thr-Val-Asp-		
141	150	160
Met-Glu-SeP-Thr-Glu-Val-Phe-Thr-Lys-Lys-Thr-Lys-Leu-Thr-Glu-Glu-Glu-Lys-Asn-Arg-		
161	170	180
Leu-Asn-Phe-Leu-Lys-Lys-Ile-Ser-Gln-Arg-Tyr-Gln-Lys-Phe-Ala-Leu-Pro-Gln-Tyr-Leu-		
181	190	200
Lys-Thr-Val-Tyr-Gln-His-Gln-Lys-Ala-Met-Lys-Pro-Trp-Ile-Gln-Pro-Lys-Thr-Lys-Val-		
201	207	
Ile-Pro-Tyr-Val-Arg-Tyr-Leu-OH		

Annexe VII : Structure primaire complète de la caséine  $\beta$  bovine (RIBADEAU-DUMAS *et al.*, 1972)

1	10	20
M-Arg-Glu-Leu-Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-Ile-Val-Glu- <b>SeP</b> -Leu- <b>SeP</b> - <b>SeP</b> - <b>SeP</b> -Glu-		
21	30	40
Glu-Ser-Ile-Thr-Arg-Ile-Asn-Lys-Lys-Ile-Glu-Lys-Phe-Gln- <b>SeP</b> -Glu-Glu-Gln-Gln-Gln-		
41	50	60
Thr-Glu-Asp-Glu-Leu-Gln-Asp-Lys-Ile-His-Pro-Phe-Ala-Gln-Thr-Gln-Ser-Leu-Val-Tyr-		
61	70	80
Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asn-Ser-Leu-Pro-Gln-Asn-Ile-Pro-Pro-Leu-Thr-Gln-Thr-		
81	90	100
Pro-Val-Val-Val-Pro-Pro-Phe-Leu-Gln-Pro-Glu-Val-Met-Gly-Val-Ser-Lys-Val-Lys-Glu-		
101	110	120
Ala-Met-Ala-Pro-Lys-His-Lys-Glu-Met-Pro-Phe-Pro-Lys-Tyr-Pro-Val-Glu-Pro-Phe-Thr-		
121	130	140
Glu-Ser-Gln-Ser-Leu-Thr-Leu-Thr-Asp-Val-Glu-Asn-Leu-His-Leu-Pro-Leu-Pro-Leu-Leu-		
141	150	160
Gln-Ser-Trp-Met-His-Gln-Pro-His-Gln-Pro-Leu-Pro-Pro-Thr-Val-Met-Phe-Pro-Pro-Gln-		
161	170	180
Ser-Val-Leu-Ser-Leu-Ser-Gln-Ser-Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln-Lys-Ala-Val-Pro-Tyr-		
181	190	200
Pro-Gln-Arg-Asp-Met-Pro-Ile-Gln-Ala-Phe-Leu-Leu-Tyr-Gln-Glu-Pro-Val-Leu-Gly-Pro-		
201	209	
Val-Arg-Gly-Pro-Phe-Pro-Ile-Ile-Val-OH		

Annexe VIII : Structure primaire complète de la caséine  $\kappa$  bovine (MERCIER *et al.*, 1973)

1	10	20
PyroGlu-Glu-Gln-Asn-Gln-Glu-Gln-Pro-Ile-Arg-Cys-Glu-Lys-Asp-Glu-Arg-Phe-Phe-Ser-Asp-		
	30	40
Lys-Ile-Ala-Lys-Tyr-Ile-Pro-Ile-Gln-Tyr-Val-Leu-Ser-Arg-Tyr-Pro-Ser-Tyr-Gly-Leu-		
	50	60
Asn-Tyr-Tyr-Gln-Gln-Lys-Pro-Val-Ala-Leu-Ile-Asn-Asn-Gln-Phe-Leu-Pro-Tyr-Pro-Tyr-		
	70	80
Tyr-Ala-Lys-Pro-Ala-Ala-Val-Arg-Ser-Pro-Ala-Gln-Ile-Leu-Gln-Trp-Gln-Val-Leu-Ser-		
	90	100
Asp-Thr-Val-Pro-Ala-Lys-Ser-Cys-Gln-Ala-Gln-Pro-Thr-Thr-Met-Ala-Arg-His-Pro-His-		
	110	120
Pro-His-Leu-Ser-Phe-Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lys-Lys-Asn-Gln-Asp-Lys-Thr-Glu-Ile-Pro-		
	130	140
Thr-Ile-Asn-Thr-Ile-Ala-Ser-Gly-Glu-Pro-Thr-Ser-Thr-Pro-Thr-Ile-Glu-Ala-Val-Glu-		
		136
		Thr (variant A)
	148	150
Ser-Thr-Val-Ala-Thr-Leu-Glu-Ala-Ser-Pro-Glu-Val-Ile-Glu-Ser-Pro-Pro-Glu-Ile-Asn-		
	Asp (variant A)	
	169	
Thr-Val-Gln-Val-Thr-Ser-Thr-Ala-Val-OH		

**Annexe IX :** Séquence primaire du variant génétique B de la caséine  $\alpha$ S1 cameline (KAPPELER *et al.*, 1998)

10	20	30	40	50	60
RPKYPLRYPE	VFQNEPDSIE	EVLNKRKILE	LAVVSPIQFR	QENIDELKDT	RNEPTEDHIM
70	80	90	100	110	120
EDTERKESGS	SSSEEVV SST	TEQKDILKED	MPSQRYLEEL	HRLNKYKLLQ	LEAIRDQKLI
130	140	150	160	170	180
PRVKLSSHPY	LEQLYRINED	NHPQLGEPVK	VVTQEQAYFH	LEFPQFFQL	GASPYVAWYY
190	200	210			
PPQVMQYIAH	PSSYDTPEGI	ASEDGGKTDV	MPQWW		

**Annexe X :** Séquence primaire de la caséine  $\alpha$ S2 cameline (KAPPELER *et al.*, 1998)

10	20	30	40	50	60
KHEMDQGSSS	EESINVSQQK	FKQVKKVAIH	PSKEDICSTF	CEEAVRNIKE	VESA EVPTEN
70	80	90	100	110	120
KISQFYQKWK	FLQYLQALHQ	GQIVMNPWDQ	GKTRAYPFIP	TVNTEQLSIS	EESTEVPTEE
130	140	150	160	170	
STEVFTKKTE	LTEEEKDHQK	FLNKIYQYYQ	TFLWPEYLKT	VYQYQKTMT	WNHIKRYF

**Annexe XI :** Séquence primaire de la caséine  $\beta$  cameline (KAPPELER *et al.*, 1998)

10	20	30	40	50	60
REKEEFKTAG	EALISSSE	ESITHINKQK	IEKFKIEEQQ	QTEDEQQDKI	YTFPQPQSLV
70	80	90	100	110	120
YSHTEPIYP	ILPQNFLPPL	QPAVMVPFLQ	PKVMDVPTK	ETIIPKRKEM	PLLQSPVVPF
130	140	150	160	170	180
TESQSLTLD	LENLHLPPL	LQSLMYQIPQ	PVPQTPMIPP	QSLLSLSQFK	VLPVPQQMVP
190	200	210			
YPQRAMPVQA	VLPFQEPVPD	PVRGLHPVPQ	PLVPVIA		

**Annexe XII** : Séquence primaire de la caséine  $\kappa$  cameline (KAPPELER *et al.*, 1998)

```

Glu - Val - Gln - Asn - Gln - Glu - Gln - Pro - Thr - Cys11 - Phe - Glu - Lys - Val - Glu - Arg - Leu - Leu - Asn - Glu24
Lys - Thr - Val - Lys - Tyr - Phe - Pro - Ile - Gln - Phe38 - Val - Gln - Ser - Arg - Tyr - Pro - Ser - Tyr - Gly - Ile43
Asn - Tyr - Tyr - Gln - His - Asn - Leu - Ala - Val - Pro58 - Ile - Asn - Asn - Gln - Phe - Ile - Pro - Tyr - Pro - Asn60
Tyr - Ala - Lys - Pro - Val - Ala - Ile - Arg - Leu - His70 - Ala - Gln - Leu - Pro - Gln - Cys - Gln - Ala - Leu - Pro83
Asn - Ile - Asp - Pro - Pro - Thr - Val - Glu - Arg - Arg93 - Pro - Arg - Pro - Arg - Pro - Ser - Phe97 - Ile93 - Ala - Ile116
Pro - Pro - Lys - Lys - Thr - Gln - Asp - Lys - Thr - Val121 - Asn - Pro - Ala - Ile - Asn - Thr - Val - Ala - Thr - Val122
Glu - Pro - Pro - Val - Ile - Pro - Thr - Ala - Glu - Pro130 - Ala - Val - Asn - Thr - Val - Val - Ile - Ala - Glu - Ala148
Ser - P - Ser - Glu - Phe - Ile - Thr - Thr - Ser - Thr - Pro158 - Glu - Thr - Thr - Thr - Val - Gln - Ile - Thr - Ser - Thr168
Glu - Ile182
    
```

**Annexe XIII** : Séquence primaire de la caséine  $\alpha$ S1 ovine (YE BRIR, 2014)

```

      10      20      30      40      50      60
MKLLILTCLV AVALARPKHP IKHQGLSSEV LNENLLRFVV APFPEVFRKE INELSKDIG
      70      80      90     100     110     120
SESIEDQAME DAKQMKAGSS SSSEEIVPNS AEQKYIQKED VPSERYLGYL QLLRLKRYN
      130     140     150     160     170     180
VPQLEIVPKS AEEQLHSMKE GNP AHQKQPM IAVNQELAYF YPQLFRQFYQ DAYPSGAWY
190      200      210
YLPLGTQYTD APSFSDIPNP IGSENSGKIT MPLW
    
```

**Annexe XIV** : Séquence primaire de la caséine  $\alpha$ S2 ovine (YE BRIR, 2014)

```

      10      20      30      40      50      60
MKFFIFTCLL AVALAKHKME HVSSSEEPINISOEIYKQEKMAIHPRKEKCTTSCEEV
      70      80      90     100     110     120
RNADEEEYSIRSSSEESA EVAPEEVKITVD DKHYQKALNEINOFYQKFPQLQYLYOGPI
      130     140     150     160     170     180
VLNPWDQVQRNAGPFTPTVNREQLSTSEENSKKIDMESTEVFTKTKLT EEKNRLNFL
190      200      210     220
KKISQYYQKFAWPQYLKTV DQH QKAMKPWTQPKTNAIPYV RYL
    
```

**Annexe XV** : Séquence primaire de la caséine  $\beta$  ovine (YEBRIR, 2014)

10	20	30	40	50	60
MKVLILACLV	ALALAREQEE	LNVVGETVES	LSSSEESITH	INKKIEKFQS	EEQQQTEDEL
70	80	90	100	110	120
QDKIHPPAQA	QSLVYPFTGP	IPNSLPQNIL	PLTQTPVVVP	PFLQPEIMGV	PKVKETMVPK
130	140	150	160	170	180
HKEMPPPKYP	VEPFTESQSL	TLTDVEKLHL	PLPLVQSWMH	QPPQPLPPTV	MFPPQSVLSL
	190	200	210	220	
SQPKVLPVPQ	KAVPQRDMPIQA	FLLYQEPV	LGPVVRGPF	PILV	

**Annexe XVI** : Séquence primaire de la caséine  $\kappa$  (YEBRIR, 2014)

10	20	30	40	50	60
MMKSFFLVVT	ILALTLPFLG	AQEQNQEQRI	CCEKDERFFD	DKIAKYIPIQ	YVLSRYPSYG
70	80	90	100	110	120
LNYYQQRPVA	LINNQFLPYP	YYAKPVAVRS	PAQTLQWQVL	PNAVPAKSCQ	DQPTAMARHP
130	140	150	160	170	180
HPHLSFMAIP	PKKDQDKTEI	PAINTIASAE	PTVHSTPTEAVV	NAVDNPEASSE	SIASAP

Annexe XVII : Structure primaire de la chymotrypsine (BROWN et HARTLEY, 1966)

