

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'études

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

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Thème

Etude comparative de quelques propriétés technofonctionnelles des protéines sériques caprines et ovines.

Réalisé par :

HARGAS Nora

HAMMOUDI Nawal

INDEL Yasmine

Encadré par :

Mme SI AHMED-ZENNIA S

Devant le jury

Présidente : Mme CHEZALI-SENOUSSI C.

M.A.C.A

UMMTO

Promotrice : Mme SI AHMED-ZENNIA S.

M.C.A

UMMTO

Examineur : Mr SEBBANE Hillal.

M.C.B

UMMTO

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Avant d'entamer notre travail, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail de près ou de loin.

Nous remercions notre promotrice Mme SI AHMED ZENNIA Saliha Maitre de conférences à l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, d'avoir accepté de diriger ce travail et Mme ALMI-SEBBANE Dalila Maitre de conférences à l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou pour son aide tout au long de ce parcours.

Nous tenons également à remercier Mme GHEZALI-SENOUSSI Chahra maitre assistante à l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour avoir accepté présider notre mémoire et Mr SEBBANE Hillal Maitre de conférences à l'Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour avoir accepté examiner notre travail. Nous remercions aussi à remercier Mme AMAR-KHOUDJA Nadia l'ingénieur de labo pour sa patience et sa gentillesse ainsi que tout le personnel de laboratoire pédagogique de notre Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Dédicaces

On dédie ce modeste travail à nos très chers parents qui nous ont beaucoup soutenus durant notre parcours.

Nos familles, nos amis ainsi que toute personne proche.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction générale

I. Données bibliographiques

<i>1 Généralités sur le lait de chèvre et le lait de brebis</i>	02
<i>1.1 Définitions</i>	02
<i>1.2 Compositions</i>	02
<i>1.3 Caractéristiques organoleptiques</i>	03
<i>1.4 Caractéristiques physico-chimiques</i>	04
<i>2 Les propriétés techno-fonctionnelles des protéines du lactosérum</i>	05
<i>2.1 Définition</i>	05
<i>2.2 Classification</i>	05
<i>2.3 La solubilité</i>	06
<i>2.4 Absorption d'eau</i>	06
<i>2.5 Coagulation</i>	06
<i>2.6 Gélification</i>	07
<i>2.7 Propriété émulsifiante</i>	07
<i>2.8 Propriété moussante</i>	08
<i>3 Domaine d'utilisation du lactosérum</i>	08
<i>3.1 Application en industrie agroalimentaire</i>	09
<i>3.2 Utilisation en biotechnologie</i>	10
<i>3.3 Utilisation en industrie pharmaceutique et cosmétique</i>	10
<i>3.4 Pollution dû au lactosérum</i>	10

II. Matériel et méthodes

<i>2.1 Matériel</i>	11
<i>2.1.1 Echantillons</i>	11
<i>2.1.2 Produits chimiques</i>	11
<i>2.1.3 Appareillage</i>	11
<i>2.2 Méthode</i>	11
<i>2.2.1 Isolement des protéines lactosériques totales</i>	11
<i>2.2.1.1 Ecrémage</i>	12

2.2.1.2 Acidification	12
2.2.1.3 Dialyse.....	13
2.2.1.4 Ajustement des pH.....	13
2.2.2 Dosage des protéines sériques par la méthode de Biuret	13
2.2.3 Etude des protéines techno-fonctionnelles des protéines sériques	14
2.2.3.1 Solubilité.....	14
2.2.3.2 Pouvoir moussant.....	14
2.2.3.3 Pouvoir émulsifiant	14
2.2.4 Méthode électrophorétique	15
III. Résultats et discussions	
1. Analyse électrophorétique des protéines sériques totales.....	16
1.1 Comportement électrophorétique des protéines sériques ovines et caprines	17
2. L'effet du pH sur la solubilité	17
3. L'effet du pH sur le pouvoir moussant	19
4. L'effet du pH sur le pouvoir émulsifiant	22
Conclusion générale.....	24
Références bibliographiques.....	25
Annexes	

Liste des abréviations

BSA	Albumine sérique bovine
α-Lac	Alpha-Lactalbumine
β-Lg	Beta-Lactoglobuline
PAGE	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide
pH	Potentiel d'hydrogène
pHi	Potentiel d'hydrogène isoélectrique
TCA	Acide trichloracétique
TEMED	N,N,N',N'-tetraméthyl-éthylène diamine
Tris	Tris-hydroxy-méthyl-amino-méthane
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
PP3	Protéose-peptone

Liste des figures

N°	Titre	Pages
01	Etapes suivies pour l'isolement des protéines sériques du lait de chèvre et de brebis.	12
02	Courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de Biuret réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA).	13
03	Profil électrophorétique des protéines du lactosérum (ovines et caprines) en PAGE-native.	16
04	Effet du PH sur la solubilité du lactosérum du lait de chèvre.	18
05	Effet du PH sur la solubilité du lactosérum du lait de brebis.	18
06	Effet du PH sur la stabilité des mousses du lactosérum du lait de chèvre.	19
07	Effet du PH sur la stabilité des mousses du lactosérum du lait de brebis.	20
08	Effet du pH sur la capacité moussante du lactosérum du lait de chèvre.	20
09	Effet du pH sur la capacité moussante du lactosérum du lait de brebis.	21
10	Effet du pH sur l'émulsion du lactosérum du lait de chèvre.	22
11	Effet du pH sur l'émulsion du lactosérum du lait de brebis.	23

Résumé

Les protéines de lactosérum présentent un intérêt nutritionnel mais aussi techno-fonctionnel. Les protéines de lactosérum du lait de chèvre et du lait de brebis ont été récupérées en passant par plusieurs étapes (écrémage, acidification, centrifugation et dialyse).

Notre travail a débuté par un contrôle électrophorétique des protéines sériques ovines et caprines, et ce dans des conditions non dissociantes et non dénaturantes.

Les résultats ont révélé, comparativement au lait bovin, la migration de cinq bandes pour le lactosérum ovin selon l'ordre décroissant de leur mobilité et trois bandes pour le lactosérum caprin.

La suite de notre étude concerne les propriétés techno-fonctionnelles particulièrement la solubilité, les propriétés moussantes et émulsifiantes, des lactosérums ovin et caprin.

Les protéines sériques des deux lactosérums ovin et caprin sont mieux solubles à des pH acides 2 et 3. En général le lait de brebis est beaucoup plus soluble que le lait de chèvre.

Les propriétés moussantes du lactosérum ovin sont supérieures à celles du lactosérum caprin alors que pour les propriétés émulsifiantes nous observons le phénomène inverse.

Les concentrés protéiques de ces deux lactosérums sont caractérisés par une bonne solubilité et un excellent pouvoir émulsifiant. L'indice de stabilité de la mousse est très intéressant. Ces propriétés sont très recherchées dans l'industrie agro-alimentaire.

Mots clés : lactosérum ovin, lactosérum caprin, propriétés moussantes, propriété émulsifiantes, solubilité, PAGE-native.

Abstract

Whey proteins are of nutritional interest but also functional techno. Whey proteins from goat's milk and sheep's milk are recovered by going through several steps (skimming, acidification, centrifugation and dialyse).

Our work began with an electrophoretic control of ovine and caprine serum proteins, under non-dissociating and non-denaturing conditions.

The results revealed, compared to bovine milk, the migration of five bands for ovine whey according to the decreasing order of their mobility and three bands for goat whey.

The rest of our study concerns the techno-functional properties, particularly the solubility, the foaming and emulsifying properties of ovine and caprine whey.

The serum proteins of the two ovine and caprine wheys are better soluble at acid PH 2 and 3.

In general, sheep's milk is much more soluble than goat's milk.

The foaming properties of ovine whey are superior to those of goat whey while for the emulsifying properties we observe the opposite phenomenon.

The protein concentrates of these two wheys are characterized by good solubility and excellent emulsifying power, the foam stability index is very interesting, these properties are highly sought after in the food industry.

Keywords: ovine whey, goat whey, foaming properties, emulsifying properties, solubility, native-PAGE.

Introduction

« Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir le colostrum ». C'est la définition adoptée par le congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à Genève en 1908, pour le lait propre à la consommation humaine. Le lait apporte la plus grande part des protéines d'origine animale, il présente une forte concentration en nutriments de base (**Mahaut *et al.*, 2000**).

La production locale du lait tourne autour de 600 à 800 millions de litres/an, alors que les besoins actuels sont de 4,5 à 5 milliards de litres/an, soit un déficit de près de 4 milliards de litres/an qui est comblé par les importations. Le taux moyen de consommation par personne est de 115 litres/habitant/an en Algérie contre 65 au Maroc, 85 en Tunisie et 35 dans les pays de l'Afrique sub-saharienne. Sa part dans les importations alimentaires totales du pays représente environ 22%. L'Algérie importe plus de 70% des disponibilités en lait et produits laitiers, elle est classée 3^{ème} importateur mondial (**Driss, 2017**).

Le lait est un aliment de haute qualité équilibré. C'est un fluide biologique collecté à partir des mammifères. Il est constitué des principaux nutriments indispensables au développement. Les protéines du lactosérum sont des protéines d'excellente valeur nutritionnelle. Elles se retrouvent sous forme globulaires. Elles ont de remarquables propriétés techno-fonctionnelles qui ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales.

L'objectif principal de notre travail est de comparer quelques propriétés techno-fonctionnelles de lactosérum de lait de chèvre et celui de lait de brebis afin de voir celle qui sont plus intéressante à exploiter en industrie agro-alimentaire.

Chapitre I

Synthèse des données bibliographiques

1. Généralités sur le lait de chèvre et le lait de brebis

1.1 Définitions

Le lait de brebis a été toujours considéré comme un lait ayant des caractéristiques spécifiques et, dans certains cas, comme étant un produit plus noble que les autres laits. Cependant, il contient beaucoup plus de matières grasses, protéines, cendres, vitamines et minéraux essentiels que le lait de vache et de chèvre (**Alexopoulos et al., 2011** et **Hilali et al., 2011**).

Au niveau mondial, l'élevage des ovins représente une source naturelle renouvelable et aussi c'est le groupe le plus important des petits ruminants dans l'agriculture tempérée et trpicale (**Zygoiannis, 2006**).

Ce type de lait a des caractéristiques différentes que les autres laits, grâce à sa forte viscosité impliquant sa richesse. Comme il présente une opacité blanche plus marquée que celle des laits de vache et de chèvre et il est particulièrement riche en composants fromagers (**Luquet, 1986**).

La production du lait de brebis est concentrée dans les pays où la production du lait de vache est limitée, mais elle concerne également les pays de grande tradition fromagère comme la France (**Koroleva, 1988**).

Le lait de chèvre a longtemps été majoritaire, développé à l'échelle familiale dans les régions montagneuses et consommé à l'état cru ou fermenté. Le lait de chèvre de par son gout acre, n'est pas toujours apprécié par les consommateurs à l'inverse sa transformation surtout en fromage le rend plus digeste et très apprécié.

Il se présente comme un liquide opaque de couleur blanchâtre mate, dû à l'absence de B-carotène il est légèrement sucré, d'une saveur particulière et une odeur assez neutre (**Alais 1984**).

L'élevage caprin est considéré comme une activité secondaire localisé dans les régions difficiles (montagne, steppe, Sahara) (**Mouhous et al., 2013**).

1.2 Compositions

Comme pour les autres ruminants, la production et la composition du lait de brebis et de chèvres laitières sont principalement conditionnées par les facteurs génétiques, le stade de lactation, le système de traite et l'aliment (**Luquet, 1986**).

1.2.1 Eau

L'eau est un élément quantitativement le plus important parmi les autres nutriments. Dans le cas du lait de brebis la quantité d'eau est réduite par rapport aux autres laits où elle est évaluée 82.2%, alors que le lait de chèvre est de 86.7%. C'est pour cela que le lait de brebis est plus dense que le lait de chèvre et le lait de vache (**Fredot, 2005**).

1.2.2 Les protéines

Les protéines constituent une part importante du lait et des produits laitiers. Le lait de brebis entier est plus riche en protéines que les autres laits et contient environ 6% et le lait de chèvre 3,2%, presque la même teneur que le lait de vache qui est de 3,5%.

Les protéines du lait sont généralement représentées par les caséines et les protéines de lactosérum (**Vignolo et al., 2002**).

Les caséines: représentent presque 80% des protéines totales, elles sont généralement en suspension colloïdale et se regroupent sous forme sphérique appelée micelles. Les caséines précipitent sous l'action de la présure enzymatique ou lors de l'acidification à un PH de 4,6 pour le lait de vache, 4,2 pour le lait de chèvre et le lait de brebis (**Mahon et Brown, 1984**).

Les protéines de sérum : représentent environ 20% des protéines totales, elles se trouvent sous forme de solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur. Les deux principales protéines de sérum sont : la β lactoglobuline et l' α lactalbumine et les protéines secondaires qui sont les immunoglobulines et différentes enzymes. (**Eigel et al., 1984**).

1.2.3 Matière grasse

Le lait de brebis est réputé pour sa richesse en matière grasse. Cette dernière varie largement en fonctions de plusieurs facteurs. Elle est de 70à75g/l, comparant au lait de chèvre, elle est moins importante, elle est entre 33 et 38g/l presque équivalente à celle du lait de vache qui est de 36à40g/l.

1.2.4 Lactose

Le lactose est le sucre majeur du lait avec un taux de 4,5% pour le lait de brebis et 4,3% pour le lait de chèvre. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose (**Vignola et al., 2002**).

1.2.5 Vitamines

Les vitamines sont nécessaires au fonctionnement normal des processus vitaux, mais l'organisme humain est incapable de les synthétiser. On distingue d'une part des vitamines hydrosolubles (groupe B et C) en quantités constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A,D,E et K) (**Enjalbert, 1993 ; Jeantet et al., 2008**).

1.2.6 Minéraux

Le lait de brebis est une excellente source de minéraux nécessaires pour la croissance, où la digestibilité du calcium et du phosphore est exceptionnellement élevée. Elle est comprise respectivement entre 199 à200mg/100g pour le Ca et 158mg/100g pour le phosphore. Par contre le lait de chèvre contient des teneurs plus élevées en potassium, chlore et magnésium (**Gueguen, 1996 ; Vignola et al., 2002**).

1.2.7 Les enzymes

Le lait en générale soit de brebis soit les autres laits contient principalement 3 groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influencent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température puisque chaque enzyme possède un pH et une température d'activité maximale (**Vignola et al., 2002**). La composition chimique du lait de chèvre diffère selon la race de l'animal, la saison et l'élevage.

1.3 Caractéristiques organoleptiques

1.3.1 Odeur

La matière grasse qui est présente dans le lait fixe les odeurs animales. Ces odeurs sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur) ou à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Vierling, 2003**).

1.3.2 Couleur

Contrairement au lait de vache, le lait de brebis et le lait de chèvre sont de couleur blanche nacrée et plus opaque, due à la présence de grande partie de la matière grasse, et aussi ils sont dépourvus de carotène (la femelle transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) (**Janda., 1996**).

1.3.3 Saveur

La saveur du lait de brebis normal est agréable et un peu sucrée grâce à la présence de lactose. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Le lait de chèvre ne présente pas de saveur particulière lorsqu'il est fraîchement traité mais après un stockage au frais (vers 4°C) acquiert une saveur caractéristique. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru (**Thieulin et Vuillaume, 1976**).

1.4 Caractéristiques physico-chimiques

1.4.1 Le pH

Le pH du lait de brebis, se caractérise par des valeurs allant de 6,51 à 6,85 (**Haenlein et al., 2006**) par contre le lait bovin et caprin sont de 6,65 à 6,71, 6,50 à 6,80 respectivement (**Park et al., 2007**).

1.4.2 L'acidité

L'acidité d'un lait varie en fonction de l'évolution de la teneur en protéines du lait et varie selon certains auteurs selon la saison (**Debry, 2001**). L'acidité du lait de brebis reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,22 et 0,25% d'acide lactique, elle est plus élevée que celle du lait bovin et caprin (0,15 et 0,18%, 0,14 et 0,23% respectivement) (**Jandal, 1996**).

1.4.3 La densité

La densité ou poids spécifique dépend de deux facteurs principaux qui sont la teneur en matière sèche et celle de la matière grasse (**Lupien, 1995**). Il faut noter que l'addition d'eau diminue la densité. Ainsi, la densité du lait de brebis et celle des races de chèvre à laits gras est plus élevée que celle du lait de vache, elle est comprise entre 1,0347-1,0384 (**Simos, 1996**).

1.4.4 La viscosité

La viscosité est inversement proportionnelle à la température. La viscosité du lait de brebis est plus élevée que celle du lait de vache et de chèvre. Elle est de 2,86 à 3,93cP pour le

lait de brebis, 2 à 2,2cP pour le lait de vache et 1,8 à 1,9cP pour le lait de chèvre (**Park *et al.*, 2007**).

1.4.5 Point de congélation

Le lait de chèvre et le lait de brebis sont inférieurs d'indice de réfraction et de congélation que le lait de vache. Ils sont respectivement de 0,550 à 0,583°C -0,570°C et 0,520 à 0,550°C (**Larpent, 1990 ; Stancheva *et al.*, 2009**).

2. Les propriétés techno-fonctionnelles des protéines du lactosérum

2.1. Définition

Les propriétés fonctionnelles utilisables en technologie alimentaire (rétention d'eau et de substances volatiles, solubilité, coagulation, gélification, émulsion, moussage ...) dépendent étroitement des propriétés d'hydratation et de surface qui elles-mêmes résultent d'interactions des divers éléments de structure des protéines.

Ce souci de relier les effets macroscopiques de la fonction protéique à la structure spatiale devrait permettre d'extrapoler des résultats obtenus avec des protéines pures à des aliments de structure plus complexe. Cependant, les conditions de préparation et de traitement très variées engendrent une multitude de modifications difficilement appréciables et prévisibles.

Il existe deux types d'interaction qui peuvent induire des modifications de propriétés physiques ou fonctionnelles:

- interactions des chaînes latérales avec le solvant: selon la polarité et le caractère ionique de celles-ci, les propriétés d'hydratation ou de surface prédominent;
- interactions des chaînes latérales entre elles ou avec d'autres constituants non protéiques. Selon le caractère covalent ou non covalent de ces interactions, on assiste à une variation de stabilité des solutions ou des textures solides douées d'une plus ou moins grande réversibilité.

Certaines propriétés existent déjà naturellement (pouvoir émulsifiant de la caséine ...) alors que d'autres s'acquièrent au cours des traitements technologiques (gélification des protéines du lactosérum ...).

2.2 Classification

En général, les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sont classées en trois groupes, selon les interactions mises en jeu :

- **Les propriétés d'hydratation** : Comme la solubilité et la rétention d'eau, dépendent des interactions protéines-eau ;
- **Les propriétés de surface** : Régissent les interactions protéines-lipides et protéines-air, en particulier les pouvoirs moussant et émulsifiant ;
- **Les propriétés de texturation** : Comme la gélification et coagulation, dépendent des interactions protéines-protéines.

2.3 La solubilité

C'est une propriété d'une substance de se dissoudre dans une autre. Cette propriété est particulièrement importante car elle est en relation avec les autres propriétés, telles que la

viscosité, l'aptitude à la gélification, l'émulsion ou le moussage. Elle est aussi un critère de dénaturation.

La solubilité dépend de plusieurs facteurs :

- du prétraitement de séparation.
- de la méthode de concentration: les procédés d'obtention par précipitation (sels ou chauffage) donnent aux concentrés une moins bonne solubilité (surtout à pH acide) (**Morr et al., 1973**).
- du pH : Seule la caséine perd sa structure native au pHi avec la libération de submicelles car le phosphate du Ca qui stabilise les micelles se dissout à pH 5,2 ;
- de la température : à partir de 65°-70°C, les protéines de LS perdent leur solubilité par dénaturation ;
- la pasteurisation basse ne cause pas de précipitation (traitement trop doux et stabilisation par les micelles) ;
- la pasteurisation haute permet une coprécipitation avec les micelles ;
- La précipitation dépend elle-même du pH (de Wit, 1981) et de la concentration en Ca^{2+} et en sels. Les ions Ca^{++} accélèrent la déstabilisation alors que les complexants sont protecteurs (**Webb et Bell, 1942**) vis-à-vis de la coagulation thermique des laits concentrés.

2.4 Absorption d'eau

Le gonflement des protéines du lactosérum atteint un maximum d'absorption assez faible après 5 à 10 mn de contact. Les caséinates, au contraire, fixent plus d'eau mais après 1 h de contact. Ce gonflement est peu modifié par le pH ou la concentration en sels. L'eau liée non congelable est un peu plus élevée pour la β -lactoglobuline que pour la caséine (0,5 contre 0,4 g/g). Un chauffage à 80° C durant 45 s des protéines de LS améliore cette capacité de fixation (utile en pâtisserie et charcuterie) ce qui est probablement dû à la baisse de la solubilité.

2.5 Coagulation

La coagulation du lait est une étape importante dans la préparation du fromage, il s'agit de la transformation du lait liquide en un gel, appelé aussi coagulum ou caillé, le substrat spécifique intéressé par le phénomène de coagulation dans le lait est constitué par les protéines, essentiellement représentés par les caséines. La coagulation se distingue en deux types : acide et enzymatique.

Les facteurs influençant la coagulation :

•**pH**: L'acidification va avoir une action sur le degré de minéralisation des micelles et sur l'activité des enzymes de la présure (pH optimum de la présure 5,6 à 5,7).

•**Température** : La température optimale de la coagulation est de 35 à 45°C en sachant que la température optimale de la chymosine (enzyme de la présure) est de 42°C. A cette température, on a un équilibre minéral avec l'augmentation du calcium micellaire chargé positivement entraînant une baisse de stabilité des micelles chargés négativement.

•**Les minéraux** : Les deux principaux minéraux qui vont influencer la coagulation sont le calcium et le phosphore sous diverses formes.

•**Le traitement thermique** : Il faut savoir que le traitement thermique du lait le dénature (ex : pasteurisation) : destruction de la flore, des enzymes et dénaturation d'une

partie des protéines (protéines sériques). Ces dernières passent de l'état soluble à l'état insoluble en venant se fixer sur les caséines. Elles vont augmenter la couche d'hydratation des micelles d'où un frein à l'égouttage et un caillé plus fragile.

•**La qualité de la présure** : Utiliser la présure faite de façon traditionnelle, celle qui nous apporte en plus des enzymes coagulantes, de la flore lactique et des facteurs de croissance.

2.6 Gélification

Elle implique la formation de structures continues plus ou moins ordonnées avec déroulement, déplissement de la chaîne protéique (avec apparition de chaînes latérales d'acides aminés capables de former des liaisons hydrogènes et ioniques), et rupture de liaisons intramoléculaires, puis réarrangement par liaisons intermoléculaires.

En chauffant des solutions de protéines de LS de concentration supérieure à 8 %, un gel se forme après refroidissement. Les caséines ne peuvent former de gel que sous forme de micelles seules (chauffage à 120°C, 20 mn) (**Lorient, 1977**) ou de paraphosphocaseinate de Ca. La gélification qui se forme dans les laits UHT serait plutôt due à une réactivation des protéases thermostables de microorganismes et qui agiraient comme la chymosine (**Schmidt, 1980**).

La fermeté des gels dépend :

- du traitement thermique: une solution à 10 % de protéines de LS est chauffée à 78°C. En élevant la température, la fermeté s'accroît alors que pour les protéines de soja, elle passe par un maximum à 80°C. Toutefois, par comparaison à la gélatine, ces gels ne sont pas très stables et on peut par pression expulser l'eau;
- du pH : gels fermes en milieu acide;
- de la concentration protéique: les gels sont stables à concentration élevée;
- des sucres présents: des gels lactosériques très stables peuvent être obtenus par chauffage à 120°C en présence de saccharose (**Legrand et Paul, 1977**).

2.7 Propriétés émulsifiantes

Les émulsions sont des préparations généralement liquides, destinées à être administrées telles quelles ou à être utilisées comme excipients. Elles sont constituées par la dispersion d'un liquide sous forme de globules dans un autre liquide non miscibles.

Les facteurs influençant l'émulsion :

La formation et la stabilisation des émulsions sont en grande partie contrôlées par les propriétés de l'interface séparant les deux phases immiscibles. A l'interface, les molécules des deux phases s'agencent de façon à minimiser l'énergie libre inter faciale.

Les mécanismes de déstabilisation des émulsions :

•**La floculation** : C'est une agrégation des globules : ils se touchent mais gardent leur individualité. C'est une étape réversible : il suffit d'agiter le produit pour réobtenir l'émulsion.

• **La coalescence** : Lors de la coalescence, les globules fusionnent (par rupture de leur paroi) pour former des gouttelettes plus grosses. On parle d'«**agglomération**» des globules. Ceci entraîne la séparation totale des deux phases de manière irréversible.

• **Crémage – Sédimentation** : Lorsque le concentré d'émulsion surnage, c'est-à-dire que les globules flottent en surface, on parle de «**crémage**». Lorsque le concentré d'émulsion reste au fond du récipient (les globules tombent), on parle de «**sédimentation**».

Techniques de stabilisation :

La stabilisation d'une émulsion s'effectue grâce à un ensemble de paramètres :

• La présence de tensioactifs émulsionnants permet de diminuer les tensions sur l'interface entre la phase grasse et la phase aqueuse (caractère amphiphile).

• La présence de gélifiants diminue le risque de floculation en empêchant les globules de bouger à l'intérieur de la phase dispersante.

• La présence d'épaississants rigidifie les lobules et les empêche de fusionner. Ceci diminue donc le risque de coalescence.

• La finesse de la taille des globules diminue leur chance de rencontrer et de fusionner. Elle est la conséquence d'une forte agitation mécanique au moment de la fabrication.

2.8 Propriétés moussantes

Une mousse est un système biphasique comprenant une phase gazeuse et une phase liquide contenant les agents stabilisants l'interface air/eau. La principale caractéristique d'une mousse liquide est sa stabilité. Les mousses sont en effet des systèmes intrinsèques instables d'un point de vue thermodynamique.

Les facteurs influençant le moussage :

• Le murissement : Les petites bulles se vident dans les mousses par diffusion à travers les films liquides à cause de la différence de pression de la place.

• La coalescence : Rupture d'un film séparant deux bulles au sein d'une mousse.

• Le drainage : Ecoulement de la phase continue (liquide) entre les bulles.

3. Domaine d'utilisation du lactosérum

L'utilisation traditionnelle du lactosérum se limite à l'alimentation animale et comme engrais. En revanche de nos jours, ce sont surtout les propriétés techno-fonctionnelles de ses principaux nutriments, notamment le lactose et les protéines, en particulier les albumines, présentent un intérêt par leurs propriétés fonctionnelles.

La solubilité sur une large gamme de pH, pouvoir moussant ou texturant, capacité de rétention d'eau, aptitude à la gélification. En plus, de leur haute valeur nutritionnelle liée En particulier à la présence de protéines riche en acides aminés essentiels dont la lysine et le Tryptophane (**Morr and Ha, 1993**).

Les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des protéines du lactosérum ont rendu son utilisation possible dans de nombreux domaines de l'industrie agroalimentaire (**Damodaran, 1997 ; Moletta, 2002**).

3.1 Applications en industrie agroalimentaire

3.1.1 Fabrication du fromage

Il est remarquable de constater la diversité des pays comme la France, la Suisse et la Belgique, qui ont fabriqué et fabriquent encore des fromages à partir du petit lait (lactosérum). La technique utilisée consiste à chauffer le sérum doux à température proche de l'ébullition et de la trancher avec un acide organique dilué (sérum acidifié, vin blanc aigri ou jus de fruits acides) ; les protéines flocculent se rassemblent à la surface du liquide en subissant une légère cuisson et sont en fin recueillies à l'aide d'une poche perforée permettant un premier égouttage. Le «caillé» est composé notamment d'un réseau de protéines retenant de la matière grasse et des minéraux (**Anonyme ; 1993**).

3.1.2 Fabrication du yaourt

Des tests d'évaluation sensorielle effectués sur des yaourts à base de lactosérum à pH 6,2 à 6,4 ont montré l'acceptabilité de tels produits notamment ceux faits avec 60% de lactosérum, 29% de lait entier homogénéisé et 11 % de poudre de lait écrémé.

Les études montrent que la concentration maximale de lactosérum pouvant remplacer le lait écrémé en poudre dans les yaourts est de 03% et qu'une concentration supérieure à 0,4%. Le lactosérum masque l'arôme spécifique et donne une saveur de parasite prononcée.

Cependant, **Harthman (1975)**, assure que 1à 2% de matière sèche de lactosérum doux ou de lactosérum acide neutralisé peut remplacer un taux équivalent de poudre de lait écrémé dans le yaourt soit de 9,5%, l'addition de taux plus importants de lactosérum provoque des défauts d'arôme et si le taux de poudre de lait écrémé est inférieur à 9,5% les défauts de structures apparaissent dans le produit.

3.1.3 Biscuiterie-pâtisserie

Pour l'amélioration de goût et la texture du fourrage des gaufrettes (**Paillon, 1974**).

3.1.4 Chocolaterie-confiserie

Le lactosérum doux en poudre entre généralement dans les formules en complément du lait en poudre ou du lait écrémé en poudre. Il est apprécié comme exhausteur de goût, notamment dans les barres chocolatées.

3.1.5 Alimentation animale

Les poudres de lactosérum sont utilisées dans les aliments d'allaitement pour veaux. Elles sont également employées, de même que les concentrés liquides, en mélange avec d'autres aliments (hachis de paille, farine..) pour animaux d'élevage (bovins, porcins, volailles) (**Rollema et al., 1989**).

3.1.6 Production d'alcool

Selon **Vrignaud (1983)**, le lactosérum des protéines est fermenté par des kluveromyces (levures qui ont l'aptitude d'assimiler l'acide lactique et de fermenter le lactose avec une

légère production de gaz) pour la production d'alcool éthylique avec des rendements très satisfaisants.

3.1.7 Boissons

Les boissons à base de lactosérum, ont une grande valeur diététique. Elles sont légères, désaltérantes, et très agréables à boire (Nelson et al., 1978).

3.2 Utilisations en biotechnologie

3.2.1 Biotransformation de lactose

A partir de lactose de lactosérum, on peut produire des solvants, des vitamines, des Polysaccharides du méthane, des enzymes, des acides aminés et organiques et de nombreux Autres composés (Rollega et al., 1989). L'ensemble des procédés de fermentation du lactosérum montre que le système de production d'acide lactique est l'un des plus avantageux.

3.2.2 Substrat de fermentation

Le lactosérum par sa composition biochimique possède d'intéressantes propriétés comme milieu de fermentation pour plusieurs microorganismes assimilant le lactose comme source de carbone et d'énergie (Alais, 1975).

3.3 Utilisations en industrie pharmaceutique et cosmétique

Pour la fabrication des crèmes et des pommades, aussi comme des excipients (pour faciliter la formulation des médicaments).

3.4 Pollution dû au lactosérum

Les fromageries écoulent le maximum de leur lactosérum dans les porcheries voisines. Le rejet dans les cours d'eau est à l'origine de pollutions raves dues à la fermentation des matières organiques (en particulier les protéines qui sont décomposées dans le milieu naturel par des bactéries en formant du nitrate).

Chapitre //
Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au niveau de laboratoire de Biochimie, département Biochimie-Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

2.1. Matériel

2.1.1. Echantillons

Les échantillons du lait bovin et caprin proviennent de troupeaux de brebis (Race Berbère) et de chèvre (Race Kabyle) de la région de Mekla, Wilaya de Tizi Ouzou.

2.1.2 Produits chimiques

•Produits d'électrophorèse : acrylamide, N-méthylène-bis-acrylamide, dodécyl sulfate de sodium (SDS), (TEMED), tris-hydroxy-méthyl-aminomethane, glycine, 2-Mercaptoéthanol, persulfate d'ammonium, bleu de bromophénol, bleu de coomassie.

•Autres produits : acide chlorhydrique (6N), hydroxyde de sodium (1N), réactif de Gornall, albumine sérique bovine (BSA), tampon phosphate pH=7.

2.1.3. Appareillage

•Unité d'électrophorèse en mini-cuves (HOEFFER SE 260) composée de : couleur de gel, cuves d'électrophorèse, générateur de courant (max 250V, 100mA), plaques en verre et en hydroxyde d'alumine (10x12 cm), espaceurs de 1mm d'épaisseur.

•Agitateurs magnétiques ;

•Balance de précision (0,01mg) (OHAUS, USA) et balance analytique (0.01g) ;

•Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA) ;

•Lyophilisateur (Telstar, Lyo Quest) ;

•pH-mètre (HANNA) ;

•Spectrophotomètre UV-Visible (SHMADZU).

2.2. Méthodes

2.2.1. Isolement des protéines lactosériques totales

Les protéines sériques bovines et caprines sont séparées à partir du lait entier suivant les étapes illustrées par la figure :

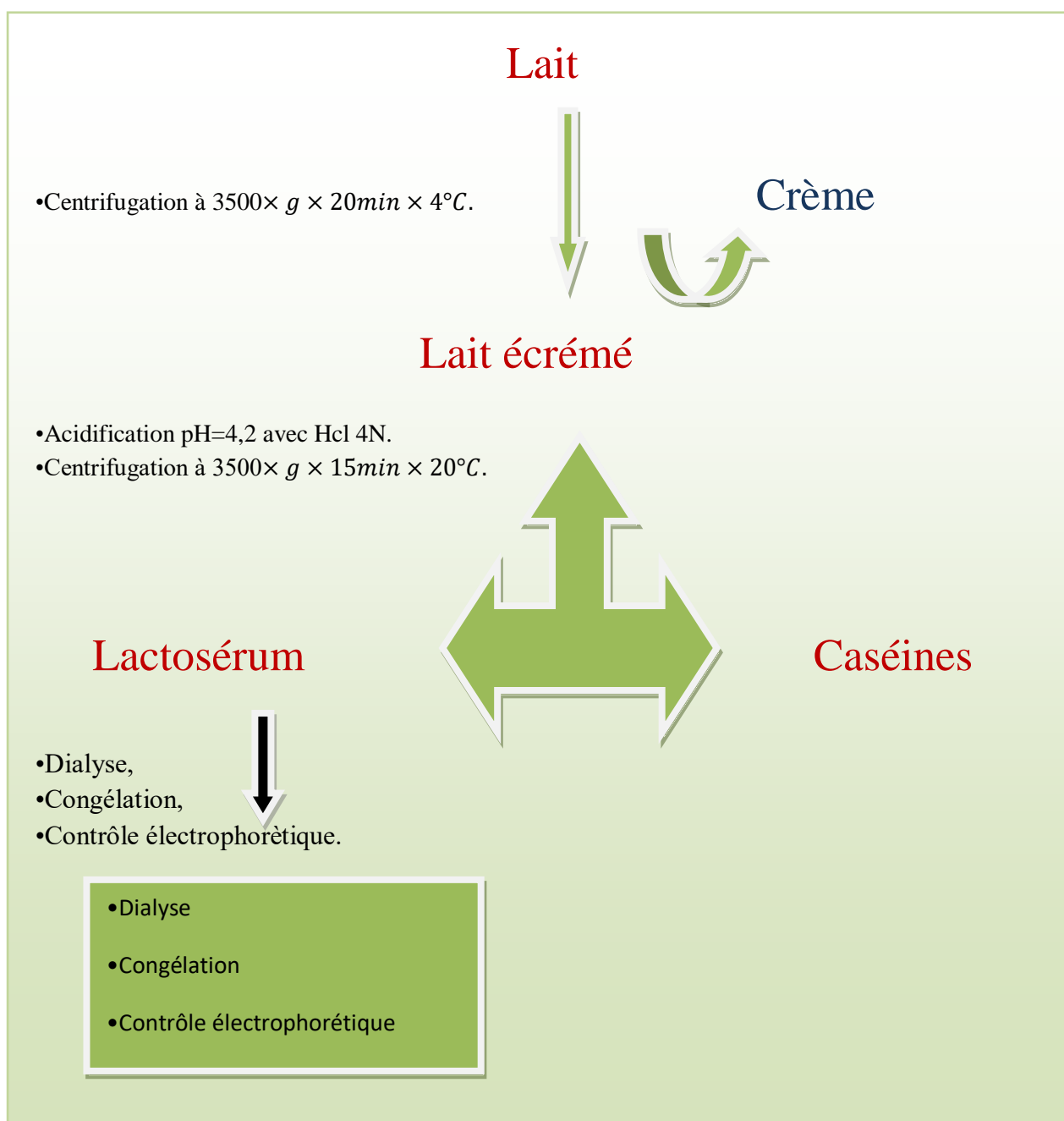


Figure 01 : Etapes suivies pour l'isolement des protéines sériques du lait de chèvre et de brebis.

2.2.1.1. Ecrémage

L'écémage du lait entier est réalisé par centrifugation à 3500g pendant 20 minutes à 4°C. La crème est écartée, alors que le lait écrémé est filtré par une gaze. Cette opération est répétée deux à trois fois afin d'éliminer totalement la matière grasse.

2.2.1.2. L'acidification

La séparation des caséines et des protéines sériques a été réalisée par acidification des laits jusqu'à pH des caséines avec du HCL 4N (4,2 pour le lait ovin et caprin et 4,6 pour le lait bovin). L'acidification a été suivie, d'une centrifugation à 3500g pendant 15 minutes à 20°C. Le surnageant obtenu après cette étape et qui représente la totalité des protéines sériques est neutralisé à pH 7. L'étape de précipitation est répétée une seconde fois afin d'éliminer les caséines résiduelles, qui risquent de contaminer les protéines sériques.

2.2.1.3. Dialyse

Les protéines sériques obtenues sont dialysées contre l'eau distillée pendant 72 heures à 4°C et sous agitation douce, en utilisant des membranes de dialyse avec un seuil de coupure de 8000 Da. L'eau de contre dialyse est changée deux fois par jour.

Cette technique permet de débarrasser les échantillons des molécules dont la taille est inférieure à 8000 Da (lactose, sels minéraux, composés azotés non protéiques).

2.2.1.4 Ajustement des pH

Ajuster chaque 50ml du lactosérum de chaque échantillon à des ph différents pH=2
pH=3 pH=4 pH=6 pH=8 pH=10

2.2.2 Dosage des protéines sériques par la méthode de Biuret

La méthode consiste en une réaction entre la liaison peptidique des protéines et un métal de transition (Cu, Ni...) pour former un complexe stable et coloré. Cette méthode présente un intérêt plus grand pour une détermination quantitative puisqu'elle fait appel à une caractéristique commune à toutes les protéines.

Le principe de cette méthode est le suivant : dans un milieu alcalin, la liaison peptidique forme avec les ions du cuivre (Cu_2^+) contenu dans le réactif de Gornall un complexe de couleur pourpre qui absorbe fortement à 540nm.

La teneur en protéines des échantillons analysés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage établie en utilisant l'Albumine Sérique Bovine (BSA, 50mg/l) comme protéine étalon.

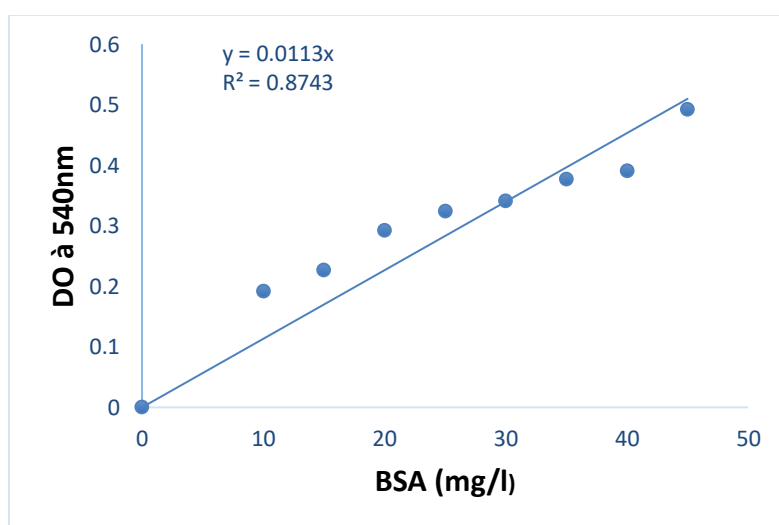


Figure 02 : Courbe étalon du dosage de protéines par la méthode de Biuret réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

2.2.3 Etude des propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques

2.2.3.1 Solubilité

Pour déterminer la solubilité des protéines sériques natives à différents pH, 50 ml de chaque échantillon a été préparé. Ajouter 2ml du réactif de GORNALL puis agiter et incubé à l'obscurité pendant 30 minutes.

Les teneurs en protéines dans les surnageant ont été déterminées par la méthode de Biuret. La solubilité des protéines a été calculée comme suit :

$$\text{La solubilité}(\%) = \frac{\text{Teneur en protéines dans le surnageant}}{\text{Teneur totale en protéines dans l'échantillon}} \times 100$$

2.2.3.2 Pouvoir moussant

Pour déterminer la capacité moussante des protéines natives et à différents pH des deux laits, la méthode décrite par **Sze-Tao et Sathe (2000)** est utilisée. 25ml de chaque échantillon a été transféré dans des éprouvettes graduées de 100ml. A l'aide d'un homogénéisateur, homogénéiser les solutions protéiques à une vitesse de 13500rpm pendant 3 minutes.

Le volume total des échantillons a été mesuré avant et après le fouettage. La capacité moussante (CM) a été calculée par cette équation :

$$CM (\%) = \frac{V' - V}{V} \times 100$$

V' : Volume après homogénéisation.

V : Volume initial avant homogénéisation.

La stabilité des mousses (SM) après 30 minutes est calculée comme suivant :

$$SM(\%) = \frac{V''}{V'} \times 100$$

V'' : Volume après 30 minutes.

V' : Volume après homogénéisation.

2.2.3.3 Pouvoir émulsifiant

Les échantillons ont été préparés par la méthode décrite par **Patel et Kilara (1990)**. 5ml des échantillons (lait de chèvre et lait de brebis) ont été mélangés avec 5ml d'huile d'olive. Les mélanges ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur à 17200rpm par minute pendant 5 minutes.

A partir des émulsions mères, une dilution à 1/500 a été préparée avec la solution SDS 0,1% dans le tampon phosphate PH 7. L'absorbance des solutions diluées a ensuite été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

A partir des valeurs enregistrées, nous avons déterminé la capacité émulsifiante, exprimée par l'indice de l'activité émulsifiante (IAE) et ce paramètre est donné par la formule :

$$IAE(m^2/g) = \frac{2 \times 2,303 \times A500}{f \times l \times c}$$

f : fraction volumique de la phase dispersée.

L : longueur du trajet de la cellule (en mètre).

C : poids du produit par unité de volume de la dispersion du produit (en g/m³).

2.2.4. Méthode électrophorétique

2.2.4.1 Principe

L'électrophorèse est une méthode d'analyse qui permet de séparer, sous l'influence d'un champ électrique des composés ionisés. Ces composés peuvent être des ions minéraux ou organiques, des molécules polarisables comme les acides aminés, les protéines. (**Claverie et panet, 2008**).

2.2.4.2 Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE)

Les gels formés entre deux plaques de verre, sont obtenus par polymérisation d'un mélange d'acrylamide (CH₂ = CH-CO-NH₂) et de bisacrylamide (CH₂ = CH-CO-NH-CO-CH = CH₂), ce qui aboutit à la formation d'un réseau réticulé. Les concentrations en acrylamide et le ratio acrylamide/bisacrylamide déterminent la taille des pores et donc les capacités résolutive du gel. Ces techniques peuvent être utilisées pour séparer des protéines ou bien des acides nucléiques (de courte séquence en général) en conditions natives ou dénaturantes.

L'électrophorèse est réalisée à l'aide d'un montage vertical, les échantillons étant déposés dans des puits localisés au sommet du gel.

2.2.4.3 Electrophorèse en milieu non dissociant et non dénaturant (PAGE-native)

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans les conditions non dénaturantes et non dissociantes (PAGE-native) permet de garder les protéines à l'état natif, la migration des molécules se fait en fonction de leur poids moléculaire et de leur charge (**Wittig et al.,2007**). La PAGE-native une technique résolutive et bien adaptée à la séparation des protéines sériques.

2.2.4.4 Conduite de l'électrophorèse

Le gel de polyacrylamide, est coulé entre une plaque en verre et une plaque en alumine.

Les puits sont obtenus suite à l'introduction d'un peigne entre les deux plaques avant la polymérisation du gel. Après polymérisation, le peigne est retiré puis les échantillons sont déposés dans les puits (15ul sont effectués dans chaque puits). Ils sont préalablement dissous dans un tampon composé de bleu de bromophénol indicateur de la progression de la migration électrophorétique

Celle-ci a lieu sous un voltage et un ampérage constants (250v ; 20mA). A la fin de la migration, le gel est démoulé pour subir les opérations successives suivantes :

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

Partie expérimentale

-La coloration : Le gel est immergé 2 à 4 heures dans une solution de coloration contenant du bleu de coomassie.

-La décoloration : Elle s'effectue sous agitation douce dans des solutions de décoloration renouvelées plusieurs fois.

Résultats et Discussion

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 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,,,, les protéines sériques du lait bovin (lait de référence) 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' α -Lac et en fin de migration la β -Lg (Kingsbury et Gaunt,1967 ; Egito *et al.*, 2001 ; Eriksen *et al.*, 2010).

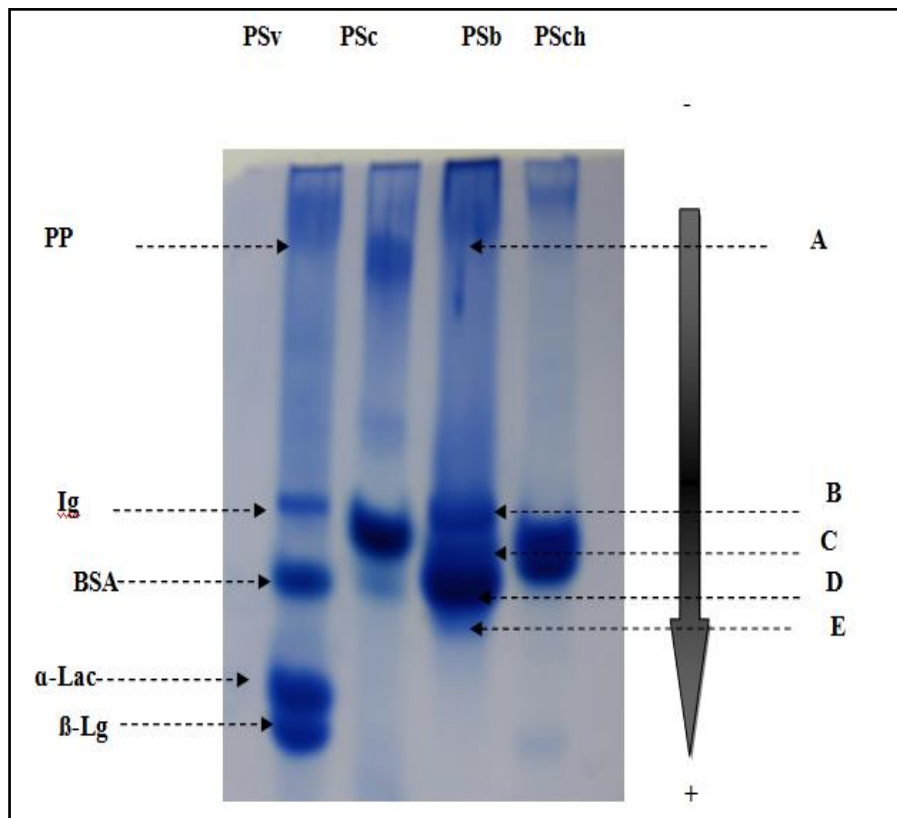


Figure 11 : Profil électrophorétique des protéines du lactosérum en PAGE-native (T=12 ; C=2,9) ; PSv : protéines sériques bovines ; PSc : protéines sériques camelines ; PSb : protéines sériques ovines ; PSch : protéines sériques caprines.

1.1 Comportement électrophorétique des protéines sériques ovines et caprines

Les protéines sériques des échantillons du lait de brebis migrent aussi en cinq bandes notées de A à E. Celles-ci peuvent correspondre aux memes espèces protéiques retrouvées dans la fraction sérique du lait bovin.

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

En premier lieu, les bandes de migration A et C (figure 11) présentent respectivement le meme niveau de migration avec les immunoglobulines et la sérum albumine bovine (BSA), ce qui suggère la possible similitude dans la nature de celle-ci.

En deuxième lieu, les bandes de migration B, D et E présentent des niveaux de migration différents des protéines homologues du lactosérum bovin.

Mati et al., (1991), ont conclu qu'il existe une grande similitude entre les fractions de protéose-peptone (bande B) des laits de vache et de brebis. Elle se distingue particulièrement par rapport à leur homologue bovin par une plus faible mobilité électrophorétique en PAGE-native.

Les bandes de migration D et E qui, selon l'ordre de migration des protéines lactosériques bovines, pourraient correspondre respectivement à l' α -Lac et au β -Lg, ne trouvent aucune bande vis-à-vis dans la piste de migration des protéines sériques bovines. De telles observations sont aussi rapportées par **Amigo et al., (1992)**, qui situent les bandes caractéristiques correspondant à l' α -Lac et à la β -Lg bovine plus en avant que son homologue ovin.

Les protéines sériques caprines migrent en trois bandes, qui peuvent correspondre aux memes espèces protéiques du lactosérum bovin. Nous distinguons une bande fine qui se situe au meme niveau que les Ig bovines, qui peuvent correspondre à la meme espèce protéique dans le lait caprin (**Moualek et al, 2011**).

Deux autres bandes plus intenses qui migrent moins en avant que leur homologue bovin. Ces dernières pourraient correspondre à l' α -Lac et la β -Lg caprines. Le meme résultat a été obtenu par **Amigo et al, (1992)**.

Le PP3 et la BSA n'ont pas été détectées sur le gel, cela pourrait être du à sa faible concentration dans l'échantillon étudié.

2 L'effet du pH sur la solubilité

2.1 Lait de chèvre

Nous observons que la solubilité du lait de chèvre est élevée au pH=2 ; 3. 4, elle est estimée environ à $33,61 \pm 2,03$. Au-delà elle commence à diminuer jusqu'à atteindre une solubilité minimale de $19,89 \pm 1,32$ à pH=8, puis elle remonte à pH=10 avec une valeur de $32,73 \pm 2,02$ (figure 3).

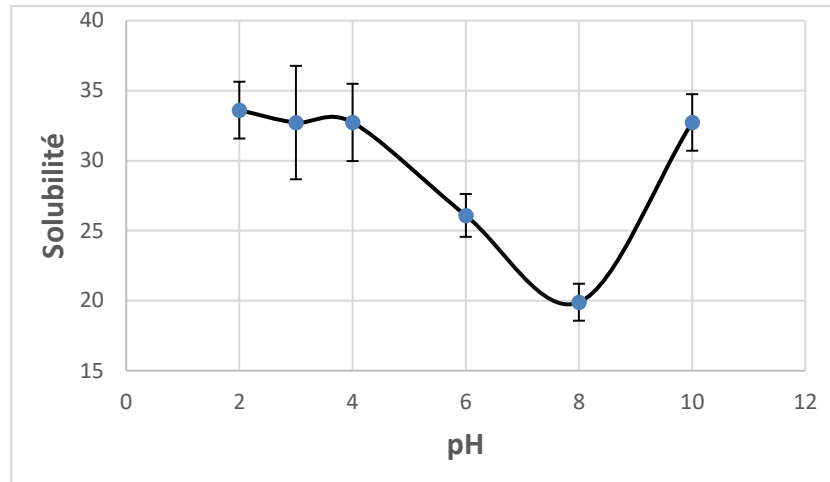


Figure 03 : Effet du pH sur la solubilité du lactosérum du lait de chèvre.

2.2 Lait de brebis

Globalement la solubilité de cet échantillon diminue clairement en fonction de l'augmentation du pH, pour une valeur maximale de $168,24 \pm 95,46$ à $\text{pH}=2$, cette dernière décroît jusqu'à atteindre une valeur de $47,96 \pm 0$ à $\text{pH}=10$ mais ce qui est toute fois à souligner c'est l'irrégularité de la courbe de résultats (figure 4).

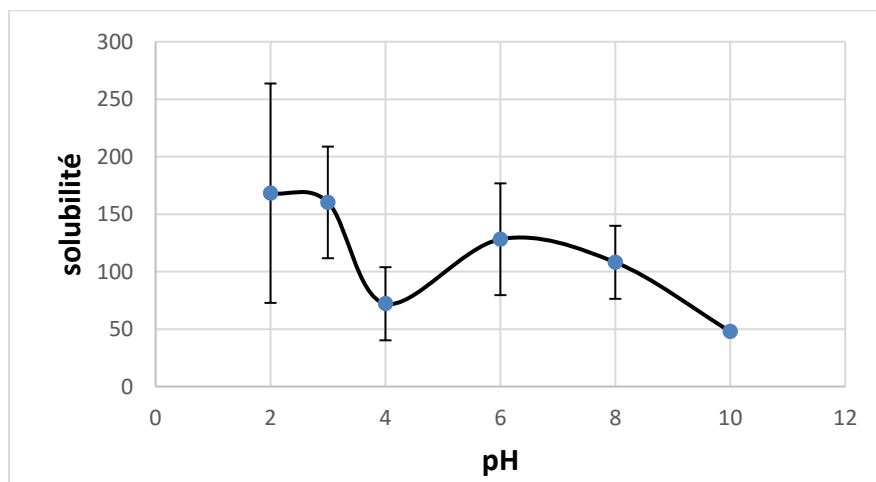


Figure 04 : Effet du pH sur la solubilité du lactosérum du lait de brebis.

La solubilité des protéines sériques caprines est minimale dans l'intervalle de pH 6-8 (pH isoélectrique), cela est dû à l'augmentation des interactions protéines-protéines. La solubilité des protéines sériques caprines augmente à des valeurs de pH inférieurs ou supérieurs à la zone de pH isoélectrique, cela est dû à l'augmentation des interactions protéines-eau.

La solubilité des protéines sériques ovines diminue en fonction de l'augmentation du pH, cela est dû à la précipitation de ces dernières à des pH basiques. Les interactions protéines-protéines sont plus susceptibles à se produire.

3 L'effet du pH sur le pouvoir moussant

3.1 L'effet sur la stabilité des mousses

3.1.1 Lait de chèvre

Les résultats montrent une stabilité de la mousse en fonction des pH, avec une légère augmentation à pH=6 et pH=8 de 96,29 et 98,21 respectivement, avec une valeur maximale de 98,21 prélevée à pH=8 et une valeur minimale de 87,22 à pH=10 (figure 05).

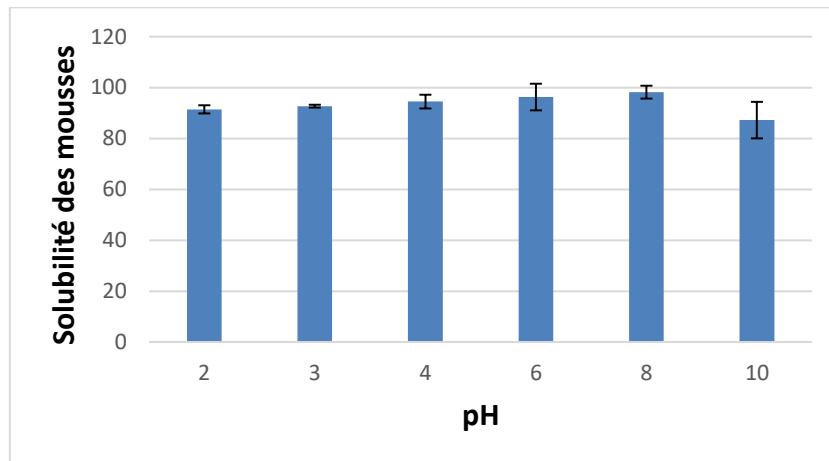


Figure 05 : Effet du pH sur la stabilité des mousses du lactosérum du lait de chèvre.

3.1.2 Lait de brebis

La stabilité des mousses du lait de brebis augmente de pH 4 à PH 10, elle varie de 95,6 à 100.

La stabilité des mousses atteint une valeur maximale de 100 à pH=10, et une valeur minimale de 92,77 à pH=3.

Ce qu'on note clairement sur cette étude est la croissance de la stabilité des mousses par palier, un premier palier pour les pH de 2 à 3 (très acide), un second palier pour les pH de 4 à 8, et un troisième pour pH 10 (figure 06).

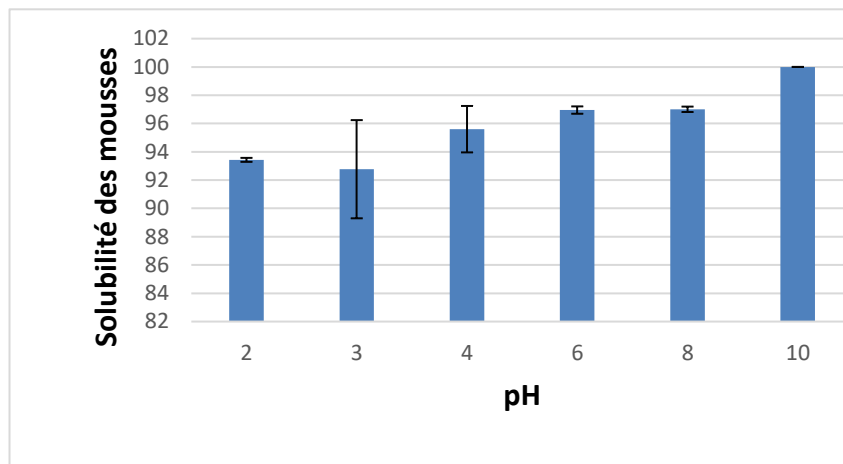


Figure 06 : Effet du pH sur la stabilité des mousses du lactosérum du lait de brebis.

Le lait de chèvre a une meilleure stabilité des mousses par rapport au lait de brebis.

3.2 L'effet sur la capacité moussante

3.2.1 Lait de chèvre

Les résultats montrent que la capacité moussante du lait de chèvre diminue jusqu'à pH=3 ou elle se stabilise entre pH=3 et pH=6 à une valeur de $10 \pm 2,82$ puis commence à augmenter à pH=8 puis diminuer à pH=10 à une valeur de $8 \pm 5,65$ (figure 07).

Donc on voit bien que la capacité moussante se stabilise dans l'intervalle du pH neutre.

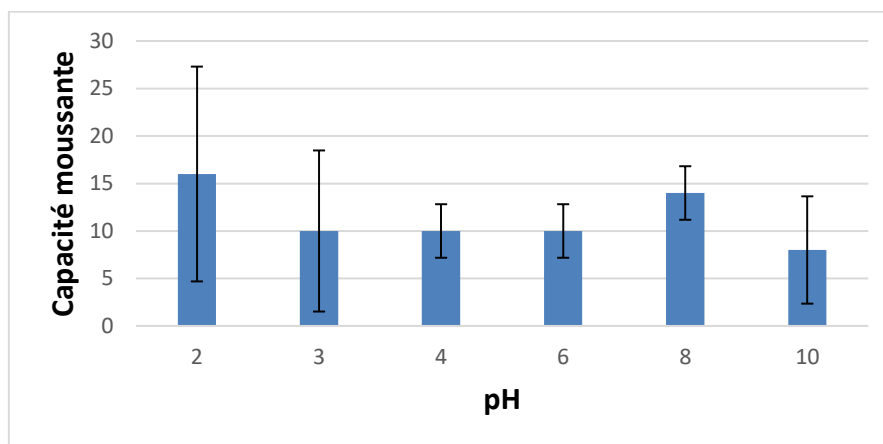


Figure 07 : Effet du pH sur la capacité moussante du lactosérum du lait de chèvre.

3.2.2 Lait de brebis

Les résultats montrent que la capacité moussante est au plus bas à pH=2 à une valeur de $22 \pm 2,82$. Puis une augmentation très rapide à pH= 3 qui est aussi la valeur ou la capacité moussante du lait de brebis est au plus haut à une valeur de $46 \pm 31,1$.

Au-delà du pH= 3, on remarque une décroissance de la capacité moussante jusqu'à pH=10 ou elle revient à sa capacité initiale basse (figure 08).

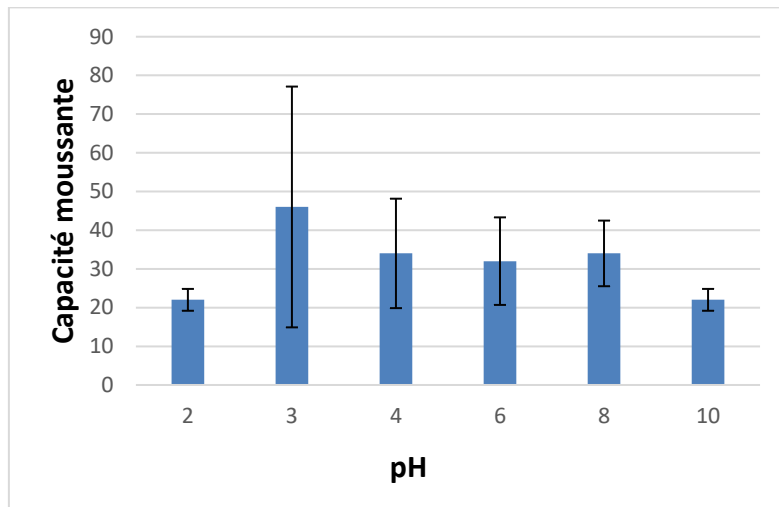


Figure 08 : Effet du pH sur la capacité moussante du lactosérum du lait de brebis.

Le lait de brebis a une meilleure capacité moussante par rapport au lait de chèvre.

D'une façon générale, de nombreuses études sur les protéines associent leur pouvoir moussant à leur capacité à réduire la tension de surface. Très peu d'études ont cependant porté sur les propriétés moussantes spécifiques des protéose peptones totales (PPT).

En effet, les PPT pris séparément n'ont jamais fait l'objet d'une étude portant sur leur caractérisation moussante. Leur rôle a été tout de même mis en évidence dans la capacité globale du lait ou du lactosérum à produire une mousse. À ce niveau, les observations restent assez controversées.

Des auteurs tels que **Zhu et al** notent leur effet négatif sur les propriétés moussantes des protéines du lactosérum (isolat protéique de lactosérum), notamment sur la stabilité de la mousse formée en leur présence. Cette conséquence négative sur la mousse produite est probablement due à leurs actions concurrentielles avec d'autres protéines sériques telles que la β -lactoglobuline et la α -lactalbumine (**Zhu et al., 1994**).

En effet, lorsque la concentration en PPT augmente, la stabilité de la mousse formée avec les protéines du lactosérum diminue. En plus de cette action opposée des protéines sériques, il faut aussi noter celle de certains composants comme les produits de la protéolyse enzymatique (PP5 et PP8) qui ont inévitablement une capacité anti-moussante (**Corradini et al., 1994**). Mais l'aptitude du lait à donner une mousse avec des caractéristiques souhaitées ne dépend pas uniquement des PPT, elle dépend également de la concentration relative des autres composés azotés qui ont des effets contrastés sur cette propriété du lait.

La solubilité des mousses du lait de chèvre est à son maximum à pH=2 et pH=10 donc l'activation des PPT est au maximum, à pH=8 y'aura une inhibition des PPT donc une stabilité maximale.

La solubilité des mousses du lait de brebis atteint son maximum à pH=2 la production des PPT est au maximum, à pH=10 la solubilité des mousses est au minimum donc les mousses sont stables dû à la baisse de production des PPT.

D'après **Linden et Lorient (1994)**, les protéines de lactosérum et les micelles de caséine ont de bonnes propriétés moussantes. Néanmoins **Bouquelet (2008)**, a indiqué que les caséines donnent des mousses abondantes à grosses bulles polyédriques instables. Le lysozyme donne une mousse moins abondante mais beaucoup plus stable (aspect crémeux avec petites bulles). De même **Cheftel et Lorient (1982)** **Lorient et al (1991)**, ont considéré que les caséines et les protéines de sérum ont un bon foisonnement, néanmoins les caséines présentent une faible stabilité des mousses par rapport aux protéines de sérum.

4 L'effet du pH sur le pouvoir émulsifiant

Le lactosérum du lait de chèvre est stable en pouvoir émulsifiant. Il atteint le maximum à des pH acides 2 et 4 à des valeurs de 1,55 et 1,41 respectivement (figure 09).

Le lactosérum du lait de brebis est aussi stable en pouvoir émulsifiant or qu'il atteint le maximum à des pH basiques 6 et 8 à des valeurs de 1,06 et 1,09 (figure 10).

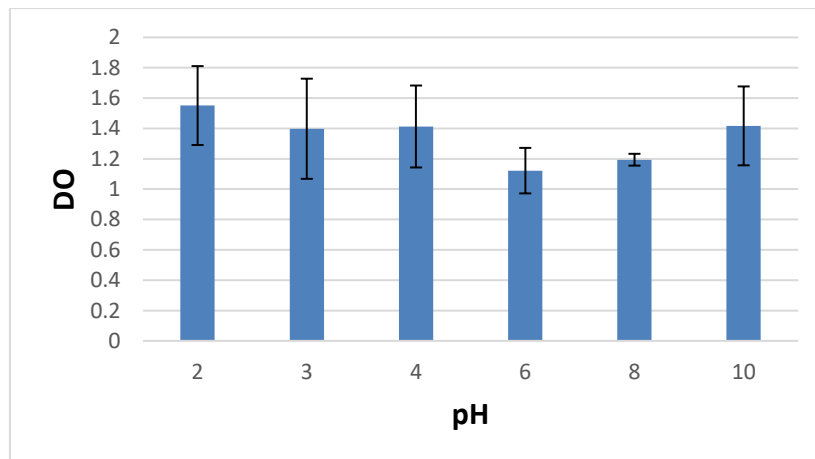


Figure 09 : Effet du pH sur le pouvoir émulsifiant du lactosérum du lait de chèvre.

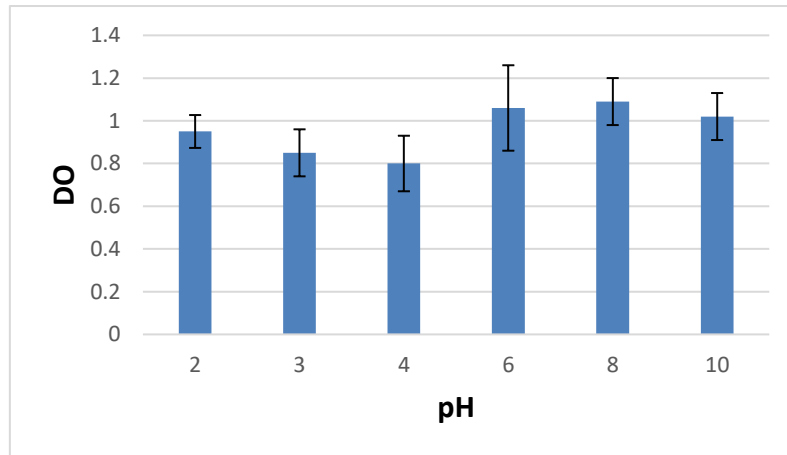


Figure 10 : Effet du pH sur le pouvoir émulsifiant du lactosérum du lait de brebis.

D'après **Cheftel et Lorient (1982)**, les propriétés émulsifiantes sont dues à la faculté de réduire les tensions interfaciales entre composants hydrophiles et hydrophobes d'un aliment. Les mêmes auteurs ainsi que **Lorient *et al* (1991)**, ont tiré de leurs travaux que les propriétés émulsifiantes sont définies par la stabilité (aptitude à garder l'émulsion inchangé pendant un certain temps).

Une comparaison entre les propriétés de quelques protéines du lait, a montré que les caséines ont d'excellentes propriétés émulsifiantes surtout à pH neutre et alcalin, tandis que les protéines de lactosérum ont des bonnes propriétés émulsifiantes sauf à pH 4 et 5. D'autres auteurs, notamment **Cayot et Lorient (1998)**, ont constaté également que les caséinates de sodium et les concentrés des protéines sériques possèdent une activité émulsifiante assez voisine et en même temps supérieure à celle du lait écrémé séché.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les propriétés techno-fonctionnelles des protéines de lactosérum ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales ; toutefois, la reproductibilité et l'interprétation des résultats sont rendues difficiles par divers facteurs de variations.

Grace à la diversité de leur structure spatiale, les protéines du lactosérum possèdent des propriétés techno-fonctionnelles telles que la solubilité, l'émulsification et le moussage qui sont à l'avantage des populations humaines et surtout des industries. Ces propriétés varient en fonction des traitements de préparation qu'elles ont subis.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater que le lait de brebis est plus soluble que le lait de chèvre, ainsi une bonne stabilité au cours du temps par rapport aux propriétés moussantes et émulsifiantes, et cela dépend du pH et de la température.

Nous pouvons aussi constater que l'électrophorèse en PAGE-native a révélé la présence de protéines ovines homologues aux protéines bovines. Les protéines sériques caprines quant à elles migrent en trois bandes.

Références bibliographiques

- Abas Z., (2011)**, Microbiological quality and related factors of sheep milk produced in farms of NE Greece, *Anaerobe*, 17 (6), 276-279.
- Alais C. (1975)**. Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
- Alais C. (1984)**. Science du lait ; Principes des Techniques Laitières. Editions Sepaic, 4^{ème} Ed, Paris.
- Alexpoulos A, Tzatzimakis G, Bezirtzoglou E, Plessas S, Stavropoulou E, Sinapis E et Amigo L., Ramos M. Calhaul L. and Barbosam. (1992)**. Composition of electrophoresis, isoelectric focusing, and immunodiffusion in determinations of cows' and oats' milk in Serra da Esterla cheese. *Le Lait* 72, 95-101.
- Anderson M., Brooker B.E.** -Dairy foams-. In *Advances in Food Emulsions and Foams*, E. Dickinson et G. Stainsby, éd. Elsevier Applied Science, Londres, p. 221-255 (1988).
- Bouquelet S. (2008)**. Les protéines alimentaires in «Biochimie alimentaire», Ed Université des Sciences et Technologies de Lille.
- Cayot P, et Lorient D. (1998)**. Structures et Technofonctions des protéines du lait. *Technique & Documentation*, Lavoisier, Paris.
- Cheftel J. et Lorient D. (1982)**. Aspects technologiques : les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Lait*, 62, 435-483.
- Cheftel J., Cuq J-L. et Lorient D. (1985)**. Protéines alimentaires : Biochimie- Propriétés fonctionnelles- Valeur nutritionnelle- Modification chimique. Tec et Doc. Paris, France.
- Courthaudon J.L., Dickinson E., Matsumura Y., Clark D.C** – Competitive adsorption of β -lactoglobulin + tween 20 at the oil-water interface- . *Colloids Surface*, 56, p. 239-300. (1991).
- Corradini C & Innocente N., 1995**. Surface activity and competitive adsorption of milk components 3 and porcine pancreatic lipase at the dodecane-water interface. In: Dickinson E & Lorient D., eds. *Food macromolecules and colloid* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 58-70.
- Dalgleish D.G** –Food emulsions stabilized by proteins- . *Current Opinion in Colloid & interface Science*, 2, p. 573-577 (1997).
- Damodara, S., 1997**. Protein-stabilized foams and emulsions. *Food Science and Technology*- New York –Marcel Dekker, 57-110.
- Debry J. (2001)**. Lait, nutrition et santé. Tec et Doc, Paris : 21, 566.
- Douliez J.P.** – Self-assembly of hollow cones in a bola-amphiphil/hexadecylamine salt solution-. *J. Am. Chem. Soc.*, 127, no 45, p. 15694-15695 (2005).
- Egito. A.S., Girardet J.M., Miclo L. and Gaillard J.L (2001)**. Highly sensitive periodic acid/schiff detection of bovine milk glycoproteins electro transferred after nondenaturing electrophoresis focusing, *Le Lait*, 81, 775-785.
- Eigel W.N., Butler J.E., Ernstrom C.A., Fanell J.R., Harwalkar V.R., Jenesse R. and Whitney R.M. (1984)**. Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *Journal of Dairy Science* 67, 1599-163.
- Etienne L., Girardet J.M. & Linden G., 1994**. Growth promotion of Bifidobacterium animals by bovine milk proteose-peptone. *Lait* 74, 313-323.
- Fredot E., 2006**: Connaissance des aliments-bases alimentaire et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).

- Gelin J.L., Rizzotti R., Le Meste M., Courthaudon J.L., Lorient D.**-Interactions between food components in ice cream. Part 1 : unfrozen emulsions- . Food Hydrocolloids, 10, p. 385-393(1996).
- Goff H.D.**- Colloid aspects of ice cream- a review- . International Dairy Journal, 7, p. 363-373 (1997).
- Gornall A., Baradawill C. et Mm D. (1949)**, Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J Biol Chem 177, 751-766.
- Graham D.E, and M.C Phillips,1980.** Proteins at liquid interface, V. shear properties J. Collid interface Sci 76: 240-250.
- Gueguen L. (1995).** Apports minéraux par le lait et produits laitiers. Cah, Nutr, Diet, 3, 213-217.
- Haenlein G.F.W et Wendorff W.L., 2006,** Sheep milkproduction and utilization of sheep milk. In: Park, Y.W. and G.F.W. Haenlein, (Eds), Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals, Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK and Ames, Iowa, USA, PP: 137-194.
- Hilali M, El-Mayda E. et B. Rischkowsky., 2011,** Characteristics and utilization of sheep and goat milkin the Middle East, Small Rum. Res, 101: 92-101.
- Israelachvili J.-** Intermolecular and surface forces - . Academic press Limited, London NW1 7DX, second edition, 1992.
- Jandal J.M., 1996,** Comparative aspects of goat and sheep milk, Small Ruminants Research, 22, 177-185.
- Jeanet R. Croyennec T. Mahaut M. Schuch P. Brulé G. (2008).** Les produits laitiers (2^{ème} ed) : Lavoisier.
- Kingsbury Edward T. and Gaunt. Stanley N. (1967).** Heterogeneity in whey proteins of mare milk. Journal of Dairy Science, 60 (2), 274-277.
- Linden G., Lorient D. (1994).** Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production aricole. Edition Masson, Paris.
- Lorient D., Cayot P., 2000.** Les propriétés techno fonctionnelles des protéines de lait. Les protéines laitières : intérêts technologiques et nutritionnels, 4^{ème} conférence européenne d'ARILAIT, 7 novembre. Paris. France.
- Luquet F.M. (1985).** Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome1 : Les laits de la mamelle à la laiterie. Tec & Doc., Coll, STAA, Lavoisier, Paris.
- Luquet M.F. (1990).** Lait et produits laitiers. Vache, brebis, chèvre. Tome 1. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Mati A. (1992).** Les protéoses-peptones dans les laits bovin,ovin etcaprin : Isolement, caractérisation, origine et évolution de la fraction à caractère hydrophobe contenant le composant -3. Thèse Doctorat de l'Université de NANCY, France.
- Morr C.V., Ha, E., 193.** Whey protein concentrates and isolates processing and functional properties. Critical Reviews in Food Science & Nutrition 33, 431-476.
- Moualek I. (2011).** Caractérisation du lait de chèvre colleté localement : Séparation chromatographiques et controles électrophorétiques des protéines. Thèse Magistère, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.
- Mouhous A., Kadi S.A., Djellal F., Guermah H., 2014.** L'élevage caprin laitier, quelles possibilités de soudéveloppement ? Cas de la wilaya de Tizi-Ouzou. 12^{ème} journée

Internationale des Sciences Vétérinaires «Filière des petits ruminants en Algérie : Une richesse à promouvoir».

Rollema H., Mckellar R., Sorhaug T., Suhren G., Zadow J., 1989. Comparison of different methods for the detection of bacterial proteolytic enzymes in milk. *Milchwissenschaft*44, 491-496.

Simos E.N., Nikolaou E.M., Zoiopoulos P.E., 1996, yield, composition and certain physicochemical characteristics of milk of the Epires mountain sheep breed, *Small Ruminants Research* 20, 67-74.

Thieulin M. & Vuillaume R. (1967). Elements pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris :71-73 (388 pages).

Vierling E., (2003). Aliments et boissons: Filières et produits, 2ème ed.

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

Vrignaud Y., 1983. Valorisation du lactosérum, Une longue histoire.

Wittig I., Braun H et Schagger H. (2006). Blue native page, 1(1), 418-428.

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

Zana R. – Partial phase behavior and micellar properties of tetrabutylammonium salts of fatty acids: Unusual solubility in water and formation of unexpectedly small micells. – *Lanmuir*, 20 no 14, p. 5666-5668 (2004).

Zemb T., Dubois M., Deme B., et Gulik-Krzywicki T. – self-assembly of flat nanodiscs in salt-free cationic surfactant solutions. – *Science*, 283, no 5403, p. 816-819 (1999).

Zhu H et Damodara S, 1994. Proteose peptone and physical factors affect foaming properties of whey protein isolate *J. food Sci*, 59 (3), 554-560.

Annexes

Annexe 01 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Biuret

1. Solutions

Solution mère de BSA

BSA.....100mg.

Eau physiologique.....1000ml.

Le réactif de Gornal

Sulfate de cuivre.....5g.

Tartrate double anhydre N⁺, K⁺.....8,70g.

KI.....5g.

NaOH.....24g.

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

2. Gamme étalon

A partir de la solution de BSA (10g/l), des solutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous.

Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	8
[c] BSA (ml)	0	10	15	20	25	30	35	40	50
Solution mère BSA (ml)	0	100	150	200	250	300	350	400	500
Eau physiologique (ml)	500	400	350	300	250	200	150	100	0

3 Méthode

- Ajouter 2ml du réactif de Gornall ;
- Agiter ;
- Laisser incuber les tubes 30min à l'obscurité ;
- Lire les absorbances à 540nm.

4 Expression des résultats

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

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

1. Solutions

Solution d'acrylamide (A)

Annexes

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

Tampon de gel (B)

Tris.....	9,14g.
Eau distillée.....	100ml.

- Ajuster à pH 8,9 avec HCl 4N.

Tampon d'électrode

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

- Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

Tampon du gel (B).....	500ul.
Eau distillée.....	3500ul.
Glycérol 50%.....	1000ul.
Bleu de bromophénol.....	une pincée.

- Mélanger 200ul du lactosérum avec 200ul de ce tampon.

2. Electrophorèse

Préparation du gel (T=12% et 2,7%)

Solution (A).....	3,25ml.
Solution (B).....	5ml.
Eau distillée.....	1,68ml.
TEMED.....	10ul.
Solution de persulfate d'ammonium 10%.....	75ul.

- Couler et mettre le peigne immédiatement

Solution de fixation

Annexes

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

Solution de coloration

Bleu de Comassie R250.....0,55g.

TCA.....4g.
Méthanol.....100ml.
Eau distillée.....100ml.

Solution de décoloration

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

Dépôt d'échantillon : 10 à 15 ul.

Mise sous tension : 20 mA, 250V.

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation.

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration.

Décoloration : dans la solution de décoloration.

Annexe 03 : Solution SDS dans le tampon de phosphate à pH=7

Solution (A)

0,91g de KH_2PO_4 dans 100ml d'eau distillé.

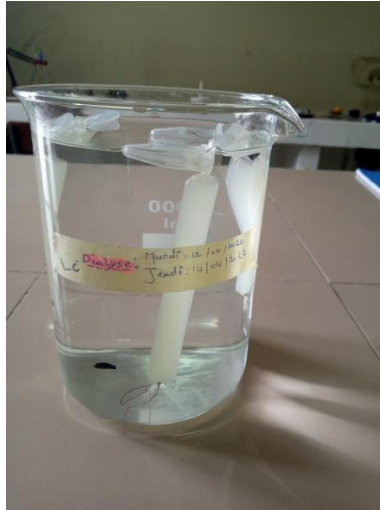
Solution (B)

1,89g de Na_2HPO_4 dans 200ml d'eau distillé.

- Mélanger 82,6ml de la solution (A) avec 117,4ml de la solution (B)
- Rajouter 0,2g de SDS.

Annexe 04 :

Annexes



Dialyse des protéines sériques contre l'eau distillée pendant 72 heures à 4°C sous agitation douce avec un agitateur magnétique.



Centrifugeuse réfrigérée, max 28000 g (SIGMA)



Spectrophotomètre UV-Visible