

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU MAMMERI DE TIZI OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE**

MEMOIRE DE MAGISTER



Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Biochimie Appliquée et Biotechnologie

Présenté par :

Mr MOUALEK Idir

Sujet :

Caractérisation du lait de chèvre collecté localement :
Séparations chromatographiques et contrôles
électrophorétiques des protéines.

Devant le jury composé de :

MESBAHI MAHMOUD	Maître de conférences A	UMMTO	Président
MATI ABDERRAHMANE	Professeur	UMMTO	Rapporteur
BERCHICHE MOKRANE	Professeur	UMMTO	Examineur
DJENANE DJAMAL	Maître de conférences A	UMMTO	Examineur
NOUANI ABDELOUAHAB	Maître de conférences A	UMB Boumerdes	Examineur

Soutenu le :

Remerciements

J'exprime mes remerciements et ma gratitude à Monsieur MATI A., Professeur en Biochimie Appliquée à l'université MOULOUD MAMMERY de Tizi-Ouzou, pour m'avoir guidé et encouragé pendant toute la durée de mon travail, ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée tout au long de celui-ci.

Je tiens à remercier très chaleureusement Monsieur MESBAHI MAHMOUD Maître de conférences à l'UMMTO pour avoir accepté de présider le jury.

J'exprime mes sincères remerciements à Monsieur BERCHICHE MOKRANE Professeur à l'UMMTO pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Mes remerciements les plus sincères vont également à Monsieur DJENANE DJAMAL Maître de conférences à l'UMMTO pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements les plus cordiaux vont aussi à Monsieur NOUANI ABDELOUAHAB Maître de conférences à l'UMB Boumerdes pour avoir accepté de juger ce travail.

Ces remerciements ne seraient être complets sans un mot pour mes collègues avec qui de belles amitiés se sont développées.

Je remercie vivement les personnes qui ont apporté leur aide pour la réalisation de ce travail.

Dédicaces

En hommage et à la mémoire de mes grands parents.

A mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leur sacrifice, ainsi qu'à l'ensemble de ma famille pour son soutien sans faille.

A Kathia H., pour ses encouragements, son dévouement et son appui à toutes mes entreprises.

A mes amis et collègues auxquels j'exprime ma sympathie.

Table

des

matières

TABLE DES MATIERES

	Pages
Introduction	01
1-Synthèse bibliographique	
1-1-Le caprin.....	03
1-2-Localisation et effectif.....	03
1-3-Les productions caprines.....	04
1-4-Caractéristiques du lait de chèvre.....	05
1-4-1-Caractéristiques organoleptiques.....	05
1-4-2- Caractéristiques physico-chimiques.....	05
1-4-2-1-Le pH.....	05
1-4-2-2-L'acidité.....	05
1-4-2-3-La densité.....	05
1-4-2-4-L'eau.....	05
1-4-2-5-Les minéraux.....	06
1-4-2-6-Les vitamines.....	06
1-4-2-7-Les lactose.....	06
1-4-2-8-La matière grasse.....	06
1-5-La fraction protéique.....	07
1-5-1-Les caséines.....	07
1-5-1-1-La caséine α S1.....	09
1-5-1-1-1-Impact du polymorphisme de la α S1-CN	09
1-5-1-2-La caséine α S2.....	11
1-5-1-2-1-Impact du polymorphisme de la α S2-CN	11
1-5-1-3-La caséine β	11
1-5-1-3-1-Impact du polymorphisme de la β -CN	12
1-5-1-4-La caséine κ	12
1-5-1-5-La caséine γ	12
1-5-2-Les protéines du lactosérum.....	13
1-5-2-1-La β -lactoglobuline.....	13
1-5-2-2-La α -lactalbumine.....	14
1-5-2-3-La sérum albumine.....	14
1-5-2-4-Les immunoglobulines.....	15
1-5-2-5-Les protéose-peptones.....	15
1-5-2-6-La lactoferrine.....	15
1-5-2-7-La lactoperoxydase.....	16
1-6-Aptitudes technologiques.....	16
1-7-Comportement technologique.....	17
1-8-Qualités du lait de chèvre.....	18
1-8-1-Qualité nutritionnelle.....	18
1-8-2-Qualité microbiologique.....	18
1-8-3-Activité lipolytique.....	19
 2- Matériel et méthodes	
2-1-Matériel.....	20
2-1-1-Matière première.....	20
2-1-2-Appareillage.....	20
2-1-3-Petits matériels.....	21
2-1-4-Produits chimiques et réactifs	21

2-1-5-Matériel biologique.....	22
2-2-Méthodes d'analyse.....	22
2-2-1-Collecte du lait.....	22
2-2-2-Analyses physico-chimiques.....	22
2-2-2-1-Mesure du pH.....	22
2-2-2-2-Détermination de l'acidité titrable.....	22
2-2-2-3-Détermination de l'extrait sec total (EST) et de la teneur en matière grasse	23
2-2-2-4-Détermination de la teneur en lactose.....	23
2-2-2-5-Détermination de la teneur en vitamine C	23
2-3-Isolement des protéines totales	24
2-3-1-Ecrémage.....	24
2-3-2-Séparation des caséines totales.....	24
2-3-3- Séparation des protéines sériques totales	24
2-3-4- Dosage des lactoprotéines.....	25
2-4-Chromatographie d'échange d'anions sur DEAE-cellulose.....	27
2-4-1- Principe.....	27
2-4-2-Conditions expérimentales.....	27
2-5-Électrophorèse	28
2-5-1-Principe général.....	28
2-5-2-Électrophorèse sur gel de polyacrylamide.....	28
2-5-3-Conduite de l'électrophorèse.....	29
2-5-4-Révélation des bandes de migration électrophorétiques... ..	33

3-Résultats et discussion

3-1-Analyses physico-chimiques.....	34
3-1-1-Mesure du pH.....	34
3-1-2-Acidité titrable.....	34
3-1-3-Extrait sec total et teneur en matière grasse.....	36
3-1-4-Teneur en lactose.....	37
3-1-5-Teneur en vitamine C.....	37
3-1-6-Teneur en protéines totales.....	38
3-1-7-Teneur en protéines sériques.....	39
3-1-8-Teneur en caséines.....	39
3-2-Analyse électrophorétique de la fraction protéique.....	40
3-2-1-Analyse électrophorétique des protéines sériques totales.....	40
3-2-2-Analyse électrophorétique des caséines totales.....	45
3-3-Isolement des caséines par chromatographie échangeuse d'ions.....	48
3-4- Isolement des protéines sériques par chromatographie échangeuse d'ions.....	50

Conclusion	53
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

α -La	α -Lactalbumine
α S-CN	Caséine α S
β -CN	Caséine β
β -Lg	β -lactoglobuline
γ -CN	Caséine γ
κ -CN	Caséine κ
2-ME	2-mercaptoéthanol
AOAC	"Association of Official Analytical Chemists"
BSA	Albumine Sérique Bovine
CCS	Concentration en cellules somatiques
CIHEMA	Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes
CN	Caséine
CRAAQ	Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec
Da	Dalton
DCPIP	Dichlorophénol-indo-phénol
DEAE	Diéthylaminoéthyl
°D	Degré Dornic
DO	Densité optique
EST	Extrait sec total
ESD	Extrait sec dégraissé
FAO	"Food and Agriculture Organization"
FIL	Fédération Internationale de Laiterie
Ig	Immunoglobuline
ITPLC	Institut Technique des Produits Laitiers Caprins
kDa	Kilo dalton
Kcal	Kilo calorie
LABAB	Laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologies
LC	Lait de chèvre
LV	Lait de vache
MM	Masse molaire
MG	Matière grasse
P/V	Poids/volume
PAGE	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
PLS	Protéines du lactosérum
PP3	Composant-3 des protéoses-peptones
SA	Sérum albumine
SDS	Dodécylsulfate de sodium
T%	% d'acrylamide et de bis-acrylamide dans un volume V de tampon
TCA	Acide trichloracétique
TEMED	N,N,N',N'- tetraméthyl-éthylène diamine
Tris	Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
UHT	Ultra Haute Température
V/V	Volume/volume

Liste des figures

Nº	Intitulé	page
1	Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles des caséines.	08
2	Model à sous unité de SCHMIDT 1982.	09
3	Courbe étalon pour le dosage des protéines.	25
4	Etapes suivies lors de l'isolement des caséines et des protéines sériques.	26
5	Photographie de l'unité de chromatographie.	28
6	Mécanisme de polymérisation du gel de polyacrylamide.	29
7	Montage de l'électrophorèse en mini-cuve HOFER SE200.	30
8	Photographie de la cuve d'électrophorèse Scie-plas TV50.	30
9	Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS.	32
10	Electrophorégramme des protéines sériques.	41
11	Différence de migration entre PP3 caprin et bovin.	42
12	Electrophorégramme des variants A et B de la β -lactoglobuline bovine.	43
13	Electrophorégramme des protéines sériques du lait caprin en PAGE-SDS.	44
14	Electrophorégramme des Caséines en PAGE-urée.	46
15	Electrophorégramme des Caséines en PAGE-SDS.	47
16	Electrophorgramme en PAGE-urée des fractions collectées en chromatographie.	49
17	Chromatogramme des protéines sériques du lait de chèvre.	51
18	Electrophorgramme en PAGE-native des fractions collectées en chromatographie.	52

Liste des tableaux

Nº	Intitulé	page
1	Répartition du cheptel caprin en Algérie.	04
2	Caractéristiques des caséines caprines et bovines.	13
3	Composition et distribution des protéines de laits de diverses espèces.	14
4	Origine et date de prélèvement des échantillons.	20
5	Résultats des analyses physico-chimiques.	35

Résumé

Le lait caprin, qui est très prisé en France notamment où de nombreux fromages de renommé y sont fabriqués, pourrait répondre aux besoins des populations vivant en montagne, qui peuvent le consommer à l'état frais ou transformé sous forme de dérivé. Néanmoins, pour ce dernier cas, il est établi que seuls les laits possédant la caséine α S1 exprimée avec un fort pourcentage pourraient donner lieu à la fabrication de fromages.

Pour cela, nous avons mené une étude qui vise dans un premier temps à évaluer les caractéristiques physico-chimiques du lait caprin collecté dans trois régions de Tizi-Ouzou. Les analyses effectuées ont portées sur le pH, l'acidité, l'extrait sec total, les protéines, la matière grasse, le lactose et la vitamine C.

Les résultats obtenus pour ces paramètres, notamment l'extrait sec (109,3g/l), la matière grasse (30,7g/l), le lactose (39,1g/l) et les protéines (26g/l), font état de la bonne valeur nutritionnelle du lait collecté localement. Néanmoins, les teneurs obtenues sont en deçà de celles du lait bovin analysé dans les mêmes conditions.

Dans un deuxième temps, nous avons procédé à l'isolement et à la caractérisation des protéines. Pour cela, nous avons utilisé la précipitation à pH isoélectrique des caséines (pH 4.2) suivie de la chromatographie d'échange d'ions sur DEAE-cellulose. Les fractions ont ensuite été contrôlées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans différentes conditions (natives, en présence d'urée, en présence de SDS). Les profils électrophorétiques résultants, ont permis d'identifier des analogies entre le lait caprin et bovin comme ils ont permis de mettre en relief certaines particularités liées tant aux caséines notamment (α S) qu'aux protéines sériques (PP3, α -La et β -Lg).

L'utilisation de la résine anionique faible en une seule étape de séparation chromatographique est avantageuse dans le sens où elle a abouti à l'isolement de protéines caprines (caséine β , caséines α S, PP3, SA et β -Lg) avec un haut degré de pureté.

Mots clés : Lait / Caprin / Caséines / Protéines sériques / Isolement / Phénotypage /
Electrophorèse / Chromatographie.

Abstract

Goat milk, which is very popular especially in France where many famous cheeses are made, could meet the needs of people living in the mountains, and can be eaten fresh or processed. However, for the latter case, it is established that only milk with α S1-casein expressed with a high percentage could result in the manufacture of cheese.

For this, we conducted a study that aims in a first step to assess the physical and chemical characteristics of goat milk collected in three regions of Tizi-Ouzou. The analysis performed has carried on the pH, acidity, total solids, proteins, fat, lactose and vitamin C.

The results obtained for these parameters, including total solids (109.3 g / l), fat (30.7 g / l), lactose (39.1 g / l) and proteins (26g / l), are state of the good nutritional value of milk collected locally. However, the levels obtained were below those of bovine milk analyzed under the same conditions.

In a second step, we performed the isolation and characterization of proteins. For this, we used the precipitation of the casein at their isoelectric pH (pH 4.2) followed by ion exchange chromatography on DEAE-cellulose. The fractions were then checked by polyacrylamide gel electrophoresis under different conditions (native, in the presence of urea, in the presence of SDS). The resulting electrophoretic profiles have identified similarities between goat and cow milk as they have helped to highlight some particularities including both caseins (α S) as serum proteins (PP3, α -La and β -Lg).

The use of weak anionic resin in a single chromatographic separation step is advantageous in that it led to the isolation of goat protein (casein β , casein α S, PP3, SA and β -Lg) with a high degree of purity.

Keywords: Milk / Goat / Caseins / Whey proteins / Isolation / Phenotyping / Electrophoresis / chromatography.

Introduction

Introduction

L'intérêt nutritionnel du lait réside dans sa richesse en nutriments de base (protides, lipides et glucides) mais aussi en calcium, en vitamines et en oligo-éléments. C'est l'un des rares aliments qui convient pour les différentes tranches d'âge où il peut être consommé tel quel à l'état frais ou sous forme de produit transformé, notamment en fromages et yaourt. De plus, les différents ingrédients constitutifs du lait (protéines, peptides, lactose, matière grasse...) sont utilisés à bon escient par l'industrie Agro-alimentaire depuis ces dernières décennies pour fabriquer des produits ayant des fonctionnalités nouvelles et répondant au mieux aux exigences du consommateur.

C'est précisément pour ces raisons que les besoins en cette matière ne cessent de s'accroître dans le monde alors que la production mondiale du lait n'arrive pas à suivre cette tendance. Ainsi, au cours de ce dernier quart de siècle, la consommation en lait de la population mondiale a augmenté de 32% tandis que la production par habitant a reculé de 9%.

Dans ces rapports, le lait de vache occupe la plus grande proportion (environ 80 %), le reste est constitué de lait de bufflonne, de chèvre, de brebis et de chamelle.

Cette situation de déficit en lait produit est encore plus accentuée quand on s'intéresse de près au cas de notre pays qui est considéré à juste titre comme le premier consommateur maghrébin de lait (100 l/an/habitant) mais dont la production laitière (1 milliard de l/an) ne permet pas de couvrir les besoins estimés à plus de 3 milliards de l/an. Là-aussi, les autres espèces laitières (chèvre, brebis, chamelle) ne couvrent qu'environ 10% des besoins qui sont comblés par le recourt chaque année à l'importation de poudre de lait (250 000t/an) et de matière grasse anhydre.

Afin d'endiguer un tant soit peu cette tendance et rétablir les équilibres, notre pays a mis en place une stratégie de développement et d'encouragement de la production nationale en permettant notamment aux éleveurs d'importer des races laitières appropriées et de se constituer en coopératives d'élevage pendant que le circuit de collecte du lait a été amélioré par l'introduction des centres de collecte et des moyens de réfrigération précoce du lait.

Ce plan de développement a enregistré d'ailleurs un accroissement de la production et de la collecte en lait frais. Mais jusque-là, le gros des efforts a été centré sur la filière bovine. Les autres filières (ovines, caprines et camelines) restent marginales avec une production destinée essentiellement à l'auto-consommation.

Par ailleurs, dans l'agriculture de montagne, le caprin, réputé pour sa rusticité et son adaptation à ce relief particulier a toujours constitué une solution tout indiquée aux

populations locales qui tiraient pratiquement l'ensemble de leurs besoins en lait de cet animal, qui est connu et prisé dans d'autres pays, notamment en France pour la renommée des fromages d'appellation garantie qu'on fabrique à partir exclusivement de son lait.

Si l'effort de développement dans notre pays se poursuit, les tonnages en lait caprin, seront revus à la hausse, ce qui donnera des perspectives intéressantes pour la vente et la consommation de ce lait à l'état frais ou sa transformation, notamment en fromages.

Dans ce volet particulièrement, il est établi que seuls les laits ayant de la caséine $\alpha S1$ exprimée avec un fort pourcentage sont transformables en fromages. De ce fait, il paraît évident que l'analyse de ce lait et sa caractérisation sur le plan protéique peuvent aider à mieux orienter les technologues sur les possibilités d'exploitation industrielle de ce lait de collecte.

Dans cette perspective, la présente étude a comme objectif, d'une part, d'évaluer sur le plan physico-chimique le lait caprin collecté dans 3 trois régions de Tizi-Ouzou (Azazga, Mekla et Larbaâ Nath Irathen) et, d'autre part, de procéder à l'isolement et la purification des protéines majeures de ces laits avant de les caractériser sur le plan de leur comportement électrophorétique.

Synthèse
Bibliographique

1-Synthèse bibliographique

1-1-Le caprin

Domestiqué il y a plus de 10000 ans avant Jésus-Christ, la chèvre (*Capra Hircus*), est réputée pour sa rusticité. C'est un animal adapté aux conditions rudes et à la sécheresse (SHKOLNIK *et al*, 1980), où bovins et ovins ne peuvent survivre (GADDOUR *et al*, 2007).

Bien que relativement homogène, la population caprine algérienne est divisée en quatre races : La race Arabia, la race Makatia, la naine de Kabylie et la chèvre du M'Zab, auxquelles s'ajoute le cheptel importé (notamment les races Alpine et Saanen) et les produits de croisements (FELIACHI, 2003).

1-2-Localisation et effectif

Les laits de mammifères qui ont une importance économique et nutritionnelle sont avant tout les laits de vache, de bufflonne, de chèvre et de brebis. Dans certaines régions spécifiques, le lait d'autres mammifères est également exploité : C'est le cas par exemple du lait de chamelle (Afrique et Asie) ou du lait de lama (Amérique du nord), de yak (Asie centrale) ou de renne (Europe du nord) (CHAU *et al*, 2008).

La production du lait de chèvre se place en troisième position après celle du lait de vache et de bufflonne mais elle est assez irrégulièrement répartie dans le monde selon les zones géographiques et selon les pays (LE JAOUEN *et al*, 1990).

Selon les statistiques de la FAO, en l'an 2000, l'Asie détenait 453 millions de caprins, soit 63% de l'ensemble du cheptel caprin mondial. La Chine et l'Inde, se partagent à eux seuls respectivement 21 et 17% du cheptel mondial. En seconde position, vient le continent Africain avec 29% du cheptel mondial. L'Amérique et l'Europe viennent clore ce classement avec respectivement 5 et 3%.

Le caprin dans le monde montre une progression de 70% en passant de 462 millions de têtes en 1985 à 786 millions de têtes en 2005 (FAO, 2006).

Concernant les caprins en Algérie, leur effectif est plus élevé dans les zones montagneuses et surtout broussailleuses (piémonts des montagnes), dans les zones steppiques et le sud saharien (oasis) que dans la zone littorale où l'espèce est faiblement présente (BADIS *et al*, 2005) (tableau1).

Pour les trois pays du Maghreb, l'élevage caprin est pratiqué par la quasi-totalité des foyers ruraux, les chiffres suggèrent que plus d'un tiers des foyers tunisiens, la moitié des foyers marocains et trois quarts des foyers algériens sont concernés (CHICHE, 1999).

Cet élevage constitue 26% du produit brut agricole du Maroc, 30% celui de la Tunisie et 50% celui de l'Algérie (CHICHE, 1999).

Le cheptel caprin algérien comprend environ 2,5 Millions de chèvres (FELIACHI, 2003). Il représente 14% du cheptel global et vient après le cheptel ovin qui représente 26% (BADIS *et al*, 2005).

Malgré une progression de 4,7% en 2003, la production laitière en Algérie demeure encore insuffisante pour combler un déficit estimé à 3 milliards de litres (GHOZLANE *et al*, 2006), alors que le lait frais collecté (dont 80% issus du bovin) n'atteint pas 1 milliard de l/an. Dans cette proportion, le lait de chèvre représente environ 5% de cet apport.

Tableau 1 : Répartition du cheptel caprin en Algérie (FELIACHI, 2003).

Zone	Effectif	%
Littoral et sub-littoral	212,801	8,26
Atlas tellien	462,831	8,75
Haute plaines telliennes	439,611	17,81
Haute plaines steppiques	531,495	21,54
Atlas saharien et Sahara	820,726	33,26

1-3-Les productions caprines

Le fromage est le principal produit de transformation du lait caprin. Néanmoins, d'autres produits existent comme le yaourt, lait acidifié, Kéfir, huile de beurre, crème, beurre clarifié (Inde et Iran), laits infantiles (Taiwan, Nouvelle Zélande, Australie), glaces et même bonbons fabriqués à base de lait caramélisé sucré (Mexique, Norvège, Inde) (SOUSTRE, 2007).

En 2003, la production mondiale de fromages atteint 17,5 millions de tonnes. La production française compte 1,82 million de tonnes dont 72 348 tonnes au lait de chèvre avec 12 fromages AOC (Chabichou, Charolais, Chevrotin, Crottin de Chavignol...) (Foucaud-Scheunemann, 2005).

En Algérie, contrastant avec l'essor de la filière caprine en France, la transformation du lait de chèvre reste faible malgré la rusticité et l'adaptation de la chèvre aux conditions qu'offre notre pays. Les produits dérivés sont la plupart du temps des laits fermentés (Raïb, Lben et Jben), le plus souvent de qualité sensorielle variée (BADIS *et al*, 2005).

1-4- Caractéristiques du lait de chèvre

1-4-1-Caractéristiques organoleptiques

Comme le lait de vache, le lait de chèvre est une émulsion de matière grasse sous forme de globules gras dispersés dans une solution aqueuse (sérum) comprenant de nombreux éléments, les uns à l'état dissous (lactose, protéines du lactosérum, ... etc.), les autres sous forme colloïdale (caséines) (DOYON, 2005). En raison de l'absence de β -carotènes, le lait de chèvre est plus blanc que le lait de vache (CHILLIARD, 1997), blancheur se répercutant sur les produit laitiers caprins. Le lait caprin a un goût légèrement sucré (DUTEURTRE *et al*, 2005). Il est caractérisé par une flaveur particulière et un goût plus relevé que le lait de vache (ZELLER, 2005 ; JOUYANDEH et ABROUMAND, 2010). Cette flaveur, en grande partie due à certains acides gras libres (JAUBERT G, 1997; MORGAN *et al*, 2001), est accentuée par la lipolyse (JAUBERT G, 1997).

1-4-2-Caractéristiques physico-chimiques

1-4-2-1-Le pH

Le pH du lait de chèvre, se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90 (REMEUF *et al*, 1989) avec une moyenne de 6,7 différant peu du pH moyen du lait bovin qui est de 6,6 (REMEUF *et al*, 1989 ; LE JAOUEN *et al*, 1990).

Néanmoins, le lait de chèvre en raison d'un polymorphisme génétique important de ses protéines, se démarque par une variabilité du pH suivant le type génétique en question.

1-4-2-2-L'acidité

L'acidité du lait de chèvre reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,16 et 0,17% d'acide lactique (VEINOGLU *et al*, 1982b). En technologie fromagère, celle-ci réduit le temps de coagulation du lait caprin par la présure et aussi accélère la synérèse du caillé (KOUNIBA, 2007).

1-4-2-3-La densité

La densité du lait de chèvre est relativement stable (VEINOGLU *et al*, 1982b) et se situe à 1,022, inférieure à celle du lait de vache (1,036).

1-4-2-4-L'eau

Cet élément essentiel, est le composé majoritaire du lait (DAHLBORN *et al*, 1997). L'établissement d'un comparatif ente le lait de chèvre de vache et humain montre peu de différence. Ces laits se caractérisent respectivement par 87,5, 87,7 et 87,1g d'eau pour 100g de lait analysé (DESJEUX, 1993).

1-4-2-5-Les minéraux

La fraction minérale du lait caprin, ne représente qu'une faible portion de celui-ci, en moyenne 8% de la matière sèche contre 7% pour le lait de vache (KERN, 1954). Elle joue un rôle important dans la structure et la stabilité des micelles de caséine (BLOOMFIELD et MEAD, 1974 ; GAUCHERON, 2005).

Le lait de chèvre semble être plus riche en calcium, phosphore, magnésium, potassium et chlore que le lait de vache mais moins riche en sodium (MAHIEU *et al*, 1977 ; JENNESS, 1980 ; SAWAYA *et al*, 1984a).

1-4-2-6-Les vitamines

Par rapport au lait de vache, le lait de chèvre se distingue par l'absence de β -carotène. Cette caractéristique a été utilisée comme moyen de détection de l'adultération du lait caprin par le lait bovin (MUCIO, 1983).

Les données sur le contenu vitaminique du lait de chèvre, montrent que la Vitamine A y est plus présente que dans le lait de vache (HEINLEIN et CACCESE, 2006). Pour ce qui est des Vitamines B1, B2, B5, B6, B8 et B12, le contenu des deux laits est quasi identique (JAUBERT, 1997). En dehors des vitamines E, B3 et B9 plus riches dans le lait de vache, les deux laits, (qui ont des teneurs relativement similaires), sont assez carencés en vitamine C et D (JENNESS, 1980 ; JAUBERT, 1997 ; RAYNAL-LJUTOVAC *et al*, 2008).

1-4-2-7-Le lactose

Comparativement au lait de vache (50g/l), le lait de chèvre est moins riche en lactose, avec une variation allant de 44 à 47g/l (VEINOGLU *et al*, 1982b ; ROUDJ *et al*, 2005). C'est le constituant le plus stable du lait de chèvre au cours de la lactation (LOPEZ *et al*, 1999).

En plus du rôle énergétique en tant que substrat de la flore lactique endogène, le lactose joue un rôle dans la régulation de la pression osmotique entre les cellules sécrétrices mammaires et le milieu sanguin à partir duquel la mamelle puise les éléments minéraux, l'eau, les acides gras et les vitamines (GNANDA *et al*, 2006).

1-4-2-8-La matière grasse

Moins riche en matière grasse (ROUDJ *et al*, 2005), le lait caprin est aussi plus difficile à écrémer (JENNESS et PARKASH, 1971 ; ATTAIE et RICHTERT, 2000) que le lait de vache du fait que les globules gras caprins se démarquent par leur petite taille (HOLMES *et al*, 1945), Cette disparité leur confère une meilleure dispersion ainsi que

l'obtention d'une phase plus homogène (HEINLEIN et CACCESE, 2006). La membrane du globule gras caprin est composée de protéines montrant une forte tendance à l'association aux caséines, qui ne se retrouve pas chez le bovin (CABO, 2010).

Le contenu lipidique total du lait caprin, sujet à une forte variation (CERBULIS *et al*, 1982), se caractérise par une richesse en triglycérides à forte proportion d'acides gras à chaîne courte, notamment en C8 et C10, qui représentent de 11 à 12% des acides gras totaux caprins, contre 3 à 4% chez les bovins (LE JAOUEN *et al*, 1990 ; DESJEUX, 1993 ; RUIZ-SALA *et al*, 1996). On y trouve aussi des triglycérides polyinsaturés à chaîne moyenne (RUIZ-SALA *et al*, 1996).

1-5-La fraction protéique

Les protéines du lait de chèvre comme celles des autres espèces de mammifères, sont composées de deux fractions, l'une majoritaire dénommée caséines (représentant environ 80%) (MAHE *et al*, 1993), précipite à pH 4,2 pour le lait de chèvre et 4,6 pour le lait de vache (MASLE et MORGAN, 2001). L'autre, minoritaire (représentant 20%) et dénommé protéines sériques se caractérisant par leur solubilité dans les mêmes conditions de pH (COLLIN *et al*, 1991 ; TRUJILLO *et al*, 2000 ; CHANOKPHAT, 2005).

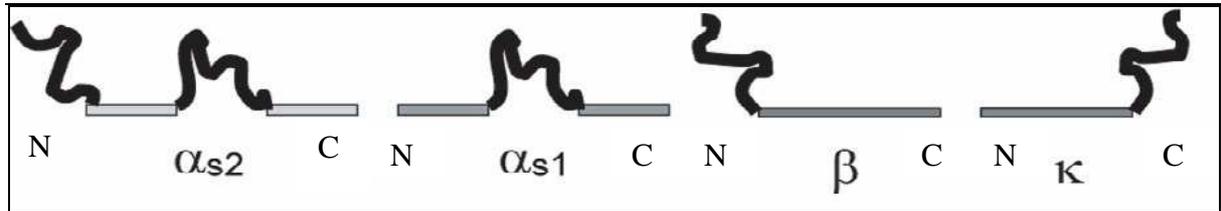
Par rapport au lait de vache, les teneurs en protéines sont nettement plus faibles dans le lait de chèvre (28 g/l contre 32g/l) (REMEUF et LENOIR, 1985 ; ROUDJ *et al*, 2005).

1-5-1-Les caséines

Par rapport au bovin, le lait caprin présente les mêmes constituants caséiniques (caséine α S1, α S2, β et κ) (RAZANAJATOVO et ALAIS, 1977 ; BOULANGER *et al*, 1984) et partage avec celui-ci plusieurs similitudes (ASSENAT, 1976).

Les caséines sont dépourvues d'acides aminés soufrés, donc non structurées par des ponts disulfures. Elles sont par contre riches en résidu proline (particulièrement la caséine β), résidus connus pour leur rigidité stéréochimique, expliquant ainsi l'absence de structure organisées pour ces protéines (PAYENS, 1982).

Ces caséines possèdent des chaînes latérales polaires (résidus phosphoséryle, glutamyle et aspartyle) du côté N-terminal et des chaînes latérales apolaires du côté C-terminal (caséine α S et β), représentation inversée pour ce qui est de la caséine κ (figure 1) (LORIENT et CAYOT, 2000).



— Région hydrophobe. N et C : Parties N et C terminale de la caséine.
 ↻ Région hydrophile.

Figure 1 : Représentation des parties hydrophobes et hydrophiles des différentes caséines bovines (PHOEBE, 2007).

Ces protéines, forment des structures micellaires en suspension par interaction du phosphate de calcium, avec les résidus phosphosérines de celles-ci (PIERRE *et al*, 1998 ; MARLETTA *et al*, 2007). Ces structures (pelote statistique) ont pour conséquence l'exposition des groupements hydrophobes des caséines, plus que ceux des protéines globulaires, ce qui explique la grande tendance des caséines à l'association (PAYENS, 1982 ; LEONIL *et al*, 2007).

L'hydratation des micelles est corrélée positivement avec leur stabilité thermique (FARRELL, 1973) et négativement avec leur minéralisation (REMEUF *et al*, 1989).

La structure micellaire caprine, à la différence de son homologue bovin est de diamètre et de degré de dispersion plus important (OULD ELEYA *et al*, 1995), diamètre qui augmente avec la diminution de la teneur en caséine (REMEUF *et al*, 1989).

Aussi celle-ci en diffère par une minéralisation elle aussi supérieure, ce qui pour ce facteur lui est préjudiciable au plan de son hydratation qui en sera fortement diminuée (REMEUF et LENOIR, 1985 ; REMEUF *et al*, 1989 ; OULD ELEYA *et al*, 1995).

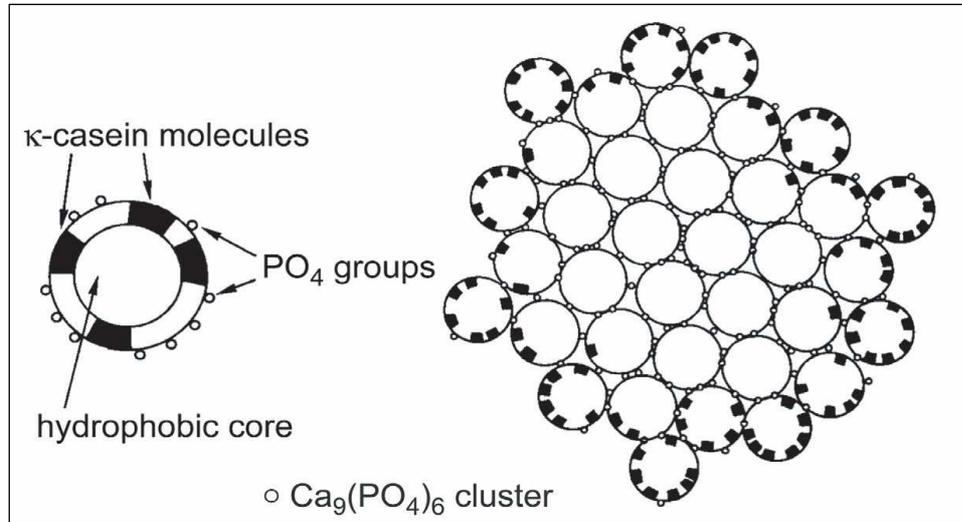


Figure 2 : Modèle à sous unité de SCHMIDT 1982 (RUETTIMANN et LADISCH, 1987)

1-5-1-1-La caséine α S1

Des trois caséines, la caséine α S1 est la plus sensible au calcium (SLATTERY, 1976), elle est composée dans les deux laits (bovin et caprin), de 199 acides aminés pour une masse moléculaire de 23600 Da (FARRELL, 1973 ; MARLETTA *et al*, 2007) avec 80% de similitude (BOULANGER *et al*, 1984 ; TRUJILLO *et al*, 2000).

La caséine α S1 possède un domaine d'environ 40 acides aminés où sont localisés d'une part, des résidus phosphates (sept à dix) (FARRELL, 1973 ; SLATTERY, 1976 ; TRUJILLO *et al*, 2000) et, d'autre part, douze résidus carboxyliques, conférant à cette protéine une grande acidité et une charge hautement négative (FARRELL, 1973 ; SLATTERY, 1976).

Cette protéine se démarque de son homologue bovin par une forte variation individuelle liée à l'existence d'un haut degré de polymorphisme génétique (LE JAOUEN *et al*, 1990).

1-5-1-1-1-Impact du polymorphisme de la α S1-CN

Les gènes de la caséine caprine, montrent des modifications complexes conduisant à une grande hétérogénéité de cette fraction (PIERRE *et al*, 2001 ; CAROLI *et al*, 2006 ; MARLETTA *et al*, 2007), ainsi qu'à sa variabilité tant au niveau quantitatif que qualitatif ce qui se répercute aussi bien sur la composition que sur les propriétés technologiques

(propriétés fromagères) du lait de chèvre (PIACERE et ELSÉN, 1992 ; MOATSOU *et al*, 2006).

Le polymorphisme le plus marqué, est celui de la caséine α S1, qui en plus du fait d'avoir un effet sur son propre taux de synthèse, a aussi des répercussions sur les teneurs en caséines totales (LE JAOUEN *et al*, 1990 ; MANFREDI *et al*, 1993 ; GROSCLAUDE *et al*, 1994). Le polymorphisme de cette fraction associe différents taux de synthèse à différentes classes alléliques (PIACERE et ELSÉN, 1992 ; REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE *et al*, 1994 ; DELACOIX-BUCHET *et al*, 1996).

Ainsi, pour cette fraction il existe 7 allèles pouvant être regroupés en 3 groupes, le variant « fort » représenté par les allèles A, B et C et associés à des taux de synthèse élevés de 3,6g/l, le variant « intermédiaire » représenté par l'allèle E et associé à des taux de synthèse moyens de 1,6g/l, deux variants « faibles » F et D associés à un taux de synthèse faible de 0,6g/l et un dernier variant « nul » O dépourvu de caséine α S1 (MANFREDI *et al*, 1993 ; VASSAL *et al*, 1994 ; RICOORDEAU *et al*, 1999 ; MARTIN et LEROUX, 2000), (AA > AE, AF > EE, EF > FF (BARBIERI *et al*, 1995).

Chaque variant a un impact technologique significatif, c'est ainsi que pour le paramètre « diamètre des micelles » l'influence est nette. Les laits issus du variant (AA), ont des micelles de diamètre plus faible que les laits (EE), eux même de diamètre inférieur aux laits (FF), (AA < EE < FF) (REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE *et al*, 1994 ; PIERRE *et al*, 1995 ; REMEUF *et al*, 2001).

Alors que pour « le degré de minéralisation calcique des micelles », le phénomène s'inverse. Les taux pour les laits (EE) et (FF) sont supérieurs aux laits (AA) (REMEUF, 1993 ; GROSCLAUDE *et al*, 1994).

Au plan technologique, ces laits adoptent des comportements différents. Ainsi, la fermeté du gel présure est supérieure pour le lait (AA) par rapport au lait (EE) lui-même supérieur au lait (FF), la même tendance est suivie pour la vitesse de raffermissement, (REMEUF, 1993 ; REMEUF *et al*, 2001) et aussi pour le taux de matière grasse (VASSAL *et al*, 1994).

Les laits (FF) étant les moins riches en matière grasse, se caractérisent par des anomalies de comportement à l'écémage avec aussi un degré de lipolyse plus important (LAURET, 2002a; RAYNAL-LJUTOVAC *et al*, 2004), ce qui est à l'origine de la flaveur "chèvre" plus prononcée pour celui-ci (MARTIN et LEROUX, 2000) et est bien moins

marquée pour les fromages issus des laits (AA) (DELACOIX-BUCHET *et al*, 1996 ; REMEUF *et al*, 2001).

Ces différents paramètres, font que le lait (AA) est un lait se rapprochant du lait bovin (MORA-GUTIERREZ *et al*, 1993 ; GROSCLAUDE *et al*, 1994).

1-5-1-2-La caséine $\alpha S2$

La caséine $\alpha S2$ caprine est la caséine la plus phosphorylée avec plus de 13 résidus phosphate. Elle contient 288 résidus d'acides aminés (un de plus que son homologue bovin) pour une masse moléculaire de 25 300 Daltons (PAYENS, 1982). Elle partage aussi environ 88% de similitude avec l'homologue bovin (TRUJILLO *et al*, 2000).

1-5-1-2-1-Impact du polymorphisme de la $\alpha S2$ -CN

Les travaux sur le polymorphisme des caséines caprines, ont permis de mettre en évidence l'existence de 3 variants pour la caséine $\alpha S2$, qui sont, l'allèle A (allèle le plus répandu (MANFREDI *et al*, 1993), B et C (RICOORDEAU *et al*, 1999) associés à une production de 2,5g/l de caséine $\alpha S2$, ainsi qu'un variant à taux faible et un autre de taux nul (MOATSOU *et al*, 2006). Aucune association entre les aptitudes technologiques et les variants de cette fraction n'a pour le moment été établie (REMEUF *et al*, 2001).

1-5-1-3-La caséine β

La caséine β est une phosphoprotéine constituée d'une seule chaîne polypeptidique (RIBADEAU-DUMAS *et al*, 1972) avec cinq résidus phosphosérines pour une masse moléculaire de 24000 Daltons (FARRELL, 1973).

Cette protéine est bien plus hydrophobe que la caséine $\alpha S1$, mais d'une sensibilité moindre au calcium (SLATTERY, 1976 ; CHANOKPHAT, 2005).

Cette fraction est constituée par deux composants de poids moléculaire identique, mais avec deux niveaux de phosphorylation différents (cinq et six). La caséine β est composée de 207 résidus d'acide aminés soit deux de moins que la protéine homologue bovine et avec une homologie de 90% avec celle-ci (TRUJILLO *et al*, 2000 ; MARLETTA *et al*, 2007). Elle partage néanmoins la même mobilité électrophorétique avec la caséine β bovine (MUCIO, 1983).

Le clivage de la caséine β conduit d'une part à la formation aux caséines γ et d'autre part à plusieurs des composants de la fraction protéose-peptone (LE BARS et GRIPON, 1993).

1-5-1-3-1-Impact du polymorphisme de la β -CN

Pour la caséine β , 3 variants A, B et O ont été identifiés (TRUJILLO *et al*, 2000). L'existence du variant O de teneur en caséines β nul s'accompagne d'une baisse sensible de la teneur en caséines totales du lait caprin. En contre partie, ceci s'accompagne d'une augmentation des teneurs en caséine α S1. Il a été constaté que les laits sans caséine β ont un temps de prise beaucoup plus long et donnent des caillés plus mous par rapport aux laits ayant une teneur normale en caséine β (CHIANESE *et al*, 1993).

1-5-1-4-La caséine κ

Seule la caséine κ est une glycoprotéine dotée de propriétés amphiphile (SLATTERY, 1976 ; MARTIN et LEROUX, 2000).

La caséine κ caprine a une masse moléculaire de 19000 Daltons (PAYENS, 1982) pour 171 résidus d'acides aminés. Elle contient deux résidus phosphate. Elle est difficilement précipitée par les ions calcium (SLATTERY, 1976 ; CHANOKPHAT, 2005). Ces deux facteurs combinés, font que la caséine κ joue le rôle de stabilisant pour les autres caséines (PAYENS, 1982 ; CHANOKPHAT, 2005).

Pour ces raisons, la caséine κ est localisée à la périphérie de la micelle de caséine, jouant le rôle à la fois de limitant de la croissance de la micelle et de maintien de celle-ci en suspension dans le lait (CREAMER *et al*, 1998 ; LEONIL *et al*, 2007).

La fraction κ se démarque des autres fractions par son contenu cystéinique, au nombre de deux résidus localisés dans la frange hydrophobe. Ces résidus permettent la polymérisation via des ponts disulfures (SLATTERY, 1976).

1-5-1-5-La caséine γ

Cette fraction se retrouve en faible quantité dans le lait, et résulte d'une protéolyse naturelle et limitée de la caséine β (TRUJILLO *et al*, 1997 ; CHANOKPHAT, 2005).

D'un point de vue sensibilité au calcium, cette dernière fraction de caséine est plus affectée que la caséine α S1 et β (EIGEL et RANDOLPH, 1975).

Tableau 2: Caractéristiques des caséines caprines et bovines (MARTIN, 1993).

Caséines C = chèvre V = vache	α S1		β		α S2		κ	
	C	V	C	V	C	V	C	V
Acides aminés	199	199	207	209	208	207	171	169
% de la caséine totale	10	38	48	38	20	11	22	13
Groupements phosphate	7/9	8/9	5/6	5	9/11	10/13	2/3	1/2

1-5-2-Les protéines du lactosérum

Ces protéines ont une bonne valeur nutritionnelle, car elles sont riches en Lysine, Tryptophane et acides aminés soufrés (CHEFTEL et LORIENT, 1982). Elles ont une structure compacte stabilisée par des ponts disulfure. Ce sont des protéines qui sont sensibles au traitement thermique (LORIENT et CAYOT, 2000). En moyenne, le lait de chèvre est plus riche en protéines solubles que le lait de vache (VEINOGLU *et al*, 1982b).

1-5-2-1-La β – lactoglobuline

La β -lactoglobuline est la protéine majeure du lactosérum caprin (FOX, 2003). Elle représente environ 55% soit plus de 4,4g /l de lait contre 25% pour le bovin (MEZA-NIETO *et al*, 2006). Cette protéine possède une structure globulaire maintenue et stabilisée par deux ponts disulfures (EIGEL *et al*, 1984 ; FOX, 2003). On y note aussi la présence, en un cœur central de feuillets β antiparallèles, formant un site de fixation hydrophobe (QIWU *et al*, 1997).

Cette dernière caractéristique permet la fixation de petites molécules hydrophobes tels les acides gras et explique la fonction supposée de cette protéine dans la fixation et le transport du rétinol, précurseur de la vitamine A (QIWU *et al*, 1997 ; FOX, 2003).

De plus, les travaux réalisés par MOULTI-MATI (1991), mettent l’accent sur le rôle majeur de cette protéine dans la prolifération cellulaire et donc par ce fait se révèle être un outil essentiel en culture cellulaire.

Tableau 3 : Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines dans le lait de diverses espèces animales (FAO, 2006)

Protéines	Vache	Bufflonne	Jument	Chèvre	Brebis
α -lactalbumine	1,5 (45%)	2.50 (37%)	2.30 (26%)	2,0 (25%)	1,3 (10%)
β -lactoglobuline	2,7 (25%)	2,70 (39%)	5,30 (59%)	4.4 (55%)	8,4 (67%)
Albumine sérique	0,3 (5%)	0,20 (3%)	0,20 (2%)	0,6 (7%)	0,6 (5%)
Immunoglobulines	0.7 (12%)	1.35 (20%)	1.10 (13%)	0.5 (6%)	2.3 (18%)
Protéose-peptone	0,8 (1 3%)	-	-	0,6(7%)	-
Total PS (100%)	6,0 (100%)	6,75 (100%)	9,00 (100%)	8.10 (100%)	12,6 (100%)
Caséine α -S	12,0 (46%)	9,30 (26%)	-	-	21 .0 (47%)
Caséine β	9,0 (36%)	18,20 (51%)	-	-	16,1 (36%)
Caséine κ	3,5 (13%)	-	-	-	4,5 (10%)
Caséine γ	1,5 (6%)	8.25 (23%)	-	-	3,0 (6%)
Total CN (100%)	26,0 (100%)	35.75 (100%)	13,60 (100%)	26,0 (100%)	44,6 (100%)
Protides totaux	32,0	42,50	22,60	34,1	57,2

- : non déterminé

1-5-2-2-L' α -lactalbumine

Représentant environ 20 à 25% des protéines sériques (EBNER et BORDBEC, 1968 ; MARSHALL, 2004), l' α -lactalbumine, est une métalloprotéine globulaire, caractérisée dans sa structure par la présence de 4 ponts disulfures lui conférant une stabilité thermique remarquable (CHEFTEL et LORIENT, 1982 ; HAERTLE, 2000). Il faut néanmoins noter que malgré une structure proche de celle du lysozyme, celle-ci ne présente pas d'activité enzymatique (HOUDEBINE, 1995 ; HAERTLE, 2000).

Toutefois l' α -lactalbumine, présente la particularité de fixer certains ions tel le calcium, le magnésium, le sodium, le potassium, le cuivre et le zinc et aussi et surtout elle intervient dans le processus de biosynthèse du lactose (EIGEL *et al*, 1984 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991 ; HOUDEBINE, 1995 ; DE WIT, 1998).

1-5-2-3-La sérum albumine

La sérum albumine est une protéine largement décrite dans le lait, il est toutefois clairement démontré qu'elle possède une similitude physique et immunologique accrue avec son homologue sanguin (EIGEL *et al*, 1984 ; LONNERDAL, 1985 ; SHUSTER et HARMON, 1990). Ceci s'explique par le passage de la sérum albumine du sang vers le lait,

au travers des jonctions des vaisseaux sanguins de la glande mammaire (LONNERDAL, 1985).

Caractérisée par une forte tendance à l'agrégation (LIESKE *et al*, 2005), celle-ci se retrouve dans le lait associée au cuivre et au zinc, ce qui est en phase avec la capacité de cette protéine à lier un nombre élevé de ligands (LONNERDAL, 1985).

1-5-2-4-Les immunoglobulines

D'une grande hétérogénéité, les immunoglobulines sont un groupe protéique complexe et différent significativement des autres protéines sériques (EIGEL *et al*, 1984).

Sur les 5 classes d'immunoglobulines seules les Ig G, A et M se retrouvent dans le lait caprin (PARK, 2007).

La fonction protectrice largement connue de ces protéines, s'exprime à travers le lait d'une part par la protection des glandes mammaires et d'autre part par celle du nouveau né (CAFFIN *et al*, 1983 ; DE WIT, 1998 ; MARSHALL, 2004).

1-5-2-5-Les protéose-peptones

Les protéose-peptones constituent une fraction protéique soluble après traitement thermique à 95°C pendant 30 minutes suivie d'une acidification au pH isoélectrique des caséines (KOLAR et BRUNNER, 1970 ; NG *et al*, 1970).

Les constituants de cette fraction se distinguent en fonction de leur origine : ceux issus de l'hydrolyse de la caséine β (composant 5 et 8) (LE BARS et GRIPON, 1993 ; KOLAR et BRUNNER, 1970 ; PAQUET, 1989) et le composant 3 (ou PP3) (NG *et al*, 1970 ; PAQUET, 1989), qui est une glycoprotéine phosphorylée, représentant le composant majeur de la fraction hydrophobe des protéose-peptones (MATI *et al*, 1991 ; LISTER *et al*, 1998).

1-5-2-6-La lactoferrine

Métalloglycoprotéine fixatrice du fer (HURLEY *et al*, 1993 ; MARSHALL, 2004), la lactoferrine joue le rôle de promoteur dans l'absorption intestinale de celui-ci (HURLEY *et al*, 1993). De plus, du fait de son homologie avec la transferrine, elle est souvent qualifiée de lactotransferrine (VOJTECH *et al*, 2008).

Connue pour ses propriétés bactériostatiques (SHUSTER et HARMON, 1990 ; MAUBOIS, 2002), par ferriprivation (MAYNARD *et al*, 1989), sa concentration dans le lait est un indice de résistance des glandes mammaires à l'implantation d'une infection bactérienne (SHUSTER et HARMON, 1990 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991).

1-5-2-7-La lactoperoxydase

Enzyme la plus abondante du lait (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989), la lactoperoxydase est connue pour son caractère bactéricide du fait qu'elle est le catalyseur de l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) du thiocyanate (SCN⁻) donnant naissance à l'hypothiocyanate (OSCN⁻) (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989 ; RIBADEAU-DUMAS, 1991 ; MARSHALL, 2004), composé actif sur les bactéries Gram négatif (ZAPICO *et al*, 1991).

Du fait de cette caractéristique bactéricide la lactoperoxydase est utilisée comme agent protecteur du lait cru en particulier dans les régions tropicales (RIBADEAU-DUMAS et GRAPPIN, 1989) et cela par l'ajout de faibles quantités de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène au lait de chèvre (ZAPICO *et al*, 1991).

1-6-Aptitudes technologiques

La fabrication de fromage reste la forme principale de valorisation du lait de chèvre. L'aptitude fromagère de ce lait est sous l'influence directe de sa composition physico-chimiques (qualité intrinsèque) (COLIN *et al*, 1992 ; PIACERE et ELSSEN, 1992). Cette qualité, sujette à forte variation, peut se répercuter défavorablement sur le produit final (LE JAOUEN *et al*, 1990).

La faible teneur en protéines des laits, notamment en protéines coagulables, constitue un défaut majeur, entraînant la production de caillés de texture friable, avec des pertes importantes et des rendements fromagers excessivement faibles (GROSCLAUDE *et al*, 1994).

De plus ceci est confirmé par les travaux de REMEUF (1993) qui montre qu'un gel présure obtenu avec des laits à faible teneur en caséine α S1 est moins ferme, ce qui marque l'importance de la fraction α S1 et fait de sa carence un facteur de dégradation du rendement fromager, en favorisant les pertes de matière sèche dans le lactosérum.

Comparativement au lait de vache, le lait de chèvre au repos ne forme pas de crème (RUTGERS *et al*, 2006). Il présente une résistance à l'écémage dû au faible diamètre des globules gras et à l'absence d'agglutinine dans ce lait (CHILLIARD, 1997).

La température de coagulation thermique du lait de chèvre est en moyenne de 134°C, ce qui reflète son inaptitude à subir un traitement de type UHT (LE JAOUEN *et al*, 1990 ; REMEUF, 1993).

L'une des particularités du lait de chèvre est qu'à faible teneur en caséine α S1 celui-ci est affecté d'une très faible résistance au traitement thermique (MORA-GUTIERREZ *et al*, 1993).

Tenant compte du fait que 75% de la production laitière caprine est concentré entre les mois d'avril et septembre contre seulement 25% entre octobre et mars (PORTMANN, 1970 ; SAURAI, 1973), le problème de répartition de la production le long de l'année se pose (PORTMANN, 1970 ; LEMELIN, 2005). Le report, qui consiste en la conservation du lait récolté pendant la période de lactation maximum pour l'utiliser au moment où la production est plus faible s'impose. Ce report s'effectue par le stockage au froid à différents états, soit du lait après la traite, (MORGE *et al*, 2007), concentré, (SAURAI, 1973), ou en poudre (PORTMANN, 1970), soit à l'état de caillé égoutté et congelé entre -18°C et -22°C pour une période allant de 4 à 8 mois (SAURAI, 1973 ; LE JAOUEN, 1990 ; MORGE *et al*, 2007).

L'impact le plus important de la réfrigération prolongée du lait (au-delà de 6 mois, (PARK *et al*, 2005), est la modification de la matière grasse par lipolyse ainsi qu'une forte oxydation donnant lieu à des défauts de goût, allant du "rance" au "métallique" en passant par des goûts de "savon", de "poisson" ou alors de "suif" (PORTMANN, 1970 ; MANFREDINI et MASSARI, 1989 ; CALVO, 2000).

1-7-Comportement technologique

Le lait de chèvre a un comportement technologique différent de celui du lait de vache, en raison de sa forte variabilité protéique (REMEUF *et al*, 1989 ; LE JAOUEN *et al*, 1990).

Néanmoins, même à teneur égal en caséines, le lait de chèvre n'a pas le même comportement que le lait de vache vis-à-vis de la présure. Le gel formé est moins ferme, plus friable. Il est caractérisé par un temps de prise plus court et une vitesse de raffermissement plus grande et surtout un rendement moindre (REMEUF *et al*, 1989 ; LE JAOUEN *et al*, 1990), particulièrement pour les laits à teneur faibles en caséines α S1 (LE JAOUEN *et al*, 1990). La grande taille des micelles caprines explique la faible fermeté du gel du fait de la corrélation négative entre diamètre des micelles et fermeté du gel (REMEUF et LENOIR, 1985 ; LE JAOUEN *et al*, 1990 ; OULD ELEYA *et al*, 1998 ; PIERRE *et al*, 1998).

1-8-Qualités du lait de chèvre

1-8-1-Qualité nutritionnelle

D'un point de vue énergétique, avec 710 contre 650 kcal/l pour le lait de vache, le lait de chèvre constitue une source importante d'énergie, expliquant ainsi de nombreuses observations de gain de poids chez l'enfant malade (DESJEUX, 1993 ; DE LA TORRE *et al*, 2008). De plus, celui-ci est d'une biodisponibilité supérieure au lait de vache (HOSSAINI-HILLALI, 1995).

La fraction lipidique du lait caprin est pauvre en acides gras polyinsaturés nécessaires au métabolisme humain, mais riches en acides gras à chaînes courtes et moyennes (C4 à C 10) favorisant la digestibilité (RAZAFINDRAKOTO *et al*, 1993 ; MAHE, 1997 ; BARRIONUEVO *et al*, 2001). Cette dernière est importante pour les protéines du lait de chèvre et dépasse celles du lait de vache (RAMOS *et al*, 2005 ; HEINLEIN et CACCESE, 2006).

1-8-2-Qualité microbiologique

D'un point de vue microbiologique, la majorité des espèces de bactéries lactiques sont présentes dans le lait cru de chèvre. Le lait ovin et caprin constitue néanmoins un danger en tant que vecteur potentiel de la brucellose (DUMOULIN et PERETZ, 1993).

Les mammites sont les troubles sanitaires les plus fréquentes en élevage laitier. Ce sont des infections microbiennes de la mamelle, à l'origine d'une forte augmentation de la concentration en cellules somatiques (C C S) du lait (MORGAN, 1999 ; COULON *et al*, 2005). Pour le lait caprin, ces mammites sont sujettes à des variations saisonnières, avec de faibles concentrations en avril et de fortes concentrations en cellules somatiques en septembre (DROKE *et al*, 1992 ; GUILHERME *et al*, 2009).

Toutefois, le contenu en cellules somatiques d'un lait prélevé sur une chèvre saine est nettement plus important que celui provenant d'une vache saine (SANCHEZ *et al*, 2005).

En plus de l'impact sur la qualité microbiologique du lait, l'augmentation du nombre de cellules somatique dans celui-ci modifie la composition physico-chimique (JYOTI *et al*, 1988 ; CEBO *et al*, 2009).

C'est ainsi qu'on note une diminution du pH, des teneurs en lactose et en caséines, une augmentation de la lipolyse et une forte variation des équilibres salins (BALLOU *et al*, 1995 ; LEITNER *et al*, 2004 ; PULINA *et al*, 2008).

1-8-3-Activité lipolytique

La lipolyse, dégradation enzymatique de la matière grasse du lait, conduit à la libération d'acides gras libres, ayant pour conséquence le développement de la saveur particulière type "chèvre" mais peut aussi engendrer des défauts de saveur à des niveaux de lipolyse trop élevés (LAURET, 2002a).

La lipolyse peut être induite et accentuée par des traitements mécaniques ou thermiques lors de la traite ou de la manipulation des laits (MORGAN *et al*, 2001 ; LAURET, 2002a ; DEHARENG *et al*, 2004). Ces facteurs permettent aux lipases d'avoir un plus large accès aux triglycérides après que la membrane du globule gras assurant la dispersion de la matière grasse du lait ait été endommagée (CHILLIARD et LAMBERET, 1984 ; DANTHINE, 2000).

Le lait de chèvre, comme le lait de vache contient une lipase native possédant les caractéristiques d'une lipoprotéine lipase (LPL) (LE JAOUEN *et al*, 1990), thermolabile (KUZDZAL-SAVOIE, 1975) et n'agissant que très faiblement sur les triglycérides à courte chaîne (CHILLIARD et LAMBERET, 1984).

Matériel
et
Méthodes

2- Matériel et méthodes

Les différentes analyses réalisées dans cette étude, ont été menées au niveau du laboratoire de recherche en Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, dirigé par le Dr. MOULTI-MATI F.

2-1- Matériel

2-1-1- Matière première

Les échantillons de lait analysés, sont des laits de petits mélanges, frais, issus de troupeaux de chèvres saines, localisés dans la région de Tizi-Ouzou.

Les précisions quant aux dates, lieux d'échantillonnage sont portés sur le tableau 4.

Tableau 4 : Origine et date de prélèvement des échantillons de laits de chèvres analysés

Lait	Echantillon	Date de prélèvement	Région de collecte
Lait de Chèvre	LC1	Avril 2009	Azazga
	LC2	Mai 2009	Mekla
	LC3	Juin 2009	Larbaâ Nath Irathen
Lait de Vache	LV	Septembre 2009	Larbaâ Nath Irathen

Un échantillon de lait de vache, collecté dans la région, dans les mêmes conditions est aussi utilisé.

2-1-2- Appareillage

- Unité d'électrophorèse sur mini cuves verticales (Hoefler SE 200, SE 280 et Scie-plas TV50) comprenant : cuves d'électrophorèse, générateur de courant Consort ; Belge (max : 250V et 100mA), plaque en verre et en hydroxyde d'alumine (10 x 8 cm), espaceurs d'épaisseurs variées (0,75 ; 1 ; 1,5 mm) ;
- unité de chromatographie BUCHI ;
- balance de précision à 0,01 mg (SARTORIUS) et balances analytiques à affichage digital (0,01g) (Denver Instrument, USA) et (KERN, Allemagne) ;
- agitateur basculant (Heidolph, duomax1030, Allemagne) ;
- spectrophotomètre UV-visible (SCHIMADZU, Japon) et visible (Jenway, Royaume-Uni) ;
- pH mètre (Hanna instruments, France) ;

- lyophilisateur à plateau (BETA, Allemagne) et à ballon christ alpha 1-2 (Allemagne) ;
- centrifugeuse réfrigérée, max 28000 x g et non réfrigérée, max 15000 x g (SIGMA, USA) ;
- agitateurs variés (de tubes (IKA Lab. Danser, Allemagne), à plateau (Labinco BV, Pays Bas) à barreaux magnétiques chauffant et non chauffant (Hanna instruments, France)...)
- dessiccateur en verre et à infrarouge (Denver instrument IR 35) ;
- distillateur d'eau (GFL 2001/4 max 4l/h, Allemagne) ;
- bain marie (Mettler, Allemagne) ;
- étuve max 220°C (Mettler, Allemagne) ;
- dégazeur à ultrasons (NEY 19B, USA).

2-1-3- Petits matériels

Un certain nombre de petits matériels et d'accessoires spécifiques sont utilisés dans le cadre de cette étude :

- micropipettes, micro-seringue Hamilton, membranes de dialyse (seuil d'exclusion 8000 Da), papier filtre Whatman N° 41, gants et masques pour la manipulation de produits dangereux tel l'acrylamide, laine de verre, différents types de verrerie (fiolle à vide, filtre à verre fritté de type Buchner...).

2-1-4- Produits chimiques et réactifs

- colorants et réactifs spécifiques (Liquor de Fehling, hexacyanoferrate II de potassium, acide ascorbique, 2-6- Dichlorophénol-indo-phénol (DCPIP), phénophtaléine, acrylamide, N, N'- méthylène – bis – acrylamide, bleu de bromophénol, bleu de Coomassie R250, dodécyl sulfate de sodium (SDS), glycine, β -mercaptoéthanol, persulfate d'ammonium, N, N, N', N' tétraméthyléthylène diamine (TEMED), réactif de Folin-Ciocalteu ;
- supports chromatographiques (diéthylaminoéthyl cellulose (DEAE-cellulose whatman DE 52)) ;
- sels et tampons (azide de sodium, carbonate de sodium, chlorure de sodium, hydroxyde de sodium, imidazole, persulfate d'ammonium, sulfate d'ammonium, tartrate double de sodium et de potassium, acide oxalique, bicarbonate de sodium, acétate de zinc, tris- hydroxy – méthyl – aminométhane (TRIS), urée...)
- solvants usuels (acide acétique, acide chlorhydrique, acide trichloracétique, éthanol, glycérol, méthanol...).

2-1-5- Matériel biologique

- sérum albumine bovine (BSA), (SIGMA ; USA).
- kit pour l'étalonnage des gels d'électrophorèse en PAGE-SDS. Ce kit, préparé au sein du laboratoire comprend 4 protéines de PM connu : l' α – lactalbumine, la β – lactoglobuline, l'ovalbumine et l'albumine sérique bovine.

2-2- Méthodes d'analyse

2-2-1- Collecte du lait

Les échantillons de lait ont été prélevés à partir de chèvres saines. Le lait est traité proprement et est immédiatement additionné de 0,3 g/l d'azide de sodium (NaN₃), afin d'éviter tout développement microbien. Les échantillons sont acheminés dans une glacière au laboratoire où ils sont aussitôt analysés.

A l'arrivée, une mesure de pH est immédiatement effectuée. Suivant l'objectif expérimental visé, le lait est fractionné. Une partie est destinée aux analyses physico-chimiques et une autre au phénotypage protéique. Pour le reste, il est reparti en petites fractions et congelé ainsi pour une utilisation ultérieure.

2-2-2- Analyses physico-chimiques

2-2-2-1- Mesure du pH

Les mesures de pH effectuées sur les échantillons, sont basées sur une méthode potentiométrique dont le principe repose sur une mesure de la différence de potentiel entre une électrode dite de mesure et une autre de référence.

La valeur de pH caractérisant l'échantillon analysé, est lue directement sur l'appareil (pH mètre) après immersion de son électrode dans le lait. Cette opération comme pour toutes les autres mesures physico-chimiques qui suivent est répétée 3 fois, avec rinçage de l'électrode de l'appareil entre chaque mesure.

2-2-2-2- Détermination de l'acidité titrable

Comme décrite par TANTAOUI-ELARAKI *et al* (1983), l'acidité titrable est déterminée avec une solution de NaOH à 0,111 mol/l en présence de phénophtaléine. Le mode opératoire est donné en annexe II.

L'acidité titrable exprimée en degré Dornic ($^{\circ}\text{D}$), est calculée proportionnellement au volume de NaOH utilisé jusqu'au virage au rose pâle du milieu.

2-2-2-3- Détermination de l'extrait sec total (EST) et de la teneur en matière grasse

Le principe de la méthode utilisée consiste en une dessiccation à l'étuve pendant 3 heures à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; comme réalisé par LABIOUI *et al* (2009), d'une quantité déterminée de lait, entier dans le cas de la détermination de l'EST et écrémée dans le cas de la détermination de l'ESD.

Cette étape est suivie d'une pesée de l'extrait sec obtenu. Le détail de la méthode est donné en annexe I.

Le taux de matière grasse est calculé par soustraction des valeurs de l'extrait sec dégraissé de celles de l'extrait sec total (FIL 22B, 1987).

2-2-2-4- Détermination de la teneur en lactose

La méthode utilisée pour le dosage du lactose du lait est celle à la liqueur de Fehling.

C'est une méthode titrimétrique basée sur la réaction à chaud d'une solution de liqueur de Fehling. Cette solution renferme des ions Cu^{2+} (cuivre II), de couleur bleu en milieu basique.

A chaud en présence d'une substance réductrice, la liqueur de Fehling donne un précipité rouge d'oxyde de cuivre Cu_2O (cuivre I).

Pour la réalisation de ce dosage, nous avons suivi les conditions expérimentales décrites dans le protocole de BERTRAND (1906) que nous avons rapportées en annexe IV.

De plus, pour l'étalonnage de la liqueur de Fehling nous avons eu à utiliser une solution de lactose de concentration connue.

2-2-2-5- Détermination de la teneur en vitamine C

La méthode de dosage mise en œuvre est celle de l'AOAC, dont les conditions expérimentales sont exposées en annexe V.

Pour cela, on utilise le 2-6-dichlorophénol-indo-phénol (DCPIP) qui a pour particularité, l'oxydation de la vitamine C en milieu acide, ce qui renforce sa stabilité donnant une coloration rose pâle.

Pour réaliser ce dosage, la solution de DCPIP a été étalonnée avec une solution de vitamine C de concentration connue à la qu'elle correspond un volume de DCPIP pris comme référence lors des dosages.

2-3- Isolement des protéines totales

2-3-1- Ecrémage

L'écémage du lait est la première étape du protocole d'isolement des protéines caprines. Cette étape consiste en l'élimination de la matière grasse du lait par centrifugation à 3500 xg pendant 20 minutes et à 4°C.

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

Pour assurer un bon écémage, l'ensemble de l'opération d'écémage est répété deux autres fois éliminant ainsi toute trace résiduelle de matière grasse pour la suite du protocole d'isolement.

2-3-2- Séparation des caséines totales

L'isolement des caséines caprines est réalisé par précipitation différentielle au pH isoélectrique de cette fraction (pH 4,2). Cette opération est effectuée par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique 4N, suivie d'une centrifugation à 3500 xg pendant 15 minutes à 4°C.

Il en résulte une différence de phase, où le culot correspondant aux caséines est récupéré dans un minimum d'eau distillé, puis ramené à pH 7 grâce à une solution d'hydroxyde de sodium 1N, afin d'obtenir la re-solubilisation de cette fraction.

Pour éviter toute contamination sérique, deux autres étapes d'isolement dans les mêmes conditions sont répétées.

2-3-3- Séparation des protéines sériques

L'élimination des traces de caséines de la fraction sérique, nécessite, une fois le surnageant récupéré, un réajustement du pH à la neutralité grâce à une solution de NaOH 1N dans un premier temps, puis à pH 4,2 dans un deuxième temps en usant d'une solution de HCl 4N et suivi d'une centrifugation à 3500 xg pendant 15 minutes à 4°C.

Cette étape est ainsi répétée deux fois afin de s'assurer la mise à l'écart de toute trace de caséines.

Les protéines ainsi isolé sont dialysées 48h à 4°C contre l'eau distillée (renouvellement d'eau 2 fois/ jour), congelées en fine couche dans des coupelles à - 20 °C et lyophilisées. Elles sont conservées ainsi sous cette forme avant leur étude.

2-3-4- Dosage des lactoprotéines

Le dosage des protéines des diverses fractions se fait selon la méthode de LOWRY *et al* (1951) (annexe III).

Celle-ci combine une réaction au biuret, qui en milieu alcalin produit par action sur les molécules polypeptidiques d'au moins quatre groupements (CO-NH), un complexe cuivrique dont la couleur s'ajoute à celle obtenue par la réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, réagit avec les noyaux phénoliques des tyrosines et les tryptophanes et dans un degré moindre avec la cystéine et l'histidine, le réduisant pour donner une coloration bleue.

L'intensité de la couleur développée est proportionnelle à la concentration protéique, son absorbance est appréciée par spectrophotométrie à 750 nm.

La concentration protéique de nos échantillons est déterminée par l'intermédiaire d'une courbe d'étalonnage réalisée avec un étalon de BSA.

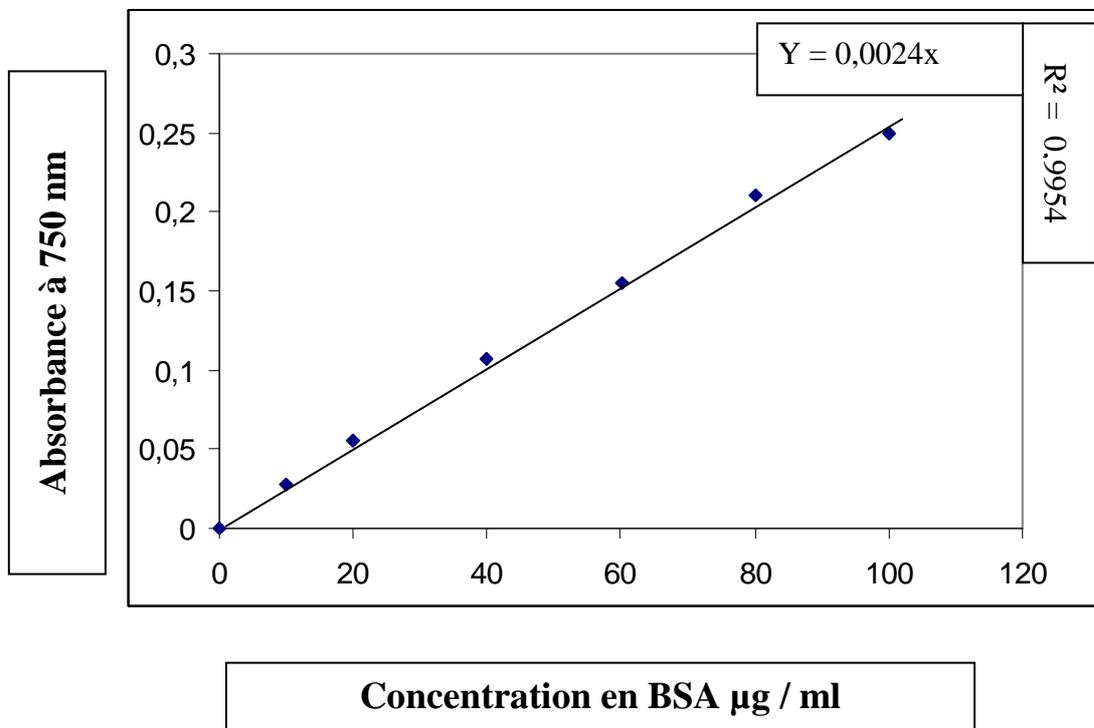


Figure 3 : Courbe étalon pour le dosage des protéines par la méthode de LOWRY *et al* (1951) avec comme protéine étalon la BSA.

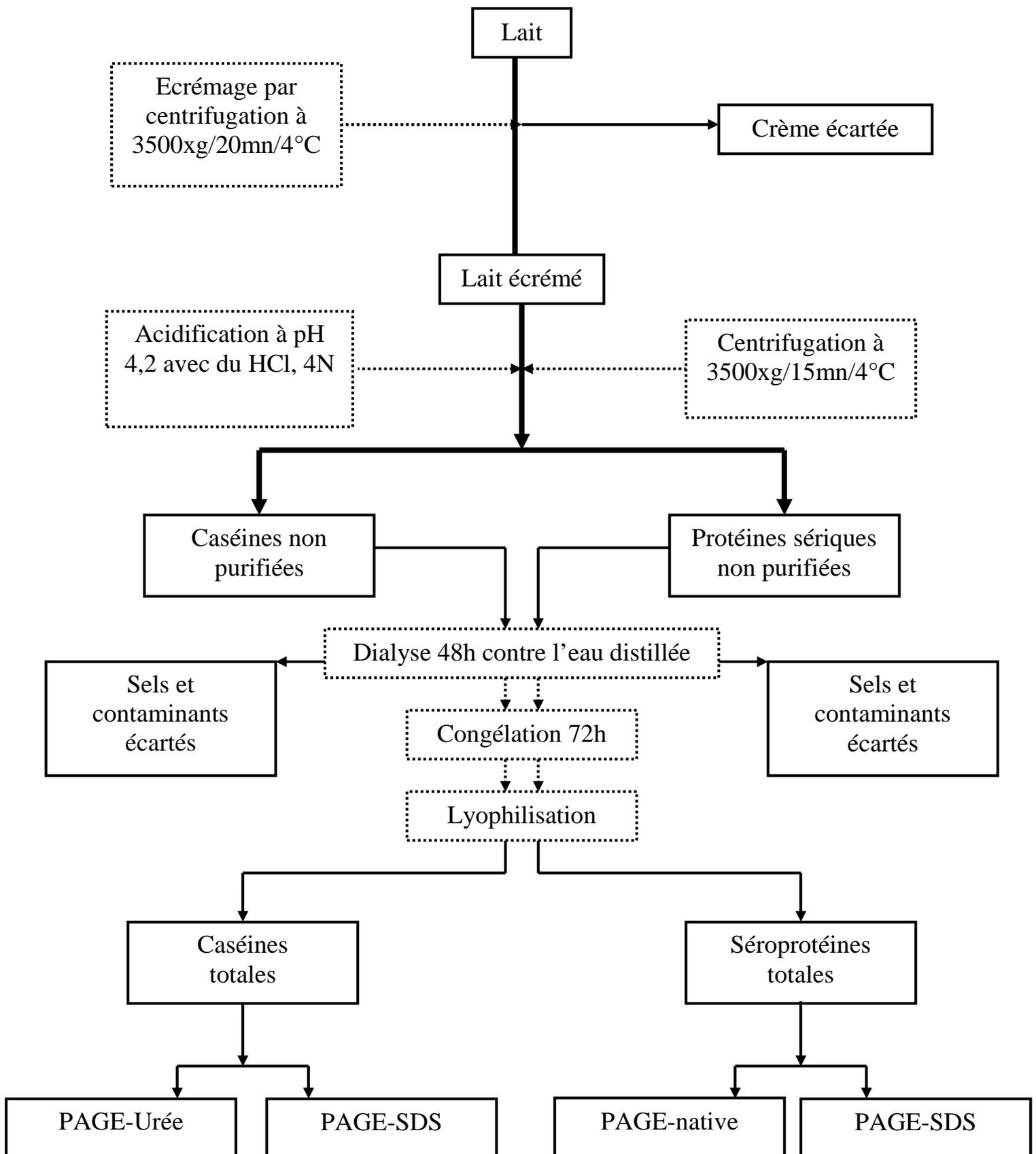


Figure 4 : Etapes suivies lors de l'isolement des caséines et des protéines sériques à partir du lait de chèvre collecté dans la région de Tizi-Ouzou.

2-4- Chromatographie d'échange d'anions sur DEAE-cellulose

2-4-1- Principe

Un échangeur d'ions, est une substance poreuse sur laquelle est greffé par liaison covalente un groupement chimique ionisable. Cette partie chargée peut interagir réversiblement avec des ions ou molécules présents dans la solution chromatographiée et être ensuite relarguées de la résine, en modifiant la concentration ionique du solvant.

La résine DEAE-cellulose est une résine positive, dite échangeuse d'anions qui a la particularité de fixer des particules de charge opposée.

2-4-2- Conditions expérimentales

Dans un premier temps, la résine est réhydratée et lavée dans un entonnoir à verre fritté ;

successivement au moyen des solutions suivantes :

- 200 ml d'hydroxyde de sodium 1N ;
- 200 ml d'acide chlorhydrique, 0,1N, NaCl 25% ;
- eau distillée.

Dans un deuxième temps, pour l'isolement des caséines, celle-ci est équilibrée dans le tampon de départ (imidazole, 0,02 M, urée, 3,3 M et 2-mercaptoéthanol, 0,3 %) dont le pH (7) est tel que le groupement porté par l'échangeur d'ions soit ionisés et cela jusqu'à ce que le pH du filtrat soit le même que celui du tapon de départ (MERCIER *et al*, 1968).

Suivant le protocole de WEI et WHITNEY (1985), le gel obtenu est mis en contact de l'échantillon (300mg), additionné de NaCl à des concentrations croissantes (0,06, 0,09, 0,12, 0,15, 0,18M), puis introduit dans un dispositif de filtration sous vide.

Chaque retentât est repris et remis dans les conditions expérimentales de départ et chaque filtrat est repris et analysé en PAGE-urée.

Pour l'isolement des protéines sériques du lait caprin, la résine est équilibrée dans un tampon composé de 0.01 M Tris-HCl pH 6,8 selon les conditions établies par MAUBOIS (1964).

Le gel obtenu est mis en contact de 20 ml de tampon de départ où sont dissouts 100 mg de protéines sériques.

L'élution des protéines sériques est réalisée à une vitesse de 30ml/h en faisant varier la concentration en NaCl (0,08, 0,11, 0,13, 0,19M).



Figure 5 : Photographie de l'unité de chromatographie.

2-5- Electrophorèse

2-5-1- Principe général

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

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

2-5-2- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide

Les gels de polyacrylamide peuvent varier en composition. Ils sont constitués d'acrylamide (unité de base) ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) et de bisacrylamide (agent pontant) (N, N méthylène-bisacrylamide), qui en présence de TEMED et le persulfate d'ammonium polymérisent. Les caractéristiques du gel, sont fonction de la concentration, du degré de réticulation et de pontage des constituants du gel et sont déterminés par les indices T et C calculés comme suit :

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

Avec :

- a** : acrylamide (g) ;
- b** : méthylène-bis-acrylamide (g) et
- v** : volume de la solution (ml).

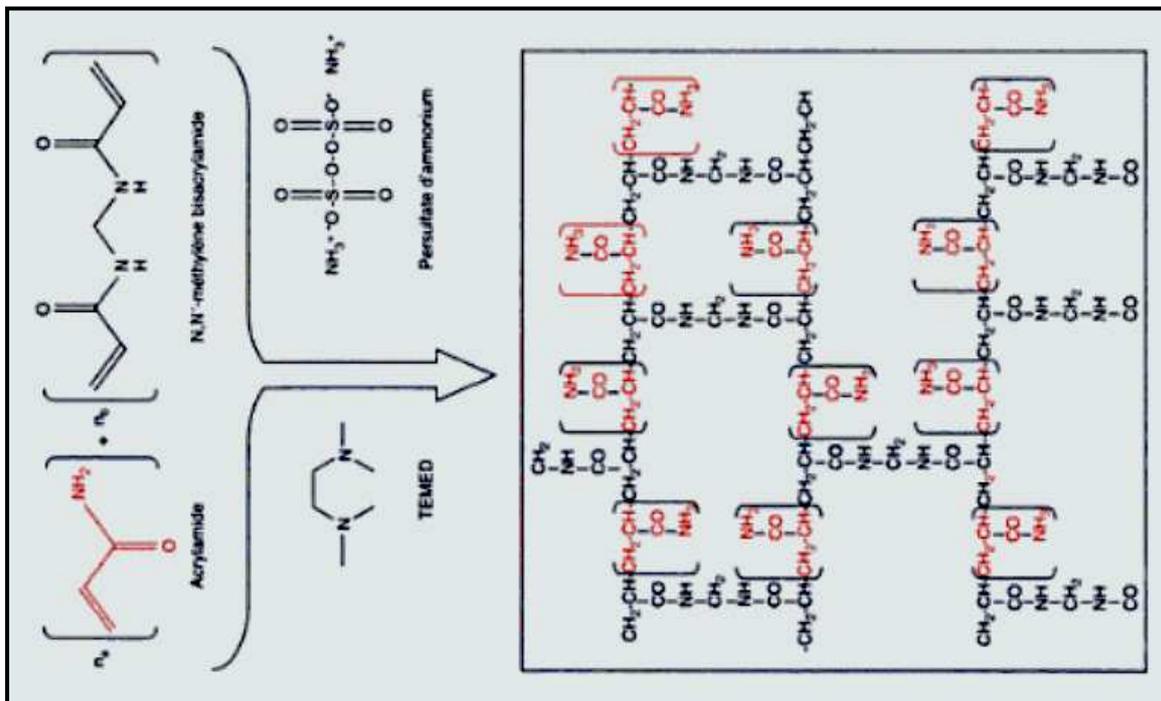


Figure 6 : Mécanisme de polymérisation du gel de polyacrylamide.

2-5-3- Conduite de l'électrophorèse

Le gel de polyacrylamide, est coulé entre une plaque en verre et une plaque en alumine (figure 7).

Les échantillons sont déposés dans des puits à raison 1,5 à 2 mg/ml, ils sont préalablement dissous dans un tampon composé de bleu de bromophénol indicateur de la progression de la migration électrophorétique. Celle-ci a lieu sous un voltage et un ampérage constant (250v ; 20mA) et dure en moyenne 90 minutes.

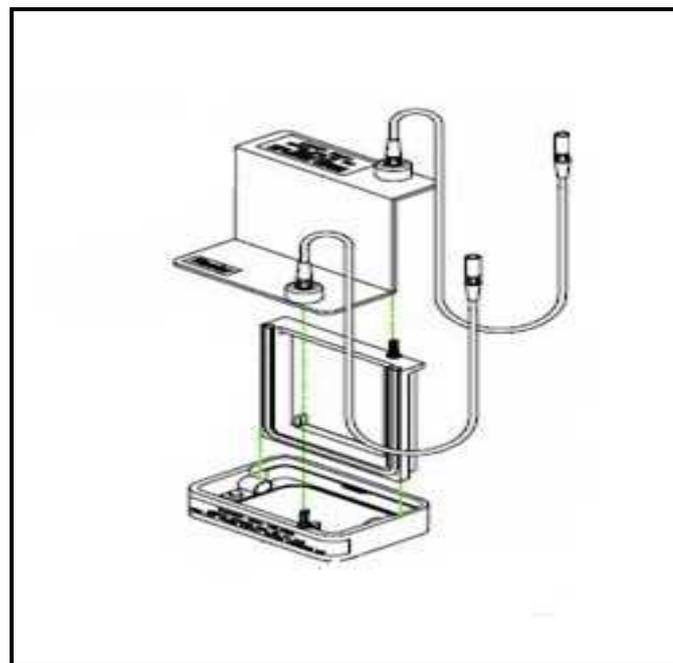
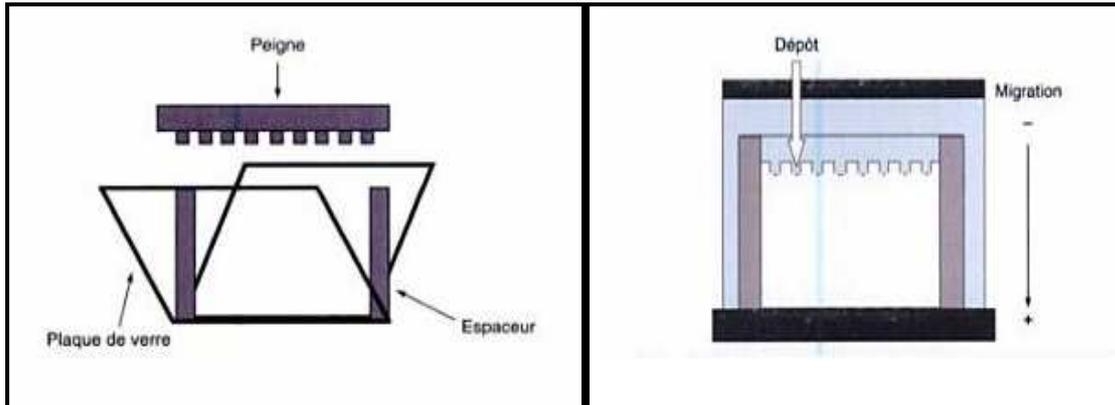


Figure 7 : Montage de l'électrophorèse en mini-cuve HOFER SE200.



Figure 8 : Photographie de la cuve d'électrophorèse Scie-plas TV50.

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

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans les conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native) est une méthode particulièrement résolutive pour les protéines sériques du lait.

Sur la base du protocole de HILLIER (1976), détaillé en annexe VI, nous avons réalisé un gel de polyacrylamide à T = 12% et C = 2,7%. Le tampon du gel est composé de (TRIS, 0,75 M, pH 8,9) et celui de l'électrode de (TRIS, 5 mM ; glycine, 77 mM ; pH 8,3). Les échantillons, sont dissous à raison de 2 mg/ml dans une solution contenant le tampon du gel (1/10 V/V), de l'eau distillée (7/10 V/V) et du glycérol 10% (V/V).

-Electrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes, en présence de SDS et de 2-Mercaptoéthanol (PAGE-SDS).

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

Suivant le protocole de LAEMMLI et FAVRE (1973), nous avons réalisé un gel de concentration (T = 4% et C = 2,7%), en tampon (TRIS - HCl, pH 6,8), dont l'objectif est la concentration des protéines, pour une migration homogène dans le gel de séparation. Ce dernier, se caractérise par (T = 15% et un C = 2,7%), en tampon (TRIS - HCl, pH 8,8) (annexe VII).

La détermination du poids moléculaire des protéines d'intérêt est effectuée en faisant migrer en parallèle (dans les mêmes conditions), des protéines étalons de poids moléculaire connus.

Le kit de protéines étalons, utilisé pour la réalisation de la courbe de calibration $\text{Log PM} = f(\text{distance parcourue})$, préparé au laboratoire LABAB, comprend les protéines suivantes : L'albumine sérique bovine (66 000 Da), l'ovalbumine (45 000 Da), l'anhydrase carbonique (29 000 Da), la β -lactoglobuline (18 000 Da) et l' α -lactalbumine (14 000 Da).

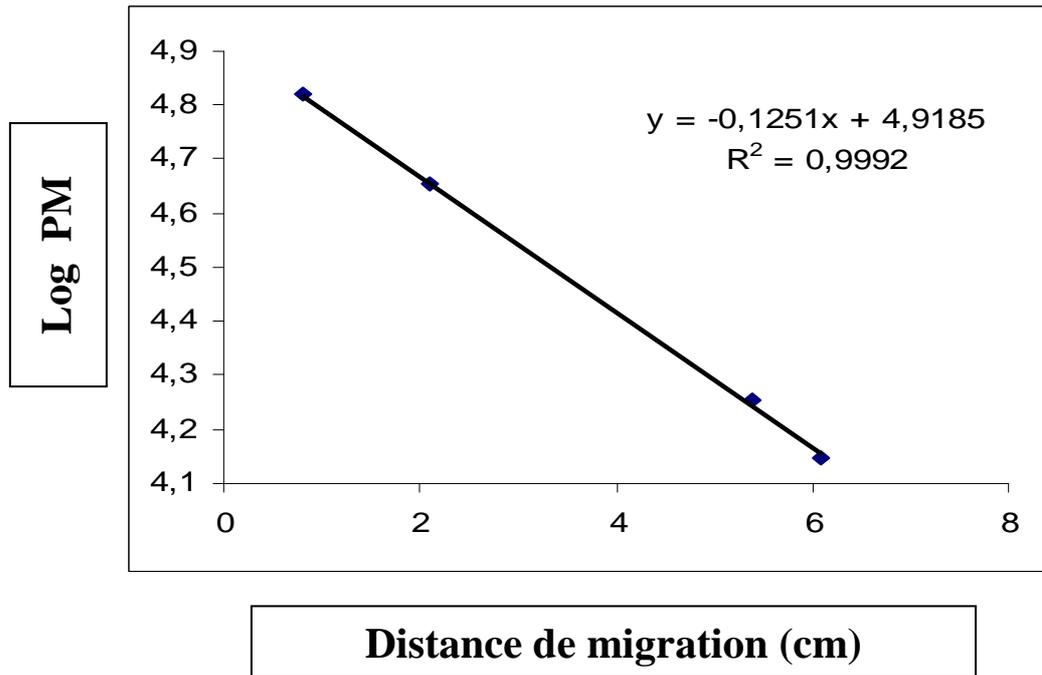


Figure 9 : Courbe de calibration du gel de séparation en PAGE-SDS établie en utilisant un standard protéique composé de BSA (66000 Da), Ovalbumine (45000 Da), β -lactoglobuline (18000 Da) et α -lactalbumine (14000 Da).

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

L'urée rompt les interactions intramoléculaires faibles (non covalentes), telles que les liaisons hydrogènes et hydrophobes. Ainsi, la PAGE – urée est particulièrement adaptée à la séparation des caséines.

L'électrophorèse en présence d'urée et de 2-mercaptoéthanol, a été réalisée en appliquant le protocole décrit par KWAI-HANG et KROEKER (1984) grâce auquel nous avons réalisé un gel de concentration (T = 4% et C = 2,7 %) en tampon, (urée, 0,8 M, TRIS, 0,49 M à pH 6,8), ainsi qu'un gel de séparation à (T = 13% et C = 2,7%) dans un tampon (urée, 4 M, TRIS, 1,5 M, pH de 8,8). Les échantillons sont dissous dans un tampon de même composition que celui du gel de concentration (8% V/V, de l'urée à 3,3 M, du 2-mercaptoéthanol à 0,3 % et du glycérol à 10%) (annexe VIII). Le tampon d'électrode, lui est composé des mêmes constituants que ceux utilisés en PAGE-native.

2-5-4- Révélation des bandes de migration électrophorétiques

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

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

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

-La décoloration : elle est réalisée par immersion du gel dans une solution composée du mélange (eau/méthanol/acide acétique) dans les proportions suivantes 3,12 – 1,5 – 0,37 (V/V/V).

Résultats
et
Discussion

3- Résultats et discussion

3-1- Analyses physico-chimiques

3-1-1- Mesure du pH

Les valeurs recueillies lors de cette mesure donnent une moyenne de pH pour les échantillons de lait caprin LC 1, LC 2 et LC 3 qui est respectivement de 6,65, 6,58 et 6,61 contre 6,69 pour l'échantillon de lait bovin. Il apparaît que l'échantillon 2 présente le pH le plus bas, alors que les deux autres ont des valeurs proches du lait bovin.

Les pH inférieurs du lait à la traite peuvent résulter de l'infection de la mamelle de l'animal (MORGAN, 1999), mais aussi du facteur génétique qui, à lui seul, a une grande influence sur les variations du pH du lait caprin (REMEUF, 1993 ; REMEUF *et al*, 2001).

Ces valeurs sont en concordance avec celles rapportées par bon nombre d'auteurs tel qu'IMRAN (2008) qui enregistre un pH de 6,59 pour le lait caprin, DRACKOVA *et al* (2008) à 6,63 et REMEUF *et al* (2001) à 6,64.

Toutefois, à travers la littérature nous relevons une fourchette de variation du pH du lait caprin de 6,45 (REMEUF *et al*, 1989) à 6,98 (JAUBERT, 1997).

3-1-2- Acidité titrable

Les échantillons de lait analysés dans cette présente étude, avec respectivement des valeurs de 15,3, 16,5, 14,7 °D pour les échantillons LC 1, LC 2 et LC 3, et 15,5 °D pour le lait bovin, révèlent un bon état sanitaire de ces laits en référence au fait que certaines laiteries donnent la limite d'acceptation des laits à 18 °D. L'échantillon LC 3 présente l'acidité la plus basse et l'échantillon LC2 la plus élevée, alors que LC1 reste le plus proche du lait bovin.

L'augmentation de l'acidité est un indicateur de la qualité de conservation du lait (CASSINELLOC et PEREIRA, 2001) et ne peut résulter que d'un développement conséquent de la flore lactique influencé par le jeu combiné de l'augmentation de la température ainsi que de la durée de conservation du lait.

Tableau 5 : Résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur les échantillons de laits analysés.

Paramètres	LC1	LC2	LC3	LV
pH	6,65 ± 0,04	6,58 ± 0,02	6,61 ± 0,06	6,69 ± 0,03
Acidité titrable (°D)	15,3 ± 1,43	16,5 ± 0,40	14,7 ± 0,85	15,5 ± 1,22
EST (g/l)	115,7 ± 3,29	110 ± 1,41	102,3 ± 1,73	119 ± 2,16
MG (g/l)	34 ± 1,24	30,4 ± 1,28	27,7 ± 0,35	35,7 ± 0,92
Lactose (g/l)	40,6 ± 1,88	42,7 ± 2,20	34,2 ± 1,53	45,4 ± 0,73
Vitamine C (mg/l)	13,9 ± 0,95	10,8 ± 1,25	16,4 ± 1,45	18,5 ± 1,25
PT (g/l)	28 ± 0,52	27,4 ± 0,85	24,8 ± 1,19	28,5 ± 1,60
PLS (g/l)	6,5 ± 1,14	6,8 ± 0,27	5,5 ± 0,85	6 ± 1,34
CN (g/l)	21,5 ± 1,03	20,6 ± 0,66	19,3 ± 0,78	22,5 ± 1,23

Comparativement à la littérature, nos échantillons se caractérisent par des moyennes comprises dans la fourchette de variation, avec une limite inférieure à 10 °D (SAWAYA *et al*, 1984b) et supérieure à 21.4 °D (CASSINELLOC *et PEREIRA*, 2001).

La valeur de 17 °D relevée par les auteurs suivants : CASSINELLOC *et PEREIRA* (2001), MAHMUT *et al* (2004) et AGNIHOTRI *et RAJKUMAR* (2007), peut être tenue pour acidité caractéristique du lait de chèvre.

3-1-3- Extrait sec total et teneur en matière grasse

Nous avons enregistré pour ce paramètre des valeurs respectives de 115,7 g/l pour l'échantillon LC 1, 110 g/l pour l'échantillon LC 2 et 102,3 g/l pour l'échantillon LC 3, alors que pour le lait de vache cette valeur est déterminée à 119 g/l. Ces valeurs rendent compte des faibles teneurs du lait de chèvre en matière sèche comparativement au lait bovin, en particulier l'échantillon LC2 qui présente la moyenne la plus faible.

Le mode de conduite du troupeau, le niveau d'alimentation, principaux facteurs de variation de la production et la composition du lait (KOUNIBA *et al*, 2007), expliqueraient le faible taux en matière sèche de l'échantillon LC 2.

Nous retrouvons, au travers de la littérature, certes des valeurs moins importantes avec, 116, 115,3, 110,8, 105,3 et 100,7 g/l rapportées dans l'ordre par RAYNAL-LJUTOVAC *et al* (2008), ZAHRADDEEN *et al* (2007), PIZARRO *et al* (2007) et PIERRE *et al* (1998) pour les deux dernières mais, qui comparativement à celles enregistrées au cours de cette étude, confortent nos résultats, alors que dans d'autres travaux nous relevons des valeurs aux antipodes de celles que nous avons enregistrées avec une valeur minimale de 86 g/l enregistrée par PIERRE *et al* (1998) et maximale enregistrée par CASSINELLOC *et PEREIRA* (2001) à 156,5 g/l.

L'infériorité et la carence du lait caprin, idée largement répandue se confirme aussi pour sa teneur en matière grasse, celle-ci est pour l'échantillon LC 3 plus marquée avec 27,7 g/l, alors que les échantillons LC 1 et LC 2 quant à eux avec respectivement 34 et 30,4 g/l se rapprochent plus de la teneur en matière grasse enregistrée pour le lait bovin et qui est de 35,7 g/l. Le faible taux en matière grasse de l'échantillon LC 3 peut être dû au stade de lactation qui affiche entre mai et juillet des taux faibles en matière grasse (MASLE *et MORGAN*, 2001).

Des valeurs sensiblement similaires à celles obtenues sont enregistrées par KENNEDY *et al* (1981), BOCQUIER *et al* (1998), PIZARRO *et al* (2007), JAUBERT G (1997) et AGNIHOTRI et RAJKUMAR (2007) avec les taux respectifs suivants 26,3, 30,8, 31,9, 33 et 36,1 g/l.

Néanmoins nous retrouvons des valeurs très éloignées avec 56.1 et 22,2 g/l enregistrées respectivement par DRACKOVA *et al* (2008) et PIERRE *et al* (1998), celles-ci reflètent la forte variabilité du taux de matière grasse pour le lait caprin.

3-1-4- Teneur en lactose

Cette fraction se caractérise par des moyennes respectives de 40,6, 42,7 et 34,2 g/l dans l'ordre de collecte de nos échantillons, relativement moindres en rapport avec le taux de lactose enregistré pour le lait bovin et qui est de 45,4 g/l. Les échantillons LC1 et LC2 présentent des teneurs en lactose voisines et relativement proches de celle enregistrée pour le lait bovin (particulièrement LC 2), alors que l'échantillon LC 3 reste celui qui présente la plus faible valeur. Le contenu en CCS ainsi que le volume de lactation (corrélé positivement avec le taux de lactose) peuvent expliquer la carence en lactose de l'échantillon LC3 (HOSSAINI-HILLALI *et al*, 1993).

Ces résultats reflètent une certaine différence dans les teneurs en lactose des deux laits comparés. Comparativement à VEINOUGLOU *et al* (1982) qui enregistre une différence de 4,4 g/l entre les deux laits, nous obtenons une différence plus importante avec 6,2 g/l.

Néanmoins, à comparer nos résultats à ceux d'autres travaux, ceux-ci en sont relativement proches, ainsi DECANDIA *et al* (2007) rapporte une valeur moyenne de 43.5 g/l, de même que LEFRILEUX *et al* (2009) à 43,3 g/l et CURTIS (1983) qui avance 42 g/l pour le lait caprin, alors que CASSINELLOC et PEREIRA (2001) rapportent une teneur plus importante à raison de 48,6 g/l.

3-1-5- Teneur en vitamine C

Nous avons recueillis pour ce paramètre une moyenne de 13,9 mg/l pour l'échantillon LC 1, 10,8 mg/l pour l'échantillon LC 2 et 16,4 mg/l pour l'échantillon LC 3. De même que pour le lait caprin le lait bovin avec 18,5 mg/l, à son tour présente un taux faible en vitamine C, mais ce dernier reste néanmoins supérieur à celui enregistré pour le lait caprin.

Comparativement aux valeurs rapportées par HOLMS *et al* (1945), KON (1959) et JAUBERT A (1997), qui donnent la moyenne en vitamine C pour le lait de chèvre à 20mg/l, les teneurs enregistrées dans ces travaux sont inférieures.

Néanmoins, une étude réalisée par HOLMS *et al* (1945), fait état d'une variation moyennes de 2 à 31,5 mg/l et marque ainsi la forte variation des teneurs en vitamine C de ce lait. Des valeurs intermédiaires sont enregistrées par SAWAYA *et al* (1984a) avec 8,9 mg/l, CURTIS (1983) avec 15 mg/l et KON (1959) et JAUBERT A (1997) qui donnent une moyenne de 10 mg/l.

3-1-6- Teneur en protéines totales

Les valeurs moyennes relevées pour chaque échantillon de lait caprin sont de 28 pour le premier, 27,4 pour le deuxième et 24,8 g/l pour le troisième, alors que pour le lait bovin nous avons relevé une teneur moyenne en protéines totales de 28,5 g/l.

Malgré la contiguïté des moyennes entre les échantillons LC 1, LC 2 et avec l'échantillon de lait de vache (particulièrement LC1), il ressort que l'échantillon LC3 (comparativement à LC1, LC2 et LV), présente une forte carence en protéines totales. Cet écart peut s'expliquer, comme pour la matière grasse, par les faibles teneurs en protéines totales du lait caprin lors de la période de collecte (MASLE et MORGAN, 2001).

Par rapport à d'autres études sur le lait de chèvre, MAHIEU *et al* (1977) avec 27,8 g/l, REMEUF et LENOIR (1985) avec 27,2 g/l et VASSAL *et al* (1994) avec 27,1 g/l RAYNAL-LJUTOVAC *et al* (2008) avec 26,1 g/l, confirment les teneurs obtenues dans ces travaux.

Alors des moyennes telles que 34,1 (SAWAYA *et al*, 1984b), 34,2 (DIAZ-CARRILLO *et al*, 1993), 35,4 (DECANDIA *et al*, 2007), 37 (BERGER *et al*, 2004) et 38,4 g/l (ZAHRADDEEN *et al*, 2007), marquent l'infériorité des teneurs en protéines totales de nos échantillons. Toutefois, certains chiffres reflètent les faibles teneurs en protéines totales du lait caprin à un niveau en deçà des taux que nous avons relevés, avec des concentrations allant de 19,1 (REMEUF et LENOIR, 1985) à 23,3 g/l (DRACKOVA *et al*, 2008) en passant par des valeurs intermédiaires, 20,85 (ROUDJ *et al*, 2005), 21,7 (SHKOLNIK *et al*, 1980) et 22 g/l (PIERRE *et al*, 1998).

3-1-7- Teneur en protéines sériques

Nous avons relevé des taux de 6,5 g/l pour l'échantillon provenant de la région d'Azazga, 6,8 g/l pour l'échantillon de Mekla et 5,5 g/l pour celui de Larbaâ Nath Irathen qui s'avèrent être relativement éloignés du taux enregistré pour le lait bovin dont la teneur est de 6 g/l. Ainsi, le lait provenant de Larbaâ Nath Irathen reste le plus pauvre en protéines sériques comparativement au lait bovin ainsi qu'aux deux autres échantillons caprins ; ces derniers révèlent des valeurs voisines, supérieures au lait bovin.

La confrontation de nos résultats avec ceux relevés dans d'autres travaux sur le lait caprin à savoir ceux réalisés par MASLE et MORGAN (2001) qui ont consigné des taux moyens de 6,6 g/l, ceux de LEITNER *et al* (2004) donnant une valeur de 6,1 g/l ainsi que ceux menés par BERGER *et al* (2004) qui ont déterminé la teneur en protéines sériques pour le lait caprin à 5,5 g/l, montrent que les valeurs que nous avons recueillies, cadrent avec ces dernières.

3-1-8- Teneur en caséines

Avec des teneurs en caséines de 21,5 g/l pour l'échantillon LC 1, 20,6 g/l pour l'échantillon LC 2 et 19,3 g/l pour l'échantillon LC 3, le lait caprin, comparativement au lait bovin (22,5 g/l), présentent des teneurs relativement inférieures en caséines totales. Cette carence reste relativement plus importante pour l'échantillon LC3.

Cette carence caséinique qui peut s'expliquer par une variabilité génétique de la fraction, est confirmée par les travaux de IRMAN *et al* (2008) donnant un écart de 3,2 g/l entre les deux laits avec 21,8 pour le lait de chèvre contre 24,6 g/l pour le bovin, alors que REMEUF et LENOIR (1985) eux, font état d'un plus grand écart avec 21,1 g/l pour certains laits caprins contre 27 g/l pour le lait bovin. Néanmoins ces derniers font aussi état pour le lait caprin de valeurs approximativement similaires au bovin avec 26 g/l.

La forte variabilité du lait caprin étant, certains auteurs rapportent des teneurs similaires à celles obtenues dans la présente étude, comme c'est le cas avec VASSAL *et al* (1994) et REMEUF *et al* (1989) avec 22g/l, CHIATTI *et al* (2006) avec 22,3 g/l et MASLE et MORGAN (2001) avec 24,1 g/l, alors que d'autres travaux au contraire font état des taux plus faibles, nous citons les valeurs de 17,4, 16,7 et 15,8 g/l rapportées respectivement par PIERRE *et al* (1998), DIAZ-CARRILLO *et al* (1993) et REMEUF et LENOIR (1985). En

contradiction avec ces valeurs ainsi qu'avec l'idée de déficience en caséines du lait de chèvre, nous retrouvons des études qui rapportent des taux moyens en caséines totales pour certains individus de 28,63 g/l (DELACROIX-BUCHET *et al*, 1996), 29,7 (MOATSOU *et al*, 2006) et 32 g/l (LOPEZ *et al*, 1999).

3-2- Analyse électrophorétique de la fraction protéique

3-2-1- Analyse électrophorétique des protéines sériques totales

Les conditions non dénaturantes et non dissociantes, gardent les protéines dans leur état natif, ce qui fait de la PAGE-native une technique résolutive et bien adaptée à la séparation des protéines sériques. Les molécules y sont séparées selon leur poids moléculaire ainsi que leur charge (WITTIG *et al*, 2007) et apparaissent sous forme de bandes de migration variant par leur position et leur intensité.

Comme nous l'avons illustré en figure 10, l'application de la PAGE-native aux fractions sériques du lait de chèvre de la région de Tizi-Ouzou montre des profils électrophorétiques avec de fortes similitudes entre les échantillons analysés, se démarquant nettement du lait de référence.

Les protéines sériques du lait bovin dans les conditions natives, migrent en cinq bandes correspondant dans l'ordre croissant de leur mobilité électrophorétique aux immunoglobulines, le composant trois des protéose-peptones, la sérum albumine bovine, l'alpha-lactalbumine et en fin de migration la bêta-lactoglobuline (KINGSBURY et GAUNT, 1967 ; EGITO *et al*, 2001 ; ERIKSEN *et al*, 2010).

Les protéines sériques des échantillons de lait caprin étudiées, elles aussi migrent en cinq bandes, notées de I à V. Celles-ci pouvant correspondre aux mêmes espèces protéiques retrouvées dans la fraction sérique du lait bovin.

Néanmoins, cette correspondance reste sujette à confirmation par séquençage des extrémités N-terminales des espèces protéiques isolées et leur comparaison à des séquences préétablies.

Comparativement au lait bovin, le diagramme électrophorétique en PAGE-native des protéines sériques du lait caprin présente de points distinctifs.

En premier lieu, les bandes de migration (I) et (III) (figure 10), présentent respectivement un même niveau de migration avec les immunoglobulines et la sérum albumine bovine ce qui suggère la possible similitude dans la nature de celles-ci.

En deuxième lieu, les bandes de migration (II), (IV) et (V), présentent des niveaux de migration différents des protéines homologues du lactosérum bovin.

C'est ainsi que l'on observe une faible migration de la bande (II) (Figure 11) comparativement à la bande caractéristique du PP3 bovin, seule bande pouvant lui correspondre. Des observations similaires ont été faites par MATI (1992), qui situe le PP3 du lait bovin plus en avant que son homologue caprin.

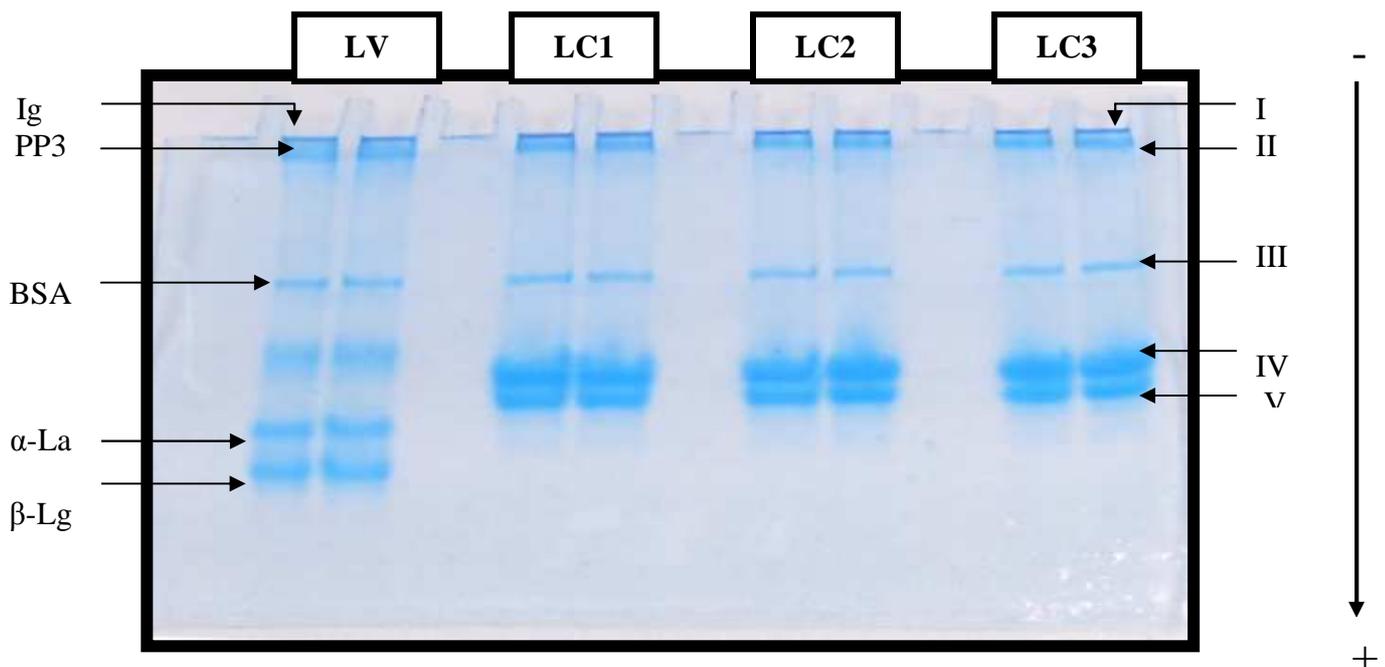


Figure 10 : Electrophorégramme des protéines sériques du lait caprin comparées au lait bovin (T = 12% ; C =2,7%) ; LV : lait de vache ; LC1, LC2, LC3 : lait de chèvre.

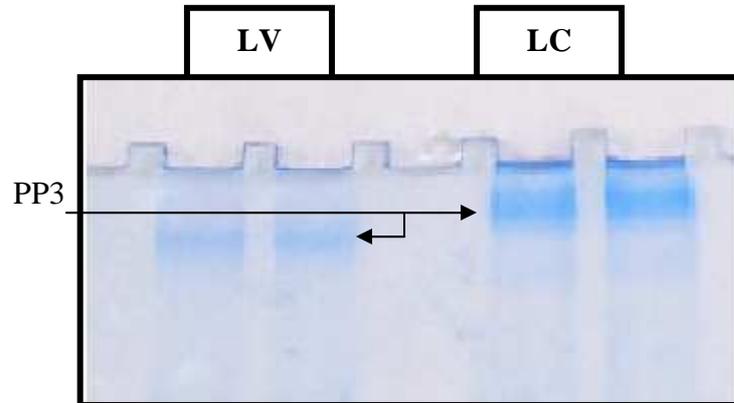


Figure 11 : Différence de migration entre PP3 caprin et bovin

Les bandes de migration (IV) et (V) qui, selon l'ordre de migration des protéines lactosériques bovines, pourraient correspondre respectivement à l'alpha-lactalbumine et à la β lactoglobuline, ne trouvent aucun vis-à-vis dans la piste de migration des protéines sériques bovines. De telles observations sont aussi rapportées par AMIGO *et al* (1992), qui situe les bandes caractéristiques correspondant à l'alpha-lactalbumine et à la β lactoglobuline bovine plus en avant que son homologue caprin.

En nous appuyant sur les travaux de KIDDY *et al* (1972), nous pouvons confirmer la position des variants de la β -Lg bovine. Les travaux de GROSCLAUDE *et al* (1987) et KUMAR *et al* (2006), indiquent et situent comme chez l'homologue bovin l'existence et la position des deux variants pour la bêta-lactoglobuline caprine (figure 12).

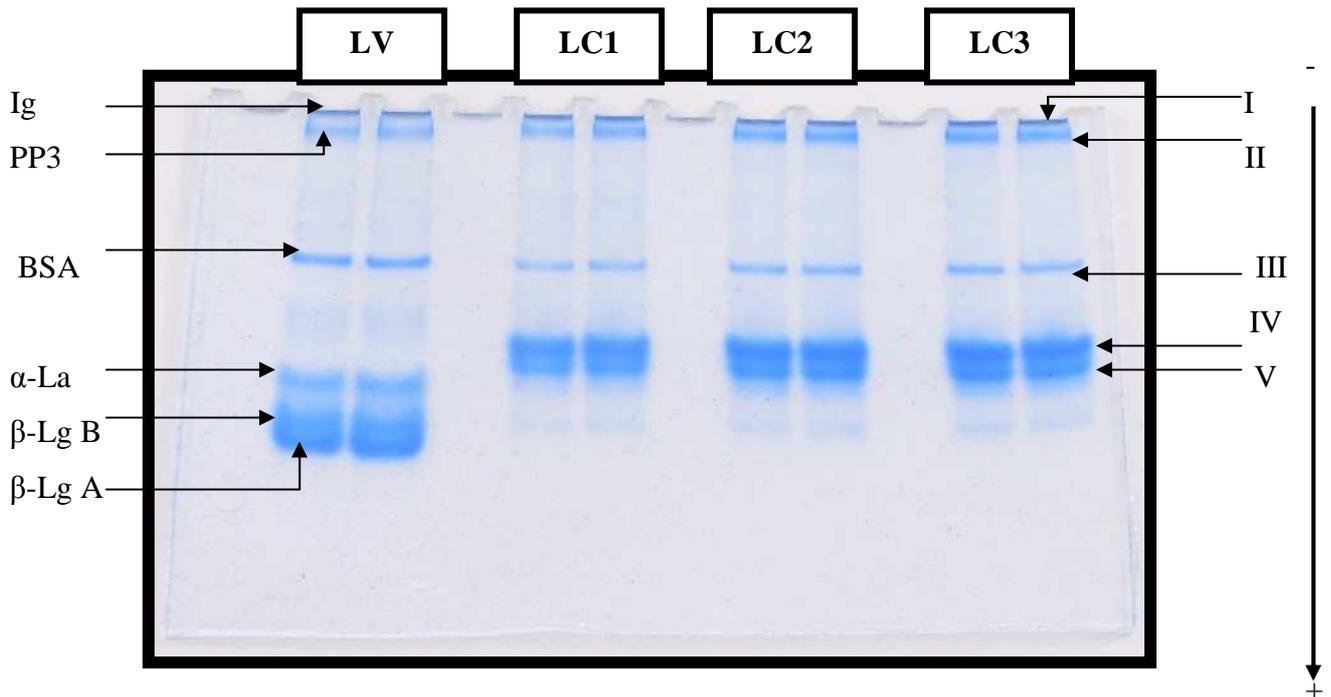


Figure 12 : Electrophorégramme des protéines sériques du lait de chèvre et de vache mettant en évidence les variants A et B de la β -lactoglobuline bovine.

Nous avons aussi analysés les protéines sériques du lait caprin en PAGE-SDS. Les conditions de dissociation, en présence de SDS et du 2-mercaptoéthanol, sont telles que les protéines s'agencent dans l'ordre croissant de mobilité électrophorétique corrélée négativement au poids moléculaire.

L'objectif de cette technique est la détermination du poids moléculaire des protéines d'intérêt par comparaison au niveau de migration de protéines de référence. Ces dernières sont la BSA, l'ovalbumine, la bêta-lactoglobuline et l'alpha-lactalbumine avec des masses moléculaires respectives de 66 000, 45000, 18000 et 14000 Da.

Pour le lait caprin, dans l'ordre croissant de mobilité électrophorétique (avec peu de différence entre les échantillons), trois bandes majeures (I à III) (figure 13) sont mises en évidence en PAGE-SDS, pour des masses moléculaires respectives de 66221, 17005 et 13558 Da. Celles-ci correspondraient à la sérum albumine, la bêta-lactoglobuline et l'alpha-lactalbumine comme suggérés par ALMAAS *et al* (2006), JOVANOVIC *et al* (2007) et RAGNHILD *et al* (2010).

Dans une étude comparative entre lait caprin et bovin RAGNHILD *et al* (2010), décrit une migration identique en PAGE-SDS des protéines sériques caractérisant chacun des laits, ce qui suggère qu'elles partagent des poids moléculaires quasi identiques.

Certains diagrammes électrophorétiques présentent des bandes diffuses entre la sérum albumine et bêta-lactoglobuline, de telles bandes sont aussi décrites par ALMAAS *et al* (2006) et RESTANI *et al* (2009), qui les identifie comme correspondant aux traces de caséines encore présentes dans la fraction sérique, cela étant dû à une mauvaise séparation des deux groupes protéiques.

La PAGE-SDS grâce à son important pouvoir résolutif est d'un grand intérêt dans la détermination des nombreux variants génétiques mis en évidence pour les caséines caprines (GROSCLAUDE *et al*, 1987).

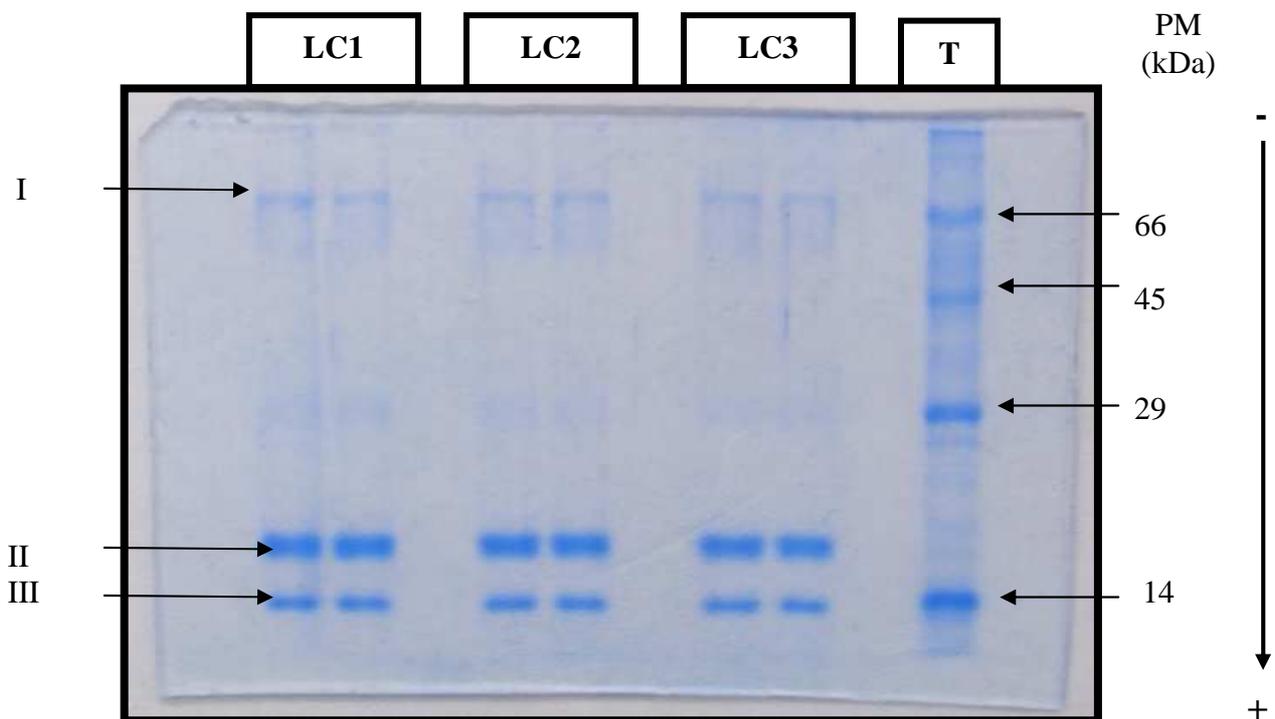


Figure 13 : Electrophorégramme des protéines sériques du lait caprin en PAGE-SDS ;

gel de séparation (T =15 % ; C =2,7 %) et gel de concentration

(T = 4 %; C = 2,7 %) ; T: protéines étalons ; LC1, LC2 et LC3 : lait de chèvre.

Néanmoins, l'utilisation d'autres techniques complémentaires comme la focalisation isoélectrique et la bidimensionnelle permettrait de discriminer d'avantage ces variants.

3-2-2- Analyse électrophorétique des caséines totales

La PAGE-urée est une technique particulièrement adaptée à la résolution des groupes protéique à forte association, cas des caséines.

Les agents dissociant, urée et 2-mercaptoéthanol (rompent respectivement les liaisons hydrogènes et disulfures), permettent aux protéines de migrer sous leur forme la plus simple.

Mais pour adapter cette technique aux caséines du lait de chèvre, nous avons été amenés à effectuer plusieurs mises au point relatives notamment à la porosité du gel et aux concentrations en urée.

Il est admis que les caséines du lait bovin migrent en 5 bandes comme suit (suivant une mobilité croissante) : γ -CN < κ -CN < β -CN < α S2 < α S1.

Le comportement électrophorétique des caséines caprines en PAGE-urée, ainsi que sur l'ordre d'apparition de celles-ci a été décrit par ZITTLE et CUSTER (1966) et LE BARS et GRIPON (1993). Le schéma général de migration, présente en premier la caséine β avec la plus faible mobilité, suivi du groupe des caséines α S (α S2 puis α S1), ces deux groupes sont séparés par une bande diffuse peu focalisée, la caséine κ .

Cependant et à l'opposé du profil bovin (EGITO *et al*, 2006), le comportement des caséines caprines en PAGE-urée est similaire à celui de l'espèce ovine (CALAVIA et BURGOS, 1998 ; MOATSOU *et al*, 2004).

Comme décrit par PARDO et NATALUCCI (2002) et LE BARS et GRIPON (1993), le diagramme électrophorétique (figure 14), montre pour le lait bovin un agencement identique à celui décrit par ces auteurs (β -CN, α S2-CN, α S1-CN). Les caséines β et α S1, apparaissent bien focalisées, alors que la caséine α S2 migre en une bande diffuse.

Comparativement au profil électrophorétique des caséines bovines, une pré-identification des bandes de migration des caséines caprines est possible. Ainsi, la première bande de migration des profils électrophorétiques (bovin et caprin), présente un

même niveau de migration et est diffuse. Celle-ci selon TRUJILLO *et al* (1997) et EGITO *et al* (2006) représente les caséines γ et κ respectivement dans le lait caprin et bovin.

Le deuxième niveau de migration du lait bovin, la caséine β , bien focalisée, trouve une correspondance dans les pistes de migration des caséines caprines, celle-ci pouvant être de même nature.

Les caséines α S, quant à elles, présentent un agencement identique (α S2 puis α S1) dans les deux profils. Mais, EGITO *et al* (2006), TOMOTAKE *et al* (2006), ADNAN *et al* (1999) et SPNERGIN *et al* (1997), décrivent une migration retardée du groupe α S caprin.

En plus de mettre en évidence la différence de migration du groupe α S caprin, l'électrophorgramme (figure 14), montre, l'absence de caséines α S1 dans l'échantillon 3 ainsi qu'une bande de migration de la caséine α S2 diffuse.

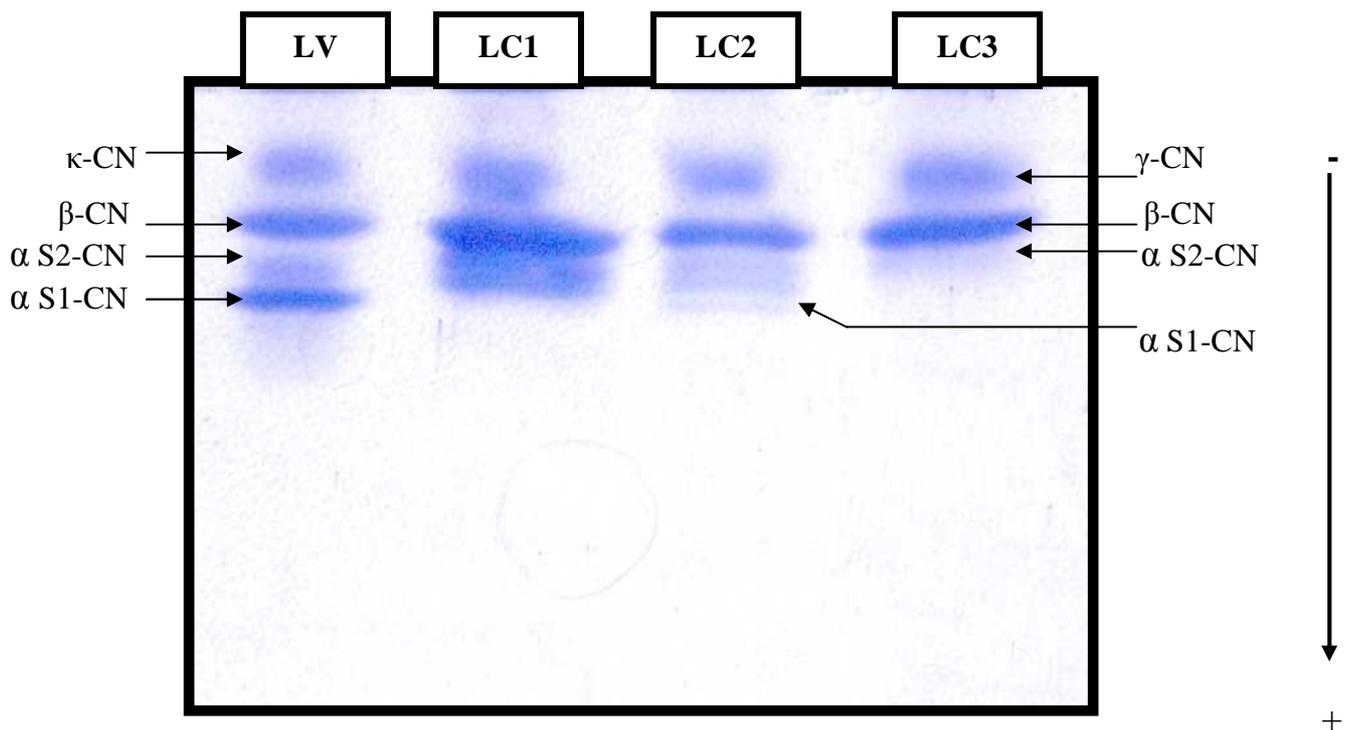


Figure 14 : Electrophorogramme des caséines en PAGE-urée (5,7 M) ; gel de séparation

(T =13 % ; C =2,7 %) et gel de concentration (T = 4 % ; C = 2,7 %) ;

LV : lait de vache ; LC1, LC2 et LC3 : lait de chèvre ; CN : Caséines.

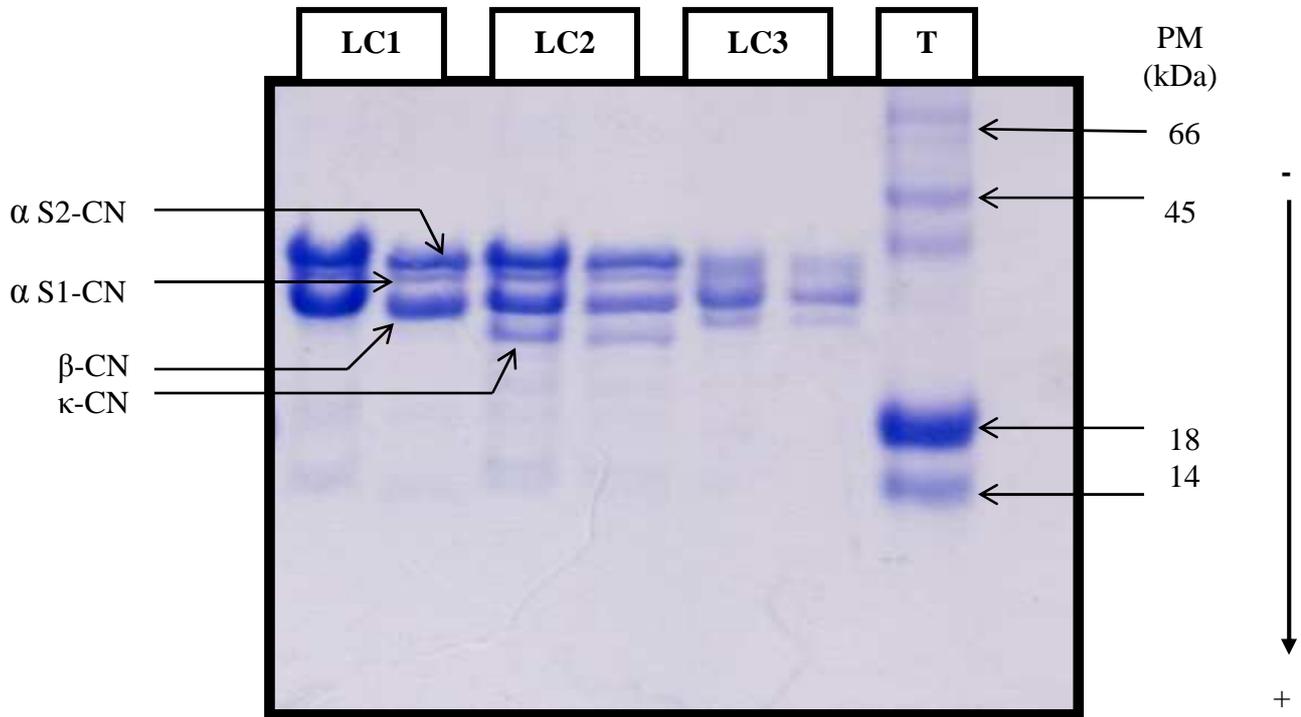


Figure 15 : Electrophorogramme des caséines en PAGE-SDS;
gel de séparation (T =15 % ; C =2,7 %) et gel de concentration
(T = 4 % ; C = 2,7 %) ; T: protéines étalons; LC1, LC2 et LC3 : lait de chèvre.

Comme pour les protéines sériques, la fraction caséinique du lait caprin est elle aussi analysée en PAGE-SDS et cela pour déterminer les PM de chaque espèce protéique.

PARK (2001), VAN HEKKEN *et al* (2004) et TOMOTAKE *et al* (2006), décrivent comme suit l'ordre croissant d'apparition des caséines caprines en PAGE-SDS : La caséine α S2, la caséine α S 1, la bêta caséine et la caséine kappa.

Un tel comportement électrophorétique est mis en évidence en figure 15.

Nous pouvons, grâce aux travaux des auteurs cités, faire correspondre les 4 bandes de migration, respectivement à la caséine alpha S2, la caséine alpha S 1, la caséine bêta et en fin la caséine kappa avec des masses moléculaires respectives de (33674, 32270 et 28398 Da, (27214 pour le LC3 et 25147 Da pour le LC2)). De tels poids moléculaires, dans le même

ordre de grandeur ont aussi été déterminés dans les divers travaux réalisés dans notre laboratoire sur le lait bovin et camelin. Néanmoins, ceux que nous avons obtenus pour le lait caprin ne correspondent pas aux poids moléculaires réels des caséines caprines, et sont loin des valeurs rapportées par PIERRE *et al* (2001), qui donnent des valeurs, allant selon les types génétiques étudiés de (19295 à 19494 Da) pour la caséine κ , de (25294 à 25602 Da) pour la caséine $\alpha S2$, de (23160 à 23447 Da) pour la caséine $\alpha S1$ et de (23669 à 23853 Da) pour la caséine β .

Cette différence, entre les valeurs réelles et expérimentales obtenues, peut être expliquée par deux phénomènes. L'un étant la forte association des caséines ce qui leur confère ainsi un poids moléculaire plus élevé que leur poids moléculaire réel ceci se traduit par une faible migration en PAGE-SDS. L'autre, est la faible fixation du SDS aux caséines, cette caractéristique est aussi remarquée pour les caséines d'autres espèces (BOUMAHROU *et al*, 2009).

Ce dernier point marque les limites de l'application de la PAGE-SDS à la détermination du poids moléculaires des caséines. Pour se faire nous suggérons le recours à d'autres méthodes telles que l'ultracentrifugation ainsi que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse.

3-3- Isolement des caséines par chromatographie échangeuse d'ions

La chromatographie échangeuse d'anions sur DEAE-cellulose (résine anionique) appliquée à la séparation des caséines du lait caprin a nécessité de tester plusieurs paramètres dont la quantité de protéines utilisées et la force ionique du tampon utilisé.

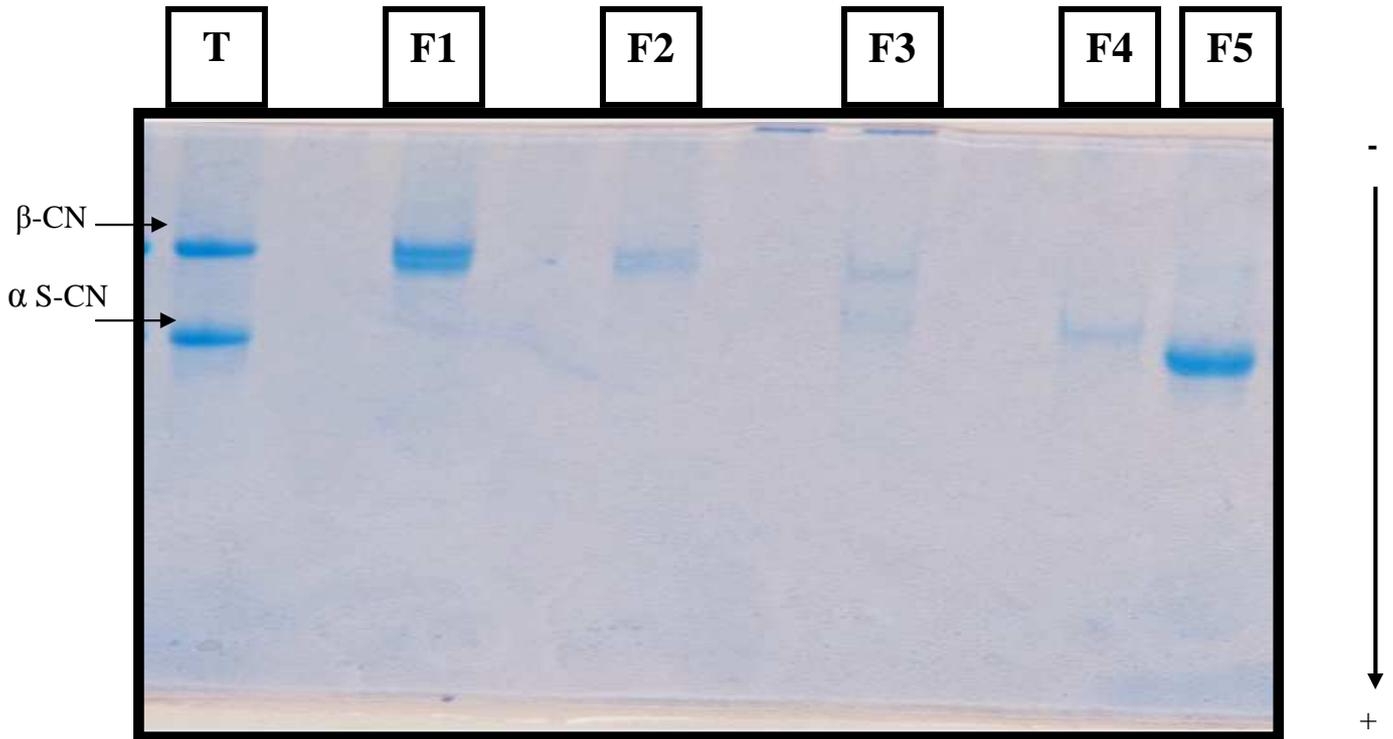


Figure 16 : Electrophorégramme en PAGE-urée des fractions collectées après séparation des caséines caprines par chromatographie sur DEAE-cellulose ;

T : témoin (caséines entières) F1 fraction éluée à 0,06 M de NaCl
F2 fraction éluée à 0,09 M de NaCl F3 fraction éluée à 0,12 M de NaCl
F4 fraction éluée à 0,15 M de NaCl et F5 fraction éluée à 0,18 M de NaCl.

Le profil électrophorétique en PAGE-urée (figure 16) des fractions éluées en chromatographie échangeuse d'ions, relève 5 fractions (notées de F1 à F5).

Dans la fraction F1, nous relevons l'éluée de la caséine β , bande bien focalisée et avec un haut degré de pureté. Comparativement au témoin, où la caséine β , migre en une bande, dans la fraction F1, celle-ci apparaît composée de deux bandes, ce qui peut être dû à la présence dans l'échantillon des deux variants de cette protéine (décrites en littérature).

La caséine β , se retrouve aussi éluée dans la fraction F2, mais a une proportion relativement faible par rapport à la fraction F1.

Dans la fraction F3, nous relevons la co-éluée d'un des variants de la caséine β et de la caséine αS_2 .

Cette dernière, est aussi éluée dans la fraction F4 à haut degré de pureté, mais tout comme dans la fraction précédente elle reste à faible concentration.

Quant à la caséine α S1, celle-ci se retrouve éluée dans la dernière fraction (F5) à haut degré de pureté et avec un rendement important.

Les résultats ainsi obtenus en plus de la dissociation des deux grands groupes protéiques à savoir les caséines β et α s avec un grand degré de pureté, montrent que la séparation chromatographique des caséines du lait de chèvre sur une résine anionique faible telle la DEAE est tout à fait adapté comme la préconisé MERCIER *et al* (1968) pour les caséines bovines.

3-4- Isolement des protéines sériques par chromatographie échangeuse d'ions

L'isolement des protéines sériques du lait caprin par chromatographie échangeuse d'anions sur DEAE-cellulose a été mené en tampon (0,01 M tris-HCl, pH de 6,8), suivant le protocole de MAUBOIS (1964).

SYED et CONAN (2010) démontrent qu'à ce pH les protéines sériques ont une meilleure interaction avec l'échangeur anionique en l'occurrence celle utilisée dans notre étude, la DEAE-cellulose.

L'élution est effectué par gradient discontinu de NaCl (0,08, 0,11, 0,13 et 0,19 M).

Le profil chromatographique obtenu (figure 17) peut être repartit en 4 fractions (notées de F1 à F4) correspondant aux pics d'absorption enregistrés.

Le contrôle électrophorétique, en PAGE-native (figure 18) réalisé sur ces fractions montre que l' α -lactalbumine, est éluée dans la fraction F1 (0,08 M). Néanmoins celle-ci reste contaminée par des traces du PP3.

La sérum albumine caprine, est éluée dans la fraction F2 (0,11 M) à un haut degré de pureté.

Dans la fraction F3 (0,13 M) nous observons l'élution du composant 3 des protéoses-peptones à un haut degré de pureté.

En fin d'élution, dans la fraction F4 (0,19 M), la β - lactoglobuline se retrouve élué avec peu de contaminants.

Les résultats obtenus, comparativement aux données bibliographiques dont la majorité se rapportent au lait bovin, sont comparables. Ainsi l'ordre d'élution des protéines sériques du

lait caprin à été déterminé comme suit : L' α -lactalbumine, la sérum albumine et enfin la β -lactoglobuline. Cet ordre est, comme précisé par SYED et CONAN (2010), tributaire de la force de fixation de la protéine à l'échangeur. Ainsi, ces derniers montrent que l' α -lactalbumine est la protéine la moins fortement fixée par l'échangeur alors qu'à l'opposé la β -lactoglobuline présente la plus forte liaison à celui-ci.

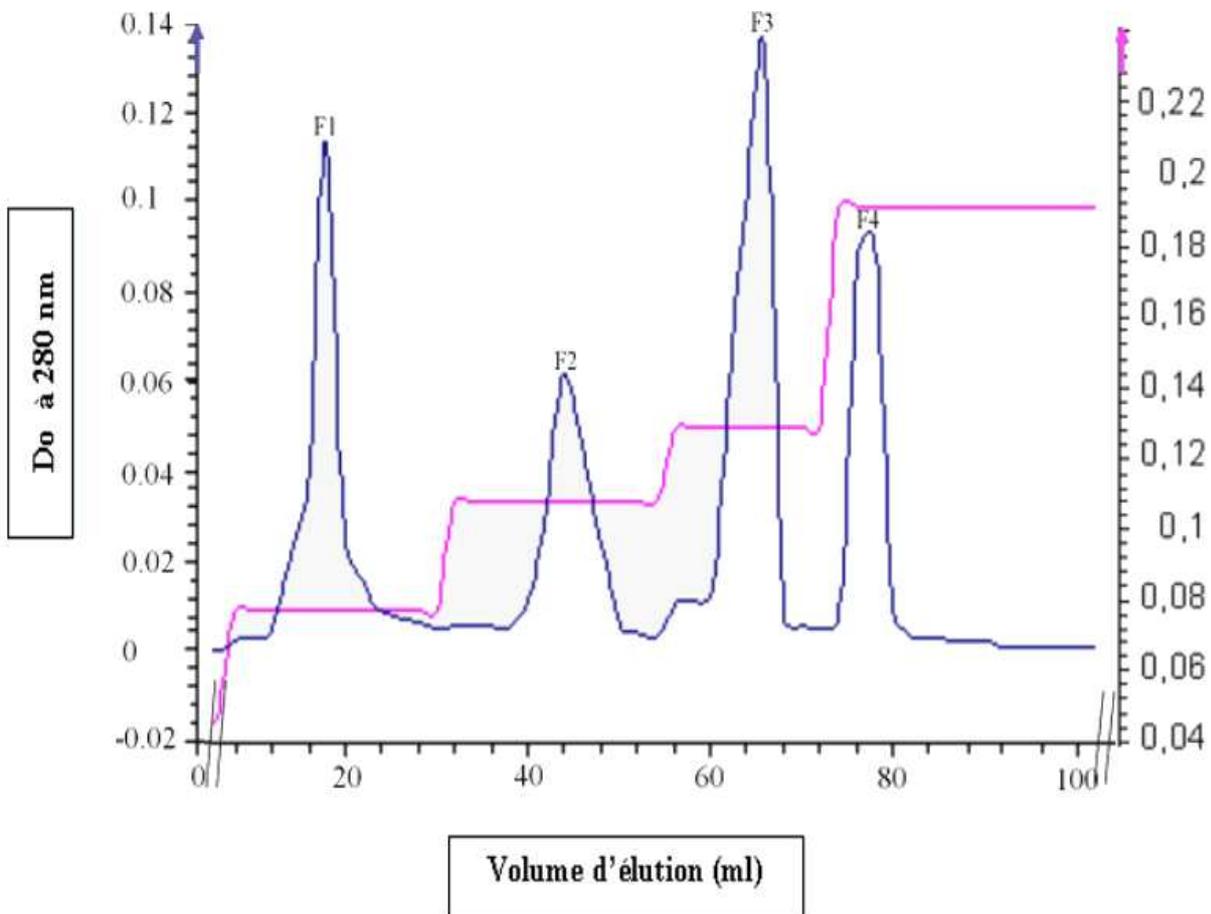


Figure 17 : Chromatogramme des protéines sériques du lait de chèvre isolées sur

DEAE-cellulose en tampon 0,01 M Tris-HCl, pH 6,8 ; débit 30 ml/h.

F1 fraction éluee à 0,08 M de NaCl F2 fraction éluee à 0,11 M de NaCl

F3 fraction éluee à 0,13 M de NaCl et F4 fraction éluee à 0,19 M de NaCl.

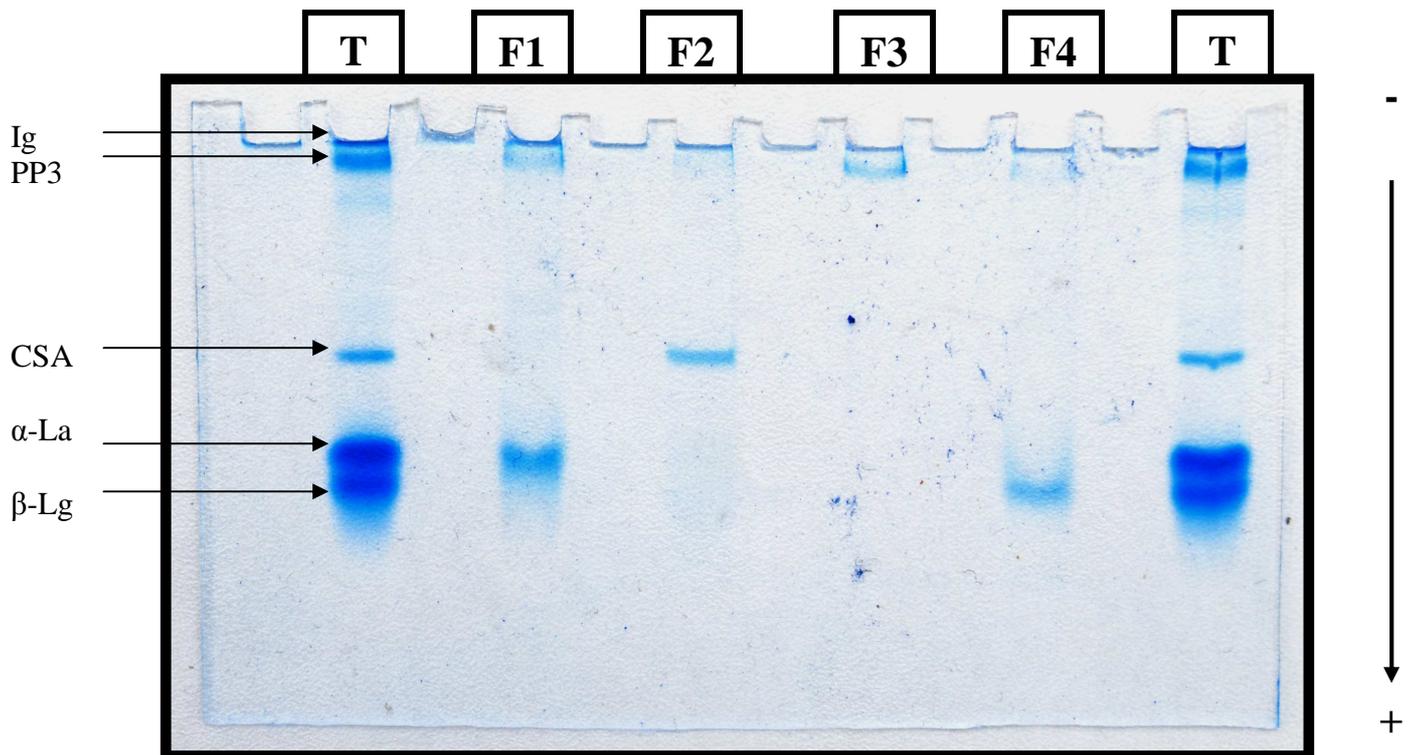


Figure 18 : Electrophorégramme en PAGE-native des fractions collectées après séparation des Protéines sériques caprines par chromatographie sur DEAE-cellulose ;

T : témoin (protéines sériques entières) F1 fraction éluée à 0,08 M de NaCl
F2 fraction éluée à 0,11 M de NaCl F3 fraction éluée à 0,13 M de NaCl et
F4 fraction éluée à 0,19 M de NaCl.

Conclusion

Conclusion

Cette étude, entreprise dans le but de contribuer à une meilleure connaissance du lait caprin collecté dans la région de Tizi-Ouzou, s'articule en deux volets, l'un axé sur un phénotypage de la fraction protéique qu'elle soit sérique ou caséinique et l'autre sur les caractéristiques physico-chimiques du lait de chèvre, visant ainsi une meilleure exploitation de celui-ci en industrie fromagère.

Pour ce qui est des analyses physico-chimiques, celles-ci marquent une différence notable entre le lait de chèvre et le lait de vache. Ce dernier étant pris comme lait de référence.

Ainsi nous relevons des taux d'extraits secs relativement plus faibles (en moyenne 109,3 contre 119 g/l pour le bovin). Cette tendance est ainsi vérifiée pour la matière grasse (30,7 contre 35,7g/l) et le lactose (39,1 contre 45,7 g/l). Ces variations sont indépendantes de l'origine de collecte du lait.

Concernant la fraction protéique, celle-ci dont l'importance en technologie a été prouvée se situe à un taux de 26g/l en deçà de la teneur obtenue pour l'échantillon de lait bovin (28g/l) qui lui-même est assez déficitaire, car se situant en dessous des normes requises (32g/l).

Dans ce décompte, et même si le taux de caséines enregistré est appréciable (20g/l), cela ne peut à lui seul présager d'une transformation fromagère intéressante étant donné que précisément dans ce volet c'est la présence et la nature de la caséine α S1 qui est déterminante dans cette technologie.

C'est dans ce sens que nous nous sommes proposé de d'évaluer qualitativement ce lait en procédant à l'isolement et à la caractérisation de ses protéines majeures.

Pour cela, nous avons mis en œuvre et adopté des techniques d'isolement chromatographique en échange d'ions sur DEAE-cellulose suivi de séparations électrophorétiques sur gel de polyacrylamide dans plusieurs conditions (native, en présence d'urée, en présence de SDS).

C'est ainsi que l'application de la DEAE comme support de séparation pour les protéines caprines a donné de bons résultats en ce sens où nous avons pu obtenir les caséines α S et β avec un haut degré de pureté. Les protéines sériques, notamment le PP3, l'albumine sérique et la bêta- lactoglobuline ont été aussi obtenus avec peu de contaminants en ayant recours à cette technique.

Concernant le comportement électrophorétique, en PAGE-native, nous avons relevé une migration différente du PP3, α -lactalbumine et β -lactoglobuline caprine par rapport à leurs homologues bovins.

La PAGE-urée a mis en relief la particularité de la migration des caséines caprines où notamment l'absence de α S1-CN dans le cas de l'échantillon N° 3 suggère une faible utilisation de ce lait à des fins de technologie fromagère.

Ces résultats préliminaires obtenus appellent la mise en œuvre d'investigations plus spécifiques pour l'identification et le phénotypage protéique ainsi que l'élaboration d'une cartographie exhaustive entre la nature du lait produit et ses aptitudes technologiques.

Références

Bibliographiques

- ADNAN TAMIME Y., MARGARET N.I. BARCLAY., ANDREW J.R. LAW., JEFFREY LEAVER., EMMANUREL M. ANIFANTAKIS. and THOMAS P. O'CONNOR. (1999).** Kishk- a dried fermented milk/ cereals mixture. 2. Assessment of a variety of protein analytical techniques for determination and proteolysis. *Lait*, 79, 331-339.
- AGNIHOTRI M. K. and RAJKUMAR V. (2007).** Effect of breed and stage of lactation on milk composition of western region goats of India. *International Journal of Dairy Science*, 2 (2), 172-177.
- ALMAAS HILDE., HALVOR HOLM., THOR LONGSRUD., RAGNAR FLENGSRUD. and GERD VEGARUD E. (2006).** In vitro studies of the digestion of caprine whey proteins by human gastric and duodenal juice and the effects on selected microorganisms. *British Journal of Nutrition*, 96, 562-569.
- ALONSO L., FONTECHA J., LOZADA L., FRAGA M J. and JUAREZ M. (1999).** Fatty acid composition of caprine milk: Major, branched-chain, and trans fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 82, 878-884.
- AMIGO L., RAMOS M., CALHAU L. and BARBOSA M. (1992).** Comparison of electrophoresis, isoelectric focusing, and immunodiffusion in determinations of cow's and goat's milk in serra de estrela cheeses. *Lait*, 72, 95-101.
- AOAC. Official Method 967.21. (2006).** Ascorbic Acide in vitamines preparations and juices. 2,6-Dichloroindophenol Titrimetric Method. *AOAC International*. 7,50-81.
- ASSENAT L. (1967).** Contribution à l'étude d'une méthode d'identification des laits et fromages au moyen de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Première partie. *Lait*, 468, 393-414.
- BADIS A., LAOUABDIA-SELLAMI N., GUETARNI D., KIHAL M., et OUZROUT R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "ARABIA ET KABYLE". *Sciences et technologie*, 23, 30-37.
- BALLOU L U., PASQUINI M., BREMEL R D., EVERSON T. and SOMMER D. (1995).** Factors affecting herd milk composition and milk plasmin at four levels of somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 78, 2186-2195.
- BARBIERI ME., MANFREDI E., ELSEN JM., RICORDEAU G., BOUILLON J., GROSCLAUDE F., MAHE MF. and BIBE B. (1995).** Influence du locus de la caséine α S1

sur les performances laitières et les paramètres génétiques des chèvres de race Alpine. *Genetic Science and Evolution*, 27, 437-450.

BARRIONUEVO M., ALFEREZ M J M., LOPEZ ALIAGA I., SANZ SAMPELAYO M R. and CAMPOS M S. (2001). Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. *Journal of Dairy Science*, 85, 657-664.

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

BERTRAND G. (1906). Le dosage des sucres réducteurs, *Bulletin de la Société de Chimie*, 35, 1285.

BLOOMFIELD V A. and MEAD JR R J. (1974). Structure and stability of casein micelles. *Journal of Dairy Science*, 58 (4), 592-601.

BOCQUIER F., ROUEL J., DOMALAIN A. and CHILLIARD Y. (1998). Effect of concentrate / dehydrated alfalfa ratio on milk yield and composition in alpine dairy goats fed hay based diets. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 52, 99-101.

BOULANGER A., GROSCLAUDE F. et MAHE M-F. (1984). Polymorphisme des caséines α S1 et α S2 de la chèvre (*Capra hircus*). *Génétique Sélection et Evolution*, 16 (2), 157-176.

BOUMAHROU N., ANDREI S., MIRANDA G., HENRY C., PANTHEIR JJ., MARTIN P. and BELLIER S. (2009). The major protein fraction of mouse milk revisited using proven proteomic tools. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 60 (3), 113-118.

CABO C., CAILLAT H., BOUVIER F. and MARTIN P. (2010). Major proteins of the goat milk fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*, 93, 868-876.

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

CALVO M M. (2000). Effects of preservation treatments and ultrafiltration on chemical and technological properties of goat dairy products. 7th International Conference on Goats, 15-21 May, Tours, France.

CAROLI A., CHIATTI F., CHESSA S., RIGNANESE D., BOLLA P. and PAGNACCO G. (2006). Focusing on the goat casein complex. *Journal of Dairy Science*, 89, 3178-3187.

- CASSINELLOC J. et PEREIRA S. (2001).** La qualité du lait et du fromage dans cinq exploitations caprines de la serra do caldeirao. *CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A, séminaires méditerranéens*, 46, 157-161.
- CEBO C., CAILLAT H., BOUVIER F., MARTIN P. et RUPP R. (2009).** Composition de la fraction protéique de la membrane du globule gras et résistance aux mammites chez les caprins. *Rencontres Recherches Ruminants*, 16, 302.
- CERBULIS J., PARKS O. W. and FARRELL, JR. H. M. (1982).** Composition and distribution of lipids of goat's milk. *Journal of Dairy Science*, 65, 2301-2307.
- CHANOKPHAT PHADUNGATH. (2005).** Casein micelle structure: a concise review. *Journal of Science and Technology*, 1 (27), 201-212.
- CHAU DANG VAN., DESWYSEN D., FOCANT M. et LARONDELLE Y. (2008).** Le lait, un terme générique qui recouvre une grande diversité d'aliments avec des propriétés nutritives variées. *Carrefour Productions Animales*. 30-33.
- CHEFTEL J.C. et LORIENT D. (1982).** Aspects technologiques : Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Lait*, 62, 435-483.
- CHIANESE L., GARRO G., NICOLAI MA., MAURIELLO R., FERRANTI P., PIZZANO R., CAPPuccio U., LAEZZA P., ADDEO F., RAMUNNO L., RANDO A. and RUBINO R. (1993).** The nature of β -casein heterogeneity in caprine milk. *Lait*, 73, 533-547.
- CHIATTI F., CHESSA S., BOLLA P., CIGALINO G., CAROLI A. and PAGNACCO G. (2006).** Effect of κ -casein polymorphism on milk composition in the Orobica goat. *Journal of Dairy Science*, 90, 1962-1966.
- CHICHE J. (1999).** Les effets des programmes d'encouragement à l'élevage sur la production des ovins et des caprins au Maroc. *Bulletin de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II*.
- CHILLIARD. Y. (1997).** Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les lait de vache et humain. Intérêt nutritionnel du lait de chèvre. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 59, 1, 51.
- CHILLIARD Y. et LAMBERET G. (1984).** La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique. *Lait*, 64, 544-578.

- COLIN O., LAURENT F. et VIGNON B. (1992).** Variations du rendement fromager en pâte molle. Relations avec la composition du lait et les paramètres de la coagulation. *Lait*, 72, 307-319.
- COLLIN JC., KOKELAAR A., ROLLET-REPECAUD O. et DELACOIX-BUCHET A. (1991).** Dosage des caséines du lait de vache par électrophorèse et par chromatographie liquide rapide d'échange d'ions (FPLC) : Comparaison des résultats. *Lait*, 71, 339-350.
- COULON J.B., DELACROIX-BUCHET A., MARTIN B. et PIRISI A. (2005).** Facteurs de production et qualité sensorielle des fromages. *INRA Productions Animales*, 18 (1), 49-62.
- CREAMER L K., PLOWMAN J E., LIDDELL M J., SMITH M H. and HILL P. (1998).** Micelle stability : κ -casein structure and function. *Journal of Dairy Science*, 81, 3004-3012.
- CURTIS W RICHARDSON. (1983).** Let's compare dairy goats and cows. *Bulletin of Oklahoma State University*, 424, 1-4.
- DAHLBORN K., NIELSEN M O. and HOSSAINI-HILALI J. (1997).** Mechanisms causing decreased milk production in water deprived goats. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 74, 199-202.
- DANTHINE S., BLECKER C., PAQUOT M., INNOCENTE N. et DEROANNE C. (2000).** Evolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait : Synthèse bibliographique, *Lait*, 80, 209-222.
- DECANDIA M., CABIDDU A., MOLLE G., BRANCA A., EPIFANI G., PINTUS S., TRAVERA F., PIREDDA G., PINNA G. and ADDIS M. (2007).** Effect of different feeding systems on fatty acid composition and volatile compound content in goat milk. *CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A*, 74, 129-134.
- DEHARENG F., FERNANDEZ PIERNA J A et JADOUL T. (2004).** Facteurs de variation du taux de lipolyse du lait. *Rencontres Recherches Ruminants*. 11, 109.
- DELACOIX-BUCHET A., DEGAS C., LAMBERET G. et VASSAL L. (1996).** Influence des variants AA et FF de la caséine α S1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. *Lait*, 76, 217-241.
- DE LA TORRE G., SERRADILLA J M., GIL EXTREMERA F. and SANZ SAMPELAYO M R. (2008).** Nutritional utilization in malaguena dairy goats differing in genotypes for the content of α S1-casein in milk. *Journal of Dairy Science*, 91, 2443-2448.

- DESJEUX JF. (1993).** Valeur nutritionnelle du lait de chèvre. *Lait*, 73, 573-580.
- DE WIT J N. (1998).** Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*, 81, 597-608.
- DIAZ-CARRILLO E., MUNOZ-SERRANO A., ALONSO-MORAGA A. and SERRADILLA-MANRIQUE M. (1993).** Near infrared calibration for goat's milk components : protein, total casein, α S-, β - and κ - caseins, fat and lactose. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1, 141-146.
- DOYON A. (2005).** Influence de l'alimentation sur la composition du lait de chèvre : revue des travaux récents ; Colloque sur la chèvre, *CRAAQ*, 7 octobre, Québec, Canada.
- DRACKOVA M., HADRA L., JANSTOVA B., NAVRATILOVA P., PRIDALOVA H. and VORLOVA L. (2008).** Analysis of goat milk by near-infrared spectroscopy. *Acta Veterinaria*, 77, 415-422.
- DROKE E. A., PAAPE M. J. and DI CARLO A. L. (1992).** Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. *Journal of Dairy Science*, 76, 1035-1039.
- DUMOULIN E. et PERETZ G. (1993).** Qualité bactériologique du lait cru de chèvre en France. *Lait*. 73, 475-483.
- DUTEURTRE G., OUDANANG M K, et N'GABA S H. (2005).** Les bars laitier de n'djamena (Tchad) des petites entreprises qui valorisent le lait de brousse. *Acte de colloques*, Ressources vivrières et choix alimentaires dans le bassin du lac Tchad: 20-22 novembre, Paris X-Nanterre.
- EIGEL W N., BUTLER J E., ERNSTROM C A., FARRELL JR., HARWALKAR V R., JENNESS R. and WHITNEY R M. (1984).** Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *Journal of Dairy Science*, 67, 1599-1631.
- EIGEL W N. and RANDOLPH H E. (1975).** Comparison of calcium sensitivities of α S1-B, β -A², and γ -A² caseins and their stabilization by κ -casein A1. *Journal of Dairy Science*, 59 (2), 203-206.
- EGITO A S., JEAN-MICHEL GIRARDET., LAURENT MICLO. and JEAN-LUC GAILLARD. (2001).** Highly sensitive periodic acid/Schiff detection of bovine milk glycoproteins electrotransferred after nondenaturing electrophoresis, urea electrophoresis, and isoelectric focusing. *Lait*, 81, 775-785.

- EGITO AS., ROSINHA G M S., LAGUNA L E., MICOL L., GIRADET J M. and GAILLARD J L. (2006).** Metodo electroforetico rapido para detecção da adulteração do leite caprino com leite bovino. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 58 (5), 932-939.
- ERIKSEN ELLEN K., HALVOR HOLM., EINAR JENSEN., RAGNHILD AABOE., TOVE G. DEVOLD., MORTEN JACOBSEN. and GERD E. VEGARUD. (2010).** Different digestion of caprine whey proteins by human and porcine gastrointestinal enzymes. *British Journal of Nutrition*, 22, 1-8.
- FARRELL H. M. JR. (1973).** Models for casein micelle formation. *Journal of Dairy Science*, 56 (9), 1195-1206.
- FELIACHI K. (2003).** Rapport national sur les ressources génétiques animales: Algérie. *Commission Nationale, Point focal Algérien pour les ressources génétiques*, Octobre, 1-46.
- FOUCAUD-SCHEUNEMANN. (2005).** La fabrication du fromage, les connaissances. *INRA, Mission communication*.
- FOX PATRICK F. (2003).** Advanced dairy chemistry. *Applied Science*. 1(1), 141-190.
- GADDOUR A., NAJARI S. and OUNI M. (2007).** Dairy performance of the goat genetic groups in the southern Tunisian. *Agricultural Journal*, 2 (2), 248-253.
- GAUCHERON F. (2005).** The minerals of milk. *Reproduction Nutrition and Development*, 45, 473-483.
- GHOZLANE F., YAKHLEF H. et ZIKI B. (2006).** Performances zootechniques et caractérisation des élevages bovins laitiers dans la région de annaba (Algerie). *Rencontres Recherches Ruminants*, 13, 386.
- GNANDA I.B., ZOUNDI J.S., NIANOGO A.J., LE MASSON A. et MEYER C. (2006).** Performances laitières et pondérales de la chèvre du Sahel Burkinabé en régime de complémentation basé sur l'utilisation des ressources alimentaires locales. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire*, 58 (3), 175-182.
- GOODALL S., GRANDISON A S., JAUREGI P J. and PRICE J. (2007).** Selective separation of the major whey proteins using ion exchange membranes. *Journal of Dairy Science*, 91, 1-10.

- GROSCLAUDE F., MARIE-FRANCOISE MAHE., GHISLAINE BRIGNON., LILIANA DI STASIO. and JEUNET R. (1987).** A mendelian polymorphism underlying quantitative variations of goat α S1-casein. *Genetics, Sélection and Evolution*, 19(4), 399-412.
- GROSCLAUDE F., RICORDEAU G., MARTIN P., REMEUF F., VASSAL L. et BOUILLON J. (1994).** Du gène au fromage : Le polymorphisme de la caséine α S1 caprine, ses effets, son évolution. *INRA Productions Animales*, 7(1), 3-19.
- GUILHERME NURES DE SOUZA., JOSE RENAL DI FEITOSA BRITO MARIA APARECIDA., VASCONCELOS PAIVA BRITO CARLA LANGE., CRISTIANO GOMES DE FARIRA LUCIANO CASTRO DUTRA DE MORAES. and RAFAEL GUEDES FONSECA YURI DE ALMEIDA SILVA. (2009).** Composition and bulk tank somatic cell counts of milk from dairy goat herds in southeastern Brazil. *Brazilian Journal Research Animal Science*, 46, 19-23.
- HAERTLE T. (2000).** Incidences des traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles des PL. Les protéines laitières : Intérêts Technologiques et Nutritionnels, 4^{ème} Conférence Européenne d'ARILAIT. 7 novembre, Paris, France.
- HEINLEIN G. F. W. and CACCESE R. (2006).** Goat milk versus cow milk. *Dairy Goat Journal*, 3, 1-5.
- HILLIER R. M. (1976).** The quantitative measurement of whey proteins using polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 43, 259-265.
- HOLMES A D., LINDQUIST G. and GREENWOOD E K. (1945).** Variation in fat, ascorbic acid and riboflavin content of goat's milk. *Massachusetts Agricultural Experiment Station*, 568, 853-858.
- HOUDEBINE L M. (1995).** Un nouveau rôle pour l' α -lactalbumine. *Cahiers Agricultures*, 4, 388-391.
- HOSSAINI-HILALI J., BENLAMLIH S. and DAHIBORN K. (1993).** Fluid balance and milk secretion in the fed and feed-deprived black Moroccan goat. *Small Ruminant Research*, 12 (3), 271-285.
- HURLEY W L., GRIEVE R C J., MAGURA C E., HEGARTY H M. and ZOU S. (1993).** Electrophoretic comparisons of lactoferrine from bovine mammary secretions, milk neutrophils, and human milk. *Journal of Dairy Science*, 76, 377-387.

- IMRAN M., KHAN H., HASSAN S. and KHAN R. (2008).** Physicochemical characteristics of various milk samples available in Pakistan. *Journal of Jhejang University Science B*, 9 (7), 546-551.
- JAUBERT A. (1997).** Les vitamines et les nucléotides du lait de chèvre. Intérêt nutritionnel et diététique du lait de chèvre. *INRA, Colloques*, 7 novembre, Paris, France.
- JAUBERT G. (1997).** Biochemical characteristics and quality of goat milk. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 25, 71-74.
- JAUBERT G., BODIN J.P. and JAUBERT A. (1997).** Flavour of goat farm bulk milk. *CIHEAM, Options Méditerranéenne*, 6. International Conférence on Goats, 98-93.
- JENNESS R. (1980).** Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, 63, 1605-1630.
- JOVANOVIC SNEZANA., MIROLJUB BARAC., OGNJEN MACEJ., TANJA VUCIC. and CASLAV LACNJEVAC. (2007).** SDS-PAGE analysis of soluble proteins in reconstituted milk exposed to different heat treatments. *Sensors*, 7, 371-383.
- JOOYANDEH H. et ABROUMAND A. (2010).** Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and dairy product aspects of goat and sheep milks. *World Applied Science Journal*. 11 (11), 1316-1322.
- JYOTI MISRI., GUPTA P.P. and AHUJA S.P. (1988).** Biochemical changes in milk in experimental mycoplasmal mastitis in goats. *Acta Veterinaria*, 57, 19-30.
- KENNEDY B.W., FINLEY C.M., POLLAK E.J. and BRADFORD G.E. (1981).** Joint effects of parity, age, and season of kidding on milk and fat yields in goats. *Journal of Dairy Science* 64, 1707-1712.
- KERN A. (1954).** Utilisation du lait de brebis en Israël. *Lait*, 34, 408-422.
- KIDDY A. C., ROLLINS R. E. and ZIKAKIS J. P. (1972).** Discontinus polyacrylamide electrophoresis for β -lactoglobulin typing of cow's milk. *Journal of Dairy Science*, 55 (10), 1506-1507.
- KIM JUNG II., DU YOUNG CHOI. and KYUNG HO ROW. (2003).** Separation of whey proteins by anion-exchange membranes. *Korean Journal of Chemical engineering*. 20 (3), 538-541.
- KINGSBURY EDWARD T. and GAUNT. STANLEY N. (1967).** Heterogeneity in whey proteins of mare milk. *Journal of Dairy Science*, 60 (2), 274-277.

- KOLAR C W. and BRUNNER J R. (1970).** Proteose-peptone fraction of bovine milk: lacteal serum components 5 and 8 casein-associated glycoproteins. *Journal of Dairy Science*, 53 (8), 997-1008.
- KON SK. (1959).** Influence du traitement thermique et de la lumière sur la composition et la qualité du lait. *Lait*, 39, 381-401.
- KOUNIBA A. (2007).** Caractérisation physico-chimique du lait de chèvre comparée à celles du lait de vache et de dromadaire et étude de son aptitude fromagère. *Bulletin de l'Institut Agronomique et Vétérinaire HASSAN II*.
- KOUNIBA A., BERRADA M. et EL MARAKCHI A. (2007).** Etude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race locale Marocaine et la race alpine et évaluation de leur aptitude fromagère. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 158 (3), 152-160.
- KUMAR AJAY., PRAMOD ROUT. and RAMADHAR ROY. (2006).** Polymorphism of β -lacto globulin gene in Indian goats and its effect on milk yield. *Journal of Applied Genetic*, 47(1), 1-5.
- KUZDZAL-SAVOIE S., AUCLAIR J E., MOURGUES R. et LANGLOIS D. (1975).** La lipolyse dans le lait refroidi. *Lait*, 548, 530-543.
- KWAI-HANG. K.F. NG. and KROEKER E. M. (1984).** Rapid separation of major caseins and whey proteins of bovine milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 67, 3052-3056.
- LABIOUI HICHAM., ELMOUALDI LAAROUI., BENZAKOUR ABDERRAHIM., EL YACHIOUI MOHAMED., BERNY EL HASSAN. et OUHSSINE MOHAMMED. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 148, 7-16.
- LAEMMLI U. K. and FAVRE H. (1973).** Maturation of the head of bacteriophage T4. I. DNA packaging events. *Journal of Molecular Biology*, 80,575-599.
- LAURET A. (2002).** Lipolyse du lait de chèvre. *Compte Rendu des Activités de l'ITPLC*, Paris, France.
- LAURET A. (2007).** Variabilité des profils d'acides gras du lait. *Compte Rendu des Activités de l'ITPLC*, Paris, France.
- LE BARS D. and GRIPON JC. (1993).** Hydrolysis of α S1-casein by bovine plasmin. *Lait*, 73, 337-344.

- LEFRILEUX Y., RAYNAUD S., MORGE S., BARRAL J., GAUZERE Y., DOUTART E. et LAITHIER C. (2009).** Influence de deux systèmes d'alimentation sur la production et la composition du lait de chèvre hautes productrices et incidences technologiques en fabrication fermière lactique. *Rencontres Recherches Ruminants*, 16, 139-142.
- LEITNER G., MERIN U. and SILANIKOVE N. (2004).** Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *Journal of Dairy Science*, 87, 1719-1726.
- LE JAOUEN J C., REMEUF F. et LENOIR J. (1990).** Données récentes sur le lait de chèvre et les fabrications de produits laitiers caprins. *XXIII International Dairy Congress*, Octobre, 8-12, Montréal, Québec.
- LEMELIN M. (2005).** Produire du lait de chèvre à l'année, ou comment désaisonner sa production. *Filière Ovine et Caprine*, 11, 1-5.
- LEONIL J., MARCHIN S., HENRY G., JOUANNEAU D. et PUTAUX J-C. (2007).** La caséine κ : Quel rôle dans la structuration de la micelle de caséines ? *Colloque*, 5-8 juin, Grenoble, France.
- LIESKE B., JANTZ A. and FINKE B. (2005).** An improved analytical approach for the determination of bovine albumin in milk. *Lait*, 85, 237-248.
- LISTER I M B., RASMUSSEN L K., JOHNSEN L B., MOLLER L., PETERSEN T E. and SORENSEN S. (1998).** The primary structure of caprine PP3: Amino acid sequence, phosphorylation, and glycosylation of component PP3 from the proteose-peptone fraction of caprine milk. *Journal of Dairy Science*, 81, 2111-2115.
- LONNERDAL BO. (1985).** Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42, 1299-1317.
- LOPEZ CHRISTELLE. and BRIARD-BION VALERIE. (2007).** The composition, supramolecular organisation and thermal properties of milk fat: a new challenge for the quality of food products. *Lait*, 87, 317-336.
- LOPEZ MB., LUNA A., LAENCINA J. and FALAGAN A. (1999).** Cheese-making capacity of goat's milk during lactation: influence of stage and number of lactations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1105-1111.
- LORIENT D. et CAYOT P. (2000).** Les propriétés technofonctionnelles des protéines du lait. Les protéines laitières : Intérêts technologiques et nutritionnels, 4^{ème} Conférence Européenne d'ARILAIT, 7 novembre, Paris, France.

- LOWRY OLIVIER., NIRA J. ROSEBROUGH., A. LEWIS FARR. and ROSE J RANDALL. (1951).** Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *The Journal of Biological chemistry*, 265-275.
- MAHE MF., MANFREDI E., RICORDEAU G., PIACERE A. et GROSCLAUDE F. (1993).** Effets du polymorphisme de la caséine α S1 caprine sur les performances laitières : Analyse intradescendance de boucs de race Alpine. *Genetic Science and Evolution*, 26, 151-157.
- MAHE S. (1997).** Valeur nutritionnelle du lait en alimentation humaine. Colloques *INRA*, 7 novembre, Paris, France.
- MAHIEU H., LE JAOUEN JC., LUQUET M F. et MOUILLET L. (1977).** Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. *Lait*, 568, 561-571.
- MAHMUT KESKIN., YAHYA KEMAL AVSAR. and OSMAN BICER. (2004).** A comparative study on the milk yield and milk composition of tow different goat genotypes under the climate of eastern Mediterranean. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 28, 531-536.
- MANFREDI E., BARBIREI ME., BOUILLON J., PIACERE A., MAHE MF., GROSCLAUDE F. et RICORDEAU G. (1993).** Effet des variants de la caséine α S1 sur les performances laitières de chèvres. *Lait*, 73, 567-572.
- MANFREDINI M. and MASSARI M. (1989).** Small ruminant milk. Technological aspects: Storage and processing. *CIHEAM, Options Méditerranéennes*, 6, 191-198.
- MANJI B., HILL A., KAKUDA Y. and IRVINE D.M. (1985).** Rapid separation of milk whey proteins by anion exchange chromatography. *Journal of Dairy Science*, 68, 3176-3179.
- MARLETTA D., CRISCIONE A., BORDONARO S., GUASTELLA A M. and D'URSO G. (2007).** Casein polymorphism in goat's milk. *Lait*, 87, 491-504.
- MARSHALL K. (2004).** Therapeutic applications of whey protein. *Alternative. Medicine Review*, 2, 136-156.
- MARTIN B. et COULON JB. (1995).** Facteurs de production du lait et caractéristiques des fromages. I. Influence des facteurs de production sur l'aptitude à la coagulation des laits de troupeaux. *Lait*, 75, 61-80.

- MARTIN P. (1993).** Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. *Lait*, 73, 511-532.
- MARTIN P. et LEROUX C. (2000).** Le gène caprin spécifiant la caséine $\alpha S1$: Un suspect tout désigné aux effets aussi multiples qu'inattendus. *INRA Productions Animales*, Hors Série, 125-132.
- MASLE I. et MORGAN F. (2001).** Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques - Facteurs de variation liés à la composition du lait. *Lait*, 81, 561-569.
- MATI A. (1992).** Les protéoses-peptones dans les laits bovin, ovin et caprin : Isolement, caractérisation, origine et évolution de la fraction à caractère hydrophobe contenant le composant-3. *Thèse de Doctorat de l'Université de NANCY I*, France.
- MATI A., GIRARDET JM., XENAKIS D. et LINDEN G. (1991).** Isolement et caractérisation de la fraction hydrophobe des protéose-peptones des laits bovin, ovin et caprin. *Lait*, 71, 259-273.
- MAUBOIS J L. (1964).** Chromatographie des protéines du lactosérum de brebis. *Annal of Biology, Animal Biochemistry and Biophysics*, 4 (3), 295-305.
- MAYNARD F., PIERRE A. et MAUBOIS J.L. (1989).** Préparation de lactoferrine et d' α -lactalbumine humaines par utilisation de techniques à membranes. *Lait*, 69, 59-69.
- MERCIER J.C., MAUBOIS J.L., POZNANSKI S. et RIBADEAU- DUMAS B. (1968).** Fractionnement préparatif des caséines de vache et de brebis par chromatographie sur D.E.A.E. cellulose en milieu urée et 2-mercaptoéthanol. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique*,3,50.
- MERCIER PASCALE. (2010).** Utilisation du colostrum chez les caprins. *L'Egide*, 58.
- MEZA-NIETO M A., VALLEJO-CORDOBA B., GONZALEZ-CORDOVA A F., FELIX L. and GOYCOOLEA M. (2006).** Effect of β -lactoglobulin A and B whey protein variants on the rennet-induced gelation of skim milk gels in model reconstituted skim milk system. *Journal of Dairy Science*, 90, 582-593.
- MOATSOU G., SAMOLADA MARIA., KATSABEKI ALEXANDRA. and ANIFANTAKIS EMMANUEL. (2004).** Casein fraction of ovine milk from indigenous greek breeds. *Lait*, 84, 285-296.

- MOATSOU G., VAMVAKAKI A., MOLLE D., ANIFANTAKIS E. and LEONIL J. (2006).** Protein composition and polymorphism in the milk of skopelos goats. *Lait*, 86, 345-357.
- MORA-GUTIERREZ A., HAROLD M., FARRELL JR. and KUMOSINSKI T. F. (1993).** Comparison of Calcium-Induced Associations of bovine and caprine caseins and the relationship of α S1-casein content to colloidal stabilization: A thermodynamic linkage analysis. *Journal of Dairy Science*, 76, 3690-3697.
- MORGAN F. (1999).** Cellules somatiques du lait de chèvre : conséquences sur la composition du lait et la technologie. *L'égide*, n° 17, décembre.
- MORGAN F., BODIN J-P. et GABORIT P. (2001).** Lien entre le niveau de lipolyse du lait de chèvre et la qualité sensorielle des fromages au lait cru ou pasteurisé. *Lait*, 81, 743-756.
- MORGE S., LEFRILEUX Y et BLANCHARD F. (2007).** Report du lait et du caillé de chèvre pour la fabrication de fromages à pâte lactique. *Rapport des travaux de la station caprine du PRADEL*, (PEP caprin Rhône-Alpes).
- MOULTI-MATI F., MATI A., CAPIAUMONT J., BELLEVILLE F., LINDEN G. et NABET P. (1991).** Rôle de la β -lactoglobuline dans l'activité proliférative du lactosérum. *Lait*, 71, 543-553.
- MUCIO M FURTADO. (1983).** Detection of cow milk in goat milk by polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 66, 1822-1824.
- NG W C., BRUNNER J R. and RHEE K C. (1970).** Proteose-peptone fraction of bovine milk: Lactum serum component 3 a whey glycoprotein. *Journal of Dairy Science*, 53 (8), 987-996.
- OULD ELEYA M. M., DESOBRY BANON S., VETIER N. and HARDY J. (1998).** Etude rhéologique des gels acides de laits de vache, de chèvre et de brebis. *Lait*, 78, 453-459.
- PAQUET D. (1989).** Revue bibliographique: la fraction protéose-peptones du lait. *Lait*, 69, 1-21.
- PARDO MARCELO F and NATALUCCI CLAUDIA L. (2002).** Electrophoretic analysis (tricine-SDS-PAGE) of bovine caseins. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 21 (1), 57-60.
- PARK W Y. (2001).** Proteolysis and lipolysis of goat milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 84, 84-92.

- PARK W Y., JUAREZ M., RAMOS M. and HAENLEIN G.F.W. (2007).** Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68, 88-113.
- PAYENS T A. (1982).** Les propriétés physico-chimiques des caséines alpha s1, bêta et kappa. *Lait*, 62, 306-320.
- PHOEBE X QI. (2007).** Studies of casein micelle structure : The past and the present. *Lait*, 87, 363-383.
- PIACERE A. et ELSSEN J. M. (1992).** Aptitude fromagère du lait et polymorphisme des protéines : perspectives d'utilisation en sélection. *INRA Productions Animales, Hors série*, Eléments de génétique quantitative et application aux populations animales, 123-128.
- PIERRE A., JEAN-LUC Le QUERE., RIAUBLANC A., YVON Le GRAET., DEMAIZERES D. and MICHEL F. (1998).** Composition and physico-chemical characteristics of goat milks containing the A or O α S1 casein variants. *Lait*, 78,191-202.
- PIERRE A., MICHEL F. and Le GRAET Y. (1995).** Variation in size of goat milk casein micelles related to casein genotype. *Lait*, 75, 489-502.
- PIERRE A., MOLLE D., MOLLE D. and ZAHOUTE L. (2001).** Characterisation of the casein variants in goat bulk milks using on-line RP-HPLC/ESI-MS. *Lait*, 81, 667-678.
- PIZZARRO BORGES C H., CORDEIRO P R C. and BRESSLAN S. (2007).** Seasonal variation of goat milk composition and somatic cell count in southeastern Brazil. *International symposium*, ZARAGOZA, 28 and 30 October, SPAIN.
- PORTMANN A. (1970).** La congélation et le stockage du fromage de chèvre. *Lait*, 493, 494, 161-164.
- PULINA G., NUDDA A., BATTACONE G., FANCELLU S. and FRANCESCONI A.D.H. (2008).** Nutrition and quality of goat's milk. *Dairy Goats Feeding and Nutrition*, 1, 1-30.
- QIWU WANG., JONATHAN C A. and SWAISGOOD H E. (1997).** Binding of vitamin D and cholesterol to β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 80, 1054-1059.
- RAGNHILD AABOE INGLINGSTADE., TOVE G. DEVOLD., ELLEN K. ERIKSEN., HALVOR HOLM., MORTEN JACOBSEN., KRISIAN H. LILAND., ELLING O. RUKKE. and GERD E. VEGARUD. (2010).** Comparison of the digestion of caseins and whey proteins in equine, bovine, caprine and human milks by human gastrointestinal enzymes. *Dairy Science Technology*, 90, 549-563.

- RAMOS MORALES E., DE LA TORRE ADARVE G., CARMONA LOPEZ F D., EXTREMERA F G., SANZ SAMPELAYO MR. and BOZA J. (2005).** Nutritional value of goat and cow milk protein. *CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A*, 67, 167.
- RAYNAL-LJUTOVAC K., BARRUCAND P. et BRUNET J. (2004).** Lipolyse spontanée du lait de chèvre : état des lieux et caractères biochimiques associés. *Rencontres Recherches Ruminants*, 11, 110.
- RAYNAL-LJUTOVAC K., LAGRIFFOUL G., PACCARD P., GUILLET I. and CHILLIARD Y. (2008).** Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79, 57-72.
- RAZAFINDRAKOTO O., RAVELOMANANA N., RASOLOFO A., RAKOTOARIMANANA RD., GOURGUE P., COQUIN P., BRIEND A. et DESJEUX JF. (1993).** Le lait de chèvre peut-il remplacer le lait de vache chez l'enfant malnutri ? *Lait*, 73, 601-611.
- RAZANAJATOVO L. et ALAIS C. (1977).** Isolement et caractérisation de la caséine kappa de chèvre. *Lait*, 568, 492-568.
- REMEUF F. (1993).** Influence du polymorphisme génétique de la caséine $\alpha S1$ caprine sur les caractéristiques physico-chimiques et technologiques du lait. *Lait*, 73, 549-557.
- REMEUF F., COSSIN V., DERVIN C., LENOIR J. et TOMASSONE R. (1991).** Relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits et leur aptitude fromagère. *Lait*, 71, 397-421.
- REMEUF F., GUY R., BRIGNON G. et GROSCLAUDE F. (2001).** Influence de la teneur en caséine β sur les caractéristiques physico-chimiques et l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait de chèvre. *Lait*, 81, 731-742.
- REMEUF F. et LENOIR J. (1985).** Caractéristiques physico-chimiques de lait de chèvre. *Revue Laitière Française*, 446, 32-40.
- REMEUF F., LENOIR J. et DUBY C. (1989).** Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, 69, 499-518.
- RESTANI PATRIZIA., CINZIA BALLABIO. and CHIARA DI LORENZO. (2009).** Molecular aspects of milk allergens and their role in clinical events. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, 395, 47-56.

- RIBADEAU-DUMAS B., BRIGNON G., GROSCLAUDE F. et MERCIER J-C. (1972).** Structure primaire de la caséine β bovine séquence complète. *European Journal of Biochemistry*, 25, 505-514.
- RIBADEAU-DUMAS B. (1991).** Physicochimie et biochimie des protéines du lait données récentes. *Lait*, 71, 133-139.
- RIBADEAU-DUMAS B. and GRAPPIN R. (1989).** Milk protein analysis. *Lait*, 69, 357-416.
- RICOORDEAU G., MAHE M F., PERSUY M A., LEROUX C., FRANÇOIS V. et AMIGUES Y. (1999).** Fréquences alléliques des caséines chez les chèvres des pyrénées. Cas particulier de la caséine β nulle. *INRA Productions Animales*, 12 (1), 29-38.
- ROUDJ S., BESSADAT A. et KARAM N-E. (2005).** Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, 12, 400.
- RUETTIMANN K. W. and LADISCH M. R. (1987).** Casein micelles: structure, properties and enzymic coagulation. *Enzyme Microbial Technology*, 9, 578-589.
- RUIZ-SALA P., HIERRO M. T. G., MARTINEZ-CASTRO I. and SANTA-MARIA G. (1996).** Triglyceride composition of ewe, cow, and goat milk fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, (3), 283-293.
- SANCHEZ A., SIERRA D., LUENGO C., CORRALES J C., MORALES C T., CONTRERAS A. and GONZALO C. (2005).** Influence of storage and preservation on somatic cell count and composition of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 88, 3095-3100.
- SAURIS Y. (1973).** Fromage de chèvre. *Lait*, 525, 526, 309-316.
- SAWAYA W N., KHALIL JK and AL-SHALHAT AF. (1984a).** Mineral and vitamin content of goat's milk. *Journal of American Diet Association*, 84(4), 433-435.
- SAWAYA W N., SAFI W J., AL-SHALHAT A F., and AL-MOHAMMAD M M. (1984b).** Chemical composition and nutritive value of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 67, 1655-1659.
- SCHMID D. (1980).** Colloidal aspects of casein. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 34, 42-64.
- SHKOLNIK A., MALTZ E. and GORDIN S. (1980).** Desert conditions and goat milk production. *Journal of Dairy Science*, 63, 1749-1754.

- SHUSTER D E. and HARMON R J. (1990).** Enzyme immunoassay of bovine lactoferrin and serum albumin in acid precipitated and ultracentrifugal whey. *Journal of Dairy Science*, 73, 3104-3111.
- SLATTERY C. W. (1976).** Review: casein micelle structure; an examination of models. *Journal of Dairy Science*, 9 (59), 1547-1556.
- SOUSTRE Y. (2007).** Questions sur les qualités nutritionnelles des protéines laitières. *Biocommunication*, 16, 01-04.
- SPNERGIN P., WALTER M., SCHILTZ E., DEICHMANN K., FORSTER J. and MULLERH. (1997).** Allergenicity of α -caseins from cow, sheep and goat. *Allergy*, 52, 293-289.
- SYED M. S. and CONAN J.F. (2010).** Batch adsorption of whey protein onto anion exchange mixed matrix membrane chromatography. *Proceedings of 2010, 2nd International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering.* Cairo, Egypt, 2-4 November, 2010.
- TANTAOUI-ELARAKI A., BERRADA M. et EL MARRAKCHI A. (1983).** Etude sur le lben marocain. *Lait*, 63, 230-245.
- TOMOTAKE HIROYUKI., RYOKO OKUYAMA., MITSUAKI KATAGIRI., MASARU FUZITA., MASAYUKI YAMATO. and FUSAO OTA. (2006).** Comparison between holstein cow's and japanese-saanen goat's milk in fatty acid composition, lipid digestibility and protein profile. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70 (11), 2771-2774.
- TRUJILLO A. J., CASALS I. and GUAMIS B. (2000).** Analysis of major caprine milk proteins by reverse-phase high-performance liquid chromatography and electrospray ionization-masse spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 83, 11-19.
- TRUJILLO A. J., GUAMIS B. and CARRETERO C. (1997).** Hydrolysis of caprine β -casein by plasmin. *Journal of Dairy Science*, 80, 2258-2263.
- VAN HEKKEN DIANE L., TUNICK MICHAEL H. and PARK YOUNG W. (2004).** Rheological and proteolytic properties of Monterey jack goat's milk cheese during aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5372-5377.

- VASSAL L., DELACROIX-BUCHET A. et BOUILLON J. (1994).** Influence des variants AA, EE et FF de la caséine α S1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels : premières observations. *Lait*, 74, 89-103.
- VEINOGLU B., BALTADJIEVA M., ANIFANTAKIS E. et EDGARYAN M. (1982a).** La composition du lait de vache de la région de Plovidiv en Bulgarie et de Ionnina en Grèce. *Lait*, 62, 55-66.
- VEINOGLU B., BALTADJIEVA M., KALATZOPOULOS G., STAMENOVA V. et PAPADOPOULOU E. (1982b).** La composition du lait de chèvre de la région de Plovidiv en Bulgarie et de Ionnina en Grèce. *Lait*, 62, 155-165.
- VOJTECH A., ONDREJ Z., PETR D., LADISLAV Z., ALES H., JAROMIR H., JAN S., SONA K., LIBUSE T. and RENE K. (2008).** Lactoferrin isolation using monolithic column coupled with spectrometric or micro-amperometric detector. *Sensors*, 8, 464-487.
- WEI T-M. and WHITNEY R MCL. (1985).** Batch fractionation of bovine caseins with diethylaminoethyl cellulose. *Journal of Dairy Science*, 68,1630-1636.
- WITTIG IKA., KARAS MICHAEL. and SCHAGGER HERMANN. (2007).** High Resolution Clear Native Electrophoresis for In-gel Functional Assays and Fluorescence Studies of Membrane Protein Complexes. *Molecular and Cellular Proteomics* 6.7, 1215-1225.
- ZAHRADDEEN D., BUSTWAT I S R. and MBAP S T. (2007).** Evolution of some factors affecting milk composition of indigenous goats in Nigeria. *Livestock Research for Rural Development*, 19 (11), 1-8.
- ZAPICO P., GAYA P., DE PAZ M., NUNEZ M. and MEDINA M. (1991).** Influence of breed, animal, and days of lactation on lactoperoxydase system components in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 74, 783-787.
- ZELLER B. (2005).** Le fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques *Thèse de Doctorat de l'université Paul-Sabatier*, Toulouse, France.
- ZITTLE C A. and CUSTER J H. (1966).** Identification of the κ -casein among the components of whole goat casein. *Journal of Dairy Science*, 49, 788-791.

Annexes

Annexe I : Détermination de l'extrait sec total (EST), de l'extrait sec Dégraissé (ESD), ainsi que de la teneur en matière grasse.

1- Mode opératoire :

- peser une coupelle métallique, vide, nettoyée et séchée, pour un poids M_0 ;
- introduire dans la coupelle, une prise d'essai de 1ml de lait entier, pour la détermination de l'EST ou de lait écrémé, pour la détermination de l'ESD ;
- introduire cette coupelle dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, laisser la dessiccation se poursuivre pendant 3 heures ;
- le temps écoulé, la coupelle est immédiatement introduite dans un dessiccateur, où celle-ci refroidit sans reprise d'humidité ;
- une fois la coupelle à température ambiante, la peser encore une fois et on obtient ainsi M_1 .

2- Expression des résultats :

La valeur de l'EST ou l'ESD, exprimés en g/l de lait, est donnée par la relation suivante :

$$(M_1 - M_0) \times 1000 / V$$

Où :

M_0 est la masse en grammes, de la coupelle vide ;

M_1 est la masse en grammes, de la coupelle et du résidu après dessiccation et refroidissement ;

V est le volume en millilitres, de la prise d'essai.

3- Détermination de la matière grasse :

La détermination de la teneur en matière grasse (**MG**) des échantillons analysés est déterminée par l'application de la formule suivante :

$$\text{MG (g)} = \text{EST (g)} - \text{ESD (g)}.$$

Annexe II : Détermination de l'acidité titrable

Dans un bécher de 50 ml, introduire :

- 10 ml de lait ;
- y ajouter 2 à 3 gouttes de phénophtaléine à 1% ;
- titrer avec une solution sodique (NaOH, N/9) à l'aide d'une burette jusqu'au virage au rose pâle ;
- lire le volume sur la burette (en millilitre de NaOH titré).

La valeur en acidité titrable exprimée en degré Dornic (°D), est donnée par l'expression suivante :

$$1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ ml de NaOH à N/9}$$

Annexe III : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de LOWRY et al (1951).

1- Solutions :

Solution alcaline A :

- Soude 0,1 N500 ml
- Carbonate de sodium anhydre (Na_2CO_3).....10 g

Solution cuivrique B

- Sulfate de cuivre hydraté $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ (0,32g / 100 ml)..... 2 ml
- Tartrate double de Sodium et de Potassium (1g / 100 ml).....2 ml

Solution C

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

Solution mère de BSA

- BSA.....10 mg
- Eau distillée (qsp).....100 ml

Gamme étalon :

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

Concentration en BSA $\mu\text{g/ml}$	0	10	25	50	75	100
Solution mère de BSA (μl)	0	100	250	500	750	1000
Eau distillée (μl)	1000	900	750	500	250	0

2- Méthode

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

3- Expression des résultats

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

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

Annexe IV : Détermination de la teneur en lactose**1-Solutions :****Solution aqueuse d'hexacyanoferrate II de potassium hydraté :**

- $(K_4Fe(CN)_6, 3H_2O)$150g
- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution aqueuse d'acétate de zinc hydraté :

- $(Zn(CH_3COO)_2, 2H_2O)$300g
- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution cuivrique :

- sulfate de cuivre II hydraté ($CuSO_4, 5H_2O$) à 4% 5 P/V.....40g
- acide sulfurique ($d_{(20)} = 1,83$).....2ml
- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution tartro-alcaline :

- tartre double de sodium et de potassium ($Na K (H_4C_4O_6), 4H_2O$).....200g
- hydroxyde de sodium (NaOH).....150g
- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution étalon lactose :

- lactose.....5g/l
- eau distillée (qsp).....1000ml

2-mode opératoire :**Défécation :**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire successivement :

- 5ml de lait ;
- 0,4ml de solution d'hexacyanoferrate II de potassium, agiter ;
- 0,4ml de solution d'acétate de zinc, agiter ;
- compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée tout en mélangeant ;
- ajouter 0,4ml d'eau distillée pour tenir compte du volume du précipité, agiter ;
- laisser reposer 15min puis filtrer ;
- introduire ce filtre (solution S) dans une burette.

Réduction de la liqueur de Fehling :

Dans une fiole Erlen Meyer, introduire :

- 10ml de solution cuivrique ;
- 10ml de solution tartro-alcaline ;
- agiter et porter à ébullition ;
- verser ensuite goutte à goutte le filtrat (solution S) à l'aide d'une burette en maintenant à l'ébullition jusqu'à l'apparition d'un précipité rouge brique ;
- lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V_2 en ml.

Etalonnage de liqueur de Fehling :

L'étalonnage est fait à l'aide d'une solution étalon de lactose de concentration $C_1 = 5\text{g/l}$. Elle correspond à une chute de burette V_1 (ml).

3- Expression des résultats

La concentration en lactose inconnue C_2 , est donnée par la relation suivante :

$$C_2 = (C_1 \times V_2 / V_1) \times d$$

Où d est le coefficient de dilution.

Annexe V : Détermination de la teneur en vitamine C par la méthode au 2-6- DCPIP

1-Solutions :

Solution de 2-6- dichlorophénol-indo-phénol à 0,05 g/l :

- sel de sodium du 2-6-DCPIP0,05 g
- bicarbonate de sodium0,02 g
- eau distillée chaude300 ml
- eau distillée froide (qsp).....700 ml
- filtrer

Solution d'acide ascorbique

- acide ascorbique.....0,04 g
- eau distillée (qsp).....1000 ml

2-mode opératoire :

Dans un bécher de 10 ml, introduire :

- 1ml d'échantillon ;
- ajouter 200 µl d'acide acétique glacial (99 à 100 %), mélanger ;
- verser, goutte à goutte la solution de 2-6- DCPIP à l'aide d'une burette, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistante ;
- lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V_2 (ml)

4- Etalonnage de la solution d'acide ascorbique

L'étalonnage de la solution d'acide ascorbique est fait à l'aide d'une solution étalon de concentration connue $C_1 = 0,04$ g/l. Elle correspond à une chute de burette V_1 (ml).

5- Expression des résultats

La teneur en vitamine C (C_2) exprimée en mg/l, est donnée par la relation suivante :

$$C_2 = (C_1 \times V_2 / V_1) \times 1000$$

Annexe VI : Electrophorèse en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE-native)

Solution d'acrylamide (A)

- Acrylamide.....36g
- Bisacrylamide.....1g
- Eau distillée100 ml

Tampon de gel (B)

- Tris9,14 g
- Eau distillée.....100 ml

Ajuster à pH 8,9 avec HCl 4N

Tampon d'électrode :

- Tris0.12 g
- Glycine0,58 g
- Eau distillée.....200 ml

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon :

- Tampon du gel (B).....100 µl
- Eau distillée700 µl
- Glycérol 50%.....200 µl
- Bleu de bromophénolune tête d'aiguille

Electrophorèse :

Préparation du gel T = 12% et 2,7%

- Solution (A).....3,25 ml
- Solution (B).....5 ml
- Eau distillée.....1,68 ml

Dégazer le mélange pendant 2 mn maximum

- TEMED.....10 µl
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....75 µl

Couler et mettre le peigne immédiatement

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 μ l

Mise sous tension : 20 mA, 25 V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration

Annexe VII : Electrophorèse en présence de SDS et de 2-mercaptoéthanol (PAGE-SDS)

Solution :

Solution d'acrylamide (A) :

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

Tampon de gel de séparation (S) :

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

Ajuster à pH 8,8 avec HCl 4N

Tampon de gel de concentration (C)

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

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

Tampon d'électrode

- Tris1,2 g
- Glycine.....5,76 g
- SDS.....0,2 g
- Eau distillée.....200 μ l

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

- Solution (C)500 μ l
- Eau distillée.....250 μ l
- SDS (10%).....250 μ l

- 2-mercaptoéthanol.....50 µl

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

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

Solution de fixation

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

Solution de coloration

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

Solution de décoloration

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

Solution de persulfate d'ammonium

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

Electrophorèse

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

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

Dégazer le mélange pendant 2 mn maximum

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

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

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

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

Couler immédiatement sur le gel de séparation puis introduire le peigne

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 µl

Mise sous tension : 20 mA, 25 V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration

**Annexe VIII : Electrophorèse en présence d'urée et de 2-mercaptoéthanol
(PAGE-urée)**

Solution :

Tampon de gel de séparation (S) :

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

Ajuster à pH 8,8 avec du HCl 4N

Tampon de gel de concentration (C) :

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

Ajuster à pH 6,8 avec du HCl 4N

Tampon d'électrode

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

Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

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

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

Electrophorèse :

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

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

Dégazer le mélange 2 mn

- TEMED.....30 µl
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....75 µl

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

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

- Acrylamide0,38 g
- Bisacrylamide.....0,01 g
- Urée.....0,5 g
- Solution (C).....10 ml

Dégazer le mélange pendant 2 mn

- TEMED.....30 μ l
- Solution de persulfate d'ammonium 10%.....150 μ l

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 μ l

Mise sous tension : 20 mA, 250 V

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration

Décoloration : dans la solution de décoloration