

**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOULOUD MAMMÈRI 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 des sciences biologiques.

Option : Biochimie Appliquée.

Thème

**ETUDE COMPARATIVE DES PROPRIÉTÉS TECHNO-
FONCTIONNELLES DU LACTOSÉRUM CAMELIN
NATIF ET DÉSAMIDÉ**

Réalisé par :

KABECHE Nassima

NASSANE Dehbia

Encadré par :

M^{me} ALMI-SEBBANE Dalila

Devant le jury

Présidente : Mme. SI AHMED-ZENNIA S.

M.C.A

UMMTO

Promotrice : Mme. ALMI –SEBBANE D.

M.C.B

UMMTO

Examinatrice : Mme. GHEZALI-SENOUSSI C.

M.A.C.A

UMMTO

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Merci à toi, Dieu, autant de fois qu'il ya de particules dans l'univers, d'eau dans la mer et de vies sur terre.

Au terme de ce travail, nous tenons particulièrement à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice M^{me} ALMI-SEBBANE Dalila maitre de conférences à Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour ses orientations, sa patience, sa confiance et ses conseils, tout au long de ce parcours scientifique

Nous tenons également à remercier Mme SI AHMED ZENNIA Saliha maitre de conférences à Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour avoir accepté présider notre mémoire et Mme GHEZALI- SENOUSI Chahra maitre assistante à Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

On tient également à remercier M^{me} AMAR-KHOUDJA Nadial'ingénieur de labo pour sa gentillesse.

On remercie aussi tout le personnel de laboratoire pédagogique Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Je dédie ce modeste travail

A Mon cher grand père qui nous a laissé trop tôt, pour son soutien moral et ses conseils les plus précieux qui m'ont servi dans ma vie et son encouragement. Vous resterez toujours dans mon cœur.

*A Ma grand-mère **Ourdia**, que dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*A Ma chère mère **Djamila**, pour l'affection et l'amour qui m'a donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.*

*A Mon cher père **Hamid**, pour leur amour inconditionnel et pour m'avoir toujours encouragé à continuer mes études. Qu'on le bon dieu leur accord une longue vie.*

*A Mes chères sœurs **Amira** et **Melissa**, vous m'avez toujours aidé et soutenu, que Dieu vous bénisse et vous protège.*

*A Ma chère tante **Yamina**, tous mes remerciements et ma gratitude pour tout votre soutien envers moi. Dieu vous préserve.*

*A Mon cher oncle **Amar**, pour leur encouragement que dieu vous protège.*

NASSIMA

Je dédie ce modeste travail

A Ma grand-mère, que dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé.

A Ma chère mère, pour l'affection et l'amour qui m'a donné le courage et la force dans les moments les plus difficiles.

A Mon cher père, pour son amour inconditionnel et pour m'avoir toujours encouragé à continuer mes études. Qu'on le bon dieu leur accord une longue vie.

A Mes chers Frères et Mes chères sœurs, vous m'avez toujours aidé et encouragé, que Dieu vous bénisse et vous protèges.

Les personnes que j'apprécie étant nombreuses, je ne pourrais les citer toutes, mais elles savent que je leur suis très reconnaissante pour toutes les discussions professionnelles ou personnelles et tous les moments qu'on a partagé ensemble, qu'elles trouvent ici l'expression de mon indéfectible amitié.

DEHBIA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 01

I. Synthèse bibliographique.

1.1 Aperçu sur le dromadaire 03

1.2 Le lait camelin..... 03

1.2.1 La production laitière 04

1.2.2 Les facteurs de variation de la production laitière cameline 04

1.2.3 Caractéristiques de lait camelin 05

1.2.3.1 Caractéristiques organoleptiques..... 05

1.2.3.2 Caractéristiques physico-chimiques 05

1.2.4 Composition chimique et biochimique 06

1.3 Désamidation non enzymatique des protéines 14

1.3.1 Définition et conditions de réalisation 14

1.3.2 Mécanisme de la désamidation non enzymatique 15

1.3.3 Les facteurs influençant sur la cinétique de la réaction 16

1.3.4 Importance de la désamidation non enzymatique 17

1.3.5 Système de la réparation de la désamidation non enzymatique 19

1.4 Les propriétés techno-fonctionnelles des protéines 20

1.4.1 La solubilité..... 20

1.4.1.1 Définition 20

1.4.1.2 Les facteurs influençant sur la solubilité..... 21

1.4.2 Le pouvoir moussant 22

1.4.2.1 Définition 22

1.4.2.2 Les facteurs influençant la formation de la mousse..... 24

1.4.3 Le pouvoir émulsifiant 24

1.4.3.1 Définition 24

1.4.3.2 Les facteurs influençant l'émulsification 27

II. Partie expérimentale.

2.1 Matériel 29

2.1.1 Laits 29

2.1.2 Produits chimiques	29
2.1.3 Appareillage	29
2.2 Méthodes	30
2.2.1 Isolement des protéines lactosériques	30
2.2.1.1 Ecrémage.....	31
2.2.1.2 Acidification.....	31
2.2.1.3 Dialyse.....	31
2.2.1.4 Lyophilisation.....	31
2.2.2 Dosage des protéines sériques par la méthode de biuret	31
2.2.3 Méthode électrophorétique (PAGE Native)	32
2.2.4 Mise en évidence de la désamination spontanée de lactosérum camelin	33
2.2.5 Etude des propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques.....	34
2.2.5.1 La solubilité.....	34
2.2.5.2 Pouvoir moussant	34
2.2.5.3 Le pouvoir émulsifiant	35
2.2.6 Détermination de l'activité antioxydante des protéines sériques.....	36
III. Résultats et discussion.	
3.1 La teneur en protéines sériques	38
3.2 Comportement électrophorétique des protéines sériques en PAGE Native	38
3.3 Modification chimique de lactosérum camelin	39
3.4 L'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques.....	41
3.5 L'effet de la désamidation non enzymatique sur l'activité antioxydante des protéines sériques ..	45
Conclusion générale	46
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Liste des abréviations

ASN	Asparagine
ASP	acide aspartique
BSA	Albumine sérique bovine
CN	Caséine
DSC	Calorimétrie différentielle à balayage (Differential Scanning Calorimetry)
DPPH	2,2-diphenylpicrylhydrazyl
KDa	kilo Dalton
GLN	Glutamine
GLU	Acide glutamique
IsoAsp	Isoaspartate
α-Lac	α -Lactalbumine
β-Lg	β -Lactoglobuline
2-ME	2-mercaptoéthanol
Min	Minutes
PAGE	Electrophorèse sur gel de polyacrylamide.
Ph	Potentiel d'hydrogène.
PHi	pH isoélectrique
PIMT	L-isoaspartyl-méthyltransférase
TCA	Acide trichloracétique
TEMED	N,N,N',N'-tetraméthyl-éthylène diamine
Tris	Tris -hydroxy-méthyl-amino-méthane

Liste des tableaux

N°	Titre	N° de la page
I	Concentrations moyennes comparées en vitamines (C et B3) et en potassium du lait de dromadaire et du lait de vache.	06
II	Composition du lait de différentes espèces (%) (Al Haj et Al-Kanhal, 2010).	06
III	Concentration des différentes séroprotéines dans les laits camelin et bovin.	08

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Structure primaire de l' α Lactalbumine cameline.	10
02	Structure de l' α Lactalbumine (Bushmarina <i>et al.</i> , 2005).	11
03	Courbes de capacité calorifique à ph 7,6 (Atri <i>et al.</i> , 2010).	12
04	Désamidation des résidus d'asparaginyne et de glutaminyne (Catak <i>et al.</i> , 2006).	14
05	Mécanisme de la réaction de désamidation (Koichikato <i>et al.</i> , 2020).	16
06	Mécanisme de la réparation de la désamidation non enzymatique du résidu d'asparagine (Mishra et Mahawar, 2019).	19
07	Structure d'une mousse représentée par un agencement de cellules (Bruchon, 2004).	23
08	Phénomène de murissement d'Ostwald (Brochette, 1999).	26
09	Phénomène flocculation	26
10	Phénomène de coalescence (Brochette, 1999).	27
11	Phénomène de crémage et de sédimentation (Brochette, 1999).	27
12	Etapes suivies pour la séparation des protéines lactosériques camelines.	30
13	Courbe étalon du dosage de protéines par la méthode de Biuret (Gornall et al (1949).	32
14	Structure du DPPH et sa réduction par l'antioxydant (AH)	36
15	Profile électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition non dénaturante et non dissociantes (PAGE-native) des protéines sériques bovines (PSv) et camelines (PSc).	39
16	Profils électrophorétiques sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes (Alcaline-PAGE) des protéines lactosériques cameline natives (LcN) et désamidées (LcD).	40
17	Effet de la désamidation non enzymatique sur la solubilité des protéines sériques camelines natives (LCn) et désamidées (LCd).	41

18	Effet de la désamidation non enzymatique sur la capacité moussante des protéines sériques camelines. Lc : Lactosérum.	42
19	Effet de temps sur la stabilité des mousses. Lc : Lactosérum.	43
20	Effet de la désamidation non enzymatique sur l'activité émulsifiante des protéines sériques camelines. LCn : Lactosérum natif, LCd : Lactosérum Désamidé	44
21	Le pourcentage d'inhibition de DPPH.	45

Résumé :

Le lait de chamelle présente sans aucun doute un intérêt particulier pour les nomades et les populations du sud, car il est parfaitement conforme aux exigences de l'homme vu sa haute teneur en nutriments de base (protéines, lipides), en vitamine C. Son système protecteur naturel puissant (lysozyme, lactoperoxydase, lactoferrine, immunoglobulines) le distingue du lait bovin. Il est constitué de 2,15 à 5 % des protéines.

Ces protéines peuvent subir diverses modifications qui peuvent être bénéfiques ou pas et impliquent le changement de la nature chimique des résidus d'acides aminés. Parmi ces modifications on trouve la désamidation non enzymatique des résidus Asn et Gln. Pour mettre en évidence ce phénomène, le lactosérum du lait camelin collecté dans la région d'Ouargla (Algérie) ont été purifiées puis désamidé dans tampon phosphate de sodium à 37°C et à pH 8,4. Un contrôle électrophorétique a été effectué en conditions non dénaturantes et non dissociantes (PAGE-Native).

Il a été rapporté que cette modification permet d'améliorer les propriétés techno-fonctionnelles des protéines végétales. Afin d'évaluer son effet sur les protéines sériques camelines plusieurs méthodes ont été utilisées. Tel que l'agitation pour le pouvoir moussant, la méthode de biuret pour la solubilité et mesure des absorbances pour l'émulsifiant. Et à la fin un test d'activité antioxydante a été effectué par le piégeage du radical DPPH. Les résultats obtenus montrent une amélioration des propriétés de lactosérum désamidées comparativement aux natives. D'après ces résultats en concluant que la désamidation non enzymatique de l' α -Lac cameline présente des propriétés fonctionnelles plus importantes que α -Lac natif.

Mots clés : lait camelin, α -Lactalbumine, désamidation non enzymatique, propriétés moussantes, propriétés émulsifiantes, solubilité.

Summary

Camel milk is undoubtedly of particular interest to nomads and southern populations, as it is perfectly in line with human requirements given its high content of basic nutrients (proteins, lipids), vitamin C. Its powerful natural protective system (lysozyme, lactoperoxidase, lactoferrin, immunoglobulins) distinguishes it from bovine milk. It consists of 2.15 to 5 % of serum proteins.

These proteins can undergo various modifications that may or may not be beneficial and involve changing the chemical nature of the amino acid residues. Among these modifications is the non-enzymatic deamidation of Asn and Gln residues. To demonstrate this phenomenon, camel milk whey collected in the region of Ouargla (Algeria) was purified and deamidated in sodium phosphate buffer at 37°C and pH 8.4. After four days of incubation, an electrophoretic control was performed under non-denaturing and non-dissociating conditions (PAGE-Native).

It has been reported that this modification improves the techno-functional properties of plant proteins. In order to evaluate its effect on camel serum proteins, several methods were used. Such as stirring for foaming power, biuret method for solubility and measured absorbances for the emulsifier. And at the end a test of antioxidant activity was carried out by the scavenging of the DPPH radical. The results obtained show an improvement in the properties of deamidated whey compared to the native ones. From these results it is concluded that non-enzymatic deamidation of camelina α -Lac has more important functional properties than native α -Lac.

Keywords: camel milk, α -Lactalbumin, non-enzymatic deamidation, foaming properties, emulsifying properties, solubility

INTRODUCTION

Introduction

Depuis un temps très lointain, le lait de chamelle constitue une principale ressource alimentaire pour les peuples nomades qui le consomme habituellement. Il présente une composition physico-chimique relativement ressemblante de celle du lait bovin et commune avec le lait de la femme de fait de l'absence de la β -Lactoglobuline dans les deux laits. Ce lait se singularise néanmoins par une teneur élevée en vitamine C et par la présence d'un puissant système protecteur, lié à des taux relativement élevés en Lysozyme, en Lactoperoxydase, en lactoferrine et en bactériocines produites par les bactéries lactiques.

Les protéines de lactosérum se définissent comme la fraction protéique soluble obtenue lors de la précipitation des caséines. Elles représentent 20% de l'azote totale du lait. La fraction protéine soluble de lait camelin contient une protéine majeure, l' α -lactalbumine et d'autres constituants : le sérum albumine cameline, lactoferrine, des immunoglobulines, les protéoses peptones.

Les protéines sériques sont caractérisées par des propriétés immunitaires et nutritionnelles ainsi que techno-fonctionnelles très intéressantes et recherchées dans les divers domaines d'utilisation (pâtisserie, pharmacie, produits agroalimentaires, aliments diététiques...). Les propriétés techno-fonctionnelles de ces protéines ont fait l'objet de nombreuses études expérimentales.

Les modifications chimiques des protéines alimentaires sont réalisées dans le but d'améliorer leurs propriétés fonctionnelles (la solubilité, les propriétés émulsifiantes, moussantes, d'hydratation et de gélification).

L'orientation de la demande du consommateur vers des aliments fonctionnels, c'est-à-dire possédant des composants physiologiquement actifs aux effets bénéfiques pour la santé, au-delà de la simple nutrition de base, conduit les industriels à rechercher des protéines aux propriétés multifonctionnelles combinant techno-fonctionnalité et activités biologiques. La modification des protéines visant à leur conférer de telles propriétés reste encore une voie peu exploitée.

Introduction

Parmi les modifications chimiques, il y a la désamidation non-enzymatique (DNE) des protéines. C'est une réaction qui peut se faire par voie chimique ou enzymatique (Hamada et Swanson, 1994), elle consiste en l'élimination d'un amide pour conduire à un acide carboxylique. Cette réaction se traduit par la disparition des groupements amides de l'asparagine et de la glutamine et leur transformation en acide aspartique et acide glutamique respectivement. Cette modification entraîne une augmentation de la solubilité des protéines et accroît la capacité des protéines à stabiliser les mousses et les émulsions (Gaspar et De Góes- Favoni, 2015)

La présente étude a pour but de mettre en évidence l'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques camelines. Pour la présentation de ce travail, nous avons donc retenu le plan suivant :

- Isolement des protéines sériques de lait camelin et contrôle électrophorétique en PAGE native ;
- Mise en évidence de la désamidation spontanée des protéines sériques camelines ;
- Etude des propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques camelines désamidées en comparaison avec les protéines sériques natives.

Synthèse des données Bibliographiques

1.1 Aperçu sur le dromadaire

Le nom « dromadaire » dérive du terme grecque « *dromados* » qui veut dire course pour son utilisation dans le transport. Il est donné à l'espèce de chameau à une seule bosse, appartenant au genre *Camelus* de la famille des *Camelidae* et dont le nom scientifique est *camelus dromedarius*. Le genre *camelus* comprend une deuxième espèce *Camelus bactrianus* ou chameau à deux bosses.

Le dromadaire appartient à l'embranchement des vertébrés, classe des mammifères ongulés et sous classe des placentaires. Il appartient à l'ordre des Artiodactyles, sous-ordre des Tylopodes (Khan *et al.*, 2003).

Le dromadaire vit dans les régions chaudes, arides et semi-arides de la planète. Il serait originaire de l'Amérique du Nord, où le plus ancien fossile de *Camelidae* a été trouvé d'où il aurait rejoint l'Asie et l'Afrique, à la suite des glaciations qui sévirent dans pratiquement la quasi-totalité de l'hémisphère nord de la planète durant l'ère tertiaire (Dick *et al.*, 2011).

En Algérie, l'effectif camelin est estimé à 344000 têtes, selon les statistiques de la DSV-MADR en 2014. Le dromadaire est présent dans 17 Wilayas (8 Sahariennes et 9 Steppiques). 75 % du cheptel est dans les Wilayas Sahariennes (dont 54% sont répartis essentiellement sur trois grandes wilayat, en l'occurrence Tamanrasset, Tindouf et Adrar) et 25% du cheptel est dans les Wilayat Steppiques (Ben Aissa, 1989).

1.2 Lait camelin

Le lait est défini comme étant le produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (Alais, 1975).

Le lait de chamelle constitue depuis des temps très lointains, la principale ressource alimentaire pour les peuplades nomades où sa richesse en vitamine C constituant un apport nutritionnel important dans les régions arides où les fruits et les végétaux contenant cette vitamine sont rares (Siboukeur, 2007). Il ressemble un peu à celui de vache par sa composition physico-chimique et est plus proche de celui de femme par l'absence de la β lag (Lasnami, 1986).

La valeur calorique du lait de chamelle (665 kcal / l) est similaire à celle du lait de vache (701 kcal / l) (Boussouar, 2017).

Synthèse des données Bibliographiques

Le lait de chamelle comporte une teneur élevée en facteurs antibactériens (Lactoferrine, Lactopéroxydase et Lysozyme) ce qui confère à ce lait une capacité particulière à se conserver quelques jours à des températures relativement élevées (30°C) et 2 semaines à (7°C) (Haroun Omer et Eltinay, 2009).

I.2.1 La production laitière

La contribution de la chamelle à la production laitière mondiale est assez limitée, mais elle est essentielle pour les populations des régions arides et semi arides (Faye, 2003).

Le premier producteur mondial du lait de chamelle est le Kenya (1 165 210 tonnes/an), suivie par la Somalie (958 221 tonnes/an) (FAO, 2019). L'Algérie est à la 12^{ème} place avec une production estimée par la FAO (2019) à 14 784 tonnes/an. Une grande partie de cette production est consommée localement par les familles des éleveurs ou par les petits chamelons.

Les données concernant le potentiel laitier de la chamelle sont assez variables selon le type d'élevage utilisé. La production journalière moyenne en Ethiopie semble se situer au voisinage de 2 litres par jour en élevage extensif traditionnel (Tefera et Gebreah, 2001). Alors que des taux de 40 litres par jour ont été enregistré en élevage intensif (Hashim *et al.*, 2009).

I.2.2 Facteurs de variation de la production laitière cameline

La variation de la production du lait de chamelle est la conséquence de plusieurs facteurs :

Type d'alimentation

La production laitière des chameles varie en fonction de l'alimentation. Comme le bovin, l'alimentation reste le facteur le plus déterminant. L'amélioration des conditions alimentaires (régimes riches en fourrages verts renfermant de la luzerne, du mélilot ou du chou) prolonge la période de lactation et augmente la quantité du lait produit jusqu'à atteindre parfois le double (Ramet, 1993 ; Faye *et al.*, 1995). Par ailleurs, la disponibilité ou non de l'eau n'influence presque pas cette production qui n'est que faiblement diminuée en période de sécheresse (Farah, 1993 ; Yagil *et al.*, 1994).

Stade de lactation

Le stade de lactation est aussi prépondérant. En effet, une fluctuation de la production laitière est observée entre le début et la fin de la lactation. La plus grande partie du lait est produite durant les sept premiers mois, la durée de lactation est très variable de 8 à 18 mois en général (Siboukeur, 2007).

Fréquence de la traite

La quantité et la qualité du lait évoluent avec la fréquence de la traite. Le passage de deux à trois traites par jour augmente la production journalière de 28,5%, et les quantités produites sont différentes d'une traite à l'autre. La traite du matin donne plus de lait, mais ce lait est pauvre en matière grasse et par conséquent plus dense que celui des deux autres traites (Kamoun, 1995).

La race

La composition du lait est influencée essentiellement par les facteurs génétiques. À l'intérieur d'une même race, il existe des différences de production. Généralement, les races camelines asiatiques sont considérées comme meilleures races laitières que celles africaines (Ramet, 1993).

Les conditions climatiques

La variabilité saisonnière du disponible fourrager, associée aux facteurs strictement climatiques (chaleur, aridité), joue évidemment sur les performances laitières de la chamelle. La différence selon la saison de mise bas des jeunes peut jouer sur plus de 50 % de la production : les performances laitières sont plus faibles en fin de saison sèche qu'en saison de pluie et sur la composition du lait (Faye, 2004).

I.2.3 Caractéristiques du lait camelin

I.2.3.1 Caractéristiques organoleptiques

Le lait de chamelle est de couleur blanc mat, en raison de la structure et de la composition de sa matière grasse relativement pauvre en β -carotène. Il a une saveur douce, légèrement sucrée, avec un goût acide, parfois même salé (El Imam Abdalla, 2012). Cette variabilité dans le goût est liée à la disponibilité en eau et au type de fourrage comme la luzerne, donne un goût sucré, certaines plantes halophytes le rend salé (Sboui *et al.*, 2009).

I.2.3.2 Caractéristiques physico-chimiques

Le pH du lait camelin se situe autour de $6,68 \pm 0,12$; il est similaire à celui du lait de brebis, mais un peu acide par rapport à celui du lait bovin (6,8) (Ghennam *et al.*, 2007). Son point de congélation est entre -0,53 et -0,61 (Hassan *et al.*, 1987) et sa densité est de $1,028 \pm 0,002 \text{ g/cm}^3$, cette densité le rend moins visqueux que le lait de vache (Boussouar, 2017). Il présente une acidité titrable de l'ordre de 15,6 °D (Ghennam *et al.*, 2007).

1.2.4 Composition chimique et biochimique

Les laits ont des caractéristiques communes, ils sont composés: d'eau, de matière grasse, de lactose, de caséines et protéines sériques, de sels minéraux notamment de calcium, des vitamines. Mais leur composition varie, qualitativement et quantitativement, selon les espèces.

Le lait camelin contient un taux plus élevé en vitamine C et B3, en fer et en potassium (Tableau I).

Tableau I : Concentrations moyennes comparées en vitamines (C et B3) et en potassium du lait de dromadaire et du lait de vache (mg/ml).

	Lait camelin	Lait de vache	Références
Vitamine C	26,2 - 50,39	2,91-22,29	El Agamy <i>et al.</i> , (2009)
Niacine (Vit B3)	4,46	0,63	Kappeler (1998)
K	2700	1360	Haddadin <i>et al.</i> , (2008)
Fe	4,4	0,5	El Agamy <i>et al.</i> , (2009)

Le lait de chamelle contient une composition relativement similaire à celle du lait bovin (Tableau II).

Tableau II : Composition du lait de différentes espèces (%) (Al Haj et Al-Kanhal, 2010).

	Eau	Protéines	Matière grasse	Cendre	Lactose
Chamelle	86-88	3,0-3,9	2,9-5,4	0,6-0,9	33-5,8
Vache	85-87	3,2-3,8	3,7-4,4	0,7-0,8	4,8-4,9
Chèvre	87-88	2,9-3,7	4,0-4,5	0,9-10	3,6-4,2
Brebis	79-82	5,6-6,7	6,9-8,6	0,8-0,9	4,3-4,8
Maternelle	88-89	1,1-1,3	3,3-4,7	0,2-0,3	6,8-7,0

1.2.4.1 Glucides

Le lactose est le glucide majoritaire présent dans le lait camelin. Le lait contient près de 4,8% de lactose, sa teneur fluctue entre 2,5 et 5,6%, dans le lait de camelin, sa teneur varie légèrement avec la période de lactation.

1.2.4.2 Matière grasse

La matière grasse laitière est constituée essentiellement des lipides et des substances lipoïdiques. Le lait de chamelle est en moyenne plus faible en matière grasse que le lait de vache. Cependant, les globules gras du lait de chamelle sont de très petites tailles (1,2 à 4,2 μm de diamètre) et restent donc en suspension même après 24 heures de repos, contrairement au lait de vache dans lequel ces globules constituent une couche grasse en surface au bout de quelques heures. Par ailleurs, la matière grasse du lait de chamelle apparaît liée aux protéines, tout ceci explique la difficulté à baratter le lait de chamelle pour en extraire le beurre. Comparée au lait de vache, la matière grasse du lait de chamelle contient moins d'acides gras à courtes chaînes (Siboukeur, 2007).

1.2.4.3 Les protéines

De part leur apport nutritionnel (source d'acides aminés essentiels) et leurs propriétés techno-fonctionnelles, les protéines de lait revêtent une importance considérable au double plan quantitatif et qualitatif. La teneur en protéines dans le lait camelin est comparable à celle du lait bovin (33 g/l). La composition en acides aminés de ces protéines est aussi très similaire à celle rapporté dans le lait bovin.

Selon leur solubilité en milieu acide, ces protéines se répartissent comme pour les laits d'autres espèces, en deux fractions : les caséines précipitent à leur point isoélectrique se situant à 4,3 (Wangoh *et al.*, 1993) et les protéines sériques restent solubles dans cette zone de pH considérée.

Les caséines

Les caséines sont des phosphoprotéines élaborées dans les cellules lactogènes mammaires. Le lait de dromadaire contient à peu près 1,63 à 2,76 % des caséines qui représentent environ 52 à 87 % des protéines totales (Mehaia *et al.*, 1995 ; Al Haj *et al.*, 2010). La composition des caséines camelines en acides aminés est caractérisée par un faible

Synthèse des données Bibliographiques

taux en glycine et en cystéine et cette composition est identique à celle de leurs homologues bovins (Kappeler *et al.*, 1998).

Les caséines du lait s'organisent sous la forme micelles. Ces micelles sont composées de quatre types de caséines (α 1-CN, α 2-CN, β -CN, κ -CN) en interaction avec un complexe minéral de phosphate de calcium de taille variable (Payens, 1982). La caséine β est la principale fraction caséinique du lait de chamelle (65%), contre 36% dans le lait de vache, suivie de la caséine α 1 (21%) et α 2 (19 %), contre 38% et 11% respectivement dans le lait de vache (Al Haj et Al kanhal, 2010).

Le lait de chamelle est similaire au lait humain en ce qui concerne ce pourcentage élevé en caséine β , ce qui pourrait refléter son taux de digestibilité plus élevé et une plus faible incidence allergique dans l'intestin des nourrissons que le lait bovin (El Agamy *et al.*, 2009 ; El-hatmi *et al.*, 2012). La caséine κ représente seulement 3,47% de la caséine cameline totale (Kappeler *et al.*, 2003), contre 13% dans le lait bovin.

Les protéines du lactosérum

Le terme « protéines sériques » désigne les protéines du lait qui restent solubles après précipitation des caséines à pH isoélectrique (Farrell *et al.*, 2004). Ce sont des protéines globulaires diversifiées en structure et en propriétés (Dewi et Klarenbeek, 1984).

Les protéines de lactosérum sont la deuxième composante principale des protéines de lait camelin, elles constituent 20 à 25% des protéines totales (Kappeler *et al.*, 1998). La teneur en protéines lactosériques dans le lait de chamelle se fluctue entre 0,9 à 1,0 % de la composition globale du lait et elle est plus importante que celle du lait de vache, avec 0,7-0,8 % (Al Alawi et Laleye, 2011).

Les protéines sériques englobent une fraction protéique composée : l' α -Lactalbumine, β -Lactoglobuline, la sérum albumine, les immunoglobulines et les protéines mineures telles que la Lactoferrine, le Lysozyme, la Lactoperoxydase (Farrell *et al.*, 2004 ; Fillion, 2006) (Tableau III).

Synthèse des données Bibliographiques

Tableau III : Concentration des différentes séroprotéines dans les laits camelin et bovin en g/l

Protéines	Lait de vache ^a	Lait de chamelle ^b
Les protéines sériques totales	5,7	3500
α -Lac	3,05	3,5
β -Lac	0,66	Absente
BSA	0,35	8,5
LF	0,47	9,5

a: Potocknik *et al.*, (2011). b: Kappler *et al.* (2003). α -Lac : lactalbumine, β -lac : lactoglobuline, BSA : sérum albumine, LF : Lactoferrine

Lactoferrine

La lactoferrine (LF) cameline a 689 résidus d'acides aminés avec un PM de 75,3 kDa et un point isoélectrique à pH 8,63. Sa concentration est de 220 mg/l. Cette protéine appartient à la famille des transferrines qui possèdent comme propriété commune le transport du fer. Elle présente 94,7% de similitude avec celui retrouvé dans le lait bovin (Kappler *et al.*, 1999).

Lactopéroxydase

C'est une enzyme d'oxydoréduction (Tayefi-nasrabadi *et al.*, 2011) à activités bactériostatique et bactéricide principalement sur les bactéries GRAM négatif (Medjour, 2014). La lactopéroxydase du dromadaire est une protéine monomérique qui présente une grande similarité au niveau de la séquence d'acides aminés (94,9%) avec son homologue bovin et un pHi de 8,63. Le PM de cette protéine se situe entre 69 à 78 kDa alors que celui du bovin est de 72,5 kDa (El Agamy *et al.*, 1996). La séquence de cette protéine cameline est formée de 611 acides aminés, dont 15 résidus cystéine.

Lysozyme

Le lysozyme est une enzyme bactériolytique présente naturellement dans les laits de mammifères (Konuspayeva *et al.*, 2004). Elle hydrolyse la liaison β (1-4) entre l'acide muramique et la glucosamine de mycopolysaccharide de la paroi des bactéries GRAM positif (Debry *et al.*, 2001; Benkerroum, 2008). Le lait de chamelle contient une concentration plus élevée de lysozyme (15 μ g/100 ml) contre (7 μ g/100 ml) pour le lait de vache (Elagamy *et al.*, 1996).

Synthèse des données Bibliographiques

Le lysozyme contient une chaîne polypeptidique de 129 acides aminés, avec un poids moléculaire d'environ 14 kDa. Dans le milieu physiologique, le lysozyme est chargé positivement, son pHi étant compris entre 10,5 et 11 (alcalin). Le lysozyme se lie en conséquence électrostatiquement sur les surfaces anioniques des bactéries (Bezzalla *et al.*, 2013).

Les immunoglobulines

Les immunoglobulines se distinguent par l'organisation de leurs chaînes lourdes qui diffèrent complètement de ce qui est connu chez les autres vertébrés (Konuspayeva *et al.*, 2004).

Les immunoglobulines (Igs) représentent environ 10% des protéines totales du lactosérum. Le colostrum et le lait de chamelle sont très riches en Igs particulièrement les IgG (IgG1 et IgG2) IgA et IgM (El-Hatmi *et al.*, 2006). La concentration en IgG dans le lait camelin est de 1,64 mg/ml. Cette concentration est de 0,67 mg/ml dans le lait de vache (El-Agamy *et al.*, 2009). Elles présentent une structure unique qui est dépourvue des chaînes légères, avec une partie très étendue portant les CDR « Complementary Determining Region » (DALEY *et al.*, 2005), et se distinguent par l'organisation de leurs chaînes lourdes qui diffèrent complètement de ce qui est connu chez les autres vertébrés (Konuspayeva *et al.*, 2004).

Les Igs sont les plus sensibles à la dénaturation thermique (Elagamy, 2000). Ces immunoglobulines présentent une activité inhibitrice sur les enzymes et ils agissent comme de vrais inhibiteurs compétitifs en pénétrant dans leurs sites actifs (Lauwerays *et al.*, 1998). Sur le plan fonctionnel, les immunoglobulines jouent un rôle dans le transfert de l'immunité passive chez le nouveau-né, en particulier lors des deux premiers jours de la lactation durant lesquels leur concentration dans le colostrum est maximale (Kelly, 2003).

α -Lactalbumine

L' α -Lactalbumine (α -Lac) est une métalloprotéine globulaire compacte qui transporte le calcium, elle est synthétisée par les glandes mammaires. C'est la protéine majeure du lactosérum camelin, avec un poids moléculaire de 14,2 kDa et un pHi acide (4-5) (Permyakov et Beliner, 2000).

Elle présente deux variants génétiques notés A et B qui ont des masses moléculaires similaires mais des pHi différents (5,1 et 5,3 respectivement) (Conti *et al.*, 1985).

La structure primaire de L' α -Lac cameline comporte 123 résidus d'acides aminés, elle présente une forte similitude avec les protéines homologues des laits de vache, de chèvre et de femme (Permyakov et Beliner, 2000).

Synthèse des données Bibliographiques

L' α -Lac cameline est très riche en acides aminés essentiels notamment en cystéine (8 résidus) qui sont impliqués dans la formation de ponts disulfures (Farrell, 2008). Sa séquence primaire est présentée sur la figure 01.

KQFTKCKLSD ELKDMNGHGG ITLAEWICII FHMSGYDTET VVSNNGNREY
GLFQINNKIW CRDNENLQSR NICDISCDKF LDDDLTDDKM CAKKILDKEG

Figure 01 : Alignement de la structure primaire de l' α -lactalbumine cameline.

Les numéros d'accèsion dans *SwissProt* sont en italiques

La structure secondaire de l' α -Lac cameline (Figure 02) est constituée de deux domaine : un large domaine en hélice α et un petit domaine en feuillets β (Permyakov et Beliner, 2000). Le domaine α est composé de trois hélices α majeures (résidus 5-11, 23-24, et 86-98) et de deux courtes hélices β (résidus 18-20, et 115-118). Le petit domaine est composé d'une série de boucles, d'un petit feuillet β antiparallèle à trois brins plissé (résidus 41-44, 47-50 et 55-56) et d'une courte hélice β . Globalement, la structure de l' α -Lac est stabilisée par quatre ponts disulfures, deux dans le domaine α (Cys28- Cys11, Cys6- Cys120), un dans le domaine β (Cys61- Cys77) et un pont qui connecte le domaine α et le domaine β , formant la boucle de liaison au Ca^{2+} . Cette dernière assure la stabilisation de la structure native de l' α Lac (Permyakov et Beliner, 2000).

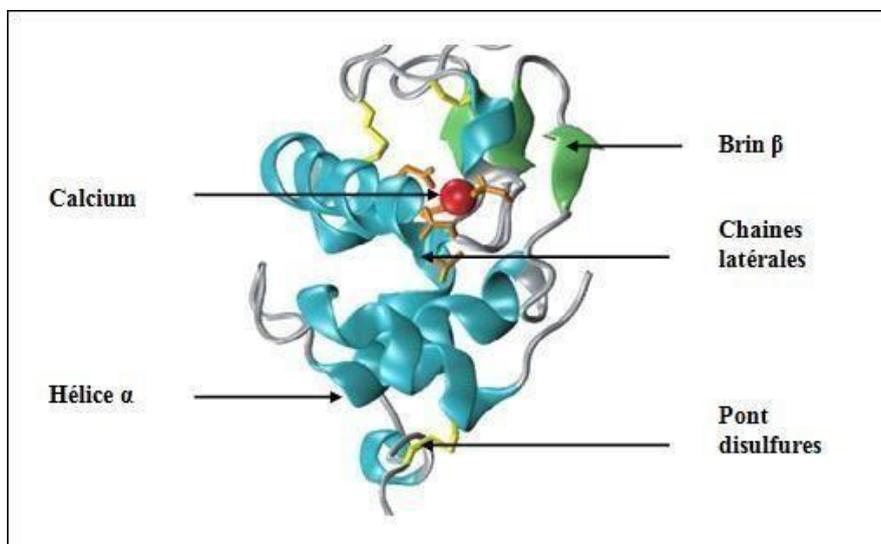


Figure 02 : Structure de l' α Lactalbumine (Bushmarina *et al.*, 2005).

Synthèse des données Bibliographiques

L' α -Lac est caractérisée par sa capacité à fixer des cations métallique (Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Na^+ , Al^{3+}). Elle possède un seul site de liaison fort au calcium. Ce site est coordonné selon une structure pentagonale bipyramidale tordue par des ligands oxygénés provenant des groupes carboxyliques de trois résidus Asp (82, 87 et 88), de deux groupes carbonyles du squelette peptidique (79 et 84) et de deux atomes d'oxygène de la molécule d'eau dans une boucle entre deux hélices (Permyakov et Beliner, 2000).

Rôle du calcium dans la stabilité structurale

Le calcium a un rôle structural très important pour la stabilité et le repliement et la fonction de l' α -Lac. Elle est déplétée en calcium est appelée apo α -Lac. La stabilité de cette forme et sa température de dénaturation dépendent fortement des conditions physico-chimiques du milieu à savoir la force ionique, qui peut être modifié par l'ajout NaCl ou Tris HCl en masquant les charges portées par les acides aminés localisés au niveau du site de fixation du calcium en réduisant donc les répulsions électrostatiques (Hiraoka et Sugai, 1985; Griko *et al.*, 1999). La stabilité de l'holo α -Lac dépend de la présence de calcium sur son site de fixation (France et Grossman, 2000).

Dans certaines conditions physico-chimiques du milieu, l'apo α -Lac peut passer en état appelé *molten globule* qu'est un état intermédiaire entre les états natif et dénaturé de la protéine, elle possède un domaine d'hélice α très organisé et un domaine composé de feuillet β qui est en majorité dénaturé (Permyakov et Berliner, 2000).

Le calcium peut être éliminé de la protéine en ajustant la solution à pH acide, en utilisant des agents dénaturants tels que l'urée et chlorure de guanidium à des concentrations modérées ou encore en utilisant des agents chélatants tels que EDTA (Kuwajima, 1996 ; McGuffey, 2004).

Stabilité thermique

Les protéines ont une gamme de température limitée dans laquelle l'intégrité structurale est maintenue. En dehors de cette gamme, la dénaturation se produit entraînant une perte de la fonction ou une baisse de l'activité de la protéine (khalil mireille, 2016).

Pour étudier l'effet de la température sur les protéines, plusieurs techniques ont été utiliser : Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR). La technique de Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est une méthode se base sur l'étude de l'effet calorimétrique associé au changement

structurel des protéines. Elle peut cependant déterminer la température à partir de laquelle un changement conformationnel est observé dans la protéine (John, 2006) aussi, la température de transition de l' α -Lac qui correspond à la température entraînant une modification structurale de la protéine (Boye, 1997).

Les profils de dénaturation thermique de l'holo et l'apo α -Lac cameline et bovine ont été étudiés à l'aide de la méthode de DSC (Figure 03) (Atri *et al.*, 2010).

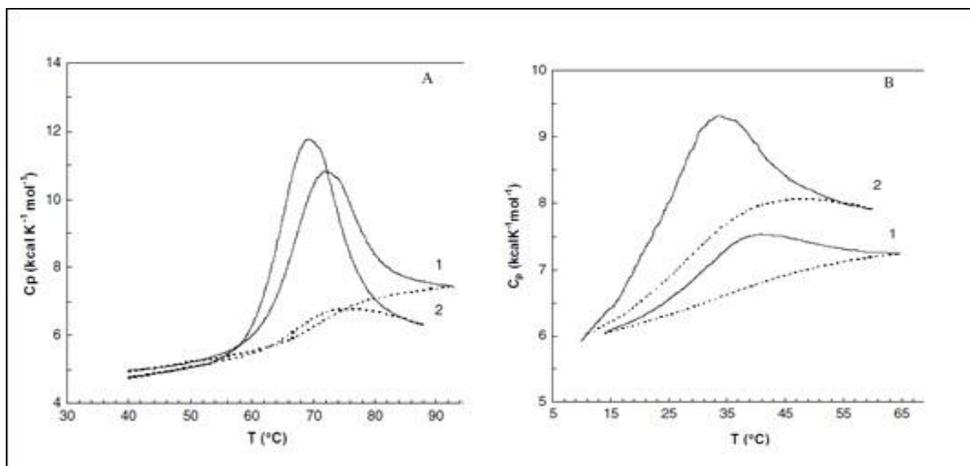


Figure 03 : Courbes de capacité calorifique à pH 7,6 (Atri *et al.*, 2010).

1 : chameau, 2 : Bovin. A : des formes holo, B : apo de l' α -Lactalbumine.

L'apo α -Lac cameline et bovine sont beaucoup plus sensibles à la chaleur. La température de dénaturation de cette forme est de 36°C et 32°C pour le camelin et le bovin respectivement. Par contre la forme holo de l' α -Lac est moins sensible à la chaleur, elle se dénature à 71°C pour le camelin et à 67°C pour le bovin (Atri *et al.*, 2010 ; Zennia *et al.*, 2015).

L'apo α -Lac peut se renaturer de l'ordre de 60 à 80 % suite à un refroidissement, alors que la forme holo est de l'ordre de 80 à 100 % en présence de calcium. La capacité de l'holo α -Lac à se renaturer lors du refroidissement est attribuée à l'absence d'agrégations protéiques (Relkin *et al.*, 1993; Boye, 1997).

La stabilité de la α -Lac est due à la liaison du calcium sur son site et la présence des ponts désulfures (Greene *et al.*, 1999). L'élimination du calcium entraîne une réduction de la stabilité de l' α -Lac suite à l'exposition des sites hydrophobes sur la surface de l'apo α -Lac (Polverino *et al.*, 2002). L'absence de groupements thiols déstabilise la structure de la α -Lac en favorisant l'agrégation protéique (McGuffey, 2004).

La dénaturation de la α -Lac devient irréversible à des traitements thermiques à 100°C pendant 30 min, entraînant l'élimination de Ca^{2+} lié de l' α -Lac et la formation d'agrégats protéiques de grosse taille (Boye, 1997).

Propriétés biologiques

L' α -Lac assure une fonction importante dans les cellules sécrétoires mammaires. Elle catalyse l'étape finale de la biosynthèse du lactose et de réguler l'activité de la galactosyl-transférase. L' α -Lac est une protéine de liaison au Ca^{2+} , très pratique pour les études des effets de la liaison du calcium sur les interactions de la protéine avec les protéines, les peptides, les membranes, etc. Elle possède ainsi plusieurs états intermédiaires partiellement repliés, qui sont utilisés dans l'étude de repliement des protéines. Elle intervient dans l'apoptose des cellules tumorales (Permyakov et Beliner, 2000).

1.3 Désamidation non enzymatique des protéines

1.3.1 Définition et condition de réalisation

La désamidation consiste en l'élimination d'un amide pour conduire à un acide carboxylique. Dans le cas des protéines, cette réaction se traduit par la disparition des groupements amides de l'asparagine et de la glutamine et leur transformation en acide aspartique et acide glutamique respectivement (Figure 04).

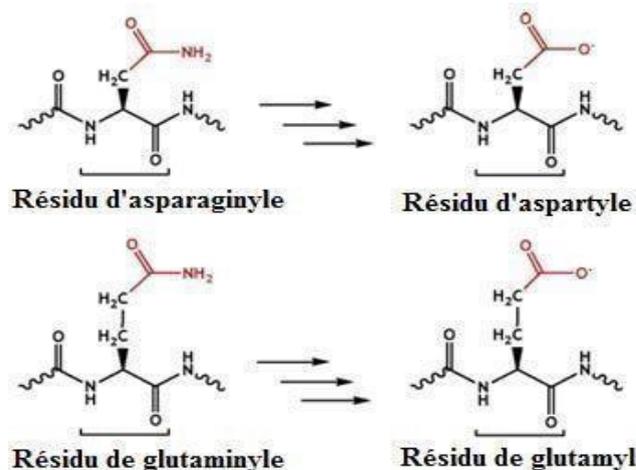


Figure 04 : Désamidation des résidus d'asparaginyile et de glutaminyle (Catak *et al.*, 2006).

Il existe deux types de désamidation ; la désamidation enzymatique et la désamidation non enzymatique (Hamada et Swanson, 1994).

Synthèse des données Bibliographiques

La désamidation non enzymatique des chaînes latérales de l'asparagine (Asn) est une modification covalente observée dans diverses protéines et peptides. Il a été rapporté qu'elle se produit spontanément dans des conditions physiologiques (Geiger et Clarke, 1987 ; Connolly *et al.*, 2014).

Cette réaction est décrite comme la perte de la fonction amide d'un résidu Gln ou Asn accompagné d'une libération d'ammoniac et la transformation de ces deux acides aminés en acides glutamique Glu et aspartique Asp. C'est l'une des raisons pour lesquelles l'occurrence de la désamidation dans les protéines est souvent difficile à détecter (Shlomo, 1996).

Dans des conditions physiologiques, les résidus asparaginyle et glutaminyle dans les peptides et les protéines sont intrinsèquement instables. Avec des demi-vies allant de quelques heures à plus de 100 ans. Les résidus asparaginyle et glutaminyle se désamident d'une manière non enzymatique en résidus L et D aspartyle et glutamyle ou en L et D iso-Asp et iso-Glu. Généralement, le Gln réagit plus lentement que l'Asn. Bien que les mécanismes de désamidation sont essentiellement les mêmes (Robinson N.E et Robinson A.B, 2007). Ce phénomène peut être expliqué par la distance entre le -NH- de la liaison peptidique avec le NH₂ du groupement amide qui est plus importante pour le résidu Gln, en raison de la présence d'un groupement CH₂, ce qui empêche la formation d'une liaison hydrogène stable (Wright et Robinson, 1982).

1.3.2 Mécanisme de la désamidation non enzymatique

Le mécanisme de la désamidation non enzymatique consiste à la formation d'un cycle imide (L-Succinimide) en premier temps (Figure 05). Cela résulte de l'attaque nucléophile de l'atome d'azote NH de la liaison peptidique du résidu suivant sur l'atome de carbone du groupe carbonyle CO de la chaîne radicalaire du résidu Asn (Geiger et Clarke, 1987). Le succinimide, ainsi formé, est un intermédiaire stable formé de 5 atomes, peut être observé à des pH acide (4,0-4,5) (Capasso, 1996), mais qui se décompose aussi vite qu'il s'est formé pour des valeurs de pH plus élevés (Wakankar *et al.*, 2006).

En suite, le résidu succinimide formé subit une hydrolyse pour donner un mélange d'aspartyle et iso-aspartyle. Ces derniers résidus représentent des nœuds dans la chaîne polypeptidique (un changement de la structure des peptides et des protéines désamidées).

L'isoaspartate est un résidu d'acide aminé apparaissant dans certaines protéines suite à une réaction intramoléculaire entre un résidu Asn ou Asp et le résidu d'acide aminé suivant dans la séquence protéique (Geiger et Clarke, 1987). Le résidu Asn forme un succinimide intermédiaire qui s'hydrolyse en donnant un résidu d'isoaspartate (75%) et de résidu d'aspartate (25 %) (Stephenson et Clarke, 1989 ; Koichikato *et al.*, 2020).

Les résidus glutamine et d'acide glutamique sont également capables de subir des réactions de dégradation similaire, mais les taux de ces réactions sont beaucoup plus faibles que ceux des résidus d'asparagine et d'acide aspartique.

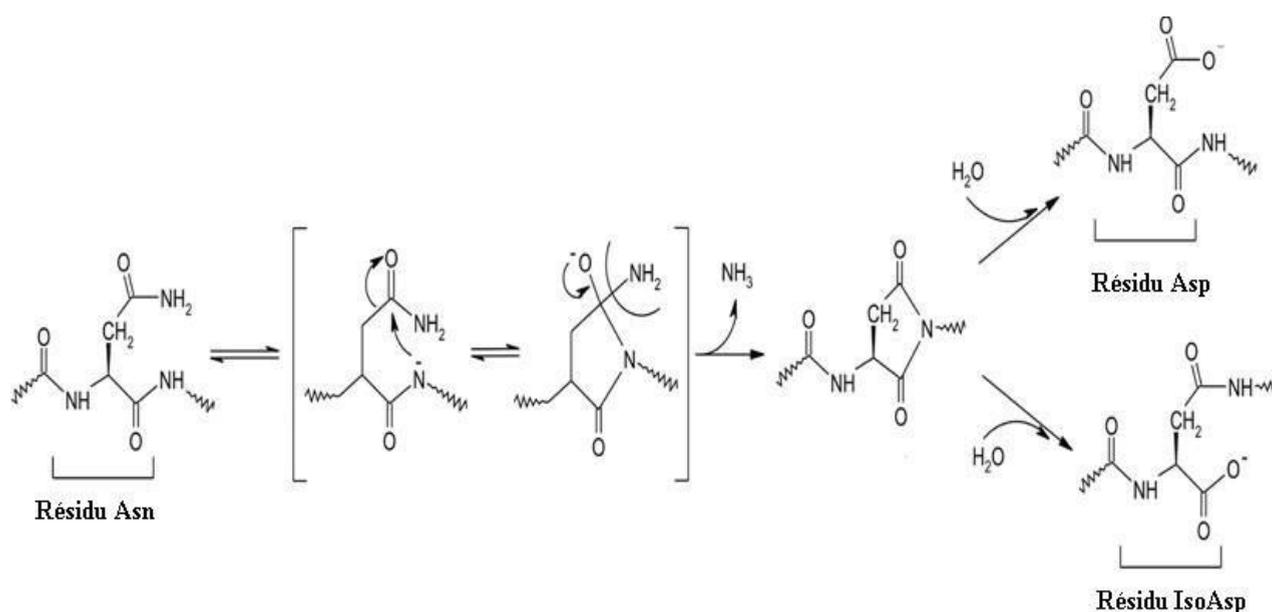


Figure 05 : Mécanisme de la désamidation non enzymatique du résidu asparagine à pH>5 (Koichikato *et al.*, 2020).

1.3.3 Les facteurs influençant sur la cinétique de la réaction

Le mécanisme de désamidation peut être influencé par divers facteurs : le pH, la température et la structure de la protéine.

1.3.3.1 Effet de pH

La désamidation est une réaction catalysée par une base (tampon phosphate, Tris et de carbonate, pH 7). Le pH de la solution protéique a un impact significatif sur la réactivité des résidus Asn de la protéine.

A des valeurs de pH entre 5 à 8, la concentration en OH⁻ dans le milieu favorise

L'ionisation de l'azote de la liaison peptidique. Cette ionisation accélère la formation d'un intermédiaire imide cyclique très instable par conséquent la vitesse de la réaction augmente.

A des pH inférieurs à 4, le résidu Asn subit une hydrolyse directe du côté amide, cette hydrolyse est plus favorable que la formation d'imide cyclique (Wakankar et Borchardt, 2006).

1.3.3.2 Effet de la température

Des études portant sur la désamidation suggèrent que la réactivité des résidus Asn est exponentielle et suit la relation d'Arrhenius. Les températures élevées accélèrent la réactivité des résidus Asn par la fragilisation des interactions intra et intermoléculaires. Ceci permet la pénétration de l'eau dans la protéine, favorisant la catalyse de la désamidation dans le cœur de la protéine. Le changement de conformation sera facile par la génération des charges négatives répulsives. La température influence sur la vitesse de désamidation par modification indirecte sur le pH de l'environnement et sur la constante de dissociation d'eau (Wakankar et Borchardt, 2006).

1.3.3.3 Effet de la structure de protéine

Effet de la séquence primaire

Cet effet est largement étudié par l'utilisation des modèles pentapeptides et hexapeptides. La réactivité de résidus Asn en position C-terminale a un effet plus important sur la vitesse de la réaction que les résidus en position N-terminale. Cette influence revient aux caractéristiques structurelles des résidus Asn tel que l'encombrement stérique et la flexibilité.

Les séquences d'acides aminés dans les protéines où le résidu Asn suivi par des résidus Gly, His, Asp ou Ser (Asn-Gly, Asn-Ser, Asn-Asp et Asn-His) sont les plus exposés à la désamidation spontanée en raison des réarrangements intramoléculaires au niveau des liaisons peptidiques (Wakankar et Borchardt, 2006).

Effet de la structure secondaire

Il a été démontré que les résidus Asn ayant une structure secondaire organisée sont beaucoup moins sensibles aux réactions de désamidation que les résidus situés dans une région aléatoire d'une protéine. La réactivité d'un résidu Asn situé dans une région structurelle hélice α ou brin β d'une protéine est ralentie en raison des liaisons peptidiques,

qui sont stabilisées par des ponts hydrogènes et la réaction de désamidation ne peut pas se réaliser facilement (Wakankar et Borchardt, 2006, Zennia *et al.*, 2015).

Effet de la structure tertiaire

La structure tertiaire d'une protéine résulte des différentes interactions entre les structures secondaires. Des comparaisons sur la même structure native et après sa dénaturation sont faites afin de mettre en évidence l'effet de cette structure sur le phénomène de désamidation. Ils ont montré que la structure tertiaire de la protéine influence sur la vitesse de désamidation du résidu Asn par la flexibilité conformationnelle du résidu Asn et l'accessibilité du solvant à fin d'atteindre le résidu Asn susceptible d'être désamidé (Wakankar et Borchardt, 2006, Zennia *et al.*, 2015).

1.3.4 Importance de la réaction de désamidation non enzymatique

La désamidation des protéines joue un rôle important dans la régulation des processus biologiques, probablement comme une horloge biologique dans la détermination de la fonction et de la dégradation des protéines. Par exemple, certaines protéines désamidées sont ciblées pour être dégradées par le système ubiquitine/protéasome (Dudek *et al.*, 2010).

Pour certaines protéines, la désamidation peut être une horloge moléculaire dans le contrôle du processus de renouvellement (la régulation des processus biologiques rapportée pour le cytochrome c ou l'aldolase) (Robinson N.E et Robinson A.B, 2007).

La désamidation non enzymatique des résidus Asn joué un rôle important dans le processus de vieillissement. Au cours du vieillissement, l'accumulation des résidus iso-Asp est considérée comme une des principales sources de dommages des protéines (Asward *et al.*, 2000).

L'accumulation d'isoAsp peut modifier l'activité biologique des protéines ou des peptides et déclencher ainsi des maladies auto-immunes (lupus érythémateux, sclérose en plaques) (Mamula *et al.*, 1999). Dans le cas lupus érythémateux, la formation des résidus isoAsp dans le complexe histone Hb2 provoque une réaction immunitaire (Qin *et al.*, 2016).

En outre, la désamidation de l'Asn est une voie importante de la dégradation des protéines thérapeutiques notamment les anticorps (Diano *et al.*, 2009 ; Joh *et al.*, 2016).

De point de vue chimique, la perte d'un groupe amide et le remplacer par un groupe hydroxyle provoque l'accroissement de la charge négative d'une protéine, entraînant une augmentation du pHi de la protéine, une augmentation des répulsions électrostatiques, le déplissement partiel de protéines, améliorant ainsi les propriétés fonctionnelles des protéines alimentaires : solubilité et capacité de rétention d'eau ainsi que les propriétés de surface (pouvoir moussant, émulsifiant) (Joyce, 2015).

Certains auteurs ont étudié l'effet de la désamidation sur les propriétés fonctionnelles des protéines végétales (orge, soja, riz, maïs) et ils ont montré qu'un faible taux de désamidation de ces protéines entraîne une augmentation de la solubilité et de la capacité émulsifiante (Wan *et al.*, 1991 ; Mirmoghtadaie *et al.*, 2009 ; Liao *et al.*, 2010).

Cependant des études ont montré que la α -zéine de maïs désamidée sous forme de poudre présentait une propriété antioxydante inférieure par rapport à celle non désamidée (Yong *et al.*, 2004).

1.3.5 Système de réparation de la désamidation non enzymatique

La désamidation des résidus Asn représentent une part importante de dommages spontanés causés aux protéines par le processus de vieillissement. L'accumulation des résidus isoAsp peut entraîner la perte de la fonction de la protéine, par conséquent la perte de la fonction cellulaire. Cependant, presque toutes les cellules contiennent une méthyltransférase qui peut reconnaître la principale forme endommagée du résidu L-isoaspartyl. Cette protéine fonctionne comme une enzyme de réparation des protéines par l'atténuation des dommages protéiques (Clarke, 2003).

1.3.5.1 L-isoaspartyl-méthyltransférase (PIMT : EC 2.1.1.77)

L-isoaspartyl-méthyltransférase (PIMT) est une enzyme ubiquitaire, largement répandue, d'environ 24,5 kDa. Elle catalyse la méthylation des résidus L-isoaspartyl altérés dans les protéines ou les peptides. Elle est présente dans la quasi-totalité des cellules eucaryotes (mammifères et plantes) et la plupart des cellules procaryotes (bactéries et champignons). Elle est présente à des niveaux élevés dans les tissus neuraux et endocriniens (Barten et O'Dea, 1990).

1.3.5.2 Mécanisme de réparation par la PIMT

La PIMT reconnaît les résidus L-iso-Asp des protéines endommagées et conduit leur éventuelle conversion en résidus L-Asp (figure 06).

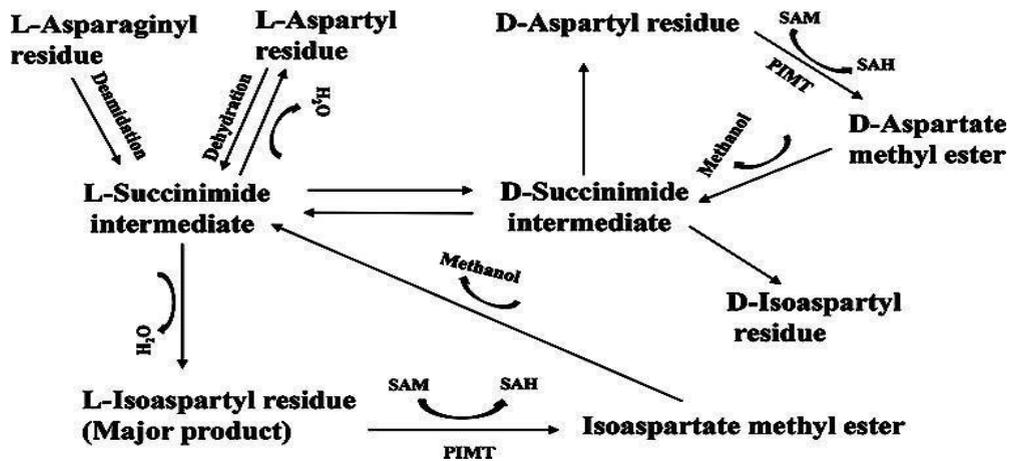


Figure 06 : Mécanisme de réparation de la désamidation non enzymatique du résidu d'asparagine (Mishra et Mahawar, 2019).

La réparation de ces résidus est initiée par le transfert d'un groupement méthyle provenant de la S-adénosyl-L-méthionine (Ado-Met) présent dans une poche profonde enfouie à l'intérieur de la PIMT sur les groupements carboxyles des résidus endommagés. Cette liaison conduit à la formation d'un groupement méthyl-ester et la libération de S-adénosyl-L-homocystéine (SAH). Ce dernier est hydrolysé spontanément pour former un intermédiaire succinimide et libérer de méthanol. La réaction est finalisée par l'hydrolyse non enzymatique de succinimide, pour engendre environ 30% de résidus L-Asp réparés et 70% de résidus L-iso-Asp non réparés qui peuvent ensuite entrer dans le cycle pour une éventuelle conversion (Ryttersgaard *et al.*, 2002).

1.4 Propriétés techno-fonctionnelles

Les propriétés fonctionnelles sont définies comme l'ensemble des propriétés physiques et chimiques affectant le comportement des protéines dans une formulation lors de la production, l'entreposage et la consommation de produits alimentaires (Kilara, 1984). La connaissance des propriétés fonctionnelles d'un ingrédient permet d'améliorer les procédés de fabrication des aliments car elle donne accès à son domaine d'utilisation et permet de prévoir ses principaux effets dans une formulation. 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 ou 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 ou la coagulation, dépendent des interactions protéines-protéines.

Ces propriétés font principalement intervenir les liaisons chimiques suivantes : les liaisons « hydrogène », les interactions électrostatiques, les interactions hydrophobes, les liaisons covalentes (pont disulfures).

1.4.1 La solubilité

1.4.1.1 Définition

La solubilité d'une protéine est un paramètre thermodynamique défini comme la concentration de protéines dans une solution. La solubilité des protéines est une propriété physico-chimique qui est liée à d'autres propriétés fonctionnelles. La connaissance de cette propriété peut fournir des informations utiles sur l'utilisation potentielle des protéines et leur fonctionnalité, notamment dans les mousses, les émulsions et les gels (Zayas, 1997).

La solubilité des protéines dépend :

Des interactions polaires avec le solvant aqueux ;

Des interactions ioniques avec les sels en solution ;

Des forces électrostatiques répulsives entre molécules ou agrégats de charge similaire.

1.4.1.2 Les facteurs influençant sur la solubilité

La solubilité des protéines est influencée par le pH, la température, la force ionique et les solvants organiques.

Le pH : Le pH est le facteur déterminant la solubilité des protéines. Au voisinage du point isoélectrique (Pi), les protéines ont une charge nette nulle par suite d'un maximum d'attractions électrostatiques entre les protéines ce qui favorise le relargage donc la solubilité est minimale. Les interactions protéine-eau augmentent à des valeurs de pH supérieures ou inférieures au Pi parce que les protéines portent une charge positive ou négative. A des valeurs de pH peu éloigné du Pi, les interactions protéine- eau sont minimales (Zayas, 1997).

La température : La solubilité des protéines augmentées avec une température comprise entre 40 et 50°C. Une élévation plus forte de la température diminue la

solubilité des protéines suite à la dénaturation de leur structure secondaire, favorisant les interactions hydrophobes entre les protéines (Mine, 1995).

La force ionique : L'effet des sels neutres sur la solubilité des protéines dépend de la force ionique de la solution, c'est-à-dire de la concentration et de la charge des ions.

- Force ionique faible (salting in) : à des concentrations en sels inférieurs 1M, la solubilité des protéines augmente (interaction protéine-eau).

- Force ionique élevée (salting out) : à des concentrations en sels supérieurs 1M, la solubilité des protéines diminue (interaction protéine-protéine) (Li et Xiong, 2020).

1.4.2 Le pouvoir moussant

1.4.2.1 Définition

Une mousse est une dispersion de bulles de gaz dans une phase continue liquide ou semi-solide ; il s'agit donc dans le cas le plus simple d'un système biphasique avec un mélange de deux phases non-miscibles (Bouquelet, 2008).

Les mousses sont constituées par trois phases ; la phase continue qui est formé de liquide, dans laquelle une deuxième phase importante est dispersée formée par les bulles de gaz, qui

peut atteindre plus de 90% du volume de la mousse. Ces deux phases sont séparées par un espace appelé la phase interfaciale qui forme une barrière entre les bulles de gaz (Gonzalez *et al.*, 2004).

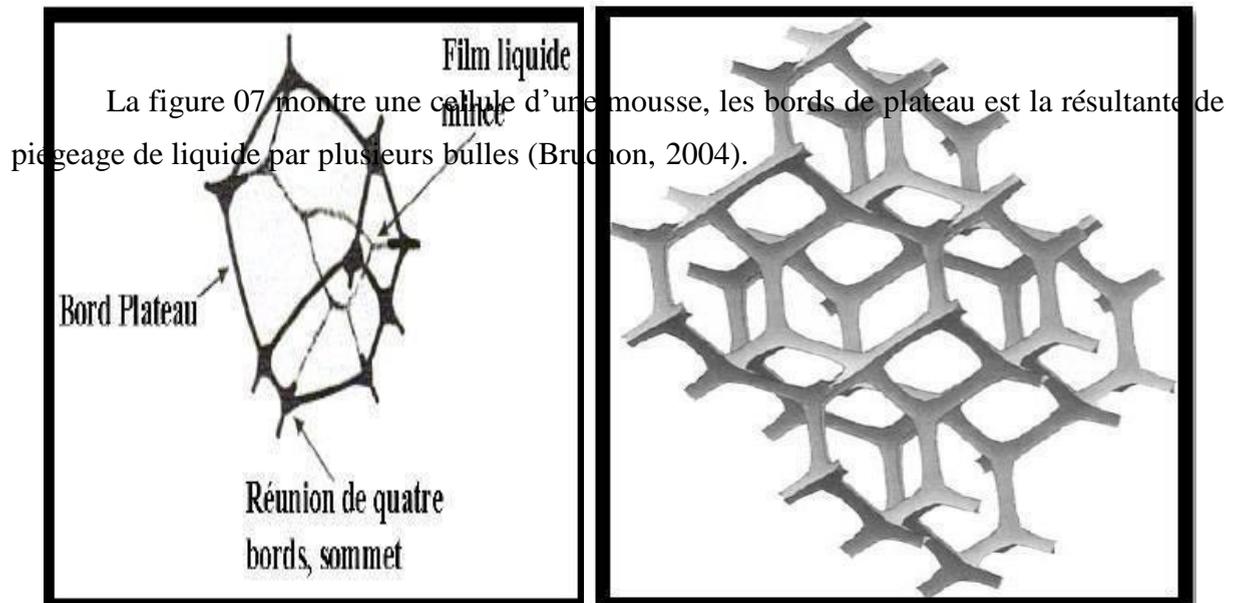


Figure 07 : Structure d'une mousse représentée par un agencement de cellules : bulles de gaz entourées par du liquide (structure à gauche représente une cellule et la structure à droite représente agencement de cellules) (Bruchon, 2004).

Les mousses sont classées selon leur stabilité en deux classes :

Les mousses éphémères : sont des mousses instables dont la durée de vie est de quelques secondes.

Les mousses permanentes : sont des mousses métastables dont la durée de vie est de quelques jours.

La stabilité de ces deux types dépend de la forme des bulles. La forme polyédrique stabilise la mousse, dont le rapport gaz sur liquide est si élevé, forme une structure de nid d'abeille. À l'inverse des bulles sphériques, la quantité de gaz est suffisamment faible pour que les bulles conservent une taille stable (Gonzalez *et al.*, 2004).

Les mousses sont caractérisées par plusieurs paramètres :

Synthèse des données Bibliographiques

Variabilité des dimensions des bulles qui dépend de la composition du liquide et du mode d'obtention de la mousse ;

Le volume de la mousse est mesuré suivant la hauteur, ce paramètre dépend de la nature et de la composition de liquide ;

La densité appelée aussi le rapport de liquide au gaz ;

L'écoulement est le rapport de la quantité finale et la quantité initiale du liquide dans la mousse (Chitour, 2004).

Le fouettage et le bullage parmi les méthodes utilisées pour former des mousses. Le fouettage utilise plusieurs dispositifs comme l'agitateur et le mélangeur de cuisine, elles agitent vigoureusement un liquide et son interface avec une phase gazeuse. Le bullage permet l'introduction de l'air dans le liquide sous forme de fines bulles à travers une buse ou un verre fritté (Ganesan et Ning, 2017).

La stabilité des mousses est liée à la surface interfaciale et la solubilité de la protéine dans le liquide. Plus le film protéique à l'interface gaz/liquide est plus épais, cohésif, élastique, continu et imperméable au gaz plus la stabilisation est grande et plus la protéine est soluble dans le liquide plus la capacité moussante est bonne (Bouquelet, 2008).

L'instabilité des mousses est due à plusieurs mécanismes tel que :

- ✚ **Le drainage de la mousse** : c'est l'écoulement du liquide du film mince vers la frontière de plateau ;
- ✚ **Le crémage** : C'est le déplacement des bulles vers le haut, lorsque la densité des bulles dans la mousse est beaucoup plus faible que la densité de milieu de suspension ;
- ✚ **La floculation** : c'est la collision entre les petites bulles d'air suite à un mouvement brownien. Cette collision est le résultat des interactions électrostatiques et stériques répulsives qui entraînent une barrière énergétique entre deux bulles (Ganesan et Ning, 2017).

1.4.2.2 Les facteurs influençant la formation et la stabilité de la mousse

De nombreux facteurs influencent à la fois la formation et la stabilité de la mousse.

- ✚ **Activité de surface des protéines** : C'est un facteur qui influence fortement la formation et la stabilisation des mousses. Les protéines ont la capacité d'abaisser la tension de surface. Le pouvoir moussant dépend de la valeur à l'équilibre de la tension de surface

et de réarrangement des protéines à l'interface. Les protéines qui migrent rapidement aux interfaces présentent un pouvoir moussant très important. Cette vitesse de migration dépend de la taille, la flexibilité et de l'hydrophobicité de ces macromolécules (Cuvelier et Michon, 2003).

- ✚ **La solubilité des protéines** : Les composés insolubles peuvent jouer un rôle bénéfique sur la stabilisation des mousses par leur effet sur la viscosité de surface (Cheftel *et al.*, 1985).
- ✚ **Le pH**: Il joue un rôle clé, même si la stabilité de la mousse est optimale, la formation d'une mousse est difficile à pHi (Thakur *et al.*, 2003).
- ✚ **La concentration en protéines**: La concentration nécessaire pour la stabilité de la mousse est comprise entre 2-8% (Halling, 1981).
- ✚ **L'intensité du battage**: La vitesse d'agitation élevée favorise la formation d'une mousse. Une agitation trop intense peut favoriser la recalescence des bulles (Halling, 1981). Le diamètre des bulles peut être diminué faiblement avec une vitesse d'agitation de 200 à 1000 rmp (Thakur *et al.*, 2003).

1.4.3 Le pouvoir émulsifiant

1.4.3.1 Définition

Une émulsion est une dispersion colloïdale de gouttelettes de liquide dans une phase continue dans laquelle elles sont immiscibles.

Deux types d'émulsions sont possibles, les premières sont constituées d'une phase dispersée dans une phase continue, et sont de type « huile-dans-eau ». Dans la seconde, lorsque l'eau est la phase dispersée et l'huile la phase continue, l'émulsion est appelée « eau-dans-huile ». Dans la plus part des cas, le diamètre des gouttelettes est compris entre 0,1 et 50 μm .

Le processus de formation d'une émulsion s'appelle l'*émulsification*. L'émulsification consiste donc à transformer un système à deux phases séparées en un système homogène caractérisé par une troisième phase interfaciale formée d'un ou de plusieurs agents émulsifiants (McClements, 1999, Dickinson et Tanai, 1992; Bouquelet, 2008).

L'émulsifiant s'agit de petites molécules amphiphiles qui possèdent une partie hydrophile et une partie lipophile appelée tensioactif (Duchesne, 2002; Portier, 2008). Son rôle est de stabiliser le système dispersé en diminuant la tension interfaciale en s'adsorbant à l'interface liquide-liquide (Dickinson, 1998 ; Roux, 2003).

Malgré l'ajout de substances dites émulsifiantes ou stabilisantes, l'intégrité d'une émulsion reste limitée dans le temps. L'émulsion évolue vers l'équilibre thermodynamique instable dans le quel leur aire de contact est minimal.

Les liquides non miscibles auront tendance à minimiser leur aire de contact, la séparation de phase étant l'alternative la moins énergétique.

La stabilité d'une émulsion dépend de plusieurs facteurs : le type de traitement mécanique, la nature et la charge de l'agent émulsifiant, le pH, la force ionique et la viscosité de la phase continue, la densité des gouttelettes d'huile, la température, la structure à l'interface de l'émulsifiant, les propriétés physiques, mécaniques ainsi que de l'épaisseur du film interfacial (Mangino, 1994).

Il existe cependant plusieurs modes de déstabilisation des émulsions :

Murissement d'Ostwald : A l'issue de l'étape d'émulsification, la population de gouttelettes n'est pas homogène en taille. Il existe une diffusion des petites gouttelettes dans les grosses à travers la phase continue. Les petites gouttes se vident au profit des grosses, et la granulométrie se modifie puisque les classes de faible taille disparaissent (Figure 08) (Brochette, 1999). Ce phénomène peut être maîtrisé par :

- L'addition de composants qui sont pauvres ou insolubles dans la phase continue ;
- Une homogénéisation de la taille des gouttelettes.

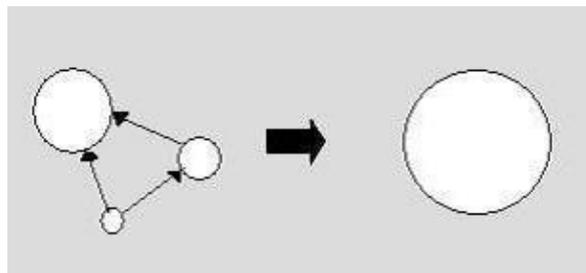


Figure 08: Phénomène de murissement d'Ostwald (Brochette, 1999)

La floculation : correspond à l'agglomération de plusieurs globules qui s'assemblent par les forces de Van Der Waals pour former des agrégats (figure 09). Les globules gardent leur individualité et le film interfacial reste intact. Les deux globules ne restent en contact que si l'énergie d'interaction est négative (énergie de répulsion inférieure à l'énergie d'attraction). Ce phénomène est généralement réversible (Brochette, 1999).

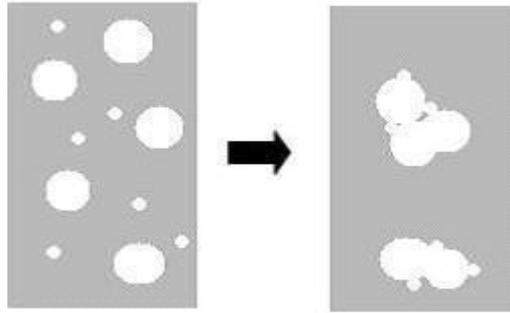


Figure 09 : Phénomène de floculation (Brochette, 1999).

- ✚ **La coalescence** : Elle résulte de la rupture du film interfacial entre les gouttes de et la phase dispersée. Ceci est dû à un rapprochement des gouttes qui va tendre à réduire le film interfacial sous l'effet de la pression exercée sur les gouttes. Les gouttelettes de l'émulsion vont fusionner pour former une grosse gouttelette unique (figure 10). Pour éviter ce phénomène, il faut renforcer la résistance du film protecteur par le choix du tensioactif.

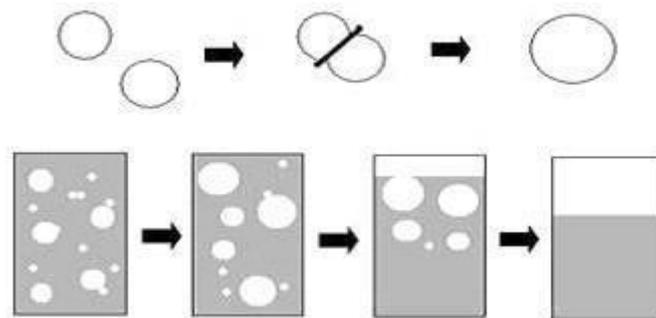


Figure 10 : Phénomène de coalescence (Brochette, 1999).

- ✚ **Le crémage** : C'est une séparation des gouttelettes de la phase dispersante due à la différence de densité. On parle de crémage quand les globules sont moins denses et se déplacent vers la surface. Les gouttelettes plus denses se déplacent vers le fond, c'est la sédimentation. Le crémage et la sédimentation sont facilement contrebalancés par une légère agitation de l'émulsion (figure 11) (Brochette, 1999).

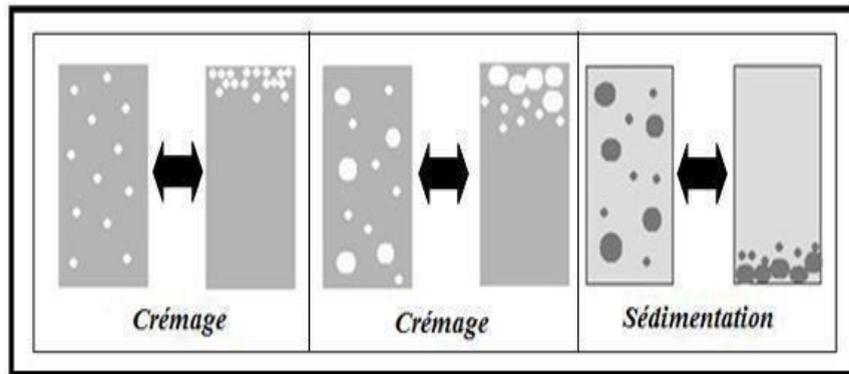


Figure 11 : Phénomène de crémage et de sédimentation (Brochette, 1999).

1.4.3.2 Facteurs influençant l'émulsification

- ✚ **La stabilité** : La stabilité d'une émulsion maintenue par des protéines est influencée par le pH. Lorsque la protéine est à son point isoélectrique, la solubilité de la protéine est minimale, donc la capacité émulsifiante de la protéine diminue. En effet, une bonne solubilité facilite la diffusion de la protéine dans la phase aqueuse vers l'interface huile-eau (Dickinson, 1992). Cependant, la β -lactoglobuline native fait exception à cette règle puisqu'elle est soluble à tous les pH (Klemaszewski *et al.*, 1992).
- ✚ **La force ionique** : L'ajout de NaCl, même à faible concentration ($5 \times 10^{-3}M$), conduit à une augmentation du diamètre des gouttelettes d'huile lors de la formation de l'émulsion (Destrib, 2010). Ce là est dû à la solubilité maximale des protéines de l'interface huile-eau en présence de sel à des concentrations inférieures à 1M par un effet salting-in. Cependant, des fortes concentrations en sel au-delà de 1M, la solubilité des protéines est minimale par effet salting-out, donc la capacité émulsifiante est minimale.
- ✚ **La température** : La formation des émulsions est influencée par la température. Les températures élevées favorisent les interactions hydrophobes des protéines adsorbées à l'interface avec les autres protéines adsorbées sur les autres gouttelettes. Dans ce cas, le phénomène de floculation est maximale (Dalglish, 1996 ; Monohon *et al.*, 1996). Les températures de réfrigération diminuent la stabilité de l'émulsion par la diminution des interactions hydrophobes entre les protéines adsorbées à l'interface, favorisant la coalescence des gouttelettes d'huile (Mongino, 1994).

Partie expérimentale

Partie expérimentale

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

2.1 Matériel

2.1.1 Laits

Le lait de chamelle provient à partir de troupeau de chameilles saines (*Camelus dromedarius*) de la population *Sahraoui* vivant en élevage extensif dans des parcours naturels de la région d'Ouargla du sud algérien. Il est recueilli proprement dans des bouteilles de 1 L et est immédiatement additionné d'un antibactérien (l'azoture de sodium à 0,05%), puis acheminé au laboratoire dans une glacière.

Le lait bovin a été aussi utilisé pour des comparaisons. Il provient d'un troupeau de vaches saines de race Holstein (ferme d'élevage de Draa Ben Khedaa, Tizi ouzou, Algérie). Il est recueilli proprement dans des flacons de 100 ml et est immédiatement additionné d'un antibactérien (l'azoture de sodium à 0,05%) puis acheminé au laboratoire dans une glacière.

2.1.2 Produits chimiques

- ✚ Produits d'électrophorèse : acrylamide, N, N-méthylène-bis-acrylamide, dodécyl sulfate de sodium (SDS), N, N, N', N'-tétraméthyléthylène diamine (TEMED,) tris-hydroxy- méthyl-aminomethane, glycine, 2-Mercaptoéthanol, persulfate d'ammonium, bleu de bromophénol, bleu de Coomassie.
- ✚ Autres produits : acide chlorhydrique, acide acétique, glycérol, méthanol, réactif de Gornall, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)...Etc

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, 100 mA), plaques en verre et en hydroxyde d'alumine (10×12 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 (SHIMADZU).

2.2. Méthodes

2.2.1 Isolement des protéines lactosériques totales

Les protéines sériques camelines sont séparées à partir du lait entier suivant les étapes illustrées par la figure 12.

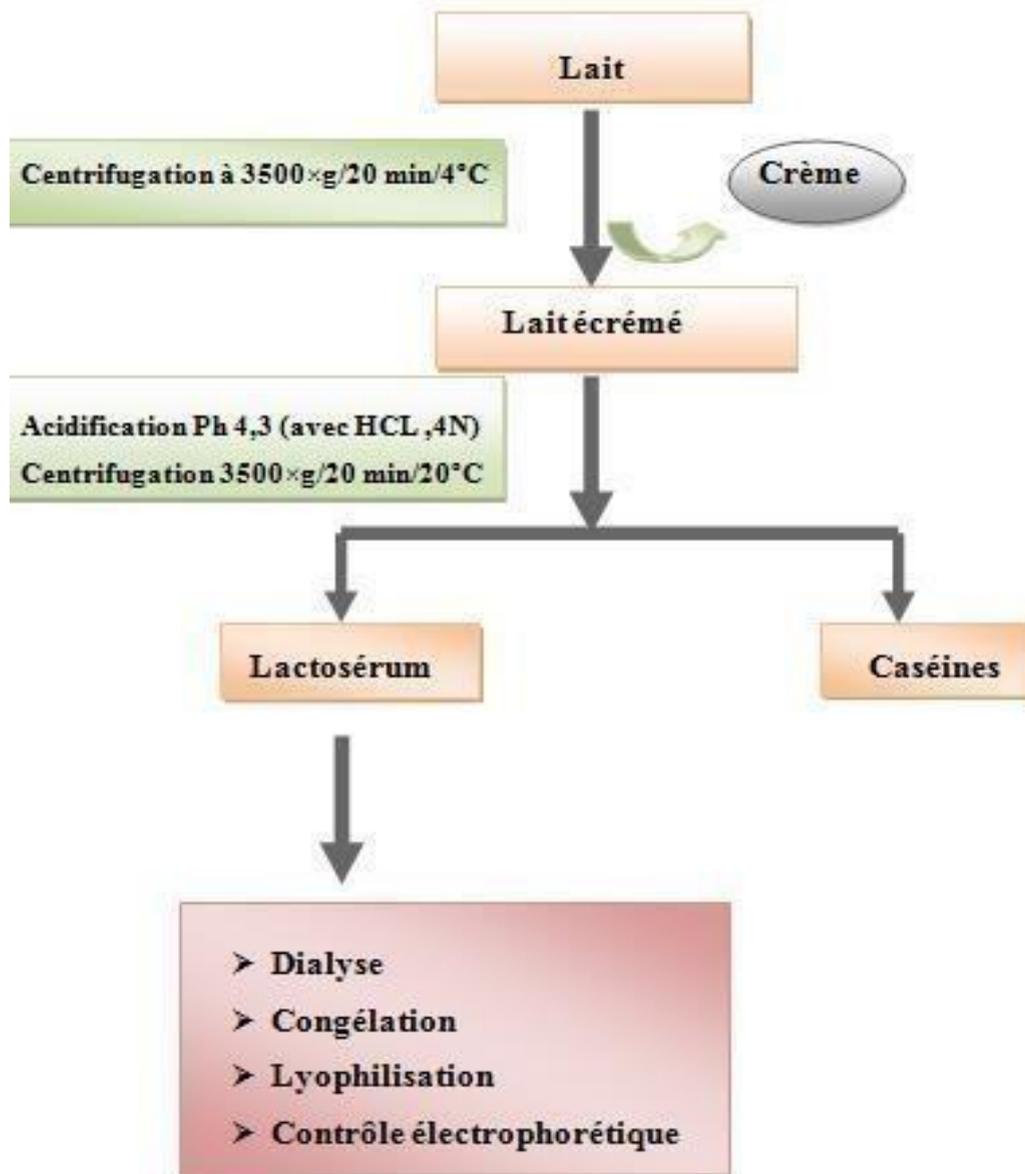


Figure 12: Etapes suivies pour l'isolement des protéines sériques du lait de chamelle.

2.2.1.1 Ecrémage

L'écrémage du lait entier est réalisé par centrifugation à 3500 g 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 pHi des caséines avec du HCl 4N (4,3 pour le lait camelin et le lait bovin 4,6). L'acidification a été suivie, d'une centrifugation à 3500g pendant 20 min à 4°C. Le surnageant obtenu après cette étape et qui représente la totalité des protéines sériques, est neutralisé à pH 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 de 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 2 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 Lyophilisation

Après la dialyse, les solutions de protéines sériques sont congelées dans des coupelles. Après cette procédure les protéines sont lyophilisées et récupérées sous forme de poudre et conservées dans un dessiccateur.

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 (annexe 01) un complexe de couleur pourpre qui absorbe fortement à 540 nm.

Partie expérimentale

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, 10 g/l) comme protéine étalon (Figure 13).

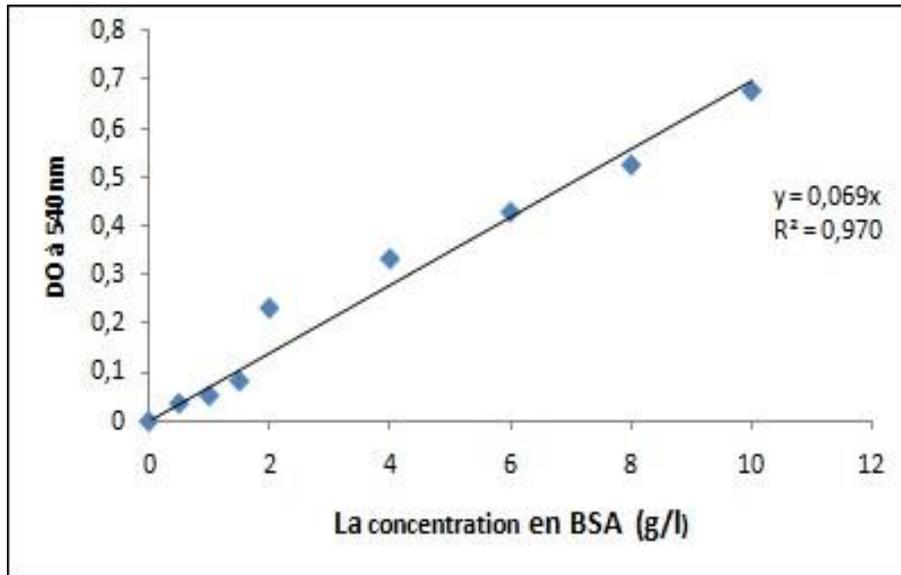


Figure 13: Courbe étalon du dosage de protéines par la méthode de Biuret (Gornall *et al* (1949) ; réalisée avec l'albumine sérique bovine (BSA) comme protéine de référence.

2.2.3 Méthode électrophorétique

✚ Principe

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

Le gel de polyacrylamide utilisé est le produit de polymérisation de monomères d'acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) et d'un agent de pontage le N, N' méthylène- bis-acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$). Cette réaction est catalysée par un générateur de radicaux libres composé de persulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ et de N, N, N, N-tetraméthylènediamine (TEMED).

Partie expérimentale

Cette polymérisation conduit à la formation de nombreuses chaînes enroulées qui déterminent un ensemble de micro-canaux de pores dans lesquels les molécules protéiniques se déplacent sous l'effet de tamisage moléculaire. Ainsi, le degré de porosité du gel (ou de réticulation) est variable selon les indices T et C choisis selon la relation :

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

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

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

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

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide dans les conditions non dénaturantes et non dissociantes (PAGE-native), est une technique résolutive et bien adaptée à la séparation des protéines sériques du lait.

Conduite de l'électrophorèse

La méthode adaptée par Hillier (1976), a été utilisée. Un gel de polyacrylamide (T = 10 % ; C = 2,7%) en tampon Tris-HCl 0,75 M, pH 8,9 est coulé dans un système utilisant des plaques verticales. Le tampon d'électrodes contient du Tris 5 mM, glycine 77 mM et le pH est ajusté à 8,3 avec du Tris.

Les échantillons sous forme lyophilisée, sont additionnés de tampon d'échantillon (Tris/HCl 0,38 M, pH 8,9 contenant 10% de glycérol et 0,01% de bleu de bromophénol) à raison de 2 mg/ml pour les protéines sériques totales. Des dépôts de 10 µL sont effectués dans les puits du gel. Le tampon d'échantillons contient du bleu de bromophénol qui est un indicateur coloré qui détermine le front de migration des protéines. La migration électrophorétique est effectuée sous des conditions électriques de 20 mA 250 V (annexe 02).

Révélation des bandes de migration

A la fin de la migration, les protéines sont fixées dans l'acide trichloroacétique (TCA) 12 % (p/v) pendant 45 minutes puis colorées pendant 1 heure avec une solution de bleu de Coomassie R250, 0,5 % (p/v). La décoloration du gel s'effectue, sous agitation douce dans des solutions de décoloration renouvelées plusieurs fois.

2.2.4 Mise en évidence de la désamidation spontanée de lactosérum camelin

✚ Principe

L' α -lactalbumine est la protéine majoritaire du lactosérum camelin et la seule protéine qui se désamide. La désamidation spontanée de cette protéine se fait à un pH basique (8,4) ou proche de la neutralité (7,4) à une température de 37 °C, avec la libération de l'ammoniac. Après 4 jours d'incubation, une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dissociantes et non dénaturantes (PAGE Native) a été réalisé.

✚ Préparation des échantillons

Les protéines sériques camelines (15 mg/ml) ont été solubilisée dans 150 mM de tampon phosphate de sodium (annexe 03), pH 8,4. La solution est ensuite filtrée avec un filtre de 0,45 μ m puis incubée à 37°C pendant 4 jours. Après l'incubation, un contrôle électrophorétique a été fait par une électrophorèse PAGE-native.

2.2.5 Etude des propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques

2.2.5.1 Solubilité

Pour déterminer la solubilité des protéines sériques natives et désamidées, 200 mg des deux échantillons lyophilisés ont été solubilisées dans 20 ml d'eau distillée. Ajusté le pH des deux mélanges à 2, 4, 6, 8 et 12 avec de HCl 4N ou de NaOH 4N. Les mélanges ont été agités à température ambiante pendant 30 min et centrifugés à 7500 x g pendant 15 min (Klompong *et al.*, 2007).

Les teneurs en protéines dans les surnageants ont été déterminés par la méthode de Biuret (Annexe 1). La solubilité des protéines a été calculée comme suit:

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

2.2.5.2 Pouvoir moussant

Pour déterminer la capacité moussante des protéines sériques natives et désamidées du lait camelin, la méthode décrite par Sze-Tao et Sathe (2000) est utilisée. 50 mg de chaque *échantillon* lyophilisé a été solubilisé dans 50 ml d'eau distillée puis sont transférer dans des éprouvettes graduées de 100 ml. A l'aide d'un homogénéisateur, homogénéisée les solutions protéiques à une vitesse de 13 500 rpm pendant 3 min.

Partie expérimentale

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.

2.2.5.3 Pouvoir émulsifiant

Les échantillons ont été préparé par la méthode décrite par Patel et Kilara (1990). 75 ml de solution de protéine à 2% ont été mélangés avec 25 ml d'huile d'olive. Les mélanges ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur à 17200 rpm par 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 d'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 mètres)
C : poids du produit par unité de volume de la dispersion de dispersion du produit (en g/m³).

2.2.6 Détermination de l'activité antioxydante des protéines sériques

✚ Principe

L'activité du piégeage du radical 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été mesurée selon le protocole décrit par Zhu et al, 2006. DPPH° C'est une poudre cristalline de couleur sombre composée de molécules de radical libre stables. En solution dans le méthanol, il est caractérisé par une couleur violette intense ; en présence d'un donneur d'hydrogène (AH) il est réduit à la forme non radicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH, H) de couleur jaune pâle (Figure 14). Cette propriété permet donc le contrôle visuel de la réaction. Ce passage de la première forme à la deuxième est accompagné d'une diminution de l'absorbance et libération du radical A°.

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible à 517 nm.

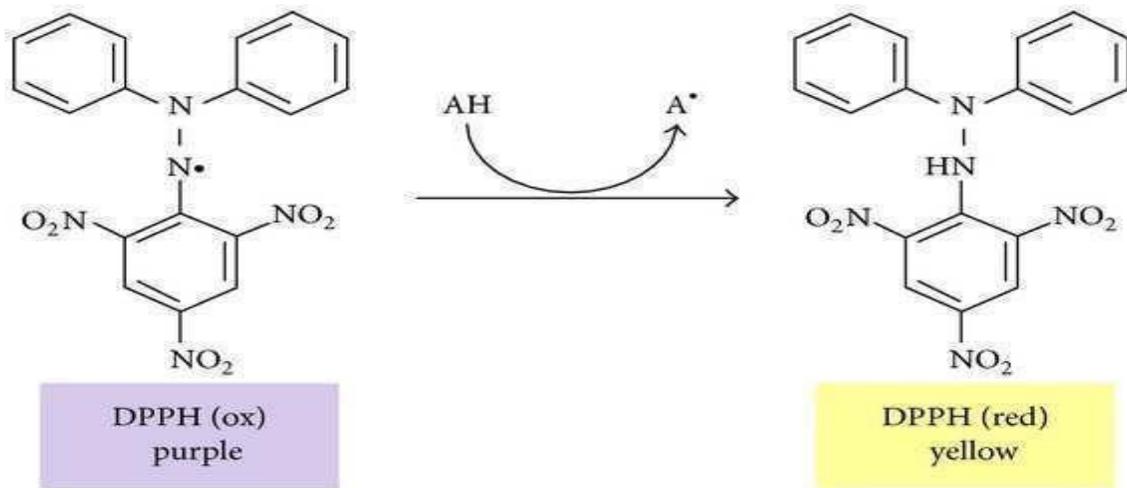


Figure 14 : Structure du DPPH et sa réduction par l'antioxydant (AH)

✚ Préparation des échantillons

Lactosérum natif et lactosérum désamidé ont été préparés à une concentration de 7,5mg/ml.

Partie expérimentale

Dosage

1 ml de chaque échantillon sont mélangées avec 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH à 0,1 mM (annexe 04). Le mélange est homogénéisé puis incubé pendant 60 minutes)4+ à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 517 nm contre un blanc contenant la solution de DPPH. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{A(\text{blanc}) - A(\text{échantillon})}{A(\text{blanc})} \times 100$$

Où ; A (blanc) : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol).

Résultats et discussion

3.1 La teneur en protéines sériques

Nous avons estimé la quantité des protéines sériques camelines par la méthode de Biuret (Gornall *et al.*, 1949). La teneur en protéines sériques est égale à $8,03 \pm 0,05$ g/l. Cette teneur est assez comparable à celle obtenue par d'autres chercheurs, soit : 8,4 g/l (Alloui-Lombarkia *et al.*, 2001), 8,5 g/l (Kihal *et al.*, 1999), 7,5 g/l (Attia *et al.*, 2001), 8 g/l (Zennia *et al.*, 2015). Par contre, la valeur trouvée est inférieure à celle rapportée par Albu Lehia, (1987) qui est de 9 g/l et Bayoumi (1990), 10 g/l.

Les protéines sériques du lait camelin est d'un grand intérêt du fait que c'est dans cette fraction qu'on retrouve des facteurs antibactériens particulièrement puissant (lysozyme, lactoferrine et les immunoglobulines...) (El-Agamy, 2000).

3.2 Comportement électrophorétique des protéines sériques en PAGE Native

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes et non dissociantes est résolutive et bien adaptée pour la séparation des protéines sériques bovines et camelines. L'analyse d'électrophorogramme obtenu montre une similitude entre les deux échantillons étudiés (Lactosérum camelin et bovin) (Figure 15).

En PAGE native, les protéines sériques bovines migrent en quatre bandes. En s'appuyant sur les données bibliographiques, nous pouvons les distinguer selon l'ordre décroissant de leurs mobilités $BSA < \alpha\text{-Lac} < \beta\text{-Lg}$. Une bande moins intense constitue la BSA, suivie de l' $\alpha\text{-Lac}$, enfin deux autres bandes intenses correspondent aux deux variants génétiques de la $\beta\text{-Lg}$.

Les protéines sériques camelines migrent également en quatre niveaux différents. La bande (A) intense et qui migre au même niveau que la BSA pourrait correspondre à BSA cameline. La bande (C) désigne l' $\alpha\text{-Lac}$ cameline qui se situe au même niveau que l' $\alpha\text{-Lac}$ bovine. Les deux bandes (B) et (D) qui n'ont pas d'homologues bovins, pourraient correspondre aux variants génétiques de l' $\alpha\text{-Lac}$ cameline, qui diffèrent dans leur pHi et dans leur séquences N-terminales (Ochirkhuyag *et al.*, 1998). Ces variants génétiques pourraient aussi correspondre à des protéines spécifiques du lait camelin (Merin *et al.*, 2001).

L'électrophorogramme obtenu confirme l'absence de la $\beta\text{-Lg}$ dans le lait camelin, en raison l'absence de bande de migration équivalente au niveau de la $\beta\text{-Lg}$ bovine (Farah *et al.*, 2004).

Résultats et discussion

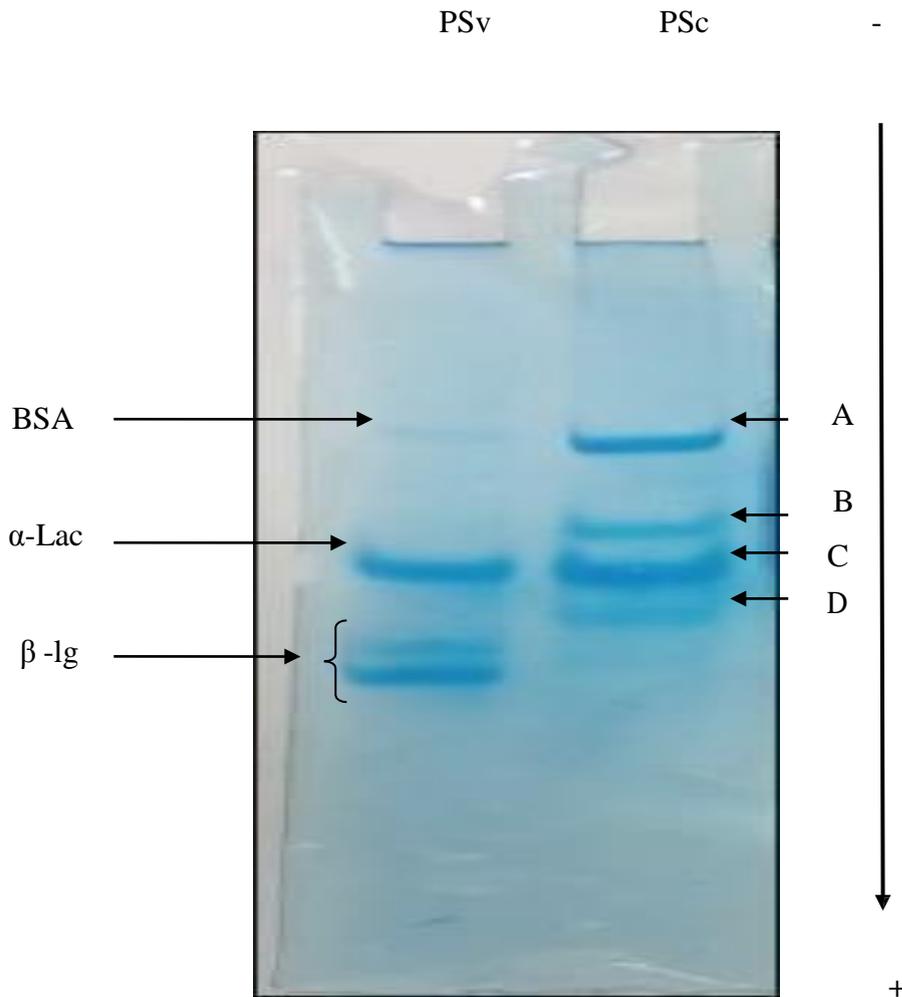


Figure 15 : Profil électrophorétique des protéines du lactosérum en PAGE native (T = 12% ; C = 2,9%) ; PSv : protéines sériques bovines ; PSc : protéines sériques camelines.

3.3 Modification chimique de lactosérum camelin

La désamidation non-enzymatique d'Asn est la modification la plus fréquente qui a pour résultat l'addition de charges négatives à la protéine native (Nonoaka *et al.*, 2008). L' α -Lac est la protéine majeure du lactosérum camelin (8g/l) et la présence des deux sites Asn16-Gly17 et Asn45-Gly46 dans la séquence primaire de cette protéine rend cette protéine sujette à une désamidation non-enzymatique à pH alcalin ou proche de la neutralité.

La désamidation non enzymatique de lactosérum camelin a été réalisée à 37°C, à pH 8,4 dans un tampon phosphate de sodium 150 mM. Le choix de ce tampon est lié à la vitesse à laquelle se fait la réaction de désamidation qu'en d'autre tampon Tris-HCl ou acétate, pour une même molarité et un même pH (Aswad, 1995 ; Robinson et Robinson, 2004). Le tampon phosphate de sodium augmente de 2 à 3 fois le taux de désamidation comparé à un tampon Tris-HCl à pH 7,4 et à 37°C (Robinson et Robinson, 2001).

Résultats et discussion

Afin de contrôler la réaction de désamidation de notre échantillon, nous avons analysés les fractions après incubation à pH 8,4 et 37°C pendant 4 jours par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions non dénaturantes (PAGE native) (Figure 16).

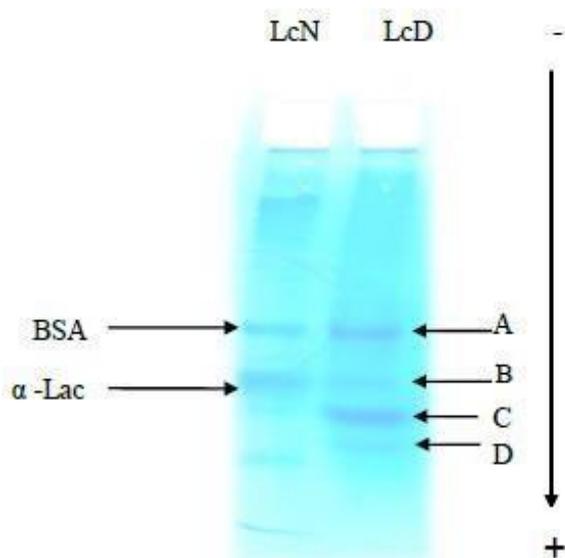


Figure 16 : Profil électrophorétique des protéines du lactosérum en PAGE native (T=12% ; C=2,9%) ; LcN : Lactosérum camelin natif. LcD : Lactosérum camelin désamidé. A : BSA ; B : α -Lac native ; C, D : α -Lac désamidée.

L'analyse d'électrophoregramme obtenu montre l'apparition de deux bandes supplémentaires notées (D) et (C) qui migrent plus loin vers l'anode que la bande (B). L'intensité de la bande (B) est plus faible que celles des bandes (C) et (D), ce qui indique que ces deux bandes (D, C) correspondent aux isoformes générées lors de désamidation de l' α -Lac (Figure 16).

Ce résultat est similaire à celui obtenu par Zennia *et al.*, (2015). Ces auteurs ont mentionné que ces bandes correspondent aux isoformes (A2 et A3) issus de la transformation de L' α -Lac cameline native lors de son incubation dans le tampon phosphate de sodium à pH 7,4 et 8,4 à 37°C, respectivement.

Résultats et discussion

L'étude de Girardet *et al.*, (2004) a montré que l'incubation de l' α -Lac équine à pH 7,4 à 37°C dans un tampon de phosphate de sodium génère deux isoformes A1 et A2 qui sont révélées par la PAGE alcaline. Les mêmes auteurs ont mentionné que l' α -Lac équine possède un site de désamidation spontanée Asn45 qui se désamide en Asp 45 ou isoAsp 45 à pH 7,4 à 37°C. Cependant, l' α -Lac cameline possède deux sites de désamidation Asn16 et Asn45 dont le premier est désamidé en isoforme A3 et le second en isoformes A2 et A3 (Zennia *et al.*, 2015).

3.4 L'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés technofonctionnelles des protéines sériques

✚ L'effet sur la solubilité

L'évolution de la solubilité des protéines sériques camelines natives et désamidées est présente dans la figure 17.

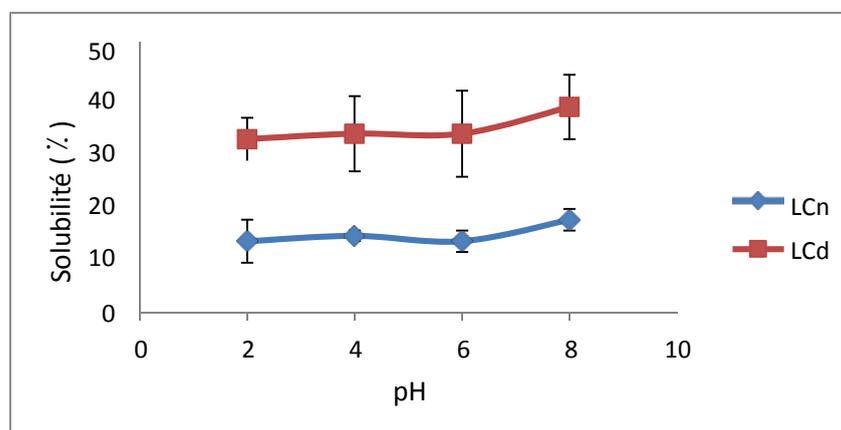


Figure 17 : Effet de la désamidation non enzymatique sur la solubilité des protéines sériques camelines natives (LCn) et désamidées (LCd).

Les courbes de solubilité des protéines sériques camelines natives et désamidées suivent la même allure.

La courbe de solubilité des protéines sériques camelines natives montre que la solubilité est minimale dans la plage de pH 5-6, en s'éloignant de cette plage la solubilité augmente. La solubilité des protéines sériques désamidées augmente dans la plage de pH allant de 2 à 8. A des pH de 5 à 6, la solubilité était minimale.

A des valeurs de pH inférieures et supérieures à la zone de point isoélectrique la solubilité augmente, car dans ces conditions, les protéines ont des charges nettes négatives en

Résultats et discussion

raison de l'effet de la désamidation sur la structure de l' α -Lac, donc plus d'eau interagit avec les molécules de protéines.

La diminution de la solubilité est due à l'augmentation des interactions protéine-protéine. La solubilité est minimale dans la zone de pH isoélectrique.

Dans notre étude, le lactosérum est constitué de plusieurs protéines dont leurs pHi est différent, α -Lac (pHi = 5,1) ; Lysozyme (pHi entre 10,5 et 11) ; Lactoferrine (pHi=8,63). La courbe obtenue ne prend pas l'allure d'une cloche on raison de la précipitation qui se produit au point isoélectrique de mélange de protéines.

Les études de Yong *et al.*, (2004) sur la α -zéine de maïs, ont montré que la désamidation augmente la solubilité des protéines. Cette augmentation est attribuée à une augmentation de la charge négative nette de la protéine et à la diminution consécutive des interactions protéine-protéine.

✚ L'effet sur le pouvoir moussant

L'étude de l'effet de la désamidation non enzymatique sur la capacité moussante des protéines sériques camelines est représentée sur la figure 19.

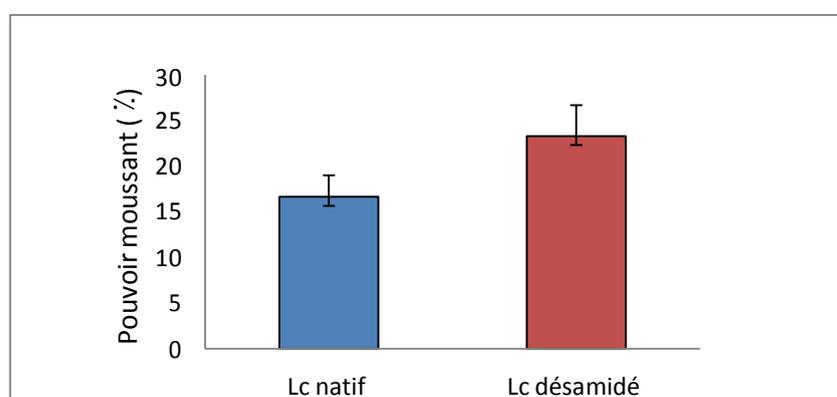


Figure 21: Effet de la désamidation non enzymatique sur la capacité moussante des protéines sériques camelines. Lc : Lactosérum.

La capacité moussante du lactosérum camelin est touchée par le processus de désamidation non enzymatique. Nous avons enregistré une capacité moussante plus élevée dans l'échantillon désamidé $23,3 \pm 3,39\%$ contre $16,65 \pm 2,34\%$ dans l'échantillon natif. En effet, la capacité moussante des protéines est améliorée après la désamidation.

Notre résultat est en accord avec les résultats obtenus par plusieurs auteurs, qui ont travaillé sur les propriétés moussantes des protéines végétales tel que le gluten de blé

Résultats et discussion

(Mijanur *et al.*, 2007), les protéines d'onagre (Hadidi *et al.*, 2021) et les protéines de soja (Suppavorasatit *et al.*, 2011) désamidées par la glutaminase. Ils ont prouvé que cette modification enzymatique favorise la formation des mousses donc améliore le pouvoir moussant des protéines.

L'augmentation de la capacité moussante des échantillons désamidés est due à l'amélioration de la solubilité des protéines suite à l'augmentation de leur charge nette négative par la désamidation, ce qui favorise les forces de répulsions électrostatiques des protéines sériques entraînant un déplacement rapide des protéines à l'interface gaz/liquide.

Les résultats obtenus pour la stabilité des mousses formées par lactosérum camelin natif et désamidé sont présentés dans la figure (20).

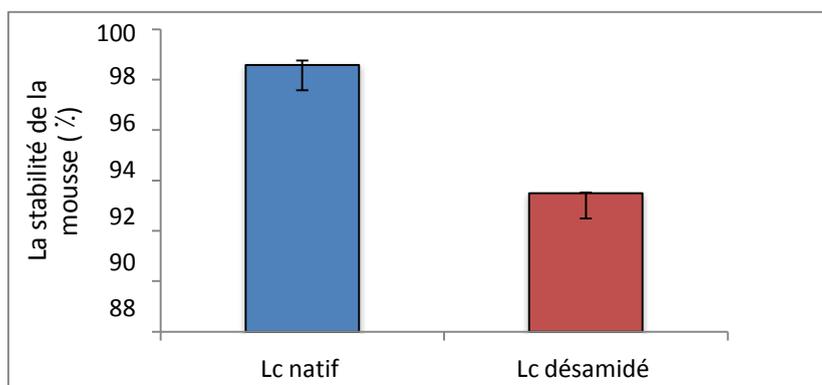


Figure 19 : Effet de temps sur la stabilité des mousses. Lc : Lactosérum.

A l'inverse de la capacité moussante, la stabilité de la mousse de lactosérum camelin désamidé ($93,27 \pm 0,18\%$) est inférieure à celle de lactosérum camelin natif ($98,59 \pm 0,03\%$) en fonction de temps de repos. Notre résultat est en accord avec celui trouvé par Suppavorasatit *et al.*, (2011), qui ont travaillé sur les protéines de soja. Ces auteurs ont montré que la mousse formée à partir des protéines sériques natives est plus stable à celle formée par les protéines sériques désamidées.

La diminution de la stabilité de la mousse pourrait être dû à la réduction de l'interaction protéine-protéine, qui est affectée par l'augmentation excessive de la charge de la protéine (Suppavorasatit *et al.*, 2011).

✚ L'effet sur le pouvoir émulsifiant

Les résultats de l'effet de la désamidation sur l'activité émulsifiante des protéines sériques camelines sont présentés dans la figure 18.

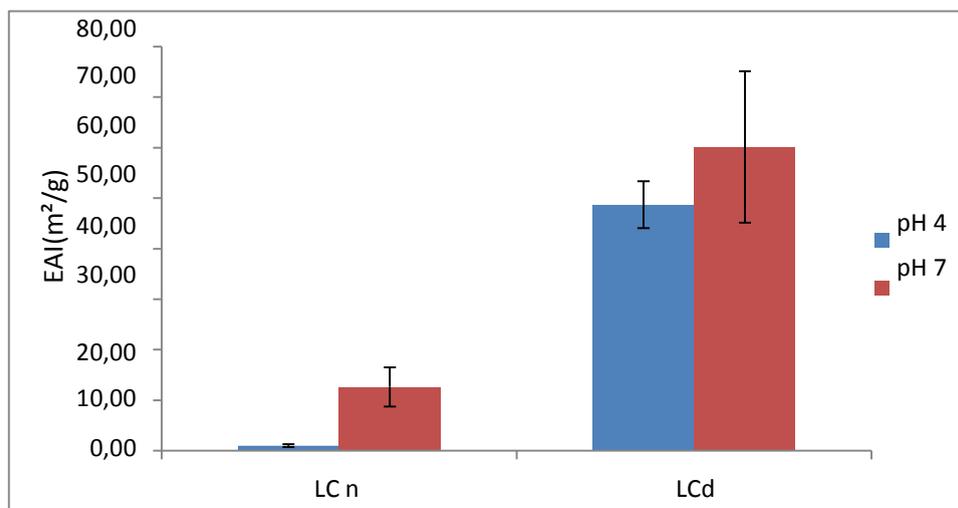


Figure 20 : Effet de la désamidation non enzymatique sur l'activité émulsifiante des protéines sériques camelines. LCn : Lactosérum natif, LCd : Lactosérum désamidé.

Les résultats de pouvoir émulsifiant des protéines sériques camelines natives et désamidées à pH 4 et pH 7 montrent une amélioration significative du pouvoir émulsifiant des protéines sériques camelines désamidées, il passe de $0,97 \pm 0,27 \text{ m}^2/\text{g}$ à $12,61 \pm 4,62 \text{ m}^2/\text{g}$ à pH 4 et de $48,71 \pm 3,9 \text{ m}^2/\text{g}$ à $60,13 \pm 15 \text{ m}^2/\text{g}$.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par plusieurs auteurs. Lion *et al.*, (2010) et He *et al.*, (2019) ont évalué l'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés émulsifiantes des protéines végétales (le gluten de blé désamidé avec l'acide citrique ou l'acide tartrique ou acide succinique) et ont prouvé que cette modification chimique améliore la capacité émulsifiante de ces protéines.

En plus, la désamidation enzymatique améliore les propriétés fonctionnelles des protéines végétales telles que le pouvoir émulsifiant. En effet, les isolats de protéines de soja et d'avoie (Suppavarosant *et al.*, 2011) et la zéine de maïs (Yong *et al.*, 2004) désamidés par glutaminase ont présenté une amélioration de l'activité émulsifiante dans les zones inférieures ou supérieures à leur phi.

Résultats et discussion

Cette amélioration de l'activité émulsifiante par la désamidation due hydrophobicité de leur surface par l'exposition des groupements non polaires et les groupements riches en soufre qui facilitent la diffusion des protéines dans l'interface huile-eau. Elle est due aussi à l'amélioration de la solubilité des protéines suite à l'excès de charge négative qui favorise les forces de répulsions électrostatiques entre les gouttelettes de l'huile (Mirmaghtadie *et al.*, 2009 ; Suppavarosant *et al.*, 2011).

3.5 L'effet de la désamidation sur l'activité antioxydante

Les résultats de l'effet la désamidation non enzymatique sur l'activité antioxydante des protéines sériques camelines sont représentés dans la figure (21).

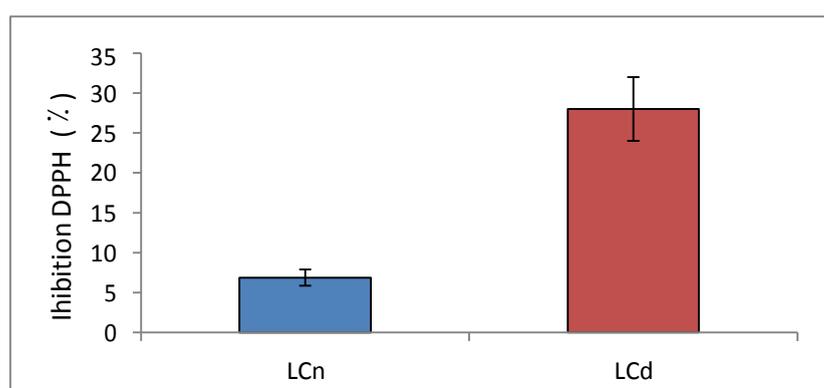


Figure 21 : Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH par les protéines sériques camelines natives (LCn) et désamidées (LCd).

L'activité antioxydante des protéines sériques camelines désamidées est élevée par rapport à celle obtenue pour les protéines sériques natives, 28±4% contre 6,9±1%, respectivement.

Notre résultat est en accord avec le résultat obtenu après la désamidation spontanée de la lactoferrine du lait de la femme (Belizy *et al.*, 2001).

L'effet antioxydant accru de ces protéines sériques désamidées peut être expliqué par leur capacité accrue à lier le Fe^{3+} aux groupements carboxyles supplémentaires libérés lors de la désamidation spontanée (Belizy *et al.*, 2001).

L'activité antioxydante des protéines peut être touchée par d'autre phénomène, tel que l'hydrolyse. Celle-ci augmente l'activité antioxydante, par l'activation des propriétés antioxydantes des protéines sériques qui se lient aux ions de fer. (Lukach *et al.*, 1994).

Conclusion générale

Conclusion générale

Le lait de chamelle constitue une ressource alimentaire inestimable pour les populations des régions arides et semi arides. C'est un produit relativement riche en éléments nutritifs et un nombre de vertus thérapeutiques. Il présente des aptitudes limitées à la transformation en produits dérivés (fromage, beurre...etc.), en raison de ses caractéristiques physico-chimiques particulières.

Dans ce contexte, la présente étude s'est intéressée à l'évaluation de l'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques camelines.

Le travail a été initié par l'isolement des protéines sériques suivant plusieurs étapes (écrémage, acidification,...) et d'un contrôle électrophorétique dans des conditions non dissociantes et non dénaturantes qui a révélé la migration de quatre bandes selon l'ordre décroissant de leur mobilité $BSA < \alpha\text{-Lac} < \beta\text{-Lg}$ (deux variantes génétiques A et B).

La mise en évidence de la désamidation non enzymatique de lactosérum a été réalisée à une température de 37 °C à pH 8,4 dans le tampon phosphate de sodium. Les résultats obtenus après quatre jours d'incubation suivie d'un contrôle électrophorétique (Alcaline PAGE) ont montré la formation de deux nouveaux isoformes (A2 et A3).

L'effet de la désamidation non enzymatique des protéines sériques camelines sur les propriétés techno-fonctionnelles a été étudié. Les résultats ont montré une amélioration de la solubilité des protéines sériques, à des valeurs inférieures au pHi (pH 2) la solubilité est de 13 ± 4 pour lactosérum natif contre 32 ± 4 pour le lactosérum désamidé et à des valeurs supérieures au pHi (pH 8) la solubilité des protéines sériques natives est de 17 ± 2 contre 38 ± 1 pour les protéines sériques désamidés.

Les propriétés moussantes des protéines lactosériques camelines ont été aussi améliorées par le processus de désamidation non enzymatique. La capacité moussante de lactosérum native est de 16.65 ± 2.34 contre 23.3 ± 3.39 pour le lactosérum désamidé.

En plus, les propriétés émulsifiantes de ces protéines ont été touchées par cette modification chimique. Une augmentation significative de la capacité émulsifiante de $0.97 \pm 0,27$ à $48,71 \pm 3,9$ m²/g à pH acide et de $12,6 \pm 4,62$ m²/g à $60,13 \pm 10$ m²/g pH basique.

Le pouvoir antioxydant des protéines camelines désamidées a été déterminé par le test DPPH. Les résultats ont montré une amélioration de l'activité antioxydante après la

Conclusion générale

désamidation. Les pourcentages d'inhibition obtenus sont de $6,9 \pm 1$ % pour les protéines sériques non désamidées et de 28 ± 4 % pour les protéines sériques camelines désamidées.

Les résultats de cette étude permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives. Donc pour compléter ce travail sur les propriétés techno-fonctionnelles des protéines sériques camelines, nous proposons de :

Purifier la α -lactalbumine et étudier l'effet de la désamidation non enzymatique sur les propriétés techno-fonctionnelles testées.

Etudier d'autres propriétés techno-fonctionnelles (la gélification, la rétention d'eau, ...) et l'effet de la désamidation sur ces propriétés.

Etudier l'effet de la désamidation non enzymatique sur les activités biologiques : activité antibactérienne, antioxydante, ...

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abu-Lehia I. (1987).** Composition of camel milk. *Milchwissenschaft*, 42(6), 368-371.
- Abu-Lehia I. (1989).** Physical and chemical characteristics of camel milk fat and its fractions. *Food Chemistry*, 34, 261-271.
- Aditya A. et Ronald T. (2006).** Formulation considerations for proteins susceptible to asparagine deamidation and aspartate isomerization., 95(11), 2321–2336.
- Al Haj O. et Al Kanhal H. (2010).** Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk – review. *International Dairy Journal* xxx. P. 1-11.
- Alais C.(1975).** Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.
- Al-Alawi A.et Laleye L.(2011).** Characterization of camel milk protein isolates as nutraceutical and functional ingredients. Collaborative Research Project Sultan Qaboos University United Arab Emirates University.
- Aswad D. (1995).** Deamidation and isoaspartate formation in peptides and proteins. *CRC Series in Analytical Biotechnology*, 65-90.
- Aswad D., Paranandiml V. et Schurter B. (2000).** Isoaspartate in peptides and proteins: formation, significance, and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 21(6), 1129-1136.
- Atri M., Saboury A., Yousefi R., Dalgalarrrondo M., Chobert J., Haertlé T. et**
- Barten D. et O'Dea R. F. (1990).** The function of protein carboxyl methyltransferase in eucaryotic cells. *Life Science*, 47, 181-194.
- Bayoumi S. (1990).** Studies on composition and rennet coagulation of camel milk. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 42(1), 3-8.
- Beg O.U., Von Bahr-Lindstrom H., Zaidi Z. H. et Jornvall H. (1985).** The primary structure of α -lactalbumin from camel milk. *European Journal of Biochemistry*, 147, 233-23.
- Ben Aissa R. (1989).** Le dromadaire en Algérie. Ciheam-Iamz, Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens n° 2. p. 19-28.

Références bibliographiques

Bengoumi M., Faye B. et Ettressol J-C. (1994). Composition minérale du lait de chamelle dusudmarocain. Actes du Colloque: "Dromadaires et chameaux animaux laitiers", 24-26 octobre, Nouakchott, Mauritanie.

Benkerroum N. (2008). Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *African Journal of Biotechnology*, 7, 4856-4867

Bezzalla F. et Gouttaya A. (2013). Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation ; Master ; Université Kasdi Merbah Ouargla.

Bezzalla F. et Gouttaya A. (2013). Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi-lactation, P 16-18, 27, 31- 34.

Bouquelet S. (2008). Les Protéines alimentaires in : « Biochimie alimentaire », Ed Université des Sciences et Technologies de Lille.

Boye J., Alli I. et Ismail A. A., (1997). Use of Differential Scanning Calorimetry and Infrared Spectroscopy in the Study of Thermal and Structural Stability of α -Lactalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1116–1125

Brignon C., Chtourou A. et Ribadeau-Dumas B. (1985). Preparation and amino acid sequence of human casein. *FEBS Lett.* 188, 48-54.

Brochette P. (1999) Emulsification : Elaboration et étude des émulsions. Techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J2150 : 1-18.

Bruchon J. (2004). Etude de la formation d'une structure de mousse par simulation directe de l'expansion de bulles dans une matrice liquide polymère. Thèse Doctorat en Mécanique Numérique, Paris, 191p.

Cantisani A., Napolitano L., Giuffrida M. et Conti A. (1990). Direct identification and characterization of Llama (Lama glama) whey proteins by micro sequencing after Western blotting. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 21, 227- 236.

Capasso S. (1996). Thermodynamic parameters of the reversible isomerization of aspartic residues via a succinimide derivative. *Thermochim. Acta*, 286, 41–50.

Références bibliographiques

Carter D. et Ho J. (1994). Structure of serum albumin. *Advances in Protein chemistry*, 45, 153-203.

Catak S., Monard G., Aviyente V. et Ruiz-Lopez M. (2006). Reaction mechanism of deamidation of asparaginyl residues in peptides: Effect of solvent molecules. *The Journal of Physical Chemistry A*, 110, 8354-8365.

Caussin F. et Bouhallab S. (2004). Environnement minéral et propriétés fonctionnelles des protéines sériques ; in : « Minéraux et Produits Laitiers ». Gaucheron F, ed. Tec & Doc, Paris.

Cayot P. et Lorient D. (1998). Structures et Technofonctions des protéines du lait. *Technique & Documentation*, Lavoisier, Paris,

Chan W., et Ma C. (1999). Acid modification of proteins from soymilk residue (Okara). *Food Research International*, 32, 119–127.

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-Modifications chimique. Tec Et doc. Paris, France.

Chethouna F. (2011). Etude des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques et la qualité microbiologique du lait camelin pasteurisé, en comparaison avec le lait camelin cru. *Universite Kasdi Merbah Ouargla*, 3, 10, 62.

Chitour C. (2004). Physico-chimie des surfaces, les interfaces liquide-liquide et gaz-liquide dans les solutions aqueuses. Ed OPU, N°2, Alger, 249p.

Connolly B., Tran B., Moore J., Sharma V. et Kosky A. (2014). catalysis of asparaginyl deamidation by carboxylic acids: Kinetic, thermodynamic, and quantitative structure-property relationship analyses. *Mol. Pharm.* 11, 1345–1358.

Conti A., Godovac-Zimmermann J., Napolitano A. et Liberatori J. (1985). Identification and characterization of two α - lactalbumins from Somali camel milk (*Camelus dromedarius*). *Milchwissenschaft*, 40, 673-675.

Références bibliographiques

Cuvelier G. et Michon C. (2003). Remplacer la gélatine : quelle fonctionnalité ? In Proceeding of Polymerix, Renne, France, 1-9.

Dalgleish D. (1996). - Food Emulsions, in: Sjoblom I. (eds) - Emulsions and Emulsion stability, Marcel Dekker inc., New York, 287-325.

DALEY L. P., GAGLIARDO L. F., DUFFY M. S., SMITH M. C. and APPLETON J. A. (2005). Application of monoclonal antibodies in functional and comparative investigations of heavy chain immunoglobulins in new world camelids. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12 (3), 380 -386.

De Wit J. et Klarenbeek G. (1984). Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *Journal of Dairy Science*, 67, 2701-2710.

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

Diana Y. L., Zhang van E., Gregory C. et Flynn (2009). Human antibody Fc deamidation in vivo, 37(5), 313–322.

Dick A., Sleimane F., El Kory M. et El Kory O. (2011). La variabilité de la teneur en calcium du lait de chamelle en Mauritanie, ScienceLib Editions Mersenne. Vol3, N ° 111008.

Dickinson E. (1992). Structure and Composition of Adsorbed Protein Layers and the Relationship to Emulsion Stability - *Journal of Chemical Society, Faraday Transactions*, 88 (20) 2973-2983.

Dickinson E. (1998). Proteins at interfaces and in emulsions Stability, rheology and interactions. *J Chem Soc Faraday Trans*,94.

Dickinson E. et Tanai S. (1992). Protein displacement from the emulsion droplet by oil-soluble and water-soluble surfactant, *J Agric Food Chem*, 40 (2), 179–183.

Duchesne C. (2002). Caractéristiques et usages des émulsions bitumineuses (liant d'accrochage). *Bulletin d'information technique*.

Dudek E., Lampi K., Lampi J., Shang F., King J., Wang Y. et Taylor A. (2010). Ubiquitin proteasome pathway-mediated degradation of proteins: Effects due to site-specific substrate deamidation. *Investig. Ophthalmol*, 51, 4164–4173.

Références bibliographiques

- El Imam A. (2012).** Composition and Anti-Hypoglycemic Effect of Camel Milk. In Proceedings of the 3rd Conference of the International Society of Camelid Research and development, p. 300-301. MUSCAT? Sultanate of Oman.
- El-Agamy E. (2000).** Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cow's and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*, 68.
- El-Agamy E., Nawar M., Shamsia S., Awad S. et Haenlein G. (2009).** Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children. *Small Ruminant Research*, 82, p. 1-6.
- Elagamy E., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C. et Assaf R. (1992).** Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *Journal of Dairy Research*, 59, 169-175.
- Elagamy E., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C. et Assaf R. (1996).** purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *International Dairy Journal*, 6, 129-145.
- El-Amin F. et Wilcox J. (1992).** Composition of Majaheim camels. *J. Dairy Sci.*, 75, 3155-3157
- El-Hadi S., Ilayan A. et El Faki A. (2006).** Chemical and microbiological quality of Garris, Sudanese fermented camel's milk product. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 321-328.
- El-Hatmi H., Girardet J. M., Gaillard J. L., Yahyaoui M. H. et Attia H. (2007).** Characterization of whey proteins of camel (*Camelus dromedarius*) milk and colostrums. *Small Ruminant Research*, 70.
- El-Hatmi H., Levieux A., et Levieux D. (2006).** Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G, α -lactalbumine, serum albumin and lactoferrine in colostrums and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*, 73, 288-293.

Références bibliographiques

Farah Z. (1996). Camel Milk Properties and Products. Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management, SKAT, Switzerland.

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

Farah Z. (2011). Camel milk. Encyclopedia of Dairy Sciences, Second Edition, 3, p. 512-517.

Farah Z., Eberhard P., Meyer J., Rehberger B., Thomet A. et Galmann P. (2004). Uhtprocessing of camel milk. Swiss federal institute of technology, Switzerland.

Farah Z., Rettenmaier R. et Atkins D. (1992). Vitamin content of camel milk. International Journal of Vitamins and Nutrition Research, **62**, 30-33.

Farrel J., Jimenez-Flores R., Bleck G., Brown E., Butler J., Creamer L., Hicks C., Hollar C., Ng-Kwai-Hang K. et Swaisgood H. (2004). Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. Journal of Dairy Science, **87**, 1641-1674.

Farrell H. M., Jimenez Flores R., Bleck G. T., Brown E. M., Butler J. E., Creamer L. K., Hicks C. L., Hollar C. M., Ng Kwaihang K. F. et Swaisgood H. E. (2004). Nomenclature of the proteins of cow milk – sixth revision. *Journal of Dairy Science*, **87**, 1641-1674.

Faye B. (2003). Performances et productivité laitière de la chamelle : les données de la Littérature « lait de chamelle pour l'Afrique ». Atelier sur la filière laitière cameline en Afrique. Comptes rendus de la FAO, Niamey.

FAYE B. (2004). Performances et productivité laitière de la chamelle : les données de la littérature. Lait de chamelle pour l'Afrique. FAO. Rome. P. 7-15.

Filion M. (2006). Amélioration de la stabilité thermique du lait par modulation du potentiel d'oxydoréduction. Mémoire de maîtrise en sciences et technologie des aliments (grade de maître ès sciences). Faculté des études supérieures de l'université Laval, Québec.

Références bibliographiques

France R. M. et Grossman S. H. (2000). Acrylamide quenching of apo- and holo α -lactalbumin in guanidine hydrochloride. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 269, 709-712.

Ganesan N. et Ning X. (2017). Role of Proteins on Formation, Drainage, and Stability of Liquid Food Foams.

Ghennam E., Alloui L. et Ghennam A. (2007). Evolution de quelques caractères physico-chimiques et flore microbienne du lait de dromadaire conservé aux températures ambiante et de réfrigération. *Laboratoire de Technologie Alimentaire, Université de Batna, Renc. Rech. Ruminants*, 109.

Gonzalez C., Herranz A. et Vallée C. (2004). Les propriétés moussantes du lait. *Projet industriel de l'Institut National Polytechnique de Lorraine*, 20p.

Gornall A., Bardawill C. et Mm D. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 177, 751-766

Griko Y. et Remeta D. (1999). Energetics of solvent and ligand-induced conformational changes in α -lactalbumin. *Protein Science*, 8, 554-561.

Haddadin M., Gammoh S. et Robinson R. (2007). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research*, 75, 8-12. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1 (2), 52-58. *J. DairyTechn.*, 64, 471-474

Haddadin M., Gammoh S. et Robinson R. (2008). Seasonal variations in the chemical composition of camel milk in Jordan. *Journal of Dairy Research* 75 (1), p. 8-12.

Hadidi M., Ibarza A. et Pouramin S. (2021). Optimization of extraction and deamidation of edible protein from evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oil processing by-products and its effect on structural and techno-functional properties.

Halling P. (1981). Protein-stabilised foams and emulsions. *c.r.c crit. Rev food science and nutrition*. 15, 55-203.

Hassan, A.A., Hagrass, A.E., Soryal, K.A. et El-Shabrawy, S.A. (1987). Physico-chemical properties of camel milk during lactation period in Egypt. *J. Food Sci.* 15: 1-14.

Références bibliographiques

Hamada J. et Swanson, B. (1994). Deamidation of food proteins to improve functionality. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34, 283-292

Haroun O. et Eltinay A. (2009). Changes in chemical composition of camel's milk during storage. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 607- 610.

Hashim I., Khalil A. et Habib H. (2009). Quality and acceptability of a set type yogurt made from camel milk. *Journal of Dairy Science*, 92, 857-862.

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

Hiraoka Y. et Sugai S. (1985). Equilibrium and kinetic study of sodium- and potassium-induced conformational changes of apo α -lactalbumin. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 26.

Hu Y., Sun-Waterhouse D., Liu P., Cui C. et Wang W. (2019). Modification of rice protein with glutaminase for improved structural and sensory properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 2458–2467

Joseph F. (1997). *Functionality of Proteins in Food*.

Joyce I. (2015). *Nutraceutical and functional food processing technology*, Ed; Wiley Blackwell, Canada.

Kamoun M. (1995). Le lait de dromadaire: production, aspects qualitatifs et aptitude à la transformation. *ciheam-iamm. Options méditerranéennes, Séries séminaires*. n°13. P. 81- 103.

Kappeler S. (1998). Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. Doctorat thesis, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Suisse.

Kappeler S., Ackermann M., Farah Z. et Puhan Z. (1999). Sequence analysis of camel (*Camelus dromedarius*) lactoferrine. *International Dairy Journal*, 9, 481- 486.

Références bibliographiques

Kappeler S., Farah Z. et Puhan Z. (1998). Sequence Analysis of Camelus dromedaries milk caseins. *J. Dairy Res.*, 65, p. 206-222.

Kappeller S., Farah Z. et Puhan Z. (2003). Flanking Regions of camel milk genes are highly similar to homologue regions of other species and can be divided into two distinct groups. *Journal of Dairy Science*, 86, 498-508.

Katsuhide Y., Kyoko O. et Kunihiro K. (1992). Absence of the thermal transition in apo- α -lactalbumin in the molten globule state: A study by differential scanning microcalorimetry.

Khan B., Iqbal A. et Riaz M. (2003). Production and Management of Camels. Dept. Livestock Management. University of Agriculture Faisalabad. Pakistan.

Kherouatou N. et Attia H. (2008). Etude comparative des caséines camelines (*Camelus dromedarius*) et bovines. *Sciences et Technologies*, 28, 73-79.

Kihal M., Chekroun A., Bensoltane A., Kheroua O. et Saidi D. (1999). Characterization of Algerian raw camels milk : proteins content and native lactic acid bacteria. 1^{ères} Journées sur la Recherches Cameline, 25 au 27 mai, Ouargla, Algérie.

Kilara A. (1984). Standardization of methodology for evaluating whey proteins. *Journal of Dairy Science*. 67, 2734-2744.

Klemaszewski J., Das K. et Kinsella J. (1992) - Formation and Coalescence Stability of Emulsions Stabilized by Different Milk Proteins - *Journal of Food Science*, 57, 366-379.

Koichi K., Tomoki N., Eiji K. et Akifumi O. (2020). Mechanisms of Deamidation of Asparagine Residues and Effects of Main-Chain Conformation on Activation Energy ; *International Journal of Molecular Sciences* , 21, 7035.

Konuspayeva G., Loiseau G. et Faye B. (2004). Le plus value "santé " du lait de chamelle cru et fermenté l expérience du kazakhstan . *Rencontre de recherche Ruminants*, 11, 47-50.

Kramer R.M., Shende V.R., Motl N., Nick P. et Martin S., (2012). Toward a Molecular Understanding of Protein Solubility: Increased Negative Surface Charge Correlates with Increased Solubility.

Références bibliographiques

- Kuwajima K. (1996).** The molten globule state of α -lactalbumin. *Faseb Journal*, 10, 102-109.
- LASNAMI K. (1986).** Le dromadaire en Algérie. Perspective de développement. Thèse. Magis. Agro. I.N.A. El Harrach. Algérie. 185P.
- Lawereys M., Ghahroudi M. A., Desmyter A., Kinne J., Holzer W., Genst E. D., Wyns L. et Muyldermans S. (1998).** Potent enzyme inhibitors derived from dromedary heavy chain antibodies. *Embo Journal*, 17(13), 3512-3520.
- Leila M., Mahdi K. et Mohammad S. (2009).** Effects of succinylation and deamidation on functional properties of oat protein isolate. *Food Chemistry* 114. 127–131.
- Li R. et Xiong Y. (2020).** Sensitivity of oat protein solubility to changing ionic strength and pH.
- Liao L., Zhao M., Ren J., Zhao H., Cui C. et Hu X. (2010).** Effect of acetic acid deamidation-induced modification on functional and nutritional properties and conformation of wheat gluten. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(3), 409–417.
- Manginome (1994)** - Protein Interactions in Emulsions: Protein-Lipid Interactions. in :hettiarachchy n.s. et ziegler g.r. (eds) - protein functionalitv in foodsvstems, marcel dekker inc., new york, 147- 179.
- Martinez D. (1989).** Note sur la production de lait de dromadaire en secteur périurbain en Mauritanie. *Elev Méd Vét Pays Trop*, 42, 115–116.
- McClements D. (1999).** Food emulsions; Principles, practice, and techniques. CRC Press LLC.
- McGuffey M. (2004).** Thermal stability of α -lactalbumin. Ph.D. Thesis, North Carolina State University.
- Medjour A. (2014).** Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (*Camelus dromedarius*) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi-intensif). MEMOIRE Magister. Universite Mohamed Khider De Biskra.

Références bibliographiques

- Mehaia M. (1994).** Vitamin C and riboflavin content in camel milk: effect of heat treatment. *Food Chemistry*, 50 (2), 153-155.
- Mehaia M. (1995).** The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwisens chaft*, 50.
- Merin U., Bernstein S., Bloch-Damti A., Yagil R., Creveld C., Lindner P. et Gollop N. (2000).** A comparative study of milk serum proteins in camel milk (*Camelus dromedarius*) and bovine colostrum. *Livestock Production Science*, 67(3), 297-301.
- Michaël N. (2009).** Interactions et assemblages entre l'alpha lactalbumine et le lysozyme : mécanismes, structures et stabilité.
- Mijanur R., Sana N., Masudul M., Sarkar B., Huque E. et Shaha R. (2007).** Partial purification of déamidase from germinating wheat (*triticum aestivum*) seeds and its application for the improvement of functional properties of wheat.
- Mirmoghtadaie L., Kadivar M. et Shahedi M. (2009).** Effects of succinylation and deamidation on functional properties of oat protein isolate. *Food Chemistry*, 114, 127-131.
- Mishra P. et Mahawar M. (2019).** PIMT_Mediated Protein Repair: Mechanism and Implications.
- Monahan F., McClements D. et German J. (1996)** - Disulfide-mediated Polymerization Reactions and Physical Properties of Heated Wpi-stabilized Emulsions- *Journal of Food Science*, 61 (3) 504-509.
- Moosavi A. (2010).** Comparative study on heat stability of camel and bovine apo and holo alpha-lactalbumin. *Journal of Dairy Research*, 77(1), 43-49.
- Nonaka Y., Aizawa T., Akieda D., Yasui M., Watanabe M., Watanabe N., Tanaka I., Kamiya M., Mizuguchi M., Demura M. et Kawano K. (2008).** Spontaneous asparaginyle deamidation of canine milk lysozyme under mild conditions. *Proteins*, 72(1), 313-22.
- Ochirkhuyag B., Chobert J. M., Dalgalarrrondo M., Choiset Y. et Haertle T. (1998).** Characterization of whey proteins from Mongolian yak, khainak and bactrian camel. *journal of food biochemistry*, 22, 105-124

Références bibliographiques

Patel M. et Kilara A. (1990). Studies on whey protein concentrates. 2. foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. *Journal of Dairy Science*, 73, 2731–2740.

Payens T. A. (1982). Les propriétés physico-chimiques des caséines α_1 , β et κ . *Lait*, 62, 306–320.

Pintado M. et Malcata F. (2000). Hydrolysis of ovine, caprine and bovine whey proteins by trypsin and pepsin. *Bioprocess Engineering*, 23(3), 275–282.

Polverino L., Frare E., Gottardo R et Fontana A. (2002). Molten globule of bovine α -lactalbumin at neutral pH induced by heat, trifluoroethanol, and oleic acid: a comparative analysis by circular dichroism spectroscopy and limited proteolysis. *Proteins: structure, function, & genetics* 49 385–397.

Portier J. (2008). Les fiches explicatives : comprendre les émulsions, la belle verte. publication internet.

Potocnik K., Gantiner V., Kuterovac K. et Cividini A. (2011). Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mares's Milk, Mljekarstvo*, 61 (2), 107–113.

Qin Z., Zhu J. et Aswad D. (2016). The D-isoAsp variant of histone H2B is highly enriched in active chromatin: potential role in the regulation of gene expression? *Amino Acids*, 48, 599–603.

Robin O., Turgeon S. et Paquin P. (1993). Functional properties of milk proteins. ed. *Dairy Science and Technology Handbook*. New-York.

Robinson N. E. et Robinson A. B. (2004). Amide molecular clocks in Drosophila proteins: potential regulators of aging and other processes. *Mechanisms of Ageing and Development*. 125, 259–267.

Robinson N. E. et Robinson A. B. (2001). Molecular clocks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(3), 944–949.

Références bibliographiques

Robinson N.E., et Robinson A.B. (2007). Use of merrifield solid phase peptide synthesis in investigations of biological deamidation of peptides and proteins. *Biopolymers*, 90(3), 297-306.

Ryttersgaard C., Griffith S.C., Sawaya M.R., Maclaren D.C., Clarcke S. et Yeates T.O. (2002). Crystal structure of human L-isoaspartylmethyltransferase. *journal of biological chemistry*, 277(12), 10642-10646

Saitmuratova O.K., Sulaimanova G.L. et Sadykov A. A. (2001). Camel's milk and shubat from the aral region. *Chem. Natural Comp.*, 37: 566-568.

Salami M., Yousefi R., Ehsani M.R., Dalgalarondo M., Chobert J.M., Haertle T., Razavis S.H., Saboury A.A., Niasari -Naslaji A. et Moosavi-Movahedi A.A. (2008). Kinetic characterization of hydrolysis of camel and bovine milk proteins by pancreatic enzymes. *International Dairy Journal*, 18, 1097–1102.

Saron C. (2007). towards the elucidation of the deamidation mechanism of asparaginyl residues in peptides and proteins; thèse docteur de l'université henri poincaré nancy et docteur de bogaziçi university, istanbul (turquie) en chimie informatique et théorique ; 10 décembre 2007 à boğaziçi university (istanbul, turquie).

Sawaya W.N., Khalil J.K., Al-Shalhat A.F. et Al-Mohammed H. (1984). Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *journal of food science*, 49,p.744-747.

Shlomo M. (1996). Surface activity of proteins chemical and physicochemical modifications, Ed; New York.

Si Ahmed Z. S., Abderrahmane M., Franck S., Yann V., Giovanni C., Guillermo M., Laurent M., Joëlle V., Jean-Michel G (2015). Identification by FT-ICR-MS of *Camelus dromedarius* α-lactalbumin variants as the result of nonenzymatic deamidation of Asn-16 and Asn-45. *Food Chemistry* 187 305–313.

Stahl T., Sallmann H.P., Duehlmeir R. et Wernnery U. (2006). Selected vitamins and fatty acid patterns in dromedary milk and colostrums. *journal of camel practice and research*, 13(1), 53-57.

Références bibliographiques

Stephenson R.C., Clarke S. (1989). Succinimide formation from aspartyl and asparaginylo peptides as a model for the spontaneous degradation of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 264(11), 6164-6170.

Suppavorasatit I., De Mejia E. G., et Cadwallader K. R. (2011). Optimization of the enzymatic deamidation of soy protein by proteinase B and its effect on the functional properties of the protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(21), 11621–11628.

Sze-Tao K. W. C. et Sathe S.K. (2000). Walnuts (*Juglans regia* L): proximate composition, protein solubility, protein amino acid composition and protein in vitro digestibility. *J. Sci. Food Agric.* 80:1393–1401.

Tayefi-Nasrabadi H., Hoseinpour-Fayzi M. A. et Mohasseli M. (2011). Effect of heat treatment on lactoperoxidase activity in camel milk: a comparison with bovine lactoperoxidase. *Small Ruminant Research*, 99, p. 187–190

Thakur R. K. Vial, Ch. et Djelveh, G. (2003). Foaming of commercial grade food products in a continuous stirred column. *International Group of Chemical and Process Engineers and Material Scientist*. 81, 1083-1089.

Tran D., John C., Hilderbrand A., Nisana., Huang T., Reif K., Hotzel I., Stefanich E. G., Liu Y. et Wang J. (2016). Automated affinity capture and on-tip digestion to accurately quantify in vivo deamidation of therapeutic antibodies. *Analytical Chemistry*, (), [acs.analchem.6b02766](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b02766).

Vilailak K., Soottawat B., Duangporn K. et Fereidoon S. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry* 102 1317–132

Wakankar A. A. et Borchardt R. T. (2006). Formulation considerations for proteins susceptible to asparagine deamidation and aspartate isomerization. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(11), 2321-2357.

Wan L. S. C., Heng P. W. S. et Chia C. G. H. (1991). Preparation of coated particles using a spray drying process with an aqueous system. *International Journal of Pharmaceutics*, 77, 183-191.

Références bibliographiques

Wangoh J., Farah Z. et Puhan Z. (1998). Isoelectric focusing of camel milk proteins. international dairy journal. 8: 617-621.

Wilson R.T. (1984). The camel, 1-223, longman group ltd; London, G.

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

Wright H. T. et Robinson A. B. (1982). In from cyclotrons to cytochromes. Kaplan N. O. And Robinson A. B. Ed. academic press, orlando.

Yagil R. (1982). Camels and camel milk. Invited publication from FAO. 26-69

Yagil R. et Etzion Z. (1980). Effect of drought condition on the quality of camel milk. j dairy res 47(2): 159-166.

Yong Y. H., Yamaguchi S., Guy S., Mori T. et Matsumura Y. (2004). Effects of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of r zein, journal of agricultural and food chemistry,52(23), 7094-7100

Zeuner F.E. (1963). A history of domesticated animals. hutchinson ed., London. publishers, 1963, 537 pages.

Zhu K., Zhou H. et Qian H. (2006). Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase, process biochemistry 41 1296–1302.

Annexes

Annexes

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

1. Solutions

Solution mère de BSA

BSA	10mg.
Eau physiologique	1000ml.

Le réactif de Gornall

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 solubilisé ;
- Ajouter le NaOH puis ajusté avec d'eau distillé jusqu'à 1000ml.

2. Gamme étalon

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

Tubes	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration BSA (mg/ml)	0	0,5	1	1,5	2	4	6	8	10
Solution mère de BSA (ml)	0	0,025	0,05	0,075	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Eau Physiologique (ml)	0,5	0,475	0,75	0,025	0,4	0,3	0,2	0,1	0

3. Méthode

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

4. Expression des résultats :

Une courbe étalon est tracé 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)

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

Tampon de gel (B)

Tris	9,14g.
Eau distillée	100 ml.

- Ajuster à pH 8,9 avec HCl 4N.

Tampon d'électrode

Tris	0.12 g.
Glycine	0,58 g.
Eau distillée	200 ml.

- Ajuster à pH 8,3 avec du Tris

Tampon d'échantillon

Tampon du gel (B).....	100 µl.
Eau distillée	700 µl.
Glycérol 50%	200 µl.
Bleu de bromophénol	une tête d'aiguille.

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

2. Electrophorèse

Préparation du gel (T = 12% et 2,7%)

Solution (A)	3,25 ml.
Solution (B)	5 ml.

Annexes

Eau distillée	1,68 ml.
TEMED	10 µl.
Solution de persulfate d'ammonium 10%	75 µl.

- Couler et mettre le peigne immédiatement

Solution de fixation

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

Solution de coloration

Bleu de Coomassie R250... ..	0,55g.
TCA	4g.
Méthanol.....	100ml.
Eau distillée	100ml.

Solution de décoloration

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

Dépôt d'échantillon : 10 à 20 µl.

Mise sous tension : 20 mA, 250 V.

Fixation : 45 mn dans la solution de fixation.

Coloration : 1 heure dans la solution de coloration.

Décoloration : dans la solution de décoloration.

Annexes

Annexe 03 : Le tampon de phosphate

1. Produits

NaH ₂ PO ₄	234mg.
Na ₂ HPO ₄	155,6mg.
NaN ₃	10mg.

2. Méthode

- Mélanger les 3 poudre, jaugé avec d'eau distillée jusqu'à 50ml ;
- Ajusté le pH à 7,4 avec de NaOH ;
- Filtration (0.45µm) ;
- Dégazé sous-vide ;
- Conserver à 4C°.

Annexe 04: Solution méthanolique de DPPH

DPPH.....	0.002g.
Méthanol.....	50ml.

Annexe 05 :



pH-mètre (HANNA)



Photographie d'un lyophilisateur (Telstar).



Protéines sériques camelines lyophilisées

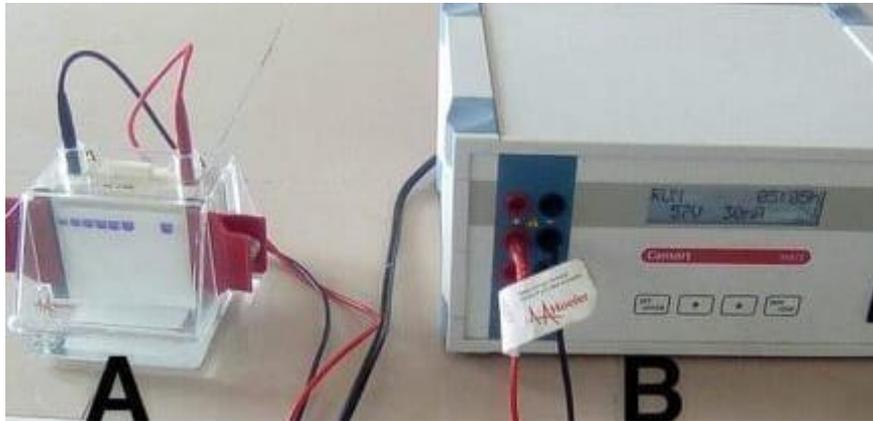


Annexes

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



Photographie d'un Spectrophotomètre UV-Visible (SHIMADZU)



Photographie d'une unité d'électrophorèse (HOEFFER SE 260) A : cuve de migration ; B : générateur de courant.

Annexes



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