

**MINISTÈRE DE L'ENSEGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMARI DE TIZI OUZOU
FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLPGIE**



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**Étude de l'activité anti-oxydante des hydrolysats
pepsiques et pancréatiques issus des protéines du
lait de chèvre et de brebis**

Réalisé par :

IDRIS Abla

LASSOUANE Nabil

Devant le jury

Présidente : M^{me} GHEZALI-SENOUSSI C.

M.A.A

Promotrice : M^{me} SI AHMED-ZENNIA S.

M.C.A

Examinatrice : M^{me} ALMI-SEBBANE D.

M.C.B

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord le Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience, la puissance, le courage et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nos sincères et chaleureux remerciements sont adressés à notre promotrice Madame SI AHMED-ZENNIA Saliha maitre de conférences à l'UMMTO d'avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses conseils, et ses orientations.

Nos vifs remerciements pour Mme GHEZALI-SENOUSSI Chahra maitre assistante à l'UMMTO pour avoir accepté de présider notre mémoire.

On tient à remercier profondément Mme ALMI-SEBBANE Dalila maitre de conférences à l'UMMTO pour avoir accepté d'examiner notre travail et de nous avoir guidés vraiment pendant la réalisation de la partie expérimentale et même pour son aide dans la rédaction de la partie bibliographique, nous sommes vraiment reconnaissants de vous.

Un grand et spécial remerciement pour Mme AMAR KHOUDJA Nadia ingénieur du labo pour son aide et sa gentillesse et sans oublier de remercier aussi tous les personnels de laboratoire pédagogique de biochimie.

En fin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de loin ou de près pour l'élaboration de ce travail.

IDRIS ABLA / LASSOUANE NABIL

Dédicaces

Avec l'aide de dieu le tout puissant a achevé le présent travail que je dédie à mes **chers parents** qui m'ont soutenu encouragés pour que je puisse mener bien à mes études, que dieux vous garde et vous protège.

À mon adorable frère *SAMY* et ma sœur *YASMINE*.

À mes meilleurs amies *KACI, ANYA, GHANI, SÉLÉNA* et *HANANE* qui ont été de mon côté pendant les moments de stress.

À tous mes cousins et mes cousines qui m'ont aimé trop et m'ont souhaité de réussir.

À mon binôme *ABLA* et à tous mes camarades de la section.

LASSOUANE NABIL

C'est avec respect et gratitude que je tiens à exprimer ma reconnaissance et sympathie à :

Ma *mère*, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien tous les sacrifices consentis et des précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, qu'elle reçoit à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon grand éternelle gratitude.

Mon *père*, qui peut être fier et trouver ici le résultat des longues années de sacrifices et de privations pour m'aider dans la vie.

Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous.

Mes *sœurs*, qui ont toujours su trouver les mots pour me reconforter.

Mes *professeurs*, pour leur savoir qu'ils m'ont transmis.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.

Merci d'être toujours là pour moi

IDRIS ABLA

Liste des abréviations

% : Pourcent

β -Lg : Bêta lactoglobuline

α -La : Alpha Lactalbumine

AG : Acide gras

AA : Acides aminés

ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

BSA : Albumine sérique bovine

CO₂ : Dioxyde de carbone

CN : Caséine

DSA : Direction des Services Agricoles

DO : Densité optique

DH : Degré d'hydrolyse

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrilhydrazyle

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine

FAO : Food and Agriculture Organization ; Organisation des aliments et de l'agriculture

kDa : Kilo dalton

MARA : Ministère de L'Agriculture et de la Révolution Algérienne

MADRP : Ministère de L'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche

PAC : Politique Agricole Commune

pH : Potentiel Hydrogène

pHi : pH isoélectrique

PM : Poids moléculaire

PAGE-SDS : Electrophorèse sur Gel de Polyacrylamide en présence de Sodium Dodécyl Sulfate

TCA : Acide trichloracétique

UV : Ultra-violet

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Production nationale de lait de chèvre de 2009 à 2018.	03
02	Effectif du cheptel ovin dans le monde en 2019.	04
03	La structure tridimensionnelle de pepsinogène (zymogène) et de la pepsine.	15
04	Production et action de la pepsine.	16
05	Les acides aminés du site catalytique et mécanisme d'action de la trypsine.	16
06	Structure tridimensionnelle du complexe trypsinogène -trypsine.	17
07	La structure tridimensionnelle de la chymotrypsine.	18
08	Le site actif et le mécanisme d'action de chymotrypsine.	18
09	Sites de coupure de la trypsine et la chymotrypsine.	19
10	Courbe étalon de dosage des protéines totales par la méthode de LOWERY <i>et al (1951)</i> .	21
11	Les étapes de la digestion gastro-intestinale simulée <i>in vitro</i> des protéines totales du lait caprin et du lait ovin par la pepsine et la pancréatine.	22
12	Le mécanisme d'action des polyphénols.	25
13	Droite d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en utilisant l'acide gallique comme référence.	25
14	Le mécanisme de réduction du DPPH.	26
15	Electrophorégramme en PAGE-SDS des hydrolysats pepsique et pancréatique des protéines totales du lait écrème caprin (A) et du lait écrémé ovin (B) à différents temps d'incubation : gel de séparation (T=15% ; C=2,7%) ; gel de concentration (T=4% ; C=2.7%).	29
16	Evolution du degré d'hydrolyse (DH%) des protéines totales des laits écrèmes caprin et ovin par la pepsine et pancréatine.	30
17	Teneur en composés phénoliques dans les hydrolysats protéiques du lait ovin et caprin.	31
18	Les pourcentages d'inhibition de radical DPPH par les protéines sériques ovines et caprines et de leur hydrolysat pepsique et pancréatiques.	32

Liste des tableaux

N°	Titre	Pages
I	Effectif du cheptel caprin en Algérie de 2018 à 2022.	02
II	Production mondiale du lait caprin de 2008 à 2012.	03
III	Production moyenne du lait de brebis dans le monde.	05
IV	Production du lait ovin en Algérie de 2010 à 2014.	05
V	Caractéristique des races caprines locale et leur répartition.	06
VI	Localisation et effectif des races des races ovines en Algérie.	06
VII	Teneur moyenne en g/l et distribution des protéines dans le lait de quelques ruminants.	10
VIII	Teneur en vitamines des laits de diffèrent ruminant (mg/l).	11
IX	Teneur en minéraux du lait de quelques espaces ruminants.	12
X	Composition biochimique du lait de quelque espèce.	12
XI	Quelques peptides bioactifs issu de la digestion des protéines du lait par la pepsine et chymotrypsine.	19
XII	Teneur en protéines totales (g/l) des laits écrémés de chèvre et brebis.	28

Résumé

Le lait de chèvre et le lait de brebis constituent une source très importante en protéines. Elles représentent la fraction la plus abondante dans le lait. Elles sont composées de caséines et de séroprotéines, ces dernières sont susceptibles à l'hydrolyse par la pepsine et la pancréatine pour donner des peptides bioactifs possédant différentes propriétés biologiques telle que l'activité antioxydante.

Le présent travail a pour but de simuler la digestion gastro-intestinale des protéines du lait de chèvre et de brebis et d'évaluer l'activité anti-oxydante des peptides générés suite à cette hydrolyse.

La sensibilité des protéines laitières à l'action de ces protéases est mise en évidence par un contrôle électrophorétique en conditions dénaturantes et dissociantes (PAGE-SDS) qui a révélé la diminution de l'intensité des bandes pour les hydrolysats pepsiques et leur disparition après l'hydrolyse par la pancréatine. Par la suite le degré d'hydrolyse (DH) est estimé dans chaque hydrolysat pour évaluer l'effet de la pepsine et de la pancréatine sur ces protéines. Les résultats obtenus montrent que le degré d'hydrolyse après l'action de la pancréatine est supérieur à celui estimé après l'action de la pepsine, ainsi que le DH des protéines du lait caprin est élevé par rapport au DH des protéines du lait ovin.

L'activité anti-oxydante des hydrolysats obtenus a été évaluée par deux tests : Le dosage du contenu phénolique des hydrolysats et par le test de piégeage du radical DPPH.

Les tests ont révélés des concentrations élevées en polyphénols dans les hydrolysats par rapport aux laits non hydrolysés. Pour le test de DPPH les résultats obtenus montrent une activité anti-radicalaire importante pour les hydrolysats protéiques des deux laits caprin et ovin par rapport aux protéines laitières natives. L'hydrolyse des protéines du lait par la pepsine et la pancréatine améliore donc leur propriété antioxydante.

Mots clés : Protéines ; Pepsine ; Pancréatine ; Protéases ; Activité antioxydante ; polyphénols.

Abstract

Goat's milk and sheep's milk are very important sources of proteins which are the most abundant basic nutrient in milk in the form of two distinct fractions: casein and serum proteins composed of many different proteins, these are susceptible to hydrolysis by pepsin and pancreatin and give bioactive peptides with different biological properties such as antioxidant activity.

This purpose is to simulate the gastrointestinal digestion of the goat and sheep milk proteins and to evaluate the anti-oxidizing activity of the peptides generated following this hydrolysis.

The sensitivity of milk proteins to the action of these proteases is demonstrated by an electrophoretic control in denaturant and dissociating conditions (PAGE-SDS) which revealed decreased bands for peptic hydrolysates and their disappearance after hydrolysis by pancreatin. Subsequently the degree of hydrolysis (DH) is estimated in each hydrolysate to assess the effect of pepsin and pancreatin on these proteins, the results obtained show that the degree of hydrolysis after the action of pancreatin is greater than that estimated after the action of pepsin. As well as DH of goat milk proteins is high compared to DH of sheep milk proteins.

The antioxidant activity of the hydrolysate obtained was evaluated by two tests: the dosage of the phenolic content of hydrolysates and the DPPH radical trapping test.

The tests have revealed high concentrations in polyphenols in hydrolysates with non-hydrolyzed milks. For the DPPH test the results obtained show an important anti-radicate activity for the proteins. The hydrolysis of milk proteins by pepsin and pancreatin so improves their anti-oxidizing property.

Keywords: Proteins; Pepsin; Pancreatin; Proteases; Antioxidant activity; polyphenols.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction 01

Chapitre I : Synthèse des données bibliographiques

1. Généralités sur les laits de chèvre et brebis.....	02
1.1. Définition du lait.....	02
1.2. Effectif du cheptel dans le monde et en Algérie	02
1.2.1. Effectif dans le monde	02
1.2.2. Effectif en Algérie.....	02
1.3. Production mondiale et national du lait de chèvre	03
1.3.1. Production mondiale	03
1.3.2. Production national	03
1.4. Effectif du cheptel ovin dans le monde et en Algérie	04
1.4.1. Effectif dans le monde	04
1.4.2. Effectif en Algérie	04
1.5. Production mondiale et national du lait ovin	05
1.5.1. Production mondiale	05
1.5.2. Production national	05
1.6. Les races caprines et ovines en Algérie	05
1.6.1. Les races caprines	05
1.6.2. Les races ovines	06
2. Composition chimique du lait ovin et caprin.....	07
2.1. Eau	07
2.2. Matière grasse	07
2.3. Lactose	08
2.4. Protéines	08
2.4.1. Caséines	08

2.4.2. Protéines sériques	09
2.4.2.1. β -lactoglobuline	09
2.4.2.2. α -lactalbumine	10
2.4.2.3. Albumine sérique	10
2.4.2.4. Lactoferrine	10
2.4.2.5. Protéase et peptones	10
2.5. Vitamines	11
2.6. Minéraux	11
2.7. Enzymes	12
3. Caractéristique physico-chimiques	12
3.1. Le pH	12
3.2. L'acidité	12
3.3. La densité	13
3.4. Le point de congélation	13
4. Caractéristiques organoleptiques	13
4.1. Couleur	13
4.2. Odeur	13
4.3. Viscosité	14
4.3. Saveur	14
5. Les enzymes digestives gastro-intestinales	14
5.1. Les endoprotéase gastrique	14
5.1.1. La pepsine	15
5.1.2. La pancréatine	16
5.1.2.1. La trypsine	16
5.1.2.2. La chymotrypsine	17
5.2. Peptides bioactifs générés lors de la digestion des protéines du lait	19

Chapitre II : Partie expérimentale

2.1. Matériel	20
2.1.1. Échantillon	20
2.1.2. Matériel biologique	20
2.1.3. Produits chimiques et réactifs	20
2.1.4. Appareillage	20

2.2. Méthodes	21
2.2.1. Préparation des échantillons du lait écrémé de chèvre et brebis	21
2.2.2. Détermination de la teneur en protéines totale	21
2.2.3. Digestion <i>in vitro</i> du lait	21
2.2.4. Détermination du degré d'hydrolyse	22
2.2.5. Méthode électrophorétique	23
2.2.5.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dissociant et dénaturantes (PAGE-SDS)	23
2.2.6. Activité antioxydante	24
2.2.6.1. Dosage des polyphénols	24
2.2.6.2. Test de DPPH	26

Chapitre III : Résultats et discussions

3.1. Teneur en protéine des laits de chèvre et brebis	28
3.2. Électrophorèse PAGE-SDS des hydrolysats pepsique et pancréatique des protéines du lait du lait ovin et du lait caprin	28
3.3. Degré d'hydrolyse des protéines du lait caprin et ovin	30
3.4. Détermination de l'activité antioxydant des hydrolysats du lait ovin et Caprin	31
3.4.1. Contenu phénolique total	31
3.4.2. Test de piégeage du radical DPPH	32

Conclusion	34
-------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Nous apprenons très tôt que le lait provient des vaches mais nous oublions souvent qu'il existe d'autres sources de lait telles que le lait de chèvre et le lait de brebis.

Le mouton (*Ovis Ariès*) est un mammifère domestique herbivore de la famille des bovidés, et de la sous-famille des caprines et du genre ovis. Il a été parmi les premier animaux domestiqué par l'homme ; cela remonte de neuf à onze mille ans en Mésopotamie (une région historique de moyen orient qui correspond actuellement à l'Irak).

Il a été élevé pour son lait qui est consommé directement, sa viande, sa laine et sa peau qui est utilisée pour la fabrication d'un cuire appelé « basane », mais aujourd'hui il est utilisé beaucoup plus pour la fabrication du fromage et du yogourt vue sa teneur très élevée en matière grasse et en calcium qui lui confère une grande résistance à la contamination au cours du refroidissement. Il permet le développement complet des muscles et leur minéralisation et apporte de l'énergie à l'organisme.

La chèvre domestique est un mammifère herbivore et ruminant de la famille des bovidés et de la sous-famille des caprines ou caprins. Elle a été domestiquée depuis très Longtemps il y'a environ 10 000ans dans les monts Zagors et sur les plateaux Iran et Turquie, en suite elle se dispersa en Asie, Europe et Afrique ce qui donne des races différentes les unes par rapport aux autres.

Les ovin et les caprins sont élevée pour avoir plus facilement sous la main du lait et pour ses poils, viande, peau qu'est utilisée pour le transport d'eau et servait aussi à produire le parchemin. Il apparait comme un choix de santé de par sa richesse en vitamines et ses vertus thérapeutique au cours des différents âges de la vie. Connu pour régler certains problèmes gastriques vue qu'il est plus facile à digérer et stimule l'immunité, combat les infections il possède aussi une propriété antibactérienne qui le rend idéale pour traiter les blessures mineures et désinfecter les plaies et accélère la cicatrisation.

Après ingestion du lait dans l'estomac, les protéines qu'il contient subissent une digestion gastro-intestinale qui s'initie dans l'estomac par la pepsine puis l'hydrolyse protéique se poursuit dans l'intestin grêle par l'action de la pancréatine qui est un mélange d'enzyme notamment la trypsine et la chymotrypsine , cette hydrolyse conduit à la libération des acides aminés et de peptide de petite taille qui ont des propriété nutritionnelle et fonctionnelle nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude qui porte sur l'évaluation de l'activité enzymatique des protéines du lait ovin et caprin issu de la région de Kabylie. Dans cette étude nous nous sommes intéressés aussi à l'estimation de l'activité antioxydante des protéines des laits de chèvre et de brebis après cette hydrolyse par le dosage des PP et le test de piégeage du radical DPPH.

Chapitre I

Synthèse des données bibliographiques

I. Généralités sur les laits de chèvre et de brebis

1.1. Définition du lait

Selon le congrès international de la répression des fraudes en 1909, le lait a été défini comme « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante bien nourrie et non surmenée il doit recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » cette définition été codifiée par le décret du 25 mars 1924 (**VEISSEYRE, 1975**).

En 1983 la fédération internationale de laiteries définit le lait comme étant : « le produit de la sécrétion mammaire normale obtenu par une ou plusieurs traites sous aucune sous traction » (**GOURSAUD, 1985**).

Le lait est un liquide biologique blanc opaque de saveur légèrement sucrée constituant un aliment équilibré, sécrété par les glandes mammaires de femelle pour la nutrition des jeunes (**ABOUTAYEB, 2009**).

En Algérie, selon le journal officiel le nom « lait » est réservé exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou sans soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (arrêté de 18/08/1993 décret du 27/10/1993)

La dénomination lait sans aucune indication de l'espèce de provenance correspond au lait de vache, tout autre provenance hors que la vache doit être mentionnée (**LARPENT, 1997**).

1.2. Effectif du cheptel caprin dans le monde et en Algérie

1.2.1. Effectif dans le monde

Selon les statistiques (**FAO, 2015**), l'Asie occupe la première place avec 63% de l'ensemble de cheptel caprin mondial, suivie par l'Afrique avec 29% et ensuite l'Amérique avec 5% et l'Europe avec 3% de l'effectif mondial.

Le cheptel caprin mondial montre une progression de 70% depuis 1985 avec 462 millions de têtes jusqu'à 2009 avec 868 millions de têtes, cet effectif a augmenté pour atteindre environ 976 millions en 2013 (**PAC, 2014 ; Annexe 1**).

1.2.2. Effectif en Algérie

Selon la sous-directrice chargée du développement des filières animales au Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, le cheptel caprin algérien a connu une évolution au cours des dernières années, il s'est accru en dépassant 29 millions de têtes en 2020, contre 28 millions environ durant 2019 (**Tableau I**).

Tableau I : Effectif du cheptel caprin en Algérie de 2018 à 2022 (MARA, 2022).

Année	2018	2019	2020	2021	2022
Effectif caprin national (millions de têtes)	28,2	28	29,1	29,5	29,7

1.3. Production mondiale et national du lait de chèvre

1.3.1. Production mondiale

La production de lait de chèvre occupe la 3^{ème} place après celle du lait de vache et bufflonne. En 2015, la production laitière caprine mondiale est estimée à 17 957 371 millions de tonnes par ailleurs l'estimation de la production laitière est variable et dépend essentiellement du système de production du pays (FAO, 2015).

L'Asie occupe la plus grande part de la production laitière caprine dans le monde avec environ 58,33%. Dans les pays méditerranéens et en Amérique-Latine le lait de chèvre est généralement transformé en fromage par contre en Algérie et en Asie de Sud il est généralement consommé cru ou acidifié (FAO, 2015).

La production mondiale du lait caprin a connu une augmentation de 1,6 million de tonnes entre 2008 à 2012 (Tableau II).

Tableau II : Production mondiale du lait caprin de 2008 à 2012 (FAO, 2015).

Année	2008	2009	2010	2011	2012
Laits de chèvre (million de tonnes)	16,7	17,0	17,8	18,2	18,3

1.3.2. Production nationale

En Algérie, l'élevage caprin compte parmi les activités agricoles les plus traditionnelles, associé généralement à l'élevage ovin, localisé essentiellement dans les régions d'accès difficile (BENALIA, 1996).

L'Algérie consomme en moyenne 147 litres/ans/habitants en 2012 ce qui fait de notre pays est le premier consommateur du lait en Maghreb. En 2012, la production laitière a été évaluée à 3,14 milliards de litres (VANESS, 2013). La production de lait caprin est estimée à environ 399 milles de tonnes en 2017 soit environ 8% de la production laitière nationale, puis enregistré une chute brutale et diminue vers 248 milles de tonnes en 2018 (Figure 01) (DSA., 2020).

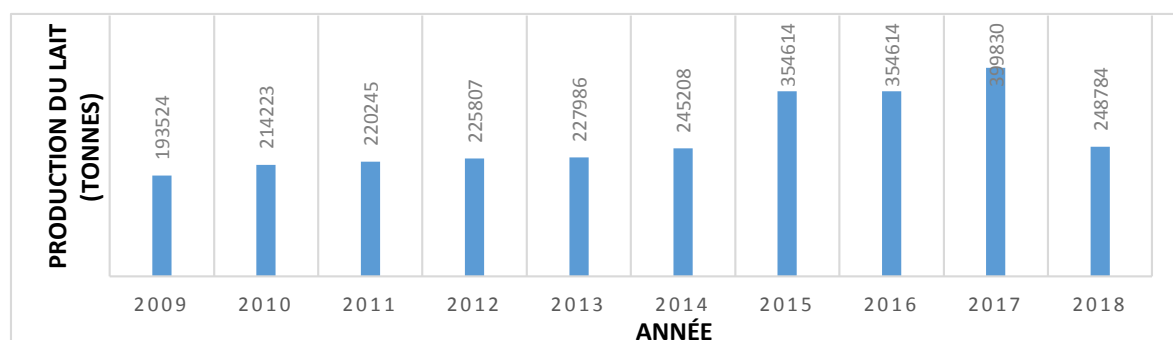


Figure 01 : Production nationale de lait de chèvre de 2009 à 2018 (DSA, 2020).

La production laitière nationale caprine reste insuffisante avec un déficit de 3 milliards de litres, par conséquent, l'Algérie occupe le troisième rang mondial en importation de lait et produits laitiers caprins. 70% de la production laitière caprine est destinée à l'auto consommation et 30% seulement à la transformation en produits laitiers (DSA ,2020).

1.4. Effectif du cheptel ovin dans le monde et en Algérie

1.4.1. Effectif dans le monde

L'élevage ovin est une pratique agricole qui occupe une place prépondérante sur le plan socio-économique puisqu'elle assure une large partie de la production de viande, de lait et de laine (RONDIA, 2006).

L'effectif du cheptel ovin mondial est estimé à plus de 475 millions de têtes en 2019 (FAO., 2021). La figure (02) montre les principaux pays éleveurs des ovins dans le monde, dont la chine qui occupe la première place mondiale avec un effectif de 164 millions de tête ovins, suivi par l'Europe en deuxième place ensuite vient l'Inde et l'Australie et en dernier l'Uruguay avec un effectif de 6 millions de têtes.

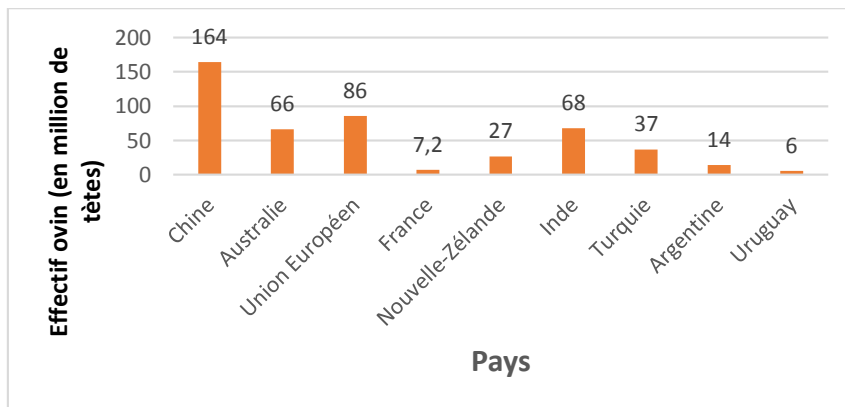


Figure 02 : Effectif du cheptel ovin dans le monde en 2019 (FAO, 2021).

1.4.2. Effectif en Algérie

En Algérie l'élevage ovin représente la spéculation agricole la plus importante, il contribue à 52% de la production animal et représente 35% de la production agricole totale (DEGHNOUCHE, 2011). Il constitue aussi une source des revenus pour de nombreuses familles à l'échelle de plus de la moitié du pays (KHELIFI, 1999).

L'effectif du cheptel ovin national n'est pas connu avec précision du fait de son exploitation principalement nomade (CHELLIGUE, 1992). En fait cet effectif a marqué une évolution globale depuis un demi-siècle, il était environ 3,8 millions de têtes en 1963, il a augmenté en 2001 pour atteindre 19 millions (FAO, 2001).

En 2009, l'Algérie occupait la première place mondiale avec un effectif ovin de 21,4 millions de têtes, en 2014 le cheptel ovin national s'élève jusqu'à 27,8 millions de têtes (MADRP, 2015 ; Annexe 2).

1.5. Production mondiale et nationale du lait ovin

1.5.1. Production mondiale

La production laitière ovine mondiale est très limitée en quantité, elle a été estimée à 8,17 millions de tonnes par ans. Et elle est concentrée dans les zones semi-arides autour de la méditerranée et de l'Asie occidentale qui assurent plus de 85% de la production mondiale sous une gestion traditionnelle, mais certaines exploitations en France, en Italie, en Espagne et en Grèce ont opté pour un système intensif agricole. La plus grande partie du lait produite est transformée en fromage comme la feta, le pecorino et le caciocavallo (**Tableau III**) (**GOMEZ, 2015**).

Tableau III : Production moyenne du lait de brebis dans le monde (**FAO, 2021**).

Pays	Chine	Turquie	Grèce	Syrie	Romanie	Espagne
Lait ovin (milles tonnes)	1550	986	750	684	648	565

1.5.2. Production nationale

La production du lait de brebis en Algérie a été estimée à 345 000 tonnes en 2014 (**Tableau IV**), ce qui permet à l'Algérie d'occuper le premier rang en Afrique du Nord et la deuxième position en Afrique entière derrière la Somalie et le onzième rang mondial (**MADRP, 2015**). En effet la production laitière moyenne journalière des races ovines Algériennes est de 400g, elle est destinée exclusivement à l'alimentation des jeunes agneaux et une très faible partie est rarement utilisée pour la consommation familiale puisque le lait de brebis est peu apprécié par la population algérienne.

Tableau IV : Production du lait ovin en Algérie de 2010 à 2014 (**MADRP, 2015**).

Année	2010	2011	2012	2013	2014
Production laitière (en tonnes)	212 920	300 000	320 000	336 000	345 000

1.6. Les races caprines et ovines en Algérie

1.6.1. Les races caprines

Le cheptel caprin Algérien présente une extraordinaire diversité génétique, on distingue trois grandes populations : locales, importées et croisées.

- **La population caprine locales** : Elle est représentée par 4 races : race Arabia la plus dominantes, kabyle mauvaise laitières apprécié pour sa viande, Maktia, Mzabia (**KERBA, 1995 ; Tableau V**).

Tableau V : Caractéristique des races caprines locales et leur répartition (KERBA, 1995).

Les races	Principale localisation	Couleurs principales	Durée de lactation (jours)	Production laitière par lactation (en Kg)
ARABIA	Région de Laghouat	Noire	150	220
MAKTIA	Hauts plateaux	Couleurs variés	120	80
KABYLE	Montagne de Kabylie et Dahra	Unicolore et multicolores Noire et Brune	150	105
MZABIA	Maithili et région de Ghardaïa	Unicolore chamoisée dominante	180	460

- **La population caprine importée :** ce sont des races introduites en Algérie à la fin de la période coloniale en 1945 il s'agit de Maltaise, Mariana, Alpine, Saanen dans le but d'améliorer la génétique du cheptel caprines en Algérie (HELLAL, 1986).
- **Les populations caprines croisées :** issue d'un croisement entre les races Locales et les races Maltaise.

1.6.2. Les races ovines

Il existe plusieurs races ovines en Algérie ; elles sont réparties essentiellement selon l'effectif en quatre races principales à savoir la race arabe blanche (Ouled Djellal) comme race majoritaire, la race Hamra, Rembi et D'men il y a des races secondaires à effectif réduit telle que la race Berbère, la Barbarine, Taragua-Sidaho (CABÉE, 1959 ; Tableau VI). Il existe aussi une autre race mais elle est ignorée par les scientifiques car elle est très rare, c'est la race Tazegzawt appelée Bleue de Kabylie qui est spécifique de la Kabylie, il y a environ 3500 têtes de cette race située principalement dans la région de Tizi Ouzou (LAFRI, 2011).

Tableau VI: Localisation et effectif des races ovines en Algérie (CHELLIGUE, 1992).

Races	Aire de répartition	Effectif	Part en %
Ouled Djellal	Steppe et hautes plaines	11340000	63
Rembi	Centre Est (steppe et hautes plaines)	1998000	11,1
Hamra	Ouest de saïda et limites zones Sud	55800	0,31
Bérbère	Massifs montagneux du Nord de l'Algérie	4500000	25
Barbarine	Erg oriental sur les frontières tunisiennes	48000	0,27
D'men	Oasis du Sud-Ouest algérien	34200	0,19
Sidahou	Le grand Sahara Algérien	23400	0,13

2. Composition chimique du lait ovin et caprin

La composition du lait varie d'une espèce mammifère à une autre, où les mêmes éléments sont présents dans chaque lait mais avec des pourcentages différents (**MAROUF et TREMBLINE, 2009**).

Le lait est une émulsion de matières grasses constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D), constitué aussi d'une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle et d'une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamine B, C, sels minéraux, azote non-protéique). La phase gazeuse est composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5% du volume total de lait.

2.1. Eau

C'est le composant le plus abondant dans le lait, elle occupe 88% du lait. Ainsi il participe à couvrir les besoins hydriques de l'organisme. Il est présent sous deux formes : eau libre qui représente 96% de la totalité, et l'eau liée à la matière sèche 4% (**RAMET, 1985**).

Son caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les glucides et les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (**BOUVIER, 1993**). Le lait de brebis est plus dense du fait de sa quantité d'eau réduite 83% par rapport au lait de vache qui compte 87,8% et au lait de chèvre 88,9% (**FREDOT, 2006**).

2.2. Matière grasse

Dans le lait, la matière grasse se présente sous forme de globules gras de diamètre qui varie de 0,1 à 10µm, ce dernier est réduit dans le lait de brebis comparativement au lait de vache et de chèvre (**THOMAS et al., 2008**).

La matière grasse est constituée essentiellement de triglycérides 98% et des phospholipides 1% qui jouent un rôle énergétique important 9kcal/g (**JEANTET et al., 2008**). La graisse de lait est caractérisée par une grande variété d'acide gras qui va de l'acide butyrique (C4) à l'acide béhénique (C22). Les acides gras sont classés en deux catégories en fonction de la longueur de la chaîne carbonée et le nombre de doubles liaisons :

- Acide gras saturés : lipides majoritaires du lait, ce qui fait 69% pour le lait de brebis par contre le lait de chèvre 70% et pour le lait de vache 65% (**COURTET, 2010**).
- Acide gras insaturés : y a deux classes, mono-insaturés et polys insaturés ; le lait de brebis contient 27% par contre le lait de chèvre 30% et le lait de vache 35% (**COURTET, 2010**).

Le lait de chèvre et de brebis sont dépourvus de beta carotène et contiennent plus de phospholipides par rapport aux laits de vache (**BOUTONNIER, 2007**).

Le lait caprin est particulièrement le plus riche en acide gras à chaînes très courtes facilement digérés (d'où leur nom : AG caprique, caproïque et caprylique ...) (**SKJEKDAL, 1975**). Pour les phospholipides y'en a pas laécithine et de céphaline pour le lait ovin tandis que dans le lait caprin y'a plus de sphingomyéline et de phosphatidyl sérine (**ROGER, 1975**).

Le lait de brebis se distingue par sa forte teneur en graisse 70g/l comparativement au lait de vache 39g/l et au lait de chèvre 31g/l, ainsi l'écémage du lait de brebis est très difficile

du fait que ses globules gras ont une petite taille d'un diamètre de 1,99 nm et ils ont tendance à s'associer aux caséines (TALEVSKI *et al.*, 2009).

2.3. Lactose

Le lactose est le sucre le plus important présent dans le lait, dit le sucre du lait. Il a un apport énergétique de 12 à 20%. C'est un diholoside de formule brute $C_{12}H_{22}O_{11}$, il est clivé par l'enzyme qu'est produit par les cellules de la muqueuse interne de l'intestin grêle en deux sucre simple β -D-galactose et α -D- glucose par rupture de la liaison osidique β (1-4). Il possède un faible pouvoir réducteur par rapport aux autres sucres, ce glucide est fermenté par les bactéries lactiques pour produire du lactate ce qui engendre une acidité du lait ainsi que sa coagulation (JEANTET *et al.*, 2008).

Le lait de brebis est plus concentré en lactose avec une valeur de 51% comparativement au lait de vache 46% et au lait de chèvre avec 44%. (VINGOLA, 2002).

2.4. Protéines

Les protéines possèdent des propriétés biologiques essentielles au bon fonctionnement du vivant (DEBRY, 2001). Le lait est un aliment riche en protéines et constitue une source des acides aminés essentiels, notamment l'histidine qui est important pour la croissance de l'enfant (LEONIL *et al.*, 2013). Dans le lait il y a deux fractions protéiques différentes : les caséines et les protéines sériques (JEANTET *et al.*, 2008 ; Tableau VII).

2.4.1. Caséines

Elles représentent environ 80% des protéines laitière totales, ce sont des protéines phosphorylées insolubles dans l'eau et forment une suspension colloïdale dans le lait, les caséines ont comme caractéristique de se précipiter à pH= 4,6 à T° ambiante ou sous action de la présure.

Les caséines résistent au traitement thermique du fait qu'elles ne sont pas dénaturées par un chauffage à 100°C /24h (MATHIEU, 1998), les caséines jouent un rôle fondamental puisqu'elles permettent de garder le calcium en solution et constituent aussi le composant essentiel des fromages (POUGHEON et GOURSAUD, 2001).

Il existe plusieurs types de caséines qui sont présentes dans le lait à des concentrations différentes : les caséines α S1, α S2, β , k et γ (DALGLEISH et CORREDIG, 2012).

- **Caséines α S1** : Constitue 34 à 40% des caséines dans le lait, c'est un polypeptide composé de 199 AA et une masse moléculaire de 23 kDa, il contient huit résidus de sérine phosphorylées, cette caséine est sensible à l'action des protéases (PHADUNGATH, 2005).
- **Caséine α S2** : représente 12 à 16% de la fraction caséique, elle est constituée de 207 acides aminés pour un poids moléculaire de 25 KDa, c'est la caséine la plus phosphorylée, contient 9 à 11 résidus sérine de sérine phosphorylées, cette caséine est plus sensible à l'action des ions calcium, elle précipite à 6 Mm de Ca à une température supérieure à 20°C (BOUTROU, 2013).
- **Caséine β** : représente jusqu'à 45% de la fraction caséique, elle possède 209 AA et un PM de 23 KDa et contient cinq résidus de sérine phosphorylées (LUCEY, 2002).

- **Caséine γ** : c'est une protéine de 43 KDa, constituée de trois fragments de PM différents : γ_1 (20,5 KDa), γ_2 (11,8 KDa) et γ_3 (11,5 KDa). La caséine γ est le produit de fragmentation de la caséine β par une enzyme appelée plasmine (LUCEY, 2002).
- **Caséine k** : c'est la moins abondante, représente seulement 3 à 5% des caséines totales, c'est une protéine de 19KDa, constituée de 169 AA et possède uniquement un seul résidu sérine phosphorylée. Elle est soluble à haute force ionique même en présence des ions calcium et elle est très sensible à l'action de la chymosine, cette protéine est moins hydrophobe et se retrouve à la périphérie de la micelle (BOYE, 2012).

Ces différents types de caséines s'organisent ensemble en submicelles de structure hétérogène, elle possède un cœur hydrophobe constitué de caséine β associée aux parties des autres caséines, en périphérie de la micelle se trouvent les parties phosphorylées des caséines $\alpha S1$ et $\alpha S2$, ainsi que la partie glycosylée de la caséine k (WALSTRA, 1999). Les submicelles s'agrègent entre elle par l'intermédiaire des ponts phosphocalciques en plus grosse unités de 10 à 100 submicelles appelées micelles de caséines (MAGALI, 2013).

2.4.2. Protéines sériques

Les protéines du lactosérum représentent environ 20% des protéines totales dans le lait bovin, elles ont une structure compacte stabilisée par les ponts disulfures ; elles sont solubles dans l'eau et forment une solution colloïdale dans le sérum. Les protéines sériques du lait ovine ne se coagulent pas lors de la formation du caillé, mais précipitent à température élevée et commencent à se dénaturer à 62°C (JOUANE, 2002). Les protéines sérique sont constituée essentiellement des albumines en majorité (β -lactoglobuline, α -lactalbumine et l'albumine sérique) et des globulines (les immunoglobulines, la lactoferrine, les protéases peptones...) (MEISEL, 1998).

2.4.2.1. β -lactoglobuline : la protéine la plus abondante des protéines sériques, elle est très importante au point de vue nutritionnel du fait de sa richesse en acides aminés essentiels, c'est une holoprotéine formée d'une seule chaîne polypeptidique de 162 AA pour un PM de 18362 Da, son pHi varie selon les variants génétique entre 5,23 et 5,30 (WAL, 2011).

2.4.2.2. α -lactalbumine : C'est une métalloprotéine globulaire, constituée de 123 acides aminés sa masse moléculaire est de 14174 Da elle se caractérise par sa grande richesse en tryptophane et en acides aminés soufrés, son pHi= 4,8 et possède une structure tridimensionnelle très semblable à celle de lysozyme. Elle a comme particularité une grande affinité pour les ions de Ca^{2+} qui favorise le repliement de la protéine ainsi que la formation des ponts disulfures, possède aussi un site de fixation du zinc. L' α -lactalbumine présente le facteur de régulation du système enzymatique de la lactose synthétase (BROWN *et al.*, 1969).

2.4.2.3. Albumine sérique : c'est une protéine présente dans le sérum sanguin et dans le lactosérum. L'albumine sérique est une protéine large et complexe elle partage une forte homologie avec l'albumine sanguine, elle est formée d'un polypeptidique de 582 AA et une masse molaire de 66,3 KDa, sa richesse en cystéines et en acide glutamique lui confère un rôle de synthèse de glutathion (RIBADEAU et BRIGNON, 1993).

2.4.2.4. Lactoferrine : Elle constitue 0,4 à 1% des protéines sériques total, c'est une glycoprotéine de 83 KDa avec 692 acides aminés, elle se distingue des autres par son caractère

basique avec un $pH=8,5$ une structure proche de celle de la transferrine sanguine, capacité de chélate le fer lui confère des propriétés bactériostatiques (**ZIMECKI et CRUZEL, 2007**).

2.4.2.5. Protéases et peptones : c'est une fraction soluble thermorésistante du lait, représentant environ 10% des protéines du lactosérum. C'est une mixture de peptides très complexe et hétérogène qui résultent de l'hydrolyse des protéines du lait par les protéases natives du lait, les peptides issus de cette fraction sont résistants à l'acidité (**PAQUET, 1989**).

Tableau VII : Teneur moyenne en g/L et distribution des protéines dans le lait de vache, de chèvre et de brebis (**FAO, 1998**)

Protéine	Vache	Chèvre	Brebis
α -lactalbumine	1,5 (45%)	2,0 (25%)	1,3 (10%)
β -lactoglobuline	2,7 (25%)	4,4 (55%)	8,4 (67%)
Albumine sérique	0,3 (5%)	0,6 (7%)	0,6 (5%)
Immunoglobulines	0,7 (12%)	0,5 (6%)	2,3 (18%)
Protéase-peptone	0,8 (13%)	0,6 (7%)	0 (0%)
Total des protéines solubles (100%)	6,0 (100%)	8,10 (100%)	12,6 (100%)
Caséine α_s	12,0 (46%)	12,0 (46%)	21,6 (47%)
Caséine β	9,0 (36%)	9,0 (36%)	16,1 (36%)
Caséine k	3,5 (13%)	3,5 (13%)	4,5 (10%)
Caséine γ	1,5 (6%)	1,5 (6%)	3,0 (6%)
Total des caséines (100%)	26,0 (100%)	26,0 (100%)	44,6 (100%)
Protides totaux	32,0 (3,2%)	34,1 (3,41%)	57,2 (5,72%)

Le lait de brebis est très riche en protéines (57,2g/l), il est caractérisé par une teneur élevée de β -lactoglobuline et d'immunoglobulines. Le lait de chèvre (34,1g/l) contient moins de caséines et plus d'azote non protéique ; alors que le lait de vache 32g/l ; par conséquent, le lait caprin et ovin donnent des coagulums plus fermes que le lait de vache (**FAO, 1998**).

2.5. Vitamines

Ce sont des substances organiques biologiquement indispensables, puisqu'ils ne sont pas synthétisés par l'organisme vivant ; couvrent plus de 10% de l'apport nutritionnel puisqu'elles participent comme cofacteur dans les réactions enzymatique et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. Le lait contient une grande variété de vitamines possède en totale sept vitamines (**Tableau VIII**) qui sont réparties en deux classes :

- **Vitamines liposolubles** : A, D, E, K s'associent aux différents lipides
- **Vitamines hydrosolubles** : B et C ces vitamines se retrouvent en plus grande concentration dans le lactosérum (**VINGOLA, 2002**).

Tableau VIII: Teneur en vitamines du lait de vache, de chèvre et de brebis (mg/l) (FAO, 1998).

Vitamine	Vache	Chèvre	Brebis
B₁	0,42	0,41	0,85
B₂	1,72	1,38	3,30
B₆	0,48	0,60	0,75
B₁₂	0,0045	0,0008	0,006
Acide nicotinique	0,92	3,28	4,28
Acide folique	0,053	0,006	0,006
C	18	4,20	47,0
A	0,37	0,24	0,83
β-carotène	0,21	<0,10	0,02

2.6. Minéraux

Le lait contient les minéraux essentiels qui doivent être apportés par l'alimentation, ils sont indispensables au bon fonctionnement de notre organisme ; puisqu'ils jouent un rôle important sur le plan structural, fonctionnel, ainsi que et le plan technologique et nutritionnel dans le lait puisqu'elle assure la stabilité des micelles et caséines (MAHAUT *et al.*, 2000). Toutes les matières minérales ne sont pas en solution une partie d'entre elle est associée aux protéines (VINGOLA, 2002).

Le lait contient sept minéraux essentiels (Tableau IX), il est riche en calcium, magnésium et potassium. Le lait de brebis est très riche en minéraux (12g/l) comparé au lait de vache et de chèvre qui contiennent environ (7g/l).

Tableau IX: teneur en minéraux du lait ovin, caprin et bovin (mg/l) (FAO ,1998).

Minéraux	Lait ovin	Lait caprin	Lait bovin
Sodium	450	400	520
Potassium	1250	1800	1500
Calcium	1900	1350	1250
Magnésium	160	180	120
Phosphore	1500	1000	950
Chlore	1,21	2,20	1
Fer	0,5-0,7	0,1	0,2-0,5

2.7. Enzymes

Ce sont des protéines globulaires spécifiques produites par des cellules vivantes, qui catalysent des réactions biochimiques et métaboliques. Le lait en général qu'il soit de brebis, de chèvre ou de vache contient trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases et les oxygénases ; les principales sont la lactoperoxydase, le lysozyme, la phosphatase alcaline, la sulfhydryle oxydase, la catalase et la plasmine (Tableau X) (HUPPERTZ *et al.*, 2006).

Tableau X : Composition biochimique du lait de vache, de chèvre et de brebis (ALAIS *et al.*, 2008).

Animaux	Eaux (%)	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Glucide (%)	Minéraux (%)	Energie (kcal/L)
Vache	87,8	3,7	3,2	4,6	0,8	670
Chèvre	87,0	3,8	3,4	4,4	0,9	700
Brebis	81,5	7,4	5,9	4,8	1,0	1040

3. Caractéristiques physico-chimiques

3.1. Le pH

En général le pH détermine la concentration en ions H⁺ (AMIOT *et al.*, 2002). Les valeurs du pH représentent l'état de fraîcheur du lait. Le lait à un pH légèrement acide et proche de la neutralité, la valeur de ce pH diffère du lait d'une espèce à un autre à cause des différences dans la composition chimique notamment en caséines et en phosphate (GOURSAUD, 1985). Le pH du lait de brebis est de 6,91 comparé au lait de chèvre et de vache 6,87 et 6,7 respectivement (KOCEIR, 2010).

3.2. L'acidité

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle due aux caséines, aux groupes phosphates, aux acides carboniques et au dioxyde de carbone, comme elle résulte aussi de l'acidité développée due à l'acide lactique produit par les bactéries lactiques lors de la fermentation (JEAN et DIJON, 1993).

L'acidité du lait peut être un indicateur de la qualité du lait car elle permet d'apprécier la quantité d'acide lactique produite, elle s'exprime en degré Dornic (1°D= 1 gramme d'acide lactique par un litre du lait) (JEAN et DIJON, 1993).

L'acidité du lait diffère selon la saison et les espèces, elle est proportionnelle à la teneur en caséines, le lait frais de brebis (22-25°D) est plus acide que le lait de vache (16-18°D) par contre le lait de chèvre (12-17°D) est moins acide que le lait de vache (FANNI et NOVAK, 1987).

3.3. La Densité

La densité du lait est liée à sa richesse en matière sèche et varie proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension (solides non gras) (GOURSAUD, 1985). Elle dépend aussi de leur degré d'hydratation (ALAIS, 1984).

La densité du lait augmente avec l'écémage et diminue avec le mouillage (VINGOLA, 2002). Le lait de brebis d'une densité de 1,035 est plus élevé que le de chèvre de densité 1,02, et le lait de vache qui aussi dense que le lait de chèvre avec une densité de 1,032 (PARADAL, 2012).

3.4. Le point de congélation

Le point de congélation du lait est la température de passage du lait de l'état liquide à l'état solide (ABOUTAYEB, 2009). Le point de congélation du lait est inférieur à celui de l'eau pure qui est de 0 °C, cela est due aux substances solides telles que le lactose et les minéraux dissouts dans le lait (AMIOT *et al.*, 2002).

Le lait de brebis à un point de congélation de -0,570°C inférieur à ceux du lait de chèvre qui est de -0,544°C et à son tour inférieur de ceux du lait de vache -0,525°C (NEVILLE *et al.*, 1995). La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C (MATHIEU, 1999).

4. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques du lait sont basées sur quatre critères qui sont la couleur, l'odeur, la saveur et la viscosité, ces critères ne peuvent être précis qu'en comparaison avec le lait frais (VIERLING, 2003).

4.1. Couleur

La couleur blanche du lait est due aux globules gras et aux micelles de caséines qui il contient ces derniers diffractent la lumière et dispersent les rayons lumineux sans les absorber et renvoient un rayonnement une lumière blanche. (FREDOT, 2006). Le lait de brebis est de couleur blanc nacré due à sa teneur élevée en lipides et l'absence de β carotène, il plus opaque que le lait de vache qui est de couleur blanc mat légèrement jaunâtre due à la présence de β carotène, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache parce qu'il est dépourvu de β carotène (DEURTEURTRE *et al.*, 1993)

4.2. Odeur

La matière grasse qu'est présente dans le lait fixe les odeurs animales ; ces odeurs sont liées à l'ambiance de la traite ou à l'alimentation les fourrages à base d'ensilage favorisent la fleur butyrique le lait prend alors une forte odeur ou à la conservation de lait a laide d'acide lactique prend une odeur aigrelette. Le lait ovin à une odeur la plus forte par contre le lait caprin fraîchement traité à une odeur assez neutre par fois en fin de lactation il possède une odeur dites caprines. (VIERLING, 2003).

4.3. Viscosité

La viscosité du lait est principalement fonction de sa teneur en protéines « caséines » et en matières grasses (VIERLING, 2003). Le lait de brebis est plus visqueux par rapport au lait ovin et caprins elle est due à la teneur élevée de protéines et lipides (LUQUET, 1985).

4.4. Saveur

La saveur du lait ovin est agréable un peu sucré grâce à la teneur élevée en lactose, ce goût est proche de celui du lait bovin, il convient aux personnes avec des intolérances en lait de vache. L'alimentation de brebis avec certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre aux laits des saveurs anormales en particulier un goût amer. Par contre le lait caprin à goût neutre

légèrement sucré il est caractérisé par la présence d'une saveur particulière qu'est dû à certains acides gras libres et accentuée par la lipolyse ; cette saveur lui donne un goût plus relevé que le lait de vache (**THIEULIN et VUILLAUME, 1967**).

5. Les enzymes digestives gastro-intestinales

Le lait de vache et les produits laitiers jouent un rôle primordial dans l'alimentation humaine, car les protéines du lait constituent 20 à 30 % des protéines alimentaires totales (**DILLON, 1989**). Cette grande utilisation des protéines du lait est principalement due à leur excellente valeur nutritionnelle.

La digestion gastro-intestinale des protéines commence dans l'estomac, sous l'action des protéases gastriques tels que la pepsine du groupe des endopeptidases, en clivant les liens peptidiques et permettant ainsi la libération de divers produits de dégradation (polypeptides, oligopeptides et acides aminés) qui seront ensuite absorbés par les microvillosités intestinales (**REDDY *et al.*, 1988**). Cette digestion se poursuit au niveau de l'intestin grêle par les protéases pancréatiques notamment la trypsine et la chymotrypsine (**MOLKHOUS, 2006**).

5.1. Les endoprotéases gastriques

Les protéases (EC3.4.23.1) appelées aussi peptidases ou enzymes protéolytiques sont des enzymes responsables de l'hydrolyse des chaînes protéiques en coupant les liaisons peptidiques qui relient les acides aminés en plusieurs fragments plus courts.

Elles divergent par leur mécanisme d'action très dépendant de la nature des acides aminés du site actif de l'enzyme impliquée dans la catalyse. Elles sont scindées en six familles : la protéase à aspartate, à sérines, à glutamates, à cystéines, à thréonine et les métalloprotéases (**VOET et VOET, 1998**).

Les protéases ne coupent pas en même endroit, elles ont des sites de coupure spécifiques, classées en :

- **Endopeptidases** : qui clivent les liaisons peptidiques au milieu des protéines ;
- **Exopeptidases** : qui libèrent le premier ou le dernier acide aminé en coupant à l'extrémité de la chaîne protéique (**LEROY, 1997**).

Les peptidases sont impliquées dans de nombreuses fonctions biologiques comme la digestion des protéines ingérées, le catabolisme des protéines et signalisation cellulaire. Les peptidases impliquées dans la digestion se trouvent dans les sucs digestifs et les principales sont : la pepsine, la trypsine, la chymotrypsine.

5.1.1 La pepsine

C'est une enzyme de règne animal (EC3.4.23.1), découverte par le docteur Beaumont en 1833. Elle fait partie de la famille des endoprotéases, son poids moléculaire est de 36000 Da. Elle est sous forme bilobée, composée de deux domaines N et C liés par une dyade intra Elle est composée de 326 résidus d'acides aminés de sorte que de 1-175 AA forment l'extrémité N-terminal et de 176-326 AA formant le domaine C-terminal. Elle est composée essentiellement d'acide aspartique et d'acide glutamique qui sont en grande partie polaire et enfouie. Sa structure est schématisée dans la **figure (03)**.

La pepsine est une enzyme digestive retrouvée naturellement dans le suc gastrique. Elle est synthétisée sous forme inactive pepsinogène de PM= 42000 Da, par les cellules principales des glandes gastriques. L'activation de pepsinogène en pepsine est induite par une hydrolyse sous l'action d'acide chlorhydrique sécrété par les cellules pariétales de la muqueuse gastrique (RAISONNIER, 2004).

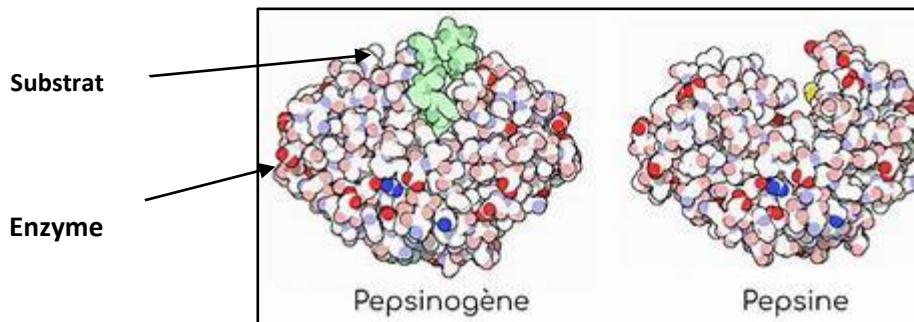


Figure 03 : La structure tridimensionnelle de pepsinogène (zymogène) et de la pepsine (SAMLOFF, 1971).

La pepsine joue un rôle dans la dégradation des protéines contenues dans les aliments consommés en hydrolysant les liaisons peptidiques avant les AA aromatiques (Trp, Tyr, Phe) cotes N-t et les AA hydrophobes (Ala, Val, Ile, Leu, Met) (DUNN, 2002). Pour donner des peptides de taille petite **figure (04)**. En absence de protéine, l'activation du pepsinogène en pepsine n'aura pas lieu et ce afin d'éviter que la pepsine attaque la paroi gastrique. Son pH optimum est très acide, il varie de 1,5 à 4, cette enzyme est désactivée en passant dans le duodénum qui a un pH alcalin (CAPOBIANGO *et al.*, 2006).

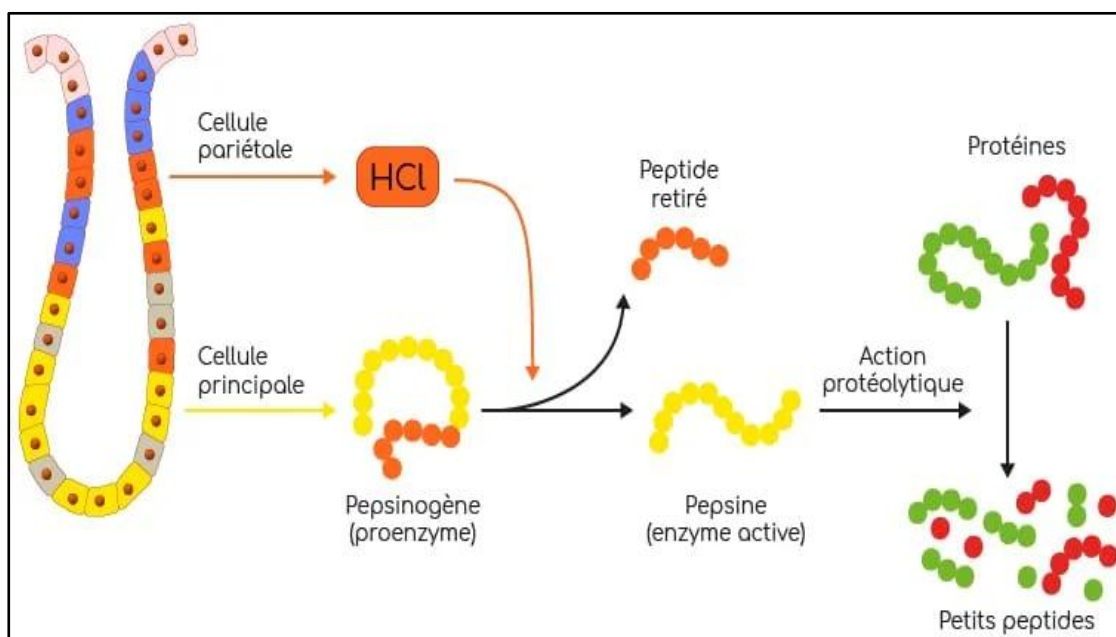


Figure 04 : Production et action de la pepsine (SILBERNAGLE et DESPOPOULOS, 2001).

5.1.2. La pancréatine

C'est une enzyme sécrétée par le pancréas (suc pancréatique). Elle possède différentes activités hydrolytiques tels que : amylase pancréatique, trypsine, chymotrypsines et lipase. Elle aide la dégradation des protéines, lipides et glucides.

5.1.2.1. La trypsine

Elle a été découverte en 1876 par le physiologiste allemand Wilhelm Kuhne. La trypsine a été obtenue artificiellement pour la première fois en frottant un pancréas.

La trypsine (EC 3.4.21.4) est une peptidase du suc gastrique, fait partie de la famille des protéases à sérine, son poids moléculaire est de 26 488, formée de 247 acides aminés, sa structure tertiaire est stabilisée par quatre ponts disulfures (BIASUTI *et al.*, 2007). Sa structure est représentée dans la **figure (05)**.

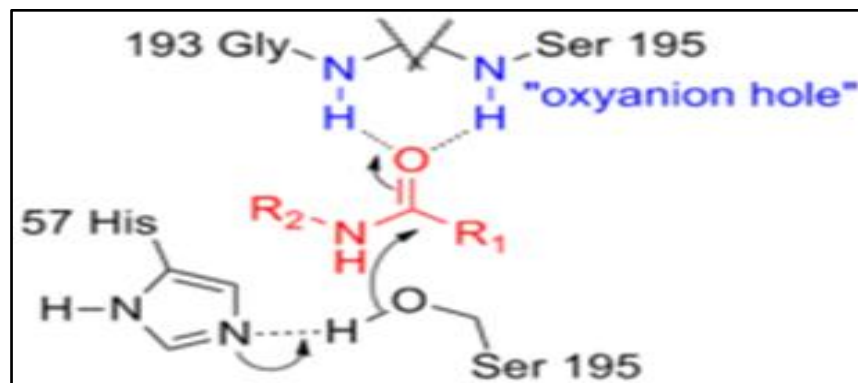


Figure 05 : Les acides aminés de site catalytique et mécanisme d'action de la trypsine (MONTEZIN, 2004).

Chez l'homme, la trypsine est un mélange de trois enzymes digestives : la trypsine-1 (trypsine cationique, deux tiers), la trypsine-2 (trypsine anionique, environ un tiers) et la trypsine-4 (mésotrypsine, un pourcentage légèrement inférieur).

La trypsine est synthétisée par le pancréas sous forme inactivée « trypsinogène », leur structure est représentée dans la **figure (06)** puis stockée dans les vésicules enzymatiques des cellules acineuses d'où elle est excrétée au moment de la digestion. L'activation du trypsinogène en trypsine dans le duodénum se fait par l'hydrolyse du propéptidase sous l'action d'entérokinase ou par un effet d'auto activation de la trypsine. Elle est caractérisée par la présence d'une triade catalytique au niveau de son site actif : Serine (ser-195), Histidine (His-57), Aspartate (Asp-102) (GAILLARD, 2003) (**figure 05**).

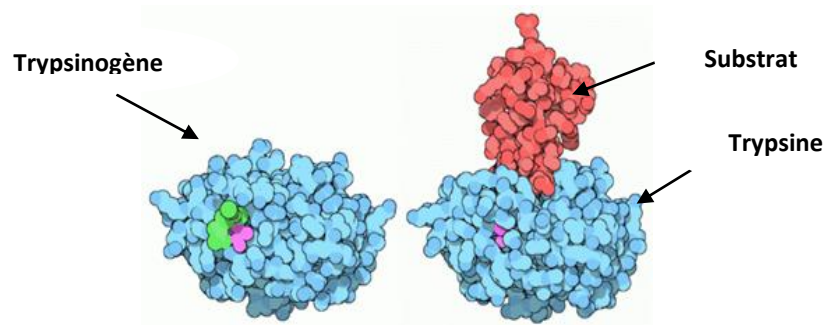


Figure 06 : Structure tridimensionnelle du complexe trypsinogène-trypsine (DEMERS, 2010).

La trypsinose participe à la digestion des protéines en hydrolysant les liaisons peptidiques du cotés C-terminal des acides aminés basiques Arg (Arg/-XX) et Lysine (lys/-XX) sauf dans le cas où l'AA suivant (XX) est la proline ici il n'y aura pas de coupure. Elle transforme les polypeptides en chaînes protéiques plus courtes. Son pH optimum est de 7,5-8,5 ; sa température optimale est 37°C. Elle participe aussi à l'activation d'autres enzymes comme la chymotrypsine (BECK, 1973).

Elle est inactivée et dégradée soit à pH neutre dans l'intestin ou par des inhibiteurs qui sont présents dans les légumineuses, telles que la pectine et la solanine (BECK, 1973).

5.1.2.2. La chymotrypsine

C'est une endoprotéase digestive secrété par le pancréas, de la famille des protéases à sérine (EC3.4.21.1). Son PM est 27870, elle est constituée de 263 résidus d'AA. Elle est codée par 2 gènes sur le chromosome 16 dont le produit est le chymotrypsinogène qui doit être activé pour donner la chymotrypsine (DEMERS, 2010 ; figure 07).

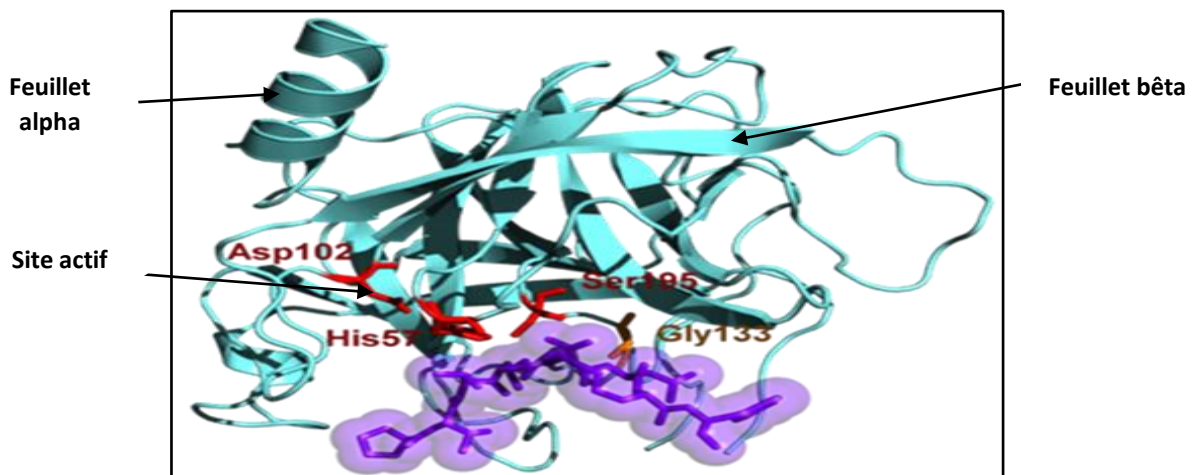


Figure 07 : La structure tridimensionnelle de la chymotrypsine (DEMERS, 2010).

La chymotrypsine est produite par le pancréas sous une forme inactivée appelée le chymotrypsinogène. L'activation est provoquée par la trypsinose qui coupe cette molécule en

deux chaînes en retirant deux peptides Ser14-Arg15 et Thr147-Asn148, puis par la chymotrypsine elle-même « auto activation » lors d'une trans-protéolyse donnant à la fin une structure globulaire compacte de trois chaînes reliées par deux ponts disulfures et repliés en deux domaines de 120 acides aminés. Celle-ci ne doit pas être activée jusqu'au dernier moment afin d'empêcher qu'elle endommage le pancréas (ROSE, 1991).

La chymotrypsine participe à l'hydrolyse des liaisons peptidiques du cotés C-terminal de la tyrosine, du tryptophane, de la phénylalanine, de la leucine, de l'isoleucine et de la méthionine, grâce à son site actif qui est une poche hydrophobe qui contient 4 acides aminés (ser-195 ; his-57, asp-102 ; gly-193) présenté dans la **figure (08)**. Son pH optimum varie entre 8 à 8,2 et sa température optimale est de 37°C. Elle accélère certaines réactions chimiques dans le corps (COULTOULY, 1991).

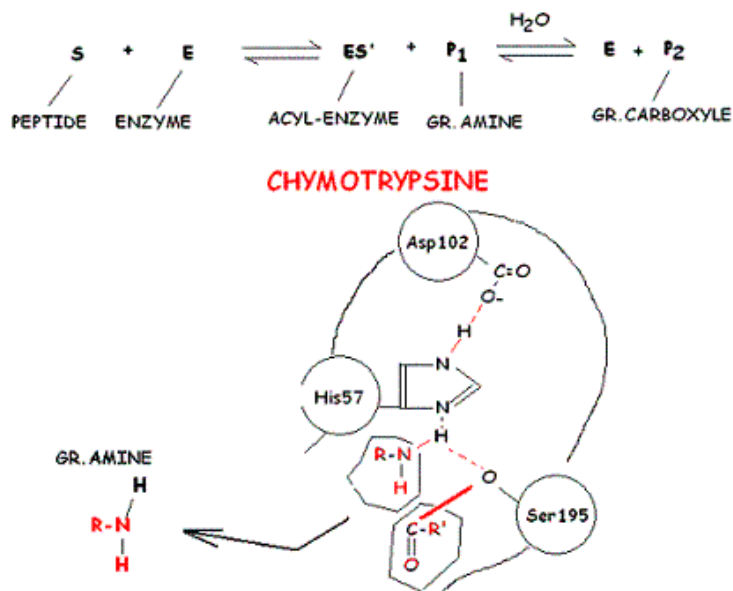


Figure 08 : les site actif et le mecanisme d'action de chymotrypsine (MONTEZIN *et al.*,2004).

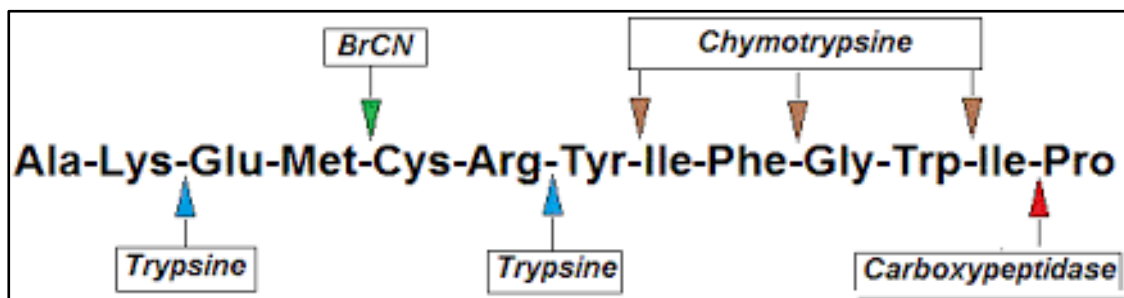


Figure 09 : Sites de coupure de la trypsine et de la chymotrypsine (SINDAYIKENGERO, 2006).

2.2. Peptides bioactifs générés lors de la digestion des protéines de lait

La digestion gastro-intestinale des protéines du lait par la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine, génère des peptides d'une taille varie de 2 à 20 résidus d'acides aminés qui sont dotés de différentes activités biologiques : anti oxydantes, anti microbienne, immuno-modulatrice, anti hypertensive,...etc. Certaines activités sont résumées dans le (**Tableau XI**).

Tableau XI : quelque peptides bioactifs issu de la digestion des proteines du laits par la pepsine et chymotrypsine

Protéine du lait (précurseur)	Enzyme	Peptides bioactif libéré	Activité biologique	Référence
Lactoferrine	Pepsine	Peptide (17-41)	Anti microbienne	(MOHANTY et al., 2016).
α -lactalbumine	Chymotrypsine	Peptide LDC (α 61-86/75-80)	Anti microbienne	(PELLEGRINI et al., 1999)
Caséines totales caprines	Trypsine	Hydrolysat de caséines totales	Anti oxydante et anti hypertensive	(ESPEJO et al., 2015).
As2-CN ovine	Pepsine	Fragment f (203-208)	Anti oxydante et inhibition de l'ECA	(LOPEZ et al., 2006).
β -Lg ovine	Trypsine	Peptide (107-115)	Anti hypertensive (inhibition de l'ECA)	(CHOBERT et al., 2005).

Chapitre II
Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé en niveau de laboratoire de biochimie du département du biochimie-microbiologie de l'université MOULOUD MAMMERIE de Tizi Ouzou.

2.1. Matériel

2.1.1. Echantillons

Les échantillons du lait ovine et caprine proviennent de troupeaux de brebis (Race Berbère) et de chèvre (Race kabyle) en système semi intensif dans la région de Mekla, wilaya de Tizi Ouzou.

2.1.2. Matériel biologique

- Albumine sérique bovine (BSA).
- Pepsine extraite de l'estomac de porc (1436 U/mg, BioChemika).
- Pancréatine (350U/g Protéase, 7500U/g Lipase, 7500U/g Amylase, MERCK).
- Protéines marqueurs de poids moléculaire : BSA (67KDa), Ovalbumine (45KDa), β -Lactalbumine (18KDa), α -Lactalbumine (14KDa).

2.1.3. Produits chimiques et réactifs

- **Acides** : acide chlorhydrique (HCL), acide trichloracétique (TCA), acide acétique (CH_2COOH), acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$).
- **Solvants**: glycerol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$), éthanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.
- **Sels et tampon** : carbonate de sodium ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$), Hydrogénophosphate de sodium et de potassium (NaHPO_4), hydroxyde de sodium (NaOH), sulfate de cuivre (CuSO_4), tartrate double de sodium et de potassium ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), chlorure de sodium (NaCl)
- **Colorants et réactifs spécifiques** : réactifs folin-ciocalteu, dodécyl sulfate de sodium (SDS), tris (hydroxyéthyl) aminonéthane (tris) ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_3$), β -mércaptoéthanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$), acrylamide ($\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$), bis acrylamide ($\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$), persulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2 \text{S}_2 \text{O}_8$), N-N-N'-N' tétra-méthylethylenediamine (T.E.M.E.D), bleu de bromophénol ($\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$), bleu de Coomassie R250 ($\text{C}_{47} \text{H}_{49} \text{N}_3 \text{NaO}_7 \text{S}_2$), 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH) ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$).

2.1.4. Appareillage

- Unité d'électrophorèse sur mini cuves verticales (HOEFFER SE 260, USA) comprenant : couleur de gel, cuve d'électrophorèse, générateur de courant (max 250V, 100m plaques en verre et en silice, espaceurs de 1mm d'épaisseur.
- Spectrophotomètre UV-visible (SHINADZU Japon).
- Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA), max 15000g.
- Bain-marie (MEMMERT Allemagne).
- Agitateur à barreau magnétique.
- Vortex.
- pH-mètre (Hanna 80351).
- Balance de précision (OHAUS USA) (0,001 g) et Balance analytique (0,01 mg).

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation des échantillons du lait écrémé de chèvre et de brebis

L'écémage du lait ovin et caprin est effectué par une centrifugation à 3500 g pendant 20 minutes à 4°C, ensuite la crème qui apparait en surface est écartée et le lait écrémé est filtré à travers la gaze à fin d'éliminer toutes traces de matières grasses.

2.2.2. Détermination de la teneur en protéines totales

La concentration des protéines totale dans le lait écrémé est déterminée par la méthode de **LOWRY *et al.*, (1951)**. C'est une méthode de dosage colorimétrique des protéines basée sur la réaction entre les protéines et le réactif de Folin Ciocalteu (réactif phosphotungstomolybdique) qui permet la réduction des résidus d'acides aminés aromatiques (tyrosine et tryptophane), ce qui conduit à la formation d'un complexe de couleur bleu foncé qui a une absorbance maximale à 750 nm.

La teneur en protéines totales des échantillons analysés est déterminée grâce à une courbe d'étalonnage : $DO = f(\text{concentration})$ en utilisant l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence **figure (10)**.

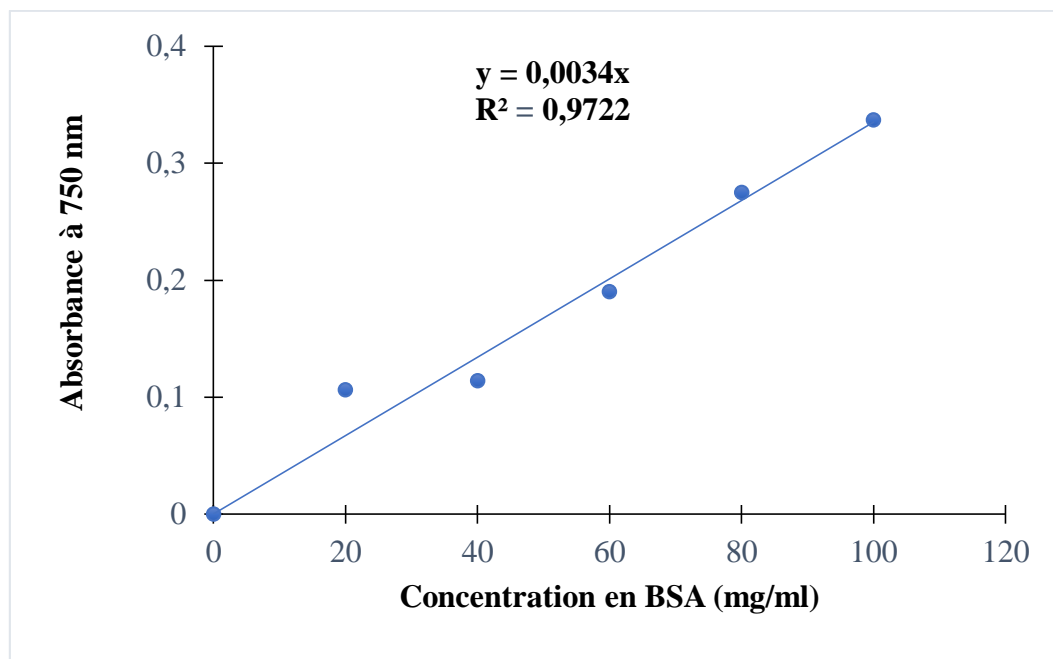


Figure 10 : Le courbe étalon de dosage des protéines totales par la méthode de LOWRY *et al.* (1951).

2.2.3. Digestion *in vitro* du lait

En vue d'évaluer la sensibilité des protéines du lait caprin et ovin à l'hydrolyse gastro-intestinale par les protéases du suc digestif : pepsine et pancréatine, une digestion *in vitro* est effectuée selon la méthode décrite par **TUNICK *et al.* (2016)** illustrée dans la **figure (11)** :

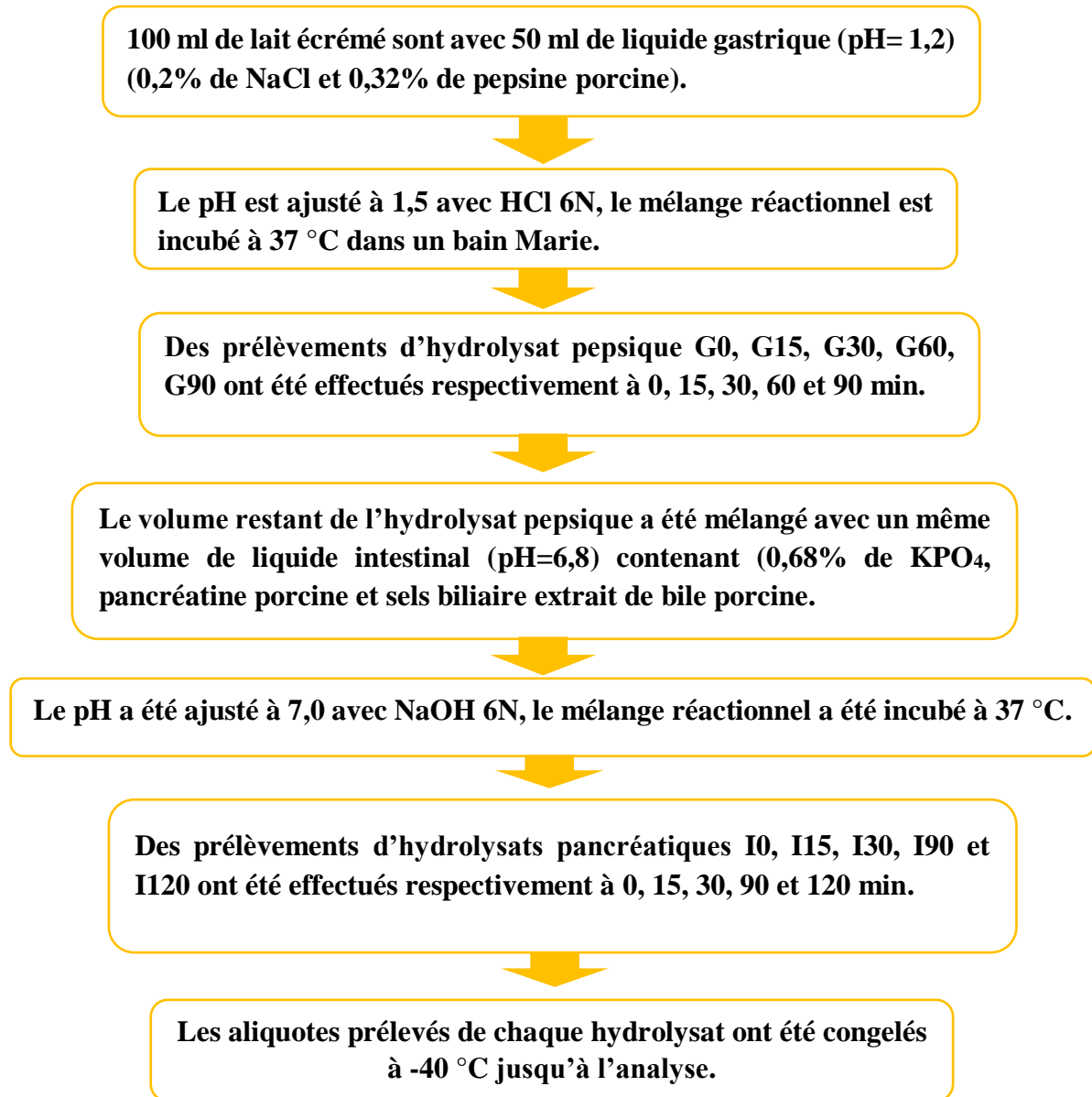


Figure 11 : les étapes de la digestion gastro-intestinale simulée *in vitro* des protéines totales du lait caprin et du lait ovin par la pepsine et la pancréatine.

2.2.4. Détermination du degré d'hydrolyse

- **Principe**

Le degré d'hydrolyse (DH) est la proportion de liaisons peptidiques clivées dans un hydrolysats protéique. Pour déterminer le DH, plusieurs méthodes existent dont la plus récente est basée sur la mesure de l'azote soluble dans l'acide Trichloracétique (SN-TCA) appelée aussi indice de solubilité dans le TCA.

Cette méthode ne détermine pas le DH directement, car elle ne permet pas de mesurer le nombre de liaisons peptidiques rompues mais elle permet d'estimer la concentration d'azote soluble dans le TCA qui est supposée être composé uniquement d'acide aminés et de petits peptides. La méthode SN-TCA utilise entre 3,6 et 13,6% de TCA pour précipiter la protéine non hydrolysée qui peut être présente. Les protéines précipitées sont centrifugées et la teneur en azote du surnageant est calculée comme le rapport de l'azote soluble dans le TCA sur l'azote total dans l'échantillon exprimé en pourcentage.

- **Mode opératoire**

La méthode utilisée pour estimer le degré d'hydrolyse (DH%) des protéines dans les hydrolysats protéiques du lait de chèvre et de brebis est celle décrite par **HOYLE et MERRITT, (1994)**.

Pour un volume de 1 ml de chaque hydrolysats de protéines du lait de chèvre et de brebis, 1 ml de la solution de 20% TCA a été rajouté. Par la suite, ces mélanges ont été incubés pendant 30 minutes à 25°C. Après l'incubation, une centrifugation à 10 000 g pendant 10 min à 4°C été effectuée à fin d'obtenir le surnageant contenant la fraction soluble dans TCA à 10%. Ensuite, la méthode de **LOWRY et al., (1951)** a été utilisée pour déterminer la teneur en protéines totales des fractions solubles dans le TCA 10% des hydrolysats de protéines du lait de chèvre et de brebis.

- **Expression des résultats**

Le lecteur est effectué contre un blanc qu'est l'eau distillé à l'aide de spectrophotomètre à 750nm. Le degré d'hydrolyse a été calculé par l'équation suivante :

$$DH \% = \frac{\text{Protéine soluble dans le TCA à 10\%}}{\text{Protéine totale dans l'échantillon}} \times 100$$

2.2.5. Méthodes électrophorétiques

- **Principe**

L'électrophorèse est une méthode d'analyse basée sur la migration différentielle de particules chargées sous l'effet d'un champ électrique. Les protéines, du fait de leurs caractères amphotères, peuvent se comporter comme des anions ou des cations et se déplacer ainsi soit vers l'anode ou vers la cathode et être visualisées sous forme de bandes de migration distincte selon leurs charges et leur poids moléculaires. Le gel de polyacrylamide utilisé est le produit de polymérisation de monomères d'acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) et d'un agent de pontage le N, N'méthylène- bis acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$). Cette réaction 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).

2.2.5.1. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dissociante et dénaturantes (PAGE-SDS)

L'électrophorèse SDS-PAGE, comme toute technique électrophorétique, repose sur la séparation des molécules chargées dans un champ électrique du fait que les molécules qu'on

intercale dans ce champ, migreront selon leur charge vers le pôle complémentaire. La particularité de la SDS-PAGE est de soumettre les échantillons protéiques à un prétraitement dénaturant par l'action du :

- Traitement thermique à 100°C pendant 4-5 minutes, en présence de :

- ✓ β -mércaptoéthanol qui exerce une action dénaturante sur les protéines oligomériques en rompant les ponts disulfures ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle et ainsi la dissociation des sous-unités de la protéine ;
- ✓ Dodécylsulfate de sodium (SDS) qui est un détergeant anionique qui se fixe sur la surface des protéines et leur conférant ainsi une charge globale négative. Ainsi ces protéines chargées négativement vont se migrer vers le pôle positif (anode) donc la charge réelle des protéines n'est plus mise en jeu et donc leur migration est influencée uniquement par leur forme et leur masse moléculaire.

• Mode opératoire

Le procédé adopté est celui décrit par **LAEMMLI et FAVRE. (1973)** qui utilise un système de tampons discontinus comprenant : tampon T1 (Tris/HCl, 0,125 M, pH 6,8 pour le gel de concentration (T = 4 %, C = 2,7 %) contenant 0,1 % de SDS et tampon T2 (Tris/HCl), 3,8 M, pH 8,8 contenant 0,1 % de SDS pour le gel de séparation (T = 15 %, C = 2,7 %).

Le tampon d'électrode pH 8,3 est composé de 50 mM de Tris, de 384 mM de glycine et de 0,1 % de SDS. L'échantillon est déposé dans les puits à raison de 10 μ L. L'électrophorèse est conduite sur mini-cuves sous des conditions électriques de 20 mA, 10 W et 250 V.

A la fin de l'électrophorèse, les protéines sont fixées dans une solution d'acide trichloracétique (12 %) pendant 45 min, puis colorées pendant 2 h par le bleu de Coomassie R250 (0,2 %). La décoloration du gel s'effectue dans des solutions (eau/méthanol/acide acétique, 3,12 : 1,5 : 0,37). Un kit préparé au laboratoire LABAB de protéines de poids moléculaire connu est déposé sur l'un des puits. Le kit comprend : l'albumine sérique bovine (67kDa), l'ovalbumine (45kDa), la β -Lactoglobuline (18kDa) et l' α -Lactalbumine (14kDa).

Après coloration et décoloration du gel de polyacrylamide, seule les bandes de nos échantillons protéiques qui demeurent colorée en bleu. L'analyse qualitative des bandes révélées se fait en faisant référence aux marqueurs de poids moléculaire déposés dans le gel.

2.2.6. Détermination de l'activité antioxydante

2.2.6.1. Dosage des polyphénols

• Principe

Les polyphénols sont une grande famille des molécules organiques abondants dans le règne végétal et dans nos aliments. Réputées pour leur propriétés antioxydantes, constitués d'un assemblage complexe des molécules phénoliques généralement de haut poids moléculaire comportant un noyau benzoïques et des fonctions hydroxyle.

Le dosage des polyphénols a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage est basé sur la détermination

de la concentration des groupements hydroxyles présent dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**RIBEREAU *et al.*, 1968**). Ce mécanisme d'action est expliqué dans la **figure (12)**.

La coloration produite dont l'absorption maximale à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les hydrolysats des deux laits.

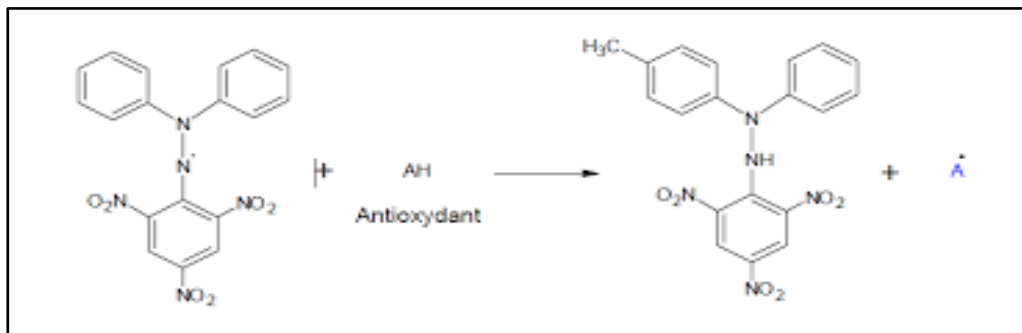


Figure 12 : le mécanisme d'action des polyphénols

- **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols a été effectué comme décrit par **CHANG *et al.* (2013)** Un volume de 60 μ l d'hydrolysats a été mélangé avec 60 μ l de solution de Folin-Ciocalteu, incubé pendant 5 minutes à température ambiante, puis rajouté à cela 60 μ l de carbonate de sodium à 10% (Na_2CO_3), en final le mélange est incubé à température ambiante pendant 1 heure à l'obscurité.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme référence ; **figure (13)**.

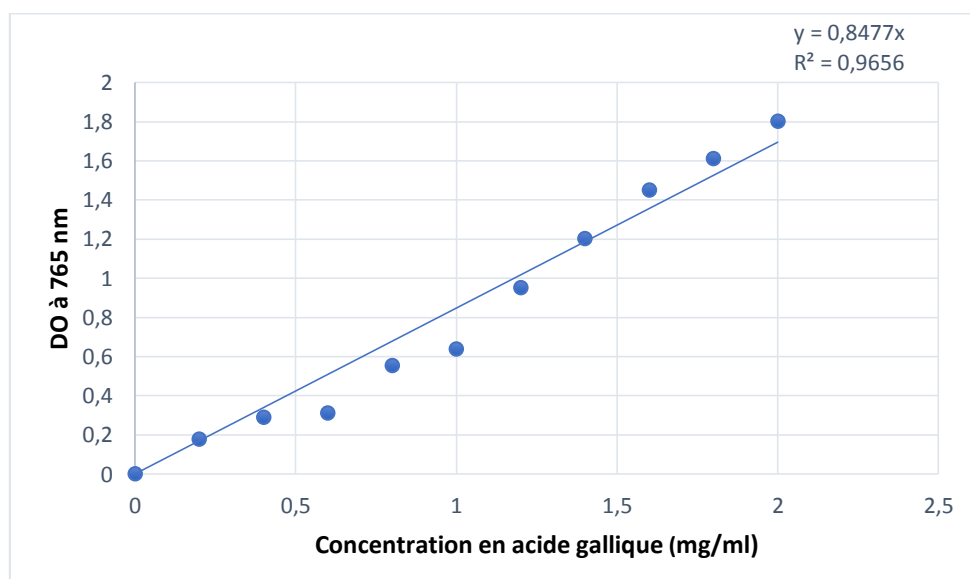


Figure 13 : Droite d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en utilisant l'acide gallique comme référence.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par litre d'échantillon de laits bovin et caprin, trois répétitions sont effectuées pour chaque essai. La lecture est effectuée contre un blanc qui est l'eau distillée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

2.2.6.2. Test de DPPH

- **Principe**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (MOLYNEUX, 2004). Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote.

Le test DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux. Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique par transfert d'un hydrogène. Le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle (POPOVICI *et al.*, 2010). Ce mécanisme d'action est représenté dans la **figure (14)**.

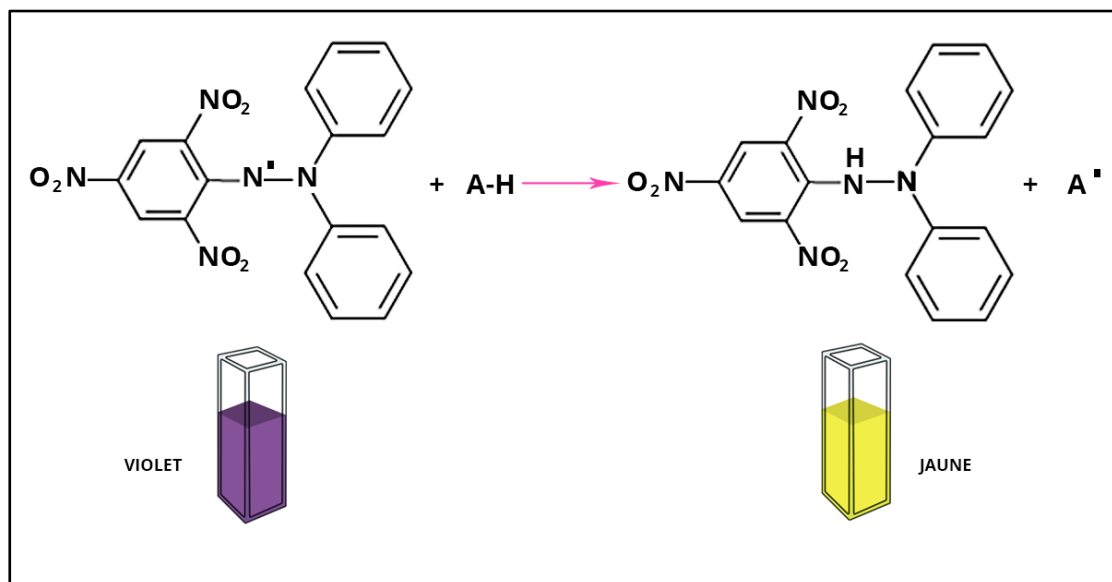


Figure 14 : Schéma représentant le mécanisme de réduction du DPPH

- **Mode opératoire**

Le test du DPPH a été mesuré par la méthode de BERSUDER *et al.* (1998) avec quelques modifications. 1ml de chaque hydrolysats a été mélangé avec 1ml de DPPH en solubilisant 8mg de DPPH dans 200ml d'éthanol, homogénéisé et incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 60min.

- **Expression des résultats**

La lecture des DO est effectuée contre un blanc qu'est le DPPH à l'aide de spectrophotomètre à 517nm. Le pourcentage d'inhibition du DPPH été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition}(\%I) = \frac{\text{Absorbance du controle} - \text{Absorbance de l'échantillon}}{\text{Absorbance du controle}} \times 100$$

Chapitre III
Résultats et discussion

3. 1. Teneur en protéines des laits de chèvre et de brebis

Les résultats du dosage des protéines totales des laits écrémés de chèvre et de brebis par la méthode de **Lowry *et al.* (1951)** sont présentés dans le **tableau XII**.

Tableau XII : Teneur en protéines totales (g/l) des laits écrémés de chèvre et de brebis

Lait écrémé	Chèvre	Brebis
Teneur en protéines totales (g/l)	27,45 ± 2,16	58,9 ± 2,3

Nos résultats montrent que la teneur en protéines totales est de 27,45 ± 2,16 g/l pour le lait de chèvre et de 58,9 ± 2,3 g/l pour le lait de brebis.

La teneur en protéines totales que nous avons obtenu dans notre étude pour le lait de chèvre est proche à celle montrée par d'autres chercheurs, soit : 28 g/l (**SAINI *et al.*, 1991**) et 27g/l (**MARTIN et GROSCLAUDE, 1993**). Par contre cette teneur est inférieure à celle signalée par **JENNESS, (1980)** qui est de 34 g/l et par **BERGER *et al.* (2004)** qui est de 35 g/l.

Pour le lait de brebis la teneur en protéines totale que nous avons trouvé est presque similaire à celle rapportée par les auteurs : (**PIVIC *et al.*, 2002**) qui est de 59 g/l et par (**GRANDISON *et al.*, 1982**) qui est de 58,3 g/l mais cette teneur est inférieure à celle rapportée par **HAENLEIN, (1984)** qui est égale à 62,1 g/l en revanche elle est supérieure à celle décrite par **GILLES *et al.* (2008)** qui est de 55,6 g/l.

La teneur en protéines totales que nous avons révélé pour le lait caprin est de valeur faible, cela peut être lié à la saison puisqu'elle a une influence importante sur la composition du lait caprin. La teneur en protéine de ce lait passe par deux minimums l'un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été (**POUGHEON et GOURSAUD, 2001**). Ça peut être lié aussi à l'âge de la 1^{ère} mise bas, les chèvres de moins de 15 mois ont des taux protéiques plus faibles (**LEGARTO et PALHIER, 2013 ; KLJAJEVIC *et al.*, 2017**).

Pour le lait ovin qui provient d'une brebis de la race berbère, la teneur en protéines totales que nous avons trouvé concorde avec la bibliographie, où la teneur en protéines totales du lait ovin de la race berbère varie de 58,5 g/l à 60 g/l en fonction de l'alimentation de l'animal (**SEYDI, 2004**).

Le lait de brebis est plus riche en protéines par rapport au lait de chèvre qui avoisine le lait de vache dans sa teneur protéique (**VINGOLA, 2002**).

3.2. Électrophorèse SDS-PAGE des hydrolysats pepsique et pancréatique des protéines totales du lait écrémé de chèvre et du lait écrémé de brebis

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes et dissociantes (SDS-PAGE) nous a permis de suivre la cinétique de la protéolyse enzymatique des laits écrémés de chèvre et de brebis et nous a permis également d'évaluer le degré d'hydrolyse des protéines totales du lait écrémé de chèvre par rapport à celle du lait de brebis.

Les profils électrophorétiques d'hydrolyse enzymatique pepsique combinée à l'hydrolyse pancréatique (trypsique-chymotrypsique) des protéines totales des laits écrémés de chèvre et de brebis sont présentés respectivement dans la **figure 15 (A)** et la **figure 15 (B)**.

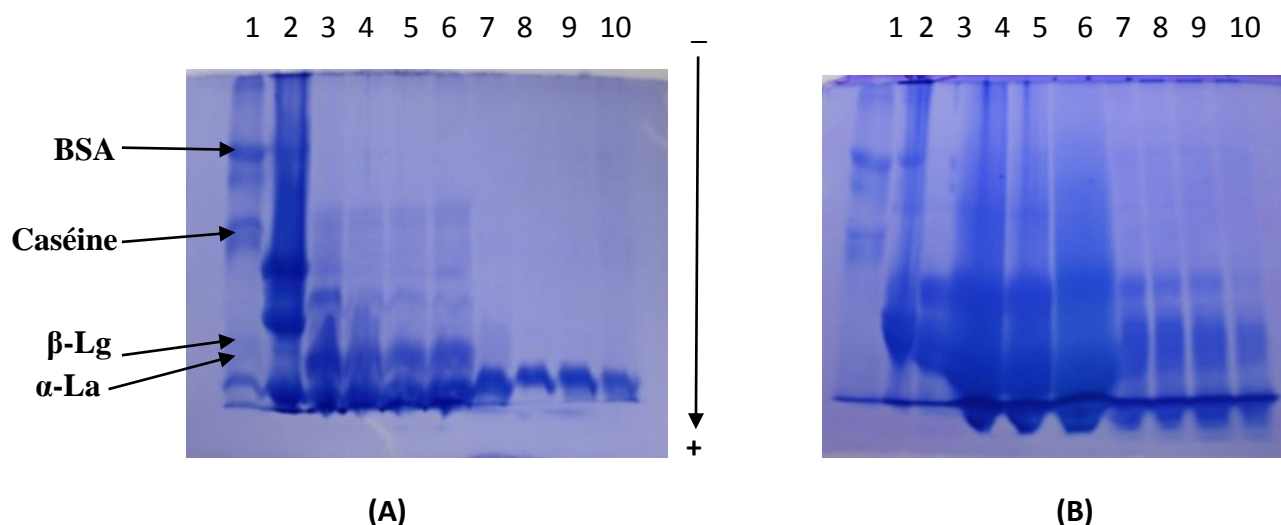


Figure 15 : Electrophorogramme en PAGE-SDS des hydrolysats pepsique et pancréatique des protéines totales du lait écrémé caprin (A) et du lait écrémé ovin (B) à différents temps d'incubation ; Gel de séparation (T= 15%, C= 2,7%) ; Gel de concentration (T= 4%, C= 2,7%) ; Puits 1 : (A) et (B) protéines marqueurs : BSA (68 kDa), Ovalbumine (45 kDa), β-Lg (18 kDa), α-La (14kDa).

Puits 2 : (A) lait écrémé de chèvre natif ; (B) lait écrémé de brebis natif qui servent de témoins.

Puits 3, 4, 5, 6 : hydrolysats du lait écrémé de chèvre (A) et de brebis (B) prélevés successivement après 15, 30, 60 et 90 minutes d'hydrolyse par la pepsine.

Puits 7, 8, 9, 10 : hydrolysats du lait écrémé de chèvre (A) et de brebis (B) prélevés successivement après 15, 30, 90 et 120 minutes d'hydrolyse par la pancréatine.

L'observation des deux profils électrophorétiques obtenus nous a permis de noter qu'après 120 minutes d'incubation les protéines totales contenues dans ces deux laits écrémés de chèvre et de brebis ont subi une importante hydrolyse avec disparition des bandes électrophorétique correspondantes aux protéines totales. Nous observons une disparition totale des bandes dans le cas du lait de chèvre comparativement au lait de brebis où quelques bandes restent avec une très faible intensité. Cette hydrolyse enzymatique est plus marquée vis-à-vis des protéines du lait de chèvre avec un degré d'hydrolyse de 2,82% qui est légèrement supérieur au degré d'hydrolyse des protéines du lait de brebis qui est de 2,63%.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par d'autres chercheurs : **KOPF et al. (2014)**, **EGGER et al. (2016)** et **SANCHON et al. (2018)** qui ont étudié l'hydrolyse *in vitro* des protéines totales du lait caprin et ovin par la pepsine et la pancréatine et ont constaté que la digestibilité des protéines du lait caprin est meilleure que la digestibilité des protéines du lait ovin ayant un degré d'hydrolyse inférieur en comparaison au lait caprin.

La disparition des bandes pourrait s'expliquer par le fait que lors de la protéolyse les enzymes scindent les liens peptidiques de la chaîne protéique, libérant ainsi des acides aminés et des peptides de petite taille qui ne sont pas révélés par l'électrophorèse utilisée (YE *et al.*, 2016).

La disparition des bandes qui est plus marquée pour les protéines du lait caprin suggère que ces protéines résistent mieux à l'action de la pepsine et de la pancréatine par rapport aux protéines du lait ovin, cela revient à la présence de plusieurs sites de coupure sur les protéines du lait caprin en comparaison avec les protéines du lait ovin (INGLINSTAD *et al.*, 2010).

3.3. Degré d'hydrolyse des protéines du lait caprin et du lait ovin

Le degré d'hydrolyse DH est exprimé en pourcentage, il est calculé par rapport aux protéines solubles dans le TCA en comparaison aux protéines totales contenues dans l'échantillon. La mesure du degré d'hydrolyse nous permet de contrôler l'hydrolyse enzymatique et la caractérisation des hydrolysats protéiques. Les résultats du DH obtenus sont présentés par les courbes illustrées dans la **figure (16)**.

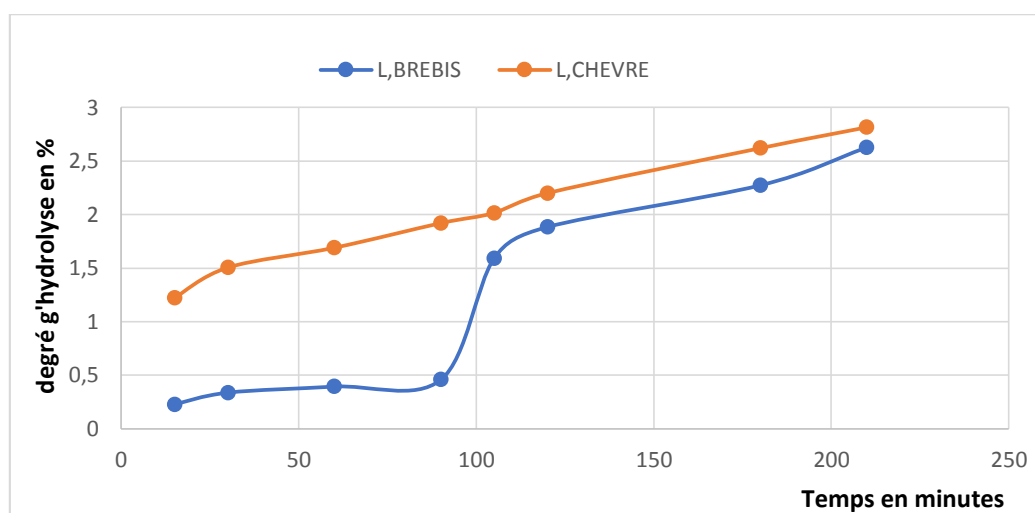


Figure 16 : Evolution du degré d'hydrolyse (DH%) des protéines totales des laits écrémés caprin et ovin hydrolysés par la pepsine et la pancréatine.

La figure 16 montre une augmentation progressive des valeurs du degré d'hydrolyse, nous avons enregistré après 210 minutes d'incubation des valeurs de DH de 2,82% pour les protéines du lait caprin et de 2,63% pour celles du lait ovin.

Les deux courbes obtenues dans notre étude révèlent une différence significative entre l'évolution du degré d'hydrolyse des protéines du lait caprin et celui de protéines du lait ovin ces résultats sont corrélant avec les résultats trouvés dans l'étude faite par GALLIER *et al.* (2013).

Dans notre étude nous avons constaté que les protéines du lait de brebis sont plus résistantes à l'hydrolyse par la pepsine et la pancréatine en comparaison à celle du lait de chèvre ceci peut être expliqué par la différence conformationnelle et structurale de ces protéines dans les deux espèces, ainsi que la position des sites de coupures sur ces protéines qui rend l'enzyme accessible ou non à ces sites.

3.4. Détermination de l'activité antioxydante des hydrolysats du lait ovin et caprin

3.4.1 Dosage de polyphénols totaux

Les résultats de l'activité antioxydante des hydrolysats pepsiques et pancréatiques du lait ovin et caprin estimée par le dosage des polyphénols (PP) sont représentés dans la **figure (17)**.

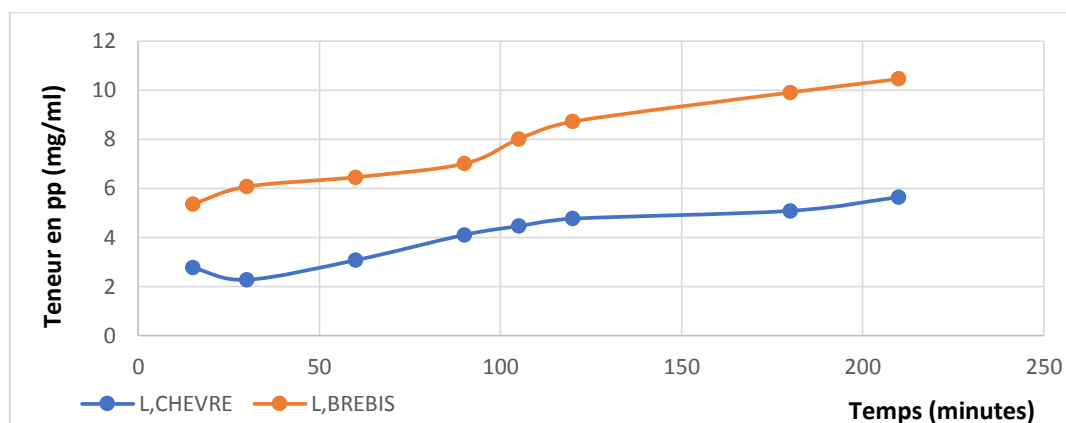


Figure 17 : Teneur en composés phénoliques dans les hydrolysats protéiques du lait ovin et caprin

Comme le montre les courbes illustrées dans la figure 17, le contenu en composés phénoliques à activité antioxydante dans les hydrolysats augmente avec le temps d'incubation à l'hydrolyse par la pepsine et la pancréatine, après 210 minutes d'incubation nous avons enregistré pour les hydrolysats protéiques de lait de brebis est de une teneur en polyphénols élevée (10,45 +/- 0,0 mg/ml) comparativement à celle enregistrée pour les hydrolysats protéique du lait de chèvre (5,6 +/- 0,3mg/ml).

Nos résultats montrent que l'hydrolyse enzymatique des protéines du lait ovin et caprin influence sur la concentration en composés phénoliques antioxydants, cela est rapporté par **YUKSEL *et al.* (2010)** qui ont effectué un dosage des peptides phénoliques dans les hydrolysats de protéine du lait ovin et caprin en poudre pour confirmer l'activité antioxydante.

L'hydrolyse des protéines du lait par les enzymes digestives conduit à la libération des peptides composés d'acides aminés phénoliques très actifs comme antioxydants à forte activité anti radicalaire (**MANACH *et al.*, 2006**).

3.4.2. Test de piégeage du DPPH

Les résultats de l'activité antioxydante des hydrolysats pepsiques et pancréatiques du lait ovin et caprin estimés par le test du DPPH sont représentés par les courbes dans la **figure (18)**.

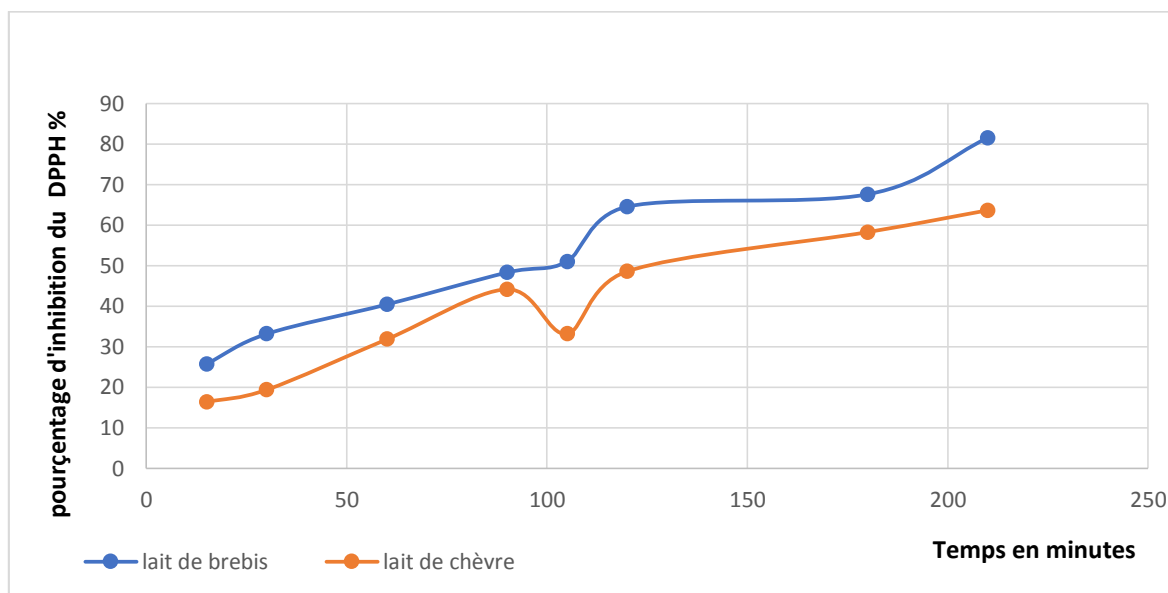


Figure 18 : Les pourcentages d'inhibition de radical DPPH par les protéines totales du lait ovin et caprin et de leur hydrolysats pepsiques et pancréatiques.

Les résultats montrent que les deux courbes augmentent parallèlement avec le temps d'incubation. Après analyse de ces courbes nous avons révélé une différence dans la capacité des protéines totales à inhiber le DPPH entre le lait ovin et caprins ; un haut pouvoir a été enregistré après 210 minutes avec un grand pourcentage soit 81,61 +/-0,28 % et 63,64 +/- 0,21 % respectivement pour les protéines du lait ovin et caprin.

Comme le montre nos résultats, les protéines totales hydrolysées de lait caprin et ovin possèdent une activité antioxydante importante avec un pourcentage d'inhibition du radical plus fort que celui des protéines totales natives car la digestion enzymatique et pancréatique libère des peptides bioactifs à propriété anti oxydante.

L'activité antioxydante des peptides a été attribuée à certaines séquences d'acides aminés (Phe, Trp, Tyr, His, Cys, Glu, Asp, Lys, Arg), ainsi qu'à la présence de liaisons peptidiques ou à l'arrangement structural et à l'hydrophobicité des peptides qui semble également être un facteur important pour leur activité antioxydante due à une accessibilité aux cibles hydrophobe (PIHLANTO, 2006).

Il a été avancé par certaines études similaires qu'une forte activité antioxydante est obtenue avec des peptides de faible PM de 5 et 10 KDa, suggérant ainsi que la capacité antioxydante dépend de la taille et de la composition des peptides (SALAMI *et al.*, 2008 ; SAMARANAYAKA et LI-CHAN, 2011).

D'autres auteurs ont montré que les Propriétés antioxydantes des protéines sont plus importantes après l'hydrolyse enzymatique (EL-HATMI *et al.*, 2006 ; KUMAR *et al.*, 2016).

Une autre expérience de mesure de l'activité antioxydante des hydrolysats protéiques du lait de dromadaire par le dosage du radical ABTS est effectué par ZOU *et al.*, (2015) qui ont constaté que les hydrolysats de caséine de dromadaire avaient une activité de piégeage plus élevée que celle les caséines de dromadaire natives. Ces résultats sont similaires à ceux de (KUMAR *et al.*, 2016).

L'étude faite par TAGLIAZUCCHI *et al.* (2016) a montré que les protéines de lait de dromadaire non hydrolysées et les protéines de lait de dromadaire hydrolysées ont récupéré plus de radicaux ABTS que de radicaux DPPH. Cette différence pourrait être due à la capacité des radicaux ABTS et DPPH à diffuser dans le milieu réactionnel. Car l'ABTS est soluble dans les solutions alcooliques et aqueuses et pourrait alors facilement réagir avec les peptides présents dans un milieu aqueux. Cependant, le DPPH n'est soluble que dans les solutions alcooliques et peut ne pas atteindre facilement les peptides dans les milieux aqueux.

Conclusion

Conclusion

Le lait de consommation quotidienne, est un aliment riche et presque complet qui provient non seulement de la vache, il est également secrété par d'autres espèces mammifères telles que la chèvre et la brebis. Le lait présente une composition commune en différents nutriments de bases (eau, protéines, lactose, lipides, vitamines et minéraux) avec des proportions variables selon l'espèce ainsi que d'autres facteurs tels que la race l'alimentation et la saison.

La pepsine et la pancréatine sont des enzymes digestifs sécrétés par le suc gastro-intestinal. Elles sont responsables de l'hydrolyse des protéines du lait en petits peptides et acides aminés pour faciliter leur absorption, ces peptides possèdent plusieurs propriétés biologiques qui sont importantes pour l'organisme.

La présente étude avait pour objectif en premier lieu de comparer la teneur en protéines totales du lait de chèvre au lait de brebis, en deuxième lieu, étudier leur sensibilité à l'hydrolyse par la pepsine et la pancréatine et tester l'activité antioxydante des résultats obtenus.

Le dosage des protéines totales des laits étudiés a montré une teneur plus élevée dans le lait ovin ($58,9 \pm 2,3$ g/l) par rapport au lait caprin ($27,45 \pm 2,16$).

Une simulation de l'hydrolyse gastro-intestinale des protéines des laits ovin et caprin est effectuée par incubation de ces protéines avec la pepsine par la suite avec la pancréatine.

Une analyse électrophorétique en condition dénaturante et dissociante des laits étudiés et de leur hydrolysats pepsiques et pancréatique a révélé la disparition des bandes correspondantes aux protéines totales du lait, dans les hydrolysats.

Le degré d'hydrolyse estimé pour les hydrolysats à fin d'évaluer la sensibilité des protéines à l'action de la pepsine et à la pancréatine a montré des résultats relativement proches pour les protéines du lait caprin (2,82%) celles du lait ovin (2,63%).

Le dosage des polyphénols dans les hydrolysats des laits étudiés a montré une teneur importante pour le lait ovin ($10,45 \pm 0$ mg/l) par rapport au lait caprin ($5,6 \pm 0,6$ mg/l).

L'activité antioxydante de protéines totales laitières étudiées ainsi que de leurs hydrolysats pepsiques et pancréatique a été évaluée, elle a révélé une activité anti radicalaire importante pour les hydrolysats pancréatiques des protéines totales des laits caprin et ovin avec des pourcentages d'inhibition du radical DPPH estimé à ($63,64 \pm 0,21\%$) et ($81,61 \pm 0,28\%$) respectivement.

Cette étude préliminaire a montré des résultats intéressants concernant l'activité antioxydante des protéines totales du lait de chèvre et du lait de brebis. Il semble donc intéressant d'isoler les peptides responsables de cette activité, de les séquencer et ainsi de confirmer leur activité antioxydante par d'autres tests.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ABOUTAYEB R. (2009).** Technologie du lait et dérivés laitiers. Composition, physicochimie et microbiologie du lait. <http://www.azaquar.com>.
- ALAIS C. (1984).** Science du lait, principes de technique laitière 3ème édition. Paris 807 p. Tom 1 et 2 SL Paris.
- ALAIS C., LINDEN G et MICLO L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition. Paris.
- AMIOT J., FORARIER S., LEBOEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R. et TUGEON H. (2002).** Composition, propriétés physicochimique, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse in Vingola C.L. science et technologie du lait-transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29 (600 pages).
- BECK I. (1973).** The role of pancreatic enzyme in digestion, the American Journal of Clinical Nutrition 26 (3): 311-325.
- BENALIA M. (1996).** Contribution à la connaissance de l'élevage caprin, Thèse Ing. Agr (Tiaret), pp : 72.
- BERGER T., BUITIKOFER U., REHCH et ECKART J. (2004).** Lait. Manuel Suisse des denrées alimentaire.
- BERSUDER P., HOLEM. et SMITH G. (1998).** Antioxydant d'un système modèle histidine-glucose chauffé. I : Etude du rôle antioxydant de l'histidine et isolement des antioxydants par chromatographie en phase liquide à haute performance. J Am Oil Chem Soc: 75(2): 181-7.
- BIASUTI E., VIEIRA C.R., CAPOBIANGO M., SILVA V.D et SILVESTRE M.P. (2007).** Study of some functional properties of casein, effect PH and triptic hydrolysis. INT J food prop: 10: 173-183.
- BROWN W., PHILLIPS D., BREW K., VANAM T. et HILL R. (1969).** A possible threedimensional structure of bovine α -Lactalbumine based on that of hen's egg-white lysozyme, Journal of Molecular Biology, 42: 65-86.
- BOUTONNIER J.L. (2007).** Matière grasse laitière – crème et beurre standard. Villefranche-De-Rouergue, France : Techniques de l'ingénieur, p. 1-16.
- BOUTROU R. (2013).** Sequential release of milk protein derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. The American journal of clinical nutrition, 97(6), 1314-1323.
- BOUVIER C. (1993).** Le Lait, la nature et les homes. Expores, Press Pocket, Paris.
- BOYE J., WIJERINHA-BETTOMI R., et BURLINGAME B. (2012).** Protein quality evaluation twenty years after introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method, British Journal of Nutrition, 108 (S2), S183-S211.
- CABÉE M. (1959).** Les races ovines Algériennes. Bulletin technique des ingénieurs des services agricoles. 142, 511-524.
- CAPOBIANGO M., BIZZOTO C.S., BIAUTTI E. et SILVESTRE M. (2006).** Action of pepsin on emulsifying properties of globin. IAJ food Prop, 9, 357-364.
- CHANG O.K., SEOL K.H., JEONG S.G., PARK B.Y., PERRIN C. et HAM J.S. (2013).** Hydrolyse de la Caséine par Bifidobacterium longum KACC91563 et activités antioxydantes des peptides qui en sont dérivés. J. Dairy Sci. 96, 5544-5555.

- CHELLIGUE R. (1992).** Les races ovines Algérienne. Office des publications universitaire, Alger, 158 p.
- CHOBERT J.M., EL-ZAHAR K., SITOHI M., DALGORRONDO M., METRO F., CHOISSET Y et HARTLÉ T. (2005).** Angiotensin I-Converting-Enzyme (ACE)-inhibitory activity of triptic peptides of ovine β -lactoglobuline and of yogurts obtained by using different starters. INRA. EDP Science, 141-152.
- COULTOULY G. (1991).** Génie enzymatique. Masson éditeur, Paris, France 244 pages.
- COURTET LEYMARIOS F. (2010).** Qualité nutritionnelle du lait de vache et ces acides gras. Voie d'amélioration par l'alimentation. INRA. Prod. Anim. 14, 2, pp: 129-140.
- DALGLEISH D.J. et CORREDIG M. (2012).** The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing, Annu Rev Food Technol, vol.3.p. 449-467.
- DEBRY G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Paris : Lavoisier, 566 p.
- DEGHNOUCHE K. (2011).** Étude de certains paramètres zootechnique et du métabolisme énergétique de la brebis dans les régions arides (Biskra). Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, 191p.
- DEMERS D. (2010).** Optimisation de méthodes chromatographique pour l'évaluation d'enzyme pancréatique. Chimie Montréal, Université de Québec à Montréal.
- DEUTEURTRE G., OUDANANG M.K. et NYABA S.H. (1993).** Les bars laitiers de N'Djamena (Tchad) des petites entreprises qui valorisent le lait de brousse. Acte de colloque ressources vivrière de choix alimentaire dans le bassin Lac Tchad : 20-22.
- DILLON J.C. (1989).** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaudes, option méditerranéenne. Série séminaire, n°6, 163-168.
- DSA. (2020).** Annuaire des statistiques de production animale. Service statistique. Algérie.
- DUNN B.M. (2002).** Structure of pepsin-like family of peptidase.
- EGGER L., MENARD O., DELGADO-ANDRALE C., ALVITO P. et BALANCE S. (2006).** The harmonized INFOGEST *in vitro* digestion method: From knowledge to action. Food Research International, 88.
- EL-HATMI H., GIRARDET J.M., GAILLARD J.L., KORCHANI T. et ATTIA H. (2006).** Therapeutic potential of whey proteins of camel colostrumd. Microbiologie et Hygiène alimentaire. 53(18), 70-76.
- ESPEJO-CAPRIO F.J., GARCIA-MORENO P.J., PEREZ-GALVEZ R., MORALES-MEDINA R. et GUADIX M. (2015).** Effect of digestive enzymes on the bioactive properties of goat milk protein hydrolysates. International Dairy journal, 54, 21-28.
- FANNI N. et NOVAK R. (1987).** Travaux pratique de la chimie laitière.
- FAO (1998).** Composition chimique et biochimique du lait bovin, ovin et caprin.
- FAO (2001).** Effectif du cheptel ovin en Algérie.
- FAO (2015).** Le cheptel caprin dans le monde. Production du lait de chèvre dans le monde.
- FAO (2020).** Production du lait de chèvre en Algérie.
- FAO (2021).** Effectif du cheptel ovin dans le monde. Production mondiale du lait ovin.
- FREDOT E (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaire et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier, 25 (397p).
- GAILLARD O. (2003).** La trypsine (TIR). Immuno-analyse, Biologie spécialisé. 18, 254-255.
- GALLIER S., TATÉ H. et SINGH H. (2013).** *In vitro* gastric and intestinal digestion of cow, goat and sheep milk protein, J. Agric Food Chem, 61, pp 410-417.

- GILLES L., YVES C., EDMON R., YVETTE SOUSTRE., MARIE V., CÉCIL B., FABIEN M., ISABELLE M. et JEAN M.P. (2008).** Composition fine du lait et des fromages de brebis. pp1-6.
- GOMEZ M.T. (2015).** Chiffres clés 2015 : Production ovines lait et viandes. Paris, Institut d'élevage 12p.
- GOURSAUD J. (1985).** Composition et propriétés physicochimiques. Dans le lait et produit laitier vache brebis, chèvre. Ed, Tech & Doc, Lavoisier, Paris P 50-150.
- GRANDISON A. (1986).** Causes of variation in milk composition and their effect on coagulation and cheese making. Dairy Ind. Int, 51 : 21-24.
- HAENLEIN G.F.W. (1984).** Goat milk versus sheep milk. In: G.F.W. Heinlein and D.L. Ace (Editors). Extension Sheep Hand book. USA publishers, Washington, DC. E 1-4.
- HELLAL F. (1986).** Contribution à la connaissance des races caprines algériennes : Étude de l'élevage caprin en système d'élevage extensif dans les différentes zones de l'Algérie du nord, Thèse. Ing. Agro. INA. El Harrach. Alger.
- HUPPERTZ T., UPADHYAY V.K., KELLY A.L. et TAMINE A.Y. (2006).** Constituents and properties of milk from different species. Breid cheese, Eliked by Dr Adnan Tamine.Cop.
- HOYLE N.T. et MERRITT J.H. (1994).** Qualité des hydrolysats de protéines de poisson de hareng (*Clupea harengus*). J Food Sci. 59 (1) : 76-9.
<http://doi.org/10.1011/j.1365-2621.1994.Tb06901.x>
- INGLINSTAD R., DELVOLD T.G., ERIKSENE K. et HOLM H. (2010).** Comparison of the caseins and whey proteins in equine, bovine, ovine, caprin, and human gastrointestinal enzymes. Dairy science and technology, 90. 549-563.
- JEAN C. et DIJON C. (1993).** Au fil du lait, ISBN 2. 86621-172-3.
- JEANTET R., CROGUENEC T., MAHAUT M., SCHUCK P. et BRULEG K. (2008).** Les produits laitiers, 2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier, 1-3-13-14-17. (185 pages).
- JENNESS R. (1980).** Composition et caractéristique du lait de chèvre : Revue 1968-1979. J Dairy Sci 63 :1605.
- JOUAN P. (2002).** Lactoprotéines et lactopeptides : Propriété biologiques. Édition INRA. Paris, 127p.
- KELLIFI Y. (1999).** Les productions ovines et caprines dans les zones steppiques Algérienne. Option Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, 38, p 245-247.
- KERBA A. (1995).** Bases de données sur les races caprines rn Algérie.
- KLJAJEVIC N.V., TOMASEVIC I.B., MILORDOVIC Z.N., NEDELJKOVIC A., MIOCINOVIC J.B. et JOVANOVIC S.T. (2017).** Seasonal variation of Saanen goat milk composition and the impact of climatic conditions. Journal of food Science and technology, 209.
- KOCEIR E.A. (2010).** Manuel de travaux pratique en diététique et nutrition humaine. Office des publications universitaires 18, 29-32.
- KOPF K.A., SCHWANANDER F., GIDS M., VERGRES G., PORTMANN R. et EGGER L. (2014).** Impact of milk processing on the generation of peptides during digestion. International Dairy Journal, 35 (2), pp 130-138.
- KUMAR D., KUMAR CHATH M., SINGH R., MEHTA N. et KUMAR P. (2016).** Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxydante properties. Dairy Science and technology.
- LAEMMLI U.K. et FAVRE M. (1973).** Maturation de la tête du bactériophage T4 : 1. Événement d'encapsidation de l'ADN. J Mol Biol. 80 (4) : 575-99.

- LAFRI M. (2011).** Les races ovines en Algérie : état de la recherche et perspectives. Recueil des journées vétérinaire de Blida, vol 4.
- LARPENT J. (1997).** Microbiologie alimentaire. Paris, Lavoisier.
[http://doi.org/10.1016/0022-2836\(73\)90198-8](http://doi.org/10.1016/0022-2836(73)90198-8)
- LEGARTO J. et PALHIÈRE I. (2013).** Effet des conduits d'élevage dur la production du lait, les taux butyreux et protéiques et la composition en acides gras du lait de vache, chèvre et brebis.
- LEONIL U., MICHALSKI M.C et MARTIN P. (2013).** Les structures supramoléculaires du lait : Structure et impact nutritionnel de la micelle de caséines et du globule gras. INRA Prod. Anim, 26 (2), 129-144.
- LEROY C. (1997).** Les nouvelles des enzymes et des ferments. RIA, 567, 32, 36.
- LOPEZ-EXPOSITO I., GOMEZ-RUIZ I.A., AMIGO A.L., RECIO I. (2006).** Identification of antibacterial peptides from ovine α 2-casein. Int: Dairy Journal, 16: 1073-1080.
- LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J., FAAR A.L. et RANDALL R.J. (1951).** Protein measurement with folin phenol reagent. Journal of biochemistry, 193, 265-275.
- LUCEY J.A. (2002).** Formation and physical properties of milk protein gels. Dairy Sci. 8, 281-294.
- LUQUET F.M. (1985).** Lait et produits laitiers : Lait de vache, Brebis, Chèvre. Paris. Ed : Tec et Doc, Lavoisier. ISBN : 2.85206.395.6. p 233-280.
- MADRP. (2015).** Service des statistiques agricoles, série statistique des productions animales.
- MAGALI P. (2013).** La transformation fromagère caprine fermière, Tec et Doc. Lavoisier, 350 p.
- MAHAUT M., JENTET R. et BRUGLÉ G. (2000).** Les produits laitiers. Londres, Paris-New York : Lavoisier.
- MANACH C., WILLIAMSON G., MORAND C., SCALBERT A. et REMESY C. (2006).** Consommation et biodisponibilité des phénols. In : Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheyner (Ed). Paris. Lavoisier, 361-380.
- MARA. (2022).** Programme de développement des élevages bovin, caprin et ovin en zones montagneuse de Tizi Ouzou. 34pages.
- MAROUF A. et TREMBLIN G. (2009).** Abrégé de biochimie appliquée aux produits laitiers, EDP Science, les Ulis, France, pp 221-232.
- MARTIN P. et GROSCLAUDE F. (1993).** Improvement of milk protein quality by gene technology. Livest. Prod. Sci 35, 95-115.
- MATHIEU J. (1998).** Ecole national des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Furon. Initiation à la physicochimie du lait. Ed. Tec et Doc : Lavoisier, Paris. pp : 12-210. ISBN : 2-7430-0233-6.
- MATHIEU J. (1999).** Initiation à la physicochimie du lait. Ed. Lavoisier, Tec et Doc, Paris, 386 p.
- MEISEL H. (1998).** Overview on milk protein-derived peptides. Int. Dairy J, 8 (5-6), 363-373.
- MOHANTI S.P., HUGHES D.P. et SALTH M. (2016).** Using deep learning for image-based plant disease detection front-plant Sci. 7, 1919.
- MOLKHOU P. (2006).** Actualités sur l'allergie et l'intolérance aux protéines lactées. Journal de pédiatrie et de puériculture, 19 : 119-130.
- MOLYNEUX P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklaakarim J.Sci. Technol, 26, 211-219.

- MONTÉZIN M., SONET J.M. et DUPRET D. (2004).** Enzymes de l'extrême et alimentation. Application des propriétés enzymatiques spécifiques aux procédés alimentaires. Cah, Nutr Diét, 39, 6, 391.
- NEVILLE M.C., ZHANG P. et ALIEN J.C. (1995).** Minerals, ions and trace elements in milk. Ionic Interactions in milk, In: Jensen R.G, Handbook of milk composition. Academic Press, San Diego, 577-592.
- PAC. (2014).** Evaluation des mesures de la PAC dans le secteur ovin-caprin, 6. 6-24 p.
- PAQUET D. (1989).** Revue bibliographique : la fraction peptose-peptone du lait. Lait, 69, 1-21.
- PARADAL M. (2012).** La transformation fromagère caprine fermière : bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre, Paris, Tec et Doc Lavoisier, 295 p.
- PELLEGRINI A., THOMAS U., BRAMAZ N., HUNZICKER P. et VAN FELLEBERG R. (1999).** Isolation and of three bacterial domains in the bovin α -lactalbumin molecule. Biochimica Biophysica Acta, 1426: 439-448.
- PHADUNGATH C. (2005).** Casein micelle structure: a concise review: 12.
- PIHLANTO A. (2006).** Antioxidative peptides derived from milk proteins. International Dairy Journal, 16.
- PIVIC P. (2002).** Les laits autres que le lait de vache.
- POPOVICI C., SAYKOVA I. et TYLKOWSKIB. (2010).** Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical DPPH. Revue de Génie Industriel, (4) ,1-8.
- POUGHEON S. et GOURSAUD J. (2001).** Le lait et caractéristiques physicochimique. In Debry G, 2001. Lait nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6, 566p.
- RAISONNIER A. (2004).** A digestion-detoxification. Université Paris-6, Faculté de médecine Pierre et marie curie.
- RAMET J.P. (1985).** La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Etude FAO. Production et santé animale no 48, 187 p.
- REDDY I.M., KELLA N.K.D. et KINSELLA J.E. (1988).** Structural and conformational basis of the resistance of β -Lactalbumin peptic and chymotryptic digestion. J Agric Food Chem. 36 : 737-741.
- RIBADEAU D.B. et BRIGNON G. (1993).** Les protéines du lait de différentes espèces. In : Allergies Alimentaires. Ed, Doin, Paris, pp 27-39.
- RIBÉREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P., RIBÉREAU-GAYON P. (1968).** Science et technique du vin. Tome 1. Edition. Dunod, Paris, p671.
- ROGER V.G. (1975).** Technologie du lait, constitution récolte, Traitement et transformation du lait 3^{ème} édition. Edi la maison rustique. 1-21.
- RONDIA P. (2006).** Aperçue de l'élevage caprin en Afrique du Nord. Filière ovine caprine, 18, p11-14.
- ROSÉ C. (1991).** La sécrétion pancréatique exocrine : données de bases. In : Exploration de la sécrétion pancréatique exocrine. Cachan : éditions médicales Internationales. pp 11-28.
- SAINI A.L. et GILL R.S. (1991).** Goat milk: An attractive alternate. Indian Dairyman, 24 : 562-564.
- SALAMI M., YOUSEFI R., EHSANI M.R., DALGALARRONDO M., CHOBERT J.M., HAERTLE T., RAZAVI S.H., SABOURY A.A., NIASARI-NASLAJI A. et MOOSAVI-MOVHEDI A.A. (2008).** Kinetic characterization of hydrolysis of camel and bovine milk proteins by pancreatic enzymes. International Dairy journal, 18, 1097-1102.

- SAMARANAYAKA A.G.P. et LI-CHAN E.C.Y. (2011).** Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal Functional Foods*, 3, 229-304.
- SAMLOFF I.M. (1971).** Pepsinogen, pepsin and pepsin inhibitors, *Gastroenterology*. 60 (4), 586-599.
- SANCHON J., FERNANDEZ S., MIRLLES B., HERNANDEZ B., GAUDICHON C. et RECIO I. (2018).** Proteins degradation and peptides release from sheep and goat milks proteins in human jejunum comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, pp.486-494.
- SEYDI M. (2004).** Caractéristiques du lait cru ovin, EISMV. Laboratoire HIDAOA, 120 p.
- SILBERNAGLE S. et DESPOPOULOS A. (2001).** Digestion. In : Atlas de poche de physiologie. Édition : Médecine, Sciences Flammarion : Paris, pp 246-265.
- SINDAYIKENGERO S. et XIA W. (2006).** Enzymatic hydrolysis of whey proteins by two different proteases and their effect on functional properties of resulting protein hydrolysate. *Journal of food biochemistry*, 30. 77-97.
- SKJEKDAL T. (1975).** Flavor of goat milk. A review of studies on the sources of its variations. *Livest. Prod. Sci*, 6: 397-405.
- TAGLIAZUCCHI D., HELLAL A., VERZELLONI E. et CONTE A. (2016).** Bovine milk antioxidant properties: effect of in vitro digestion and identification of antioxidant compounds. *Dairy Science and technology*, 96, 657-665.
- TALEVSKI G., VASILEVSKA R.C., SRBINOVSKA S. et Z. (2009).** Quality of sheep milk as a raw material in dairy industry of Macedonia. *Biotechnol. Anim. Husbandry*, 25 : 971-977.
- THIEULIN G. et VUILLAUME R. (1967).** Eléments pratiques d'analyse d'inspection du lait, de produits laitiers et œufs. *Revue générale des questions laitières*.
- THOMAS C., ROMAIN J. et GÉRARD B. (2008).** Fondement physicochimique de la technologie laitière. DS Tec et Doc, Lavoisier. Paris.
- TUNICK M.H., REN D.X., VAN HEKKEN D.L., BONAILLIE L., PAUL M., KWOCZAK R. et TOMASULA P.M. (2016).** Effet de la chaleur et de l'homogénéisation sur la digestion in vitro du lait. *J. Dairy Sci.* 99 : 4121.
- VANESS B. (2013).** Caractérisation phénotypique des ressources génétique animale FAO 2013, pp : 1.
- VEISSEYRE R. (1975).** Technologie du lait 3^{ème} édition, la maison rustique. Paris.
- VIERLING E. (2003).** Aliment et boisson – Filière et produit, 2^{ème} édition, doin éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'équitaine : 11 (270pp).
- VINGOLA C. (2002).** Science et technologie de lait. École polytechnique de Montréal. pp, 444-460.
- VOET D. et VOET J. (1998).** Catalyse enzymatique. In : Biochimie. Ed : de Baek. Paris, 398-410.
- WAL J.M. (2011).** Allergénicité des protéines laitières. *Innovation agricole*. 13 : 43-45.
- WALSTRA P. (1999).** On the stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*. pp 73-79.
- YE A., CUI D., DALGLEIS H. et SINGH H. (2016).** Formation of structured clot during the digestion of milk; impact on the rate of protein hydrolysis. *Food hydrocolloids*. 52, pp 478-486.
- YUKSEL Z., AVCI E. et ERDEM Y.K. (2010).** Characterization of binding interactions between green tea flavonoids and milk proteins. *Food chemistry*, 121 (2), 450-456.
- ZINESKI M. et KRUZEL M.L. (2007).** Milk derived proteins and peptides of potential therapeutic and nutritive value, *Journal of experimental therapeutics and oncology*, 6: 89-106.

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

Annexes

Annexe 01 : Effectif du cheptel caprin mondial entre 2008 à 2013. (FAO, 2015)

Année	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Afrique	320256477	323575218	330513849	338611135	344513877	347957726
Asie	571619707	581337152	582686497	584764599	5938983838	571005168
Europe	1788677	17181303	170882043	16574840	16557060	16527388
Amérique	37574258	37594371	38852749	38014409	35996320	36305922
Monde totale	950387460	9634934813	973056029	981878863	996120850	975803262

Annexe 02: Effectif du cheptel ovin en Algérie de 2000 à 2014. (MADRP, 2015)

Période	Ovin (milliers têtes)		
	Total ovin	Total brebis	%Brebis /Total ovin
2000-2009	18651	10237	54,0
2010	22869	13087	57,2
2011	23989	13840	57,7
2012	25194	14621	58,0
2013	26573	15297	57,6
2014	27808	16191	58,2

Annexe 03 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de LOWRY *et al* (1951).**Préparation des solutions**• **Solutions alcalines A :**

Soude 0,1 N 250ml
 Carbonate de sodium anhydre (Na₂CO₃)5g

• **Solution cuivrique B :**

Sulfate de cuivre (CuSO₄, 5H₂O) (0,32g/100ml)3ml
 Tartrate double de Sodium et de potassium (1g/100ml)3ml

• **Solution C :**

Solution A250ml
 Solution B5ml

• **Solution mère de BSA**

BSA10mg
 Eau distillée100ml

Gamme étalon :

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

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

Méthode

- 1ml d'échantillon contenant 100 µg de protéines maximum et minimum 25µg minimum ;
- Ajouter 5ml de solution C mélanger ;
- Laisser 10 minutes à température ambiante ;
- Ajouter 0,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Laisser 30 minutes à l'obscurité ;
- Lire la DO à 750nm.

Expression des résultats

Une courbe d'étalonnage $DO = f(\text{concentration})$ est tracée. Par la suite la concentration des protéines qui inconnue est déterminée à l'aide de l'équation de la courbe.

Annexe 04 : Électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes en présence du SDS et de β-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

Solution d'acrylamide (A)

Acrylamide36 g
 Bisacrylamide.....1 g
 Eau distillée.....100 ml

Tampon de gel de séparation (S)

Tris.....18,5 g
 Eau distillée.....100 ml
 Ajuster à pH 8,8 avec HCl 4N

Tampon de gel de concentration (C)

Tris.....6 g
 Eau distillée.....100 ml
 Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

Tampon d'électrode

Tris.....1,2 g
 Glycine.....5,6 g

SDS.....	0,2 g
Eau distillée.....	200 µl
Ajuster à pH 8,3 avec le Tris	

Tampon d'échantillon

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

-Dissoudre 1 mg de protéines de protéines lyophilisées dans 800 µl de ce tampon

-Chauffage à 100 °C pendant 4 à 5 minutes puis refroidir dans un bain d'eau froide

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

Solution de fixation

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

Solution de coloration

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

Solution de décoloration

Acide acétique.....	37,5 g
Eau distillée.....	312,5 g
Eau distillée.....	150 ml

Solution de persulfate d'ammonium

Persulfate d'ammonium.....	0,1 g
Eau distillée.....	1 ml

Conduite d'électrophorèse**Préparation de gel de séparation (T = 15% ; C = 2,7%)**

Solution (A).....	3 ml
Solution (S).....	1,73 ml
Eau distillée.....	3,67ml

-Dégazer le mélange pendant 2 minutes maximum

SDS (10%)	80 µl
TEMED.....	80 µl
Persulfate d'ammonium (10%)	20 µl

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

Préparation de gel de concentration (T = 4% ; C = 2,7%)

Solution (A).....	0,65 ml
Solution(C).....	1,25 ml
Eau distillée.....	2,9 ml

-Dégazer le mélange pendant quelques secondes

SDS (10%)50 μ l

TEMED.....20 μ l

Persulfate d'ammonium (10%)100 μ l

-Couler immédiatement sur le gel de séparation puis introduire le peigne

Dépôt d'échantillons : 10 à 20 μ l

Mise sous tension : 20 mA ; 25V

Fixation : Pendant 45 minutes dans la solution de fixation

Coloration : Pendant 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration

Annexe 05 :



Photographie d'un élevage ovin et caprin (zone montagneuse de Tizi Ouzou)



Photographie d'un spectrophotomètre UV-visible (SHINADZU Japon)



**Photographie d'une unité d'électrophorèse sur mini cuve verticale
(HOEFFER SE 260, USA)**