

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Thème

*Etude comparative de l'effet des traitements thermiques sur la
dénaturation des protéines sériques des laits camelin, bovin,
caprin, et ovin.*

Présenté par :

M^{elle} Lacene Syla

M^{elle} Aziz Melissa

Devant le jury :

Présidente : Mme BEDOUHENE-FENANE S. Maitre de conférences à l'UMMTO
Promotrice : Mme GHEZALI-SENOUSSI C. Maitre assistante à l'UMMTO
Examinatrice : Mme ALMI -SEBBANE D. Maitre de conférences à l'UMMTO

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous remercions DIEU tout puissant de nous avoir aidé et donné la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce travail.

Ce mémoire de fin d'étude a été une aventure personnelle très enrichissante, nos vifs remerciements à toutes les personnes qui ont pu participer de prêt ou de loin à ce modeste travail chacun son nom, veuillez croire nos chers amis en notre sincère considération.

Nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme GHEZALI-SENOUSSI.C., pour avoir proposé le sujet et accepter de nous encadrer et orienter tout au long de notre travail avec une grande rigueur scientifique, nous avons beaucoup apprécié vos judicieux conseils pour bien mener ce travail.

A Mme ALMI.D, d'avoir accepté de juger ce travail et nous vous remercions pour vos conseils et votre professionnalisme au cours de notre stage en laboratoire. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération.

Nous remercions aussi Mme BEDOUHENE S. d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail.

DEDICACES

A mes très chers parents pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi. C'est bien grâce à vous que je suis arrivée ici, à mes grands-parents maternels que Dieu le tout puissant les protège.

A mes frères et à mon oncle auxquels je souhaite d'aller au bout de leurs rêves et de vivre leurs passions.

Ames chères tantes adorées qui étaient toujours à mes côtés, qui m'ont beaucoup soutenu ainsi qu'à mes très chères Lina et Kenza pour leurs présences et leurs aides.

Enfin, à mon cher Rezak, qui m'a épaulé durant ces années, pour son grand soutien dans les moments de doute et de fatigue.

Sylian.

Je dédie ce travail

**A ma famille qui m'a toujours soutenu et encouragé tout au
long de ma vie.**

A mon cher Boudjema, merci pour ton soutien indéfectible.

Melissa.

Résumé

La présente étude a pour objectif d'une part, de caractériser par électrophorèse les séroprotéines de quatre espèces laitières : bovine, caprine, ovine et cameline. D'autre part, étudier leur sensibilité à différents traitements thermiques.

Les séroprotéines bovines, ovines, caprines et camelines ont été isolées et caractérisées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) en conditions natives, les profils électrophorétiques obtenus ont permis d'identifier des analogies entre les quatre espèces laitières comme ils ont permis de mettre en relief certaines particularités liées au lait camelin qui est dépourvu de la β -lactoglobuline.

L'effet des traitements thermiques appliqués sur les échantillons étudiés a été évalué par PAGE-native, il a révélé des variations dans les profils électrophorétiques selon les espèces. Ces variations sont plus importantes avec l'augmentation du temps et de la température du chauffage. L'étude a montré que les protéines sériques camelines sont moins sensibles à la dénaturation thermique par rapport à leurs homologues bovins, ovins et caprins. Un pourcentage de dénaturation de 52,25% a été noté pour les séroprotéines camelines suite à un chauffage de 95°C pendant 30 min alors qu'il est de 58,86% ; 60,50% et 75,19% pour les séroprotéines caprines, ovines et bovines, respectivement.

Mots clés : Lait, bovin, camelin, caprin, ovin, protéines sériques, électrophorèse, traitement thermique, dénaturation.

Summary

The present study aims to characterize the seroproteins of four dairy species: bovine, caprine, ovine and camel, in the other hand, to investigate their sensitivities to heat treatments and to study their electrophoretic behaviors after heating and to evaluate their denaturation rate. We first carried a study that aims to assess the physico-chemical characteristics of the various studied milks, the analyses carried out have focused on the measurement of pH and the content of different protein fractions (total protein, serum protein and casein).

The results obtained for these parameters show a certain richness of sheep milk in total protein, serum protein and casein compared to the protein content of the other three samples: bovine, camel and sheep.

The isolated serum proteins were characterized by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) under native conditions. The resulting electrophoretic profiles allowed the identification of analogies between the four dairy species as well as highlighting some particularities related to camel milk which lacks β -lactoglobulin.

We tested the sensitivity of serum proteins of the different species to heating, and the results obtained reveal that the camel serum albumin is more resistant to thermodenaturation than that of the other species studied. The denaturation of this protein occurs after a heating of 95°C for 20 minutes, and also for the α -Cameline, it persists after a heating of 95°C for 40 minutes. The study also revealed that thermal denaturation is more pronounced for bovine and ovine seroproteins compared to camel and goat.

The degree of protein denaturation depends on both the duration and intensity of heat treatment.

Key words: Milk, bovine, camel, goat, sheep, serum proteins, physicochemical analyses, electrophoretic behavior, heat treatments.

Table des Matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
1. synthèse des données bibliographiques	2
1.1. Généralités sur le lait	2
1.1.1. Définition du lait cru	2
1.1.2. Production laitière.....	2
1.1.3. Propriétés physico-chimiques et nutritionnelles du lait.....	3
1.1.3.1. Caractéristiques physiques	3
1.1.3.2. Composition biochimique	4
1.2. Les protéines du lait.....	6
1.2.1. Les caséines	7
1.2.2. Les protéines sériques	8
1.2.2.1. β -lactoglobuline	8
1.2.2.2. α - lactalbumine.....	9
1.2.2.3. Albumine sérique (SA)	10
1.2.2.4. Immunoglobulines	10
1.2.2.5. Lactoferrine	10
1.2.2.6. Lysozyme	11
1.2.2.7. Lactoperoxydase.....	11
1.2.2.8. Protéose-peptones.....	11
1.2.2.9. Les protéines spécifiques au lait de chamelle	11
1.3. Effet des traitements thermique sur les séroprotéines du lait	12
1.3.1. Traitements thermiques appliqués sur le lait.....	12
1.3.1.1. La pasteurisation	12
1.3.1.2. La stérilisation	12
1.3.1.3. Stérilisation UHT	13
1.3.1.4. La réfrigération	13
1.3.2. Dénaturation thermique des séroprotéines du lait.....	13

2. Matériels et méthodes	1
2.1. Matériel	16
2.1.1. Matière première	16
2.1.2. Appareillage	16
2.1.3. Petit matériel	16
2.1.4. Produit chimique et réactifs	17
2.2. Méthodes	17
2.2.1. Collecte du lait.....	17
2.2.2. Analyses physico-chimiques.....	17
2.2.2.1. Mesure du pH.....	17
2.2.2.2. Détermination de la teneur en protéines	17
2.2.3. Isolement des protéines sériques.....	18
2.2.4. Traitement thermique.....	19
2.2.5. Méthodes électrophorétiques	21
2.2.5.1. Définition et principe général	21
2.2.5.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE).....	21
3. Résultats et discussion	23
3.1. Analyse physicochimique des échantillons de lait étudiés	23
3.1.1. Mesure du pH.....	23
3.1.2. Taux des protéines	24
3.1.2.1. Teneur en Protéines totales	24
3.1.2.2. Teneur en Protéines sériques	25
3.1.2.3. Teneur en Caséines.....	26
3.2. Isolement et caractérisation électrophorétique des protéines sériques camelines, bovines, caprines et ovines	27
3.3. Etude de la sensibilité des séroprotéines bovines, ovines, caprines et camelines aux traitements thermiques	28
3.3.1. Comportement électrophorétique après les traitements thermiques	29
3.3.2. Comparaison inter-espèces des taux de dénaturation thermique des séroprotéines.....	33
Conclusion	36

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

- °C : Degré celsius
- °D : Degré Dornic
- Aa : Acide aminé
- BSA : Albumine Sérique Bovine
- CWBP : Camel whey basic protein ou protéine basique du lactosérum camelin
- Da : Dalton
- DO : Densité optique
- FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
- IgA : Immunoglobuline A
- IgE : Immunoglobuline E
- IgG1 : Immunoglobuline G1
- IgG2 : Immunoglobuline G2
- IgM : Immunoglobuline M
- Igs : Immunoglobulines
- K-CN : Caséine k
- kDa : kilo dalton
- L.B : Lait de brebis
- L.C : Lait Camelin
- L.CH : Lait de chèvre
- L.V : Lait de vache
- LF : Lactoferrine
- M : Molaire
- MM : Masse moléculaire
- mn : Minute
- N : Normalité
- nm : Nanomètre
- PAGE : Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
- PGRP : Peptidoglycan recognition protein ou protéine de reconnaissance du peptidoglycane
- pH : Potentiel d'hydrogène
- pHi : Point Isoélectrique

- **PM** : Poids moléculaire
- **PP** : Protéose-peptones
- **PP3** : Composant-3 des protéose-peptones
- **PP5** : Composant-5 des protéose-peptones
- **PPT** : Protéose-peptones totales
- **PT** : Protéines totales
- **SDS** : Dodécylsulfate de sodium
- **T** : Concentration en acrylamide total
- **TCA** : Acide trichloracétique
- **TEMED** : N,N,N',N'-tetraméthyl-éthylène diamine
- **Tris** : Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
- **UHT** : Ultra haute température
- **Vit B1** : Vitamine B1
- **Vit B12** : Vitamine B12
- **Vit B9** : Vitamine B9
- **WAP** : Whey acidic protein ou protéine acide du lactosérum
- **α -La** : α -Lactalbumine
- **α S1-CN** : Caséine α S1
- **α S2-CN** : Caséine α S2
- **β -CN** : Caséine β
- **β -Lg** : β -L ACTOGLOBULINE
- **β S2-CN** : Caséine β S2

Liste des tableaux

Tableau I : La production laitière mondiale des différents types de laits (FAO, 2015).....	2
Tableau II : Evolution de la production nationale et de la collecte de lait.....	3
Tableau III : Caractéristiques physico-chimiques des laits bovin, ovin, caprin et camelin. (SAWAYA <i>et al.</i> , 1984 (d) ; KAMOUN, 1995 (b) ; PARK <i>et al.</i> , 2007 (a) ; SBOUI <i>et al.</i> , 2009 (c) ; SAINT-ETIENNE–SAINT-ETIENNE, 2015 (e) ; YABRIR, 2017 (f)).....	3
Tableau IV : Composition biochimique du lait de diverses espèces animales (LAPOINTE-VIGNOLA, 2002).....	4
Tableau V : Composition en minéraux du lait bovin, ovin, caprin et camelin (ALWABEL, 2008).....	5
Tableau VI : Teneur en vitamines du lait bovin, ovin, caprin et camelin (FAO, 1998 ; HADDADIN <i>et al.</i> , 2008).....	5
Tableau VII : Apport énergétique pour 1 L de lait des espèces bovine, ovine, caprine et cameline (KOLETZKO <i>et al.</i> , 2005).....	6
Tableau VIII : Origine des échantillons de lait étudiés.....	16
Tableau IX : Valeurs moyennes du pH mesurés des différents laits étudiés.....	23
Tableau X : Teneurs moyennes en protéines en (g/l) des laits bovin, caprin, ovin et camelin.....	24

Liste des figures :

Figure 01 : Les différentes structures de la β -lactoglobuline (de WIT, 2009).....	14
Figure 02 : Courbe étalon.....	18
Figure 03: étapes suivies pour l'isolement des protéines sériques des différents laits.....	20
Figure 04: Photographie d'une unité d'électrophorèse (HOEFFER SE260).....	22
Figure 05: Profil électrophorétique des protéines sériques en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9).....	27
Figure 06: Profil électrophorétique en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9) des protéines sériques après différents traitements thermique.....	30
Figure 07: Profil électrophorétique en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9) des protéines sériques après différents traitements thermiques.....	31
Figure 08 : Représentation des taux de dénaturation des protéines sériques après traitements thermiques protéines sériques après différents traitements thermiques.....	34

Introduction

INTRODUCTION

Introduction

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de par sa composition équilibrée en nutriments de base (protéines, glucides et lipides) et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire. Le lait est considéré comme un aliment complet, il garantit un apport non négligeable en protéines animales bon marché et ayant une bonne digestibilité.

De nos jours, les besoins en lait sont de plus en plus importants vu que ce produit est consommé à l'état frais ou transformé en produits dérivés.

En Algérie et partout dans le monde, la production en lait bovin occupe une place primordiale, mais elle ne couvre pas tous les besoins en ce produit. Bien que, la chèvre, la brebis et la chamelle sont connues pour leur rusticité et leur adaptation aux conditions extrêmes du climat où elles sont implantées.

Afin de combler ce déficit et répondre aux besoins du consommateur qui sont sans cesse croissants, l'état recourt à l'importation d'importantes quantités de lait sous forme de poudre, avec un coût, malheureusement, très cher.

C'est dans cette optique, que l'état encourage les éleveurs à s'intéresser à d'autres espèces laitières (ovines, caprine et cameline) et à améliorer leur élevage. D'après des études menées dans le monde, il a été constaté que ces espèces peuvent produire des quantités non négligeables de lait, surtout la chamelle, qui peut être destiné soit à la consommation directe ou à être transformé à petite échelle.

C'est dans ce cadre que s'inscrit la présente étude, qui a pour but de caractériser la fraction protéique du lactosérum des laits camelin, ovin, bovin et caprin et d'étudier le comportement des séroprotéines de ces espèces vis à vis des traitements thermiques.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur le lait

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

1. Synthèse des données bibliographiques

1.1. Généralités sur le lait

1.1.1. Définition du lait cru

Le mot lait, sans indication de l'espèce, désigne le lait de vache ; il est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée ; il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum.

En vertu du Règlement (CE) N° 853/20043 , le lait cru est défini comme étant le lait produit par la sécrétion de la glande mammaire d'un ou plusieurs animaux d'élevage et non chauffé à plus de 40°C, ni soumis à un traitement d'effet équivalent.

Selon BITMAN *et al.*, (1996) le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur douce légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée. Il s'agit d'un fluide plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène et en matière grasse (ALAIS, 1984).

1.1.2. Production laitière dans le monde et en Algérie

Généralement le lait bovin est le lait le plus consommé et le plus produit. Dans le monde, la production du lait bovin occupe 85%, suivie de lait de chèvre (2,3%), de brebis (1.4%), et de chamelle (0,02%) (FAO en 2015) (Tableau I).

Tableau I : La production laitière mondiale des différents types de laits (FAO, 2015)

Type du lait	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre	Lait de camelin
Production mondiale	85%	1.4%	2.3%	0.02%

En Algérie, Le secteur laitier représente une dynamique très forte, liée aux conditions générales de l'évolution de la demande. Cependant, la production laitière est relativement faible par rapport à la demande de consommation (DILMI BOURAS, 2008).

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

La production de lait cru beau aller en augmentant, elle n'a pas suivi, non plus, la capacité de transformation de l'industrie, bien qu'elle ait évolué en augmentant durant les dernières années (Tableau II).

Tableau II : Evolution de la production nationale et de la collecte de lait.

Année	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Production laitière	3213312	1857142	2083935	2202401	2411794	3548825
Quantité collectée	300556	393305	536364	70985	831946	903599

1.1.3. Propriétés physico-chimiques et nutritionnelles du lait

1.1.3.1. Caractéristiques physiques

Les principales propriétés physico-chimiques étudiées dans le lait sont : la masse volumique et la densité, le point de congélation, le pH et l'acidité (GAUCHER, 2007).

Ces propriétés sont liées en particulier à la composition du lait de chaque espèce laitière (tableau III).

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

Propriétés	Viscosité	Acidité titrable (%)	Densité	pH
Lait de vache	1,0231-1,0398 ^a	0,15-0,18 ^a	1,032 ^b	6,65-6,71 ^a
Lait de chèvre	3,21 ^c	0,13 ^d	1,026-1,038 ^b	6,57-6,97 ^b
Lait camelin	1,029-1,039 ^a	0,14-0,23 ^a	1,0299 ^e	6,50-6,80 ^a
Lait de brebis	1,0347-1,0384 ^a	0,22-0,25 ^a	1,036 ^f	6,51-6,85 ^a

(SAWAYA *et al.*, 1984 (d) ; KAMOUN, 1995 (b) ; PARK *et al.*, 2007 (a) ; SBOUI *et al.*, 2009 (c) ; SAINT-ETIENNE–SAINT-ETIENNE, 2015 (e) ; YABRIR, 2017 (f))

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

Le lait de brebis est plus dense et présente une acidité élevée par rapport aux autres laits. Le lait camelin et lait de brebis présente un pH similaire alors que le lait de vache possède le pH le plus élevé. Le lait de chèvre possède une plus grande viscosité comparé aux laits de brebis, vache et camelin.

1.1.3.2. Composition biochimique

Le lait sécrété par les différentes espèces de mammifères présente une composition biochimique relativement similaire en nutriments de base (eau, protéines, sucres, lipides vitamines et minéraux), cependant, les teneurs de ces constituants diffèrent entre les espèces animales (tableau IV).

**Tableau IV :Composition biochimique du lait de diverses espèces animales
(LAPOINTE-VIGNOLA, 2002)**

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

Le lait de brebis soit le plus riche en protéines, caséines, matière grasse et en minéraux par rapport aux autres espèces. Le lait de chamelle et le lait de vache sont très riches en eau en comparant à d'autres espèces.

Le lait est une source excellente de la majorité des minéraux et vitamines essentiels représentés dans le tableau V et VI.

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

Tableau V : Composition en minéraux du lait bovin, ovin, caprin et camelin (ALWABEL, 2008).

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

Tableau VI : Teneur en vitamines du lait bovin, ovin, caprin et camelin (FAO, 1998 ; HADDADINet al., 2008).

Vitamines pour 100 g de lait		vache	brebis	chèvre	chamelle
Vitamines liposolubles	A ou Rétinol (mg)	0,04	0,08	0,04	0,264
	D ou Ergocalciférol (µg)	0,08	0,18	0,06	0,003
	E ou Tocophérol (mg)	0,11	0,11	0,04	0,0178
Vitamines hydrosolubles	B1 ou Thiamine (mg)	0,04	0,08	0,05	0,480
	B2 ou Riboflavine (mg)	0,17	0,35	0,14	1,680
	B3 ou PP ou Niacine (mg)	0,09	0,042	0,2	0,780
	B5 ou Acide pantothénique (mg)	0,34	0,41	0,31	3,680
	B6 ou Pyridoxine (mg)	0,04	0,08	0,05	0,550
	B8 ou Biotine (µg)	2	-	2	-
	B9 ou Acide folique (µg)	5,3	5	1	0,087
	B12 ou Cyanocobalamine (µg)	0,35	0,71	0,06	0,0085
	C ou Acide ascorbique (mg)	1	5	1,3	57-98

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

Le lait de brebis est riche en minéraux (tableau V) notamment en Calcium et en Zinc par rapport aux autres laits. Le lait de chamelle présente la teneur la plus élevée en sodium.

Le lait de chamelle contient la teneur la plus élevée en vitamine C et en d'autres vitamines comme la vitamine A, B2, B3, B5 et B6 (tableau VI); le lait de vache est le plus riche en B9 alors que le lait de brebis est riche en vitamine D par rapport aux autres laits.

Tableau VII : Apport énergétique pour 1 L de lait des espèces bovine, ovine, caprine et cameline (KOLETZKO et al., 2005).

Laits	vache	Brebis	chèvre	chamelle
Calories (kcal /L)	630	980	640	800

Sur le plan énergétique, le lait de brebis apporte plus de calories comparativement aux laits de vache, chamelle et chèvre (tableau VII).

1.2. Les protéines du lait

Les protéines du lait est un ensemble complexe (WITHNEY et al., 1976) dont la teneur totale avoisine 35 g/litre. Ce sont des constituants essentiels et vitaux en raison de leur grande valeur nutritionnelle, de leurs propriétés biologiques et de leurs qualités techno-fonctionnelles recherchées (BARLOWSKA et al., 2011), elles contribuent de façon significative à l'apport en éléments nutritifs dans l'alimentation en tant que source d'énergie et d'acides aminés exogènes nécessaires à la croissance d'un organisme (SZWAJKOWSKA et al., 2011) et assurent le transfert des différentes molécules dans et en dehors des cellules elles sont réparties en deux fractions distinctes selon leur comportement lors de l'acidification à pH 4,6 et leur point isoélectrique à température ambiante. Ces groupes se réfèrent à :

- une fraction soluble contenant des protéines de lactosérum, à savoir l'alpha-lactalbumine (α -LA) et la bêta-lactoglobuline (β -LG), qui représentent 20 % des protéines totales.
- L'autre fraction est insoluble, c'est là que l'on retrouve les caséines alpha s1 (α s1-Cs), alpha s2 (α s2-Cs), Beta (β -Cs) et Kappa (κ -Cs), qui représentent 80% des protéines totales du lait. (HURLEY et al., 2012).

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

1.2.1. Les caséines

Les caséines sont des phosphoprotéines élaborées dans les cellules lactogènes mammaires. Ce sont des particules colloïdales, dont la matière sèche est constituée de 93% de protéines (caséines) et de 7% de minéraux. Elles se divisent en quatre grands groupes : les caséines α S1, α S2, β et κ . Ces caséines ont tendance à l'association en forme de micelle, l'assemblage et la cohésion de cette structure micellaire sont assurés par une liaison phosphocalcique.

Les caséines se présentent comme une fraction protéique très hétérogène. Elles se distinguent par leurs tailles, composition en acides aminés, niveau de phosphorylation et de glycosylation. Les caséines se structurent sous forme de micelles sphériques de dimensions variables selon les espèces animales. Les dimensions des caséines camelines (260 à 300 nm) sont supérieures à celles des autres laits (FARAH et RUEUGG, 1989). PARK *et al.*,(2007) ont enregistré une dimension de 260 nm pour le lait caprin qui est supérieur à celles du lait ovin 193 nm et lait de vache 180 nm.

Le séquençage des caséines α s1, α s2 ovines permet d'énumérer respectivement 199 acides aminés pour α s1-CN avec une masse molaire de 22,7kDa et 208 pour α s2-CN avec une masse molaire de 24,7kDa (PARK *et al.*, 2007). Les caséines ovines sont caractérisées à l'instar de leurs homologues bovins par un polymorphisme génétique élevé, où cinq variants (A, B, C, D, E) de la caséine α s1 ont été identifiés (CHIANESE *et al.*,1996). La comparaison des séquences primaires des caséines camelines et bovines montre de faibles différences structurales. Cependant, α S1-CN exprime un faible pourcentage de similitude (39%), alors qu'il est de 56% pour α S2-CN et κ -CN et 64% pour la β -CN (KAPPELER *et al.*, 1998).

Le nombre des acides aminés constituant ces protéines est de 207 pour les caséines α S1, 178aa pour α S2 et 162 aa pour κ -CN. La distribution des acides aminés apolaires et chargés des caséines α S1, α S2 et β camelines est similaire à celle des caséines bovines où les hélices- α prédominent surtout pour α S2-CN, ce qui explique son caractère hydrophile par rapport aux autres caséines (KAPPELER *et al.*, 1998).

1.2.2. Les protéines sériques

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

Les protéines du lactosérum présentent une grande valeur biologique, car elles sont considérées comme une source équilibrée en acides aminés indispensables notamment en

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

lysine, acide aminés soufrés et en tryptophane (LINDEN et LORIENT, 1994), parallèlement à l'aspect nutritionnel de ces protéines, plusieurs activités biologiques (anticancéreuses, antimicrobiennes, antivirales et immuno-modulatrices) ont été rapportées (MADUREIRA *et al.*, 2007).

Les protéines sériques sont essentiellement représentées par : la β -lactoglobuline (β -Lg), l' α -lactalbumine (α -La), les immunoglobulines (Ig), l'albumine sérique (SA), les protéose-peptones (PP), et d'autres protéines mineures (lactoperoxydase, lactoferrine, Xanthine oxydase) (FARRELL *et al.*, 2004).

1.2.2.1. β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline (β -Lg) est la plus dominante des séroprotéines, elle représente 50% à 60% des protéines totales du lactosérum (EUGENIA *et al.*, 2006; ROUFIK *et al.*, 2007). Cette protéine n'est pas détectée dans le lait humain et camelin (MERCIER *et al.*, 1973).

La β -Lg est de structure globulaire compacte. Elle est composée de 162 résidus d'acides aminés avec une masse moléculaire relative de 18,1kDa (FERNANDEZ-ESPLA *et al.*, 1993 ; PARK *et al.*, 2007), un nombre identique à celui de l'espèce bovine (CAYOT et LORIENT, 1998 ; CROGUENNEC *et al.*, 2008).

Plusieurs variantes génétique de la β -Lg ont été identifiés, les variantes A, B et C dans le lait ovin (PARK *et al.*, 2007), 11 variantes dans le lait bovin (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et H) (FARREL *et al.*, 2004) et enfin deux variantes (A et B) ont été trouvés dans le lait caprin (MOIOLI *et al.*, 1998). La température de dénaturation de cette protéine est au-dessus de 65°C (MORR *et al.*, 1993). La β -Lg en plus de son importance physiologique qui réside dans la synthèse du lactose, elle possède la capacité de fixer des molécules hydrophobes et amphiphiles (hexane, acide palmitique, vitamine D) (NARAYAN et BERLINER, 1997 ; SAWYER *et al.*, 1998). En plus de son rôle dans le transport des molécules hydrophobes et des métaux, la β -Lg semble avoir un effet mitogénique sur la culture des hybridomes (MOULTI-MATI *et al.*, 1991).

1.2.2.2. α -lactalbumine

L' α -lactalbumine (α -la) est la protéine soluble majeure du lait de femme (BRIGNON *et al.*, 1985) et des camélidés (BEG *et al.*, 1985; CANTISANI *et al.*, 1990). Alors que chez les ruminants domestiques (bovins, ovins, caprins), c'est la β -lactoglobuline qui constitue la principale protéine du lactosérum du lait.

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

Le taux de l' α -La, dans le lait ovin est variable selon les auteurs : POTOČNIK *et al.*, (2011) ainsi que MOATSOU *et al.*, (2005) l'estiment entre 8,97 et 17%. Quant à ASSENAT (1985), il rapporte un taux égal à 25,1%. L' α -La présente une variabilité génétique, deux variantes A et B ont été identifiées dans les laits ovin et caprin, trois variantes génétiques A, B, C ont été isolées dans le lait bovin (MOIOLI *et al.*, 1998). L' α -La cameline est constituée de 123 acides aminés avec 8 résidus cystéine formant 4 ponts disulfure. L'analyse des séquences primaires de ces deux protéines bovine et cameline révèle des différences dans 39 résidus et un PM de 14,4 kDa (BEG *et al.*, 1985), présentant ainsi un taux de similitude séquentielle de 68,29%. Sur le plan structural, l' α -La est apparentée au lysozyme, ce qui démontre l'origine ancestrale commune de ces deux protéines (BEG *et al.*, 1985 ; MCKENZIE et WHITE, 1991 ; TING et JERNIGAN, 2002).

L' α -La bovine est présente sous forme de 2 variantes génétiques A et B. Le variant A contient un résidu Glu en position 10 substitué par le résidu Arg dans le variant B (FARRELL *et al.*, 2004). De même, pour l' α -La cameline, 2 variantes génétiques ont été détectées et qui diffèrent dans leurs points isoélectriques estimés respectivement à 5,1 et 5,2, ainsi que dans leurs extrémités N-terminales (BEG *et al.*, 1985 ; CONTI *et al.*, 1985 ; OCHIRKHUYAG *et al.*, 1998).

Sur le plan nutritionnel, la richesse de l' α -La en résidus tryptophane est à la base de la fabrication de peptides destinés à l'alimentation diététique (BERGEL *et al.*, 2004) en acides aminés essentiels (Phe, Tyr, Leu, Ile, Thr, Met, Cys et Val) qui représentent un taux de 63,2% de l'ensemble des acides aminés qui la constituent (FARRELL *et al.*, 2004). Cette propriété nutritionnelle ainsi que les similitudes de structure avec l' α -La humaine (70%) rendent cette protéine idéale pour la préparation de laits Maternisés et d'autres produits infantiles. Elle possède une fonction biologique bien définie dans la glande mammaire, en interagissant avec la β (1,4) galactosyl transférase pour former le complexe lactose synthase (BEG *et al.*, 1985 ; FARRELL *et al.*, 2004). Certaines formes de l' α -La peuvent induire l'apoptose dans les cellules tumorales. L' α -La est aussi identifiée comme une métalloprotéine transportant le calcium (HIROAKA, 1980).

1.2.2.3. Albumine sérique (SA)

L'albumine sérique bovine (BSA) représente 0,1 à 0,4 g/L des protéines du lait. Elle est composée de 582 résidus d'acides aminés (ELAGAMY, 1997), 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).

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

Les PM de la Sérum albumine (SA) cameline et bovine sont respectivement de 69,6 et 66 kDa. La BSA bovine présente 76% d'homologie dans sa séquence en acides aminés avec celle du lait Humain 71,2 % (CAYOT et LORIENT, 1998) et la SA caprine et 92,4% avec la SA ovine (CAYOT et LORIENT, 1998).

1.2.2.4. Immunoglobulines

Les immunoglobulines constituent un groupe hétérogène de protéines. Ces protéines, se présentant sous forme d'un « Y » et jouant un rôle d'anticorps, constituent environ 13 % des protéines du lactosérum (DEBRY, 2001 ; LEBEUF *et al.*, 2002 ; WAL, 2001). Elles sont transférées du sang au lait au niveau des cellules des glandes mammaires (CAYOT *et al.*, 1998). Différentes classes d'IgG (A, M et G) ont été isolées et purifiées à partir du lait de chamelle par ELAGAMY, (1996). La concentration en IgG dans ce lait est supérieure à celle rapportée dans le lait de vache (ELAGAMY, 2000 ; KONUSPAYEVA *et al.*, 2008). Un taux moyen de 100,7 mg/ml a été enregistré en premier stade de lactation. Ce taux baisse ensuite à 2,3 mg/ml après le 14^{ème} jour. Ces IgG semblent ne pas être restreints à une seule sous classe comme dans le lait bovin, mais ils englobent trois sous classes (IgG1, IgG2 et IgG3) où les IgG2 et IgG3 constituent 50% du sérum camelin (DESMYTER *et al.*, 2001).

1.2.2.5. Lactoferrine

C'est une glycoprotéine, sa séquence est composée de 689 résidus d'acides aminés avec masse moléculaire de 75,3 kDa. La lactoferrine se trouve à des taux très élevés dans le lait de chamelle (220 mg/l) (EL-AGAMY *et al.*, 1997), alors que sa concentration dans le lait de vache est estimée à 140 mg/l (WALL, 2002). 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).

A côté de sa fonction antibactérienne, la lactoferrine est un puissant antioxydant, elle piège les radicaux libres et protège l'organisme contre le stress oxydatif (WALL, 2011).

1.2.2.6. Lysozyme

Le lysozyme est une enzyme, présente naturellement dans le lait des mammifères. Elle hydrolyse la liaison β entre l'acide muramique et la glucosamine du mycopolysaccharide de la paroi bactérienne (DEBRY *et al.*, 2001). Sur le plan structural avec 129 acides aminés, la masse moléculaire du lysozyme bovin est estimée à 14,4 kDa, elle est similaire à la protéine

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

cameline (ELAGAMY *et al.*, 1996) et caprine (JOLLES *et al.*, 1990). Alors que dans le lait ovin le lysozyme présente un poids moléculaire de 16,2 (MARONI et CUCCURI, 2001).

Le taux du lysozyme dans le lait varie selon l'espèce animale, il est estimé à 7 µg/100 ml dans le lait de vache, sa concentration est plus élevée dans le lait de chamelle (15 µg/100 ml) (ELAGAMY *et al.*, 1996).

1.2.2.7. Lactoperoxydase

La lactoperoxydase est une enzyme d'oxydoréduction sécrétée naturellement dans le lait. Le poids moléculaire de la lactoperoxydase bovine est de 72,5, alors qu'il se situe entre 69 à 78 dans le lait camelin (EL AGAMY *et al.*, 1996). La séquence de cette protéine cameline est formée de 611 acides aminés. Elle permet en effet de prolonger la durée de conservation et d'améliorer la qualité du lait collecté ou en conserve.

1.2.2.8. Protéose-peptones

C'est la fraction protéique mineure du lactosérum, restant soluble même dans des conditions extrêmes (JOUAN, 2002). Les protéose-peptones sont classés en deux catégories : Les peptides issus de l'hydrolyse enzymatique de la β-caséine par la plasmine endogène du lait (PP5, PP8-S et PP8F) ; le composant PP3 ou lactophorine ce dernier est une glycoprotéine phosphorylée comportant 16 à 17 % de glucides. Elle est thermostable et peut complexer le calcium soluble dans le lait. Elle a un effet inhibiteur sur la lipolyse plus efficace que toutes les autres protéoses-peptones (JOUAN, 2002).

1.2.2.9. Les protéines spécifiques au lait de chamelle

Différentes études ont montré l'existence de protéines dites spécifiques au lait de chamelle qui n'ont pas été isolées dans d'autres laits, c'est le cas de la protéine de reconnaissance du peptidoglycane, la protéine acide et la protéine basique du lactosérum camelin.

- La protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP)

La protéine de reconnaissance du peptidoglycane (PGRP) c'est une protéine soluble qui a été 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, La PGRP est riche en arginine mais pauvre en lysine (KAPPELER *et al.*, 1998 ; KAPPELER *et al.*, 2004).

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

La concentration de la PGRP dans le lait de chamelle est estimé à 0,12 g/l, son taux décroît durant la lactation et augmente en cas de mammites

- La protéine acide du lactosérum (WAP)

La (WAP) protéine sérique majeure dans le lait des rongeurs et dans le lait de chamelle, elle a été décrite pour la première fois par BEG *et al.*, (1986). C'est une protéine à caractère acide, son pH isoélectrique est de 4,70 (KAPPELER *et al.*, 1998). La séquence de la WAP est composée de 117 résidus d'acides aminés, sa masse moléculaire est d'environ 12,6 kDa (KAPPELER *et al.*, 1998).

- La protéine basique du lactosérum camelin (CWBP)

La CWBP a été isolée dans le lait de chamelle par OCHIRKHUYAG *et al.*, (1998), c'est une protéine basique, présentant un pH isoélectrique de 9,3. Sa masse moléculaire a été évaluée par PAGE SDS à 20 kDa (OCHIRKHUYAG *et al.*, 1998).

1.3. Effet des traitements thermique sur les séroprotéines du lait

1.3.1. Traitements thermiques appliqués sur le lait

1.3.1.1. La pasteurisation

C'est un procédé thermique, qui consiste à chauffer le lait à 63°C pendant 3 mn (pasteurisation basse), ou entre 72°C et 76°C pendant 15 à 20 s (pasteurisation haute). Elle permet la destruction totale des germes pathogènes et la plupart des germes saprophytes. Elle détruit aussi certaines enzymes, en particulier, les lipases dont l'activité est indésirable (VEISSEYRE, 1975), Ce chauffage du lait a peu d'impact sur les constituants, mis à part une faible perte de la thiamine (vit B1) à et de la vitamine C (7 à 10 %).

1.3.1.2. La stérilisation

Elle vise la destruction totale des microorganismes et des spores présentes dans un produit. La stérilisation consiste à chauffer le produit alimentaire, au-delà de 100°C pour lui assurer une conservation prolongée (VEISSEYRE, 1979).

1.3.1.3. Stérilisation UHT

C'est un traitement à très haute température (UHT), soit 140-150°C, pendant un temps très court de 1 à 5 secondes.

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

1.3.2. Dénaturation thermique des séroprotéines du lait

La dénaturation résulte d'une modification des structures quaternaire, tertiaire et secondaire sans fragmentation de la chaîne peptidique. La dénaturation des protéines passe par des structures éphémères qui peuvent aboutir à un déplissement total de la molécule.

La stabilité d'une protéine peut être définie comme étant sa capacité à conserver la structure tridimensionnelle d'une chaîne polypeptidique dans certaines conditions plus au moins extrêmes (chaleur, pH, agents chimiques ou physiques).

À mesure que la température augmente, les liaisons de faible intensité (forces de Van Der Waals, ponts hydrogènes) sont rompues, les homopolymères natifs de β -lactoglobuline et les ponts hydrogènes intramoléculaires des différentes protéines sont progressivement détruits, permettant le dépliement de leur structure et l'exposition des régions réactives inaccessibles à l'état natif (KINSELLA et WHITEHEAD, 1989 ; MORR et HA, 1993).

La dénaturation des protéines solubles consiste à un processus qui peut être réversible ou irréversible, il entraîne une perte totale ou partielle de l'activité biologique. Il produit très souvent un changement de solubilité de la protéine, la digestibilité des protéines dénaturées à la chaleur est supérieure à celle des protéines natives. Les protéines chauffées précipitent dans le milieu acide de l'estomac en particules plus fines et donc plus dispersées. Elles sont ainsi plus accessibles aux enzymes hydrolytiques qui agissent plus facilement sur une protéine ouverte. Le meilleur coefficient d'utilisation digestive des laits pasteurisés et UHT comparés au lait cru est le témoin de cette différence.

Le traitement à la chaleur permettrait aussi de neutraliser certains inhibiteurs naturels du lait, des anti-trypsines notamment, à haute température une réaction de Maillard peut se déclencher, cette réaction résulte principalement de la condensation entre le lactose et la β -lactoglobuline (ADRIAN et LEPEN, 1987).

- Influence du chauffage sur β -Lg

La dénaturation de la β -Lg se déroule en deux étapes, la molécule initialement sous forme de dimère se dissocie et se présente à l'état de monomère puis, dans un deuxième temps, le déploiement de la chaîne moléculaire. Le degré de dénaturation dépend à la fois de la durée et de l'intensité du traitement thermique. Ainsi, en prolongeant l'exposition de la β -lactoglobuline aux températures plus grandes ou égales à 65°C (figure 01), l'ouverture des structures tertiaires et secondaires est accentuée, rendant le sulfhydryle encore plus réactif (De

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

la FUENTE *et al.*, 2002), pour une durée égale d'exposition à la chaleur, les températures plus élevées permettent d'atteindre une dénaturation plus importante (De WIT, 2009).

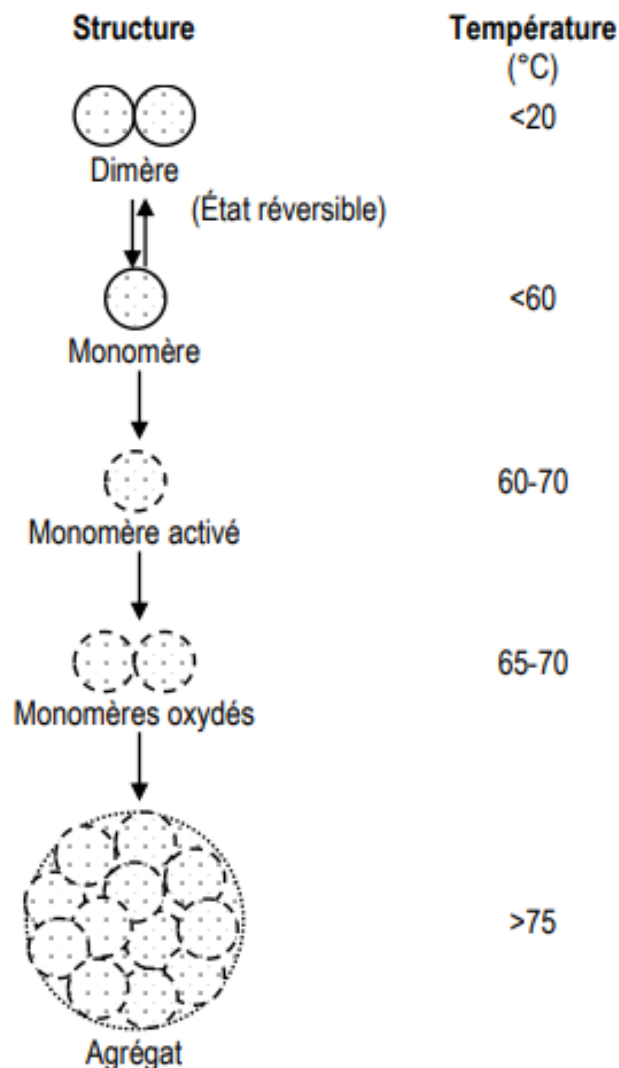


Figure 01 : Les différentes structures de la β -lactoglobuline après traitement thermique (de WIT, 2009).

- Influence du chauffage sur l' α -la

L'absence de thiol libre dans la structure de l' α -lactalbumine la rend moins réactive que la β -lactoglobuline, mais la présence de deux ponts disulfures et une fonction thiol libre la rend particulièrement résistante aux traitements thermiques. Elle est si peu réactive qu'elle aurait besoin d'un catalyseur tel qu'une protéine portant un groupement sulfhydryle libre pour former des homopolymères (HAVEA *et al.*, 2001). MORR et HA (1993) rapportent qu'après

CHAPITRE I GENERALITES SUR LE LAIT

avoir été chauffée pendant 15 minutes à 95°C, elle serait capable de retrouver 40% de son état natif après refroidissement.

Matériel et méthodes

MATERIEL ET METHODES

2. Matériel et méthodes

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

2.1. Matériel

2.1.1. Matière première

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

Tableau VIII: Origine des échantillons de lait étudiés

Lait	Période de collecte	Région de collecte
Lait de vache	Mai 2021	Fréha
Lait de brebis	Mai 2021	M'chedallah
Lait de chamelle	Mai 2021	Ain Oussara
Lait de chèvre	Mai 2021	M'chedallah

2.1.2. Appareillage

- pH mètre (HANNA) ;
- Centrifugeuse réfrigérée(SIGMA) ;
- Balance analytique et balance de précision ;
- Agitateur ;
- Spectrophotomètre UV-visible (SHIMADZU, Japon);
- Bain marie (MEMMERT, Allemagne) ;
- Unité d'électrophorèse en mini cuve (HOEFFER, USA) composée de gel, cuves de migration horizontale et verticale, générateur de courant (max 250V, 100mA), plaques en verre et en alumine, espaceurs.

2.1.3. Petit matériel

Un nombre de petit matériel et d'accessoires spécifiques sont utilisés dans cette étude :

MATERIEL ET METHODES

- Micropipette/ micro-seringue Hamilton/papier filtre Whatman/ laine de verre/
- Verrerie (fiolle jaugé, bécher, éprouvette, entonnoir, tubes à essai,...)

2.1.4. Produit chimique et réactifs

Acrylamide, N, N'-méthylène-bis-acrylamide, bleu de bromophénol, glycérol, bleu de Coomassie R250, glycine, persulfate d'ammonium 10%, TCA, acide acétique, TEMED, tris, réactif de Gornall, BSA.

2.2. Méthodes

2.2.1. Collecte du lait

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

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

2.2.2. Analyses physico-chimiques

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

2.2.2.1. Mesure du pH

La mesure de pH est effectuée à une température de + 23°C, à l'aide d'un pH mètre. La valeur du pH est lue directement sur l'appareil, après immersion de son électrode dans l'échantillon à analyser. Le pH mètre est préalablement étalonné avec des solutions de pH connues.

2.2.2.2. Détermination de la teneur en protéines

La concentration en protéines des échantillons de lait étudiés est déterminée par la méthode de Biuret. C'est une méthode de dosage colorimétrique rapide, développée par GORNALL *et al.*, (1949).

Le principe de cette méthode est basé sur l'obtention d'un complexe pourpre entre le biuret (NH₂-CO-NH-CO-NH₂) et deux liens peptidiques consécutifs en présence de cuivre en milieu alcalin, le complexe de coordination résultant absorbe fortement à 540 nm.

Les DO obtenues à cette longueur d'onde permettent de déterminer les concentrations des protéines des échantillons analysés en se référant à une courbe d'étalonnage (DO=f(c)) obtenue en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine étalon (figure 02), la teneur en caséines est obtenue par la différence entre les PT et PS.

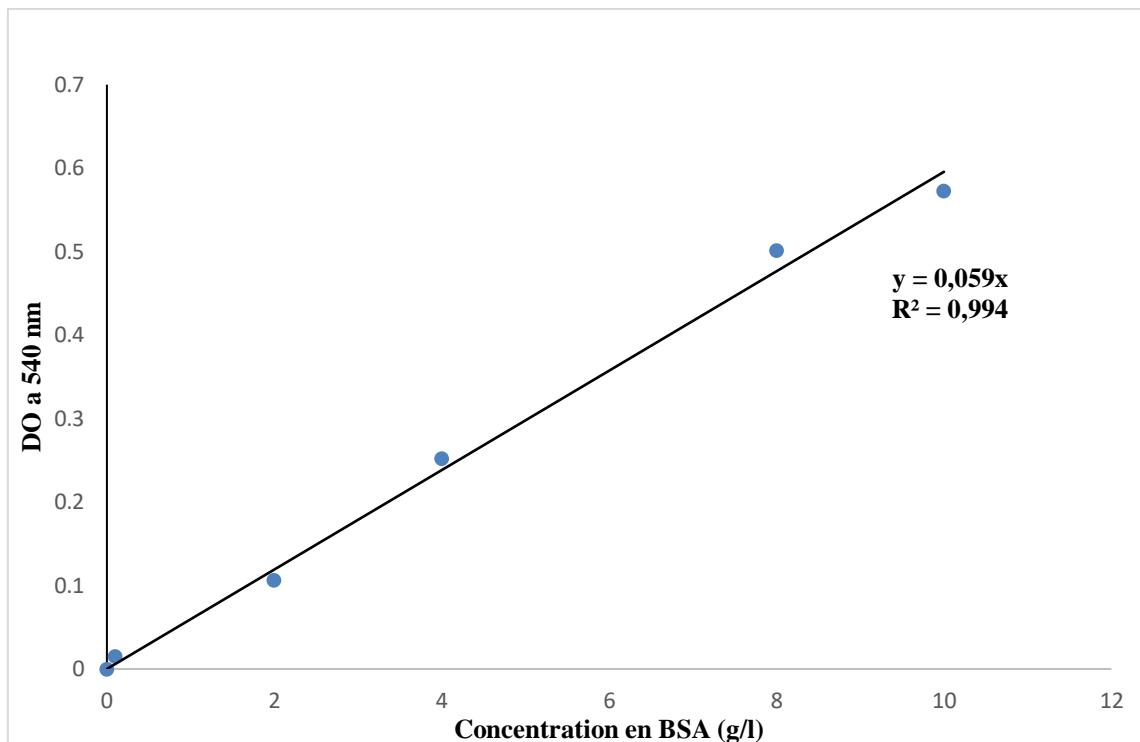


Figure (02) : Courbe étalon de dosage des protéines par la méthode de Biuret, en utilisant la BSA comme protéines de référence

2.2.3. Isolement des protéines sériques

Les protéines sériques sont séparées des autres constituants du lait à des fins de dosage et de contrôle électrophorétique. L'isolement est obtenu en passant par les différentes étapes en (figure 03) :

- **Ecrémage**

L'écémage constitue la première étape du protocole d'isolement des protéines des échantillons du lait entier. Il consiste à éliminer la matière grasse du lait par centrifugation à 4000 g pendant 20 min et à 4°C.

A la fin de la centrifugation, on obtient une séparation de phase avec la formation d'une couche en surface qui correspond à la crème (MG), ensuite la crème est écartée à l'aide d'une spatule et le lait écrémé est filtrée à travers la laine de verre, cette opération est répétée deux fois afin d'éliminer totalement la matière grasse.

- **Acidification**

La séparation des caséines et protéines sériques a été réalisée par acidification avec du HCl 4N des laits jusqu'aux pH isoélectriques (pHi) des caséines qui sont 4,6 pour le lait bovin, 4,2

MATERIEL ET METHODES

pour les laits caprin et ovin et 4,3 pour le lait camelin (WANGOH *et al.*, 1998). Les laits ainsi acidifiés sont centrifugés à 4000 g pendant 20 min à +20°C.

Les surnageants qui correspondent aux protéines sériques sont neutralisés à pH 7,00 avec une solution de NaOH 1N puis acidifiés une deuxième fois et centrifugés afin d'éliminer les résidus de caséines.

- Dialyse

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

- Congélation et lyophilisation

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

2.2.4. Traitement thermique

Les échantillons de lait écrémé sont répartis dans des tubes à essai fermés hermétiquement, ces tubes ne sont placés dans le bain marie qu'une fois que ce dernier a atteint la température voulue. Les températures et les durées du chauffage sont bien déterminées, les températures testées sont 70, 80,90 et 95°C pendant 20, 30, 40 et 60 min.

Le traitement est arrêté, les tubes sont placés immédiatement dans d'eau froide pour refroidissement. Les protéines solubles sont isolées en acidifiant le lait selon les étapes citées en figure 03 puis soumises à une analyse électrophorétique.

Les pourcentages de dénaturation thermique sont déterminés par la formule :

$$\text{PrD} = (\text{Pr} - \text{PrT}) * 100 / \text{Pr}$$

PrD : % des protéines dénaturées ;

Pr : quantité des protéines avant chauffage ;

PrT : quantité des protéines après chauffage à la température T pour une durée déterminée.

MATERIEL ET METHODES

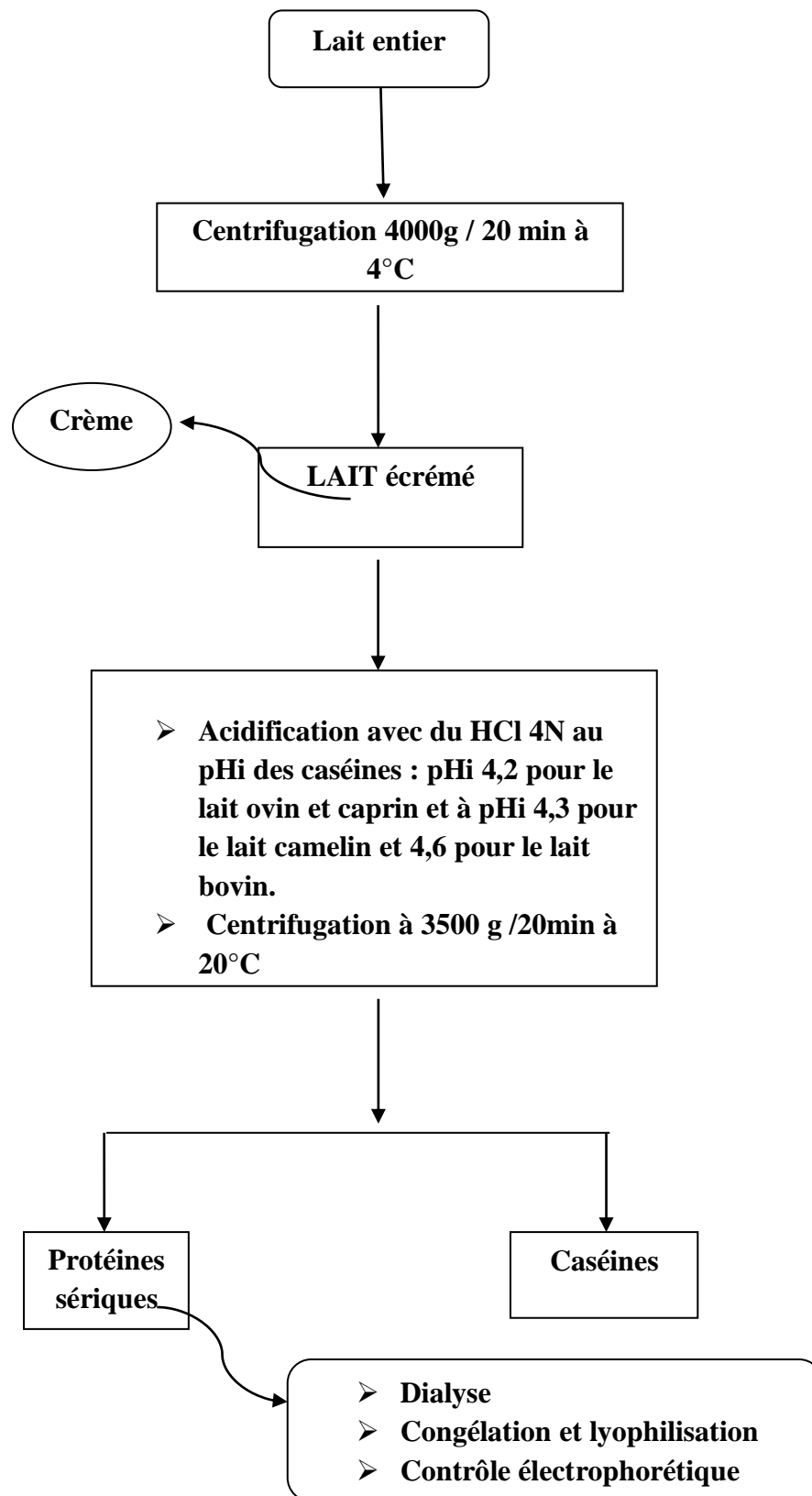


Figure 03: étapes suivies pour l'isolement des protéines sériques des différents laits.

MATERIEL ET METHODES

2.2.5. Méthodes électrophorétiques

2.2.5.1. Définition et principe général

L'électrophorèse est une méthode d'analyse basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'effet d'un champ électrique. Dans ces conditions, les protéines, du fait de leurs caractères amphotères, peuvent se comporter comme des anions ou des cations et se déplacer de ce fait soit vers l'anode ou la cathode et être visualisées sous formes de bandes de migrations distinctes selon leurs charges et leurs masses moléculaires.

2.2.5.2. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

- Conditions générales

Le gel de polyacrylamide est l'un des supports électrophorétiques les plus utilisés pour ces séparations en raison de ses multiples avantages (transparence, reproductibilité, 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 polymérisation est catalysée par un générateur de radicaux libres composé de persulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2 \text{S}_2\text{O}_8$) et de N, N, N, N-tetraméthylènediamine (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).

-Conduite de l'électrophorèse

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

Le mélange est immédiatement coulé entre deux plaques (en verre et en alumine) séparées par des espaceurs et enfin un peigne y est introduit permettant la formation des puits après polymérisation du gel.

MATERIEL ET METHODES

Les échantillons à analyser sont dissous à raison de 1 à 2mg/ml dans un tampon approprié et additionnés du bleu de bromophénol qui est un indicateur coloré qui détermine le front de migration des protéines et permet de détecter la fin de l'électrophorèse.

Les échantillons ainsi préparés sont déposés à raison de 10 à 20µl dans chaque puits après avoir monté sur l'unité d'électrophorèse les 2 plaques renferment le gel et remplis les cuves inférieurs et supérieurs de tampon d'électrode. L'unité est alors mise sous tension, courant et voltage constants : 10mA, 250V.

-PAGE en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE- native)

La PAGE native est réalisée selon la méthode de HILLIER,(1976), adaptée à un système de mini cuves HOFFER au niveau du laboratoire pédagogique de Biochimie, avec un gel de polyacrylamide de porosité (T=12% ; C=2,7%).

Le tampon de gel est constitué de tris 0,75M, pH 8,9, le tampon d'électrode contient du tris 5 mM, de la glycine 77 mM, pH 8,3.

Les échantillons sont dissous dans le tampon d'échantillon composé du tampon de gel, de l'eau distillée et du glycérol 50%.



Figure 04: Photographie d'une unité d'électrophorèse (HOEFFER SE260)

A : générateur de courant ; B : cuve de migration

-Révélation des bandes de migration

A la fin de la migration, les protéines sont fixées avec l'acide trichloracétique (TCA) 12% (p/v) pendant 45 min puis colorées pendant 1h avec une solution de bleu de coomassie R250, la décoloration du gel s'effectue, sous agitation dans une solution de décoloration (annexe 02).

Résultats
Et
Discussion

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3. Résultats et discussion

3.1. Analyse physicochimique des échantillons de lait étudiés

3.1.1. Mesure du pH

Le pH est un bon indicateur sur l'état de la fraîcheur du lait (LUQUET, 1985). Les valeurs moyennes du pH mesurées sur les échantillons de lait étudiés sont représentés dans le tableau suivant.

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

Paramètre	Lait de Vache (LV)	Lait de Brebis (LB)	Lait de Chèvre (LC)	Lait de Chamelle (LCH)
pH à 20°C	6,70± 0,005	7,04± 0,005	7,00± 0,005	6,66± 0,010

La moyenne du pH se situe dans l'intervalle (6,4 – 6,9) fixé par la FAO (1995), ces valeurs sont aussi en concordance avec celles rapportées par plusieurs auteurs (REMEUF *et al.*, 2001; BAMOUH, 2006 ; DIAO, 2000). Le pH des laits étudiés est conforme aux normes indiquées.

Les pH du lait de chèvre et de brebis sont les plus élevées avec une moyenne égale $7 \pm 0,005$, la valeur du lait de chèvre est dans l'intervalle des valeurs mentionné par REMEUF (1994).

Selon MATHIEU (1998), le pH du lait varie d'une espèce à une autre, il dépend de la richesse du lait en certains constituants, particulièrement, en phosphates, citrates et caséines. Or il est connu que le lait de brebis est particulièrement riche en ces constituants que les autres espèces (CHILLIARD et SAUVANT, 1987 ; MATHIEU, 1998). Toutefois, la valeur du pH du lait de brebis obtenu dans la présente étude est proche de celle rapportée par JAUBERT (1997) (6,98). Alors que, la valeur moyenne obtenue pour le lait de vache est égale à $6,7 \pm 0,005$ proche de celle rapportée (6,44 à 6,71) par LABIOUI *et al.*, (2009).

Le pH du lait camelin est le plus faible par rapport aux autres laits étudiés avec une moyenne de $6,66 \pm 0,01$. Plusieurs auteurs ont rapporté des valeurs supérieures qui peuvent varier de 6,6 à 6,8 selon RAHLI (2015). La forte concentration en acides gras volatiles (YAGIL, 1985) et la teneur relativement élevée en vitamine C du lait de dromadaire font diminuer le pH de celui-ci (YAGIL, 1985 ; FARAH *et al.*, 1992 ; SALEY, 1993 ; HADDADIN *et al.*, 2007).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1.2. Taux des protéines

Les teneurs en protéines totales (PT) et en protéines sériques (PS) pour les laits de Vache, Brebis, Chèvre et Camelin sont rapportées dans le tableau (X).

Tableau X : Teneurs moyennes en protéines en (g/l) des laits bovin, caprin, ovin et camelin.

Laits	PT	PS	CN
Vache	30,00 ± 0,00	12,82± 0,08	17,18±0,00
Brebis	50,50 ± 1,35	13,03± 0,46	37,46±0,89
Chèvre	28,30± 3,22	09,46± 2,04	18,84± 1,18
Chamelle	32,53± 1,50	06,48± 0,28	26,05± 1,20

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

3.1.2.1. Teneur en protéines totales

Selon les résultats obtenus, il est à constater que le lait de brebis présente une teneur élevée en protéines totales (50,50±1,35). Celle-ci est proche de ce qui a été rapporté par PELLIGRINI, (1994) (53,5g/l), MARTINI *et al.*, (2008) (53 et 57 g/l), YABRIR, (2014) (38,6-67,7 g/l) et CLAEYS *et al.*, (2014) (45-70 g/l). Néanmoins, cette teneur en protéines semble inférieure à celle citée par d'autres auteurs (SIMOS *et al.*, 1996 ; HILALI, 2001; ROUISSI *et al.*, 2006 ; CASTRO *et al.*, 2009 ; COZMA *et al.*, 2011) qui ont trouvé des résultats qui se situent entre 60 et 80 g/l.

Les fluctuations importantes dans les valeurs rapportées par plusieurs recherches concernant cette richesse en protéines du lait de brebis seraient dépendantes de plusieurs facteurs tels que la race, l'alimentation, le stade de lactation, la santé de l'animal, la saison (PAVIC *et al.*, 2002).

Le dosage de la fraction protéique du lait de vache donne une teneur moyenne en protéines totales de l'ordre de 30g/l, elle est proche de celle du lait de chèvre (28,3g/l). Le résultat obtenu est proche aux normes du JORA (1998) (31g/l et 33g/l) et aux normes FIL- AFNOR (1986) ainsi qu'aux résultats d'ALAIS et BLANC (1975), qui rapportent une teneur moyenne en protéines allant de 32 g/l à 34g/l. Ces teneurs sont également en concordance avec celles

RESULTATS ET DISCUSSIONS

rapportées par EVERSLED et *al.*, (2006) ; DECNDIA et *al.*, (2007) et ZAHRADEEN et *al.*, (2007) qui ont avancé des taux allant de 30 g/l à 35 g/l.

Quant au lait camelin, il présente une teneur moyenne en protéines totales de 32,53 g/l \pm 1,5. Cette valeur est très proche de celle trouvée par SI AHMED ZENNIA, (2015) (31 g/l) et (SIBOUKEUR A. et SIBOUKEUR O., 2012) (35,68g/l) dans des échantillons de lait de chamelle du sud d'Algérie et par SHAMSIA, (2009) (34,6 g/l) . Toutefois, ALLOUI-LOMBARKIA *et al.*, (2007) ont rapportés des taux relativement faibles (29,42 g/l et 29,48 g/l).

Concernant la concentration des protéines du lait de chèvre (28,30 g/l), elle est relativement similaire à celle rapportée par plusieurs études : MAHIEU et *al.*, (1977) (27,8 g/l), REMEUF et LENOIR, (1985) (27,2 g/l) VASSAL et *al.*, (1994) (27,1 g/l) et RAYNAL-LJUTOVAC et *al.*, (2008) (26,1 g/l).

De nombreux auteurs comme SRAIRI, (2008), ont montré qu'un régime alimentaire basé sur l'herbe entraîne la baisse des taux de protéines et de matière grasse du lait de vache, tandis qu'un régime à base de blé induit une élévation de ces teneurs. WOLTER, (1997) a montré que l'élevage par ensilage de maïs, de betterave entraîne une augmentation du taux des protéines, alors que l'élevage par l'herbe ou l'ensilage médiocre, entraîne son abaissement (BOUZID et LABIDI, 2016). Enfin, les races et les conditions saisonnières en particulier influenceraient également la teneur en protéines du lait (AL HADJ et KANHAL, 2010).

3.1.2.2. Teneur en protéines sériques

Le tableau (10) révèle des teneurs variables en protéines sériques des différents laits étudiés: des teneurs de 13,03 g/l et 12,82 g/l ont été enregistrées pour le lait de brebis et le lait de vache, respectivement. Alors que, des taux plus faibles ont été observés dans le lait de chèvre (9,46 g/l) et le lait de chamelle (6,48/l).

Concernant le lait ovin, les résultats enregistrés dans la présente étude sont les mêmes que celles rapportées par PELLIGINI et *al.*, (1994) (9,46g/l) et supérieures à celles enregistrées par MOUALEK (2011) (5,5 à 6,8 g/l) et par MAYER et FIECHTER, (2012) (6,3g /l).

Dans le lait de chamelle, le résultat obtenu est proche de celui avancé par FARAH (1993) (7 g/l), toutefois, des teneurs supérieures ont été rapportées par (ABU LEHIA, 1987) (9 g /l), (BAYOUMI, 1990) (10 g /l), KIHAL et *al.*, (1999) (8,5 g/l), SIBOUKEUR, (2007) (7,51g /l) et SI AHMED ZENNIA, (2015) (8 g/l).

Le taux des protéines sériques dans le lait de chèvre obtenu (9,46 g/l) est légèrement inférieur à celui rapporté par ZOBIRI, (2021) soit 11,56 g/l, alors que MOUALEK, (2011) a observé un taux de 6g/l.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1.2.3. Teneur en caséines

Concernant le taux des caséines des différents laits étudiés, le tableau (X) révèle que le lait de vache et le lait de chèvre ont des teneurs proches en caséines 17,18 g/l et 18,84 g/l, respectivement. Quant au lait de brebis, il présente la teneur la plus élevée en caséines (37,46 g/l). Alors que le lait de chamelle présente une teneur moyenne de 26,05 g/l.

Le taux des caséines obtenu dans le lait de chèvre est proche à celui évoqué par PIERRE *et al.*, (1998) avec 17,4g/l et ROUDJ, (2005) qui est 20,85 g/l. Alors que d'autres études ont avancé des taux plus élevés, à citer MOUALEK, (2011) (19,3 et 22,5g/l) et MASL et MORGAN, (2001) (24,1g/l).

Pour le lait de chamelle SIBOUKEUR, (2007) et SI AHMED ZENNIA, (2015) ont rapporté des teneurs en caséines proches de celles enregistrées dans la présente étude, à savoir, 28,15 g/l et 23 g/l, respectivement. Cependant, KAMOUN, (1995), HADDADIN *et al.*, (2007) et ALLOUI-LOMBARKIA *et al.*, (2007) ont rapporté des taux plus faibles (19,7 g/l, 19,8 g/l et 21,3 g/l, respectivement).

En ce qui concerne le lait de brebis, la valeur obtenue (37,46 g/l) est proche de celle avancée par YABRIR, (2014) (38,6 à 67,7 g/l).

La teneur en caséines du lait de vache étudié (17,18 g/l) est faible par rapport à celle rapportée par IMRAN *et al.*, (2008) (21,8 g/l).

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

Le comportement électrophorétique des protéines sériques isolées est étudié sur gel de polyacrylamide (PAGE) dans des conditions non-dénaturantes et non-dissociantes. Dans ces conditions, la protéine se trouve à l'état natif, sa mobilité dépend à la fois de sa charge et de son PM.

La figure (05) montre le profil électrophorétique en PAGE native des protéines sériques des échantillons de lait étudiés.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

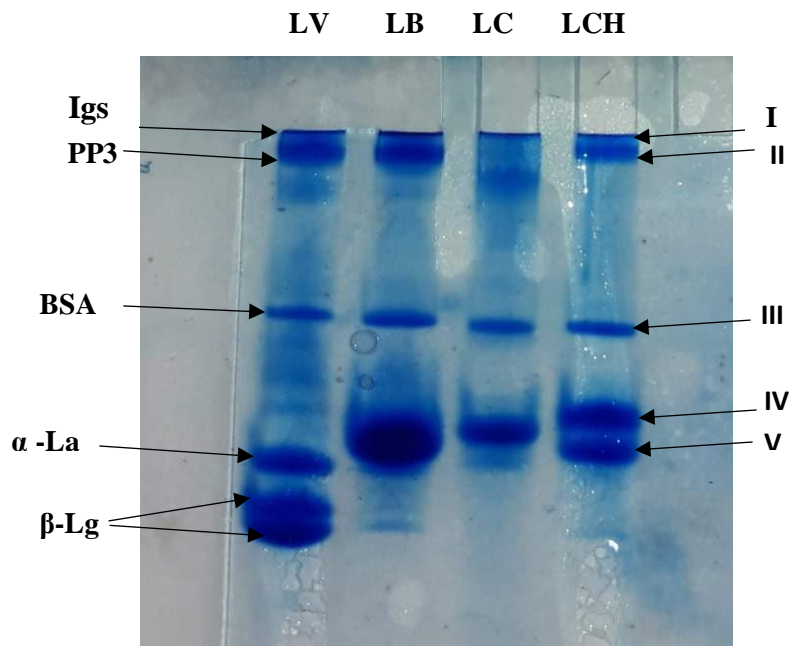


Figure 05: Profil électrophorétique des protéines sériques en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9) ;

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

L'analyse du profil électrophorétique (figure 05), montre que les protéines sériques du lait bovin dans les conditions natives migrent en six bandes. Dans l'ordre croissant de leurs mobilités électrophorétiques et en se basant sur des données bibliographiques, on distingue : les immunoglobulines, le composant -3- des protéose-peptones (PP3), l'albumine sérique bovine, l'alpha-lactalbumine et les deux variants de la β -lactoglobuline (A et B). Des profils similaires sont observés pour les séroprotéines caprines et ovines, cependant, il est à relever l'absence de la bande électrophorétique qui correspond à la β -lg dans le lactosérum du lait camelin. L'absence de cette protéine a été constatée par FARAH, (2004), SIBOUKEUR, (2008), SENOUSSE, (2011), EL-HATMI *et al.*, (2015) et SI AHMED ZENNIA ,(2015).

La comparaison du profil électrophorétique des séroprotéines bovines à celui obtenu des espèces étudiées révèle que :

Les protéines du lactosérum camelin migrent en cinq bandes, la bande (I) se trouvant au même niveau que les Igs bovins pourraient correspondre à leurs homologues camelins. La bande (II) intense et migre au même niveau que la BSA pourrait correspondre à cette protéine dans le lait de dromadaire .Quant à la bande (IV), elle désigne l' α -La cameline qui se situe au même niveau que la protéine bovine. Les deux bandes (III) et (V) qui n'ont pas d'homologues

RESULTATS ET DISCUSSIONS

bovins pourraient correspondre à l' α -La désamidée du lait camelin. Dans ce contexte, SI AHMED *et al.*, (2015) ont démontré que les variants génétiques de l' α -La cameline rapportés par CONTI *et al.*, (1985) ne sont que des formes de l' α -La désamidée. La désamidation non enzymatique de cette protéine a eu lieu sur les résidus Asn16 et Asn45. Les trois isoformes de l' α -La cameline ont des points isoélectriques différents qui correspondent à 5,63 ; 5,36 et 5,05.

Les protéines sériques du lait ovin étudié migrent également en cinq bandes, notées de I à V. Celles-ci pouvant correspondre aux mêmes espèces protéiques retrouvées dans la fraction sérique bovine. Les premières bandes seraient assignées aux immunoglobulines (Ig) et au composant-3 des protéose-peptones (PP3), ces entités ont une mobilité électrophorétique faible compte tenu de leurs particularités structurales (MATI *et al.*, 1991). Concernant les trois dernières bandes, elles sont bien apparentes et correspondent selon PESIC *et al.*, (2011b) à la BSA, l' α -La et la β -Lg.

Dans le lait caprin, Les protéines sériques migrent en cinq bandes distinctes qui correspondraient aux mêmes espèces protéiques bovines. Il est à distinguer une bande fine qui se situe au même niveau que les Igs bovines, qui pourraient correspondre à la même espèce protéique dans le lait caprin (MOUALEK, 2011). Une autre bande qui migre aussi au même niveau par rapport au PP3 bovin pourrait correspondre à son homologue caprin.

Les bandes (III), (IV) et (V) présentent des niveaux de migration différents des protéines bovines, mais selon l'ordre de leur migration, elles pourraient correspondre à la BSA, l' α -lactalbumine et à la β lactoglobuline. Ce constat a été rapporté par AMIGO *et al.*, (1992), qui a situé les bandes caractéristiques à l' α -lactalbumine et à la β lactoglobuline bovines plus en avant que leurs homologues caprines.

Les travaux de GROSCLAUDE *et al.*, (1987) et de KUMAR *et al.*, (2006) ont montré l'existence de deux variants de la bêta-lactoglobuline caprine ce qui peut expliquer l'intensité de la dernière bande.

3.3. Etude de la sensibilité des séroprotéines bovines, ovines, caprines et camelines aux traitements thermiques

L'étude de l'effet du chauffage sur les protéines sériques permet de comprendre le comportement de ces protéines lors des différents processus technologiques appliqués sur le lait. L'effet des traitements thermiques sur les protéines du lait de vache a fait l'objet de plusieurs études, cependant, il est à noter que très peu de travaux sont réalisés sur le lait des autres espèces animales (lait ovin, caprin et camelin).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

La sensibilité des séroprotéines bovines, ovines, caprines et camelines a été étudiées en appliquant différentes températures pendant des temps différents. Les résultats de la dénaturation sont exprimés sous forme de profils électrophorétiques.

3.3.1. Comportement électrophorétique après les traitements thermiques

La figure (06) montre les profils électrophorétiques obtenus lors du chauffage des protéines sériques des laits bovin, caprin, ovin et camelin à 70, 80, 90 et 95°C pendant 20, 30, 40 et 60 min respectivement.

L'examen des profils électrophorétiques obtenus en PAGE-native (figure 06, A) montre que la sensibilité des séroprotéines des laits étudiées est différente vis-à-vis des températures du chauffage appliquées. Il est à noter que les Igs sont les plus sensibles au traitement thermique suivis par la BSA puis la β -Lg, enfin l' α -La qui s'avère la plus résistante.

Les profils montrent que la SA bovine, ovine, caprine et cameline n'est pas complètement dénaturée lors de chauffage à 70°C, car la bande électrophorétique qui la caractérise persiste après 1 heure de chauffage avec une faible intensité.

La sensibilité de la sérum albumine au chauffage a été rapportée par l'étude de EMOND, (2014) qui a montré que des températures entre 40°C et 50°C sont suffisantes pour ouvrir partiellement sa structure. HAVEA et *al.*, (2001) ont constaté que la BSA est plus sensible au traitement thermique que la β -lactoglobuline, au-delà de 50°C, sa structure est dénaturée de manière irréversible et l'homopolymérisation est observée (MORIYAMA et *al.*, 2008; SU et *al.*, 2008).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

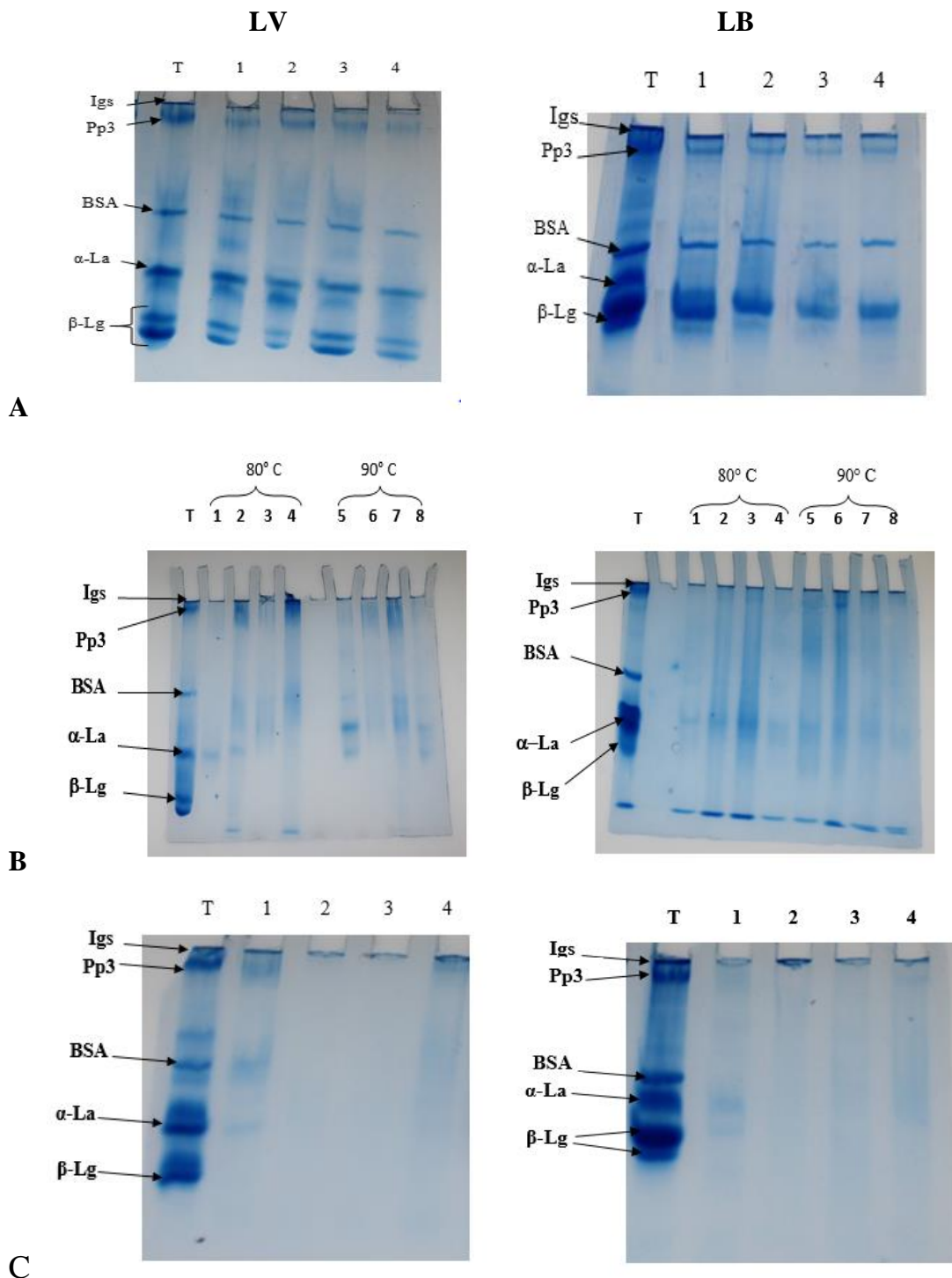


Figure 06: Profil électrophorétique en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9)) des protéines sériques après différents traitements thermiques : A : 70°C ; B : 80°C et 90°C ; C : 95°C ; T: protéines sériques du lait cru ; 1, 2, 3 et 4 temps de chauffage correspondant respectivement à 20, 30, 40 et 60 min à 70°C ; PS : protéines sériques ; LV : lait de vache; LB: lait de brebis.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

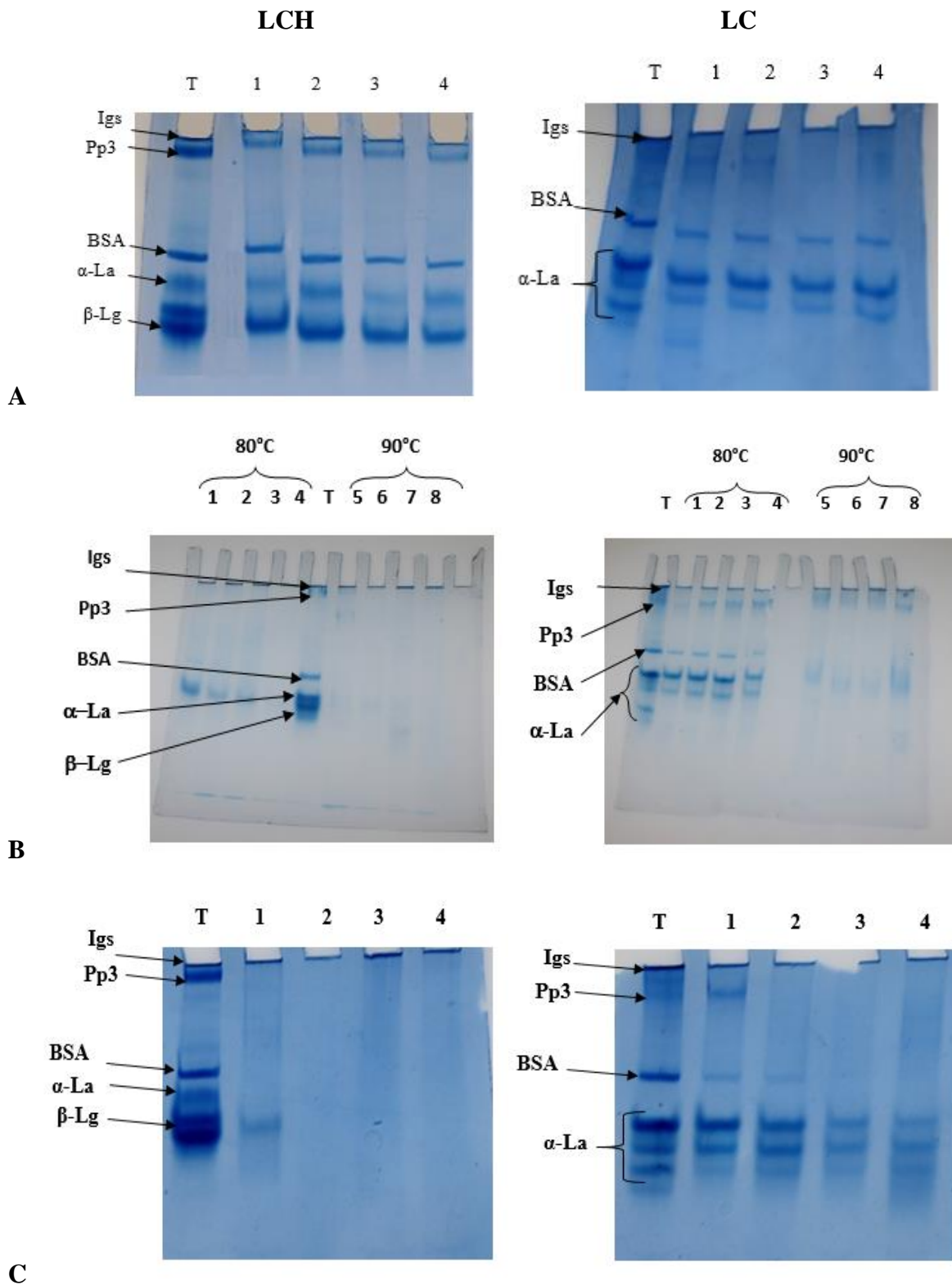


Figure 07: Profil électrophorétique en PAGE-native (T= 12% ; C=2,7% ; pH=8,9)) des protéines sériques après différents traitements thermiques : A : 70°C ; B : 80°C et 90°C ; C : 95°C ; T: protéines sériques du lait cru ; 1, 2, 3 et 4 temps de chauffage correspondant respectivement à 20, 30, 40 et 60 min à 70°C ; PS : protéines sériques ; LCH : lait de chèvre ; LC : lait de chamelle.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

MORR et HA, (1993) ont constaté que les immunoglobulines sont relativement stables aux traitements thermiques, mais cela est uniquement observable lorsqu'elles sont isolées. Par contre en présence d'autres protéines du lactosérum (BSA, β -Lg...) elles deviennent les plus sensibles ce qui concorde avec les résultats obtenus dans la présente étude.

L'intensité des bandes qui correspondent à β -Lg pour le lait bovin, ovin et caprin apparaît plus faible après 30 min de chauffage à 70°C, il a été observé qu'avec l'élévation de la température les sous-unités de la β -Lg se dissocient à n'importe quel pH du milieu (De WIT, 2009). Après dissociation, seulement quelques ponts hydrogènes intramoléculaires sont rompus, mais la protéine conserve la grande majorité de sa structure tertiaire ce qui veut dire qu'elle n'est pas totalement dénaturée, néanmoins les revues de De WIT (2009), De La FUENTE (2002) et MORR (1993) s'entendent pour dire qu'à 65°C les changements de la structure tertiaire sont suffisamment importants pour exposer les régions hydrophobes et activer le groupement sulfhydryle libre et que la protéine ne puisse plus retrouver son état natif.

L'étude de HAVEA et *al.*, (2001) a montré que le nombre élevé de ponts disulfures de l' α -lactalbumine la rendent particulièrement résistante aux traitements thermiques, ceci est observé dans la présente étude, particulièrement pour l' α -La cameline et bovine. MORR et HA, (1993) ont rapporté qu'après chauffage à 77°C, l' α -La serait capable de retrouver 90% de son état natif lors du refroidissement.

En analysant les profils électrophorétiques obtenus en PAGE- native (figure 06 B), il est à constater qu'un traitement de 80°C entraîne la dénaturation de la plupart des séroprotéines pour les laits bovin, ovin et caprin où nous constatons la disparition des bandes électrophorétiques qui les caractérisent. Cependant, dans les mêmes conditions les protéines sériques camelines sont plus stables, mais les bandes électrophorétiques apparaissent moins intenses.

À 90°C, nous remarquons que les mêmes profils se dessinent pour les espèces bovine, ovine et d'une plus intense pour l'espèce caprine, alors que dans le lait de chamelle il ya persistance de la bande qui caractérise l' α -La avec un aspect moins intense.

Lors du chauffage à 95°C (la figure 06, C), les profils électrophorétiques mettent en relief l'absence et la disparition de bandes caractérisant les séroprotéines (Igs, BSA, α -lactalbumine et β -Lg) du lait bovin, ovin, caprin ce qui veut dire que ces protéines sont dénaturées. En parallèle, il est à constater l'apparition de nouvelles bandes électrophorétiques stables de très faible intensité durant le traitement appliqué dans le lait bovin et camelin après 20 min de

RESULTATS ET DISCUSSIONS

chauffage, ces bandes pourraient correspondre à la fraction des protéose peptones qui sont connus pour leur thermorésistance.

Les résultats observés correspondent à ce qui a été cité par la bibliographie (De WIT, 2009), un traitement thermique plus poussé permet d'atteindre une dénaturation plus importante. Concernant l' α -La, lorsqu'elle est chauffée 15 minutes à 95°C, elle serait capable de retrouver son 40% de son état natif après refroidissement (MORR et HA, 1993). Byrne et FITZPATRICK (2002) ainsi que TAYLOR et FRYER (1994) ont constaté que le prolongement du temps de résidence qui correspond à la durée pendant laquelle la protéine est maintenue à la température de dénaturation, permet une dénaturation plus poussée de celle – ci.

3.3.2. Comparaison inter-espèces des taux de dénaturation thermique des séroprotéines

La diminution de la teneur en protéines sériques solubles est considérée comme le critère de dénaturation, la dénaturation est évaluée par le calcul des pourcentages de dénaturation thermique.

L'étude de la dénaturation en fonction de la durée du chauffage (figure 07, A) montre qu'à 70°C les taux de dénaturation enregistrés sont plus importants pour les protéines sériques du lait de chèvre par rapport aux autres laits, car un taux de 60,97% de dénaturation est constaté après 60 min de chauffage. Alors des taux de 48,58%, 46,80% et 40,12% ont été enregistrés pour les protéines sériques ovines, bovines et camelines, respectueusement.

Les résultats obtenus suite à ce traitement thermique concordent avec ce qui a été rapporté par les données bibliographiques. Dans ce contexte, HARLAND et *al.*, (1952) ont observé qu'un chauffage à 74°C pendant 2 minutes dénature 10% de protéines sériques du lait. Quant à TAGARI et ROY (1969), ils ont enregistrés des taux de 50% suite au même traitement pendant 30 minutes.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

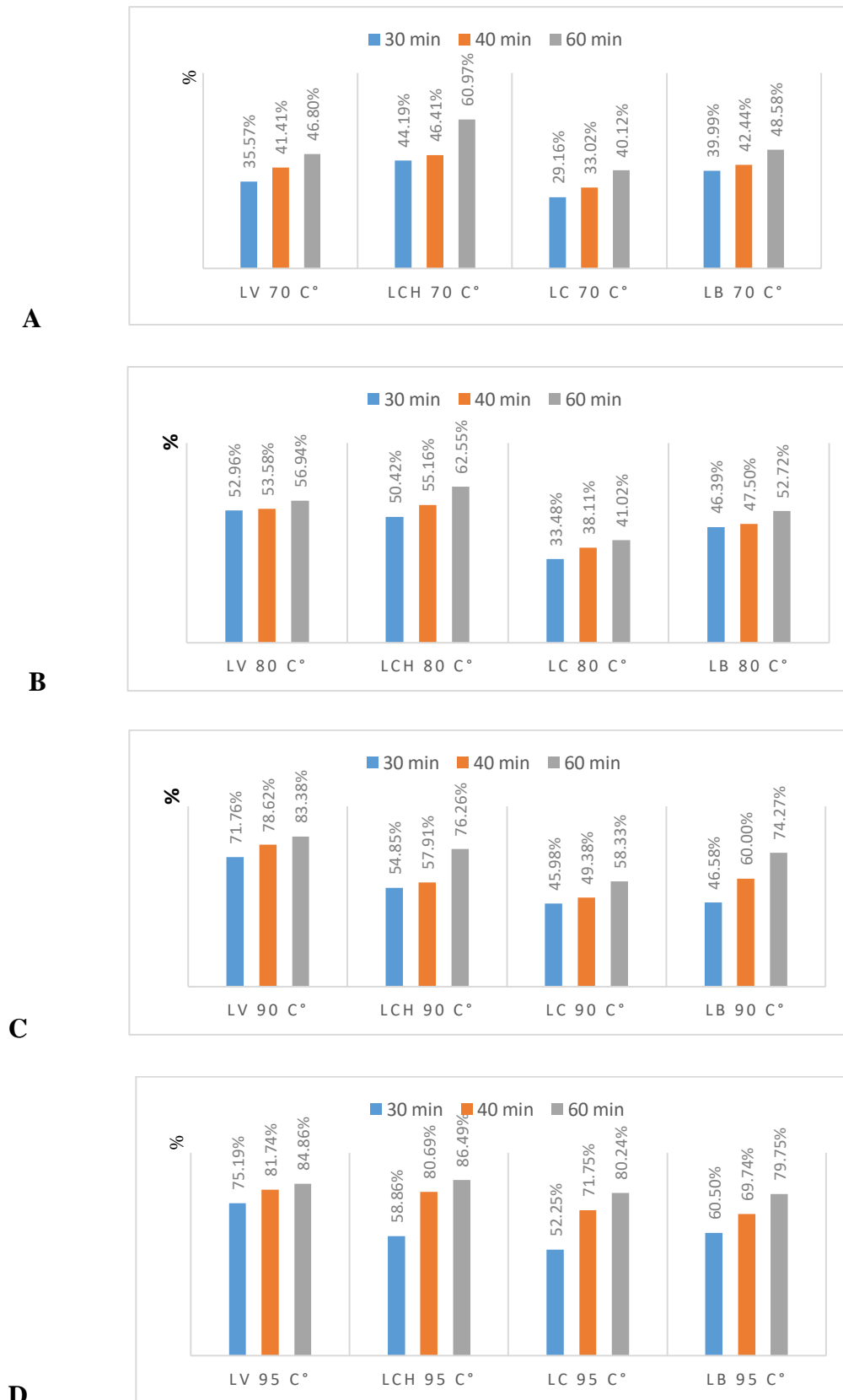


Figure 08 : Représentation des taux de dénaturation des protéines sériques après traitements thermiques A : 70°C ; B : 80°C et 90°C ; C : 95°C, des : LV : Lait de vache ; LCH : lait de chèvre ; LC : lait de chamelle ; LB : lait de brebis, pendant 30 ; 40 et 60min respectivement.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'étude de la dénaturation en fonction du chauffage (figure 07, B) montre que à la température 80°C que la dénaturation est plus élevée dans le lait de chèvre à 80°C/60min, on remarque que plus de la moitié de protéines sériques qui se sont dénaturés avec un taux de 62,55% par rapport à d'autres laits, suivi de lait de brebis et de vache qui donnent un pourcentage de dénaturation proche à la même température et au même temps(même conditions), 52,71% pour le lait de brebis et 56,94% pour lait de vache et selon la figure 08 on a analysé que la moitié des séroprotéines qui sont dénaturé pour toutes les espèces(LV, LB, LCH) à 80° C pendant 30,40 et 60 minutes à l'exceptions de lait camelin qui semble résistant à 80° C/60 minutes et cela après l'enregistrement d'un taux de dénaturation inférieur à 50%.

A 90°C (figure 07, C) et 95°C (figure 07, D), la dénaturation thermique est plus prononcée pour les séroprotéines bovines et ovines comparativement à leurs homologues camelines et caprines. Il a été constaté qu'à 95°C pendant 30 minutes, des taux de 84,86% et 86,49% ont été observés pour les protéines bovines et caprines, respectivement. Après 40 minutes de chauffage à la même température, les séroprotéines camelines semblent plus sensibles que les séroprotéines caprines, car un pourcentage de 71,75% a été observé dans le lait de chamelle contre 69,74% dans le lait chèvre.

Conclusion générale

CONCLUSION

Conclusion générale

La production du lait de vache occupe une place importante parmi les autres espèces laitières, cependant les quantités produites ne parviennent pas à satisfaire les besoins du consommateur. L'élevage des espèces caprine, cameline et ovine est très marginalisé, alors que l'apport en lait de ces espèces peut couvrir une part non négligeable des besoins.

La présente étude est entreprise dans le but de contribuer à une meilleure connaissance des protéines du lactosérum du lait de vache, chèvre, brebis et chamelle, ainsi que d'étudier le comportement de cette fraction suite à différents traitements thermiques. L'effet du chauffage sur les séroprotéines est évalué par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE) en conditions natives et par estimation des pourcentages de leur dénaturation.

Les protéines sériques des quatre laits étudiés sont isolées des caséines par précipitation acide à leur différent pHi puis dosées. Les résultats du dosage font ressortir la richesse du lait de brebis en protéines comparativement aux autres laits où des taux de 50,50 g/l et 13,03 g/l ont été enregistrés pour les protéines totales et les séroprotéines, respectivement.

La caractérisation électrophorétique des protéines des laits étudiés montre des profils qui se ressemblent avec la particularité de l'absence de la β -lactoglobuline dans le lait camelin.

L'étude de la sensibilité des séroprotéines au chauffage montre que les protéines camelines sont très résistantes à la dénaturation thermique par rapport à leurs homologues bovins, ovins et caprins. Un pourcentage de dénaturation de 52,25% a été noté suite à un chauffage de 95°C pendant 30 min alors que des taux de 58,86% ; 60,50% et 75,19% sont enregistrés pour les séroprotéines caprines, ovines et bovines, respectivement.

Les résultats de cette étude incitent à une meilleure valorisation des espèces étudiées, ceci en améliorant les conditions d'élevage de la chèvre, la chamelle et la brebis surtout qu'elles ne sont pas très exigeantes et en encourageant la production et la transformation du lait.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

ABD ALLAHM., ABBAS S. F. and ALLAM F. M. (2011). Factors affecting the milk yield and composition of Rahmani and Chios sheep. *International Journal of Livestock Production*, 2(3), 24-30.

ABU-LEHIA I. H. (1987). Composition of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42(6), 368-371.

ADRIAN, J. and LEPEN, B. (1987). Le lactose. In: CEPIL. Le lait matière première de l'industrie alimentaire. p. 99-111. Paris, INRA.

AFNOR (1980). Lait et produits laitiers : méthodes d'analyses. Recueil des normes Françaises, 1ère édition, AFNOR, Paris.

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

ALAIS C. (1984). Science du lait. Sepaic, Pairs. Mahaut M, Jeantet R, Brulé G, Schuck P, 2000: Les produits industriels laitiers Edition Tec et Doc ; Lavoisier-Paris.

ALAIS C. (1975). Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

AL KANHAL H. A. (2010). Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*, 20(12), 811-821.

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

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. and BARBOSA M. (1992). Comparison of electrophoresis, isoelectrofocusing, and immune diffusion in determinations of cow's and goat's milk in serradeestrelacheeses. *Lait*, 72, 95-101.

ASSENAT L. (1985). Le lait de brebis. Composition et propriétés ; in : « Lait et Produits Laitiers. 1. Les Laites de la Mamelle à la Laiterie ». Ed. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

B

BARLOWSKA J., SZWAJKOWSKA M., LITWINCZUKA Z., and KROL J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 291-302.

Bayoumi S. (1990). Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 42(1), 3-8.

BEG O. U., BAHR-LINDSTRÖM H. V., ZAIDI Z. H. and JÖRNVALL H. (1985). The primary structure of α -Lactalbumin from camel milk. *European Journal of Biochemistry*, 147, 233- 239.

BERGEL D; FERON A. MOLLIKA. (2004). CRÉSO –UNIVERSITÉ DE CAEN ESO-UMR 6590 CNRS N° 21.

BITMAN J., WOOD D.I., MILLER R.H., TYRRELL H.F., REYNOLDS C.K and 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.

BOUZID, A., and LABIDI, H. (2016). *Caractérisation physico-chimique et organoleptique du lait des espèces laitières dans la région du Souf (wilaya d'El Oued).*

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

BYRNE, E. P., and FITZPATRICK, J. J. (2002). Investigation of how agitation during precipitation, and subsequent processing affects the particle size distribution and separation of α -lactalbumin-enriched whey protein concentrates. *Biochemical Engineering Journal*, 10, 17-25.

C

CANTISANI A., NAPOLITANO L., GIUFFRIDA M. G. and 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.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

CASTRO T., MANSO T., JIMENO V., DEL ALAMO M. and MANTECON A.R. (2009).Effect of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy newes and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. *Small Ruminant Research*, 84, 47-53.

CAYOT P. and LORIENT D. (1998).Structures et Techno fonctions des Protéines du Lait. Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris.

CHIANESE L., GARRO G., MAURIELLO R., LAEZZA P., FERRANTI P. and ADDEO F. (1996).Occurence of five α s1-casein variants in ovine milk. *Journal of Dairy Research*, 63, 49-59.

CHILLIARD Y, SAUVANT D, (1987). La sécrétion des constituants du lait. INRACEPIL, Paris.

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

CONTI A., GODOVAC-ZIMMERMANN J., NAPOLITANO L. AND LIBERATORI J. (1985). Identification and characterization of two α -lactalbuminfrom Somali camelmilk (*Camelusdromedarius*). *Milchwissenschaft*, 40(11), 673-675.

CROGUENNEC T., JEANTET R. and BRULE G. (2008). *Fondements Physicochimiques de la Technologie Laitière.* Ed. Tec. et Doc. Paris.

D

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

DECANDIA M., CABIDDU A., MOLLE G., BRANCA A., EPIFANI G., PINTUS S., TRAVERA F., PIREDDA G., PINNA G. and ADDIS M. (2007).Effect of differentfeedingsystems on fattyacid composition and volatile compound content in goatmilk. CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A, 74, 129-134.

DE LA FUENTE, M. (2002).Effects of antioxidants on immune system ageing. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(3), S5–S8.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DE LA FUENTE, MIGUEL ANGEL, SINGH, HARJINDER, and HEMAR, YACINE. Avancées récentes dans la caractérisation des agrégats induits par la chaleur et des intermédiaires de protéines de lactosérum. *Tendances en science et technologie alimentaires*, 2002, vol. 13, n° 8, p. 262-274.

DESMYTER, ALINE, DECANNIERE, KLAAS, MUYLDERMANS, SERGE et al., Spécificité de l'antigène et liaison de haute affinité fournie par une seule boucle d'un anticorps à domaine unique de chameau. *Journal de chimie biologique* 2001, vol. 276, n° 28, p. 26285-26290.

De Wit JN (2009) Thermal behaviour of bovine β -lactoglobulin at temperatures up to 150 °C. *a review. Trends Food SciTechnol* 20:27-34. doi: 10.1016/j.tifs.2008.09.012

DIAO, M., (2000). La qualité du lait et produits laitiers. *Institut Sénégalais de recherches.*

E

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

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

EI-AGAMY E. I., ABOU -SHLOUE ZEINAB I., ABDEL -KAADER Y. I. (1997). A comparative study of milk proteins from different species. II. Electrophoretic patterns, molecular characterization, amino acid composition and immunological relationships.

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

EMOND, C. (2014). Développement de particules de lactosérum aux propriétés contrôlées par injection de vapeur.

EUGENIA LUCENA M., ALVAREZ S., MENENDEZ C and FRANCISCO A., (2006).

F

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

FARAH Z. (1993). Composition and characteristics of camel milk: Review article. *Journal of Dairy Research*, 60, 603-626.

FARAH Z. (2004). Milk. In Z. Farah, A. Fisher (Eds), Milk and meat from the camel. Handbook on products and processing. P. 25-28. Zurich, Switzerland. Swiss Federal Institute of Technology.

FARAH Z. and RÜEGG M. W. (1989). The size distribution of casein micelles in camel milk. *Food Microstructure*, 8, 211-116.

FARAH Z., RETTENMAIER R. and ATKINIS D. (1992). Vitamin content of camel milk. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 62, 30-33.

FARREL H. M., JIMENEZ-FLORES R., BLECK G. T., BROWN E. M., BUTLER J. E., CREAMER L. K., HICKS C. L., HOLLAR C. M. and NG-KWAI-HANG K. F., SWAISGOOD H. E. (2004). Nomenclature of the proteins of cow's milk - sixth revision. *Journal of Dairy Science*, 87, 1641-1674.

FERNANDEZ-ESPLA, MD, LOPEZ-GALVEZ, G., et RAMOS, M. Isolement des variants génétiques de la lactoglobuline ovine par chromatofocalisation : hétérogénéité de la lactoglobuline A. *Chromatographia*, 1993, vol. 37, n° 1-2, p. 43-46.

G

GAUCHER, I. (2007). Caractéristiques de la micelle de caséines et stabilité des laits : de la collecte des laits crus au stockage des laits UHT, thèse INRA / AgrocampusSci. Tech. Lait et oeuf. Agrocampus Rennes.

GONZALO C., BLANCO M. A., BENEITEZ E., JUAREZ M. T., MARTINEZ A., LINAGE B. and ARIZNABARRETA A. (2005). Bulk tank milk quality of dairy sheep in the Castilla-Leon region (Spain). *Rencontre Recherche Ruminants*, 12, 401.

GROSCLAUDE F., MARIE-FRANCOISE MAHE., GHISLAINE BRIGNON., LILIANA DI STASIO. and JEUNET R. (1987). A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α S1-casein. *Genetics, Selection and Evolution*, 19(4), 399-412.

H

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

HADDADIN M. S. Y., GAMMOH S. I. and ROBINSON R. K. (2008). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, 75, 8-12.

HADDADIN M. S. Y., GAMMOH S. I., ROBINSON R. K. (2007). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk. *Jordan Journal of Dairy Research*, 75, 8-12.

HARLAND, H. A., COULTER, S. T., and JENNESS, R. (1952). The effect of the various steps in the manufacture on the extent of serum protein denaturation in nonfat dry milk solids. *Journal of Dairy Science*, 35(4), 363–368.

HAVEA, P., SINGH, H., and CREAMER, L. K. (2001). Characterization of heat-induced aggregates of b-lactoglobulin, a-lactalbumin and bovine serum albumin in a whey protein concentrate environment. *Journal of Dairy Research*, 68, 483-497.

HILALI M., EL-MAYDA E. and RISCHKOWSKY B. (2011). Characteristics and utilization of sheep and goat milk in the Middle East. *Small Ruminant Research*, 10, 92- 101.

HIRAOKA, YOSHIKI, SEGAWA, TATSUHISA, KUWAJIMA, KUNIHIRO et al., α -lactalbumine : une métalloprotéine calcique. *Communications de recherche biochimique et biophysique* , 1980, vol. 95, n° 3, p. 1098-1104.

HURLEY, W. L., PINTO, G., CAIRA, S., CUOLLO, M., LILLA, S., CHIANESE, L., ADDEO, F., SUN, H., JENSSEN, H., TREWEEK, T., JOHNKE, M., PETERSEN, T. E., SHIMAMURA, T., UKEDA, H., LIESKE, B., PIZZANO, R., Polidori, P., VINCENZETTI, S., BARLOWSKA, J., ... LOOR, J. (2012). Milk protein.

I

IMRAN M., KHAN H., HASSAN S. and KHAN R. (2008). Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Jhejang University Science B*, 9 (7), 546-551.

J

JAUBERT G. (1997). Biochemical characteristics and quality of goat milk. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 25, 71-74.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

K

KAMOUN M. (1995). Le lait de dromadaire : production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. CIHEAM- IMAZ, Séminaires Zaragoza. Spain, xxx, 81-103.

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

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

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

KINSELLA, JE and WHITEHEAD, DM Les protéines du lactosérum : propriétés chimiques, physiques et fonctionnelles. *Avancées de la recherche sur l'alimentation et la nutrition*, 1989, vol. 33, p. 343-438.

KOLETZKO, B., BAKER, S., CLEGHORN, G., NETO, U. F., GOPLAN, S., Hernell, O., Hock, Q. S., Jirapinyo, P., Lonnerdal, B., and Pencharz, P. (2005). Global standard for the composition of infant formula: recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41(5), 584–599.

KONUSPAYEVA G., FAYE B., and LOISEAU G. (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 95-101.

KUMAR AJAY., PRAMOD ROUT. and RAMADHAR ROY. (2006). Polymorphism of β -lacto globulin gene in Indian goats and its effect on milk yield. *Journal of Applied Genetic*, 47(1), 1-5.

L

LABIOUI HICHAM., ELMOUALDI LAAROUI., BENZAKOUR ABDERRAHIM., EL YACHIOUI MOHAMED., BERNY EL HASSAN and OUHSSINE MOHAMMED.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(2009). Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 148, 7-16.

LAPOINTE-VINGOLA, C. (2002). *Science et technologie du lait: transformation du lait.* Presses inter Polytechnique.

LINDEN, G and LORIENT. (1994). Biochimie agro-industrielle, D .Valorisation alimentaire de la production agricole. Masson Paris Milan Barcelone.1994.

LUQUET F. M (1985) : Lait et produits laitiers : vache, brebis, et chèvre, ed : tec et doc, Lavoisier, Paris. 637p.

M

MADUREIRA, Ana R., PEREIRA, Cláudia I., GOMES, Ana MP, and al. Protéines de lactosérum bovin – Aperçu de leurs principales propriétés biologiques. *Food Research International*, 2007, vol. 40, n° 10, p. 1197-1211.

MAHIEU H., LE JAOUEN JC., LUQUET M F. and MOUILLET L. (1977). Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. *Lait*, 568, 561-571.

MAL G. and PATHAK K.M.L. (2010). Camel milk and milk products. Milk and milk products. SMVS' DairyYear Book, 97-103.

MARONI P. and CUCCURI C. (2001). Relationship between mammary gland infections and somemilk immune parameters in Sardinian breedewes. *Small Ruminant Research*, 41, 1-7.

MARTINI M., SCOLOZZI C., CECCHI F., MELE M. and SALARI F. (2008b). Relationship between morphometric characteristics of milk fat globules and the cheese making aptitude of sheep'smilk. *Small Ruminant Research*, 74, 194-201.

MASLE I. and MORGAN F. (2001). Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques - Facteurs de variation liés à la composition du lait. *Lait*, 81, 561-569.

MATHIEU J. (1998) : Initiation à la physicochimie du lait, ed : tec et doc, Lavoisier, Paris

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- MAYER H.K. and FIECHTER G. (2012).**Physicochemical characteristics of goat's milk in Austria—seasonal variations and differences between six breeds, *Dairy Science and Technology*, 92,167–177.
- MCKENZIE, Hugh A. and WHITE JR, FREDERICK H.** Lysozyme et -lactalbumine : structure, fonction et interrelations. *Avancées en chimie des protéines*, 1991, vol. 41, p. 173-315.
- MERCIER, JEAN-CLAUDE, BRIGNON, GHISLAINE, and RIBADEAU-DUMAS, Bruno.** Structure primaire de la caséine κ B bovine : Séquence complète. *Journal européen de biochimie*, 1973, vol. 35, n° 2, p. 222-235.
- MOATSOU, G., HATZINAKI, A., SAMOLADA, M., et al.** Principales protéines de lactosérum dans les lactosérums acides ovins et caprins des races grecques indigènes. *Revue laitière internationale*, 2005, vol. 15, n° 2, p. 123-131.
- MOIOLI, B., PILLA, F and TRIPALDI, C.** Détection des polymorphismes génétiques des protéines du lait afin d'améliorer les caractères laitiers chez les ovins et caprins : une revue. *Recherche sur les petits ruminants*, 1998, vol. 27, n° 3, p. 185-195.
- MORIYAMA, Y., WATANABE, E., KOBAYASHI, K., HARANO, H., INUI, E., and TAKEDA, K. (2008).**Secondary Structural Change of Bovine SerumAlbumin in Thermal Denaturation up to 130 °C and Protective Effect of Sodium Dodecyl Sulfate on the Change. *Journal of PhysicalChemistry B*, 112, 16585-16589.
- MORR C.V and HA E.Y.W ; (1993).**Whey protein concentrates and isolates: processing and Functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 33 (6) (1993), pp431- 476.
- 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.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NARAYAN, MAHESH and BERLINER, LAWRENCE J. Les acides gras et les rétinoïdes se lient indépendamment et simultanément à la α -lactoglobuline. *Biochimie*, 1997, vol. 36, n° 7, p. 1906-1911.

O

OCHIRKHUYAG B., CHOBERT J. M., DALGALARRONDO M., CHOISET Y. AND HAERTLE T. (1998). Characterization of whey proteins from Mangolian yak, khainak and bactrian camel. *Journal of Food Biochemistry*, 22, 105-124.

P

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

PAVIC V., ANTUNAC N., MIOC B., IVANKOVIC A., HAVRANEK J. L. (2002). Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Journal of Animal Science*, 47 (2), 80-84.

PELLEGRINI A., REMEUF R., and 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.

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

PIERRE A., JEAN-LUC Le QUERE., RIAUBLANC A., YVON Le GRAET., DEMAIZERES D. and MICHEL F. (1998). Composition and physico-chemical characteristics of goat milks containing the A or O α S1 casein variants. *Lait*, 78, 191-202.

POTOCNIK K., GANTNER V., KUTEROVAC K. and CIVIDINI A. (2011). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo*, 62, 107-113.

R

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RAYNAL-LJUTOVAC K., LAGRIFFOUL G., PACCARD P., GUILLET I. and CHILLIARD Y. (2008). Composition of goat and sheepmilkproducts: An update. *Small Ruminant Research*, 79, 57-72.

REMEUF F. (1993). Influence du polymorphisme génétique de la caséine α S1 caprine sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques du lait. *Lait*, 73, 549-557.

REMEUF F. and LENOIR J. (1985). Caractéristiques physico-chimiques de lait de chèvre. *Revue Laitière Française*, 446, 32-40.

REMEUF F., GUY R., BRIGNON G. and GROSCLAUDE F. (2001). Influence de la teneur en caséine β sur les caractéristiques physico-chimiques et l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait de chèvre. *Lait*, 81, 731-742.

ROUDJ S., BESSADAT A. and KARAM N.E. (2005). Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, 12, 400.

ROUISSI H., KAMOUN M., REKIK R., TAYACHI L., HAMMAMI S., HAMMAMI M. (2006). Study of milkquality in dairysheep in Tunisia. *Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes, Série A*, 78, 307-311.

S

SAINT-ETIENNE–SAINT-ETIENNE, M. (2015). the alpine goat's milk prod Durand vissoh, Bienve.

SALEY M. (1993). La Production Laitière du Dromadaire. CIRAD, Ed Maison-Alfort, Paris.

SAWAYA W. N., KHALIL J. K., AI-SHALHAT A. and AI-MOHAMMAD, H. (1984).Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *Journal of Food Science*, 49, 744-747.

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

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. Mémoire Magister. Université Mouloud Mammeri Tizi -Ouzou, Algérie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SHAMSIA S.M. (2009). Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 2, 52-58.

Si AHMED ZENNIA, S. (2015). Isolement et séparation des protéines sériques du lait de chamelle: mise en évidence du phénomène de désamidation de l' α -lactalbumine; conséquences sur la stabilité structurale. Université Mouloud Mammeri.

SIBOUKEUR A. and 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.

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.

SIMOS E. N., NIKOLAOU E. M. and ZOIPOULOS P. E. (1996). Yield, composition and certain physicochemical characteristics of milk of the Epirus mountain sheep breed. *Small Ruminant Research*, 20, 67-74.

SU, R., QI, W., HE, Z., ZHANG, Y., and JIN, F. (2008). Multilevel structural nature and interactions of bovine serum albumin during heat-induced aggregation process. *Food Hydrocolloids*, 22(6), 995-1005.

SZWAJKOWSKAL M., WOLANCIUK A., BARLOWSKAL J., KROLL J. and LITWINCZUK Z. (2011). Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system – a review. *Animal Science Papers and Reports*, 29, 269-280.

T

TAGARI, H., & ROY, J. H. B. (1969). The effect of heat treatment on the nutritive value of milk for the young calf: 8.* The effect of the pre-heating treatment of spray-dried skim milk on the pH and the contents of total, protein and non-protein nitrogen of the pyloric outflow. *British Journal of Nutrition*, 23(4), 763–782.

TAYLOR, S. M and FRYER, P. J. (1994). The effect of temperature/shear history on the thermal gelation of whey protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 8(1), 45-61.

TING, KAI-LI H. et JERNIGAN, ROBERT L. Identification d'un noyau replié pour la famille lysozyme/ α -lactalbumine à partir de clusters de conservation de séquence. *Journal d'évolution moléculaire*, 2002, vol. 54, n° 4, p. 425-436.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

V

VASSAL L., DELACROIX-BUCHET A. et BOUILLON J. (1994). Influence des variants AA, EE et FF de la caséine α S1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels : premières observations. *Lait*, 74, 89-103.

VEISSEYRE R. (1979). Technologie du Lait : Constitution, Récolte, Traitement et Transformation du Lait. 3e Ed. La Maison Rustique, Paris.

W

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

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

WANGO J., FARAH Z. AND PUHAN, Z. (1998). Composition of milk from three camel (*Camelus dromedarius*) breeds in Kenya during lactation. *Milchwissenschaft*, 53 (3), 136-139.

WOLTER, ROGER. Alimentation de la vache laitière. Éditions France Agricole, 1997.

Y

YABRIR B. (2017). 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. Université Mouloud Mammeri.

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.

YAGIL R. (1985). The Desertcamel; comparative physiological adaptation. Ed Karger, Basal.

Z

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

Annexes

ANNEXES

Annexe 01 : détermination de la teneur en protéines par la méthode de Biuret (Gornall et al, 1949)

1- Préparation des solutions :

- Réactif de Gornall est composé de :

- Sulfate de cuivre (coloration bleu).
- Hydroxyde de sodium (pH basique).
- Tartrate double de sodium et de potassium (empêche la précipitation d'ions Cu^{2+}).
- Iodure de potassium (empêche la réduction des ions Cu^{2+}).

- Solution mère de BSA :

- BSA.....10g
- Eau distillée.....1000 ml

2- Gamme étalon :

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère d'albumine sérique bovine (BSA) ml	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.5
Eau physiologique (μl)	0.5	0.45	0.4	0.3	0.1	0
Réactif de Gornall (ml)	2					

3- Méthodes :

- 1ml d'échantillon contenant 100 μg de protéines maximum et 25 μg minimum.
- Ajouter 2 ml du réactif de Gornall.
- Laisser 30 min à l'obscurité.
- Lire la DO à 540 nm.

4- Expression des résultats

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

ANNEXES

Annexe 02 : électrophorèse en condition non dissociantes et non dénaturantes

(PAGE native)

1- Solutions :

- **Solution d'acrylamide(A)**

- Acrylamide36g
- Bisacrylamide.....1g
- Eau distillée100 ml

- **Tampon de gel(B)**

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

- **Tampon d'électrode**

- Tris.....0.12g
- Glycine.....0.58g
- Eau distillée.....200ml
- Ajuster à pH8.3 avec du tris.

- **Tampon d'échantillon**

- Tampon du gel(B).....100ul
- Eau distillée700ul
- Glycérol 50%.
- Bleu de bromophénolune tête d'aiguille.

2- Electrophorèse

- **Préparation du gel(T=12% et 2.7%)**

- Solution(A)3.25ml
- Solution(B)..... 5ml
- Eau distillée1.68ml
- TEMED10ul
- Persulfate d'ammonium10%.....75ul
- Couler et mettre le peigne immédiatement.

- **Solution de fixation**

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

ANNEXES

- **Solution de coloration**

- Bleu de Coomassie R2500.....55g
- TCA.....4g
- Méthanol.....100ml
- Eau distillée.....100ml

- **Solution de décoloration**

- Acide acétique.....37.5ml
- Eau distillée.....12.5ml
- Méthanol.....150ml

Dépôt d'échantillon : 10ul à 20ul

Mise sous tension : 20 mA, 250V

Fixation : 45 min dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : 1 heure dans la solution de décoloration.

Annexe 03 : électrophorèse en condition dissociantes et dénaturantes :

- **Solution d'acrylamide (prête à l'emploi)**

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

- **Tampon de gel de séparation :**

- Tris.....24.22g
- Eau distillée.....100ml
- Ajuster a pH 6.8 avec de HCl 4N.

- **Tampon d'électrode :**

- Tris.....1.2g
- Glycine5.76g
- SDS.....0.2g
- Eau distillée.....200ml

- **Tampon d'échantillon**

- Solution (c).....500 µl

ANNEXES

- Eau distillée.....250µl
- SDS (10%).
- 2-mercaptoéthano.....150µl
- 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.....100ml
- **Solution de coloration :**
 - Bleu de coomassieR250.....0.5g
 - TCA.....4g
 - Méthanol100ml
 - Eau distillée.....100ml
- **Solution de décoloration**
 - Acide acétique.....37, 5 ml
 - Eau distillée3.....12,5 ml
 - Méthanol.....150 ml
- **Solution de persulfate d'ammonium**
 - Persulfate d'ammonium.....0, 1 g
 - Eau distillée 1 ml
- **Préparation du gel de séparation T = 15%**
 - Solution (A)3ml
 - Solution (S)1.33 ml
 - Eau distillée.....3.67 ml
 - Dégazer le mélange pendant 2 mn maximum.
 - SDS (10%).....80 µl
 - TEMED.....20 µl
 - Persulfate d'ammonium 10%.....80 µl
 - Couler à environ 1,5 cm du sommet de la plaque de moindre hauteur
- **Préparation du gel de concentration : T = 4,8% et C = 2,7%**
 - Solution (A)..... 1,3 ml

ANNEXES

- Solution (C)2,5 ml
- Eau distillée.....5,8 ml
- Dégazer le mélange quelques secondes
- SDS 10%.....100 μ l
- TEMED.....20 μ l
- Persulfate d'ammonium à 10%.....10 μ l
- Couler immédiatement sur le gel de séparation puis introduire le peigne.

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 μ l

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

Annexe04 :



pH- mètre (HANNA)

ANNEXES



Photographie d'une centrifugeuse réfrigérée, max 28000g (SIGMA)



Photographie d'un Bain-marie (MEMMERT, Allemagne).



Photographie d'une unité d'électrophorèse (HOEFFER SE260).