

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 BIOCHIMIE–MICROBIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée

THEME

Les protéines sériques du lait de chamelle : caractérisation et étude de la sensibilité à la chymotrypsine ; comparaison avec les séroprotéines bovines, ovines et caprines.

Réalisé par :

M^{elle} LAYAZID Djouhaina

M^{elle} BELLAHCENE Radia

Soutenu le : 04/07/2018

Devant le jury composé de :

Président :	M ^{me} BEDOUHENE-FENANE S.	MCCB à l'UMMTO
Rapporteur :	M ^{me} GHEZALI-SENOUSSI C.	MACA à l'UMMTO
Examineurs :	M ^{me} SEBANE-ALMI D.	MACA à l'UMMTO
	M ^{me} SENANI-OULARBI N.	MACA à l'UMMTO

Année universitaire : 2017 /2018

Remerciements

Avant tout, nous remercierons Dieu le tout puissant de nous avoir permis d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice M^{me} GHEZALI-SENOUSSI.C., Maître 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 pour bien mener ce travail.

Nous sincères remerciements vont également aux membres du jury :

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

-Mme SENANI-OULARBI N., Maître Assistante Classe A à l'UMMTO.

-Mme BEDOUHENE-FENANE S. Maître de conférences Classe B à l'UMMTO.

Dédicaces

À mes très chers parents, que dieu le tout puissant les protège

À mes sœurs et à mon frère

*À ma chère **Wafia** et toute sa famille*

*À mon binôme **Radia** et à toute la promotion de biochimie appliquée*

À tous ceux qui croient en la science

Djouhaina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*À la mémoire de ma grand-mère **Nouara** qui a tant voulu me voir
réussir*

*À mon regretté oncle **Kamel**, j'imagine quelle serait ta joie
aujourd'hui. Que dieu t'accorde la paix éternelle et t'accueille dans
son paradis.*

*À Mon très cher père **Ali***

*Je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation
et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante.
À la plus merveilleuse des maman **Djouza**, qui m'a toujours offert
ses aides morales durant mes études.*

*À mes très chers frères : **Redouane** et **Jugurtha**.*

*À toute ma famille et mes petites cousines adorées **Alicia** et **Elina**.*

*À mon binôme **Djoughaina**.*

*À mes amis avec lesquels j'ai partagé les meilleurs
moments : **Hannane**, **Dahbia**, **Sihem**, **Thinhinane**, **Ouzna**, **Omar**,
Kouceila, **Smail**, **Toufik** et **Ferhat**.*

Radia

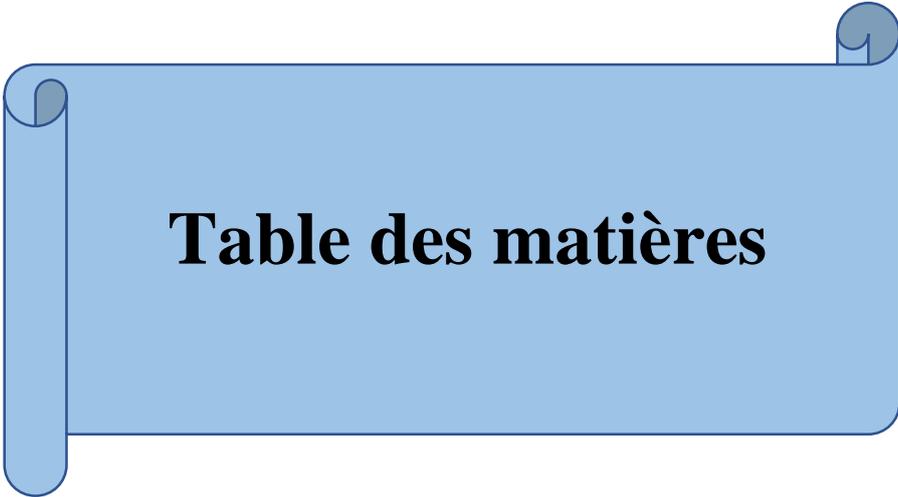


Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Pages

Résumé

Introduction	1
1.Synthèse des données bibliographiques.....	2
1.1. Aperçu général sur les laits camelin, bovin, caprin et ovin	2
1.1.1. Aspect économique	2
1.1.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	4
1.1.2.1. Définition	4
1.1.2.2. Caractères physiques	4
1.1.2.3. Composition chimique	5
1.2. Les protéines des laits camelin, bovin, caprin et ovin	7
1.2.1. Les caséines	7
1.2.2. Les séroprotéines	9
1.2.2.1. La β -Lactoglobuline	10
1.2.2.2. La α -Lactalbumine	11
1.2.2.3. La sérum albumine	11
1.2.2.4. La lactoferrine	12
1.2.2.5. La lactoperoxydase.....	12
1.2.2.6. Le lysozyme	13
1.2.2.7. Les immunoglobulines	13
1.2.3. Les protéines spécifiques au lait de chamelle	14
1.2.3.1. La protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP)	14
1.2.3.2. La protéine acide du lactosérum (WAP)	14
1.2.3.3. La protéine basique du lactosérum camelin (CWBP)	14
1.3. La sensibilité des séroprotéines aux enzymes digestives	14
1.3.1. Les enzymes digestives et leurs mécanismes d'action.....	15
1.3.2. Sensibilité des séroprotéines aux enzymes digestives	16
1.4. Les peptides bioactifs	17
1.4.1. Peptides à activité antimicrobienne	17
1.4.2. Peptides à activité antioxydante.....	18
1.4.3. Peptides à activité anti-hypertensive.....	18

2. Matériel et Méthodes	22
2.1. Matériel.....	22
2.1.1. Echantillons.....	22
2.1.2. Matériel biologique	22
2.1.3. Appareillage	22
2.1.4. Produits chimiques.....	23
2.2. Méthodes	23
2.2.1. Collecte du lait et préparation des échantillons	23
2.2.1.1. Préparation des échantillons.....	23
2.2.2. Méthodes physico-chimiques.....	25
2.2.2.1. Mesure du pH	25
2.2.2.2. Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Lowry <i>et al</i> (1951)	25
2.2.3. Méthodes électrophorétiques	26
2.2.3.1. Principe général de l'électrophorèse	26
2.2.3.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)	27
2.2.3.2.1. Principe.....	27
2.2.3.2.2. Conduite de l'électrophorèse	27
2.2.3.2.3. Electrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE native)	28
2.2.3.2.4. Eléctrophorèse en conditions dénaturantes et dissociantes en présence du SDS et de 2-β ME (PAGE-SDS)	28
2.2.4. Sensibilité des séroprotéines à l'hydrolyse par la chymotrypsine	29
2.2.5. Détermination de l'activité antioxydante par le test de DPPH	30
3. Résultats et discussion.....	32
3.1. Analyse physico-chimique des échantillons des laits étudiés	32
3.1.1. Mesure du pH.....	32
3.1.2. Détermination de la teneur en protéines	33
3.2. Caractérisation électrophorétiques des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines.....	35
3.3. Sensibilité des séroproteines à la chymotrypsine	40
3.4. L'activité antioxydante des séroprotéines totales et de leurs hydrolysats chymotrypsiques	42
Conclusion générale	45

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

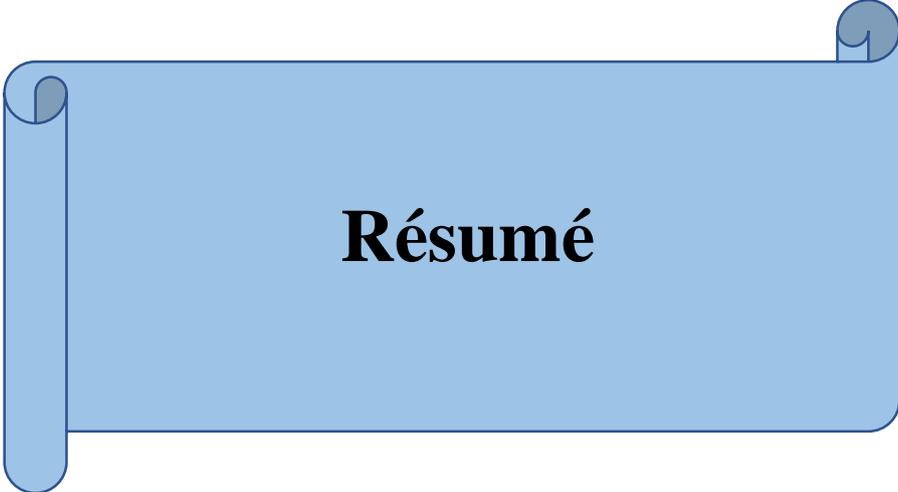
aa	acide aminé
α-La	α - Lactalbumine
α1-CN	Caséine α 1
α2- CN	Caséine α 2
β-CN	Caséine- β
β-Lg	β -Lactoglobuline
BSA	Albumine sérique bovine
CWBP	Camel whey basic protein ou protéine basique du lactosérum camelin
DPPH	1 ,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
FIL	Fédération Internationale Laitière
Igs	Immunoglobulines
κ-CN	Caséine- <i>K</i>
PGRP	Peptidoglycan recognition protein ou protéine de reconnaissance du peptidoglycane
PP3	Composant-3 des protéoses-peptones
SDS	Dodecyl sulfate de sodium
TCA	Acide trichloracétique
TEMED	N, N, N, N –tetraméthyl-éthylène diamine
Tris	Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
WAP	Whey acidic protein ou protéine acide du lactosérum

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
01	Etapas suivies pour la séparation des protéines sériques	24
02	Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY <i>et al</i> (1951) ; réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.	26
03	Photographie de la cuve d'électrophorèse	28
04	Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS	29
05	Réduction de DPPH par un antioxydant (AH)	31
06	Profil électrophorétique des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines en PAGE-native	35
07	Profil électrophorétique des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines en PAGE-SDS	37
08	Analyse par SDS-PAGE de la cinétique d'hydrolyse chymotrypsique des séroprotéines : camelines, bovines, caprines et ovines	40
09	Pourcentage d'inhibition de DPPH, par les protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines, ainsi que leurs hydrolysats chymotrypsiques	42

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
I	Evolution de la production laitière totale des différentes espèces laitières dans le monde	2
II	Evolution du cheptel laitier en Algérie durant la période allant de 2012 à 2016	3
III	Evolution de la production laitière en Algérie durant la période 2007-2011	3
IV	Caractéristiques physiques du lait camelin, bovin, caprin et ovin	4
V	Composition moyenne du lait de différentes espèces animales	6
VI	Composition en minéraux des laits : bovin, camelin, caprin et ovin	6
VII	Teneurs en vitamines de lait de diverses espèces animales	7
VIII	Concentrations des fractions caséiniques dans le lait des différentes espèces	8
IX	Caractéristiques physico-chimiques des caséines des laits : camelin, bovin, caprin et ovin	8
X	Concentration des différentes séroprotéines dans les laits camelin, bovin, caprin et ovin	10
XI	Quelques caractéristiques physico chimiques des trois enzymes digestives (pepsine, trypsine et chymotrypsine)	16
XII	Quelques peptides bioactifs identifiés suite à l'hydrolyse des protéines du lait	20
XIII	Echantillons du lait collectés pour la présente étude	23
XIV	Valeurs moyennes du pH mesurés des différents laits étudiés	32
XV	Répartition de la fraction protéique en (g/l) des échantillons du lait étudié	33
XVI	Comparaison des MM des protéines sériques camelines avec les séroprotéines bovines, caprine et ovines mesurées (kDa) en PAGE-SDS avec les MM rapportées dans la bibliographie	39



Résumé

Résumé

La présente étude a pour objectif d'une part, de caractériser les séroprotéines de quatre espèces laitières : camelines, bovines, caprines et ovines et d'autres part, étudier leurs sensibilités à la chymotrypsine et tester leur activité antioxydante comparativement à leurs hydrolysats.

L'analyse physico-chimique des quatre échantillons du lait a montré des taux des protéines proches ($24,85 \pm 8,47$ g/l en moyenne) entre les quatre espèces avec un taux élevé pour le lait de brebis ($49,24 \pm 4,34$ g/l).

Les électrophorogrammes obtenus en PAGE-native et en PAGE-SDS ont révélé la présence de protéines homologues entre les quatre espèces laitières, à l'exception du lait camelin qui est dépourvue de la β -lactoglobuline.

L'étude de la cinétique enzymatique a révélé des comportements différents des séroprotéines des espèces étudiées, vis-à-vis de l'action de la chymotrypsine. Après 3 heures d'incubation, l' α -lactalbumine cameline s'est avérée plus résistante comparativement à ses homologues bovine, caprine et ovine. La sérum albumine des quatre espèces laitières a montré une résistance vis-à-vis de la chymotrypsine. Cependant, la lactoferrine disparaît dès le premier temps d'incubation. Après 2 heures d'incubation, la β -lactoglobuline bovine est plus résistante comparativement à ses homologues caprine et ovine.

Les hydrolysats protéiques ont montré des taux d'inhibition du radical DPPH plus importants que les protéines sériques totales. Ces taux sont élevés pour les hydrolysats des séroprotéines caprines et ovines, ils sont estimés à ($48,06 \pm 0,012\%$) et ($47,28 \pm 0,01\%$), respectivement.

Mots clés : bovin / camelin / caprin / ovin / protéines sériques / chymotrypsine / activité antioxydante.

Abstract

The aim of this study is to characterize the whey protein of four dairy species: camel, cattle, goat and sheep, and to study their sensitivities against chymotrypsin and test their antioxidant activity compared to their hydrolysates.

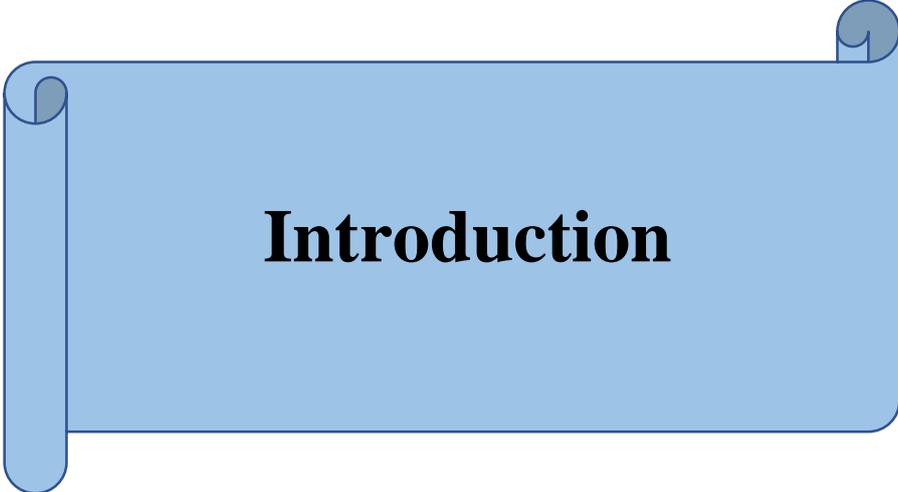
The physicochemical analysis of the four samples of milk showed close protein levels ($24,85 \pm 8,47$ g/l on average) between the four species with a high rate for ewe's milk ($49,24 \pm 4,34$ g/l).

The electrophoregrams obtained under native-PAGE and SDS-PAGE, revealed the presence of homologous proteins between the four dairy species, with the exception of camel milk which is devoid from β -Lg.

The study of enzymatic kinetics revealed different behaviors of the whey protein of the species studied, against the action of chymotrypsine. After 3 hours of incubation, α -Lactalbumin of camel milk, it proved more resistant compared to their bovine counterpart in goat and sheep milk. The serum albumin of the four dairy species showed resistance to chymotrypsin. However, lactoferrin disappears from the first incubation time. After 2 hours of incubation, bovine β -Lg is more resistant compared to their counterpart in goat and sheep milk.

The hydrolysates of whey proteins showed high inhibition degree against DPPH compared to total whey proteins. The degree of inhibition was more pronounced in hydrolysates of goat's and sheep's whey proteins. It is esteemed at ($48,06 \pm 0,012\%$) and ($47,28 \pm 0,01\%$), respectively.

Keywords: bovine/ camel/ goat/ sheep/whey protein/ chymotrypsin/ antioxidant activity.



Introduction

Introduction

De part ses qualités nutritionnelles uniques, 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. Plus que tout autre composant du lait, les protéines laitières constituent la fraction la plus importante. Ces dernières fournissent au nouveau-né les acides aminés essentiels nécessaires à son développement et sa croissance.

La production laitière en Algérie est orientée principalement vers le lait bovin, caprin, ovin et camelin. Le lait est consommé par tout jeune mammifère au début de sa vie, il est aussi destiné à la consommation humaine tel qu'il est à l'état frais ou transformé en produits dérivés.

Le lait de vache, est le plus communément consommé dans le monde, celui-ci domine la consommation mondiale avec 782 millions de tonnes de litres en 2013 et 818 milliards de litres en 2015. 85% de la production mondiale laitière est procurée par les bovins, suivie du lait de bufflonne (11%), de chèvre (2,3%), de brebis (1,4%) et de chamelle (0,2%) (FAO, 2015).

Il y a plusieurs études à travers le monde qui s'intéressent aux activités biologiques des peptides présents dans les séquences des différentes protéines laitières. Ces peptides sont définis comme étant des fragments inactifs dans la protéine précurseur, une fois libérés sous l'action des enzymes protéolytiques au cours de la digestion, ou par protéolyse pendant la fermentation dans les produits dérivés du lait, ou *in vitro* par des enzymes protéolytiques d'origine microbienne ou végétales, peuvent interagir avec des récepteurs spécifiques et réguler les fonctions physiologiques de l'organisme.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés en premier lieu à caractériser la fraction protéique du lactosérum des laits camelin, ovin, bovin et caprin. En deuxième lieu, étudier leurs sensibilités à l'action de la chymotrypsine et évaluer leur activité antioxydante par le test du DPPH ainsi que celle de leurs hydrolysats.



**Synthèse des données
bibliographiques**

1. Synthèse des données bibliographiques

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

1.1.1. Aspect économique

1.1.1.1. Production laitière dans le monde

La production mondiale du lait est dominée par le lait de vache, soit 83% des quantités produites en 2014. Le lait de bufflonne occupe 13% de la production laitière mondiale, suivie des laits de chèvre (2%), de brebis (1%) et autres espèces (1%) comme la chamelle (ANONYME1, 2015).

La production totale du lait au niveau mondial entre les différents ruminants, n'a pas connu des changements significatifs durant la période allant de 2010 jusqu'à 2014 (tableau I).

Tableau I : Evolution de la production laitière dans le monde (Anonyme 1, 2015).

Lait	2010	2011	2012	2013	2014
Lait de vache	609,8	623,6	636,7	642,2	663,2
Lait de bufflonne	93,1	97,0	99,9	101,8	106,3
Lait de chèvre	17,7	18,2	18,4	18,6	18,8
Lait de brebis	9,8	9,7	9,9	10,0	10,1
Autres laits	3,8	3,8	3,7	3,9	3,9
Total	734,2	752,4	768,7	776,4	802,2

Unité : million de tonne/an.

1.1.1.2. Production laitière en Algérie

1.1.1.2.1. Le cheptel laitier en Algérie

Le cheptel laitier en Algérie est constitué de quatre espèces : les ovins, les caprins, les bovins et les camelins. Durant l'année 2016, le cheptel ovin a atteint 28 millions de tête contre environ 5 millions de tête pour le cheptel caprin, 2 millions de têtes pour le cheptel bovin et 379094 de tête uniquement pour le cheptel camelin (tableau II), bien que cette espèce est la plus résistante aux conditions rudes et à la sécheresse.

Tableau II : Evolution du cheptel laitier en Algérie durant la période allant de 2012 à 2016 (FAO, 2018).

Années Espèce	2012	2013	2014	2015	2016
Bovins	1841930	1909455	2049652	2149549	2081306
Ovins	25194105	26572980	27807734	28111773	28135986
Caprins	4794525	4910700	5129839	5013950	4934701
Camelins	340140	344015	354465	362265	379094

Unité : tête.

1.1.1.2.2. Evolution de la production laitière

La production du lait frais en Algérie est en augmentation pour toutes les espèces. Cette production globale est fournie à 73% par le cheptel bovin, 16% par les ovins, 10% par les caprins et seulement 2% par le cheptel camelin (SOUKEHAL, 2013). La production du lait bovin est passée de 1,52 milliards de litres en 2007 à 2 milliard de litre durant l'année 2011 (tableau III).

Tableau III : Evolution de la production laitière en Algérie durant la période 2007-2011(Anonyme 2, 2012).

Années Espèce	2007	2008	2009	2010	2011
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 un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur douceâtre légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée (BITMAN *et al*, 1996). Il s'agit d'un fluide légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène et de sa matière grasse (ALAIS, 1984).

1.1.2.2. Caractères physiques du lait

-pH

Le pH du lait correspond à la concentration en ions hydrogène et représente l'acidité naturelle du lait. Sa valeur n'est pas constante mais varie au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation (LATYR FALL, 1997). Le pH renseigne sur l'état de fraîcheur du lait. Il est compris entre 6,6 et 6,8 pour le lait bovin (GUIGMA, 2013).

Selon SBOUI *et al* (2009), la valeur du pH du lait humain est légèrement basique. Il est de 7,01.

-Densité

La densité est un paramètre qui dépend de la richesse du lait en éléments dissouts et en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse. Elle varie également en fonction de la température. La densité moyenne du lait est de 1,030mg/100ml à 20C°. Elle peut aller jusqu'à 1,038 mg/100ml pour les laits de mélange (SEYDI ,2004).

-Acidité

L'acidité titrable du lait indique la teneur en acide lactique formée à partir du lactose. Un lait frais normal à une acidité de titration qui varie de 16 à 18 D° (LATYR FALL, 1997)

Le lait de brebis présente une acidité élevée par rapport aux autres laits (tableau IV).

Tableau IV : Caractéristiques physiques du lait camelin, bovin, caprin et ovin (SABAHKHEIR *et al*, 2012).

Paramètres	Chèvre	Chamelle	Vache	Brebis
pH	6,6	6,5	6,6	6,6
Densité (mg/100 ml)	1,029	1,029	1,032	1,033
Acidité titrable (%)	0,14	0,15	0,12	0,18

1.1.2.3. Composition chimique

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, particulièrement en lysine. Le lait de brebis est riche en protéines (5,10 %) (YABRIR, 2014) par rapport aux autres espèces. La composition chimique du lait de différentes espèces est indiquée dans le tableau ci-dessous.

Tableau V : 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

La matière grasse du lait de vache et celle du lait de chamelle est constituée de 98 et 96% de triglycéride, respectivement, les di-glycérides (2%), le cholestérol (<0,5%), les phospholipides (~1%) et les acides gras libres (0,1%) (GORBAN et IZZELDIN, 2001 ; PEREIRA, 2014). EL-AGAMY (2009) a rapporté que les proportions des acides gras à chaîne courte (C4-C12) et à chaîne longue dans le lait de chamelle sont respectivement : 14,80 et 85,20% (contre 27,72 et 72,81% dans le lait de vache).

Le lait est une source excellente de la majorité des minéraux essentiels pour l'être humain. Ils constituent environ 1% de la composition chimique des laits camelin, bovin, caprin et ovin (tableau VI).

Tableau VI : Composition en minéraux des laits : bovin, camelin, caprin et ovin (AL-WABEL, 2008).

Les Minéraux (mg /kg)	Vache	Chamelle	Chèvre	Brebis
Zn	2,000	1,480	2,320	3,090
Mn	1,291	1,299	1,129	1,144
Cu	1,800	1,610	0,570	0,620
Fe	4,214	2,981	4,908	5,011
Ca	661,000	699,300	751,700	822,500
Na	91,600	115,870	101,300	95,400
K	113,700	133,770	123,850	127,410

Le lait de brebis est riche en vitamines (tableau VII) par rapport au lait de vache. Le lait de chamelle présente une teneur élevée en vitamine C : 60,06 mg/l (CHETOUNA, 2011) par rapport au lait bovin dont le taux est estimé à 18,5 mg/l (MOALEK, 2011). Cette caractéristique rehausse d'avantage l'intérêt nutritionnel du lait de dromadaire pour son apport important en cette vitamine au bénéfice des populations relativement privées d'apport important en fruits et légumes frais (SIBOUKEUR A. et SIBOUKEUR O., 2012).

Le lait de chèvre contient une faible teneur en folates (0,006 mg/ml). Cette propriété serait à l'origine des anémies mégaloblastiques causées par la faible disponibilité de la cobalamine observée chez des nourrissons ou les jeunes enfants principalement alimentés au lait de chèvre (FAO, 1998).

Tableau VII : 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

1.2. Les protéines des laits camelin, bovin, caprin et ovin

Les protéines du lait sont classées en 2 groupes selon leur solubilité à pH 4,6 : les caséines qui précipitent à ce pH et les protéines sériques qui restent solubles (VIGNOLA, 2002).

1.2.1. Les caséines

Les caséines sont des particules colloïdales, se trouvant à l'état micellaire. La micelle de caséine est composée de 93% de protéines et de 7% de minéraux principalement du phosphate du calcium (OUELDALEYA, 1996). Les caséines occupent 80% des protéines du lait bovin, caprin et ovin, 72-76% des protéines totales du lait camelin, alors qu'ils présentent 40% dans le lait humain (FOX, 2001).

Les micelles sont constituées de quatre protéines différentes : α 1-CN, α 2-CN, β -CN et κ -CN; elles présentent peu d'homologie de séquence à l'exception des sites majeurs de phosphorylation présents sur les caséines α 1-CN, α 2-CN et β -CN. La composition protéique et les propriétés fonctionnelles de ces micelles varient en fonction de l'espèce et même au sein de la même espèce, selon la race considérée (HAZEBROUCK, 2016).

Les caséines du lait de brebis et de chèvre sont caractérisées par un grand degré de minéralisation, sont moins hydratées et stables thermiquement par rapport aux micelles des caséines bovines (RAYNAL-LJUTOVAC *et al*, 2007). En outre, les caséines ovines sont riches en calcium et donc ne nécessitent pas l'ajout de CaCl_2 lors du processus de fabrication du fromage (BALTHAZAR *et al*, 2016).

PARK *et al* (2007), ont rapporté que la taille des micelles de caséines ovines sont réduites (193nm) par rapport à la taille des micelles de caséines bovines (260nm), elles sont similaires aux caséines caprines. Alors que le diamètre des micelles des caséines camelines est plus important, il est compris entre 260 et 300 nm (FARAH *et al*, 2004).

Le lait de vache présente la concentration la plus élevée en caséine - α 1 (12-15g/l) par rapport aux autres espèces qui présentent relativement la même concentration en cette dernière. Quant à la concentration de l' α 2-CN, elle est plus élevée dans le lait de vache et celui de brebis, ce dernier est riche également en β -CN.

Comparativement aux laits bovin, caprin et ovin, les caséines camelines montrent une faible teneur en κ -CN (0,8 g/l) (KAPPELER *et al*, 2003), ce qui explique les difficultés rencontrées dans le processus de coagulation du lait camelin (ALIM *et al*, 2004).

Tableau VIII : Concentrations des fractions caséiniques dans le lait des différentes espèces.

Protéines	Vache	Brebis	Chèvre	Chamelle
Caséines totales (g/l)	28-30 ^a	50-60 ^a	24,3 ^b	-
α 1-CN (g/l)	12-15 ^b	3-6 ^b	3,5 ^b	5 ^c
α 2-CN (g/l)	9-11 ^b	9-12 ^b	4,8 ^b	2.2 ^c
β -CN (g/l)	9-11 ^b	19-28 ^b	12,6 ^b	15 ^c
κ -CN (g/l)	3-4 ^b	4-5 ^b	3,4 ^b	0,8 ^c

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

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

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

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).

1.2.2. Les séroprotéines

Les protéines solubles, dites protéines du lactosérum, sont des protéines qui ne précipitent pas lors de la coagulation du lait, après l'ajout de la chymosine (présure) ou lors d'une acidification (CAYOT et LORIENT, 1998).

Les protéines sériques constituent 20 à 25 % de l'ensemble des protéines du lait de chamelle (AL HADJ et AL KANHAL, 2010), 25,84% des protéines totales du lait ovine (PELMUS *et al*, 2012), 22% du lait caprin (JOUANE, 2002) et 20 % des protéines du lait bovin (DEBRY *et al*, 2001)

La distribution qualitative et quantitative des protéines solubles diffère d'une espèce animale à une autre. L' α -lactalbumine (α -La) est la protéine soluble majeure du lait des camélidés (BEG *et al*, 1985 ; CANTISANI *et al*, 1990) (2,2 mg/ml) (tableau X), et de l'homme (BRIGNON *et al*, 1985). Alors que chez les ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins), c'est la β -Lactoglobuline (β -Lg) qui constitue la principale protéine du lactosérum de ces laits. Cependant plusieurs études ont révélé l'absence de cette protéine dans le lait de chamelle et dans le lait humain (EL-AGAMI *et al*, 1996).

Le lait de chamelle se singularise par la présence de certaines protéines spécifiques, c'est le cas de la protéine acide ou whey acidic protein (WAP), de la protéine de reconnaissance du peptidoglycane ou peptidoglycan recognition protein (PGRP) et de la protéine basique ou whey basic protein (WBP) (BEG *et al*, 1986b ; OCHIRKHUYAG *et al*, 1998 ; KAPPELER *et al*, 2003).

Le lait contient également un certain nombre de protéines présentant des propriétés biologiques variées (lactoferrine, lactopéroxydase, lysozyme et les immunoglobulines).

Tableau X : Concentration des différentes séroprotéines dans les laits camelin, bovin, caprin et ovin.

Protéines	Lait de Vache ^a	Lait de Brebis ^a	Lait de Chèvre ^a	Lait de Chamelle ^b
Les protéines sériques totales	5,7 (g/kg) ^a	11 (g/kg) ^a	7,4 (g/kg) ^a	3500 mg/l ^b
α – La	53,59 (%) ^a	8,97-17,00 (%) ^a	13,31-34,70 (%) ^a	2,2 mg/ml ^c
β- Lac	20,10 (%) ^a	59,24-77,70 (%) ^a	43,54-63,80 (%) ^a	Absente
Igs	11,73 (%) ^a	-	-	-
BSA	6,20 (%) ^a	3,6-5,1(%) ^a	1,8-5,50(%) ^a	8,5 mg/ml ^c
LF	8,38 (%) ^a	-	-	95mg /l ^b

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

1.2.2.1. La β -Lactoglobuline

La β -Lactoglobuline est la protéine sérique la plus dominante dans le lait de différentes espèces, sauf pour le lait camelin et humain (AL ADJAMI *et al*, 2009). Sur le plan structural la β -Lg bovine présente une structure très compacte de type β - α - β , bloquée par deux ponts disulfure, le cœur de la protéine présente huit brins de feuillet antiparallèles qui s'enroulent pour former un cœur hydrophobe appelé calice (BROWNLOW *et al*, 1997). Elle est naturellement présente sous forme d'un dimère de 36 kDa. Chaque sous-unité correspond à une chaîne peptidique de 162 résidus d'acides aminés. Cette structure est responsable des principales propriétés physico-chimiques de la β -Lg ainsi que des interactions qu'elle établit avec la caséine durant, par exemple, les traitements thermiques (WALL, 2011).

Elle constitue avec l' α -La, les deux protéines majeures impliquées dans l'allergie au lait de vache (BENHATCHI, 2011). Plusieurs variants génétique de la β -Lg ont été identifiés : les variants A, B et C dans le lait ovin (PARK *et al*, 2007), 11 variants dans le lait bovin (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et H) (FARREL *et al*, 2004) et enfin deux variants (A et B) ont été trouvés dans le lait de chèvre (MOIOLI *et al*, 1998).

1.2.2.2. L' α -Lactalbumine

L' α -Lactalbumine, c'est une métalloprotéine globulaire compacte qui transporte le calcium, elle est synthétisée par les glandes mammaires. C'est la protéine majeure du lactosérum camelin (BEG *et al*, 1985), sa concentration est de 2,2g/l (EL-HATMI *et al*, 2007) proche à celle de ses homologues bovine (1-1,5g/l) (WAL, 2011) et caprine (2g/l) (MARSHALL, 2004).

La structure primaire de L' α -La cameline comporte 123 résidus d'acides aminés et sa masse moléculaire est 14,6 kDa (BEG *et al*, 1985), ce qui est similaire à l' α -La bovine, humaine et caprine (BEG *et al*, 1985 ; BEG, 1986).

En outre, PARK *et al* (2007), ont signalé que l' α -La ovine et caprine est homologue à celle du bovin avec des pourcentages d'homologie (95,1 et 97,2%) respectivement (RESTANI *et al*, 2009). La masse moléculaire de l' α -La ovine est estimé à 13,8 kDa (MERCIER *et al*, 1978).

En distinguent plusieurs variants génétiques de l' α -La : deux variants génétique (A et B) ont été identifié dans le lait ovine et caprin (MOIOLI *et al*, 1998) ; alors que trois variants génétiques (A, B, C) dans le lait bovin (VIGNOLA, 2002).

L' α -La cameline, est très riche en acides aminés essentiels particulièrement en Trp, Cys et Lys, où elle contient 21,6% de ces trois amino-acides alors que son homologue bovin n'en contient que 19,6% (SALAMI *et al*, 2008).

Le rôle principal de L' α -La est de réguler l'activité de la galactosyl-tranferase en diminuant son affinité vis-à-vis le glucose et le N-acetylglucosamine. L' α -La est une protéine qui lie les cations divalents comme le calcium et le zinc et facilite ainsi l'absorption des minéraux essentiels (PERMYAKOV et BERLINER, 2000).

1.2.2.3. La sérum albumine

La sérum albumine (BSA) est la protéine majeure du sérum sanguin, synthétisée dans le foie. Elle passe du plasma vers la glande mammaire pendant la production du lait (CARTER et HO, 1994). Sa concentration dans le lait est de (0,1 à 0,4g/l). Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés, avec un poids moléculaire de 66,2 et 17 ponts disulfures intramoléculaire (ELAGAMY, 1996).

La BSA bovine présente 76% d'homologie dans sa séquence en acides aminés avec celle du lait humain (CAYOT et LORIENT, 1998), 71,2 et 92,4% avec la BSA caprine et ovine respectivement (RESTANI *et al*, 2009).

Le rôle principal de la BSA est le transport et distribution des ligands (CARTER et HO, 1994).

1.2.2.4. La lactoferrine

C'est une glycoprotéine, qui appartient à la famille des transferrines, elle est présente en très petites quantités dans le lait de vache, mais elle a été identifiée comme allergène important (WALL, 2002). La concentration en lactoferrine (LF) est plus élevée dans le lait camelin (220 mg/l) par rapport aux autres laits (lait de chèvre, lait de bufflon, et lait de brebis) (EL-AGAMY *et al*, 1997). Alors qu'elle est de 140mg/l dans le lait bovin (KAPPELER *et al*, 1998). La concentration élevée de cette dernière dans le lait camelin lui confère un rôle protecteur, en prévenant la prolifération des microorganismes (HABIB *et al*, 2013).

Sur le plan structurel, la LF cameline est composée de 689 résidus d'acides aminés. Elle possède 17 ponts disulfures et 4 sites de glycosylation. Sa masse moléculaire est estimée à 80kDa (KAPPELER *et al*, 1999a).

La LF est relativement stable lors de traitement thermique et résistante à l'attaque des enzymes digestives. C'est un antioxydant, sa principale fonction biologique est de piéger les radicaux libres et de protéger ainsi l'organisme contre le stress oxydatif, elle a également des propriétés antibactériennes (en séquestrant le fer privant ainsi le milieu de croissance de cet élément essentiel), et elle a été décrite comme stimulant la réponse immunitaire cellulaire de l'organisme contre les infections (WALL, 2011).

1.2.2.5. La lactoperoxydase

La lactoperoxydase (EC:1.11.1.7) est une oxydoréductase. Cette glycoprotéine est présente naturellement dans le colostrum, le lait et dans différentes sécrétions humaines et animales (CONNER *et al*, 2002). Cette enzyme dans le lait de chamelle est considérée comme étant une des plus thermorésistantes par rapport au lait de vache (ELAGAMY *et al*, 1996).

Concernant la structure de la lactoperoxydase, elle est composée de 612 résidus d'acides aminés, avec 15 résidus cystéine. La fraction glucidique occupe 10% du poids de la molécule (UGUZ et OZDEMIR, 2005). La masse moléculaire de la lactoperoxydase cameline est de 78 kDa alors que celle de son homologue bovin est de 72,5 kDa (ELAGAMY *et al*, 1996).

La lactoperoxydase est résistante à l'hydrolyse acide et à la digestion enzymatique. Elle contribue dans la défense immunitaire, elle possède également une activité anti-tumorale (KULA, 2016), la lactoperoxydase est connu par une activité bactéricide, sur les bactéries à gram négatif suite à la production de l'hypothiocyanate (OSCN-) qui est toxique sur ces bactéries (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991)

Sur le plan fonctionnel, cette protéine est utilisée comme agent protecteur du lait cru en particulier dans les régions tropicales et cela par l'ajout de faibles quantités de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène au lait de chèvre (ZAPICO *et al*, 1991).

1.2.2.6. Le lysozyme

Le lysozyme est une enzyme identique au lysozyme du plasma. 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 de lysozyme (15 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) contre (7 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) 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). La différence de composition et de structure entre le lysozyme camelin et bovin explique la différence au niveau de leur activité. Le lysozyme camelin présente une activité de lyse supérieure à celle du lysozyme bovin, mais inférieure à celle du lysozyme du blanc d'œuf (ELAGAMY *et al*, 1996).

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).

1.2.2.7. Les immunoglobulines

Les immunoglobulines (Igs) représentent environ 10% des protéines totales du lactosérum. La concentration en IgG dans le lait camelin est de 1,64mg/ml. Cette concentration est de 0,70 ; 0,67 ; 0,55 ; 0,63 et 0,86 mg/ml dans les laits caprin, bovin, ovin, bufflonne et humain respectivement (EL-AGAMY *et al*, 2009).

Le lactosérum bovin contient trois classes majeures d'Igs : IgG, IgM et IgA, la principale étant l'IgG1 (FARRELL *et al*, 2004). Les Ig G, A et M se retrouve dans le lait caprin (PARK, 2007).

Toutes les Igs présentent la même structure de base : deux chaînes légères identiques de 23 kDa et deux chaînes lourdes de 53 kDa chacune. Ces quatre chaînes sont liées par des ponts disulfures et la molécule complète d'Ig présente une masse moléculaire d'environ 180 kDa (KORHONEN *et al*, 2000). Par contre le lait de chamelle contient des immunoglobulines qui ont une structure unique, elles sont dépourvues de chaînes légères (SHABO Y. et YAGIL R., 2005).

Sur le plan fonctionnel, les immunoglobulines jouent un rôle dans le transfert de l'immunité passive chez le nouveau-né, en particulier lors des deux premiers jours de la lactation durant lesquels leur concentration dans le colostrum est maximale (KELLY, 2003).

Dans certaines études des concentrés d'Igs issus du lait bovin été trouvé qu'ils ont un rôle protecteur contre de nombreux pathogènes respiratoires et gastro-intestinaux (WEINER *et al*, 1999).

1.2.3. Les protéines spécifiques au lait de chamelle

D'autres fractions protéiques ont été identifiées dans le lait de chamelle. La présence de ces protéines dans ce lait lui confère des vertus nutritionnelles supplémentaires par rapport aux autres types de lait.

1.2.3.1. La protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP)

La protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP), protéine soluble qui a été identifiée chez les vertébrés et invertébrés (Liu *et al*, 2000). Cependant cette protéine est détectée dans le lait de chamelle, mais pas dans le lait de vache (MAL et PATHAK, 2010).

La PGRP présente une masse moléculaire de 19,1 kDa avec un pH isoélectrique de 9,02. Elle est constituée de 172 résidus d'acides aminés et elle est homologue à celle du lait humain.

Sa concentration dans le lait de chamelle est de 0,12 g/l ; La PGRP est riche en arginine mais pauvre en lysine (KAPPELER *et al*, 1998 ; KAPPELER *et al*, 2004).

Sur le plan fonctionnel, la PGRP manifeste une activité antimicrobienne importante. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane en se liant à ses précurseurs ou en limitant l'accès des enzymes catalyseurs de la biosynthèse de ce polymère à leurs substrats (LU *et al*, 2006). En outre, elle possède un effet apparent dans le cancer du sein en contrôlant la métastase et en stimulant la réponse immunitaire de l'organisme (GIZACHEW *et al*, 2014).

1.2.3.2. La protéine acide du lactosérum (WAP)

La (WAP) a été décrite pour la première fois par BEG *et al* (1984). C'est une protéine à caractère acide dont la concentration dans le lait de chamelle est de 0,16 g/l (KAPPELER *et al*, 2003). Elle a une masse moléculaire d'environ 12,6 kDa avec un pH isoélectrique de 4,70 et elle est composée de 117 acides aminés avec 17 groupements thiols libre (KAPPELER *et al*, 1998).

1.2.3.3. La protéine basique du lactosérum camelin (CWBP)

C'est une protéine de 20 kDa, elle n'a pas d'homologue chez les autres espèces (OCHIRKHUYAG *et al*, 1998) son pH isoélectrique est basique, il est de 9,3. L'analyse de la séquence primaire de la (CWBP) révèle sa richesse en résidus Gln, Arg et Gly (OCHIRKHUYAG *et al*, 1998).

La CWBP est détectée par EL-HATMI *et al* (2006b) 48 heures après la mise bas de la chamelle à un taux de 1,7 g/l, son taux augmente jusqu'à atteindre 3,1 g/l dans le lactosérum.

1.3. La sensibilité des séroprotéines aux enzymes digestives

Pour assurer les besoins métaboliques et énergétique de l'organisme, les protéines alimentaires subissent un processus de dégradation intense au cours de leur transit dans le tractus gastro-intestinal.

La digestion des protéines est commencée lors d'une phase intraluminale au cours de laquelle les protéines sont chargées en oligopeptides, puis la digestion est achevée par des peptidases présentes sur la bordure en brosse entérocytaire, permettant leur absorption par les entérocytes (ADEL-PATIENT *et al*, 2008).

1.3.1. Les enzymes digestives et leurs mécanismes d'action

Les enzymes protéolytiques sont habituellement synthétisées sous forme de précurseurs inactifs appelés zymogènes (pro-enzymes). C'est-à-dire des composés protidiques inactifs, dépourvus d'activité enzymatique, mais qui peuvent donner après activation des enzymes actives. L'intérêt pour l'organisme est de pouvoir synthétiser une enzyme et de l'activer plus tard, lorsque les conditions le nécessitent. L'enzyme peut ainsi être stockée sous une forme inactive donc inoffensive (VOET D. et VOET J., 1998).

1.3.1.1. Les enzymes gastriques

1.3.1.1.1. La pepsine

La pepsine est une enzyme du suc gastrique. Elle est synthétisée sous forme de pepsinogène puis stockée dans les vésicules enzymatiques des cellules principales, d'où elle est excrétée au moment de la digestion. L'activation du pepsinogène en pepsine est réalisée par l'acide chlorhydrique sécrété par les cellules pariétales. Le pH optimum d'action de cette enzyme se situe entre 1,8 et 4,4 (RAISONNIER, 2004). La pepsine possède dans son site actif le résidu aspartate. Elle hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe) engage sa fonction amine. Lors de la coupure de la liaison peptidique, les deux acides aspartiques de la pepsine jouent simultanément le rôle de donneur et de receveur de protons (ADEL-PATIENT *et al*, 2008).

1.3.1.2. Les enzymes pancréatiques

1.3.1.2.1. La trypsine

C'est une endopeptidase, synthétisée par les cellules acines du pancréas sous forme de pro-enzyme (trypsinogène) (GAILLARD, 2003). Le trypsinogène est activé en trypsine dans le duodénum par l'action de l'entérokinase.

La trypsine est caractérisées par la présence d'une triade catalytique composée des chaînes latérales de trois acides aminés : une sérine (Ser-195), une histidine (His-57) et une aspartate (Asp-102). Ces résidus sont en interaction et forment un relai de charge qui rend nucléophile la serine du site actif et permet l'attaque du groupement carbonyle de la liaison peptidique hydrolysée (VOET D. et VOET J., 1998).

La trypsine hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé basique (Lys, Arg) engage sa fonction acide (RAISONNIER, 2004).

1.3.1.2.2. La chymotrypsine

La chymotrypsine appartient à la famille des protéases à sérine (fait intervenir l'histidine, l'aspartate et la Glycine au niveau de son site catalytique), synthétisée par le foie sous forme de chymotrypsinogène. (DUPOIS, 2006). Elle est transformée en chymotrypsine sous l'action de la trypsine. Cette dernière scinde la liaison peptidique Arg15-Ile16 du chymotrypsinogène pour libérer la chymotrypsine active (FREY *et al*, 1994). Elle hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe ainsi que Met) engage sa fonction acide (RAISONNIER, 2004). La chymotrypsine attaque les groupes carbonyles potentiellement nucléophiles impliqués dans une liaison peptidique grâce à la sérine 195, qui se lie à son substrat pour former un intermédiaire substrat enzyme covalent. Le site actif de l'enzyme fait également intervenir les acides aminés Histidine, Aspartate et Glycine (WHITCOMB *et al*, 1996).

Le tableau ci-dessous montre certaines caractéristiques physico-chimiques de la pepsine, trypsine et la chymotrypsine.

Tableau XI : Quelques caractéristiques physico chimiques des trois enzymes digestives (pepsine, trypsine et chymotrypsine).

Enzyme	Famille	MM (Da)	Nombre de résidus d'aa	pH optimum	Références
Pepsine	Protéase acide	35000	-	1,8 et 4,4	(RAISONNIER, 2004)
Trypsine	Protéase à sérine	24000	201	8	(SZMALA <i>et al</i>, 2003)
Chymotrypsine	Protéase à sérine	25000	241	8	(ALAIS <i>et al</i>, 2003)

1.3.2. Sensibilité des séroprotéines aux enzymes digestives

Le comportement des seroprotéines vis-à-vis des enzymes digestives diffère d'une protéine à une autre et dépend de nombre de sites qui sont accessibles à l'enzyme.

Selon une étude rapportée par SALAMI *et al* (2009), la digestion enzymatique de l' α -La cameline montre un haut degré d'hydrolyse par la trypsine et la chymotrypsine en la

comparant à l' α -La bovine, mais les deux protéines ont montré une sensibilité similaire à la pepsine.

Concernant la β -Lg bovine, elle est peu hydrolysée par les enzymes digestives. L'absence d'hydrolyse pepsique permet à cette protéine de passer dans l'intestin sous forme non dégradée. De manière théorique, l'action de la trypsine permet de libérer 17 peptides et celle de la chymotrypsine libère 10 qui sont facilement absorbés au niveau intestinal. Le transit stomacal de la β -Lg est plus rapide que celui des caséines. Ce fait est dû au pHi de la β -Lg, responsable de la solubilité de la protéine dans l'estomac, alors que les caséines coagulent à ce niveau et y restent donc plus longtemps (JOUAN, 2002).

Une meilleure digestibilité du lait de chèvre par rapport au lait de vache, peut ensuite avoir comme conséquence de limiter la quantité d'allergènes capable d'atteindre la muqueuse digestive de l'hôte sous forme intacte. La β -Lg caprine est ainsi plus rapidement hydrolysée que la protéine homologue bovine (ALMAAS *et al*, 2006).

INGLINGSTAD *et al* (2010), ont rapporté la disparition de LF bovine, caprine, équine et humaine après 30 min d'hydrolyse par les enzymes gastro-intestinales. Alors que la β -Lg bovine et caprine sont moins sensibles après 30 min d'hydrolyse enzymatique.

1.4. Les peptides bioactifs

En plus de leur valeur nutritionnelle élevée, les protéines du lait sont des molécules précurseurs de peptides à activité biologique qui sont susceptibles de moduler des fonctions-clés de l'organisme (LEONIL, 2014). La taille de ces peptides varie de 2 à 20 résidus d'acides aminés (MEISEL et FITZGERALD, 2003).

Les peptides à activité biologique peuvent être produits soit par une hydrolyse par les enzymes digestives, par protéolyse pendant la fermentation dans les produits dérivés du lait, ou *in vitro* par des enzymes protéolytiques d'origine microbienne ou végétale (KORHONEN et PIHLANTO, 2003).

Les peptides bioactifs peuvent être libérés *in vivo* durant la digestion gastro-intestinal suite à action des enzymes notamment la pepsine, la trypsine ou la chymotrypsine. Différentes activités biologiques (immunomodulatrice, antimicrobienne et antioxydante) ont été assignés aux peptides issus de l'hydrolyse des différentes protéines du lait (tableau XI).

1.4.1. Les peptides à activité antimicrobienne

Durant ces dernières décennies, plusieurs études ont démontré les propriétés antimicrobiennes de certaines protéines alimentaires (telle que le lysozyme, la lactoperoxydase,

et la lactoferrine) ainsi que la possibilité de générer des peptides actifs par hydrolyse enzymatique des protéines *in vivo* ou bien *in vitro*.

Plusieurs peptides antimicrobiens ont été libérés par hydrolyse enzymatique des protéines du lait, inactives à l'état natives. C'est le cas des protéines de lactosérum, l' α -La et la β -Lg qui génèrent, par hydrolyse enzymatique, plusieurs peptides antimicrobiens.

La digestion trypsique de α -La libère deux fragments : LDT1 (α 1-5) et LDT2 (α 17-31/ 109-114). Alors que la digestion chymotrypsique libère le peptide LDC (α 61-86 /75-80) (PELLEGRINI *et al*, 1999). Ces peptides sont principalement actifs sur des bactéries à Gram positif. La digestion trypsique de la β -Lg a donné, quatre peptides (15-20, 25-40, 78-80, 92-100) ayant une activité antimicrobienne sur des bactéries à Gram positif (PELLEGRINI *et al*, 2001).

MOHANTY *et al* (2016) ont identifié un peptide (17-41) de la lactoferrine libéré suite à l'hydrolyse par la pepsine, est actif sur certaines bactéries tel que *Bacillus*, *E. coli*, *Candida albicans*, *Listeria*, *Streptococci*, *Klebsiella*, *Staphylococci*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*.

Selon EL-HATMI *et al* (2016) les protéines camelines et leurs hydrolysats présentent une activité inhibitrice sur différentes souches bactériennes.

1.4.2. Les peptides à activité antioxydante

Les protéines du lait sont des précurseurs de peptides à activité anti-oxydante, grâce à leur richesse en certains acides aminés, comme l'histidine, ou en acides aminés hydrophobes.

Les peptides dérivés de ces protéines sont capables d'inhiber la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux libres. Par exemple, un peptide dérivé de la β -caséine (169-176) de séquence Lys-Val-leu-Pro-Val-Pro-Gln-Lys, est l'un des peptides les plus efficaces dans l'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique (LEONIL, 2014).

L'activité antioxydante des peptides dépend non seulement de leur composition en acides aminés mais aussi de leur taille et la position de ces acides aminés (SALAMI *et al*, 2011).

L'étude de SALAMI *et al* (2010) a montré que l'hydrolyse par la chymotrypsine des protéines sériques camelines permet de générer des peptides à activité antioxydante.

1.4.3. Les peptides à activité anti-hypertensive

La plupart des peptides du lait a activité anti-hypertensive sont des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), enzyme clé de la régulation de la pression artérielle dans le système rénine-angiotensine et kallikreine-bradykinine (LEONIL, 2014). Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont des di ou tri-peptides qui contenant des résidus de proline, lysine ou arginine dans leurs extrémité C-terminal, ces peptides sont principalement isolés des caséines bovines et humaine (SAITO *et al*, 2000).

D'après CHOBERT *et al* (2005) une activité inhibitrice de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) a été recherchée dans les peptides tryptiques de la β -Lg du lait de brebis.

QUAN *et al* (2008) ont identifié un peptide (107-115) de la κ -CN obtenu par fermentation du lait camelin par *Lactobacillus helveticus*, ce peptide présente une activité anti-hypertensive.

L'hydrolyse de la β -Lg du lait par la trypsine libère un peptide (142-148) qui a une forte activité inhibitrice de l'ACE (MULLALY *et al*, 1997).

Tableau XII : Quelques peptides bioactifs identifiés suite à l'hydrolyse des protéines du lait.

Peptide	Protéine précurseur	Enzyme	Espèce animal	L'activité biologique	Référence
Fragement f (203-208)	L'α ₂ -CN	Pepsine	Ovine	-Inhibition de l'ECA. -Activité antioxydante.	LOPEZ et al, (2006)
Fragment f (98-105)	κ-caséine	Pepsine Trypsine Chymotrypsine	Ovine	-Activité Antioxydante	GOMEZ et al, (2008)
Isracidine	L'α ₂ -CN	Chymosine Trypsine	Bovine	Inhibition du développement de <i>S.aureus</i> , <i>S.pyrogenes</i> et <i>Listeria monocytogenes</i>	LAHOV et REGELSON (1996)
Fragements f (63-680) et f(191-193)	β-CN	-	Bovine	Activité immuno-modulatrice	MIGLIOR SAMOUR et JOLLES (1988)
Les hydrolysats des séroprotéines	-	Trypsine Chymotrypsine Thermolysine Proteinase K	Cameline	-Activité antioxydante -inhibition du développement des bactéries	SALAMI et al (2010)
Les hydrolysats des caséines totales	-	Chymotrypsine Alcalase Papaine	Cameline	Activité antioxydante	KUMAR et al (2016a)
Les hydrolysats des caseines totales	-	Trypsine Subtilisme Subtilisme+Trypsine	Caprine	-Inhibition de ECA -Activité antioxydante	ESPEJO-CARPIO et al (2015)



Matériel et méthodes

2. Matériel et Méthodes

Le présent travail été réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie, département de Biochimie-Microbiologie. Université MOULOUD MAMMARI de TIZI-OUZOU.

2.1. Matériel**2.1.1. Echantillons**

Les échantillons du lait bovin, caprin et ovin sont d'origine de Larbaa Nath Irathen (LNI) de la région de Tizi-Ouzou, le lait de chamelle est collecté de Oued Souf du Sud algérien.

2.1.2. Matériel biologique

-Albumine sérique bovine (BSA).

-Chymotrypsine (57,74 U/mg).

- Kit de protéines étalons composé de BSA (67 kDa), Ovalbumine (45 kDa), β -Lg (18 kDa) et α -La (14 kDa).

2.1.3. Appareillage

-Unité d'électrophorèse sur mini- cuves verticales (HOEFFER SE 260, USA) comprenant : couleur de gel, cuves d'électrophorèse ; générateur de courant (max 250V, 100mA) ; plaques en verre et en hydroxyde d'alumine (10×12cm) ; les espaceurs de 1mm d'épaisseur.

-pH mètre ((METROHM, Suisse) ;

-Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA, USA) ;

- Balances analytiques à affichage digital (0,01g) (Denver Instrument, USA) ;

- Balance de précision (0.01 mg) (OHAUS, USA) ;

-Agitateur à barreau magnétique chauffant ;

-Spectrophotomètre UV-Visible (SHIMADZU, Japon) ;

-Lyophilisateur à plateaux (Telstar)

-Bain-marie (MEMMERT, Allemagne).

2.1.4. Produits chimiques

-Solvants : acide chlorhydrique, acide acétique, acide sulfurique, hydroxyde de sodium, acide trichloracétique, glycérol, méthanol.

-Colorants et réactifs divers : acrylamide, bleu de bromophenol, bleu de Coomassie R250, 2,6-dichlorophenolindophenol, SDS (dodecyl sulfate de sodium), glycine, 2-mercaptoethanol, N, N-méthylène-bis-acrylamide, persulfate d'ammonium, réactif de Folin Ciocalteu, trishydroxyméthylaminométhane (Tris), TEMED, DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl).

-Sels et tampons, carbonate de sodium, tartrate double de sodium et de potassium, azide de sodium, tampon phosphate.

2.2. Méthodes

2.2.1. Collecte du lait et préparation des échantillons

Les différents laits (camelin, bovin, caprin et ovin) ont été collectés, proprement et acheminés au laboratoire de biochimie dans une glacière à +4°C. À l'arrivée des mesures de pH ont été effectués puis les échantillons de lait ont été traités selon le protocole en figure (01) ; afin d'isoler la fraction des protéines sériques.

Tableau XIII : Echantillons du lait collectés pour la présente étude.

Lait	Période de collecte	Région de collecte
Lait de chamelle	Mars 2018	Oued Souf
Lait de vache	Mars 2018	Larbaa Nath Irathen
Lait de chèvre	Mars 2018	Larbaa Nath Irathen
Lait de Brebis	Mars 2018	Larbaa Nath Irathen

2.2.1.1. Préparation des échantillons

Afin de séparer les protéines sériques des caséines, les échantillons de lait sont traités selon les étapes qui figurent dans le schéma ci-dessous.

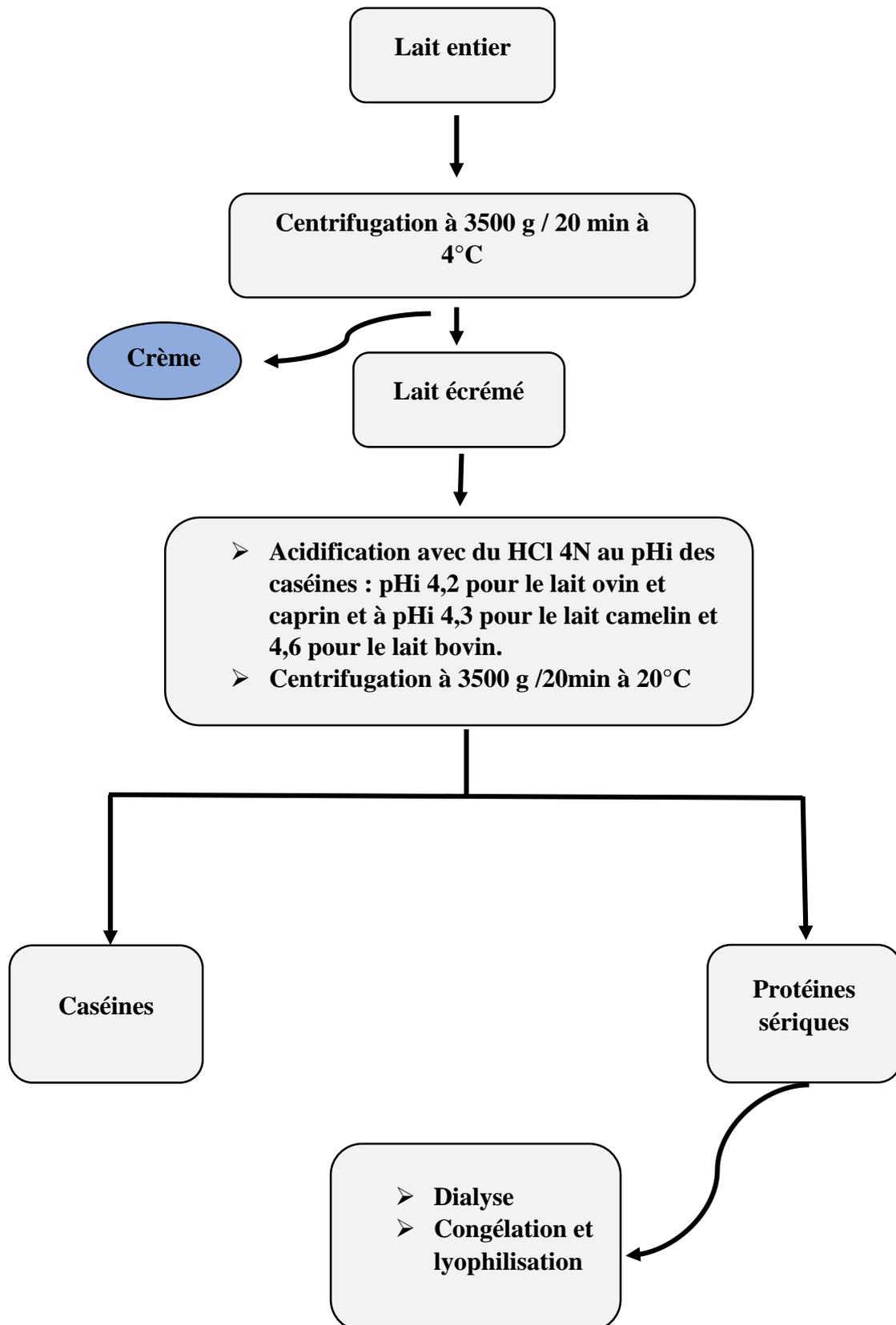


Figure 01 : Etapes suivies pour la séparation des protéines sériques.

-Ecrémage

L'écrémage des échantillons du lait entier est réalisé par centrifugation à 3500 g pendant 20 minutes à 4°C. La crème qui apparaît en surface est écartée, alors que le lait écrémé est filtré à travers une gaze.

- Isolement des protéines sériques

La séparation des caséines et des protéines sériques a été réalisée par acidification des laits jusqu'à pH des caséines avec du HCl 4N (4,2 pour le lait caprin et ovin ; 4,3 pour le lait camelin et 4,6 pour le lait bovin). L'acidification a été suivie, d'une centrifugation à 3500g pendant 20 min à 4°C.

Le surnageant, obtenu après cette étape et qui représente la totalité des protéines sériques, est neutralisé à pH 6,9, l'étape de précipitation est répétée une seconde fois afin d'éliminer les caséines résiduelles, qui risquent de contaminer les protéines sériques.

-La dialyse

Les échantillons des protéines sériques obtenus ont été dialysés contre de l'eau distillée, pendant 48 heures à +4°C sous agitation continue, en utilisant des membranes de dialyse avec un seuil d'exclusion de 8000 Da. L'eau de contre dialyse est changée 2 fois par jour.

-Congélation et lyophilisation

Les échantillons ont été congelés en fine couche dans des coupelles puis lyophilisées et conservées à 4°C.

2.2.2. Méthodes physico-chimiques**2.2.2.1. Mesure du pH**

La mesure du pH est effectuée à une température des laits entiers de +20°C. La valeur du pH est lue directement sur le pH mètre après immersion de son électrode dans l'échantillon à analyser. Les mesures sont précédées d'une étape d'étalonnage qui consiste en un ajustement du cadre de lecture du pH mètre à l'aide de solutions de pH connue. Les mesures ont été menées en 3 essais.

2.2.2.2. Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Lowry *et al* (1951)

La teneur des protéines a été mesurée sur des échantillons du lait entier et sur le lactosérum. La méthode utilisée est celle de LOWRY *et al* (1951). Elle est basée sur l'obtention d'un composé bleu formé par la réduction de l'acide mixte phosphomolybdotungstique (ou réactif de Folin-Ciocalteu) avec les résidus tyrosine, tryptophane et cystéine de la protéine. Le complexe obtenu possède un maximum d'absorption à 750 nm.

La teneur en protéines est déterminée grâce à une courbe étalon : $DO = f(c)$ (figure 02), en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence (annexe 01). Quant à la teneur en caséines, elle est obtenue par la différence entre les protéines totales et les protéines sériques.

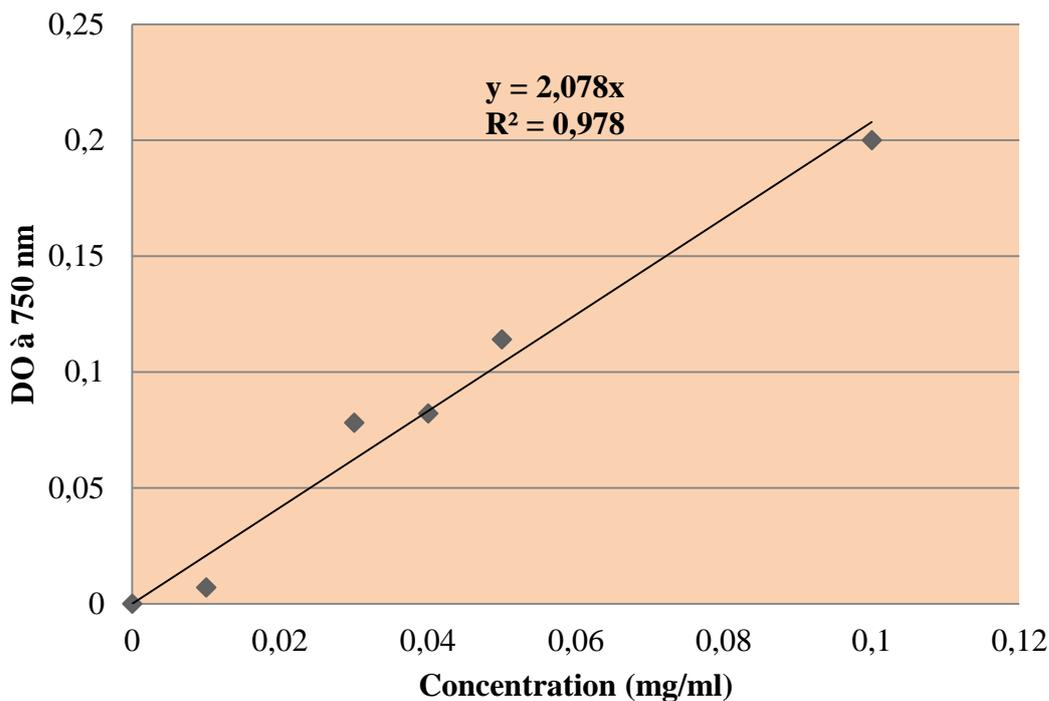


Figure 02 : Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de LOWRY *et al* (1951) ; réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

2.2.3. Méthodes électrophorétiques

2.2.3.1. Principe général de l'électrophorèse

Les particules ayant une charge électrique nette, soumises à l'action d'un champ électrique se déplacent dans la direction du champ vers le pôle de signe opposé à leur charge, à une vitesse proportionnelle à leur charge globale et inversement proportionnelle à leur poids moléculaire.

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

2.2.3.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

2.2.3.2.1. Principe

Le gel de polyacrylamide (PAGE), est l'un des supports électrophorétiques les plus utilisées pour ces séparations en raison de ses multiples avantages (transparence, reproductibilité, pouvant servir lui-même de tamis moléculaire). La propriété de tamis des gels de polyacrylamide est liée à leur structure particulière, qui est celle d'un réseau tridimensionnel de fibres et de pores résultant du greffage d'unités de N, N-méthylène-bisacrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$) bifonctionnelles sur des chaînes de polyacrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) adjacentes. La réaction de polymérisation est catalysée par le persulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) et de N, N, N, N- tetra méthylène diamine (TEMED). La structure du gel est définie par les indices T et C. Sa porosité est ajustée en faisant varier les concentrations relatives de a et b ; la taille effective des pores d'un gel est d'autant plus petite que sa concentration en acrylamide est élevée.

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

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

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

2.2.3.2.2. Conduite de l'électrophorèse

Le gel de polyacrylamide, est coulé entre une plaque en verre et une plaque en alumine (figure 03). Les puits sont obtenus suite à l'introduction d'un peigne entre les deux plaques avant la polymérisation du gel. Après polymérisation, le peigne est retiré puis les échantillons sont déposés dans les puits, ils sont préalablement dissous dans un tampon composé de bleu de bromophénol indicateur de la progression de la migration électrophorétique. Celle-ci a lieu sous un voltage et un ampérage constants (250v ; 20mA).

A la fin de la migration, le gel est démoulé pour subir les opérations successives suivantes :

-La fixation : La fixation est réalisée par immersion du gel dans une solution d'acide trichloracétique (TCA) 12% (P/V) pendant 45 minutes.

-La coloration : Le gel est immergé 2 à 4 heures dans une solution de coloration contenant du bleu de Coomassie 0,55% (P/V) dissous dans une solution constituée du mélange eau distillée (1 volume), méthanol (1volume) et TCA 4% (P/V).

-La décoloration : elle est réalisée par immersion du gel dans une solution composée du mélange (eau/méthanol/acide acétique) dans les proportions suivantes : (3,125 – 1,5 – 0,37 V/V/V).



Figure 03 : Photographie de la cuve d'électrophorèse.

2.2.3.2.3. Electrophorèse 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, qui migrent dans ces conditions selon leur charge nette et leur formes et taille moléculaires.

Sur la base du protocole de HILLIER (1976), détaillé en annexe (annexe 02). Un gel de polyacrylamide a été réalisé à T = 12% et C = 2,7%. Le tampon du gel est composé de (Tris 0,75 M, pH 8,9) et celui de l'électrode de (Tris 5 mM ; glycine, 77 mM ; pH 8,3).

Les échantillons, sont dissous à raison de 1mg/ml dans une solution contenant le tampon du gel (1/10 V/V), de l'eau distillée (7/10 V/V) et du glycérol 50% (2/10 V/V) et le bleu de bromophénol.

2.2.3.2.4. Eléctrophorèse en condition dénaturante et dissociante en présence du SDS et du 2- β ME (PAGE-SDS)

-Principe

Le SDS ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-SO}_3\text{-Na}^+$), détergent anionique a pour rôle la dissociation des complexes protéiques. Il est associé à un agent réducteur, le 2-mercaptoéthanol ($\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$) qui rompt les ponts disulfures. Le SDS, se fixe sur les protéines et leur conférant une charge négative, ainsi, leur séparation se fait selon la différence de poids moléculaire.

Suivant le protocole de LAEMMLI et FAVRE (1973), un gel de concentration a été réalisé (T = 4,8% et C = 2,7%), en tampon (Tris 0,49 M ; pH 6,8), dont l'objectif est la concentration des protéines, pour une migration homogène dans le gel de séparation. Ce dernier, se caractérise par (T = 17% et un C = 2,7%), en tampon (Tris 1,5 M ; pH 8,8). Le tampon d'électrode est composé de (Tris 49mM ; glycine 384 mM et SDS 1% (p/v), pH 8,3) (annexe 03).

La détermination du poids moléculaire des protéines d'intérêt est effectuée en faisant migrer en parallèle (dans les mêmes conditions), des protéines étalons de poids moléculaires connus : BSA (67 kDa), Ovalbumine (45 kDa), β -lactoglobuline (18 kDa) et α -lactalbumine (14 kDa). Une courbe étalon $\text{Log PM} = f(\text{distance parcourue})$ (figure 04) a été tracé.

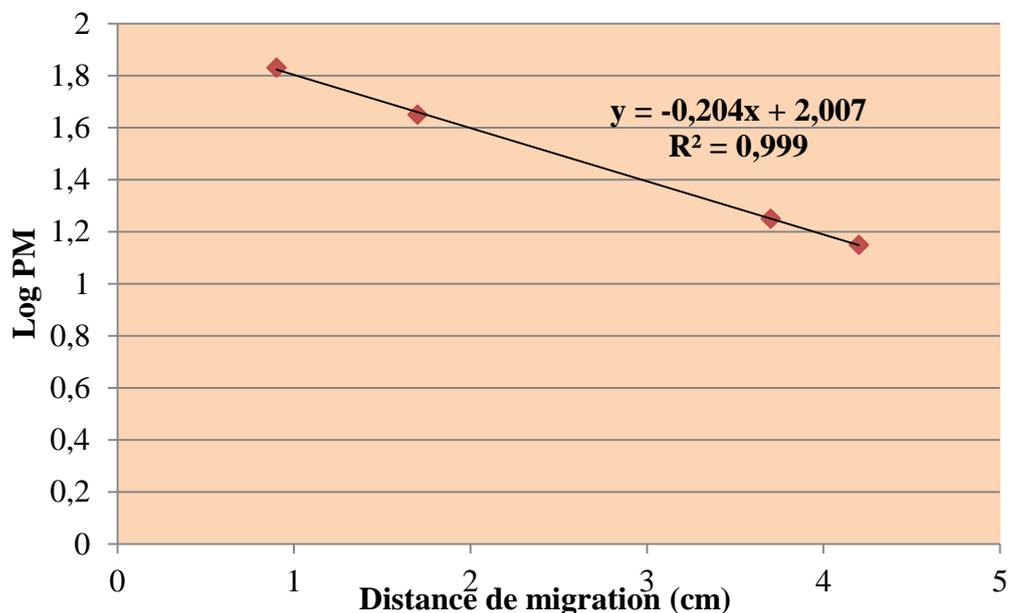


Figure 04 : Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS : gel de séparation (T=17% ; C=2,7% ; pH=8,8) ; gel de concentration (T=4% ; C=2,7% ; pH= 6,8) établie en utilisant un standard protéique composé de BSA (67 kDa), Ovalbumine (45 kDa), β -Lg (18 kDa) et α -La (14 kDa).

2.2.4. Sensibilité des séroprotéines à l'hydrolyse par la chymotrypsine

Afin d'évaluer la sensibilité des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines à l'action de l'enzyme : la chymotrypsine ; une cinétique d'hydrolyse a été réalisée. Les temps d'incubation effectués ont été comme suit : 15 minutes, 30minutes, 1heures, 2heures, 3heures, 4heures, 5heures et 24heures respectivement.

2.2.4.1. Conditions d'hydrolyse

L'hydrolyse a été réalisée selon le protocole de SALAMI *et al* (2008) modifié.

- Les protéines sériques : camelines, bovines, caprines et ovines sont solubilisées dans un tampon phosphate 0,06 M, pH 8,1 en raison de (10mg/ml).
- L'enzyme solubilisée dans un tampon phosphate 0,06M, pH =8,1 avec une concentration de 1mg/ml.
- Le rapport (enzyme/substrat) est de 1%.

Avant de rajouter la solution enzymatique aux quatre solutions d'échantillons, un volume de 100µl qui va servir comme control (T0) a été prélevé.

Le milieu réactionnel est chauffé à 37,5°C au bain marie sous agitation continue et des prélèvements de 100 µl d'hydrolysats ont été effectués à des intervalles de temps différents : 15minutes, 30minutes, 1heure, 2heures, 3heures, 4heures, 5heures et 24heures. Chaque prélèvement, a été additionné de 100µl de tampon d'échantillon (annexe 3) ; pour un contrôle en PAGE-SDS puis chauffés à 100°C /5min afin d'arrêter la réaction enzymatique.

2.2.5. Détermination de l'activité antioxydante par le test de DPPH

L'activité antioxydante des protéines sériques des quatre laits : camelin, bovin, caprin et ovin ; ainsi que leurs hydrolysats chymotrypsiques a été déterminée par le test du DPPH, selon le protocole de ZHU *et al* (2008) modifié.

2.2.5.1. Principe de test de DPPH

Le DPPH• (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre instable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune (figure 05). Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon.

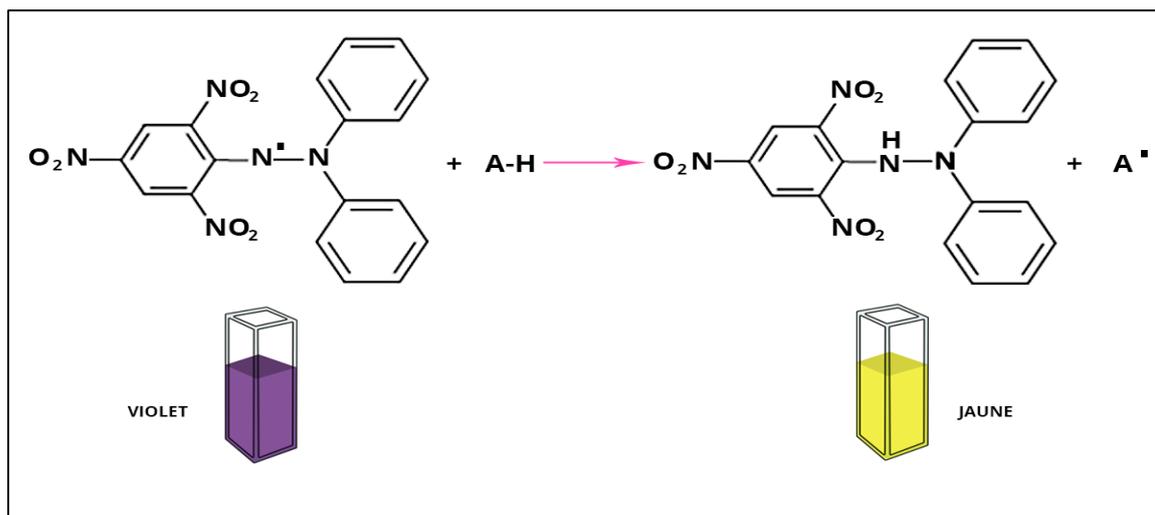


Figure 05 : Réduction de DPPH par un antioxydant (AH).

2.2.5.2. Conditions expérimentales

En résumé un volume de 2ml de DPPH 0.1Mm, qui a été solubilisé préalablement dans l'éthanol a été rajouté pour 1ml de chaque échantillon, ayant une concentration de 10mg/ml.

Les mélanges obtenus sont mis à l'obscurité et à température ambiante, pendant 24Heures et les DO sont lues à 517 nm. La Do été mesuré également pour un tube témoin, qui contient uniquement le DPPH. Toutes les mesures ont été effectuées en 3 essais. Le pourcentage d'inhibition du DPPH été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$(\%) \text{ d'inhibition de DPPH} = (\text{DO DPPH} - \text{DO échantillon}) / \text{DO DPPH} \times 100.$$



Résultats et discussion

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse physicochimique des échantillons des laits étudiés

3.1.1. Mesure du pH

Les valeurs du pH mesurées pour les laits étudiés (camelin, bovin, caprin et ovin) sont rapportées dans le tableau (XIV). Ces valeurs, nous renseignent sur l'état de fraîcheur des échantillons des laits étudiés. Le pH d'un lait frais varie entre 6,6 et 6,8 (GUIGMA, 2013).

Tableau XIV : Valeurs moyennes du pH mesurés des différents laits étudiés.

Paramètre	Lait de Chamelle (LCH)	Lait de Vache (LV)	Lait de Chèvre (LC)	Lait de Brebis (LB)
pH à 20°C	6,16 ± 0,02	6,27±0,015	6,65±0,02	6,61±0,07

Nous pouvons constater que les pH des différents laits sont relativement proches. Ces résultats concordent avec les résultats de (SBAHELKHEIRE *et al*, 2012) qui ont rapporté des valeurs de pH proches entre les laits de quatre espèces étudiées : (6,6 pour le lait bovin, caprin et ovin et 6,5 pour le lait camelin). Nous constatons également que le lait caprin présente un pH proche de celui du lait ovin (6,65±0,02 et 6,61±0,07 respectivement) et que le pH du lait bovin est proche de celui du lait camelin (6,16±0,02).

La valeur du pH du lait de vache trouvé dans notre étude est inférieure de celle rapporté par MOUALEK (2011) qui est de 6,69.

Pour le lait caprin AIT AMER MEZIANE (2008) a rapporté une valeur du pH proche de celle que nous avons trouvé qui est de (6,6) et MAYER et FIECHTER (2012) ont signalé des valeurs allant de 6,39 et 6,82 pour le même lait.

Le pH du lait ovin, est proche de celle décrite par PELLIGRINI (1994) (6,63) ; mais inférieure à celle rapportée par AIT AMER MEZIANE (2008) avec (6,81).

Le pH du lait camelin est le plus faible par rapport aux autres laits étudiés, sa valeur est proche de celle trouvé par EL-HADI SULIEMAN *et al* (2006) (6,0). D'autres auteurs ont rapporté des valeurs supérieures qui peuvent varier de 6,6 à 6,8 selon RAHLI (2015) ; 6,5 selon SABAHELKHIER *et al* (2012).

Ce faible pH du lait camelin serait lié à sa teneur relativement élevée en vitamine C (60,06mg /ml) (CHETOUNA, 2011). Cette dernière est trois fois plus élevée en la comparant avec le lait de vache (18,5 mg/ml) (MOALEK, 2011). Cette propriété lui confère un gout particulier pouvant être masqué par une saveur amère ou acide selon la nature des plantes broutées (AL-JUBOORI *et al*, 2013) ; comme on peut attribuer ce faible pH à la richesse de ce lait en acides organiques divers (acide citrique, acide orotique et acide butyrique) (HADDADIN *et al*, 2007).

En effet, plusieurs facteurs peuvent être attribués aux variations du pH du lait, les conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale, le climat, le stade de lactation et de la disponibilité alimentaire.

3.1.2. Détermination de la teneur en protéines

Le tableau (XV) représente la teneur en différentes fractions protéiques des laits étudiés.

Tableau XV : Répartition de la fraction protéique en (g/l) des échantillons du lait étudié.

Paramètres	LV	LCH	LC	LB
PT	32,87±5,74	25,66±3,2	31,92±4,09	49,24±4,34
PS	8,49±0,23	6,92±0,67	5,58±0,2	3,17±0,34
CN	24,51±5,37	18,74±3,87	26,34±4,29	46,06±4,42

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

Nous avons révélé des teneurs en protéines totales proches entre le lait de chèvre et celui de vache. Alors que le lait de brebis présente la teneur la plus élevée en protéines totales (49,24 ± 4,34g/l). Celle-ci est proche de ce qui a été rapporté par les auteures : 56 g/l (AIT AMER MEZIANE, 2008) et 53,5g/l (PELLIGRINI, 1994). La teneur en protéines du lait de brebis varie selon la saison, elle est de 63 g/l pendant la période d'hiver et 41,6g/l pendant le printemps (YABRIR, 2013).

La teneur moyenne en protéines totales du lait de vache que nous avons trouvé est proche de celle signalée par DEBOUZ *et al* (2014) qui est de 34,97.

La teneur en protéines totales du lait caprin est proche de celle décrite par les auteurs : 24-28g/l (MOUALEK, 2011) ; 33,3g/l (AIT AMER MEZIAN, 2008). D'autres auteurs ont signalé des teneurs faibles : 37g/l (BERGER *et al*, 2004) et 38,4g/l (ZAHRADDEEN *et al*, 2007).

Quant au lait camelin, il présente une teneur faible en protéines totales ($25,66 \pm 3,2$) par rapport au lait de chèvre et de vache. Cette valeur est proche de celle trouvée par DEBOUZ *et al* (2014) qui est de 28,1g/l, cependant d'autres auteurs ont évoqué des teneurs importantes : 35,68g/l (SIBOKEUR A. et SIBOKEUR O., 2012) et 53g/l (MEHAIA *et al*, 1995). L'une des principales caractéristiques du lait camelin est en effet sa teneur en matière sèche réduite par rapport à celle des laits d'autres espèces ce qui explique sa faible teneur en protéines (RAMET, 1994). Ainsi Les variations dans les teneurs en protéines dans le lait de chamelle.

Le tableau (XV) révèle des teneurs variables en protéines sériques des différents laits étudiés : pour le lait de vache, il est riche en protéines sériques ($8,49 \pm 0,23$ g/l). Alors que le lait de chamelle et le lait de chèvre présentent relativement des teneurs proches $6,92 \pm 0,67$ et $5,58 \pm 0,2$ g/l respectivement.

Nous avons enregistré un taux faible en protéines sériques dans le lait de brebis ($3,17 \pm 0,34$ g/l). Concernant le taux en protéines sériques dans le lait de vache est proche de celle décrite par (MOALEK, 2011) (6g/l). La teneur en séroprotéines du lait de chèvre est relativement proche des valeurs avancées par MOUALEK (2011) (5,5 à 6,8 g/l) et (MAYER et FIECHTER, 2012) (6,3g /l). Concernant le lait ovin, les résultats enregistrés dans notre étude sont plus faibles que celles rapportées par PELLIGINI *et al* (1994) (9,46g/l).

Ce qui concerne le lait camelin, le résultat que nous avons trouvé est proche de celui signalé par SIBOUKEUR (2007) (7,51g /l), cependant il est loin des résultats trouvés par MEDJOUR (2014) (10,12g/l) et par CHETHOUNA (2011) (8,64g/l).

Concernant le taux des caséines des différents laits étudiés, le tableau (XV) révèle que le lait de vache et le lait de chèvre ont des teneurs proches en caséines ($24,51 \pm 5,37$ et $26,34 \pm 4,29$ g/l), quant au lait de brebis, il présente la teneur la plus élevée en caséines ($46,06 \pm 4,42$ g/l). Alors que le lait de chamelle a la teneur la plus faible ($18,74 \pm 3,87$ g/l).

PELLIGRINI *et al* (1994) ont rapporté une teneur proche en caséines à celle enregistrée dans le lait de brebis étudié (44,1g/l), ce dernier se singularise par une vitesse de raffermissement nettement plus élevée et une fermeté du gel deux fois plus supérieure à celle du lait de vache (ABI AZAR, 2007).

Pour le lait de chamelle, CHETHOUNA (2011) a rapporté une teneur en caséines proche de celle que nous avons enregistré (20,84g/l), cependant, cette valeur est loin des résultats rapportés par la bibliographie : 28,15g/l (SIBOUKEUR, 2007) et 23g/l (SI AHMED ZENNIA,

2015). La faible teneur en caséines du lait de chamelle lui confère une aptitude très limitée à l'acidification et à la coagulation enzymatique (SIBOUKEUR *et al.*, 2005).

MOUALEK (2011) a rapporté des valeurs inférieures à celle que nous avons trouvée (19,3 et 22,5g/l) pour le lait de chèvre.

Les variations enregistrées reflètent également, des différences de race, de stade de lactation, d'échantillonnage ainsi que les méthodes analytiques utilisées.

3.2. Caractérisation électrophorétique des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines

La figure (06) montre le profil électrophorétique en PAGE native des protéines sériques des laits étudiés.

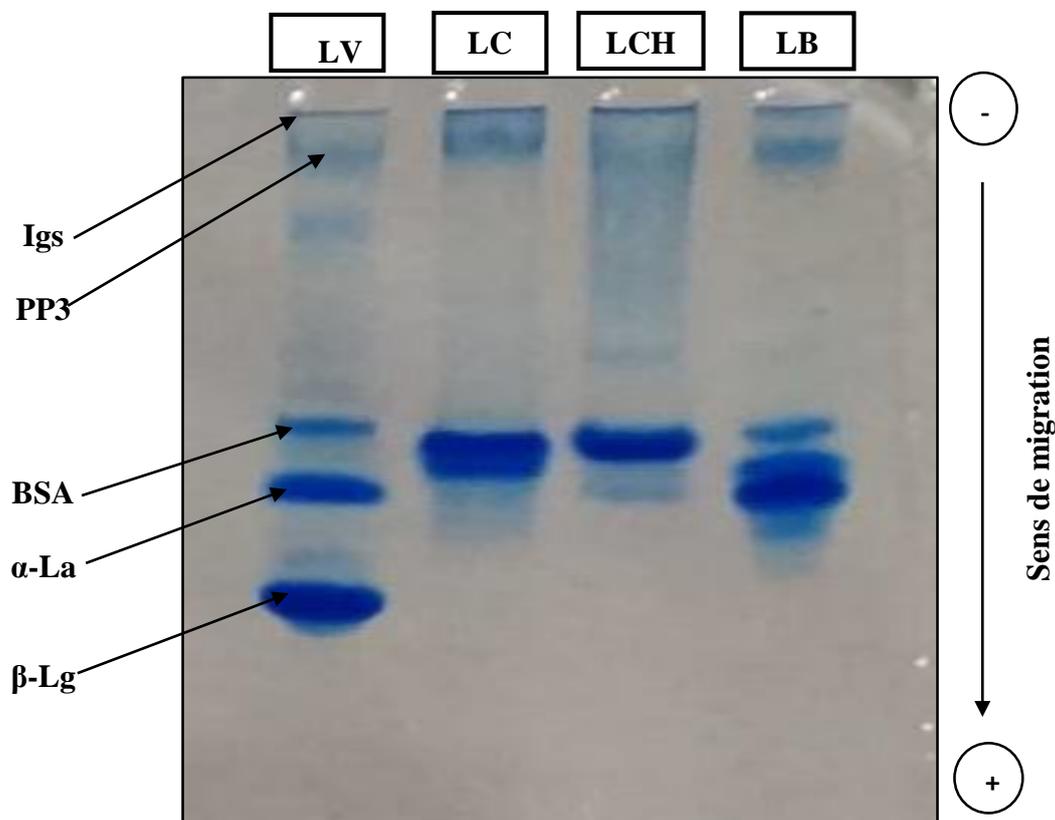


Figure 06 : Profil électrophorétique des protéines sériques en PAGE –native (T=12% ; C=2,7% ; pH = 8,9) ; LV : lait de vache ; LC : lait de chèvre ; LCH : lait de chamelle ; LB : lait de brebis.

Les conditions non dénaturantes et non dissociantes, gardent les protéines dans leur état natif, ce qui fait de la PAGE-native une technique résolutive et bien adaptée à la séparation des protéines sériques. Les molécules sont séparées selon leur poids moléculaire ainsi que leur

charge (WITTIG *et al*, 2007) et apparaissent sous forme de bandes de migration variant par leur position et leur intensité.

En analysant le profil électrophorétique obtenu en PAGE- native (figure 06), nous constatons que les protéines sériques du lait bovin dans les conditions natives migrent en cinq bandes correspondant dans l'ordre croissant de leur mobilité électrophorétique aux immunoglobulines, le composant -3- des protéose-peptones (PP3), la sérum albumine bovine, l'alpha-lactalbumine et en fin de migration la bêta-lactoglobuline. Un profil similaire a été observé par (EGITO *et al*, 2001).

Les protéines sériques caprines migrent en quatre bandes, qui peuvent correspondre aux mêmes espèces protéiques du lactosérum bovin. Nous distinguons une bande fine qui se situe au même niveau que les Igs bovines, qui peuvent 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. Ce qui a été rapporté par MATI (1992), qui a situé le PP3 bovin plus en avant que son homologue caprin.

La BSA caprine n'a pas été détecté sur le gel et cela pourrait être dû à sa faible concentration dans l'échantillon étudié.

Deux autres bandes plus intenses, qui se situent entre la BSA et L' α -La bovine, ces dernières pourraient correspondre à l' α -La et la β -Lg caprines. La β -Lg et l' α -La bovines migrent plus en avant que leur homologue caprin, le même résultat de migration a été obtenu par AMIGUO *et al* (1992).

Le profil électrophorétique des protéines sériques ovines, révèle l'existence de cinq bandes. Dont trois bandes sont bien apparentes et correspondent selon PESIC *et al* (2011b) à la BSA, l' α -La et la β -Lg selon l'ordre croissant de leur mobilité électrophorétique. Nous observons que la BSA ovine et bovine ont le même niveau de migration, alors que l' α -La et la β -Lg ovines migrent moins que leurs homologues bovins. L'intensité de la bande qui correspond à la β -Lg ovine est dû à la présence de deux variants génétiques dont la migration est retardée par rapport à la β -Lg bovine. Nos résultats de migration en PAGE-native, des séroprotéines ovines concordent avec ceux rapporté par MAYER (2005).

Pour les séroprotéines camelines, nous décelons deux bandes électrophorétiques, une bande qui a un même niveau de migration que les Igs bovines qui pourrait correspondre à leurs homologues bovines ; une autre bande se situe entre la BSA et l' α -La bovine, et qui pourrait

correspondre à l' α -La cameline. Ce résultat concorde avec ce qui a rapporté SIBOUKEUR (2008).

La β -Lg bovine n'a pas une bande correspondante au niveau du profil électrophorétique camelin. L'absence de cette séroprotéine a été signalée par de nombreux auteurs (FARAH, 2004 ; SIBOUKEUR, 2008 ; SENOUSSE, 2011 ; EI-HATMI *et al*, 2015 et SIAHMED ZENNIA, 2015). La BSA cameline, n'est pas détectée au niveau de profil électrophorétique qui pourrait être expliqué par sa faible concentration dans notre échantillon.

Le profil obtenu en figure (07), correspond à la migration des séroprotéines (camelines, bovines, caprines et ovines) en PAGE-SDS, dont la migration est en fonction du poids moléculaire.

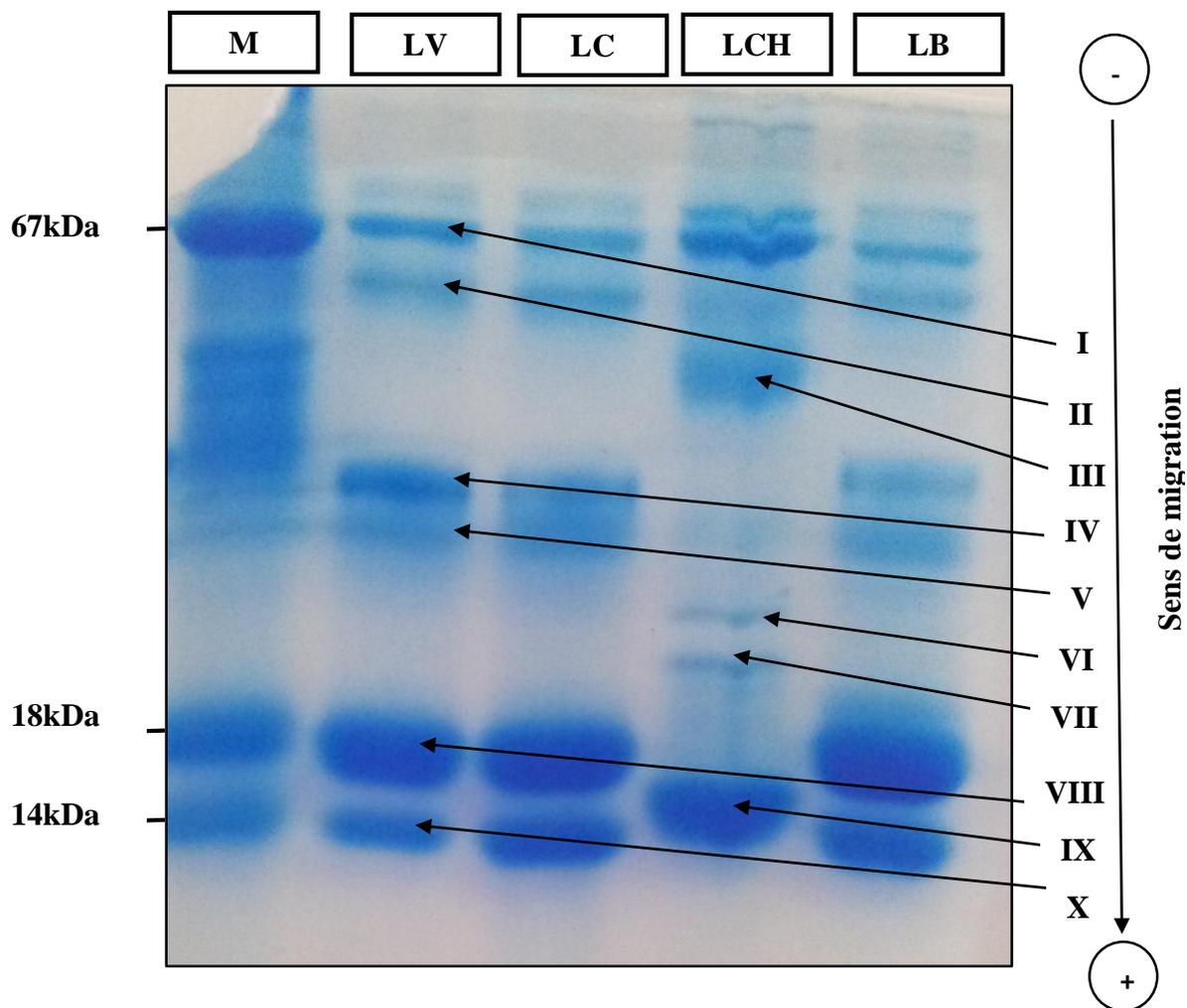


Figure 07 : Profil électrophorétique des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines en PAGE SDS ; gel de séparation (T=17% et C=2,7% ; pH=8,8) ; gel de concentration : (T=4,8% et C=2,7% ; pH = 6,8) ; M : marqueur de taille : (BSA (67 kDa) ; Ovalbumine (45 kDa) ; β -Lg (18 kDa) et α -La (14 kDa) ; LV : échantillon de lait de vache ; LC : échantillon de lait de chèvre ; LCH : échantillon de lait de chamelle ; LB : échantillon de lait de brebis.

Les différentes protéines sériques de chaque échantillon de lactosérum ont été identifiées en se basant sur les poids moléculaires calculés, et en utilisant une courbe de calibration du gel par le moyen de protéines standards avec un facteur de corrélation de 0,99 (figure 04) et en se référant aux données bibliographiques. Les bandes protéiques identifiées sont notés de I à X selon leur mobilité électrophorétique croissante. Les MM de certaines protéines identifiées sont rapportés dans le tableau (1).

Le profil électrophorétique des échantillons analysés montre une certaine homologie. Cependant, les protéines sériques bovines et caprines, présentent une migration identique et cela est en accord avec ce qui a été rapporté par INGLINGSTAD *et al* (2010), dans son étude comparative entre le lait caprin et bovin.

La bande (I) d'environ 69 kDa est présente dans tous les échantillons des laits étudiés, elle correspond à la BSA selon plusieurs auteurs : (PATY *et al*, 2003 ; MOUALEK, 2011 ; YABRIR, 2014 ; EL-HATMI *et al*, 2015). L'intensité de cette bande protéique est plus accentuée dans le lait camelin en le comparant à ces homologues bovin, caprin et ovin. Ceci est en relation avec sa concentration élevée dans le lait camelin (8,5 mg/ml) à la différence des autres laits ; (EL-AGAMY *et al*, 1996 ; EL-HATMI *et al*, 2007).

La bande (VIII) d'environ 18kDa a été identifié dans l'échantillon du lait bovin, caprin et ovin, cette bande correspond à la β -Lg (PATY *et al*, 2003 ; MOALEK, 2011 ; YABRIR, 2014). Nous remarquons que l'intensité de cette bande est plus élevée dans le lactosérum ovin en le comparant avec ces homologues bovin et caprin et cela est dû à sa forte concentration dans le lait ovin (POTOCKNIK *et al*, 2011). Cependant, cette bande été absente dans le lait camelin. Cela est en accord avec ce qu'ils ont rapportés plusieurs auteurs: (EL-AGAMY *et al*, 1996 ; EL-HATMI *et al*, 2007 et SI AHMED ZENIA, 2013).

La bande (X) d'environ 14kDa correspondant à l' α -La été identifié dans les 3 échantillons de lait analysés : bovin, caprin et ovin (FARRELL *et al*, 2004 ; HERNANDEZ LEDESMA *et al*, 2011 ; YABRIR, 2014 et NĀSALEAN *et al*, 2017). Une bande plus intense (IX) a été identifiée pour le lait camelin qui correspond à l' α -La cameline (CONTI *et al*, 1985), Cette bande migre légèrement par rapport à ces homologues bovine caprine et ovine comme il a été décrit par EL -HATMI *et al* (2015) ; en outre l'intensité de l' α -La cameline est plus accentuée, et cela reflète sa concentration élevée dans le lait camelin (2,2g/l) par rapport aux laits bovin (0,5g/l) et caprin (2,0g/l) (El-HATMI *et al*, 2007).

En plus des bandes identifiées par comparaison aux données bibliographiques, nous notons la présence de la bande (II) de poids moléculaire d'environ 60kDa (bande III), qui est présente dans les 4 échantillons de lactosérums. Deux autres bandes protéiques (V) et (VI) ayant respectivement des poids moléculaires d'environ 36 et 31kDa ont été identifiés dans le lactosérum bovin, caprin et ovin.

D'un autre côté, des bandes protéiques (III, VI, VII) ont été détectées exclusivement dans le lactosérum camelin ayant des poids moléculaires de : 47,76 ; 27,11 et 23,52kDa. Ces bandes protéiques pourraient correspondre aux protéines spécifiques du lait de chamelle.

Tableau XVI : Comparaison des MM des protéines sériques camelines avec les sèroprotéines bovines, caprines et ovines mesurées (kDa) en PAGE-SDS avec les MM rapportées dans la bibliographie.

Protéines	Lait de vache		Lait de Chamelle		Lait de chèvre		Lait de Brebis	
	Présente étude	Référence	Présente étude	Référence	Présente étude	Référence	Présente étude	Référence
LF	75,86	80 ^a	75,86	71,6 ^b	87	72 ^d	79,43	Nd *
SA	69,18	66,3 ^a	69,18	67,9 ^b	69,18	66,221 ^c	66,07	66 ^e
α-La	14,13	14,2 ^a	16,22	14,5 ^b	14,3	13,558 ^c	15,49	14 ^e
β-Lg	17,78	18,3 ^a	-	absente	19	17,005 ^c	18,62	17,125 ^e

* Nd : non déterminé. a : WAL (2011) ; b : SENOSSI (2011) ; c : MOULEK (2011) ; d : NÁSALEAN *et al* (2017) ; e : YABRIR (2014).

3.3. Sensibilité des séroprotéines à la chymotrypsine

La figure (08) représente des profils électrophorétiques exprimant la sensibilité des protéines sériques bovines, caprines, ovines et camelines à l'action de la chymotrypsine à différents temps d'incubation.

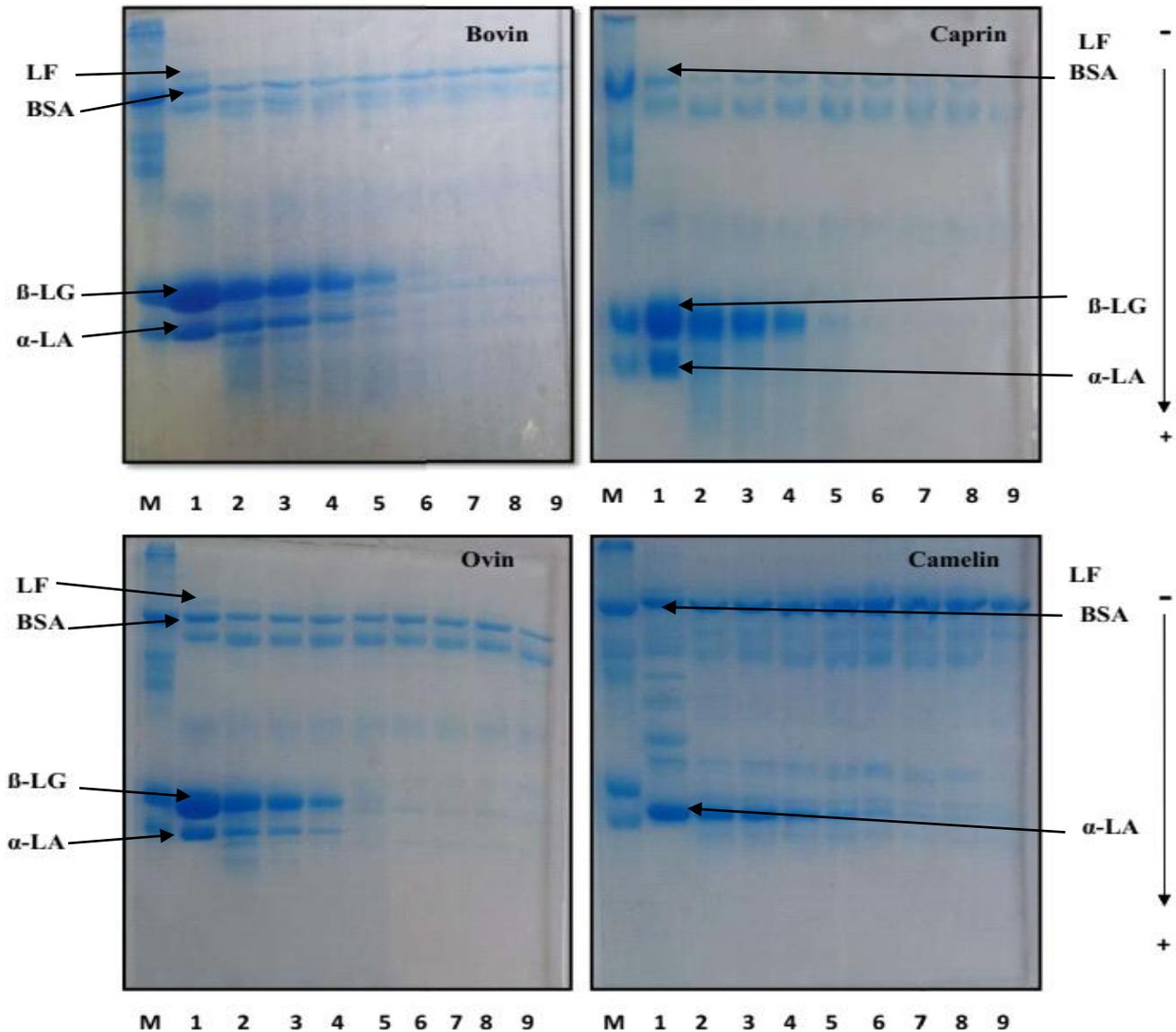


Figure 08 : profil électrophorétique de la sensibilité des protéines sériques camelines, bovines, caprines, ovines à l'hydrolyse chymotrypsique à différents temps d'incubation en PAGE-SDS ; Gel de séparation (T=17% et C=2,7% ; pH=8,8) ; gel de concentration : (T=4,8% et C=2,7% ; pH = 6,8). M : Marqueur de taille ; 1 : Protéines sériques non hydrolysées ; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,9 : temps d'incubation de : 15 min, 30min, 1h, 2h, 3h,4h, 5h, 24h respectivement.

Les protéines sériques isolées des laits camelin, bovin, caprin et ovin ont été hydrolysées par la chymotrypsine. La cinétique de cette hydrolyse a été évaluée par PAGE-SDS (figure 08).

La chymotrypsine est une protéase à sérine, elle hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé aromatique (Tyr, Trp, Phe ainsi que la Met) engage sa fonction acide.

Les profils électrophorétiques révèlent que la sensibilité des séroprotéines des espèces étudiées est différente vis-à-vis à l'action de la chymotrypsine, nous constatons que la LF est la plus sensible à cette hydrolyse suivi de l' α -La, puis la β -Lg alors que la BSA s'avère la plus résistante et cela pour toutes les espèces étudiés. Les profils montrent que la SA bovine, ovine et cameline résiste à l'hydrolyse par la chymotrypsine même après 24 heures d'incubation car la bande électrophorétique qui la caractérise persiste après 24 heures, cependant, l'intensité de la bande qui caractérise la SA caprine diminue en fonction du temps d'incubation jusqu'à disparition totale après 24 heures d'incubation.

Concernant la LF qui est caractérisée par une bande qui migre d'une façon contiguë à la SA, les gels d'électrophorèse montrent sa sensibilité à la chymotrypsine car elle disparaît après environ 15 minutes d'incubation.

La sensibilité de cette protéine à l'action des enzymes digestives a été rapportée par l'étude d'INGLINGSTAD *et al* (2010). Dans cette étude, la disparition de la bande électrophorétique qui caractérise la LF bovine, caprine, équine et humaine a été constatée après 30 minutes d'hydrolyse enzymatique. Nous pouvons attribuer la sensibilité de LF à la présence sur cette protéine de plusieurs sites cibles à l'enzyme étudiée, qui est estimé à environ 61 sites pour la LF bovine.

La lecture des profils électrophorétiques montre que l'intensité de la bande correspondant à la β -Lg bovine, ovine et caprine diminue au cours de l'hydrolyse. La β -Lg bovine s'avère la plus résistante par rapport à ses homologues caprine et ovine. La bande électrophorétique qui caractérise cette protéine persiste jusqu'à 2 heures d'hydrolyse alors que celles correspondant à ses homologues ovine et caprine disparaît après 1 heure d'hydrolyse. La résistance de la β -Lg bovine a été observée par ALMAAS (2006), Ce dernier a évalué cette résistance en estimant le pourcentage de la β -Lg non dégradée. Après 30 minutes d'incubation de la protéine bovine et caprine avec les enzymes digestives, ALMAAS (2006) a avancé des taux de résistance de 84% pour la β -Lg bovine et 23% pour son homologue caprin. Le même résultat a été rapporté par INGLINGSTAD *et al* (2010) qui ont observé la persistance de la β -Lg bovine et caprine après 30 minutes d'hydrolyse.

Dans son étude sur la sensibilité des séroprotéines bovines à l'action des enzymes digestives, SALAMI *et al* (2008) ont constaté que la bande correspondant à la β -Lg disparaît au bout de 5 heures d'hydrolyse par la chymotrypsine.

Concernant la sensibilité de L' α -La à l'hydrolyse par la chymotrypsine, la présente étude révèle que l' α -La cameline est plus résistante que ses homologues bovine, caprine et ovine. La bande électrophorétique qui la caractérise persiste jusqu'à 5 heures d'incubation. Par ailleurs, l' α -La bovine disparaît après 3 heures d'hydrolyse et son homologue ovine n'est pas détectée sur le profil après 2 heures d'hydrolyse.

Dans une étude comparative, SALAMI *et al* (2008) ont rapporté la sensibilité de L' α -La à l'action de la chymotrypsine par rapport à la trypsine, cela est expliqué par le nombre de sites de coupure des deux enzymes, qui est de 26 sites pour la chymotrypsine et 13 sites seulement pour la trypsine. SALAMI *et al* (2008) ont signalé que l' α -La bovine est totalement hydrolysée au bout de 5 heures d'hydrolyse, alors que la protéine cameline est totalement hydrolysée après 30 minutes d'incubation.

3.4. L'activité antioxydante des séroprotéines totales et de leurs hydrolysats chymotrypsiques

Les résultats de l'activité anti-oxydante des protéines sériques camelines, bovines, ovines et caprines et de leurs hydrolysats chymotrypsiques estimés par le test du DPPH sont représentés par l'histogramme en figure (09).

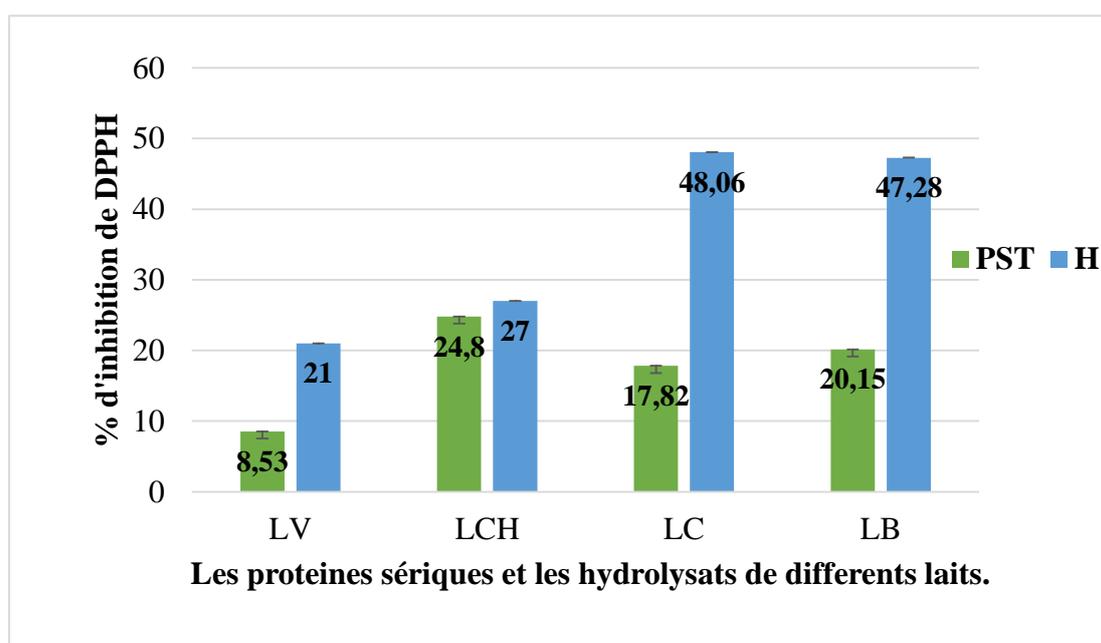


Figure 09 : Pourcentages d'inhibition de DPPH, par les protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines, ainsi que leurs hydrolysats chymotrypsiques ; LV : lait de vache ; LCH : lait de chamelle ; LC : lait de chèvre ; LB : lait de brebis.

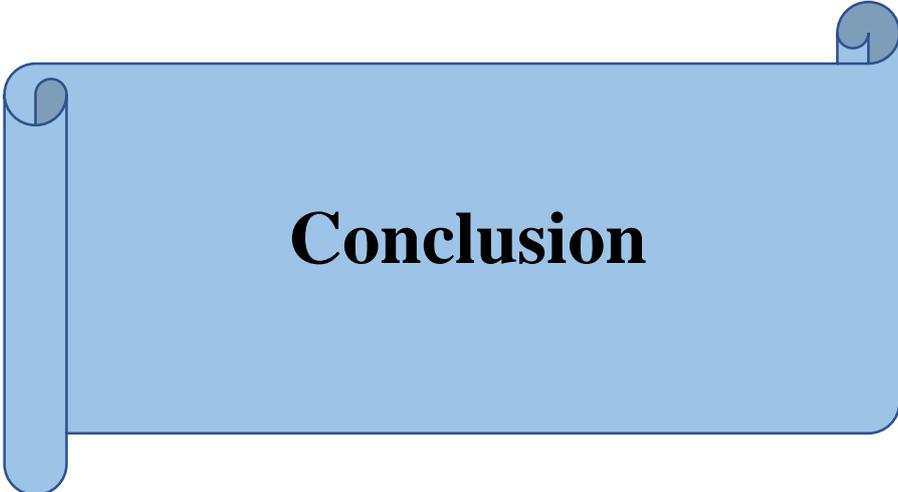
D'après ces résultats, on constate que les hydrolysats chymotrypsiques des séroprotéines de chaque espèce étudiée manifestent un (%) d'inhibition élevé par rapport aux protéines sériques totales.

Les hydrolysats chymotrypsiques des protéines sériques caprines et ovines manifestent les pourcentages d'inhibition du radical DPPH les plus élevée avec $48,06 \pm 0,012$ % et $47,28 \pm 0,01$ % respectivement

SALAMI *et al* (2010) ont signalé que l'activité antioxydante ainsi que l'activité antimicrobienne des séroprotéines bovines et camelines est améliorée après un traitement enzymatique par la chymotrypsine, la trypsine, la protéinase K ainsi que la thermolysine.

ZOU *et al* (2015) ont rapporté que les acides aminés ayant des groupements hydrophobes, les noyaux imidazole, indole ou pyrrol sont dotés d'un pouvoir antioxydant puissant. Ceci pourrait expliquer l'augmentation du pouvoir antioxydant des hydrolysats chymotrypsiques, sachant que la chymotrypsine coupe au niveau de l'extrémité C-terminal des acides aminés aromatiques (Trp, Phe et Tyr).

TAGLIAZUCCHI *et al* (2016) ont démontré dans leur étude que le tryptophane et la tyrosine ont un grand pouvoir réducteur vis-à-vis du radical ABTS ainsi que d'autres radicaux libres, alors que la phénylalanine et l'histidine jouent un rôle important dans l'inhibition de la peroxydation des lipides. De même, SAMARANAYAKA et LI-CHAN (2011) ont montré que le résidu His a une grande activité antioxydante qui est dû à la présence sur ce dernier d'un noyau imidazole qui est un donneur important d'électrons.



Conclusion

Conclusion générale

Le lait secrété par les différentes espèces de mammifères, présente une composition commune en différents nutriments de base (eau, protéines, lactose, matière grasse et matières minérales) avec des proportions variables selon l'espèce ainsi que d'autres facteurs tels que la race, l'alimentation et la saison.

La présente étude avait pour objectif en premier lieu de comparer la composante protéique du lactosérum du lait de chamelle aux laits de vache, de chèvre et de brebis, en deuxième lieu, étudier leur sensibilité à l'hydrolyse par la chymotrypsine et tester l'activité antioxydante des hydrolysats obtenus.

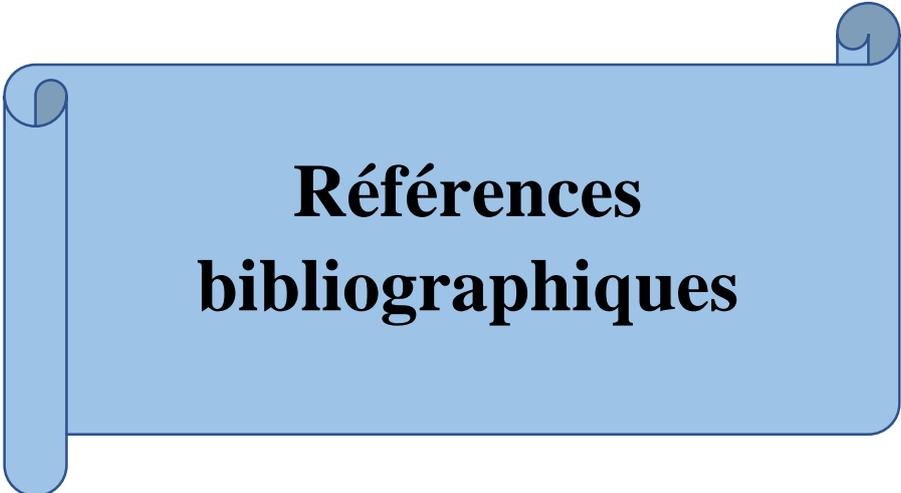
Le dosage des protéines des laits étudiés a montré une teneur relativement proche pour les laits camelin, bovin et caprin ($24,85 \pm 8,47$ g/l en moyenne) alors qu'elle est plus élevée dans le lait ovin ($49,24 \pm 4,34$ g/l). Concernant le taux des protéines sériques, il est estimé en moyenne à ($5,23 \pm 1,89$ g/l) pour les laits camelin, bovin et caprin, cependant, il est très faible pour le lait de brebis ($3,17 \pm 0,34$ g/l).

La caractérisation électrophorétique des protéines sériques des laits étudiés en conditions natives et en conditions dissociantes et dénaturantes a révélé la présence des protéines homologues entre les quatre espèces, cependant le lait de chamelle se singularise par l'absence de la β -lactoglobuline et par la présence de bandes électrophorétiques particulières à ce lait, elles pourraient correspondre aux protéines spécifiques au lait de chamelle.

L'étude de la sensibilité des protéines sériques à l'hydrolyse par la chymotrypsine a montré un comportement différent des protéines des espèces étudiées. La sérum albumine est plus résistante à l'action de l'enzyme, alors que la lactoferrine est plus sensible. La β -lactoglobuline bovine et l' α -Lactalbumine cameline sont plus résistantes à l'hydrolyse comparativement à leurs homologues caprins et ovins.

L'activité antioxydante des protéines sériques étudiées ainsi que celle de leurs hydrolysats chymotrypsiques a été évaluée, elle a révélé une activité importante pour les hydrolysats des séroprotéines caprines et ovines avec des pourcentages d'inhibition du radical DPPH estimés à ($48,06 \pm 0,012\%$) et ($47,28 \pm 0,01\%$) respectivement.

Cette étude préliminaire a montré des résultats intéressants concernant l'activité antioxydante des hydrolysats de séroprotéines caprins et ovins. Il serait intéressant d'isoler les peptides responsable de cette activité, de les séquencer ainsi de confirmer leur activité antioxydante en utilisant d'autres tests.



**Références
bibliographiques**

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

ADEL-PATIENT K., BERNARD H. et WAL J.M. (2008). Devenir des allergènes dans le tube digestif. *Revue française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 48, 335-343.

AIT AMER MEZIANE 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. (1984). Science du lait - principes des techniques laitières. Editions Sepaic. 4c éd. 814p. Paris.

ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L. (2003). In : Biochimie Alimentaire. Ed Dunod, Paris, 72-84.

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

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

AL-JUBOORI A. T., MOHAMMED M., RASHID J., KURIAN J. et EL REFAEY S. (2013). Nutritional and medicinal value of camel (*Camelus dromedarius*) milk, *WIT Transactions on Ecology and The Environment*, 170, 221-232.

ALMAASA H., CASESA A.L., DEVOLDA T.G., HOLMB H., LANGSRUDA T., AABAKKENC L., AADNOEYD T. et VEGARUD G.E. (2006). *In vitro* digestion of bovine and caprine milk by human gastric and duodenal enzymes. *International Dairy Journal*, 16, 961-968.

AL-WABEL N.A. (2008). Mineral contents of milks of Cattle, Camels, Goats and Sheep in the central Region of Saudi Arabia. *Asian Journal of Biochemistry*, 3(6), 373-375.

AMIGO L., RAMOS M., CALHAU L. et BARBOSA M. (1992). Comparison of electrophoresis, isoelectric focusing, and immune diffusion in determinations of cow's and goat's milk in serra de estrela cheeses. *Lait*, 72, 95-101.

ANONYME 1 : FIL (2015). <https://www.produits-laitiers.com/l-economie-laitiere-dans-le-monde/>

ANONYME 2 : M.A.D.R (2012). :http://www.minagri.dz/pdf/Divers/Juillet/LE_RAR-FR.

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

BEG O. U., BAHR-LINDSTROM H. V., ZAIDI Z. H. et JORNVALL 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 variations, internal repeat patterns, and relationships with neurophysin and other active polypeptides. *European Journal of Biochemistry*, 159, 195-201.

BEG O.U., BAHR-LINDSTRÖM H.V., ZAIDI Z.H. et JÖRNVALL H. (1986b). A camel milk whey protein rich in half-cystine. *European Journal of Biochemistry*, 159, 195-201.

BENHATCHI S. (2011). Hydrolyse trypsique et chymotrypsique des protéines du lactosérum camelin. Etude de l'antigénicité /allérgénicité des hydrolysats chez la souris BALB/C. Thèse Magister. Université d'Oran Essenia, Algérie.

BERGER T., BUTIKOFER U., REH CH. et ECKHART J. (2004). Lait. *Manuel Suisse des Denrées Alimentaires*, 1, 1-4.

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

BRIGNON G., CHTOUROU A. et RIBADEAU-DUMAS B. (1985). Does β -lactoglobulin occur in human milk? *Journal of Dairy Science*, 55, 249-254.

BROWNLOW S., J. H. M., CABRAL R., COOPER D. R., FLOWER S. J., YEWDALL I., POLIKARPOVA C. T. NORTH. et L. SAWYER. (1997). Bovine β -lactoglobulin at 1.8 Å resolution—still an enigmatic lipocalin. *Structure* 5, 481-495.

CANTISANI A., NAPOLITANO L., GIUFFRIDA M. G. et CONTI A. (1990). Direct identification and characterization of Llama (*Lama glama*) whey proteins by micro sequencing after Western blotting. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 21, 227- 236.

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). Structures et Techno fonctions des Protéines du Lait. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris.

CHOBERT J.M., EL-ZAHAR K., SITOHY M., DALGALARRONDO M., MÉTRO F., CHOISSET Y. et HAERTLÉ T. (2005). Angiotensin I-converting-enzyme (ACE)- inhibitory activity of tryptic peptides of ovine β -lactoglobulin and of milk yoghurts obtained by using different starters. *INRA, EDP Sciences*, 141–152

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

CONNER G. E., SALATHE M., et FORTEZA R. (2002). Lactoperoxidase and hydrogen peroxide metabolism in the airway. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 66, 57-61.

DEBOUZ A., GUERGUER L., HAMID OUDJANA A., HADJ SEYD A. (2015). Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait cameline dans la Wilaya de Ghardaia. *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes*, 7(2), 8-15.

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

DUPOIS-DELVAL V. (2006). Préparation de peptides Antimicrobiens à partir d'hydrolyse enzymatique de deux protéines : l'Hémoglobine Bovines et l' α -lactalbumine Bovine. Thèse Doctorat. Université des Sciences et Technologie de Lille, 29-34-36p.

EGITO A.S., ROSINHA G.M.S., LAGUNA L.E., MICOL L., GIRADET J M. et GAILLARD J L. (2006). Metodo electroforetico rapido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 58 (5), 932-939.

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.

ELAGAMY 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.

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

EL-HADI SULIEMAN A., ILAYAN A. A. et EL- FAKI A. E. (2006). Chemical and microbiological quality of Garris, Sudanese fermented camel's milk product. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 321-328.

EL-HATMI H., LEVIEUX A. et LEVIEUX D. (2006b). Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, α -lactalbumine, serum albumin and lactoferrine in colostrums and milk during the early post-partum period. *Journal of Dairy Research*, 73, 288-293.

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

EI-HATMI H., JRAD Z., SALHI I., AGUIBI A., NADRI A. et KHORCHANI T. (2015). Comparison of composition and whey protein fractions of human, camel, donkey, goat and cow milk. *Mljekarstvo*, 65 (3), 159-167.

EL-HATMI H., JRAD Z., KHORCHANI T., JARDIN J., POIRSON C., PERRIN C., CAKIER-KEIFER. et GIRARDET, J.-M. (2016). Identification of bioactive peptides derived from caseins, glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 (GlyCAM-1), and peptidoglycan recognition protein-1 (PGRP-1) in fermented camel milk. *International Dairy Journal*, 56, 159-168.

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

- F.A.O. (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition. N° 28. ISBN 92-5-20534-6. Rome (Italie).
- FAO. (2015).** FAOSTAT: Statistics division. food and agriculture organization of the United Nations.
- FAO. (2018).** FAOSTAT: Statistics division. food and agriculture organization of the United Nations.
- FARAH Z., EBERHARD P., MEYER 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 casein micelle formation. *Journal of Dairy Science*, 56(9), 1195-1201.
- FARREL H. M., JIMENEZ-FLORES R., BLECK G. T., BROWN E. M., BUTLER J. E., CREAMER L. K., HICKS C. L., HOLLAR C. M. NG-KWAI-HANG K. F. et SWAISGOOD H. E. (2004).** Nomenclature of the proteins of cow's milk- sixth revision. *Journal of Dairy Science*, 87, 1641-1674.
- FAVIER J. (1985).** Composition du lait de vache-Laits de consommation <http://www.horizon.documentation.fr>.
- FOX P. F. (1989).** The milk protein system. *In: Developments in dairy chemistry-4. Functional milk proteins.* Editor Fox P.F., New York: *Elsevier Applied Science*, 1-54 pp.
- FOX P.F. (2001).** Milk proteins as food ingredients. *International Dairy Journal*, 54(2), 1379-1400.
- FREY P.A., WHITT S.A. et TOBIN J.B. (1994).** A low-barrier hydrogen bond in catalytic triad of serine protease. *Science*, 264, 1927-1930.
- GAILLARD O. (2003).** La trypsine (TIR). *Immuno-analyse et Biologie spécialisée*, 18, 254-255.
- GIZACHEW A., TEHA J. et BIRHANUT. (2014).** Ethiopia Nekemte. Review on Medicinal and nutritional Values of Camel Milk. *Nature & Science*, 12, 35.
- GOMEZ-CORTES P., HERVAS G., MANTECON A.R., JUAREZ M., FUENTE MA. et FRUTOS P. (2008).** Milk production, CLA content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science*, 91, 1560–1569.
- GORBAN A.M.S., et IZZELDIN O.M. (2001).** Fatty and lipids of camel milk and colostrum. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52, 283–287.
- GUIGMA W.V.Y. (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. Université Cheikh Anta Diop de DAKAR.
- HADDADIN M. S. Y., GAMMOH S. I. et ROBINSON R. K. (2007).** Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, 75, 8-12.

HABIB HM., IBRAHIM WH., SCHNEIDER-STOCK R. et HASSAN HM. (2013). Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. *Food Chemistry*, 141, 148-152.

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

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

HERNANDEZ-LEDESMA B., RAMOS M. et GOMEZ-RUIZ J. A. (2011). Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. *Small Ruminant Research*, 101, 196- 204.

INGLINGSTAD1 R.A., DEVOLD1 T.G., ERIKSEN1 E. K, HOLM H., JACOBSEN M., LILAND1 K.H., RUKKE1 E.O. et VEGARUD1 G.E. (2010). Comparison of the digestion of caseins and whey proteins in equine, bovine, caprine and human milks by human gastrointestinal enzymes. *Dairy Science and Technology*, 90,549–563.

JOLLES J., FIAT A. M., SCHOENTGEN F., ALAIS C. et JOLLES P. (1974). The amino acid sequence of sheep κ -casein. II. Sequence studies concerning the κ -caseino glycopeptide and establishment of the complete primary structure of the protein. *Biochimica and Biophysica Acta*, 365, 335-343.

JOLLES J., PRAGER E.M., ALNEMRI E.S., JOLLES P., IBRAHIMI I.M. et WILSON A.C. (1990). Amino acid sequences of stomach and non-stomach lysozymes of ruminants. *Journal of Molecular Evolution*, 30, 370-382.

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

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

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

KAPPELER S., ACKERMANN M., FARAH Z. et PUHAN Z. (1999a). Sequence analysis of camel (*Camelus dromedarius*) lactoferrine. *International Dairy Journal*, 9, 481-486.

KAPPELER, S. R., FARAH, Z., et PUHAN, Z. (2003). 5'-Flanking regions of camel milk genes are highly similar to homologue of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Research*, 86, 498-508.

KAPPELER S. R., HEUBERGER C., FARAH Z. et PUHAN Z. (2004). Expression of the peptidoglycan recognition protein, PGRP, in the lactating mammary gland. *Journal of Dairy science*, 87, 2660-2668.

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

KORHONEN H., MARNILA P. et GILL, H.S. (2000). Milk immunoglobulins and complement factors. *The British Journal of Nutrition*, 84 (Suppl 1), S75-S80

- KORHONEN H. et PIHLANTO A. (2003).** Food-derived bioactive peptides opportunities for designing future foods. *Curr. Pharm. Des.* 9, 1297–1308.
- KULA J. (2016).** Medicinal Values of Camel Milk International. *Journal of Veterinary Science and Research*, 2(1), 18-25.
- KUMAR D., KUMAR CHATLI M., SINGH R., MEHTA, N. et KUMAR P. (2016a).** Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxidant properties. *Dairy Science and Technology*, 96, 391-404.
- LAHOV E. et REGELSON W. (1996).** Antibacterial and immune stimulating casein-derived substances from milk: caseicidin, isracidin peptides. *Food Chem Toxicol*, 34, 131–145.
- LAEMMLI U. K. et FAVRE H. (1973).** Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *Journal of Molecular Biology*, 80,575-599.
- LEONIL J. (2014).** Les peptides bioactifs du lait et leur intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires et du syndrome métabolique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(5).
- LATYR FALL D. (1997).** Etude des fraudes du lait cru : Mouillage et écrémage. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop, DAKAR.
- LIU C., GELIUS E., LIU G., STEINER H. et DZIARSKI R. (2000).** Mammalian peptidoglycan recognition protein binds peptidoglycan with high affinity, is expressed in neutrophils, and inhibits bacterial growth. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 24490-24499.
- LOPEZ-EXPOSITO I, GOMEZ-RUIZ IA, AMIGO AL, RECIO I. (2006).** Identification of antibacterial peptides from ovine α 2-casein. *Int Dairy Journal*, 16, 1073–1080.
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FAAR A. L. et RANDALL R. J. (1951).** Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biochemistry*, 193, 265-275.
- LU X., WANG M., WANG J., GUPTA X. et DZIARSKI R. (2006).** Peptidoglycan recognition proteins are a new class of human bactericidal proteins. *Journal of Biology and chemistry*, 281, 5895-5907.
- MAL G. et PATHAK K.M.L. (2010).** Camel milk and milk products. *Milk & milk products. SMVS' Dairy Year Book*, 97-103.
- MARSHALL K. (2004).** Therapeutic applications of whey protein. *Alternative. Medicine Review*, 2, 136-156.
- MARONI P. et CUCCURI C. (2001).** Relationship between mammary gland infections and some milk immune parameters in Sardinian breed ewes. *Small Ruminant Research*, 41, 1-7.
- MATI A. (1992).** Les protéoses-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 de NANCY I, France.
- MAYER H.K. (2005).** Milk species identification in cheese varieties using electrophoretic, chromatographic and PCR techniques. *International Dairy Journal*, 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.
- MEDJOUR A. (2014).** Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif). Thèse Magister. Université Mohamed Khider de Biskra., Algérie.
- MEHAIA M. A., HABLAS M.A., ABDEL-RAHMAN K.M. et EL-MOUGY S.A. (1995).** Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 52, 115-122.
- MEISEL H. et FITZGERALD R.J. (2003).** Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr.Pharm. Des*, 9, 1289–1295.
- MERCIER J.C., HAZE G., GAYE P., PETRISSANT G., HUE D. et BOISNARD M. (1978).** Amino terminal sequence of the precursor of ovine α -lactalbumin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 85 (2), 662-670.
- MIGLIORE-SAMOUR D. et JOLLES P. (1988).** Casein Pro hormone with an immunomodulating role for the newborn. *Experientia* 44, 188–193.
- MOHANTY S. P., HUGHES D. P. et SALATHE M. (2016).** Using deep learning for image-based plant disease detection. *Front. Plant Sci.* 7, 1419.
- MOIOLI B., PILLA F. et TRIPALDI C. (1998).** Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats: a review. *Small Ruminant research*, 27, 185-195.
- MOUALEK I. (2011).** Caractérisation du lait de chèvre collecté localement : Séparations chromatographiques et contrôles électrophorétiques des protéines. Thèse Magistère, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.
- MULLALY M.M., MEISEL H. et FITZGERALD R.J. (1997).** Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities of gastric and pancreatic proteinase digests of whey proteins. *International Dairy Journal*, 7, 299-303.
- NĂSALEAN A., OGNEAN L., MUNTEAN S., BĂLICI S. et MATEI H. (2017).** Comparative Analysis of Electrophoretic Profile of Major Proteins of Milk from Alpine and Carpathian Goats. *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*, 74 (1), 21-25.
- OCHIRKHUYAG B., CHOBERT J.M., DALGALARRONDO M., CHOISSET Y. et HAERTLE, T. (1998).** Characterization of whey proteins from Mongolian yak, khainak and Bactrian camel. *Journal of Food Biochemistry*, 22, 105-124.
- OULD ELEYA M.E.M. (1996).** Analyse de la formation des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis au moyen de la géométrie fractale : étude comparative. Thèse Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, Paris, France.
- PARK W. Y., JUAREZ M., RAMOS M. et HAENLEIN G.F.W. (2007).** Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68, 88-113.

PATY E., CHEDEVERGNE F., SCHEINMANN P., WAL J. M. et BERNARD H. (2003). Allergie au lait de chèvre et de brebis sans allergie associée au lait de vache. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 42, 455-462.

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

PERMYAKOV E. A. et BERLINER L. J. (2000). α -Lactalbumin: Structure and function. *fEBS Letters*, 473, 269-274.

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

PELLEGRINI A., THOMAS U., BRAMAZ N., HUNZIKER P. et VON FELLEBERG R. (1999) Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine α -lactalbumin molecule. *Biochimica Biophysica Acta*, 1426: 439-448.

PELLEGRINI A., DETTLING C., THOMAS U. et HUNZIKER P. (2001). Isolation and characterization of four bactericidal domains in the β -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526 : 131-140.

PELMUS R. S., PISTOL G.C., LAZAR 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 Hrad Tsigai. *Romanian Biotechnological Letters*, 17 (5), 7582-7591.

PEREIRA P.C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30, 619–627.

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

POTOČNIK K., GANTNER V., KUTEROVAC K. et CIVIDINI A. (2011). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mare's milk, mljekarstvo*, 61 (2), 107-113.

QUAN Y., JI ZL., WANG X., TARTAKOFF AM. et TAO T. (2008). Evolutionary and transcriptional analysis of karyopherin beta superfamily proteins. *Mol Cell Proteomics* 7(7), 1254-1269.

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 Seasons. *Advances in Environmental Biology*, 7(14), 4879-4884.

RAISONNIER A. (2004). Digestion-détoxification. Thèse Doctorat. Faculté de médecine pierre et marie curie, Paris, France.

RAMET J.P. (1994). Les aspects scientifiques et technologiques particuliers de la fabrication de fromage au lait de dromadaire. Actes du Colloque : Dromadaires et chameaux animaux.

RAYNAL-LJUTOVAC K., LAGRIFFOUL G., PACCARD P., GUILLET I. et CHILLIARD Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: an update. *Small Ruminant Research*, 79, 57–72.

RESTANI P., CINZIA B et CHIARA D.L. (2009). Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, 395, 47-56.

RIBADEAU-DUMAS B. et GRAPPIN R. (1989). Milk protein analysis. *Lait*, 69, 357- 416.

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

SAITO T., NAKAMURA T., KITAZAWA H., KAWAI Y. et ITOH T. (2000). Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 83, 1434–1440.

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 milkproteins by pancreatic enzymes. *International Dairy Journal*, 18, 1097-1102.

SALAMI M., YOUSEFI R., EHSANI M. R., RAZAVI, S. H., CHOBERT J.M. et HAERTLE T. (2009). Enzymatic digestion and antioxidant activity of the native and molten globule states of camel α -lactalbumin: possible significance for use in infant formula. *International Dairy Journal*, 19, 518-523.

SALAMI M., MOOSAVI-MOVAHEDI A.A., EHSANI M.R., YOUSEFI R., HAERTLE T., CHOBERT J.M., RAZAVI S.H., HENRICH R., BALALAIE S., EBADI S.A., POUTAKDOOST S. et NIASARI-NASLAJI A. (2010). Improvement of the antimicrobial and antioxidant activities of camel and bovine whey proteins by limited proteolysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 3297-3302.

SALAMI M., MOOSAVI-MOVAHEDI A.A., MOOSAVI-MOVAHEDI F., EHSANI M.R., YOUSEFI R., FARHADI M., NIASARI-NASLAJI A., SABOURY A., CHOBERT J.M. et HAERTLE T. (2011). Biological activity of camel milk casein following enzymatic digestion. *Journal of Dairy Research*, 78, 471-478.

SAMARANAYAKA, A.G.P. et LI-CHAN, E.C.Y. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal Functional Foods*, 3, 229–254.

SBOUI A., KHORCHANI T., DJEGHAM M. et BELHADJ O. (2009). Comparaison de la composition physicochimique du lait camelin et bovin du Sud tunisien ; variation du pH et de l'acidité à différentes températures ; *Afrique Science*, 05(2), 293 – 304.

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 peptone. Thèse Magister. Université Mouloud Mammeri Tizi -Ouzou, Algérie.

SEYDI M. (2004). Caractéristiques du lait cru. EISMV, laboratoire HIDAOA, 12p

SHABO Y. et YAGIL R. (2005). Etiology of autism and camel milk as therapy. *International journal on Disability and Human Development*, 4(2), 67-70.

SI AHMED Z. S., ALMI D., SENOUSSE C., BOUDJENAH H. S. et MATI A. (2013). Separation and characterization of major milk proteins from Algerian Dromedary (*Camelus dromedarius*). *Emirates journal of Food and Agriculture*, 25 (4), 283-290.

SIBOUKEUR O., MATI A. et HESSAS B. (2005). Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait camelin (*Camelus dromedarius*) : utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastriques de dromadaires. *Cahiers agricultures*, 5(14), 473-478

SIBOUKEUR O. (2007). Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse Doctorat. Institut national agronomique El-Harrach-Alger, Algérie.

SIBOUKEUR O. (2008). Etude du lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse Doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi -Ouzou, Algérie.

SIBOUKEUR A. et SIBOUKEUR 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.

SOUKEHAL A. (2013). Dossier filière lait : Comment atteindre l'autosuffisance en 10 ans ! Revue Perspectives N9- 3eme trimestre 2013. P : 23- 29. [http:// www. Pixal communication.com/perspectives/revue/n9](http://www.Pixalcommunication.com/perspectives/revue/n9).

SZMOLA R., KUKOR Z. et SAHIN-TOTH M. (2003). Human mesotrypsin is a unique digestive protease specialized for the degradation of trypsin inhibitors. *Biol Chem*, 278(49), 48580-48590.

TAGLIAZUCCHI D., HELALI A., VERZELLONI E. et CONTE A. (2016). Bovine milk antioxidant properties: effect of in vitro digestion and identification of antioxidant compounds. *Dairy Science & Technology*, 96,657–665.

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

UGUZ M. T. et OZDEMIR H. (2005). Purification of bovine milk lactoperoxydase and investigation of antibacterial properties of different thiocyanates mediated. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41 (4), 349-353.

VIGNOLA C.L. (2002). Science et technologie du lait –Transformation du lait. École polytechnique de Montréal, ISBN : 29-34 (600 pages).

VOET D. et VOET J. (1998). Catalyse enzymatique. *In: Biochimie*. Ed: de Baek, Paris, 398-410.

Wal J.M., 2002. Cow's milk proteins/Allergens. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 89, 3-10.

Wal J.M. (2011). Allergénicité des protéines laitières. *Innovations Agronomiques*, 13, 25-43.

WEINER C., Pan Q., HURTIF, M., BOREN T., BOSTWICK E. et HAMMERSTROM L. (1999). Passive immunity against human pathogens using bovine anti bodies. *Clinical Experimental Immunology*, 116, 193-205.

WHITCOMB D., PRESTON R. et ASTON C. (1996). A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. *Gastroenterology*, 110, 75-80

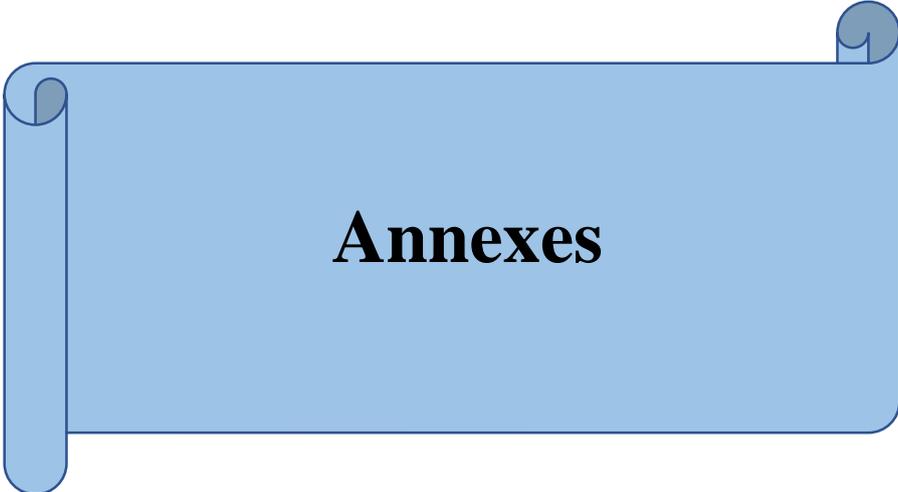
WITTIG I., KARAS M. et SCHAGGER H. (2007). High Resolution Clear Native Electrophoresis for In-gel Functional Assays and Fluorescence Studies of Membrane Protein Complexes. *Molecular and Cellular Proteomics*, 6 (7), 1215-1225.

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.

ZAHRADDEEN D., BUSTWAT I.S. R. et MBAP S.T. (2007). Evolution of some factors affecting milk composition of indigenous goats in Nigeria. *Livestock Research for Rural Development*, 19 (11), 1-8.

ZAPICO P., GAYA P., DE PAZ M., NUNEZ M. et MEDINA M. (1991). Influence of, breed, animal, and days of lactation on lactoperoxydase system components in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 74, 783-787.

ZOU T.B., HE T.P.; LI H.B.; TANG H.W et XIA E.Q. (2015). The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins. *Molecules*, 21(72), 2-14.



Annexes

ANNEXES**Annexe 01 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de LOWRY *et al* (1951)****Préparation des solutions :**

- Solutions alcalines A :

Soude 0,1N.....500ml

Carbonate de sodium anhydre (NaCO₃).....10g

- Solution cuivrique B :

Sulfate de cuivre (CuSO₄, 5 H₂O) (0,32g/100ml).....2ml

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

- Solution C :

Solution A.....50ml

Solution B.....1ml

- Solution mère de BSA :

BSA.....10mg

Eau distillée.....100ml

Gamme étalon :

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

Concentration en BSA (mg/ml)	0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1
Solution mère de BSA (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0

Méthode

- 1ml d'échantillon contenant 100 µg de protéines maximum et 25 µg Minimum
- ajouter 5 ml de solution C et mélanger ;
- laisser 10 mn à température ambiante ;
- ajouter 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- laisser 30 mn à l'obscurité ;
- lire la D.O à 750 nm.

Expression des résultats

Une courbe étalon $DO = f(C)$ est tracée. Puis 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
Bisacrylamide.....	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 à 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	3,25ml
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 µl

Mise sous tension : 20 mA, 25V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration : 1heure 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-β mercaptoethanol (PAGE- SDS)

Solution d'acrylamide (A)

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

Tampon de gel de séparation (S) :

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

Ajuster à pH 8,8 avec HCl 4N

Tampon de gel de concentration (C) :

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

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

Tampon d'électrode :

- Tris	1,2 g
- Glycine.....	5,76 g
- SDS.....	0,2 g
- Eau distillée.....	200 µl

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

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

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

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

Solution de fixation

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

Solution de coloration

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

Solution de décoloration

- Acide acétique37,5 ml
- Eau distillée.....312,5 ml
- Méthanol.....150 ml

Solution de persulfate d'ammonium

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

Electrophorèse

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

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

Dégazer le mélange pendant 2 mn maximum

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

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

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

- Solution (A).....	1,3 ml
- Solution (C).....	2,5 ml
- Eau distillée.....	5,8 ml
Dégazer le mélange quelques secondes	
- SDS 10%.....	100 µl
- TEMED.....	20 µl
- Persulfate d'ammonium à 10%.....	10µl

Couler immédiatement sur le gel de séparation puis introduire le peigne

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 µl

Mise sous tension : 20 mA, 25 V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration