

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOD MAMMERI TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIQUE**



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Sciences Alimentaires

Option : Biochimie de la Nutrition

Thème

**Isolement et caractérisation électrophorétique de
la fraction des protéose-peptones des laits bovin,
ovin, camelin et caprin.**

Réalisé par :

CHERNAI Amina

OUAKED Zohra

Encadré par :

M^{me} GHEZALI-SENOUSSI C.

Devant le jury

Président : M^{me} ALMI-SEBBANE D. Maitre de conférences à l'UMMTO

Promoteur : M^{me} GHEZALI-SENOUSSI C. Maitre assistante à l'UMMTO

Examineur : M^{me} ZENNIA- SI AHMED S. Maitre de conférences à l'UMMTO

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir permis d'accomplir ce modeste travail. Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme GHEZALI SENOUSI.C., Maitre assistante au département des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou, d'avoir proposé et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, nous avons beaucoup apprécié ses conseils, sa compétence et sa clairvoyance qui nous ont beaucoup appris.

Nous sincères remerciements vont également aux membres du jury :

-Mme SEBANE-ALMI D., Maitre Assistante Classe A à l'UMMTO.

-Mme ZENNIA-SI AHMED S., Maitre Assistante Classe A à l'UMMTO.

On tient également à remercier Mme AMAR-KHOUDJA Nadia et BOUADJELA

Lamia ingénieurs de labo pour leurs gentilleses.

On remercie aussi tout le personnel de laboratoire pédagogique d'Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents, qui m'ont toujours encouragé et soutenu tout au long de ces années d'études, pour tout l'amour qu'ils m'ont donné et qu'ils me donnent encore. Je vous aime ;

A mes grands-parents que dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de bonheur ;

A mes chères sœurs Ryma, Ikram et Nissa ainsi qu'à mon frère Lyes je vous aime ;

A mes chères tantes paternelles et maternelles ;

A ma binôme ZOHRA ;

A mes chères amies je ne pourrais les citer toutes, mais elles savent que je leur suis très reconnaissante pour leur soutien.

Amina

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes très chers parents, pour l'amour et l'affection qu'ils me donnent le courage et la force dans les moments les plus difficiles. Que dieu vous bénisse, vous protèges et vous garde le plus longtemps avec nous ;

A la mémoire de ma grand-mère ;

A mes sœurs Melly et Aurelie, sincère affection que dieu vous accorde sa grâce et vous guide dans le droit chemin, Je vous aime ;

A mes tantes et oncles ;

A ma binôme Amina ;

A ma meilleur amie Lamia ;

A mes amies que je ne pourrais les citer toutes mais elles savent que je leur suis très reconnaissante pour leur soutient.

Zohra

SOMMAIRE

Titre	Page
Introduction	1
Partie bibliographique	
1. Synthèse des données bibliographiques	2
1.1 Aperçu général sur les laits bovin, ovin, camelin, caprin	2
1.1.1. Production laitière dans le monde et en Algérie	2
1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait	3
1.1.2.1. Définition	3
1.1.2.2. Caractéristiques physiques du lait	3
1.1.2.3. Valeur nutritionnelle	4
1.2. Les protéines du lait	7
1.2.1. Les caséines	7
1.2.2. Les protéines du lactosérum	9
1.2.2.1. Les protéines sériques majeures	9
1.2.2.1.1. La β -lactoglobuline	9
1.2.2.1.2. L' α -lactalbumine	9
1.2.2.1.3. L'albumine sérique	10
1.2.2.2. Les protéines sériques mineures	10
1.2.2.2.1. La lactoferrine	10
1.2.2.2.2. La lactoperoxydase	11
1.2.2.2.3. Les immunoglobulines	11
1.2.2.2.4. Le lysozyme	12
1.3. la fraction protéose-peptone	13
1.3.1. Composition et origine des protéose-peptones	13
1.3.1.1. La fraction non hydrophobe des PP (FNHPP)	13
1.3.1.2. La fraction hydrophobe des PP (FHPP)	14
1.3.2. Propriétés biologiques techno-fonctionnelles des protéose peptones	15
1.3.2.1. Les propriétés moussantes	15
1.3.2.2. Les propriétés émulsifiantes	16
1.3.2.3. Activités biologiques	16
Partie expérimentale	
2. Matériel et méthodes	18
2.1. Objectif	18
2.2. Matériel	18
2.2.1. Echantillons de lait	18
2.2.2. Appareillage	18
2.2.3. Produits chimiques, réactifs et matériel biologique	18
2.3. Méthodes	19
2.3.1. Préparation des échantillons	19
2.3.2. Isolement des protéines	19
2.3.2.1. Ecrémage	21

2.3.2.2. Acidification	21
2.3.2.3. Dialyse	21
2.3.2.4. Congélation et lyophilisation	21
2.3.3. Méthodes physico-chimiques	21
2.3.3.1. Mesure du pH	22
2.3.3.2. Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Biuret (GORNALL <i>et al</i> , 1949)	22
2.3.4. Traitement thermique	23
2.3.5. Mise en évidence et isolement de la fraction des protéose-peptones	23
2.3.5.1. Effet de la température et du temps de chauffage	23
2.3.5.2. Effet du TCA	23
2.3.6. Méthodes électrophorétiques	25
2.3.6.1. Principe général de l'électrophorèse	25
2.3.6.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)	25
2.3.6.2.1. Principe	25
2.3.6.2.2. Conduite de l'électrophorèse en condition non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-Native)	26
3. Résultats et discussion	28
3.1. Analyse physico-chimique des échantillons de lait étudiés	28
3.1.1. Mesure du pH	28
3.1.2. Détermination de la teneur en protéines	29
3.1.2.3. Les protéines totales	29
3.1.2.4. Les protéines sériques	30
3.1.2.5. Les caséines	30
3.2. Isolement et Caractérisation électrophorétique par PAGE-Native des protéines sériques bovines, ovines, camelines et caprines	31
2.2.1. Effet du traitement thermique sur les protéines sériques totales des échantillons de lait étudiés	33
3.3. Isolement et caractérisation électrophorétique des fractions protéose-peptones bovines, ovines, caprines et camelines	35
Conclusion	40
Référence bibliographique	41
Annexes	54

LISTE DES ABREVIATIONS

- **Aa** : **Acide** Aminé
- **α S1-CN** : Caséine α S1
- **α -La** : L' α -lactalbumine
- **α s2-CN** : Caséine α s2
- **β -CN** : Caséine- β
- **β -Lg** : β -lactoglobuline
- **β s2-CN** : Caséine- β s2
- **BSA** : Albumine Sérique Bovine
- **°C** : Degré celsius
- **C** : Pourcentage de réticulation
- **°D** : Degré Dornic
- **Da** : Dalton
- **DO** : Densité optique
- **FAO** : Organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'Agriculture
- **FHPP** : Fraction hydrophobe des protéose-peptones
- **FNHPP** : Fraction non hydrophobe des protéose-peptones
- **Igs** : Immunoglobulines
- **IgA** : Immunoglobuline A
- **IgE** : Immunoglobuline E
- **IgG1** : Immunoglobuline G1
- **IgG2** : Immunoglobuline G2
- **IgM** : Immunoglobuline M
- **κ -CN** : Caséine-k
- **kDa** : kilodalton
- **LB** : Lait de brebis
- **L.C** : Lait Camelin
- **L.CH** : Lait de chèvre
- **LV** : Lait de Vache
- **LF** : Lactoferrine
- **LP** : Lactoperoxydase

- **LP28** : Lactophorine 28
- **LP18** : Lactophorine18
- **M** : Molaire
- **MM** : Masse moléculaire
- **mM** : Milli molaire
- **mA** : Milliampère
- **mn** : Minute
- **Mds** : Milliards
- **N** : Normalité
- **nm** : Nanomètre
- **pH** : Potentiel d'hydrogène
- **pHi** : Point Isoélectrique
- **PM** : Poids moléculaire
- **PT** : ProtéinesTotales
- **PP** : Protéose-peptone
- **PPT** : Protéose-peptones total
- **PP3** : Composant-3 des protéose-peptones
- **PP5** : Composant-5 des protéose-peptones
- **PP8F** : Composant -8 « rapide » des protéose-peptones
- **PP8S** :Composant-8 « lent » des protéose-peptones
- **p/v** : Poids/Volume
- **PAGE** : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
- **SDS** : Dodécylsulfate de sodium
- **T** : Concentration en acrylamide Total
- **TCA** : Acide trichloracétique
- **TEMED** : N,N,N',N'- tetramethyl-éthylène diamine
- **Tris** : Tris-hydroxy-methyl-amino-méthane
- **V** : Volte
- **V/V** : Volume/Volume
- **Vit B12** : Vitamine B12
- **Vit B9** : Vitamine B9

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	page
01	Protéolyse de la caséine β par la plasmine	14
02	Étapes suivie pour l'isolement des protéines sériques	20
03	Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de Biuret (Gornall et al, 1949), réalisée avec l'albumine sérique bovin BSA comme protéine de référence.	22
04	Protocole de préparation de la fraction protéose-peptone selon PAQUET(1989)	24
05	Photographie de la cuve d'électrophorèse	27
06	Schéma illustratif du dispositif de migration électrophorétique en PAGE	27
07	profil électrophorétique des protéines sériques en PAGE-native (T=12% ; C=2,9% ; pH=8,9)	32
08	Electrophorégramme en PAGE-Native (T=12% ; C=2,9 ; pH=8,9) des protéines du lactosérum des laits ovin, et Bovin Après traitement thermique 95°C pendant 20, 30, 40 et 60minutes	33
09	Electrophorégramme en PAGE-Native (T= 12% ; C=2,9 ; pH= 8,9) des protéines du lactosérum des laits camelin et caprin Après traitement thermique 95°C pendant 20, 30, 40 et 60minutes	34
10	Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) des protéose-peptones totales des laits bovin, ovin, caprin et camelin précipité au TCA 6, 8,12%, Après traitement thermique (90°C pendant 30min)	35
11	Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) protéose-peptones des laits bovin, ovin, caprin et camelin précipité au TCA 12% Après traitement thermique (95°C pendant 30min)	35
12	profil électrophorétique des protéose-peptones des laits bovin, ovin, caprin et camelin Précipité au TCA 12% Après traitement thermique (95°C pendant 30min)	36
13	Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) des protéose-peptones totales des laits bovin, ovin, caprin et camelin traité au TCA 12%, Après traitement thermique 95°C pendant, 30, 40 et 60minutes	38

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
I	Production mondiale de lait par espèce animale de 2005 à 2018	2
II	Evolution de la production laitière en Algérie durant la période 2007-2011	3
III	Caractérisation physique du lait bovin, ovin, camelin et caprin	4
IV	Composition moyenne du lait de différentes espèces animales	5
V	Teneur en Minéraux et en Oligo-éléments des laits de diverses espèces animales	6
VI	Teneur en vitamine du lait de diverses espèces animales	6
VII	Concentration des fractions caséiques dans le lait de différentes espèces	8
VIII	Caractérisation physico-chimique des caséines des laits bovin, ovin, camelin et caprin	8
IX	Concentration des différentes séroprotéines dans les laits de diverses espèces	12
X	Tableau synthétique des différentes fonctions biologiques et technologiques du PP3 dans le lait de vache.	17
XI	Valeurs moyennes du pH mesuré du lait des 4 espèces.	28
XII	Teneur en protéines (g/l) des échantillons de lait étudiés	29

Résumé

La présente étude a pour objectif d'isoler et de caractériser la fraction des protéose-peptones de quatre espèces laitières bovine, ovine, cameline et caprine par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) dans les conditions natives.

L'analyse physico-chimique a porté sur la mesure du pH et le dosage des protéines, l'isolement et la caractérisation par PAGE native des protéose-peptones ont été effectués.

Le dosage des protéines a révélé des teneurs proches (30,27 g/l en moyenne) pour le lait de vache, de chèvre et de chamelle, alors qu'un taux deux fois plus élevé a été enregistré pour le lait de brebis (50,50g/l). Le taux des protéines sériques du lait de brebis est estimé à 13 g/l. L'analyse par PAGE-Native de cette fraction a montré la présence de protéines homologues entre les quatre espèces laitières, à l'exception du lait camelin où l'absence de la β -lactoglobuline a été observée.

Les protéose-peptones totales des différents échantillons de lait ont été isolés par thermocoagulation et précipités au TCA 12%. La caractérisation par PAGE-Native a permis d'obtenir des profils similaires pour les 4 espèces étudiés où des entités analogues aux PP3, PP5 et PP8 bovins ont été distinguées.

Mots clés : Lait, bovin, ovin, camelin, caprin, protéines sériques, protéose-peptones, PAGE-Native.

Abstract

This study aim to isolate and characterize the fraction of protéose-peptones of four different milk species; cattle, sheep, camels and goats via polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) with native conditions.

The physic-chemical analysis focused on: measure of pH, proteins dosage, isolation and characterization of protéose-peptones with the native PAGE method.

The proteins dosage revealed a close content of protéose-peptones (30.27 g/l) in cow, sheep and camel milk, while a rate twice as high was recorded with goat's milk (50.50 g/l). The content of serum protein in goat's milk was estimated 13 g/l. This fraction's analysis via native-PAGE revealed the presence of counterpart proteins between the four species of milks, with the exception of camel milk where absence of the beta-lactoglobuline was observed.

All the protéose-peptones of the different samples of milks were isolated via thermo-freezing and precipitation with TCA 12% method. The characterization with native-PAGE allowed us to obtain similar profiles for the four milks species that been analyzed, when similar proteins of PP3, PP5 and PP8 were distinguished.

Keys worlds: milk, cattle, sheep, camel, goat, serum proteins, protéose-peptones, native-PAGE.



Introduction

Introduction

Considéré comme étant une source de protéines animales importante et ayant un rôle vital dans l'alimentation humaine, le lait est un aliment complet. Il compense les autres protéines animales telles que la viande, au prix excessif. Il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau.

Le lait constitue un produit de base dans le modèle de consommation algérien, il est consommé tel quel, à l'état frais ou sous forme de produits transformés notamment en fromage ou en yaourt.

En Algérie, les besoins en lait sont très importants et sont estimés à 7 milliards de litres en 2015 (ZAIDA, 2016). La production laitière nationale n'a pas réussi à suivre l'évolution de la consommation laitière par habitant, alors que notre pays est considéré comme l'un des plus grands consommateurs de lait en Afrique. La couverture assurée actuellement par la production nationale ne dépasse pas 3,4 milliards de litre (EL HIRONDEL, 2014).

La filière laitière consacre annuellement plus de 46 Mds de dinars comme subvention destinée à la poudre de lait, le développement de la production locale apparaît comme une exigence pour réduire cette dépendance. 80% de la production laitière est orientée particulièrement vers le lait bovin, le reste est occupé par le lait ovin, camelin et caprin.

Afin d'endiguer ce manque, l'état encourage le développement du cheptel bovin laitier, ainsi que les espèces ovine, caprine et cameline connues pour leurs résistances aux conditions climatiques extrêmes.

Une connaissance approfondie de la qualité nutritionnelle du lait, de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensable à la compréhension de son comportement lors des différents traitements technologiques appliqués en vue de l'obtention de nouveaux produits dérivés.

Les protéose peptones c'est une composante du lait d'un grand intérêt pour laquelle une attention particulière devrait être portée. C'est une fraction thermorésistante qui joue un rôle techno-fonctionnel et biologique important. Plusieurs études ont été consacrées à la fraction bovine, alors que très peu de travaux ont été menés sur les protéose peptones des autres laits.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui a pour but de mener une étude comparative de la fraction protéose peptone du lait bovin, ovin, caprin et camelin. Ceci en isolant cette fraction et en la caractérisant par électrophorèse en conditions natives.



**Synthèse des données
bibliographiques**

1. Synthèse des données bibliographiques

1.1. Aperçu général sur les laits bovin, ovin, camelin et caprin

1.1.1. Production laitière dans le monde et en Algérie

La filière laitière occupe une place importante à l'échelle mondiale, la production laitière mondiale est dominée par le lait de vache (FAO, 2015). Cette production a atteint 704 millions de tonnes en l'an 2018, alors que la production en lait des autres espèces n'est que de 34 millions de tonnes (Vargas, 2020).

La répartition de la production totale du lait au niveau mondial entre les différents ruminants n'a pas connu de changements significatifs durant la période allant de 2005 à 2018 (tableau I).

Tableau I : Production mondiale de lait par espèce animale durant la période allant de 2005 à 2018 (Vargas, 2020)

Lait	2005	2015	2017	2018	TCAM 2005-2018
Vache	549	670	689	704	1,9%
Bufflonne	80	109	121	126	3,6%
Chèvre, brebis et autres	28	32	34	34	1,5%
Total	654	811	844	864	2,1%

TCAM : Taux de croissance annuel moyen

Unité : millions de tonnes/an

En Algérie, 80% de la production laitière est assurée par le cheptel bovin (KACIMI EL HASSANI, 2013), les 20% qui restent du total sont couverts par le lait de brebis et de chèvre, alors que la production laitière cameline est marginale (DRISS, 2017).

La production nationale demeure insuffisante compte tenu de la demande annuelle en lait (tableau II)

Tableau II : Evolution de la production laitière en Algérie durant la période allant de 2007 à 2011 (MADR., 2012)

Années	2007	2008	2009	2010	2011
Espèce					
Bovin	1,52	1,51	1,80	1,90	2,00
Caprin	0,21	0,19	0,22	0,27	0,24
Ovin	0,41	0,46	0,39	0,37	0,44
Camelin	0,039	0,059	0,039	0,040	0,056
Total	2,18	2,22	2,45	2,58	2,73

Unité : milliard de litres.

1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques du lait

1.1.2.1. Définition

Le lait est défini comme étant 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 (Congrès international de la répression des fraudes alimentaires, Genève, 1908).

Sur le plan organoleptique, le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur douce légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée (BITMAN *et al*, 1996).

Le lait de chèvre est blanc mat, dû à l'absence de B-carotène, contrairement au lait de vache.

1.1.2.2. Caractères physiques du lait

– pH

Le pH traduit la concentration en ions H⁺ ou l'acidité actuelle du lait (SINA, 1992). Sa valeur varie en fonction des espèces, vu les variations de la composition chimique particulièrement la teneur en caséines et en phosphate. Le pH du lait bovin est compris entre 6,6 et 6,8, il résulte de la présence en excès des phosphates et des caséines (LATYR FALL, 1997). Le lait camelin serait légèrement plus acide que le lait bovin (OULD MOUSTAPHA *et al*, 2016).

– Acidité

Elle correspond à l'acidité exprimée par le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Le lait normal a une acidité de titration comprise entre 14 et 18° D (SINA, 1992).

Comparé au lait de vache, le lait de chamelle s'acidifie très peu, il peut être conservé longtemps sans réfrigération (3 jours à 30°C et 2 semaines à 7°C) (OMER *et al*, 2009). Alors que le lait de brebis, il présente une acidité plus élevée que les autres laits (tableau III).

– Densité

La densité varie pour une même espèce, elle est dépendante de la richesse du lait en éléments dissous et ceux en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse (SINA, 1992). Elle varie également en fonction de la température, elle est mesurée à 20°C (LATYR FALL, 1997).

La densité moyenne du lait est de 1030 à une température de 20°C (WENDMISIDA, 2013).

Tableau III : Caractéristiques physiques du lait bovin, ovin, camelin et caprin (TITAOUINE, 2018)

Paramètres	Vache	Brebis	Chamelle	Chèvre
pH à 20°C	6,7	6,9	6,8	6,8
Acidité (D°)	16,8	17,1	13,35	16,5
Densité à 20°C	1033	1039	1032	1030

1.1.2.3. Valeur nutritionnelle

Le lait sécrété par les différentes espèces de mammifères présente des caractéristiques communes et contient les mêmes catégories de nutriments: eau, protéines, lactose, matière grasse et minéraux. Cependant, les proportions respectives de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre (COURTET LEYMARIOS, 2010), comme figure dans le tableau(IV).

**Tableau IV : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales
(VIGNOLA, 2002)**

Animaux	Eau (%)	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0,9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7

Les principaux facteurs de variation de la production et de la composition chimique du lait sont soit liés à l'animal (facteurs génétiques, stades physiologiques, l'état sanitaire...) soit liés au milieu dans lequel l'animal vit (alimentation, hygiène, traite...) (BONY *et al*, 2005).

L'eau constitue la composante majeure du lait (Amiot *et al*, 2002), avec un pourcentage allant de 81 à 87% (tableau IV).

Le lactose, principal glucide du lait (4,8%) joue un rôle important en favorisant l'absorption du calcium. Ainsi que dans les produits laitiers de substrat de fermentation pour les bactéries lactiques. Ces dernières l'hydrolysent en glucose et galactose, puis le transforment ces hexoses en acide lactique (LAFITEDUPONT, 2011).

Les lipides sont constitués d'un mélange d'acides gras en suspension dans le lait sous forme de gouttelettes, ils forment une émulsion (LAFITEDUPONT, 2011). Le lait caprin est plus riche en acides gras à chaîne courte que le lait de vache, cette composition permet au lait de chèvre d'être plus digeste que le lait de vache (KOCKEN, 2019).

Le lait est une source très riche en minéraux, principalement en calcium mais aussi en phosphore, magnésium, sodium et en potassium. D'où son importance dans l'alimentation humaine (LAFITEDUPONT, 2011) (Tableau V).

Le lait est également une source de vitamines liposolubles et hydrosolubles (AIT AMER MEZIANE, 2008). Les vitamines hydrosolubles se trouvent dans le colostrum à des taux transitoirement deux fois plus élevés que dans le lait mature avant d'atteindre des taux stables (COURTET LEYMARIOS, 2010). Les vitamines liposolubles s'associent aux différents lipides ; par conséquent, l'écémage du lait diminuera considérablement leurs concentrations (VIGNOLA, 2002). Le lait de brebis se distingue du lait de vache par sa haute teneur en vitamines (tableau VI). Le lait de chèvre contient, près de trois fois moins

Tableau V : Teneur en Minéraux et en oligo-éléments de laits de diverses espèces animales (mg/l) (F.A.O, 1995).

	Vache	Chamelle	Chèvre	Brebis
Minéraux				
Sodium	0,5	0,39	0,37	0,42
Potassium	1,50	1,76	1,55	1,50
Calcium	1,25	1,16	1,35	2,0
Magnésium	0,12	-	0,14	0,18
Phosphore	0,95	0,83	0,92	1,18
Chlore	1,00	0,30	2,20	1,08
Oligo-éléments				
Fer	0,20-0,50		0,55	0,2-1,5
Cuivre	0,10-0,40		0,40	0,3-1,76
Zinc	3-6		3,20	1-10
Manganèse	0,01-0,03		0,06	0,08-0,36
Molybdène	0,07			
Aluminium	0,6-1		-	-
Iode	-			

Tableau VI : Teneurs en vitamines du lait de diverses espèces animales (FAO, 1998).

Vitamines (mg /l)	Vache	Chamelle	Chèvre	Brebis
B1	0,42	-	0,41	0,85
B2	1,72	-	1,38	3,30
B6	0,48	-	0,60	0,75
B12	0,0045	0,0023-0,0039	0,0008	0,006
Acide nicotinique	0,92	-	3,28	4,28
Acide folique	0,053	-	0,006	0,006
C	18	57-98	4,20	47,0
A	0,37	0,37-1,26	0,24	0,83
β-carotènes	0,21	0,16-0,46	<0,10	0,02

De vitamines E, six fois moins de vit B12 et cinq fois moins de vit B9 que le lait de vache (FRANTZ, 2009). Le lait de chamelle se singularise par sa richesse en vitamine B3 et en vitamine C comparativement au lait bovin (RAHLI *et al*, 2013).

1.2. Les protéines du lait

Les nombreuses protéines du lait peuvent être classées en deux groupes distincts : les caséines et les protéines du lactosérum.

1.2.1. Les caséines

Les caséines désignent un polypeptide complexe résultant de la polycondensation de différents aminoacides dont on trouve la leucine, l'acide glutamique et la serine (JEAN et DIJON, 1993). Elles occupent 80% des protéines du lait vache, de brebis et de chèvre, 72% à 76% des protéines totales du lait camelin (FOX, 2001).

Les caséines sont des particules colloïdales formant des micelles qui regroupent les différentes espèces : α S1-CN, β -CN et κ -CN. Ainsi que les caséines γ qui correspondent à des fragments de la caséine β . La composition protéique et les propriétés fonctionnelles des micelles varient en fonction de l'espèce et même au sein de la même espèce, selon la race considérée (HAZEBROUCK, 2016).

Selon RAYNAL-LJUTOVAC *et al* (2007), les caséines du lait de brebis et du lait de chèvre sont très minéralisées et moins stables thermiquement par rapport aux caséines bovines, en outre, les caséines bovines sont riches en calcium (BALTHAZAR *et al*, 2016). La taille des micelles de caséines ovines est de 193 nm, similaire aux caséines caprines mais réduites par rapport à la taille des micelles de caséines bovines qui est de 260 nm. Alors que le diamètre des micelles des caséines camelines est plus important, il est compris entre 260nm et 300nm (FARAH *et al*, 2004).

Le lait camelin montre une faible teneur en κ -CN qui est estimée à 0,8 g/l comparativement aux laits bovin, ovin et caprin, dont le taux est de 3,5 g/l (KAPPELER *et al*, 2003) ce qui explique les difficultés rencontrées dans le processus de coagulation du lait de chamelle (ALIM *et al*, 2004).

Tableau VII : Concentration des fractions caséiniques dans le lait de différentes espèces

a : WAL (2011) ; b : HAZEBROUK (2016) ; c : KAPPELER et al (2003).

Protéine	Vache	Brebis	Chamelle	Chèvre
Caséine totale (g/l)	28-30 ^a	50-60 ^a	-	2,4 ^b
α s1-CN	12-15 ^b	3,0-6,0 ^b	5,0 ^c	3,5 ^b
α s2-CN	9,0-11 ^b	9,0-12 ^b	2,2 ^c	4,8 ^b
β -CN	9,0-11 ^b	19-28 ^b	15 ^c	12,6 ^b
κ -CN	3,0-4,0 ^b	4,0-5,0 ^b	0,8 ^c	3,4 ^b

Tableau VIII: Caractéristiques physico-chimiques des caséines des laits bovin, ovin, camelin et caprin.

a : JOST (1988) ; b : KAPPELER *et al* (1998) ; c : PARK *et al* (2007) ; d : TRUJILLO *et al* (2000) ; e : PAYENS (1982) ; f : FARREL(1973) ; g : RESTANI *et al* (2009) ; h : FARAH *et al* (2004).

Espèce	Protéines	MM (kDa)	Nombre de résidus d'aa	% Homologie avec les caséines bovine	Taille des micelles (nm)
Vache	α s1-CN	23,60 ^a	199 ^c	100 ^g	260^c
	α s2-CN	25,25 ^a	207 ^c	100 ^g	
	β -CN	24,00 ^a	209 ^c	100 ^g	
	κ -CN	19,00 ^a	169 ^c	100 ^g	
Brebis	α s1-CN	23,41 ^b	199 ^c	88,3 ^g	193^c
	α s2-CN	25,61 ^b	208 ^c	89,2 ^g	
	β -CN	23,75 ^b	207 ^c	92,0 ^g	
	κ -CN	19,37 ^b	172 ^c	84,9 ^g	
Chamelle	α s1-CN	25,77 ^d	215 ^d	44,2 ^g	260-300^h
	α s2-CN	21,62 ^d	178 ^d	58,3 ^g	
	β -CN	24,65 ^d	217 ^d	69,2 ^g	
	κ -CN	18,25 ^d	162 ^d	58,4 ^g	
Chèvre	α s1-CN	23,60 ^f	199 ^c	87,9 ^g	180^c
	α s2-CN	25,30 ^e	288 ^c	88,3 ^g	
	β -CN	24,00 ^f	207 ^c	91,1 ^g	
	κ-CN	19,00^e	171^c	84,9^g	

1.2.2. Les protéines du lactosérum

Le lactosérum est composé d'une phase aqueuse qui contient l'ensemble des éléments solubles du lait (lactose, vitamines hydrosolubles, nucléotides, acides aminés libres, sels minéraux et protéines) (LAFITEDUPONT, 2011). Les protéines sériques représentent 15 à 28% des protéines totales du lait de vache (DEBRY, 2001), entre 20 et 25% de l'ensemble des protéines du lait de chamelle (AL HADJ *et al*, 2010), 25,84% des protéines totales du lait de brebis (PELMUS *et al*, 2012) et occupent 22% dans le lait de chèvre (JOUANE, 2002).

Les protéines du lactosérum ont une structure globulaire, elles présentent une excellente valeur nutritionnelle car elles sont riches en aa soufrés, en lysine et en tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais elles sont sensibles à la dénaturation thermique (THAPON, 2005). On distingue des protéines majeures constituées de : l' α -lactalbumine (α -La), la β -lactoglobuline (β -Lg) et l'albumine sérique (SA) et des protéines mineures représentées par la lactoferrine, la lactoperoxydase, lysozyme, les immunoglobulines ainsi que d'autres enzymes du lait.

1.2.2.1. Les protéines sériques majeures

1.2.2.1.1. La β -lactoglobuline

D'après AL ADJAMI *et al* (2009), la β -lactoglobuline constitue la protéine la plus abondante du lactosérum de différentes espèces laitières. Cependant, des études ont révélé l'absence de cette protéine dans le lait de chamelle et le lait humain (EL-AGAMY *et al*, 1996).

Cette protéine appartient à la classe des albumines, elle est constituée d'une seule chaîne de 162 résidus d'acides aminés avec 2 ponts disulfures, elle a une structure très compacte du type β - α - β qui se présente sous forme d'un dimère de 36 kDa. Cette organisation structurale de la β -Lg est responsable de ses principales propriétés physico-chimiques comme les interactions qu'elle établit avec la caséine lors des traitements thermiques (WAL, 2011). Sa structure tertiaire lui permet de fixer la vitamine A et certains acides gras (PIEN, 1975).

1.2.2.1.2. L' α - lactalbumine

L' α - lactalbumine joue un rôle dans la biosynthèse du lactose (LINDEN, 1987), cette petite molécule de 14200 Da est une métalloprotéine globulaire de 123 résidus d'acides aminés. Elle possède un site de liaison spécifique de haute affinité avec les ions Ca^{2+} , le

calcium permet d'assurer une stabilité à la structure de la protéine (LAFITTEDUPONT, 2011).

L' α -La constitue la protéine majeure dans le lait camelin, sa concentration est de 7,2 g/l (BEG, 1985 ; KAPPELER, 1998). Cependant, son taux avoisine 1,5 g/l dans le lait bovin (WAL, 2011) et 2 g/l dans le lait caprin (MARSHALL, 2004).

L' α -lactalbumine possède une haute valeur nutritionnelle, sa chaîne peptidique est composée de tous les acides aminés naturels, particulièrement le tryptophane, la cystéine et la lysine qui présentent 21,6% du total des acides aminés de l' α -La cameline, alors qu'ils n'occupent qu'un taux de 19,6 % dans son homologue bovin (SALAMI *et al*, 2008).

L' α - La joue un rôle dans la biosynthèse du lactose (LINDEN, 1987). Elle permet également la liaison des cations divalents comme le calcium et le zinc et facilite l'absorption des minéraux essentiels (PERMY AKOV *et* BERLINER, 2000).

1.2.2.1.3. L'albumine sérique

L'albumine sérique (SA) est une protéine d'origine sanguine, elle n'est pas synthétisée par la glande mammaire. Sa masse moléculaire est de 69 KDa. Elle est présente dans le lactosérum avec un taux de 0,3g/l.

La BSA bovine présente 76% d'homologie avec l'albumine sérique humaine (CAYOT et LORIENT, 1998), son taux d'homologie est de 71,2% et 92,4% avec la SA caprine et ovine, respectivement (RESTANI *et al*, 2009).

Sa capacité à créer des liaisons réversibles lui permet de jouer un rôle de transporteur de molécules et de divers ions (colorants, médicaments, AG, métaux divalents) (CARTER et HO, 1994).

1.2.2.2. Les protéines sériques mineures

1.2.2.2.1. La lactoferrine

La lactoferrine (LF) est une glycoprotéine de 80000Da, constituée de 689 résidus d'acides aminés, sa structure renferme 7,2% de glucides. Elle appartient à la famille des transferrines. Elle contient au sein de sa structure tous les acides aminés naturels.

La concentration de cette protéine est élevée dans le lait camelin (220mg/l) (EL-AGAMY *et al*, 1997) par rapport au lait de chèvre qui contient 20 à 120 μ g/ml (ORAN et REITER, 1980), alors qu'elle est de 140mg/l dans le lait bovin (KAPPELER *et al*, 1998).

La LF est résistante aux traitements thermiques ainsi qu'aux enzymes digestives. Cette protéine présente des propriétés antioxydantes et antibactériennes très intéressantes, elle est

également décrite comme un stimulant de la réponse immunitaire cellulaire de l'organisme contre les infections (WALL, 2011).

1.2.2.2. La lactoperoxydase

La lactoperoxydase (LP) est une glycoprotéine qui appartient à la famille des oxydoréductases. Elle est constituée de 612 acides aminés et présente une masse moléculaire de 78 KDa.

La lactoperoxydase du lait de chamelle est plus thermorésistante comparativement à son homologue du lait bovin (EL-AGAMY *et al*, 1996). Elle est également résistante à l'hydrolyse acide et à la digestion enzymatique. Des études récentes ont montré la contribution de la LP dans la défense immunitaire et ont rapporté ses propriétés anti-tumorales (KULA, 2016).

1.2.2.2.3. Les immunoglobulines

Les immunoglobulines(Ig) sont des glycoprotéines qui représentent environ 10% des protéines totales du lactosérum, elles sont réparties en cinq catégories : IgG1, IgG2, IgA, IgM et IgE (PIEN, 1975).

Dans le lait de vache, on retrouve 3 classes (IgG, IgM et IgA). sous classes (IgG 1, IgG 2 et IgG 3) où les IgG 2 et IgG 3 constituent 50% du sérum des camelidae (DESMYTER *et al*, 2001) et présentent une structure unique qui est dépourvue des chaînes légères, avec une partie très étendue portant les CDR «Complementary Determining Region» (DALEY *et al*, 2005). Ces immunoglobulines présentent une activité inhibitrice sur les enzymes et ils agissent comme de vrais inhibiteurs compétitifs en pénétrant dans leurs sites actifs (LAUWERAYS *et al*, 1998). Ces protéines sont de petite taille.

Elles passent dans la circulation sanguine via les intestins et peuvent être considérées comme de meilleurs candidats pour la thérapie humaine 19.

La concentration des IgG est de 1,64mg /ml dans le lait camelin, 0,70mg /ml dans le lait bovin ; 0,67 mg /ml dans le lait ovin et 0,55 mg/ml dans le lait caprin (EL-AGAMY *et al*, 2009).

Ces protéines anticorps assurent la transmission de l'immunité de la mère au jeune animal, en particulier lors des deux premiers jours de la lactation durant lesquels leurs concentrations sont maximales (KELLY, 2003).

1.2.2.2.4. Le lysozyme

Le lysozyme est une enzyme identique au lysozyme du plasma sanguin. Elle hydrolyse la liaison β entre l'acide muramique et la glucosamine de mycopolysaccharide de la paroi des bactéries sensibles (DEBRY *et al*, 2001). Le lait de chamelle contient une concentration plus élevée en lysozyme (15 μ g/100 ml) contre (7 μ g/100 ml) pour le lait de vache (ELAGAMY *et al*, 1996). Sur le plan structural, la masse moléculaire du lysozyme camelin est évalué à 14,4 kDa qui est similaire à celle de son homologue bovin (ELAGAMY *et al*, 1996) et caprin (JOLLES *et al*, 1990). Alors que celle du lait ovin, elle est estimée à 16,2 kDa (MARONI et CUCCURI, 2001). Le rôle majeur du lysozyme dans le lait, est de protéger le nouveau-né des invasions par les bactéries pathogènes au niveau gastro-intestinal (DEBRY *et al*, 2001).

Tableau IX : Concentration des différentes séroprotéines dans les laits de diverses espèces

a : POTOCKNIK *et al* (2011) ; b : KAPPLER *et al* (2003) ; c : EL-HATMI *et al* (2006).

Protéines	Lait de Vache ^a	Lait de Brebis ^a	Lait de chamelle ^b	Lait de Chèvre ^a
Protéines sérique totales	5,7 (g/kg) ^a	11 (g/kg) ^a	3,5 (g/kg)	7,4 (g/kg) ^a
α -La	53,59 % ^a	8,97-17,00 % ^a	2,2 % ^c	13,31-34,70% ^a
β -Lac	20,10 % ^a	59,24-77,70 % ^a	-	43,54-63,80 % ^a
Igs	11,73 % ^a	-	-	-
BSA	6,20 % ^a	3,6-5,1% ^a	8,5 % ^c	1,8-5,50 % ^a
LF	8,38% ^a	-	9,5 % ^b	-

En plus des différentes protéines citées, le lait de chamelle se distingue des autres laits par la présence de certaines protéines spécifiques, c'est le cas de la protéine sérique acide) (whey acidic protein (WAP), la protéine de reconnaissance du peptidoglycane (peptidoglycane recognition protein (PGRP) et la protéine basique (whey basic protein (WBP) (BEG *et al*, 1986, OCHIRKHUYAG *et al*, 1998, KAPPELER *et al*, 2003).

1.3. La fraction des protéose-peptones

Les protéose peptones (PPT) sont des phospho-glycoprotéines qui ont la particularité de rester solubles après un traitement thermique de 95°C pendant 30 min. cette fraction représente 2 à 4% des protéines lactiques totales et environ 10 % des protéines du lactosérum (MATI *et al*, 1991).

Les protéose-peptones correspondent à deux groupes d'entités distinctes selon leur origine, on distingue :

- les fragments de la protéolyse de la caséine β issus de la région N-terminale, on trouve le PP5, PP8(F) et PP8(S) ;
- la fraction hydrophobe (PP3) regroupant des glycoprotéines présentes à l'état natif dans le lactosérum (GAOUSSOU *et al*, 2013).

La teneur des protéose peptones dans le lait de brebis, de chèvre, de jument et de yak est de 1,4 ; 0,6 ; 0,19 et 0,137 g/l, respectivement. Ces taux sont 3 à 20 fois inférieurs à ceux rapportés pour le lait de vache (0.8 g/l).

La teneur en PPT varie entre 0,5 et 3 g/ml (PAQUET, 1989) et leur composition dépend de la conservation, du stade et du nombre de lactation, et du traitement thermique subit par le lait (LARSEN *et al*, 2010). En effet, la teneur en PP3 diminue dans un lait pasteurisé comparativement à celle d'un lait cru (LARSEN *et al*, 2010), tandis que les proportions des hydrolysats issus de la caséine β s'accroissent pendant la conservation dans le lait des animaux atteints de mammites (MERIN *et al*, 2008).

1.3.1. Composition et origine des pp

Les principaux constituants de la fraction des protéose-peptones sont la PP3, la PP5 et la PP8 qui sont réparties en deux groupes selon leur hydrophobicité : une fraction non hydrophobe (FNHPP) et une fraction hydrophobe (FHPP) (SORENSEN *et al*, 1993).

1.3.1.1. La fraction non hydrophobe des PP (FNHPP)

La FNHPP est constituée de nombreux polypeptides dominés majoritairement par la PP5, la PP8F (Fast : rapide) et la PP8S (Slow : lent) (EIGEL *et al*, 1979).

Ainsi, la PP5 correspond aux fragments β -CN-5P (f1-105/107), la PP8F représente le fragment β -CN-4P (f1-28) et la PP8S équivaut aux fragments β -CN-1P (f 29-105/107) de la caséine β . Ces hydrolysats issus de la région N-terminale de la caséine β suite à l'action

de la plasmine sont très solubles, contrairement aux caséines γ qui sont issues de la région C-terminale (Figure 1) très hydrophobes (SWAISGOOD, 1993).

Le composant PP8 Fast de la fraction protéose-peptone est un produit stable de l'hydrolyse des β -caséines, contrairement à la fraction PP5 qui semble être un composé intermédiaire (ANDREWS, 1978a).

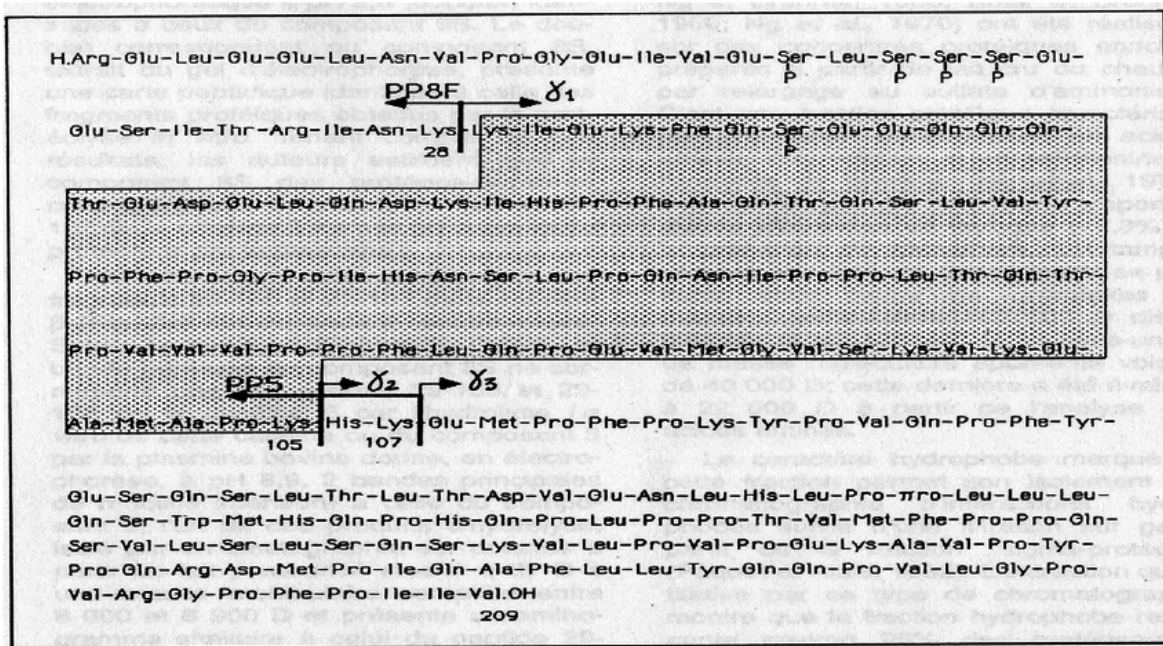


Figure 1: Protéolyse de caséine β par la plasmine (PAQUET, 1989).

1.3.1.2. La fraction hydrophobe des PP (FHPP)

La FHPP est composée de protéines et d'un ensemble de polypeptides natifs tels que les trois principaux composants à caractère hydrophobe contenus dans un groupe complexe de glycoprotéines très hétérogènes, le constituant le plus important de ce groupe est la PP3. Le PP3 est composé d'une glycoprotéine très hydrophobe de 18 kDa et un peptide hydrophobe de 8 kDa (PAQUET *et al*, 1988). C'est une glycoprotéine phosphorylée de 28 kDa, désormais appelée lactophorine (LP28) ou lactoglycophorine (KANNO, 1989 ; GIRARDET *et al*, 1996).

La LP28 est constituée de 135 résidus d'acides aminés, elle présente cinq sites de phosphorylation (Ser 29, 34, 38, 40 et 46), deux sites d'O-glycosylation (Thr 16 et Thr 86) et un site de N-glycosylation (Asn 86). Les 135 résidus d'acides aminés s'organisent en deux domaines bien distincts : le domaine de la partie N-terminale de 1 à 97 résidus d'aa, chargés négativement avec plusieurs modifications post-traductionnelles et le domaine de la

partie C-terminale de 98 à 135 résidus, sont chargés positivement affichant un caractère amphiphile (CAMPAGNA *et al*, 1998).

Par ailleurs, la LP28 est dégradée par la plasmine à partir de la région C-terminale pour donner certains constituants de la FHPP tels que la LP16 (16 kDa) et la LP18 (18 kDa) (SORENSEN *et al*, 1993). La LP18 correspondant au fragment LP28 (f54-135), elle représente la fraction la plus hydrophobe (18 kDa) de la FHPP (SORENSEN *et al*, 1993). Elle existe sous deux formes : une forme qui présente une O-glycosylation en position Thr 86 et une forme présentant une N-glycosylation en position Asn 86 (INAGAKI *et al*, 2010a).

Dans le lait de chamelle, la teneur en PP3 passe du simple au double lorsque celle des Igs chute, c'est ce qui justifie le rôle probable du PP3 dans la défense et qui est complémentaire à celui des Igs (EL-HATMI *et al*, 2006a, 2007).

Plusieurs études ont été menées sur le PP3 du lait bovin et ont rapportées son aptitude à inhiber la lipolyse spontanée du lait (CARTIER *et al*, 1990) et à stimuler l'activité cytogénétique des cellules d'hybridomes (MATI *et al*, 1993).

1.3.2. Propriétés biologiques et techno-fonctionnelles des protéose peptones

Les propriétés techno-fonctionnelles des protéines correspondent aux propriétés qui influencent la structure, l'aspect, la texture, la viscosité, la perception en bouche ou la rétention d'arôme du produit alimentaire.

Plusieurs études ont mis en évidence des activités biologiques et technologiques des protéose peptones, ces activités ont été élucidées sur la fraction bovine, particulièrement, sur le composant PP3 (GAOUSSOU *et al*, 2013). Cependant, les fractions ovine, caprine et cameline n'ont fait l'objet que de rares travaux (GAOUSSOU *et al*, 2013). Parmi les principales propriétés techno-fonctionnelles des PPT, on cite :

1.3.2.1. Les propriétés moussantes

C'est la capacité à réduire la tension de surface d'une façon générale de nombreuses études sur les protéines associent leur pouvoir moussant à leur capacité à réduire la tension de surface. Très peu d'études ont cependant porté sur les propriétés moussantes spécifiques des PP. Leur rôle a été mis en évidence dans la capacité globale du lait ou du lactosérum à produire de la mousse (GAOUSSOU *et al*, 2013).

Les PPT peuvent constituer de bons agents moussants et seraient même en grande partie responsables de la capacité moussante du lait, dûe notamment, à son composant PP3. Par

exemple, le fromage fouetté contenant 2 % de protéines dépourvu des protéines majeures du lactosérum telles que la BSA et la β -lactoglobuline, ainsi que de lactose, peut présenter des qualités de mousse comparables à celles du blanc d'œuf (GIRARDET *et al.* 1995).

La fraction hydrophobe PP3 possède un pouvoir tensio-actif supérieur à celui de la fraction PP totale (PAQUET, 1986) et serait donc fortement impliquée dans les propriétés moussantes des protéose-peptones (JELEN, 1973).

1.3.2.2. Les propriétés émulsifiantes

Les propriétés émulsifiantes des protéines sont en relation avec leurs propriétés tensioactives à l'interface liquide-liquide. Les PPT présentent de meilleures activités émulsifiantes comparativement aux protéines majeures du lactosérum connues pour leur excellente propriété émulsifiante (SHIMIZU *et al.*, 1989). Cette propriété des PPT est fortement dépendante de la présence de certaines glycoprotéines telles que les LP28 qui semblent avoir une forte affinité pour l'huile et stabilisent l'émulsion huile-eau (SHIMIZU *et al.*, 1989).

Par ailleurs, la méthode turbidimétrie décrite par PEARCE *et al.* (1978) montre également que les propriétés émulsifiantes des PPT sont en fonction des concentrations en protéines (INNOCENTE *et al.*, 1998b). En effet, plus la concentration en protéines augmente plus le temps nécessaire aux molécules pour former un film stable à l'interface huile-eau se réduit. Cela se traduit par un abaissement de la tension interfaciale qui provoque l'augmentation de la turbidité de l'émulsion (GAOUSSOU *et al.*, 2013).

En outre, la FHPP présente des propriétés émulsifiantes très intéressantes comparativement à celles de la β -lactoglobuline (INNOCENTE *et al.*, 1998b). Cette performance s'explique du fait de leur haute hydrophobicité qui permettra les interactions des groupements hydrophobes avec la matière grasse (INNOCENTE *et al.*, 1998b).

Cela permet de considérer la FHPP comme étant responsable des propriétés émulsifiantes de la fraction totale des protéose-peptones. La FHPP présente une structure amphiphile qui est conventionnellement considérée comme un modèle structurel fonctionnel des liaisons lipidiques (interaction LP28-lipide) (PARK *et al.*, 2009).

TableauX: Tableau synthétique des différentes fonctions biologiques et technologiques du PP3 dans le lait de vache. In (SENOUSSI, 2011).

Propriété étudiée	Mode d'action	Auteurs
Inhibition de la lipolyse	Inhibition de l'activité de la lipoprotéine lipase par adsorption compétitive sur l'interface huile-eau du globule gras empêchant l'action de la LPL	CARTIER et CHILIARD (1990) GIRARDET et LINDEN (1996) INNOCENTE <i>et al</i> (1998) CAMPAGNA <i>et al</i> (1999)
Propriétés moussantes et émulsifiantes	Réduction de la tension interfaciale et stabilisation des émulsions et des mousses	INNOCENTE <i>et al</i> (2002) GIRARDET et LINDEN (1996) VANDERGHEM <i>et al</i> (2007) CAMPAGNA <i>et al</i> (1999)
Propriétés antibactériennes	Inhibition de la croissance des bactéries gram + et gram -	CAMPAGNA <i>et al</i> (2004)
Activité bifidogène	Stimulation de la croissance des Bifidobacteries	ETIENNE <i>et al</i> (1994)
Activité mitogénique et immunostimulantes	Activation mitotique des hybridomes	MATI <i>et al</i> (1993) SUGAHARA <i>et al</i> (2005)
fixation des arômes	Fixation des molécules aromatiques hydrophobes sur leur extrémité hydrophobe	INNOCENTE <i>et al</i> (2011)



Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Objectif

La présente étude a pour objectif d'isoler et de caractériser par électrophorèse la fraction des protéose-peptones du lait des espèces bovine, ovine, caprine et cameline. Ainsi que de mener une étude comparative des profils obtenus pour les quatre espèces.

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de Biochimie, département Biochimie-Microbiologie de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques (université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou).

2.2. Matériel

2.2.1. Echantillons de lait

Les échantillons de lait utilisés dans le cadre de cette étude proviennent de quatre espèces animales différentes (bovine, ovine, caprine et cameline), ils sont collectés dans les régions de M'chedallah, Fréha et Ain Oussara (Algérie). La collecte a été réalisée en printemps de l'année 2021.

2.2.2. Appareillage

- Centrifugeuse réfrigérée ;
- PH-mètre (Hetro HLM, Suisse) ;
- Balance analytique (0,01 g) ;
- Balance de précision (0,01 mg) (OHAUS, USA) ;
- Agitateur magnétique ;
- Spectrophotomètre UV- visible (SHIMADZU) ;
- Bain-marie (MEMMERT, Allemagne) ;
- Unité d'électrophorèse en mini- cuves (HOEFFER - SE 260).

2.2.3. Produits chimiques, réactifs et matériel biologique

- Solvants** : acide acétique, acide chlorhydrique, acide sulfurique, acide trichloracétique, éthanol, glycérol, hydroxyde de sodium, méthanol.
- Sels et tampons** : sulfate d'ammonium, TRIS.
- Colorants et réactifs spécifiques** : acrylamide, N,N'- méthylène - bis-acrylamide bleu de bromophénol, bleu de Coomassie R250, Dodécyl sulfate de sodium, 2-mercaptoéthanol, persulfate d'ammonium, N, N, N', N'-tétraméthyléthylène diamine (TEMED), réactif de Gornall).

-Matériel biologique : Albumine sérique bovine(BSA) protéine étalon pour le dosage des protéines.

2.3. Méthodes

2.3.1. Préparation des échantillons

Le lait frais provient de quatre espèces animales différentes saines, il est transporté au laboratoire dans une glacière à +4°C.

A l'arrivée, une mesure de pH est réalisée, ensuite le reste du lait est réparti en petites quantités dans des flacons et congelé à – 20°C pour une utilisation ultérieure.

2.3.2. Isolement des protéines

Les protéines sériques sont séparées des autres constituants du lait à des fins de dosage et de contrôle électrophorétique. L'isolement est obtenu en passant par les différentes étapes en figure (02).

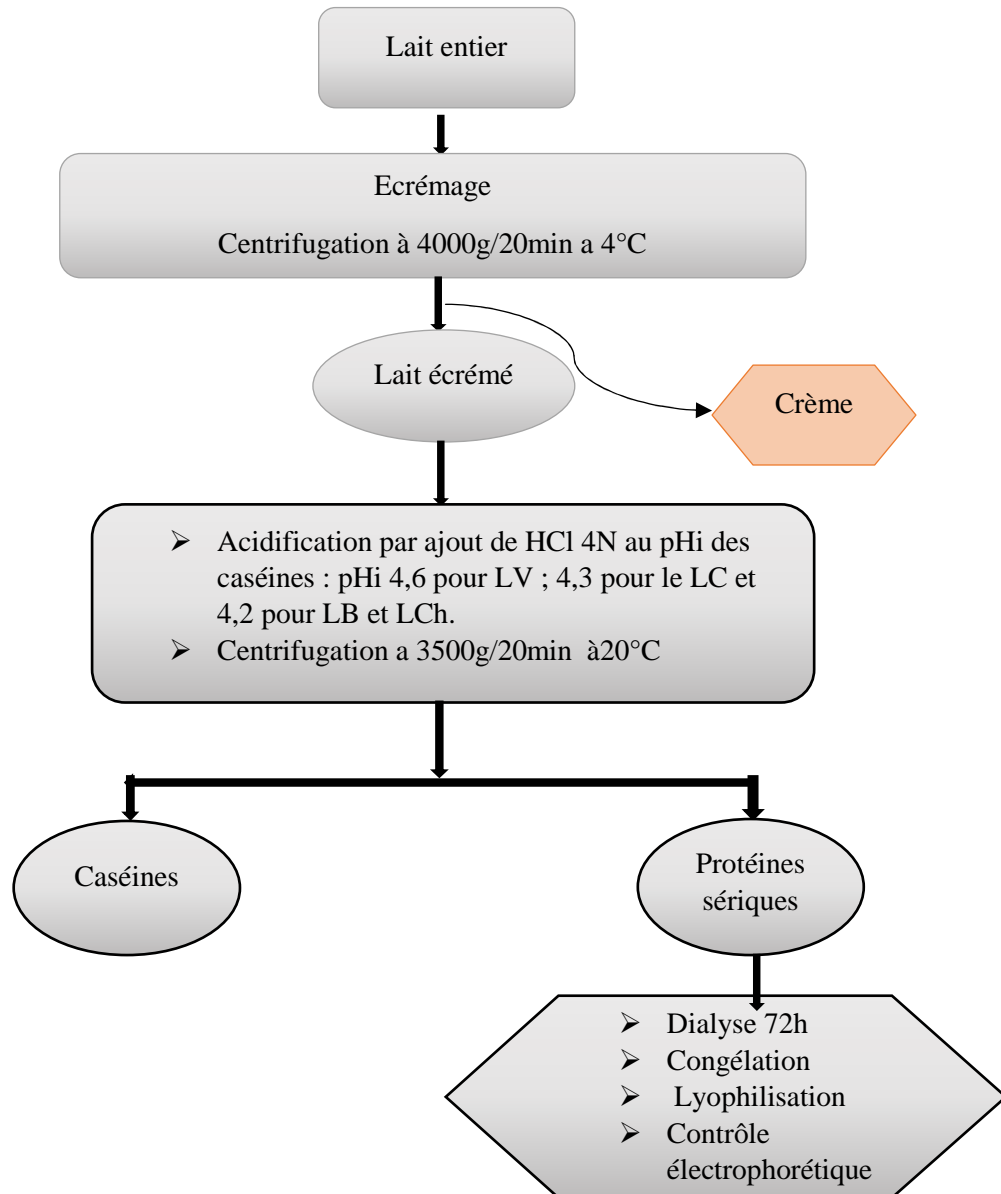


Figure 02 : Étapes suivies pour l'isolement des protéines sériques des échantillons de lait étudiés

2.3.2.1. Ecrémage

Une centrifugation à 4000g pendant 20 min à 4 °C est réalisée pour le lait des 4 espèces. Après centrifugation, la crème est écartée à l'aide d'une spatule, le lait écrémé est filtré à travers le papier filtre Whatman N°102 Cette opération est répétée deux fois afin d'éliminer totalement la matière grasse.

2.3.2.2. Acidification

L'isolement et la séparation des protéines sériques est réalisé par précipitation isoélectrique des caséines de chaque lait (4,6 pour le lait de vache et le lait de brebis, 4,3 pour le lait de chamelle et 4,2 pour le lait de chèvre) avec du HCl 4N.

Les échantillons de lait acidifiés sont centrifugés à 4000g pendant 20 min à +20°C. Les surnageants qui renferment les protéines sériques sont récupérés et neutralisés à pH 6,9 avec du NaOH 1N. Une deuxième étape d'acidification et de neutralisation des surnageants est effectuée afin d'éliminer toute trace de caséines qui risquent de contaminer les protéines sériques.

2.3.2.3. Dialyse

Cette étape a pour but d'éliminer toutes les molécules de taille inférieure à 8000 Da (lactose, sels..). Le lactosérum obtenu a été dialysé contre l'eau distillée en utilisant des membranes avec un seuil de coupure de 8000 Da. La dialyse a été effectuée contre l'eau distillée à +4°C sous agitation.

2.3.2.4. Congélation et lyophilisation

Les échantillons dialysés sont répartis en fines couches dans des coupelles, puis congelés à -18°C pendant 72 heures et lyophilisés.

2.3.3. Méthodes physico-chimiques

L'analyse physico-chimique des échantillons a porté sur la mesure de pH et le dosage des protéines. Ces paramètres ont été évalués en 3 essais.

2.3.3.1. Mesure du pH

Le pH est mesuré à une température de +20 °C, sa valeur est lue directement sur le pH mètre après immersion de l'électrode dans chaque échantillon à analyser. Le pH mètre est préalablement étalonné avec des solutions de pH connue.

2.3.3.2. Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Biuret (GORNALL *et al*, 1949)

Le dosage des protéines est réalisé sur les protéines totales (PT) et sur les protéines sériques (PS) des échantillons de lait des quatre espèces étudiées. La méthode utilisée est celle de Biuret (Gornall *et al*, 1949). Le principe de la méthode repose sur la formation d'un complexe entre les liaisons peptidiques et le réactif de Gornall en milieu alcalin et en présence des ions cuivriques Cu^{2+} . Le complexe pourpre ainsi formé absorbe fortement à 540 nm.

La teneur en protéines est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage : $\text{DO} = f(c)$ (Figure 3), en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence (annexe 01). La teneur en caséines est obtenue par la différence entre les protéines totales et les protéines sériques.

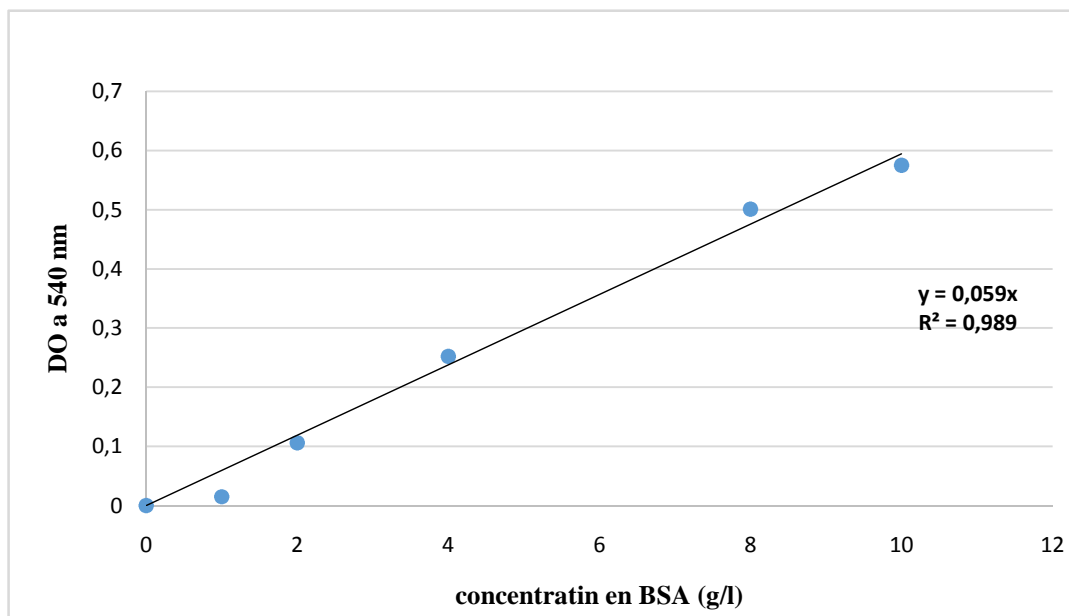


Figure 03 : Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de Biuret (Gornall *et al*, 1949), réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

2.3.4. Traitement thermique

Les échantillons de lait bovin, ovin, caprin et camelin sont réparties dans des tubes en verre et fermés hermétiquement. Les tubes sont placés dans le bain marie une fois que ce dernier ait atteint la température désirée. Des chauffages à 95° C et à 90°C sont effectués pendant 30,40 et 60 min.

Le traitement thermique est arrêté en portant les tubes à refroidissement sous un jet d'eau froide. Le lait chauffé est traité selon les étapes décrites en figure (04).

Le surnageant de thermocoagulation est soumis à l'analyse par électrophorèse avant et après traitement par le TCA.

2.3.5. Mise en évidence et isolement de la fraction des protéose-peptones

2.3.5.1. Effet de la température et du temps de chauffage

Les PPT sont isolés selon le protocole de PAQUET (1989) appliqué sur le lait de vache, des essais d'optimisation de ce protocole sur le lait de chèvre, de brebis et de chamelle sont réalisés, ceci en testant deux températures de chauffage (95° C et à 90°C) pendant des temps différents (30, 40 et 60 min).

2.3.5.2. Effet du TCA

Les PPT se trouvant dans les surnageants de thermocoagulation (STC) sont précipités par addition de l'acide trichloracétique (TCA) à différentes concentrations 6% ; 8% et 12%. Ensuite, les STC sont soumis à une centrifugation à 8000g/30 min, les culots sont récupérés et analysés par électrophorèse.

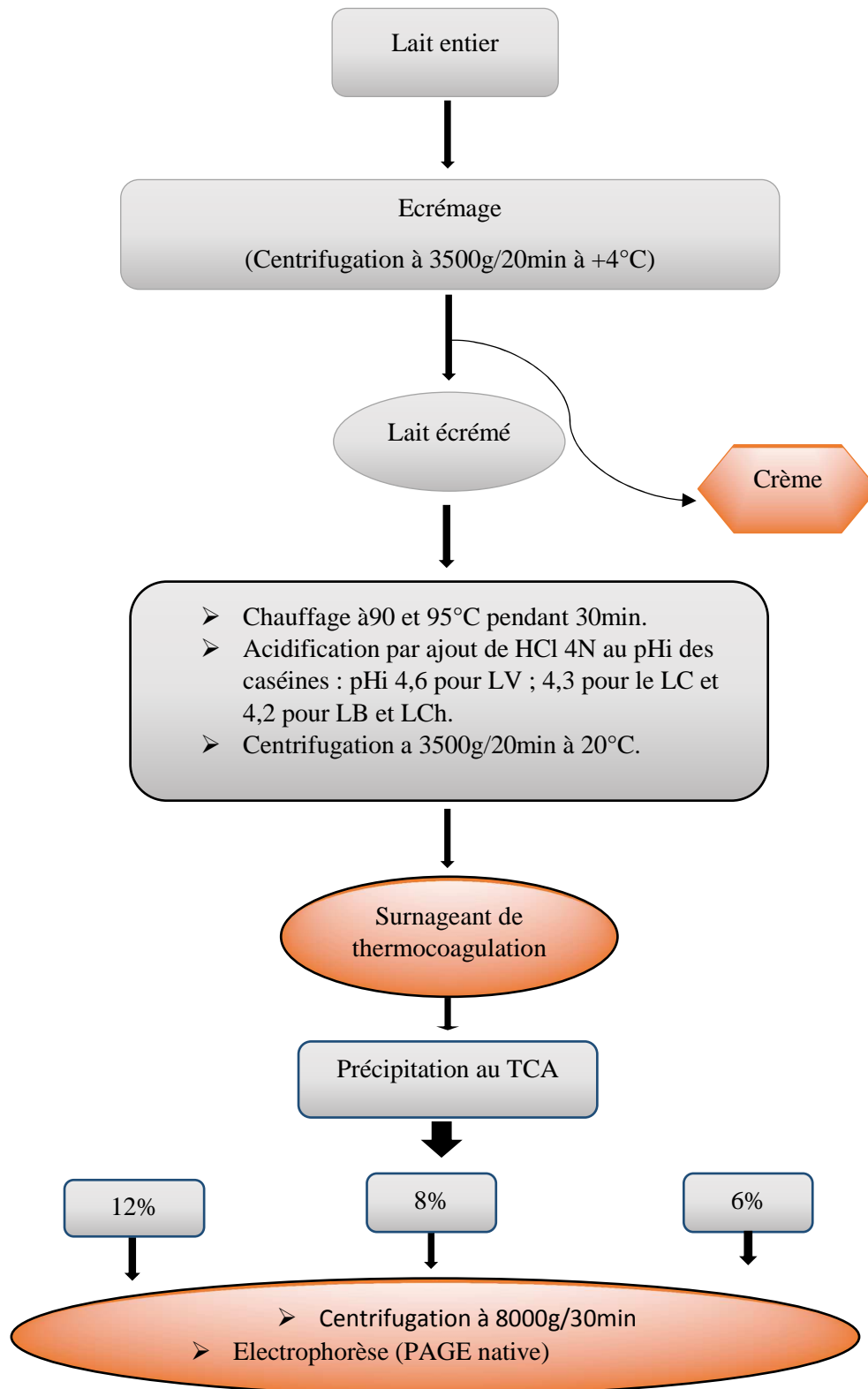


Figure 04 : Protocole de préparation de la fraction protéose-peptone selon PAQUET(1989)

2.3.6. Méthodes électrophorétiques

2.3.6.1. Principe général de l'électrophorèse

L'électrophorèse consiste à faire migrer et à fractionner grâce à un champ électrique, et dans un tampon de pH déterminé.

Les particules chargées sont placées dans un champ électrique créé par une tension continue et se déplacent dans la direction du champ vers le pôle de signe opposé à leur charge, à une vitesse proportionnelle à cette charge.

Ce principe s'applique aux protéines et pour qu'ils puissent migrer, elles doivent être ionisées. Elles sont solubilisées dans un tampon de pH supérieur à leur pHi (ATIG, 2010).

2.3.6.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

2.3.6.2.1. Principe

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) est la méthode analytique la plus utilisée, elle consiste à faire migrer les macromolécules protéiques dans un système réticulé (gel obtenu par polymérisation d'acrylamide et de bis-acrylamide) soumis à un champ électrique.

Le gel de polyacrylamide est le plus couramment utilisé dans ces séparations pour ses nombreux avantages (transparence, reproductibilité, pouvant servir lui-même de tamis moléculaire). La propriété de tamisage du gel de polyacrylamide est liée à sa structure spécifique, à savoir la structure en réseau tridimensionnel de fibres et de pores produits par le greffage d'unités bifonctionnelles N, N-méthylène-bisacrylamide sur des chaînes polyacrylamides adjacentes. La réaction de polymérisation radicalaire est catalysée par le TEMED (tétraméthylène-éthylamine diamine) en présence du persulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. La réticulation du gel dépend de deux facteurs :

- La concentration en acrylamide total T

$$T = (a+b/v) \times 100(\%)$$

- Le pourcentage de réticulation C

$$C = (b/ a+b) \times 100(\%)$$

a : acrylamide (g) ; b : N, N-méthylène -bisacrylamide (g) ; v : volume du tampon (ml).

La réticulation du gel augmente avec T et C, plus le gel est réticulé, plus le diamètre des pores est petit.

2.3.6.2.2. Conduite de l'électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-Native)

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans les conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-Native) est une méthode particulièrement résolutive pour les protéines sériques du lait, celles-ci sont séparées dans leur état natif. Elles migrent en fonction de leur charge, leur taille et de leur forme.

Un gel de polyacrylamide à $T = 12\%$ et $C = 2,7\%$ est préparé puis coulé avant qu'il ne se polymérise entre une plaque d'alumine et une plaque en verre (figure02). Un peigne est placé entre les deux plaques puis retiré après polymérisation du gel pour l'obtention des puits, dans lesquels sont déposés les échantillons (10 à 20 μ l) à l'aide d'une seringue Hamilton.

Les échantillons sont préalablement préparés par solubilisation à raison de 1mg/ml dans un tampon de charge composé du tampon de gel (1/10 V/V), de l'eau distillée (7/10 V/V), du glycérol (50%) (2/10 V/V) et du bleu de bromophenol.

La migration à lieu à courant et voltage constants (20mA et 250V).

A la fin de la migration, une révélation est effectuée tout d'abord par immersion du gel dans une solution de fixation (acide trichloracétique 12%) pendant 45 minutes. Puis il est transféré dans un bain de coloration pendant 2 à 4 heures (bleu de coomassie 0,2% (P/V) dissous dans une solution constituée du mélange : eau distillée, méthanol et TCA 2%, ensuite une décoloration est réalisée par immersion du gel dans une solution composée du mélange (eau/méthanol/acide acétique) dans les proportions respectives 3,12/1,5/0,37 (v/v/v).

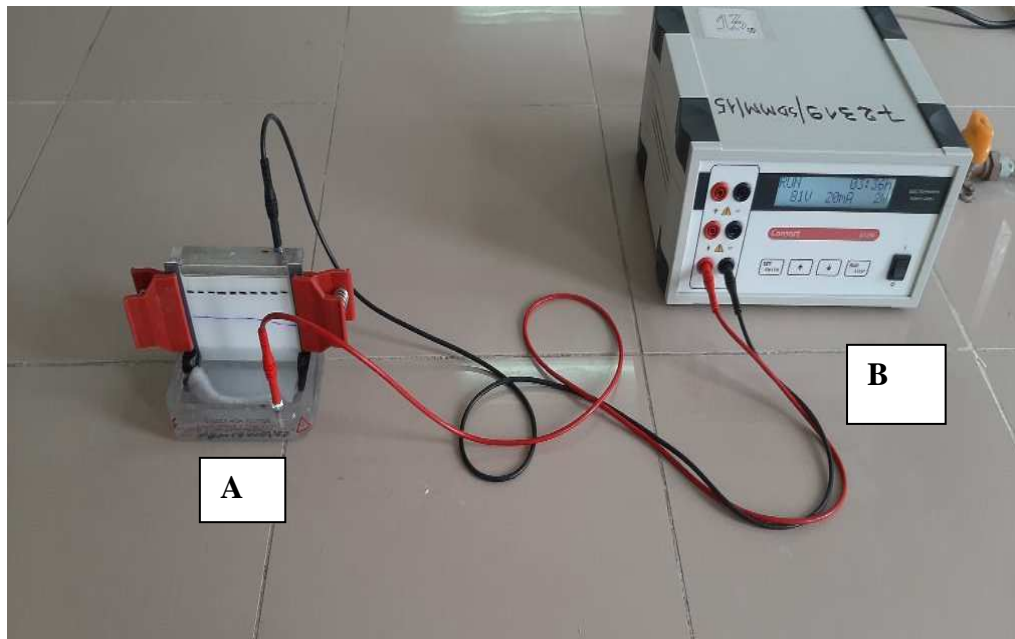


Figure 5 : Photographie de la cuve d'électrophorèse (HOEFFER SE260)
A : cuve de migration ; B : générateur de courant

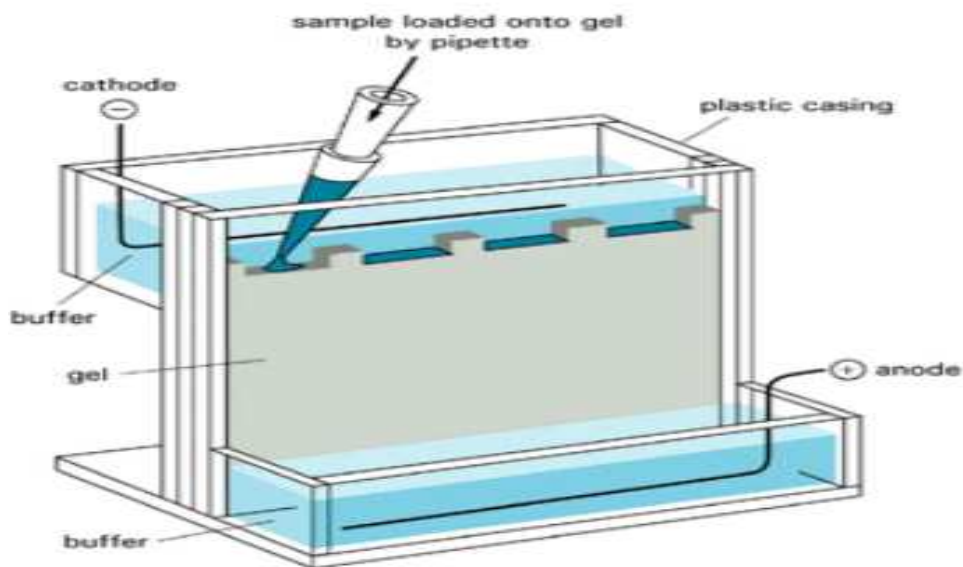


Figure06: Schéma illustratif du dispositif de migration électrophorétique en PAGE
(Davidovic *et al*,2007).

Buffer : tampon ; plastic casing : boîtier en plastique ; sample loaded onto gel by pipette : dépôt de l'échantillon sur le gel a l'aide d'une pipette



Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse physico-chimique des échantillons de lait étudiés

3.1.1. Mesure du pH

Les valeurs moyennes des trois essais mesurées pour les laits étudiés (bovin, ovin, camelin et caprin) sont portées sur le tableau (X).

Tableau XI: Valeurs moyennes du pH mesuré du lait des 4 espèces.

Paramètres	LV	LB	LC	LCh
pH à 20°C	6,7± 0,005	7,04±0,005	7 ±0,005	6,67±0,01

Il est à constater que les valeurs du pH des différents laits sont relativement proches ce qui est cohérent avec les résultats de SBAHELKEIRE *et al*(2012) qui ont rapporté des valeurs proches entre les 4 espèces étudiées (6,6) pour le lait bovin, ovin et caprin,(6,5) pour le lait camelin. Le pH du lait de chèvre est proche de celui du lait de vache (6,7 et6, 67), respectivement. Et que le pH du lait de chamelle est proche de celui du lait de brebis. La valeur du pH du lait de vache trouvé dans la présente étude est proche de celle avancée par MOUALEK(2011), qui est de 6,7.Pour le lait de chèvre, AITAMER MEZIANE (2008) et MAYER et FIECHETER (2012) ont rapporté des valeurs de pH relativement similaires à celle des échantillons étudiés, (6,6 et 6,82)respectivement.

Le pH du lait de brebis est inférieur à celui décrit par PELLIGRINI (1994) qui est de 6,63, mais proche de la valeur rapportée par AIT AMER MEZIAN (2008) (6,81). Le pH du lait camelin est similaire aux valeurs données par RAHLI(2015) qui varient de 6,6 à 6,8.

En effet le pH reflète la composition physico-chimique du lait, notamment sa richesse en certains nutriments (caséine, phosphates et citrate...), mais aussi l'état sanitaire lors de la traite et lors de l'entreposage avant consommation (MATHIEU, 1998).

3.1.2. Détermination de la teneur en protéine

Le tableau (IX) représente la teneur en différentes fractions protéiques des échantillons de lait étudiés.

Tableau XII : Teneur en protéines (g/l) des échantillons de lait étudiés.

PT : protéines totales ; PS : protéines sériques ; CN : caséines.

Paramètres	LV	LB	LC	LCh
PT	30	50,50±1,35	32,53±1,5	28,3±3,22
PS	12,82±0,08	13,035±0,4	6,48±0,28	9,46±2,04
CN	17,18	37,46±0,89	26,05±1,2	18,84±1,18

3.1.2.3. Les protéines totales

Les teneurs en protéines des échantillons du lait bovin, camelin et caprin sont relativement proches, alors que le lait de brebis présente la teneur la plus élevée en protéines totales (50,50g/l), ces résultats sont proches de ceux rapportées par PELLIGRINI *et al* (1994) ainsi que AIT AMER MEZIAE (2008) qui se situent entre 53,5 et 56g/l. La teneur en protéines du lait de brebis varie selon la saison, ZOBIRI (2021) a avancé un taux de 72g/l sur des échantillons collectés en hiver, alors que YABRIR (2014) a rapporté un taux de 41,6g/l en printemps.

La teneur moyenne en protéines totales du lait de vache de la présente étude se rapproche de celle rapportée par DEBOUZ *et al* (2015) qui est de 34,97g/l. Quant au lait de chèvre, les résultats obtenus se situent dans les fourchettes (24-33g/l) des valeurs citées par AIT AMER MEZIANE(2008) et MOUALEK (2011).

Le lait de chamelle présente un taux élevé en protéines par rapport aux laits de vache et de chèvre.

Ce résultat est supérieur à celui trouvé par DEBOUZ *et al* (2014) (28g/l), néanmoins, il semble être proche de celui rapporté par SIBOUKEUR A. et SIBOUKEUR O. (2012) qui est de 35,68 g/l. La variation dans les teneurs en protéines dans le lait de chamelle dépend de la période de lactation. Car selon KAMOUN(1994), les deux premiers mois de lactation se caractérisent par une diminution du taux des protéines, ce taux retrouve en fin de lactation un niveau comparable à celui du départ.

3.1.2.4. Les protéines sériques

La teneur moyenne en protéines sériques du lait de vache et de brebis est de 12,83g/l et 13,03g/l, respectivement. Ces concentrations sont deux fois plus élevées que celle du lait camelin 6,48g/l (Tableau IX).

Le taux de protéines sériques du lait de vache trouvé semble être supérieur à celui rapporté par MOUALEK (2011) (6g/l). Quant au lait de chamelle, la teneur en protéines sériques est égale à 6,48g/l, ce résultat est inférieur celui obtenu par d'autres auteurs : KIHAL *et al* (1999) (8,5g/l), SI AHMED-ZENNIA (2015) (8,00 g/l), ALBU LEHIA (1987) (9,00 g/l) et BAYOUMI (1990) (10g/l). Cependant, il est proche du résultat rapporté par SIBOUKEUR (2007).

Concernant le lait de brebis, la teneur en protéines sériques enregistrée est proche de celle signalée par ZOBIRI (2021) qui est de 11,56g/l.

Pour le lait caprin, les résultats enregistrés sont plus élevés que ceux rapportés par MOUALEK (2011) (6,8 g/l) ainsi que MAYER et FICHTER (2012) (6,3g/l).

3.1.2.5. Les caséines

Les teneurs moyennes en caséines obtenus dans la présente étude montrent que celles du lait de vache (17,18g/l) et du lait de chèvre (18,84g/l) sont proches (Tableau IIX). Quant au lait de brebis, il est plus riche en caséines (37,46g/l).

Pour le lait camelin, le résultat trouvé est supérieur à celui rapporté par CHETHOUNA (2011) (20 g/l) et SI AHMED ZENNIA (2015) (23 g/l). Cependant, il est proche de celui obtenu par SIBOUKEUR (2007) qui est de 28,15 g/l.

Concernant le lait de brebis, HILALI (2001) a rapporté une teneur en caséines proche de celle enregistrée dans la présente étude (39,3g/l). ceci est à l'origine des propriétés fromagères de ce lait qui se singularise par une vitesse de raffermissement plus élevée et une fermeté du gel deux fois plus supérieure à celle du lait de vache (ABIAZAR, 2007).

Quant au lait de chèvre la teneur en caséines trouvée (18,84g/l) est proche de celle rapportée par MOUALEK (2011) et qui est de 19,3 g/l.

3.2. Isolement et caractérisation électrophorétique par PAGE- native des protéines sériques bovines, ovines, camelines et caprines

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes et non dissociantes est appliquée aux fractions protéiques du lait de vache, de brebis, de chamelle et de chèvre.

L'analyse des profils électrophorétiques obtenues en figure (7) montre une similitude des profils entre les différents échantillons de laits analysés.

Les protéines sériques bovines migrent en cinq bandes majeures, en s'appuyant sur les données bibliographiques, et selon l'ordre croissant de leurs mobilités électrophorétiques, il est à distinguer : les immunoglobulines, l'albumine sérique, l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline (EGITO *et al*, 2001).

Les séroprotéines du lait de chamelle migrent en trois bandes principales, une bande qui migre au même niveau que la SA bovine pourrait correspondre à la SA cameline. La bande qui est au même niveau de migration que les Igs bovines, elle pourrait correspondre à leurs homologues camelines. Une bande très intense se situe entre la BSA et l' α -La bovine, elle pourrait correspondre à l' α -La cameline. Cette intensité est en relation avec la concentration élevée de cette protéine dans le lait de chamelle, car elle est considérée comme la protéine la plus abondante dans le lactosérum camelin. Conti *et al* (1985) ont fait état de présence de deux variants génétiques de l' α -La cameline, cependant Si Ahmed *et al* (2015) ont démontré que ces variants ne sont que des formes de l' α -La désamidée. La désamidation non enzymatique de cette protéine a eu lieu sur les résidus Asn16 et Asn45. Les trois isoformes de l' α -La cameline ont des points isoélectriques différents qui correspondent à 5,63 ; 5,36 et 5,05.

Le profil des séroprotéines camelines est caractérisé par l'absence de la bande qui correspond à la β -Lg. L'absence de la β -Lg dans le lait de chamelle a été rapportée par plusieurs études (KIHAL *et al*, 1999 ; LEVIEUX *et al*, 2006).

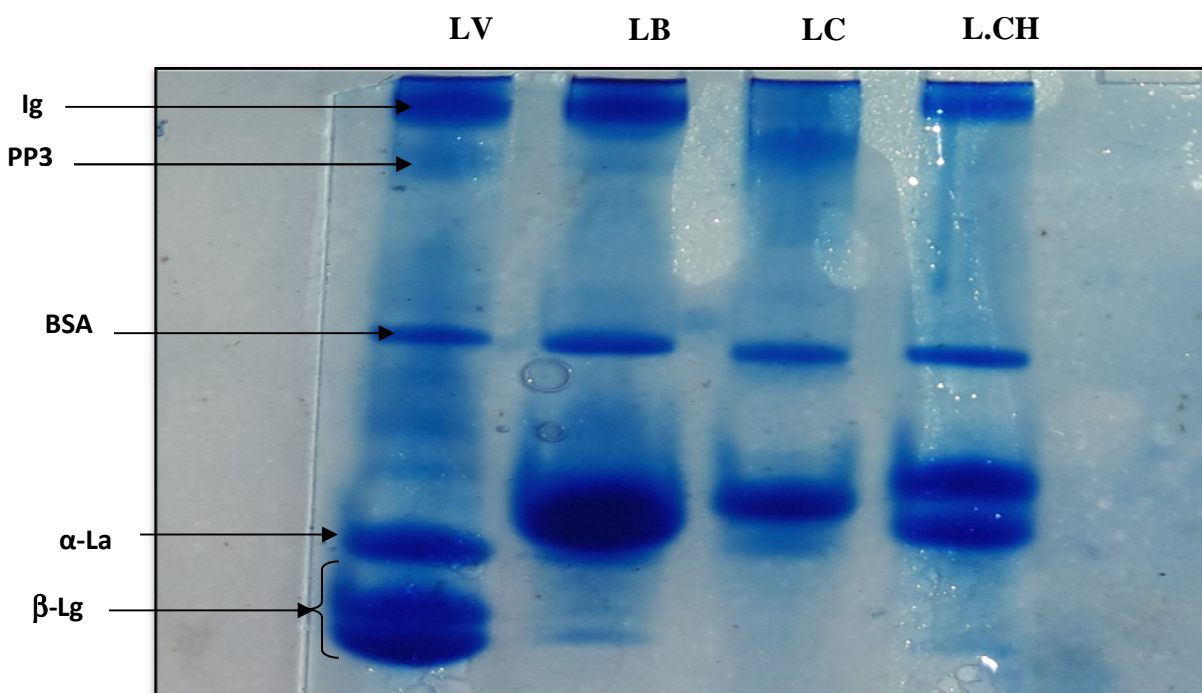
Les protéines sériques caprines migrent en cinq bandes, qui peuvent correspondre aux mêmes espèces protéiques du lactosérum bovin. La première bande de migration à partir de la zone de dépôt se positionne au même niveau que les Igs bovines, cela suggère que la bande peut correspondre à la même espèce protéique dans le lait caprin (MOUALEK, 2011). Une autre bande qui migre faiblement par rapport au PP3 bovin pourrait correspondre à son homologue caprin. D'après les données bibliographiques relatives aux Immunoglobulines (Ig) et au composant-3 des protéose-peptones (PP3), ces entités ont une migration électrophorétique faible compte tenu des particularités de leur structure non

globulaire, à caractère glycosylé et hydrophobe (MATI *et al*, 1991). D'après Les résultats rapportés par MATI (1992), le PP3 bovin est situé plus en avant que son homologue caprin. La troisième bande ayant un niveau de migration similaire à la BSA bovine pourrait correspondre à celle-ci.

Deux autres bandes situées entre La BSA et L' α -La bovine pourraient correspondre à l' α -La et la β -Lg caprines. L' α -La et la β -Lg bovine, migrent plus en avant que leurs homologues caprins (AMIGO *et al*, 1992).

Le profil électrophorétique des protéines sériques ovines est caractérisé par cinq bandes de migration qui correspondraient à la BSA ovine qui présente le même niveau de migration que son homologue bovin, alors que les niveaux de migration de l' α -La et de la β -Lg ovines est moins important que les protéines bovines. Ce constat a été rapporté par PESIC *et al* (2011a) et (2011b).

L'intensité de la bande qui correspond à la β -lg ovine est due à la présence de deux variants génétiques dont la migration est retardée par rapport à la β -Lg bovine, ceci a été observé par MAYER (2005).



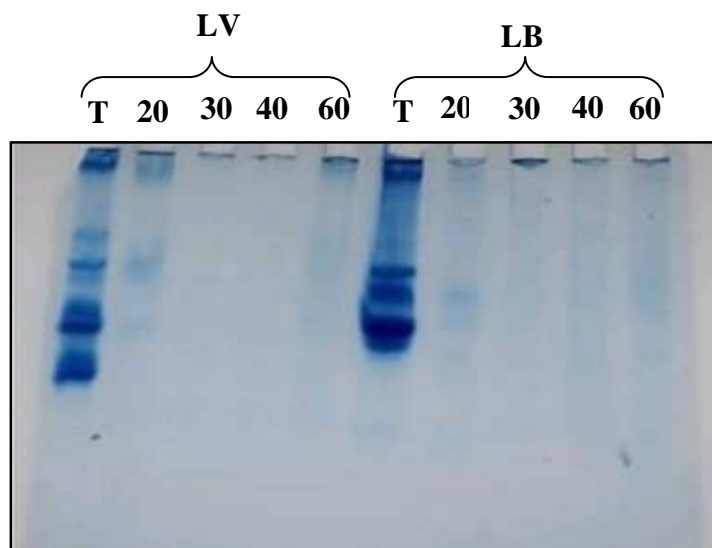
3.2.1. Effet du traitement thermique sur les protéines sériques totales des échantillons de laits étudiés

L'effet du chauffage à 95°C sur les protéines sériques des échantillons de lait étudiés est illustré sur les figures (08) et (09). Comme il apparaît sur les profils électrophorétiques, l'effet de la thermodénaturation est proportionnel à l'élévation du temps du chauffage.

Après 20 minutes de chauffage, les profils électrophorétiques des séroprotéines ovines, bovines et caprines montrent quelques bandes de faible intensité, en augmentant le temps à 30, 40 et 60 minutes, ces bandes disparaissent totalement. Cependant, les profils caractérisant les protéines camelines montrent une thermostabilité importante de ces dernières comparativement aux espèces bovine, ovine et caprine. L'albumine sérique cameline se dénature après 40 minutes de chauffage à 95°C, alors que la bande qui caractérise l' α -La, son intensité devient très faible après 60 minutes de chauffage.

Plusieurs études (LEVIEUX *et al*, 2006 ; SENOUSSI *et al*, 2011) ont observé la thermostabilité des séroprotéines camelines comparativement à leurs homologues bovines. Selon OLDFIELD *et al*(1998), la sensibilité des protéines sériques au chauffage est due à la présence de la β -Lg. Le chauffage active la fonction thiol de cette protéine et réagit avec d'autres protéines par formation de complexes, tel que le complexe β -Lg- α -La.

L'absence de la β -Lg dans le lait de dromadaire expliquerait en partie la stabilité des séroprotéines sériques dans ce lait.



**Figure08: Electrophorogramme en PAGE-Native (T= 12%; C=2,9; pH=8,9) des protéines des lactosérum du lait de vache et brebis Après traitement thermique 95°C pendant 20, 30, 40 et 60minutes.
T : Protéines sériques du lait cru**

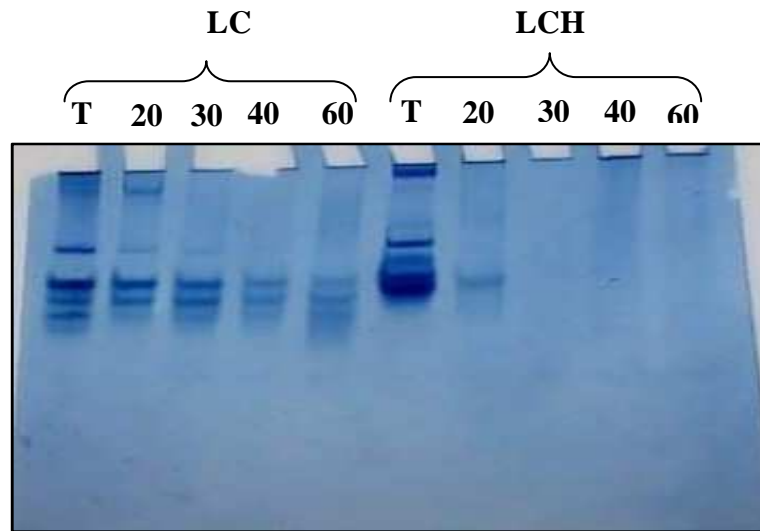
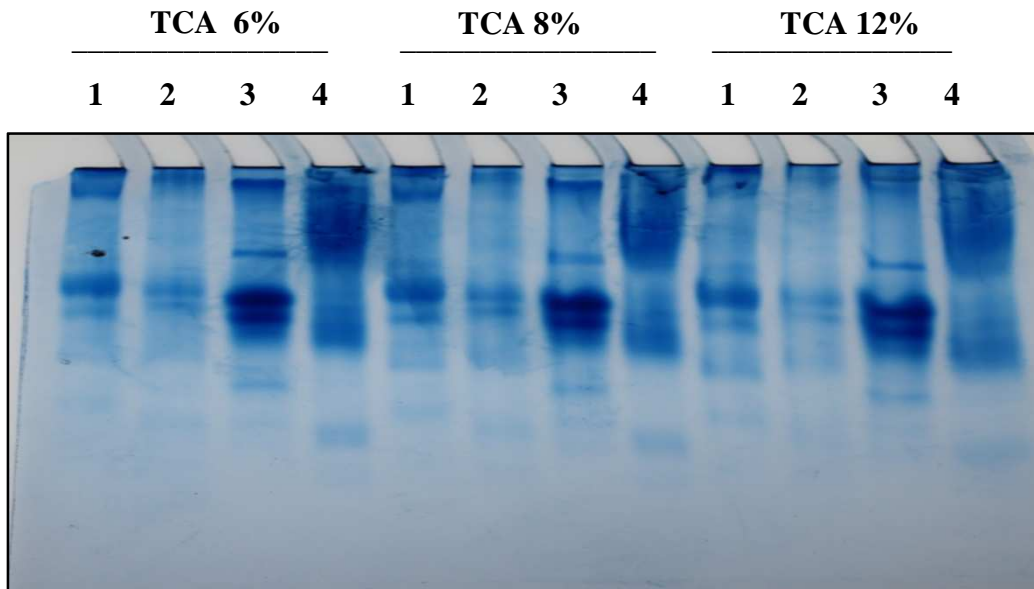


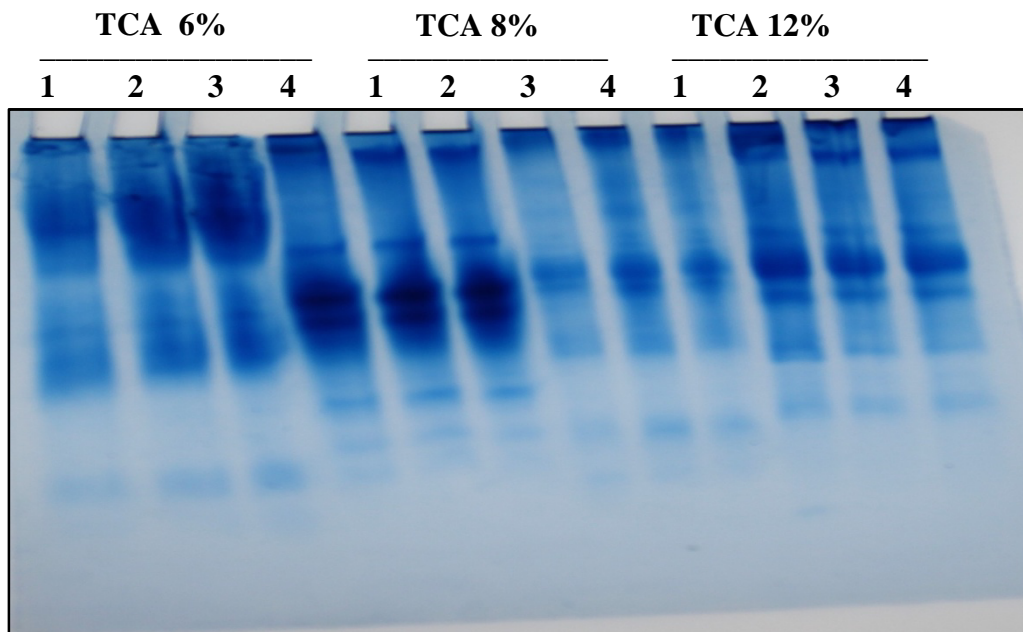
Figure09: Electrophorégramme en PAGE-Native (T=12% ; C=2,9; pH=8,9) des protéines du lactosérum des laits de camelin et caprin brebis Après traitement thermique 95°C pendant 20, 30, 40 et 60minutes. T : Protéines sériques du lait cru

3.3. Isolement et caractérisation électrophorétique des fractions protéose-peptones bovines, ovines, caprines et camelines

Après dénaturation des protéines majeures du lactosérum, la fraction des protéose-peptones totales des différents laits est caractérisée par électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native). Les différents profils obtenus sont représentés sur les figures (10), (11), (12) et (13).



**Figure10: Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) des protéose-peptones totales des laits bovin, ovin, camelin et caprin traité au TCA 6, 8,12%, Après traitement thermique (90°C pendant 30min)
1 : Lait bovin ; 2 : Lait ovin ; 3 : Lait camelin ; 4 : Lait caprin**



**Figure11: Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) des protéose-peptones totales des laits, bovin, ovin, camelin et caprin traité au TCA 6, 8, 12% Après traitement thermique (95°C /30min)
1 : Lait bovin ; 2 : Lait ovin ; 3 : Lait camelin ; 4 : Lait caprin**

Pour l'isolement des PPT, le protocole de Paquet et Alais (1982) appliqué sur le lait de vache est testé pour le lait de brebis, de chèvre et de chamelle. Deux températures de chauffage sont appliquées 90°C et 95°C pendant 30 min, puisque après 30 minutes la majorité des séroprotéines sont dénaturées. Les PPT sont précipitées ensuite en utilisant différentes concentrations de TCA 6%, 8% et 12%.

L'examen des profils électrophorétiques obtenus en figures (10) et (11), fait ressortir que la température de chauffage à 95°C permet d'isoler les PPT des quatre échantillons étudiés, les profils sont similaires ceux obtenus par MATI (1992), Pâquet (1989) et senoussi (2011).

Les électrophorèses révèlent également que le l'acide trichloroacétique à 12% en concentration finale permet une très bonne précipitation des protéose peptones comparativement au TCA 6% et au TCA 8%.

De ce fait, Nous concluons que le protocole d'isolement des protéose-peptones par thermocoagulation peut être appliqué sur les quatre espèces.

L'électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native) est résolutive pour la fraction protéose-peptones du lait, ANDREWS et ALICHANIDIS (1983) ont pu détecter par PAGE-native 38 bandes appartenant à la fraction PPT du lait bovin.

La figure (12) représente un profil électrophorétique comparatif de la fraction PPT du lait bovin, ovin, caprin et camelin, isolés en chauffant le lait à 95°C pendant 30minutes et en précipitant les PPT au TCA 12%.

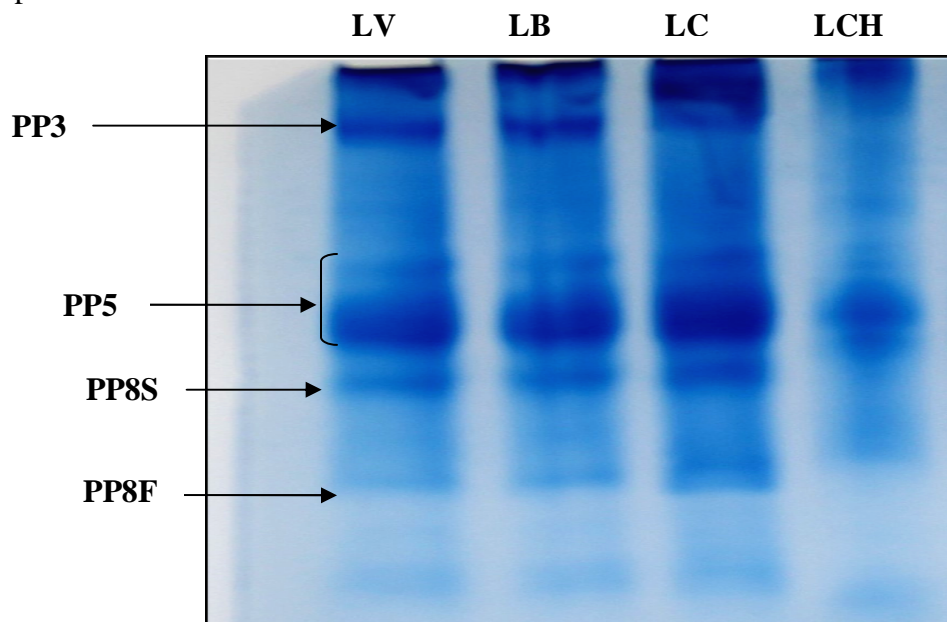


Figure 12: profil électrophorétique des protéose-peptones des laits bovin, ovin, caprin et camelin Précipité au TCA 12% Après traitement thermique (95°C pendant 30min)

L'analyse du profil en figure (12) montre une similitude relative de la fraction PPT des échantillons étudiés, particulièrement les PPT bovins et ovins. Plusieurs bandes électrophorétiques caractérisent les PPT avec des intensités et des niveaux de migrations différents. Les bandes majeures présentent des niveaux de migration comparables à ceux du PP3, PP5 et PP8 qui sont cités par la bibliographie.

L'identification des composants de la fraction PPT en fonction de leurs mobilités électrophorétiques croissantes est comme suit :

Une bande de mobilité très faible et d'une forte intensité correspondrait au composant PP3, dans le lait bovin et ovin, le PP3 présente le même niveau de migration, alors que sa mobilité est plus faible dans le lait camelin et caprin. Dans le lait de chamelle, la bande PP3 est plus intense comparée à celle des autres laits, ceci est dû à l'abondance de cette protéine dans le lait camelin, KAPPELER *et al* (1999 b) ont enregistré une concentration de 900 mg/l, trois fois plus supérieure que dans le lait de vache (300 mg/l).

Un doublet au milieu du profil qui pourrait être attribué au composant PP5, il présente la même mobilité dans les quatre laits étudiés, mais il est de très faible intensité dans le lait caprin. Le PP5 correspond aux fragments β -CN-5P (f1-105/107)

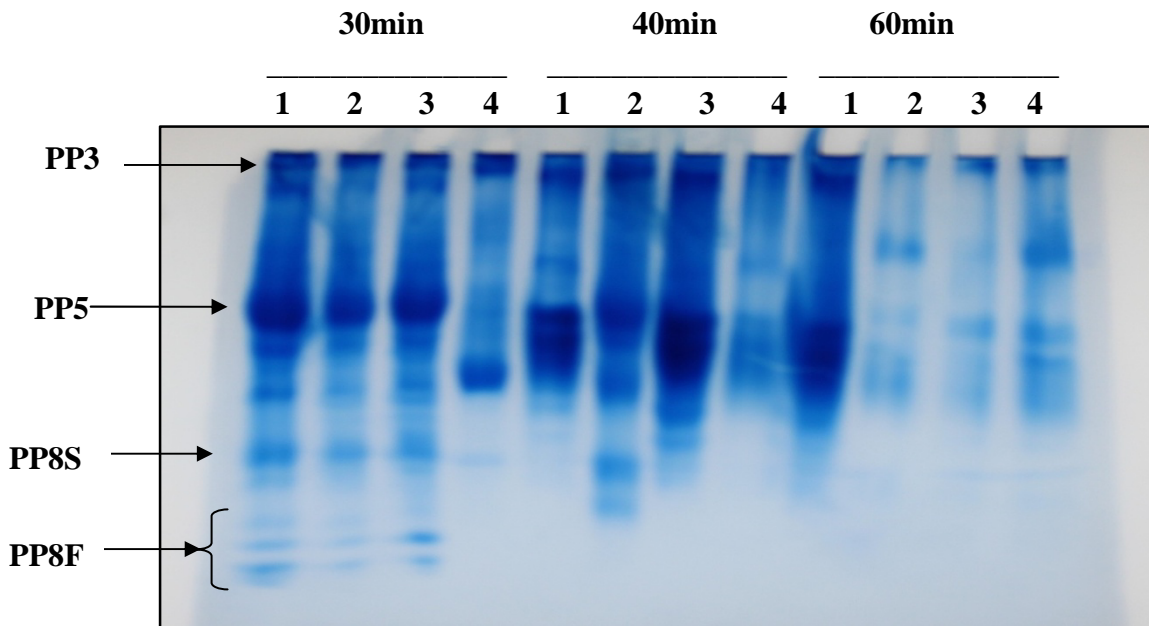
Le PP8 se présente en deux bandes de mobilité élevée, une entité plus rapide que l'autre, elle est nommée PP8 rapide ou PP8F (fast), le fragment retardé est nommé PP8 lent ou PP8S (slow). Ces fragments correspondent respectivement aux β -CN-4P (f1-28) et β -CN-1P (f 29-105/107).

SCHAAR (1985) a rapporté que la teneur en protéose peptones du lait est moins élevée pour des animaux présentant un variant génétique type AA de la β -lactoglobuline. Dans le même contexte, POLITIS *et al* (1993) ont observé une inhibition de l'activité de la plasmine dans ce même type de lait.

Des profils de PPT qui se ressemblent pour les quatre laits suggèrent des homologies structurales et séquentielles de la β -caséine des espèces étudiées et des sites de coupure de la plasmine identiques. D'après les travaux de MATI (1992) il existe trois sites préférentiels de coupure de la β -caséine par la plasmine, il s'agit des régions basiques Lys-Lys en position 28-29, Lys-His (105-106) et Lys-Glu (106-107).

La thermo-stabilité de la fraction protéose-peptones est testée en effectuant un chauffage à 95°C pendant 30, 40 et 60 minutes. Les diagrammes électrophorétiques obtenus en figure (13) illustrent une diminution progressive de l'intensité des bandes, elle est plus

prononcée après 60 minutes de chauffage. SENOUSSE (2011) a obtenu le même profil sur le lait de chamelle.



**Figure13: Electrophorégramme en PAGE-Native (T = 12% ; C = 2,9% ; Ph 8,9) des protéose-peptones totales des laits bovin, ovin, caprin et camelin traité au TCA 12%, Après traitement thermique 95°C pendant, 30, 40 et 60minutes
1 : LV ; 2 : LB ; 3 : LC ; 4 : LCH**



Conclusion

Conclusion

Le lait est un aliment complexe d'une grande richesse nutritionnelle. Il apporte protéines, lipides, glucides, minéraux, vitamines, enzymes, immunoglobulines... Il est indispensable à la survie de tous les mammifères, dont l'homme. En plus il est le seul aliment du nouveau-né.

L'étude comparée de la composition des laits met en évidence une similitude des composants, malgré leurs présences en quantité variable d'un lait à l'autre. A travers son homogénéité apparente, le lait révèle de nombreuses variations aussi bien sur le plan qualitatif que quantitatif.

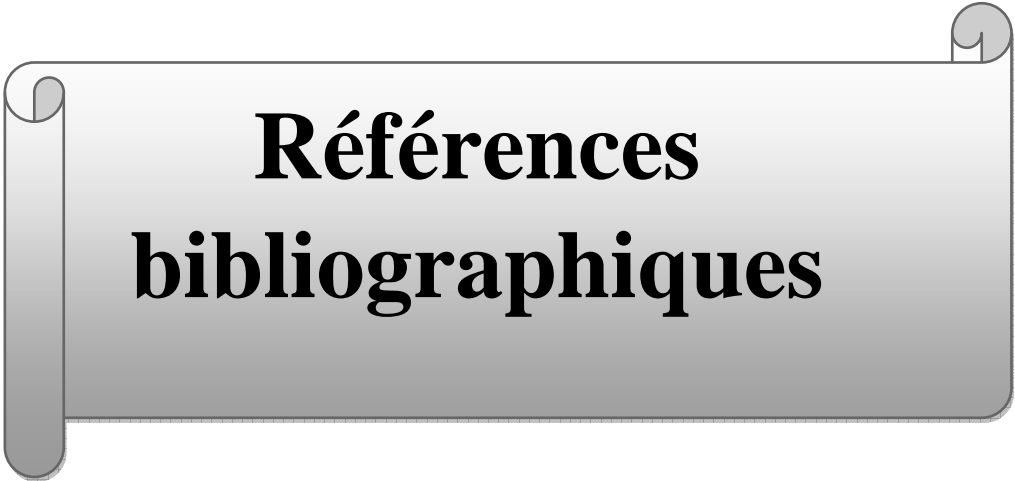
La présente étude est initiée par l'analyse des caractéristiques physico-chimiques du lait de quatre espèces animales (bovine, ovine, caprine et cameline), elle a porté sur le dosage des protéines totales et des protéines sériques, et a fait ressortir la richesse du lait de brebis en protéines où des taux de 50,50 g/l sont enregistrés pour les protéines totales et 13 g/l pour les protéines sériques.

L'isolement et la caractérisation électrophorétique des protéines sériques en conditions non dissociantes et non dénaturantes a révélé une ressemblance des profils, excepté pour le lait de chamelle où aucun homologue à la β -Lg n'a été détecté.

La séparation des protéose-peptones a été réalisée par thermocoagulation puis précipitation au TCA 12%, les profils électrophorétiques les caractérisant ont révélé des entités homologues aux PP3, PP5 et PP8 bovins dans le lait ovin, caprin et camelin.

Cette étude de base sur l'isolement et la comparaison des PPT du lait bovin, ovin, caprin et camelin nous incite à mener des investigations plus approfondies sur cette fraction. Dans ce cadre, il est intéressant :

- d'étudier l'origine des différents composants de cette fraction, en isolant et en hydrolysant la beta caséine de ces quatre espèces ;
- de mesurer l'activité de la plasmine dans les quatre laits ;
- d'étudier les activités biologiques et techno-fonctionnelles de cette fraction



**Références
bibliographiques**

Référence bibliographiques

A

ABI AZAR R. (2007). Complexation des protéines laitière par les extraits de gousses verte de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums. Thèse Doctorat. Ecole doctorale Abies Paris, France.

ABU-LEHIA I.H. (1987). Lactation of camels and composition of milk in Kenya. *Milchwissenschaft*, 42, 368-371.

AIT AMER MEZIAE L. (2008). Aptitude des laits de chèvre et de brebis à la coagulation par des protéases d'origine avicole poulet (*Gallus gallus*) et aquatique : Limon (*Seriolasp*). Thèse Magister. Institut National Agronomique El-Harrach, Algérie.

ALAIS C. et LINDEN G. (1997). Abrégé de Biochimie Alimentaire. Masson, 3ème Ed. Paris.

ALAIS C. (1984). Science du lait - principes des techniques laitières. Editions Sepaic. 4^{ème} Ed. Paris 814p.

ALAMI N., BRAMBILLA A., FONDRINI F., TENIOU R., FELIGINI M. et REFAEY S. (2004). Electrophoretic Study of Dromedary Whey Proteins. *Journal Algerian des Regions Arides*, 3, 3-12.

AL HADJ O.A et AL KANHAL H.A (2010). Composition, Technological and Nutritional aspect of Dromedary Camel Milk. *International Dairy Journal*, 20, 811-821.

AMIGO L., RAMOS M., CLHAU L. et BARBOSA M. (1992). Comparison of electrophoresis, isoelectric focusing, and immunodiffusion in determinations of cow's and soats' milk in serrada Estrela sheeses. *Lait*, 72, 95-101.

AMIOT J., FOURNIER S., LEBEF Y., PAQUIN P. et SIMPSON R. (2002b). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. Science et technologie du lait. Ecole polytechnique de Montréal, 600P.

Andrews A.T. (1978a). The composition, structure and origin of proteose-peptone component 5 of bovine milk. *Eur journal of Biochem.*

ANDREWS A.T. et ALICHANIDIS E. (1983). Proteolysis of caseins and the proteose-peptones fraction of milk. *Journal of Dairy Research.*, 50, 275-290.

ATIG M.N. (2010). Etude comparative de l'électrophorèse sur gel et l'électrophorèse sur l'automate capillars. Diplôme de technicien supérieur en biologie médicale, Ecole supérieur des sciences et techniques de la santé de Monastir, Tunisie

ATTIA H., KHEROUATOU N., NASRI M. et KHORCHANI T. (2000). Characterization of the dromedary milk casein micelle and study of its changes during acidification. *Lait*, 80,503-515.

B

BALTHAZAR C.F., CONTE JUNIOR C.A., MORAES J., COSTA M.P., RAICES R.S.L., FRANCO R.M., SILVA A.C.O. et CRUZ A.G (2016). Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. *Journal of Dairy science* 99 (6), 4160-4168, 2016.

BARKA M. (2017). Contribution au contrôle de qualité du lait cru de différentes races de vaches laitières dans la région de Tlemcen. Diplôme de Master académique. Université de Tlemcen, Algérie.

BAYOUMI S. (1990). Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. *K.Milchwirtschaftliche Forsch.*, 42, 3-8.

BEG O. U., BAHR-LINDSTRON H. V., ZAIDI Z. H. et JORNAVALL H. (1985). The primary structure of α -lactalbumine from Camel Milk. *European Journal of Biochemistry*, 147, 233-239.

BEG O. U., VON BAHR-LINDSTROM H. V., ZAIDI Z. H. et ORNVALL H. (1986). A camel milk whey protein rich in half cystine -Primary structure, assessment of variation, internal repeat patterns, and relationships with neurophysin and other active polypeptides. *European Journal of Biochemistry*, 159, 195-201.

BITMAN J., WOOD D.I., MILLER R.H., TYRRELL H.F., REYNOLDS C.K. et BAXTER H.D. (1996). Comparison of milk and blood lipids in jersey and holstein-cows fed total mixed rations with or without whole cottonseeds. *Journal of Dairy Science*, 79, 1596-1602.

C

CAMPAGNA S. et al., (1998). Conformational studies of a synthetic peptide from the putative lipid-binding domain of bovine milk component PP3. *Journal Dairy Science*. 81, 3139-3148.

CAMPAGNA S., VAN MAN N., HEITZ F., HUMBERT G. et GAILLARD J. L. (1999). Specific interaction between anionic phospholipids and milk bovine component PP3 and its 119-135 C-terminal fragment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 13, 299-309.

CAMPAGNA S., MAHOT A. G., FLEURY Y., GIRARDET J. M. et GAILLARD J. L. (2004). Antimicrobial activity of lactophorin, a synthetic 23 residues peptide derived from the sequence of bovine milk component 3 of protéose peptone. *Journal of Dairy Science*, 87, 1621-1626.

CARTIER P. et CHILLIARD Y. (1990). Inhibiting and activating effects of skim milks and PP fractions on spontaneous lipolysis and purified lipoprotein lipase activity in bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 73, 1173-1177.

CARTER D. C. et HO J. X. (1994). Structure of serum albumin. *Advances in Protein chemistry*, 45, 153-203.

CAYOT P. et LORIENT D. (1998). Structure et Techno fonctions des protéines du lait. Éd. *Tec et Doc.*, Lavoisier, Paris.

CHEMMA N. (2017). La problématique de la sécurité alimentaire en Algérie : une méta analyse du secteur laitier. *Revue les cahiers du PIODEX N°7*, Algérie. P 43-61.

CHETHOUNA F. (2011). Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimique et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. Thèse Magister. Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

COURTET LEYMARIOS F. (2010). Qualité Nutritionnel du lait de vache et de ses Acides gras. Voies d'amélioration par L'alimentation PAR. Thèse doctorat en médecine vétérinaire école nationale vétérinaire d'Alfort la faculté de médecine de Créteil.

D

DALEY L. P., GAGLIARDO L. F., DUFFY M. S., SMITH M. C. et APPLETON J. A. (2005). Application of monoclonal antibodies in functional and

comparative investigations of heavy chain immunoglobulins in new world camelids. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12 (3), 380-386.

DAVIDOVIC L., XAVIER H., LEPAGNOL-BESTEL A., TREMBLAY S; SIMONNEAU M., BARDONI B. et KHANDJILAN E.(2007).The fragile x mental retardation protein is a molecular adaptor between the neurospecific kif3c kinesin and dendritic rna granules. *journal of human molecular genetic*. vol 26, n24, 3047-3058.

DEBRY J. (2001).Lait, nutrition et santé. Tec et Doc, Paris : 21, 566.

DEROUICHE M. (2017). Lait et produits laitiers : diversification, fréquences et modes de consommation dans la tradition algérienne. Thèse Doctorat en science, université CONSTANTINE 1, Algérie, P 189.

DRISS A. (2017). Besoins de l'Algérie en lait : La production nationale stagne. *Journal L'ECHO D'ALGERIE*.

E

EGITO A.S., GIRARDET J.M., MICLO L. et GAILLARD J.L. (2001). Highly sensitive periodic acid /schiff detection of bovine milk glycoproteins electrotransferred after nondenaturing electrophoresis, and isoelectric focusing. *Lait*, 81, 775-785.

EIGEL W.N. et KEEMAN T.W., 1979. Identification of proteose-peptone component 8-slow as a plasmin-derived fragment of bovine β -casein. *Int. J. Biochem.*, 10, 529-535.

EL-AGAMY E.I., NAWAR M., SHAMSIA S.M., AWAD S. et GEORGE FW. (2009). are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children? *Small Ruminant research*, 82, 1-6.

EL-AGAMY E.I., RUPPANNER R., ISMAIL A., CHAMPAGNE C.P. et ASSAF R. (1996). Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *International Dairy Journal*, 6, 129-145.

EL-AGAMY E. I., ABOU-SHLOUE Z. L. et ABDEL-KADER Y. I. (1997). A comparative study of milk proteins from different species. II. Electrophoretic patterns, molecular characterization, amino acid composition and immunological relationships. Third Alexandria conference of Food Science and Technology, Alexandria, Egypt. 1-3 Marsh.

EL-HATMI H., LEVIEUX A. et LEVIEUX D. (2006b). Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, α -lactalbumine, serum albumin and lactoferrin in

colostrum and milk during the early post-partum period. *Journal of Dairy Research*, 73, 288-293.

EL-HATMI H., GIRARDET G. M., GAILLARD J. L., YAHYAOU M. H. et ATTIA H. (2007). Caraterization of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrum. *Small Ruminant Research*, 70, 267-271.

ETIENNE L., GIRARDET J. M. et LINDEN G. (1994). Growth promotion of *Bifidobacterium animalis* by bovine milk protéose peptone. *Lait*, 74, 313-323.

F

FAO. (1995). Laites et produits laitiers dans la nutrition humaine. WW.FAO.ORG.

FAO. (2015). FAO STAT: Statistics division. food and agriculture organization of the United Nations 2010. Disponible sur: <http://faostat.fao.org/>.

FARAH Z., EBERHARD P., MAYER J., REHBERGER B., THOMET A. et GALMANN P. (2004). UHT processing of camel milk. Swiss federal institute of technology, Switzerland.

FARRELL H.M. (1973). Models for caseine micelle formation. *Journal of Dairy Science*, 56(9), 1195-1201.

FOX P.F.(2001). Milk proteins as food ingredients.*International Dairy Journal*, 54(2), 1379-1400.

Frantz J. (2009). Composition du lait de chèvre. Fédération Régionale des Syndicats Caprins du Poitou-Charentes-Vendée. Terre des chèvres.

G

GAOUSSOU K., ANIHOVI P. et BLECKER C.(2013). Evolution des connaissances sur les fonctionnalités de la fraction protéose-peptone du lait : propriétés techno-fonctionnelles et biologiques. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Volume 17, N°2, 373-382.

GHOZIANE F., YAKHLEF H. et YAICI S. (2003). Performance de reproduction et de production laitière des bovins laitiers en Algérie. *Annales de l'institut National Agronomique*, El-harrach, vol 24, N°1 et 2, P 57-68

CHRISTOPHE BLECKER. (2013). Évolution des connaissances sur les fonctionnalités de la fraction protéose-peptone du lait : propriétés techno-fonctionnelles et biologiques, 17 (2), 1780-4507

GIRARDET J.M. et al. (1993). Study of mechanism of lipolysis inhibition by bovine milk proteose-peptone component 3. *Journal of Dairy Science.*, 76, 2156-2163

GIRARDET J.M. et LINDEN G. (1996). PP3 component of bovine milk: a phosphorylated whey glycoprotein. *Journal of Dairy Research.*, 63, 333-350.

H

HAZEBROUCK S. (2016). Lait de chèvre, d'ânesse et de chamelle : une alternative en cas d'allergie au lait de vache. *Innovation agronomique*, 52, 73-84.

HILALI M. (2001). Study of the Physico-Chemical Properties and Coagulation Parameters of Awassi Sheep Milk Collected in Maragha Region, Syria, According to Pasture. These de doctorat de l'Université d'Aleppo, Syrie.

HILLIER R.M., (1976). The quantitative measurement of whey proteins using polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 43, 259-265.

I

INAGAKI M. et al., 2010a. The multiplicity of n-glycan structures of bovine milk 18 kDa lactophorin (milk glyCAM-1). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74(2), 447-450.

INNOCENTE N., CORRADINI C., BLECKER C. et PAQUOT M., (1998B). Emulsifying properties of the total fraction and hydrophobic fraction of bovine milk proteose-peptone. *Intentionnel Dairy journal*, 8, 981-985.

INNOCENTE N., COMPARIN D. et CORRADINI C. (2002). Proteose peptone whey fraction as emulsifier in ice cream preparation. *International Dairy Journal*, 124, 1249- 1257.

INNOCENTE N. MARCHESINI G. et BIASUTTI M. (2011). Feasibility of the SPME method for the determination of the aroma retention capacity of protéose peptone milk protein fraction at different pH values. *Food Chemistry*, 124, 1249-1257.

J

JEAN C. et DIJON C. (1993). Au fil du lait. Edition ENESAD. Bourgogne, 389 p.

JOST R. (1988). Physicochemical Treatment of food allergens: Application to cow's milk protein. SCHMIDT E., (ed) *Food Allergy*. NNWS, 17, Nester Ltd, N.Y., 187-197.

JOUAN P. (2002). Lactoprotéines et lactopeptides, propriétés biologiques. Paris : INRA, 127p.

K

KACIMI EL HASSANI S. (2013). La dépendance alimentaire en Algérie : importation de lait en poudre versus production locale, quelle évolution ? *Mediterranean Journal Of Social Sciences* Vol 4, N°11,152-15.

KAMOUN M. (1994). Evolution de la composition du lait de dromadaire durant lalactation : conséquences technologiques. Actes du Colloque : "Dromadaires et Chameaux animaux laitiers", 24-26-octobre 1994, Nouakchott, Mauritanie.

KANNO C. (1989). Purification and separation of multiple forms of lactophorine from bovine milk whey and their immunological and electrophoresis properties. *Journal Dairy Science*, 79, 883-891.

KAPPLER S.R., FARAH Z. et PUHAN Z. (1998). Sequence analysis of camelus dromedarius milk caseins. *Journal of Dairy Research*, 65, 209-222.

KAPPELERS., PUHAN Z. et FARAH Z. (1999b). Alternative splicing of lactophorin mRNA from lactating mammary gland of camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of Dairy Science*. 82, 2084-2093.

KAPPLER S.R., FARAH Z. et PUHAN Z. (2003). 5'-Flanking region of camel milk genes are highly similar to homologue of other species and can be divided into to distinct groups. *Journal of Dairy Research*, 86, 499-508.

KELLY G.S. (2003). Bovin colostrums: a-review of clinical uses. *Alternative Medicine Review*, 8(4), 378-394.

KIHAL M., CHEKROUN A., BENSOLTANE A., KHEROUA O. et SAIDI D. (1999). Characterization of Algeria raw camels' milk : proteins content and native lactic acid bacteria, 1ères Journées sur la Recherche Cameline, 25 au 27 mai, ITAS, Ouargla, Algérie.

Kocken T., Minier M., Gaborit P., Caillat H. et (Ferlay A. (2019). Impact de la nature du fourrage sur la qualité nutritionnelle du lait de chèvre. Projet PSDR Flèche, PSDR Grand Ouest. Série Focus PSDR4. 6 p.

L

LAEMELI U.K. et FAVRE H. (1973). Maturation of head bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *Journal of Molecular Biology*, 80, 575-599.

LAFITDUPONT A. (2011). Les différents laits et leur complexité. Les protéines du lait de vache : aspect nutritionnel et allergie Alimentaire. Thèse de Docteur en pharmacie, université de limoges, France.

LARSEN B.L., WEDHOLM-PALLAS A., LINDMARK-MANSSON H. et ANDREN A. (2010). Different proteomic profiles of sweet whey and rennet casein obtained after preparation from raw *versus* heat-treated skimmed milk. *Dairy Sci. Techn.*, 90, 641-656.

LATYR FALL C. (1997). ETUDE DES FRAUDES DU LAIT CRU : MOUILLAGE ET ECREMAGE. Thèse Doctorat en médecine vétérinaire, faculté de Médecine et de pharmacie de Dakar, SENEGAL.

LAZEREG M., BELLIL K., DJEDIANE M. et ZAID Z. (2020). LA FILIÈRE LAIT ALGÉRIENNE FACE AUX CONSÉQUENCES DE LA PANDÉMIE DE LA COVID-19. Les Cahiers du Cread -Vol. 36 - N° 03, Algérie. P227-250.

LEVIEUX D., LEVIEUX A., EL-HATMI H. et RIGAUDIERE J. P. (2006). ,Immunochemical quantification of heat denaturation of camel (*Camelus dromedarius*) whey proteins. *Journal of Dairy Research*, 73, 1-9.

LINDEN, G. (1987). Les enzymes. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL-INRA, Paris, , 121-127.

M

MADR. (Ministère de l'Agriculture et du développement rurale), 2013. Commerce d'extérieure agricole, période 200-2012. Séries statistiques agricoles A et B.

MARSHALL K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Médecine Review*, 2, 136-156.

MATHIEUJ. (1998). Initiation à la Physico-Chimie du Lait. Tec. Doc., 1ère Ed.,

Lavoisier, Paris

MATI A., GIRARDET J.M., XENAKIS D. et LINDEN G., (1991). Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des protéose-peptones des laits bovin, ovin et caprin. *Lait*, **71**, 259-273.

MATI A. (1992). Les protéose-peptones dans les laits bovin, ovin et caprin : Isolement, caractérisation, origine et évolution de la fraction à caractère hydrophobe contenant le composant-3. Thèse Doctorat de l'université NANCY I, France.

MATI A. (1992). Les protéose-peptones dans les laits bovin, ovin et caprin : Isolement, caractérisation, origine et évolution de la fraction à caractère hydrophobe contenant le composant-3. Thèse Doctorat de l'université NANCY I, France.

MAYER H.K. (2005). Milk species identification in cheese varieties using electrophoretic, chromatographic and PCR techniques. *Journal of International Dairy*, **15**, 595-604.

MAYER H.K. et 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.

MERIN U., FLEMINGER G. et KOMANOVSKY J. (2008). Subclinical udder infection with *Streptococcus dysgalactiae* impairs milk coagulation properties: the emerging role of proteose-peptone. *Dairy Science Technology*, **88**, 407-419.

MOUALEK I. (2011). Caractérisation du lait de chèvre collecté localement : Séparations chromatographiques et contrôles électrophorétique des protéines. Thèse Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou Algérie.

Q

OCHIRKHUYAG B., CHOBERT J. M., DALGALARRONDO M., CHOISSET Y. et HAERTLE T. (1998). Characterization of whey protein from Mongolian yak, khainak and Bacteria camel. *Journal of Food Biochemistry*, **22**,105-124.

OMER R.H., ELTINAYA.H. (2009). Changes in chemical composition of camel's raw milk during storage, pak. *J. Nutr.* **8** (5) : 607-610.

OULD MOUSTAPHA A., OULD HAMADI S. (2016). Contribution à l'étude comparative des laits crus des chèvres provenant des Wilayas de Mauritanie destinés à la transformation. *Journal of Applied Biosciences*, **102**:9738 – 9744.

P

PARK M.Y., JUAREZ M., RAMOS M. et HAENLEIN G.F.W. (2007). Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68,88-113.

PÂQUET D., NEJJAR Y. et LINDEN G. (1988). Study of a hydrophobic protein fraction isolated from milk proteose-peptone. *J. Dairy Sci.*, 71, 1464-1471.

PAQUET D. (1989). Revue bibliographique : la fraction protéose-peptone du lait. *Lait*, 69, 1-21.

PARK T.J., KIM J.S., CHOI S.S. et KIM Y. (2009). Cloning, expression, isotope labeling, purification, and characterization of bovine antimicrobial peptide, lactophorin in *Escherichia coli*. *Protein Expression Purif.*, 65(1), 23-29.

PAYENS T. A. (1982). Les propriétés physico-chimiques des caséines alpha s1, bêta et kappa. *Lait*, 62, 306-320.

PEARCE K.N. et KINSELLA J.E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 716-723.

PEERMYAKOV E. A. et BERLINER L. J. (2000). α -lactalbumine : Structure and function. *JEBBS Letter*, 473, 269-274.

PELLEGRINI A., REMEUF R. et RIVEMALE M. (1994). Évolution des caractères physico-chimiques et des paramètres de coagulation du lait de brebis collecté dans la région de Roquefort. *Lait*, 74, 425-442.

PELMUS R. S., PISTOL G. C., LAZARD C., MARIN D E., GRAS M., RADU M. et GHITA E. (2012). Preliminary study on milk composition and milk protein polymorphism in the Romanian local sheep breed Teleorman Black Hard Tsigia. *Romanian Biotechnological Letter*, 17(5), 7582-7591.

PESIC M.B., BARAC M.B., VRVIC M.M., RISTIC M., MACEJ O.D., STANOJEVIC. S.S. et KOSTIC A.Z. (2011 a). The distributions of major whey proteins in acid wheys obtained from caprine / bovine and ovine/bovine milk mixture. *International Dairy journal*, 21, 831-838.

PESIC M.B., BARAC M.B., VRVIC M., RISTIC N., MACEJ O. et STANOJEVIC S. (2011 b). Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-PAGE. *Food Chemistry*, 125, 1443-1449.

PIEN, J. Physicochimie du lait. *Tech Lait*, 1975, 841 : 13-14, 844 : 21-23

POTOČNIK K., GANTNER V., KUTEROVAC K. et CIVIDINI A. (2008). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk spices. *Mare's milk, mljekarstvo*, 61(2), 107-113.

R

Rahli F., Saidi N. et Kihal M. (2013). Evaluation of the factors affecting the variation of the Physicochemical Composition of Algerian Camel's Raw Milk During different Season. *Journal of Adv. Environ. Biol.*, 7(14), 4879-4884.

Rahli F. (2015). Valorisation du lait de Chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement. Thèse Doctorat. Université Oran 1, Ahmed Ben Bella. Oran, Algérie.

RAYNAL-LJUTOVAC K., LAGRIFFOUL G. et PACCARD P. (2007). Composition of goat and sheep milk production: an update. *Small Ruminant Research*.

RESTANI P., CINZIA B. et CHIARA D.L. (2009). Molecular aspect of milk allergens and their role in clinical events. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, 396, 47-56.

S

SABAHELKHIER M.K., FATEN M.M. et OMAR F.I. (2012). Comparative determination of biochemical constituents between animal (goat, sheep, cow and camel) milk with human milk. *Research Journal of Recent Science*, 1(5), 69-71.

SALAMI M., YOUSEFI R., EHSANI M.R., RAZAVI S.H., DALGALARRONDO M. et CHOBERT J.M. (2008). Kinetic characterization of hydrolysis of camel and bovine milk proteins by pancreatic enzymes. *International Dairy Journal*, 18, 1097-1102.

SENOUSSI C. (2011). Les protéines sériques du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de la fraction protéose peptones. Diplôme magister université mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.

Senoussi C., SI Ahmed S., Boudjenah S. et Mati A. (2011). Effet du traitement thermique sur les protéines sériques du lait de chamelle ; comparaison avec les séroprotéines bovines. 1^{er} Séminaire sur le lait et ses dérivées, Guelma, Algérie.

SHIMIZU M., YAMAUCHI K. et SAITO M. (1989). Emulsifying properties of the proteose-peptone fraction obtained from bovine milk. *Milchwissenschaft*, 44(8), 497-500.

SIBOKEUR O. (2007). Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitude à la coagulation. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.

SIBOKEUR A. et SIBOKEUR O. (2012). Caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du lait de chamelle collecté localement en comparaison avec le lait bovin. *Annales des Sciences et Technologie*, 4(2), 102-107.

SINA L. (1992). Contrôle de qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par SOCA. Thèse Doctorat en médecine vétérinaire, faculté de Médecine et de pharmacie de Dakar, SENEGAL.

SØRENSEN E.S. et PETERSEN T.E. (1993). Purification and characterization of three proteins isolated from the proteose-peptone fraction of bovine milk. *Journal of Dairy Research.*, 60, 189-192.

SWAISGOOD H.E. (1993). Symposium: genetic perspectives on milk protein comparative studies and nomenclature. *Journal Dairy Science.*, 76(10), 3054-3061.

SUGAHARA T., ONDA H., SHINOHARA Y., HORII M., AKIYAMA K., NAKAMOTO K. et HARA K. (2005). Immunostimulation effects of protéose peptone component 3 fragment on human hybridomas and peripheral blood lymphocytes. *Biochemica et Biophysica Acta*, 17251, 233-240.

T

TITAOUINE M. (2018). Les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des laits des quatre espèces animales élevées dans la région aride. *Renc. Rech. Ruminants*, 24, P429.

TRUJILLO A.J., CASALS I. et GUAMIS B. (2000). Analysis of major milk proteins by revers-phase high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Dairy Research*, 83, 11-19.

V

Vargas R. (2020). Aperçu de la production et de la consommation mondiale de lait en 2018. *BIOCLIPS*, actualité BIOALIMENTAIRE VOL. 28, N°7

VANDERGHEM C., DANTHINE S., BLECKER C. et DEROANNE C. (2007). Effect of protéose peptone addition on some physic chemical characteristics of recombined dairy creams. *International Dairy Journal*, 17, 889 -895.

VIGNOLA C.L. (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal. ISBN : 1-3. 600P.

W

WAL J.M. (2011). Allergenicité des protéines laitières. *Innovation Agronomiques*, 13, 25-43.

WANGLER M. et BELLEN H. (2017). Basic Science Methods for Clinical Researchers. University of Oxford, P211-234.

WENDMISIDA V. (2013). Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Kaolack au Sénégal. Thèse Doctorat en médecine vétérinaire, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de Dakar, SENEGAL.

Y

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 Doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.

Z

ZAIDA W. (2016). EVALUATION DE LA PERFORMANCE DE LA NOUVELLE POLITIQUE DE REGULATION DE LA PRODUCTION NATIONALE DE LAIT CRU. Centre universitaire MORSLI Abdellah, Tipaza, vol02 N15 p.1-67.

ZOBIRI I.A. (2021). Phénotypage protéique et recherche de peptides à activités biologiques du lait de brebis, des races Rumbi et Ouled Djellal, collecté dans la région de Djelfa. Thèse doctorat 3^{ème} cycle (LMD) En Science biologiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.



ANNEXES

LES ANNEXES

ANNEXE 1 : Détermination de la teneur en protéine par la méthode de Biuret (Gornall et al (1949))

1. Solutions

Solution mère de BSA

BSA	10mg
Eau physiologique.....	1000ml

Le réactif de Gornall

Sulfate de cuivre	5g
Tartrate double anhydre N^+, K^+	8.70g
KI.....	5g
NaOH	24g

Méthode :

- Mélanger les deux premiers produits puis solubilisé sans chauffage ;
- Ajouter le KI puis solubilisé ;
- Ajouter le NaOH puis ajusté avec de l'eau distillé jusqu'à 1000ml.

Gamme étalon :

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

Tubes	0	1	2	3	4	5
Concentration en BSA (mg/ml)	0	0.5	1	2	4	5
Solution mère de BSA (ml)	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.5
Eau physiologique (ml)	0.5	0.45	0.4	0.3	0.1	0

Méthode :

- 1 ml d'échantillon contenant 100 μ g de protéines maximum et 25 μ g minimum ;
- Ajouter 2 ml dd réactif de Gornall ;
- Laisser 30 mn a l'obscurité ;
- Lire la D.O à 540 nm.

Expression des résultats :

Une courbe étalon $DO = f(C)$ est tracée. Pus la concentration de la protéine inconnue X est déterminée.

Annexe 02 : électrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE native)

Solution d'acrylamide (A)

- Acrylamide..... 36g
- Bis acrylamide.....1g
- Eau distillée.....100ml

Tampon de gel (B)

- Tris 9.14g
- Eau distillée 100ml
- Ajuster à pH 8.9 avec du HCl 4N

Tampon d'électrode (pour une plaque)

- Tris..... 0.12g
- Glycine..... 0.58g
- Eau distillée.....200ml

Ajuster a pH 8.3 avec du Tris.

Tampon d'échantillon

- Tampon du gel (B)..... 100µl
- Eau distillée..... 700µl
- Glycérol 50%..... 200µl
- Bleu de bromophenol.....une tête d'aiguille

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

Electrophorèse

Préparation du gel: T-12% et C-2,7% (pour une plaque)

- Solution A..... 3.25g
- Solution B.....5ml

- Eau distillée.....5ml
- Dégazer le mélange (maximum 2 mn)
- TEMED.....20µl
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....80µl

Couler et mettre le peigne immédiatement

Solution de fixation

- TCA..... 12g
- Eau distillée (qsp).....100ml

Solution de coloration

- Bleu de coomassie R250..... 0.55g
- TCA.....4g
- Méthanol.....100ml
- Eau distillée.....100ml

Solution de décoloration

- Acide acétique..... 37.5ml
- Eau distillée.....312.5ml
- Méthanol.....150ml

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 ul

Mise sous tension : 20 mA, 25V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration: 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration

Annexe 03: électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes en présence du SDS et du 2-8 mercaptoethanol (PAGE-SDS)

Solution d'acrylamide (A)

- Acrylamide..... 36g
- Bis acrylamide.....1g
- Eau distillé.....100ml

Tampon de gel de séparation (S)

- Tris..... 9.14g
- Eau distillée 100ml

Ajuster à pH 8.9 avec du HCl 4N

Tampon de concentration (C)

- Tris..... 6g
- Eau distillée.....200ml

Ajuster a pH 8.3 avec du HCl 4N.

Tampon de d'électrode :

- Tris..... 6g
- Glycine..... 0.58g
- SDS..... 0.2g
- Eau distillée.....200ml

Ajuster a pH 8.3 avec du HCl 4N.

Tampon d'échantillon

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

Dissoudre 1mg de protéines lyophilisées dans 800µl de ce tampon chauffage à 100°C pendant 4 à 5 mn puis refroidir dans un bain d'eau froide.

Ajouter 200µl d'une solution de glycérol 50% (V/V) et quelques grains de bleu de bromophenol

Solution de fixation

- TCA12g
- Eau distillée (qsq)100ml

Solution de coloration

- Bleu de coomassie R250..... 0.5g
- TCA.....4g
- Méthanal.....100ml
- Eau distillée.....100ml

Solution de décoloration

- Acide acétique..... 37.5ml
- Eau distillée.....312.5ml
- Méthanol.....150ml