



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour -Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم البيولوجية

Département de Biologie

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Spécialité: Ecologie végétale et Environnement

Thème:

Distribution de système enzymatique (coagulase) dans le cardon (*Cynara cadunculus*)

Présenté par :

- Reguieg Aicha
- Jidel Meriem

Soutenu devant le jury :

Mr Berrabeh F	M.C	Université de Djelfa	Président.
Mme Khreissat N	M.A (A)	Université de Djelfa	Promotrice.
Mme Benmouaffki F.	M.A (A)	Université de Djelfa	Examinatrice

Année Universitaire : 2018/2019

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma très chère mère et à mon père qui ont attendu et espéré ma réussite, et je témoigne mon respect, ma profonde gratitude et beaucoup de reconnaissance pour tous ce qu'ils ont fait pour moi.

A mes frères (Fahim, Mostafa). Mes sœurs (Sabrine, Hayat, Rima et Abir),

A toutes la famille Requier un par un. Et à mes amis (Anissa, Wahiba, Imane et khadra).

Aicha R.

Je dédie ce modeste travail A mon père à ma très chère mère,

Une réserve inépuisable de courage vous a permis d'accomplir votre devoir tous les jours et de vous fier à ALLAH pour le lendemain.

Puisse ce travail récompenser votre patience et persévérance et tous tes sacrifices que vous avez consentis, soyez toujours en bonne santé et à côté de moi. Aussi à mes frères (Mohamed, Abdou) et à mes sœurs (Sarrah, Amria)

Et surtout la petite «Roumisa».

A toute la grande famille Jidel.

Meriem J.

Remerciement

Nous commençant tout d'abord par rendre grâce à ALLAH, le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir et nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Ce travail n'aurait pu être effectué sans l'accord , le soutien et l'aide de plusieurs personnes , nous remercions notre promotrice M^{me} Khreisat N, pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'elle nous a accordée pour nous encadrer.

Nous adressons nos remerciements les plus respectueux aux membres de jury pour le grand honneur qu'il nous fond en acceptant d'examiner ce mémoire,

Nous citons : M^r Berrabeh F et M^{me} Benmouaffki F.

Nous remercions profondément aux les enseignants qui nous ont encouragé et soutenu pendant notre cursus.

Nous remercions aussi les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous remercions également tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Table des matières

Table des matières

- Liste des tableaux.
- Liste des figures.
- Liste des photos.
- Liste des abréviations.

INTRODUCTION	01
--------------------	----

Partie bibliographique

- **CHAPITRE 01 : Le lait et le fromage**

I .Définition.....	03
II .Principaux caractères.....	03
III .Composition du lait.....	03
III.1 .Eau.....	05
III.2. Matière grasse.....	05
III.3. Protéines.....	06
III .3 .1. Caséines	07
III. 3. 2. Protéines du lactosérum	07
III.3.2.a. L α - lactalbumine	08
III.3.2.b. La β -lactoglobuline	08
III.3.2.c.Le sérum-albumine	08
III.3.2.d.Les immunoglobulines	08
III.3.2.e.Protéoses-peptones	08
III.4.. Lactose.....	09
III.5. Minéraux.....	09
III.6. Vitamines.....	10

III.7 .Enzymes.....	11
Le fromage	13
I .Définition.....	13
II .Production mondiale du fromage	13
III .La classification des fromages	14
➤ grandes familles technologiques du fromage	15
a .Fromage à pâte fraiche.....	15
b .Fromage à pâte pressée (pâte ferme).....	15
c .Fromage à pâte molle.....	15
VI .Etapas de la fabrication du fromage.....	16
• CHAPITRE 02 : La coagulation du lait.	
I .Définition.....	18
➤ Coagulation acide	18
➤ Coagulation enzymatique.....	19
➤ Coagulation mixte.....	19
II. Les facteurs affectant la coagulation enzymatique du lait	20
II.1. Effet de la température	20
II.2. Effet de pH	20
II.3. Effet de la teneur en ions calcium (CaCl ₂).....	21
II.4. Effet de la dose d'enzyme et de sa nature.....	21
• CHAPITRE 03 : Présure et succédanés de présure.	
I. Présure	22
I.1. Définition	22

I.2. Origine de la présure	22
I.3. Préparation de la présure	23
II. Les succédanés de présure	24
II.1. Enzymes d'origine végétale	24
II.2. Enzymes d'origine microbienne	24
➤ Origine bactérienne	25
➤ Origine fongique.....	25
II.3. Enzymes d'origine animale	25
II.3.1 Présure	25
II.3.2. Pepsines.....	26
✓ La pepsine porcine.....	26
✓ La pepsine bovine.....	26
✓ La Pepsine de poulet.....	27
III .Les critères remplacement de présure d'enzymes de	28

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthodes.

I. Matériel utilisé	29
I. 1. Appareillage	29
I. 2. Produits utilisés.....	29
I. 3. Matières premières.....	29
I. 3. 1. Le lait	29
I. 3. 2. Matériel végétal (<i>Cynara cardunculus</i>).....	31
✓ Systématique.....	33
✓ Caractéristiques de la plante.....	33

II. Méthodes	34
II.1. Protocole expérimental	34
II.1.1. Préparation des extraits enzymatiques	36
II.1.1.1 Caractérisation de l'extrait enzymatique.....	38
A-Détermination de l'activité coagulante.....	38
B- Détermination du temps de prise.....	39
C-Détermination de la force de SOXHLET.....	39
D- Appréciation de l'effet du pH.....	39
E. Appréciation de l'effet de la température.....	39
II. 1. 2. Etude du mode de conservation de l'extrait.....	39
II. 1. 3. Tests de coagulation.....	40
A. Analyse physico- chimique des laits.....	40
B. Coagulation du lait.....	41
II. 1. 4. Détermination des caractéristiques des produits obtenus.....	41
II. 1. 4. 1. Lactosérum.....	41
II. 1. 4. 2. Coagulum.....	42
III. Résultats et discussion	43
III. 1. Caractérisation des extraits enzymatiques	43
III. 1. 1. Activité coagulante	43
III.1. 2. Effet du pH du lait sur l'activitécoagulante.....	45
III .1. 3. Effet de la température du lait sure l'activité coagulant	46
III .1. 4. Etude du mode de conservation	48

III. 2. Test de coagulation	49
III. 2. 1. Caractéristiques des lactosérums	50
A. Volume des lactosérums	51
B. pH	51
III. 2. 2 Caractéristique des coagulums	52
A .Couleur des fromages.....	52
B .Poids des fromages	53
C .La matière sèche	54
• Conclusion	56
• Résumé.	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition générale du lait de vache	04
Tableau 2 : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre.....	04
Tableau 3 : Classification des protéines.....	9
Tableau 4 : Composition minérale du lait de vache	10
Tableau 5 : Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	11
Tableau 6 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait	12
Tableau 7 : Différents types des fromages.....	16
Tableau 8 : Races étudiées.....	30
Tableau 9 : Caractéristiques des extraits enzymatiques.....	44
Tableau 10 : Temps de coagulation.....	49
Tableau 11 : Analyse physico-chimique des laits.....	49
Tableau 12: volumes des lactosérums.....	51
Tableau 13: Valeurs du pH des laits et lactosérums dégagés.....	51

Liste des figures

Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait	06
Figure 2 : Modèle de micelle de caséine avec sous-unités.....	07
Figure 3 : Principaux producteurs de fromage dans le monde en 2005 (milliers de tonnes)..	14
Figure 4 : les étapes de fabrication du fromage.....	17
Figure 5 : Anatomie du complexe stomacal (proventricule et gésier)	27
Figure 6 : Schéma du protocole expérimental.....	35
Figure 7 : Protocole de l'extraction selon TSOULI 1974.....	36
Figure 8 : Evolution de l'activité coagulante en fonction du pH du lait.....	45
Figure 9 : Evolution de l'activité coagulante en fonction de la température.....	47
Figure 10 : Evolution de l'activité coagulante des fleurs au cours de la conservation.....	48
Figure 11 : le poids des coagulums obtenus.....	53
Figure 12 : Teneur en matière sèche des coagulums obtenus.....	54

Liste des photos

Photo 1 : vache pie noire.....	31
Photo 2 : Chèvre <i>Makatia</i>	31
Photo 3 : Brebis Ouleddjellal	31
Photo 4 : Plante de <i>Cynara cardunculus</i> (récoltée à KRIRACH – ZAAFRANE).....	31
Photo 5 : Les différentes parties étudiées.....	37
Photo 6 : Lactoscan.....	40
Photo 7 : Les différents extraits obtenus.....	43.
Photo 8 : Apparition des flocons (Fleurs et réceptacle).....	44
Photo 9 : lactosérums du lait de vache.....	50
Photo 10 : lactosérums du lait de brebis et chèvre.....	50.
Photo 11 : coagulums avec lait de brebis.....	52
Photo 12 : coagulums avec lait de chèvre.....	52
Photo 13 : coagulums avec lait de vache.....	53
Photo 14 : coagulums après séchage.....	55

Synthèse bibliographique

Liste des abréviations :

α : Alpha

AA : Acide Aminée

β : Béta

°C : Degré Celsius

Ca : Calcium

CaCl₂ : Chlorure de calcium

CN : Caséine

°D : Degré dornic

Da : Dalton

FAO : Food and Aliment Organisation

G : Gramme

g : Gravité

K : Kappa

Kg : Kilogramme

KJ : Kilojoule

L : Litre

Met : Méthionine

mg : Milligramme

ml : Millilitre

NaCl : Chlorure de sodium

P : Poids

pH : Potentiel d'Hydrogène

Phe : Phénylalanine

Q : Volume d'extrait coagulant

Sec : Seconde

STAT : Statistique

T° : Température

Tc : Temps de coagulation

UAC : Unité d'activité coagulante

µg : Microgramme

µm : Micromètre

UP : Unité présure

V : Volume

% : Pourcentage

Introduction

Introduction :

La dénomination du lait a été définie en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant "le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum" (**POUGHEON & GOURSAUD, 2001**). Le mot « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance est réservé au lait de vache. Tout lait prévenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination « lait », suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient (**J.O.R.A, N°63 1993**) In (**FENNICHE S, NAOUI H; 2017**).

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par année. En Algérie le lait et ses dérivés constituent une denrée de grande consommation. Ils sont consommés sous forme de lait reconstitué ou de lait recombinaison, de yaourt, de lait caillé ou de fromage (**ECK et GILLIS, 2006**). Il existe des différents types de fromages présentent des caractères spécifiques liés à la fois au mode de coagulation et d'égouttage et à la flore microbienne, qui libère des enzymes responsables de la saveur, de la texture et de l'aspect de la pâte (**NOUARI L, BOUZIANI I;2017**).

La première étape de la transformation du lait en fromage nécessite traditionnellement l'emploi d'un agent coagulant, appelé présure. La coagulation joue un rôle déterminant dans la technologie fromagère. Elle est réalisée en vue d'exploiter une propriété particulière des gels lactés qui est de s'égoutter spontanément. Cette évolution se traduit par la séparation progressive de la majorité de l'eau constitutive du lait sous forme de lactosérum et d'un substrat semi-solide ou caillé primitif (**TALANTIKITE - KELLIL S; 2014**).

L'étape clé de la réussite d'un fromage est la coagulation, qui se traduit par la formation d'un gel, résultat des modifications physico-chimiques intervenant au niveau des micelles de caséines. Les propriétés du gel formé diffèrent selon la nature de l'agent coagulant et le type de fromage. En fromagerie, il existe essentiellement deux types de coagulation, l'une lactique et acide, réalisée à l'aide de ferments lactiques par dégradation du lactose en acide lactique, et l'autre enzymatique par dégradation de la caséine κ par la présure ou autre succédané (**HALIMA B, 2007**).

Introduction

En technologie fromagère la coagulation du lait est une étape essentielle dans laquelle l'utilisation d'une enzyme protéique est indispensable (**ALAIS ,1975**). Depuis quelques années, on note une diminution progressive des disponibilités de présure animale destinée à l'industrie fromagère Cette diminution a suscité de - nombreux travaux de recherche pour l'obtention d'enzymes de remplacement à partir d'autres sources. (**SARDINA ,1969; BOUDIER, 1974; WISEMAN, 1979**). D'une part, cette diminution de la disponibilité résulte de l'obligation d'éviter l'abattage de veaux avant sevrage ainsi que sa production à partir des caillettes qui - restent un sous-produit de la viande et d'autre part. Les besoins protéiques de l'alimentation ont déterminé une plus forte demande des produits fromagers, donc l'augmentation de la consommation de la présure est due à la croissance de la fromagerie industrielle. (**GENIN, 1968 ;MAIS, 1971**) In (**BENSAID I, 2010**).

C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés à l'obtention d'extrait à effet coagulant à partir d'une plante de notre région, très répandue dans notre pays: le cardon :

(*Cynara Cardunculus*). Notre travail de recherche est divisé en trois parties,

La première est consacrée à une synthèse bibliographique qui résume l'étude du lait, du fromage et la coagulation du lait.

La deuxième partie, nous avons adopté une démarche expérimentale qui porte sur:

- Les tests préliminaires pour la coagulation du lait
- Un processus pour la fabrication du fromage.

La troisième partie est consacrée à la discussion des résultats obtenus, et enfin une conclusion.

Le Lait :

I. Définition :

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit contenir de colostrum (**GRIGNON., 1975**).

Le lait est un liquide opaque, de teinte blanche, sécrété par les glandes mammaires des femelles des mammifères. Le lait le plus couramment utilisé est le lait de vache mais l'homme consomme, suivant les pays, le lait de chèvre, de brebis de bufflonne et de chamelle.

La composition du lait varie selon de multiples facteurs, comme: la race, le stade de lactation, les conditions d'environnement et d'alimentation (**CAUTY ET PERREAU, 2003**).

II. Principaux caractères:

Selon **GRIGNON., (1975)**; Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée.

Le lait de vache est constitué d'environ 87 % d'eau et de 13 % de substance sèche. Ses principaux caractères physiques et physico-chimiques immédiatement déterminables sont les suivants:

Densité à 15°C	1,030 à 1,034
Chaleur spécifique	0,93
Point de congélation	-0,55°C
pH	6,5 à 6,6
Acidité exprimée en	16 à 18°D
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Valeur énergétique	± 275 kJ.(100 mL)

III. Composition du lait :

Le lait est un système complexe constitué d'une solution vraie, d'une solution colloïdale, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion.

- Une solution vraie est un mélange de substances liquides ou solides solubilisées, appelées solutés, dans un solvant liquide.

- Une suspension colloïdale est un mélange constituée d'une phase dispersée solide non solubilisés, présente sous forme de très fines particules solides dans une phase dispersante liquide solution colloïdale.
- Une émulsion consiste en un mélange d'une phase dispersée liquide non solubilisée, présente sous forme de très fines; quand les particules ont beaucoup d'affinité pour la phase aqueuse, ce système porte le nom d'une gouttelettes, dans une phase dispersante liquide. (LUPIENT, 1998; VIGNOLA, 2002)

Tableau 1 : Composition générale du lait de vache. (MARTIN, 2000)

Constituants majeurs	Valeur moyenne (%)
Eau	87,5
Matière grasse	3,7
Protéines	3,2
Glucides	4,6
Minéraux	0,8
Constituants mineurs enzymes, vitamines, pigments, cellules diverses, gaz.	

Le tableau 2 donne la composition moyenne en % pour différentes espèces

Tableau 2: Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre (JENSEN,1995 . in GHAOUSS S, 2011)

Composants	Vache	Femme	Brebis	Chèvre
Protéines	3.4	1.0	2.9	5.5
Caséines	2.8	0.4	2.5	4.6
Lipides	3.7	3.8	4.5	7.4
Lactose	4.6	7.0	4.1	4.8
Minéraux	0.7	0.2	0.8	1.0

III. 1. Eau :

D'après **AMIOT et coll. (2002)**, l'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire.

Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau.

Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

III .2. Matière grasse :

JEANTET et coll. (2008) rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés. Elle renferme une très grande variété d'acides gras (150 différents) ;

- une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes ;
- une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0) ;
- une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0) ;

La membrane est constituée de phospholipides, de lipoprotéines, de cérébrosides, de protéines, d'acides nucléiques, d'enzymes et d'oligo-éléments (métaux) et d'eau (**BYLUND, 1995**) (**Figure 1**)

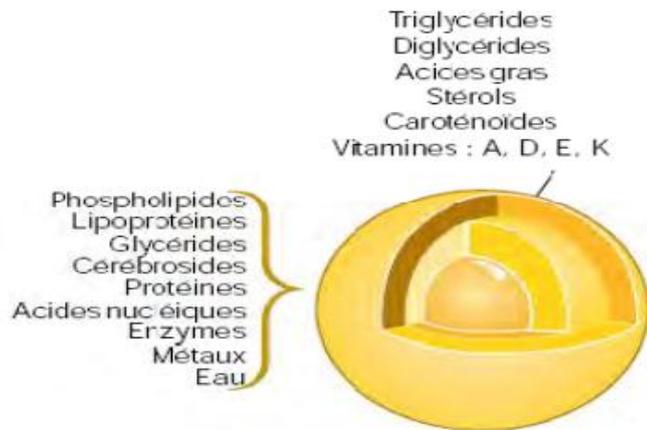


Figure 1: Composition de la matière grasse du lait (BYLUND,1995)

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne) (JEANTET et coll., 2008).

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique).

Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre de betterave).

Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (STOLL, 2003).

III. 3. Protéines :

Selon JEANTET et coll (2007), le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales,
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales.
- La classification des protéines est illustrée dans le **tableau 3**.

III.3.1. Caséines :

JEAN et DIJON (1993) rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine.

Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g mol⁻¹, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 µm (**Figure 2**).

La caséine native a la composition suivante : protéine 94%, calcium 3%, phosphore 2.2%, acide citrique 0.5% et magnésium 0.1% (**ADRIAN et al ., 04**)

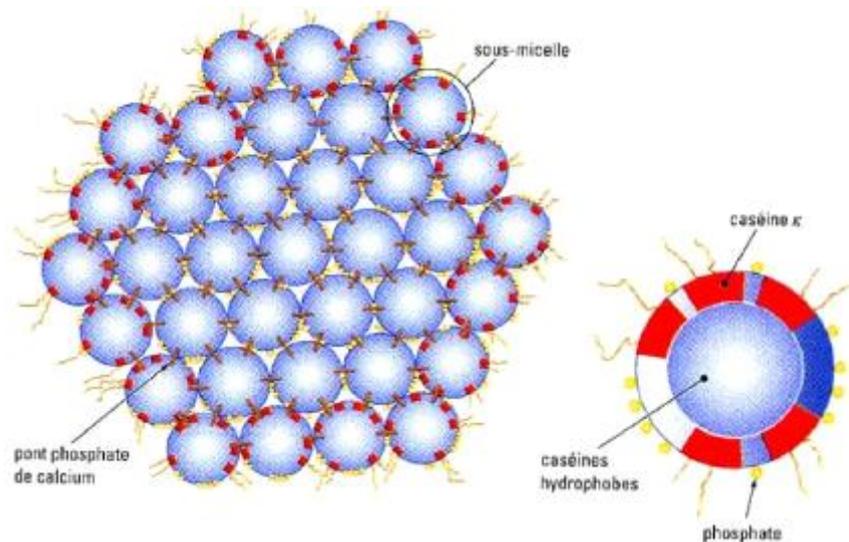


Figure 2 : Modèle de micelle de caséine avec sous-unités (**AMIOT et al, 2002**)

III.3.2 . Protéines du lactosérum :

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (**DEBRY, 2001**). **THAPON(2005)**, définit les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane.

Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

III.3.2.a. L α - lactalbumine :

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum (VIGNOLA, 2002).

III.3.2.b. La β -lactoglobuline :

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1.

la β -lactoglobuline est une protéine de 162acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (DEBRY, 2001).

III.3.2.c.Le sérum-albumine :

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (VIGNOLA, 2002).

III.3.2.d.Les immunoglobulines :

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (THAPON, 2005).

III.3.2.e.Protéoses-peptones :

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine β (DEBRY, 2001).

Tableau 3: Classification des protéines (**BRUNNER, 1981 cité par POUGHEON, 2001**).

<i>NOMS</i>	<i>% des protéines</i>	<i>Nombre d'AA</i>
<i>CASEINES</i>	75-85	199
<i>Caséine αS1</i>	39-46	207
<i>Caséine αS2</i>	8-11	209
<i>Caséine K</i>	25-35	169
<i>Caséine g</i>	3-7	
<i>PROTIENES DU LACTOSERUM</i>	15-22	162
<i>β-Lactoglobuline</i>	7-12	123
<i>α-Lactalbumine</i>	2-5	582
<i>Serum-albumine</i>	0.7-1.3	-
<i>Immunoglobulines(G1, G2 , A, M)</i>	1.9-3.3	-
<i>Proteoses-peptones</i>	2-4	

III.4. Lactose :

MATHIEU(1999) évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau.

Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin . Celui-ci est en grand partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (**HODEN et COULON, 1991**).

III.5. Minéraux :

Selon **GAUCHERON(2004)**, le lait contient des quantités importantes de différents minéraux.

Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Composition minérale du lait de vache (**JEANTET et coll., 2007**)

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg-1)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

III.6. Vitamines :

Selon **VIGNOLA (2002)**, les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser(**Tableau5**).

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (**JEANTET et coll.2008**).

Tableau 5 : Composition vitaminique moyenne du lait cru (AMIOT et coll., 2002)

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B12 cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

III.7. Enzymes :

POUGHEON(2001) définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques.

Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (VIGNOLA, 2002)

<i>Groupe d'enzyme</i>	<i>Classes d'enzymes</i>	<i>pH</i>	<i>Température (°C)</i>	<i>Substrats</i>
<i>Hydrolases</i>	<i>Estérases</i>			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4.0-5.2	37	Esters phosphoriques
	<i>Protéases</i>			
	Lysozyme	7.5	37	Parois cellulaire microbienne
	Plasmine	8	37	Caséines
<i>Déshydrogénases ou oxydases</i>	Sulfhydrile oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases puriques
<i>Oxygénases</i>	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs+H ₂ O ₂
	Catalase	7	20	H ₂ O ₂

Le fromage :

I. Définition :

Selon la réglementation française citée par **VEISSEYRE (1979)**, la dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, obtenu par la coagulation du lait, de la crème, du lait écrémé ou de leur mélange, suivie d'égouttage et contenant au minimum 23 grammes de matières sèche pour 100 grammes de fromage.

Le codex alimentaire donne la définition suivante "Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu par coagulation du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation (**FAO, 1999**).

II. Production mondiale du fromage :

Le mot fromage est réservé au produit fermenté ou non, obtenu par égouttage après coagulation du lait, de la crème, du lait partiellement ou totalement écrémé, ou de leur mélange, ainsi qu'au produit obtenu par concentration partielle du lactosérum ou du babeurre, à l'exclusion, dans tous les cas, de toute addition de matière grasse étrangère au lait.

En 2003, la production mondiale de fromages atteint 17,5 millions de tonnes fabriqués à partir d'environ 190 million de tonnes du lait (**ROUSSEAU, 2005**).

Les états–unis sont le plus grand producteur de fromage, soit 24 % de la production mondiale totale en 2005 .L'Allemagne et la France se classent au deuxième et au troisième rang respectivement (**Figure3**) (**AAC, 2006**).

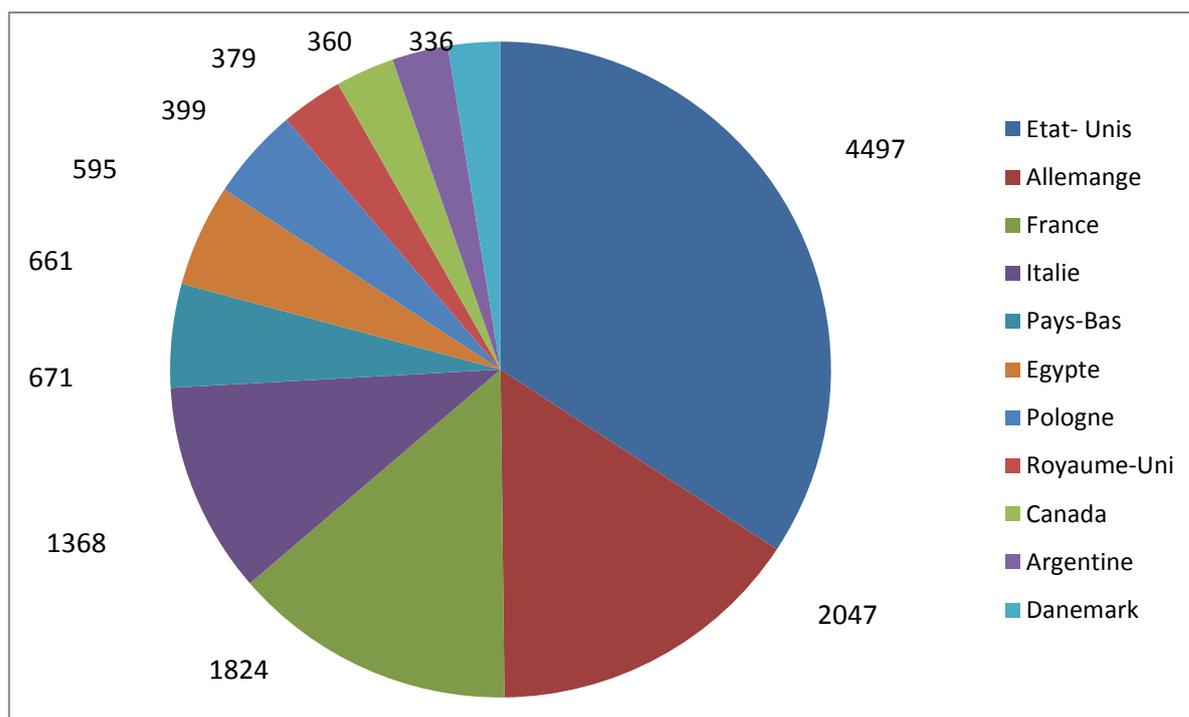


Figure 3: Principaux producteurs du fromage dans le monde en 2005 (milliers de tonnes)
(FAO STAT ,2006 ; STATISTIQUE CANADA, 2006)

III. La classification des fromages :

D'après **LARCHER (2002)**, Il existe plusieurs façons de classer les fromages selon différents critères :

- ❖ Type de lait : vache, chèvre, brebis, bufflonne
- ❖ Processus de fabrication
- ❖ Classification de *Lenoir* la plus utilisée
- ❖ Suivant le type d'affinage « affiné, frais, fromages fondus».

Fromage est un aliment noble grâce à ses protéines de haute valeur biologique et à sa richesse minérale.

➤ **Grandes familles technologiques du fromage :**

Il existe une multitude variétés de fromages qui diffèrent de par leur goût, leur odeur, leur texture, ou leur forme. La diversité des fromages dépend de l'origine du lait. (y compris le régime alimentaire de l'animal), de la manière dont le lait est transformé, de son traitement thermique (lait cru, thermisé ou pasteurisé), des paramètres technologiques appliqués.

Ainsi que du métabolisme des ferments utilisés et les types des micro-organismes intervenant dans l'affinage.

a. Fromage à pâte fraîche :

Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidification) (**CHAMBA ET IRLINGE, 2004**), dont le taux d'humidité est très élevé, de 60 à 80 % et une teneur en matière grasse réduite, de 0,5 à 30 **MAJDI ,(2009)**.La pâte fraîche est d'un blanc éclatant, d'une texture molle, granuleuse ou lisse, crémeuse et veloutée selon le fromage.

Le caillé égoutté peut être aromatisé à l'ail, aux fines herbes, au poivre, à l'oignon haché, aux raisins secs, etc.

b. Fromage à pâte pressée (pâte ferme) :

Il s'agit des fromages dont le caillé est pressé après soutirage, puis mis à l'affinage. Ils sont Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue les fromages à pâte pressé non cuite et les fromages à pâte pressé cuite (**YILDIZ, 2010;PARENTE ET COGAN, 2004**).

c. Fromage à pâte molle :

Les fromages à pâte molle sont définis dans la norme internationale Codex Alimentarius (**CODEX STAN A-6-1978, REVISE 1-1999, AMENDE 2001**) comme étant tous les fromages dont la teneur en eau après élimination des matières grasses est supérieure à 67 %, ils sont des fromages affinés et dont la pâte n'est ni cuite ni pressée, fabriqués à partir de lait pasteurisé ou de lait cru de chèvre, de vache ou de brebis. Ces fromages ont une texture généralement Crémeuse et onctueuse avec une légère élasticité dans la pâte. Selon la conduite de l'affinage, deux types de croûte peuvent se développer sur les fromages à pâte molle permettant de diviser cette famille en deux sous familles: les pâtes molles à croûte.

Tableau 7 : Différents types des fromages (MAJDI,2009)in(BENLOUCR.OULMIA,2017)

Type fromages	de Fromages lactique	de type Fromages de présure	de type Fromages de mixte
Caractéristiques	<p>-Obtenus essentiellement par coagulation biologique appelé aussi coagulation lactique ou coagulation par acidification.</p> <p>-Ce sont des fromages à pâte fraîche.</p> <p>-ils sont fabriqués à une température qui va de 16 à 23°C.</p> <p>-Ce type de fromage demande pour sa fabrication 3 à 10ml de présure pour 100L de lait</p>	<p>-Obtenus essentiellement par coagulation chimique appelé aussi coagulation par l'action des enzymes (la présure).</p> <p>-Ce sont des fromages à pâte pressée, à pâte ferme cuite et à pâte ferme non cuite.</p> <p>-ils sont fabriqués à une température qui va de 34 à 40°C.</p> <p>-Ce type de fromage demande pour sa fabrication 25 à 35 ml de présure pour 100L de lait</p>	<p>-Obtenus par coagulation chimique et par coagulation biologique.</p> <p>-Ils sont obtenus par les deux méthodes de manière équivalente.</p> <p>-Ce sont des fromages à pâte molle.</p> <p>-Ils sont fabriqués à une température de 28 à 37°C.</p> <p>-Ce type de fromage demande pour sa fabrication 15 à 25 ml de présure pour 100 L de lait.</p>
Exemples	<p>Fromages à pâte fraîche :</p> <p>-Petit suisse</p> <p>-Fromage demi-sel</p> <p>-Chabichou</p> <p>-Mothais sur feuille</p> <p>-Rocamadour</p> <p>-Picodons</p>	<p>Fromages à pâte pressée :</p> <p>-Saint-nectaire</p> <p>-Tome de Savoie</p> <p>-Saint-paulin</p> <p>-Port-salut</p> <p>-Reblochon</p> <p>Fromages à pâte ferme non cuite :</p> <p>-Cantal</p> <p>-Laguiole</p> <p>Fromage à pâte ferme cuite :</p> <p>-Comté</p> <p>-Emmenthal</p>	<p>Fromages à pâte molle :</p> <p>-Camembert</p> <p>-Brie</p> <p>-Carré de l'est</p> <p>-Bleu</p> <p>-Roquefort</p> <p>-Munster</p> <p>-Pont</p> <p>-l'évêque</p> <p>-Maroille</p> <p>-Livarot</p>

IV. Etapes de la fabrication du fromage :

Le fromage est le produit obtenu par coagulation du lait suivie par d'un égouttage du coagulum .Il est essentiellement constitué d'un gel de caséine retenant les globules gras et une partie plus ou moins importante de la phase aqueuse du lait .La fabrication du fromage comprend selon **FAO (1998)** trois étapes :

- ❖ coagulation ou formation du gel ou coagulum ;
- ❖ égouttage ou déshydratation du gel aboutissant à un caillé ;
- ❖ affinage ou digestion enzymatique du caillé.

Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des fromages frais qui sont consommés après égouttage .Ces trois étapes sont généralement précédées d'une phase préalable de préparation du lait.

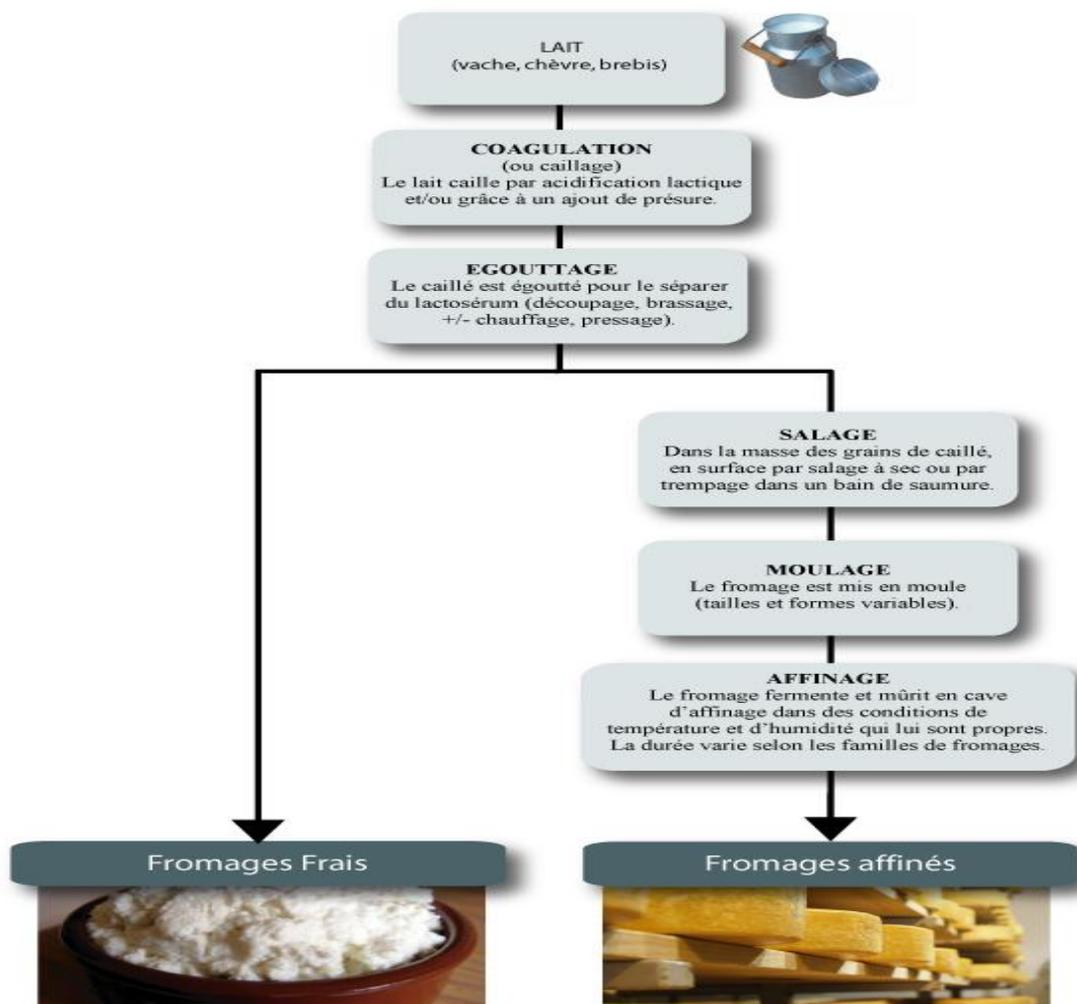


Figure 4 : les étapes de fabrication du fromage (WEBMASTER, 2013)

La coagulation du lait :

I Définition :

La coagulation du lait est une étape importante dans la préparation du fromage .Il s'agit de la transformation du lait liquide en un gel, appelé aussi coagulum ou caillé. On distingue deux types de coagulation : la coagulation acide et coagulation enzymatique.

Cependant, en fromagerie, la coagulation du lait résulte le plus souvent de l'action combinée d'une enzyme et de l'acidification, seule varie l'importance relative de leur action coagulante respective.

Les mécanismes d'action de ces deux agents coagulants au niveau de la micelle sont très différents. Bien qu'ils conduisent tous deux à la formation d'un coagulum (gel ou caillé), les propriétés rhéologiques de ce dernier restent caractéristiques du mode de coagulation (**FARKYE ,2004 ; JANHOJ et QVIST ,2010**).

En technologie fromagère on distingue par conséquent trois types de coagulation :

- Coagulation acide,
- Coagulation enzymatique,
- Coagulation mixte.

➤ **Coagulation acide :**

Le mécanisme de la coagulation par voie fermentaire aussi dite coagulation acide , est de nature électrochimique et induite par les ferment lactiques.

Les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, et *Streptococcus* sont les plus utilisés tout et variant en fonction des fromages et des technologies.

La fonction principale de ces bactéries est de dégrader le lactose pour produire de l'acide lactique.

Ce dernier est libéré lors de la croissance des microorganismes et neutralise progressivement les charges électro négatives des caséines κ .

La répulsion électrostatique entre les micelles de caséine diminue au fur et à mesure de l'enrichissement du milieu en ions H⁺, puis disparaît provoquant ainsi un rapprochement et une agrégation des micelles de caséine.

➤ **Coagulation enzymatique (ou présure) :**

Il y'a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne, ayant la propriété de coaguler le lait. La présure d'origine animale est le coagulant le plus utilisé (**ST-GELAIS et al ,2002**).

Selon **RAMET (1997)**, la dénomination « présure » est donné à l'extrait coagulant provenant de caillète (quatrième poche de l'estomac) de jeunes ruminants (en générale des veaux) abattus avant sevrage.

Elle contient en réalité deux fractions actives, l'une, majeur, par la chymosine, l'autre, mineure, par la pepsine, dont la proportion varie selon l'âge de la bête. En général, la présure commerciale est très majoritairement composée de chymosine (à au moins 85 %), Cette dernière est une endopetidase qui, par une réaction d'hydrolyse spécifique ciblant la caséine κ , permet la gélification du lait (**FARKYE, 1999**).

Les conditions optimales d'action de cette enzyme sont : un pH 5.4, et T° de 40 à 41°C et aussi la présence d'ions calcium.

La coagulation enzymatique est un phénomène complexe permis par des forces d'interactions égales à la somme des répulsions électrostatiques et des interactions hydrophobes. Ce type de coagulation est influencé par l'acidification, la concentration en Ca et la température (**BRULE, LENOIR et REMEUF, 2009**).

Le gel de type présure est très minéralisé, ce qui favorise l'augmentation de sa cohésion et de sa fermeté.

➤ **coagulation mixte :**

Il existe également des coagulations dites "mixtes" qui associent les deux types de coagulation. Les propriétés des gels ainsi formés et l'aptitude à l'égouttage sont intermédiaires entre celles du coagulum acide et celles du coagulum présure.

II. Les facteurs affectant la coagulation enzymatique du lait :

II. 1. Effet de la température :

Le phénomène de coagulation est fortement dépendant de la température (**DYBOWSKA et FUJIO, 1996**).

Au-dessous de 10°C, la coagulation du lait ne se produit pas. La vitesse de formation du coagulum augmente progressivement de 20 à 40-42 °C, mais à des températures plus élevées, Le processus de coagulation ralentit et au-dessus de 65°C, il n'y a plus de coagulation, l'enzyme est inactivée (**DYBOWSKA et FUJIO, 1996 ; BRULÉ et al, 2006**) ; In (**ISSELNANE S, 2014**).

II.2. Effet du pH :

L'influence du pH sur le temps de coagulation est la plus importante (**NÁJERA et al, 2003**).

La diminution du pH du lait de 7,0 à 5,2 cause la diminution du temps de coagulation, le pH optimal d'action sur la CN- κ par la chymosine étant 5,1-5,3 (**HUMME, 1972 ; VAN HOOYDONK et al, 1986 ; LÓPEZ et al, 1998**) et 2-3 pour la pepsine (**MIETTON et al, 1994**).

En **revanche**, à pH supérieur à 7, il n'y a plus de coagulation, l'enzyme étant rapidement inactivée (**LENOIR et al, 2006**).

Ainsi, les effets les plus importants de l'abaissement du pH du lait sont la solubilisation du phosphate de calcium micellaire (**DALGLEISH et LAW, 1989 ; Le GRÄET et BRUL, 1993 ; VISSER et al, 1980**), la diminution de la charge nette et la dissociation de la caséine des micelles (**DALGLEISH et LAW, 1988 ; GASTALDI et al, 1996**). Il a également été rapporté que la coagulation du lait par la présure n'est pas très efficace à un pH inférieur à 5,0 (**KOWALCHYK et OLSON, 1977**) In (**ISSELNANE S, 2014**).

II. 3. Effet de la teneur en ions calcium (CaCl₂) :

L'addition au lait de chlorure de calcium, pratique courante en fromagerie, diminue le temps de coagulation et accroît la fermeté du coagulum (MONTILLA *et al*, 1995 ; BALCONES *et al*, 1996 ; SOLORZA et BELL, 1998) mais à haute concentrations de CaCl₂ ($\geq 0,3M$), le temps de coagulation peut être augmenté (MC MAHON *et al*, 1984).

L'ajout de CaCl₂ permet également de réduire le pH du lait résultant en une augmentation du taux d'agrégation des protéines (GASTALDI *et al*, 1994) In (ISSELNANE S, 2014).

II. 4. Effet de la dose d'enzyme et de sa nature :

Le temps requis pour la coagulation du lait diminue avec l'augmentation de la concentration de l'enzyme, mais la fermeté du gel n'est pas modifiée (MAHAUT *et al*, 2005).

La coagulation est également dépendante de la source de la chymosine.

La chymosine porcine était huit fois plus active sur le lait porcin que sur le lait de vache (HOUEEN *et al*, 1996), inversement, la chymosine de veau avait seulement la moitié de son activité contre le lait porcin que contre le lait de vache (FOLTMANN, 1992) In (ISSELNANE S, 2014).

I Présure :

I. 1. Définition :

La présure est l'agent coagulant traditionnellement utilisé pour la coagulation du lait en vue de la fabrication de la majorité des fromages ; de petites quantités sont produites à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau.

La dénomination "présure" est donnée à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants abattus avant sevrage. Elle contient en réalité deux fractions actives, l'une, majeure, constituée par la chymosine, l'autre, mineure, par la pepsine (**RAMET, 1987**).

I. 2. Origine de la présure :

La présure de veau est la préparation coagulante traditionnelle la plus utilisée pour la coagulation du lait.

De petites quantités sont obtenues à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau. La dénomination présure est réservée à l'extrait coagulant provenant de la troisième poche de l'estomac appelée abomasum ou caillette.

Elle renferme deux enzymes actives : la chymosine qui est la protéase majeure responsable d'au moins 85 % de l'activité coagulante totale ; Le complément est apporté par la pepsine. On observe les plus fortes teneurs en chymosine chez les animaux non sevrés ; dès que la ration alimentaire renferme des aliments solides et que le jeune animal commence à brouter, la proportion de chymosine chute très fortement ; à l'inverse, la pepsine devient dominante et caractérise la sécrétion stomacale du mammifère adulte.

Les deux enzymes sont excrétées à l'état de précurseurs inactifs (prochymosine et propepsine) ; après hydrolyse dans le milieu acide stomacal, l'activité protéolytique est accrue considérablement. (**RAMET et al, 1987**).

I.3. Préparation de la présure :

Après leurs collecte, les caillettes, préalablement nettoyées, sont séchées, salées ou congelées pour conservation jusqu'à extraction de la présure.

Cette opération est réalisée par macération des caillettes, découpés, dans une solution salée, pendant quelques jours, le pH, de la teneur en NaCl, de la couleur, est effectuée finalement parallèlement à l'ajout de conservateurs autorisés par la réglementation.

La force de la présure est exprimée par un rapport entre une unité de poids et/ou de volume de présure capable de coaguler un nombre d'unités correspondantes de lait dans des conditions définies de température et de temps.

Conservés à température ambiante, les extraits liquides perdent lentement leur activité, ils doivent être conservés au froid (0-5 °C). Il existe également des présures séchées (poudre ou comprimé) mieux adaptées à la conservation mais moins pratiques à l'emploi ; elles sont obtenues par relargage au sel d'extraits liquides (**RAMET, 1987**).

Les présures commerciales sont proposées sous forme liquide ou sous forme solide. Pour les préparations liquides, le pH est ajusté à la stabilité optimale (5,0-5,5) : la couleur et la viscosité sont souvent normalisées à l'aide d'additifs autorisés par la réglementation. Des conservateurs sont également utilisés pour assurer la stabilité à long terme. A température ambiante (20 à 35 °C). Les extraits liquides perdent lentement leur activité ; de ce fait, il est préférable de les conserver au froid positif (0-5 °C).

La présures liquides dont la force est standardisée entre 1/10 000 et 1/50 000 sont les plus largement utilisées dans les pays industrialisés en raison des facilités d'approvisionnement et de leur commodité d'emploi.

Les présures solides se présentent sous forme pulvérulente ou sous forme de comprimés obtenus par compactage de poudre. Elles sont obtenues par dilution du résidu sec contenant les enzymes actives dans un excipient de chlorure de sodium.

Ces présures sèches sont standardisées à une force élevée (1/1000 000 à 1/250 000) et sont surtout utilisées sur le plan artisanal ou dans des régions où il n'existe pas de possibilité d'approvisionnement régulier (**RAMET et al, 1987**).

Les succédanés de présure :

Ce sont toutes des enzymes ou mélanges d'enzymes pouvant à échelle traditionnelle, expérimentale ou industrielle faire office de présure, et possédant de manière générale les propriétés de cette dernière.

Différents types d'enzymes ont été utilisés depuis longtemps pour faire coaguler le lait, parmi ces enzymes on peut distinguer selon la source, les enzymes d'origine végétale, celles d'origine animale et celles d'origine microbienne.

II.1. Enzymes d'origine végétale :

Les protéases d'origine végétale sont par ordre d'intérêt en technologie laitière la papaïne extraite d'une plante équatoriale et tropicale (*Caricapapaya*), la broméline extraite de l'ananas (*Ananas comosus*), la ficine issue de la figue (*Ficus glabrata*). (CUVELLIER, 1993)

- ❖ **La papaïne**: La papaïne extraite du latex de *Carioca papaya*, est caractérisée par une activité coagulante assez forte, mais également un fort pouvoir protéolytique (DASTUR, 1948, cité par ERNSTROM et WONGT, 1983 ; CUVELIER, 1993) In (BOUGHELLOUT H,2017).
- ❖ **La ficine**: est une sulfhydryl enzyme, extraite du latex de *Ficus genusou Ficus carica*. Comme la papaïne, elle a un pouvoir coagulant important mais son utilisation est limitée par son fort pouvoir protéolytique.
- ❖ **La broméline**: est une enzyme extraite de l'ananas (*Ananas comosus*), elle a été considérée comme substituant possible de la chymosine. Des travaux de MURACHI (1970) ; cité par ERNSTROM, (1983), ont prouvé qu'elle a un pouvoir protéolytique défavorable au rendement et à la qualité organoleptique dans l'industrie fromagère.

II.2. Enzymes d'origine microbienne :

L'industrie de fermentation s'est intéressée à la production de protéases susceptibles de remplacer la présure, à partir de micro-organismes. Dans ce but, de multiples espèces de bactéries et de champignons inférieurs ont été étudiées afin de pallier la pénurie mondiale de présure.

En effet, il a été estimé qu'en 1974 environ 60% de la technologie fromagère aux Etats-Unis d'Amérique utilisaient des protéases d'origine microbienne (STERNBERG, 1976 ; cité par DALGLEISH, 1997) In (BOUGHELLOUT H, 2017).

- **Origine bactérienne**:

La recherche d'enzymes pour substituer la présure a conduit a de multiple travaux sur plusieurs bactéries: *Streptococcus liquifaciens*, *Micrococcuscaseolyticus*, *Bacillus cereus*, et *Bacillus coagulans*. Les protéases extraites de ces bactéries ont plusieurs inconvénients, tels que la non spécificité de l'hydrolyse, la protéolyse excessive qui a pour conséquence un faible rendement fromager et une modification des caractéristiques organoleptiques des fromages (goût acide, amertume) (ERNSTROM, 1983).

De récents travaux de génie génétique ont permis de préparer une présure formée de chymosine pure, par clonage de gène sur *Escherichia coli* (ALAIS et LINDEN, 1997).

➤ Origine fongique:

Les travaux réalisés sur différents types de levures et moisissures, ont permis de sélectionner trois types de moisissures dont les propriétés coagulantes et protéolytiques de leurs enzymes se rapprochent le plus de celles de la présure. Ces moisissures sont : *Endothiaparasitica*, *Mucormiehei* et *Mucor pusillus* (GOURSAUD, 1999) In (BOUGHELLOUT H,2017).

II.3. Enzymes d'origine animale :

Les protéases gastriques des mammifères adultes sont désignées de pepsine A et pepsine C (gastriscine), alors que la chymosine est associée au développement néonatale du très jeune mammifère.

Les protéases extraites du jus gastrique sont secrétées sous formes inactives (zymogène), et sont activés par les conditions acides du jus gastrique.

II.3.1 Présure :

La présure est l'extrait provenant de caillettes de jeunes bovidés nourris au lait constituée de deux fractions actives, l'une, majeure, la chymosine, l'autre, mineure, la pepsine dans un rapport de masse de chymosine active/ masse de pepsine bovine active est ≥ 1.38 (DESMAZEAUD, 1997).

Une présure préparée à partir de caillettes d'agneau a été utilisée avec succès pour la préparation d'un fromage local grec, son utilisation n'a posé aucun problème ni à la technologie ni à la maturation (ANIFANTAKIS, 1976) In (BOUGHELLOUT H,2017).

La chymosine est une holoprotéine dont le poids moléculaire est voisin de 31400. Elle hydrolyse la liaison phe105-met106 de la caséine κ et possède une activité protéolytique générale faible pendant l'affinage du fromage.

L'activité protéolytique de la chymosine est fortement influencée par les facteurs de milieu et principalement par le pH et la température. L'activité optimale de la présure se situe dans un intervalle de pH de 5 à 5.5 et à la température de 42°C.

II.3.2 Pepsines :

La pepsine est extraite de l'estomac des mammifères adultes ou des proventricules de volailles. Elle hydrolyse la plupart des protéines naturelles telles que la caséine, la globuline, et certaines enzymes telles que la trypsine, la papaïne et les amylases.

Elle attaque préférentiellement les peptides contenant de la L-Phénylalanine ou de la L-Tyrosine et plus généralement les acides aminés à noyau aromatique (**YAMAMOTO, 1975**) In (**BOUGHELLOUT H,2017**).

✓ *La pepsine porcine :*

L'extraction et l'utilisation de la pepsine porcine ont débuté durant la première guerre mondiale pour pallier une pénurie de la présure, mais n'a été réellement industrialisé qu'à partir des années 60.

Elle est extraite de l'estomac de porcs sous forme inactive, puis activée par acidification à pH 2, son poids moléculaire est de 34500 Da (**ERNSTROM, 1983**).

L'emploi de la pepsine porcine présente pour la coagulation du lait des difficultés, à cause d'une activité protéolytique supérieure à celle de la présure, avec présence d'arrière-goût et d'amertume pour certains fromages (**BRULE et LENOIR, 1997**)In(**BOUGHELLOUT H,2017**).

✓ *La pepsine bovine :*

C'est un des constituants mineurs normaux de la présure, (**ALAIS, 1974 ; FOX, 1969 ; cité par ERNSTROM, 1983**). Elle est extraite des caillottes de bovidés adultes, et son poids moléculaire est de 33400 Da.

L'activité coagulante de la pepsine bovine n'est pas aussi dépendante du pH que celle de la pepsine porcine, et peut coaguler le lait à des pH supérieurs à 6.9, son activité protéolytique

est proche de celle de la présure. Elle est utilisée en fromagerie en mélange 50:50 avec la présure (RAMET, 1997) In (BOUGHELLOUT H,2017).

✓ La Pepsine de poulet :

La pepsine du poulet est extraite du proventricule ou ventricule succenturié qui est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne, situé au-dessus du gésier, il est revêtu d'un épithélium de cellules cylindriques (**figure 5**). Des glandes de type tubulaire ont des orifices formant des rangées de mamelons visibles à l'œil nu ; les alvéoles de ces glandes sont bordées de cellules spécialisées oxyntico-peptiques sécrétant à la fois de l'acide chlorhydrique et une pro enzyme protéolytique : le pepsinogène.

Le système de canaux collecteurs s'ouvrant sur des petites papilles, apporte le suc gastrique dans la lumière des proventricules (ALAMAREOT, 1982). Le volume du suc gastrique qui varie de 5 à 20ml/ heure en période de jeûne, atteint 40ml/heure après stimulation. Le pH du suc varie de 1 à 2 (LARBIER et LECLERC, 1992) In (BOUGHELLOUTH,2017).

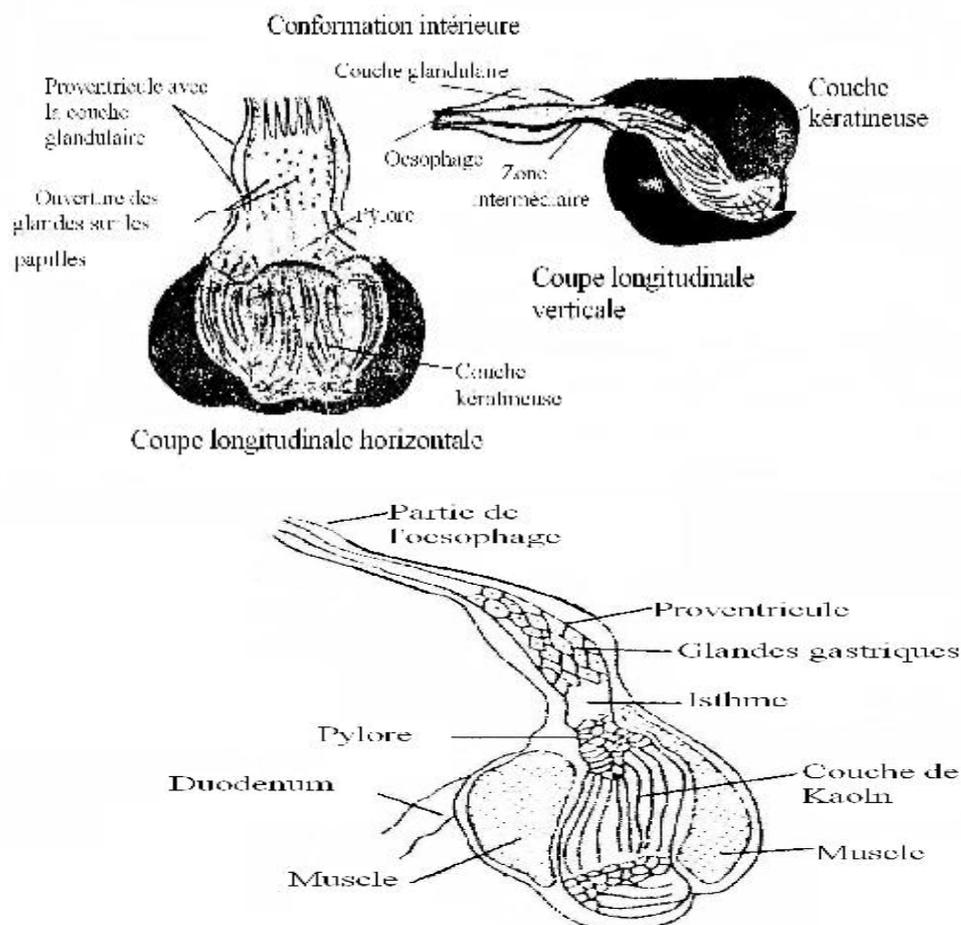


Figure 5 : Anatomie du complexe stomacal (proventricule et gésier).

II Les critères d'enzymes de remplacement de présure :

Selon **MORSLI (1997) cité par BELHOUT (2010)**, les enzymes de remplacement de la présure doivent répondre aux critères suivants :

- Une bonne solubilité dans l'eau.
- Une odeur et une couleur faible ou nulle.
- Une bonne activité coagulante et une durée de conservation raisonnable.
- Une absence de toxicité et un degré de pureté élevé.
- Une activité protéolytique faible.
- Les propriétés rhéologiques du coagulum doivent évaluer après floculation, de façon à permettre le travail mécanique du gel dans les délais habituels.
- La synérèse de coagulum au cours de l'égouttage et les modalités d'affinage devraient permettre d'obtenir les caractéristiques usuelles des fromages dans un délai sensiblement égal à celui de la présure.
- Les rendements fromagers doivent être très riches ou supérieurs à ceux révélés lors de l'emploi de la présure.

Matériel et méthodes :

Le travail expérimental a été effectué au niveau du laboratoire de chimie organique et valorisation des substances naturelles, université Ziane Achour.

Notre travail a pour but l'étude de l'aptitude à la coagulation de lait par l'extrait de *Cynara cardunculus*, et l'étude de la distribution et la localisation de l'enzyme dans le végétal, afin de trouver la partie la plus riche en activité enzymatique et qui donne le meilleur rendement.

I. Matériel utilisé :

I. 1. Appareillage :

- Balances de précision SCALTEC model SBC31 ;
- Centrifugeuse MODISPIN model 220/240;
- Agitateur magnétique chauffant CB 162 ;
- pH mètre HANNA model HI 9321 ;
- Lactoscan FUNKE GERBER model 70294/12/UD ;
- Réfrigérateur ;
- Etuve EN 500 ;

I. 2. Produits utilisés :

- Acide borique 0.2% ;
- HCL ;
- NaCl ;
- NaOH.

I. 3. Matières premières :

I. 3. 1. Le lait :

Les échantillons du lait utilisés dans notre étude proviennent des troupeaux dans la région Djelfa.

Les échantillons du lait collectés sont mis dans une glacière, sans l'addition de produits conservateurs, et conservés à 4°C.

La race bovine c'est la **Bretonne Pie Noire (Photo 1)** sa hauteur moyenne est de 1.17 mètre, et son poids est de 450 kg, sa robe est « Pie Noire » : blanche et noire, cette race a de nombreuses qualités, elle est une très bonne laitière, sa longévité et sa fécondité sont étonnantes, elle vêle sans aide, et également est appréciée pour la qualité de sa viande.

La race caprine dite **Makatia (Photo 2)** est dominante dans la région de la steppe, cette chèvre est parfaitement adaptée aux contraintes des parcours et semble posséder de bonnes aptitudes de reproduction, elle est principalement élevée pour la viande

La race ovine est la race **Ouled-Djellal. (Photo 3)**. Cette race compose l'ethnie la plus importante des races algériennes, occupant la majeure partie du pays, c'est le mouton de la steppe le plus adapté au nomadisme.

Les femelles allaitantes ont des stades de lactations très proches, leur alimentation est basée essentiellement sur le pâturage dans les parcours naturels. **Tableau 8**.

Tableau 8 : Races étudiées.

Animal	Race	Région	Période de collecte	Alimentation
Brebis	OuledDjellal	Djelfa	Avril	Dans les prairies, elle est supplémentée par de la paille, des déchets ménagers et du pain.
Chèvre	Makatia	Djelfa	Avril	Alimentée par de la paille, des déchets ménagers, ainsi que des feuilles des arbres et arbustes.
Vache	Pie Noire	Djelfa	Avril	Alimentée par l'aliment concentré, la paille,



Photo 1 : Vache Pie noire



Photo 2 : Chèvre Makatia



Photo 3 : Brebis Ouled Djellal

1. 3. 2. Matériel végétal (Cynara cardunculus) :



Photo 4 : Plante de *Cynara cardunculus* (récoltée à KRIRACH – ZAAFRANE).

Depuis quelques années de nombreux facteurs ont favorisé les recherches de succédanés de la présure en vue de la fabrication du fromage. Parmi ces facteurs, il faut citer le prix relativement élevé des préparations commerciales de présure et certaines difficultés d'approvisionnement.

Dans cette étude nous allons utiliser l'extrait végétal de *Cynara cardunculus* (**Photo 4**). La plante est récoltée à KRIRECH - ZAAFRANE (55 km Nord - Ouest de Djelfa), cette récolte a été effectuée durant le mois de Juin.

Le cardon (cardoon ou wildthistle en Anglais et Khourchef ou Kernoun berri en Arabe) est une plante connue sous une multitude de noms dont nous ne mentionnerons que ceux qui sont véritablement des synonymes et non pas ceux qui lui ont été faussement attribués.

Les noms communs du cardon sont : artichaut sauvage, chardon de castille ou encore cardon de Tours qui en fait, n'est autre chose que la variété de cardon la plus connue.

Le nom spécifique du cardon est *Cynara cardunculus L.* On peut aussi rencontrer le nom scientifique beaucoup moins fréquent de *Cynara silvestris*, (**BONNIER, 1927 ; CHRISTEN et VIRASORO, 1935 ; GRISVARD et CHAUDUN, 1964 ; CAMPOS et al ., 1990**). Le cardon est de façon générale une plante spontanée typique du pourtour méditerranéen.

On le trouve au niveau des plaines basses, montagnes pâturage champs incultes à terrains argileux, coteaux arides de : l'Afrique du nord, l'Espagne, Portugal, la France, la Corse, l'Italie, la Grèce, et la Turquie (**JAHANDIER, 1931 ; COSTE ,1983 ; ROSEIRO et al., 2003**).

Avec cela, le cardon se trouve en Amérique du sud ou les conquies tadors espagnols l'ont probablement introduit d'une manière fortuite. En Argentine, il est tellement présent qu'il y'est considéré comme une plaie de l'agriculture (**CHRISTEN et VIRASORO ,1935**).

Il a été aussi signalé au Chili ou il a suscité un grand intérêt qui a eu pour effet de créer un axe de recherche pour sa protéase (**CAMPOS et al ., 1990**).

✓ **Systematique :**

Selon **QUEZEL et SANTA (1963)**, on peut classifier le cardon comme suit :

Groupe:	<i>Dicotylédones</i>
Sous-groupe:	<i>Claciflores</i>
Série:	<i>Claciflores Gamopétales</i>
Famille:	<i>Composées ou Astéracées</i>
Sous famille :	<i>Carduacées ou Cynarocéphales</i>
Tribu:	<i>Carduinées</i>
Genre :	<i>Cynara</i>
Espèce :	<i>Cynara cardunculus</i>

✓ **Caractéristiques de la plante :**

Le cardon est une plante vivace, robuste, raide, dressée d'une taille de 80 à 150cm, (**QUEZEL et SANTA, 1963 ; COSTE, 1983**). Elle ne forme la première année qu'une rosette de feuilles stériles, (**BAYER et al., 1990**). Elle diffère de l'artichaut par ses feuilles profondément divisées en lobes qui se terminent par des épines et par les bractées d'involucre finissant par une pointe dure et aigue (**PERROT, 1944**).

Selon **QUEZEL et SANTA (1963) et BAYER et al.,(1990)**, les caractéristiques de la plante sont comme suit :

Feuilles : Radicales en rosette, elles sont longues de 30 à 60cm. Elles sont blanches tomenteuses en dessous, aranéeuses en dessus, dentées, épineuses comportant des lobes triangulaires ou lancéolés.

Hampes : Bien qu'un peu rameuses dans le haut, elles sont puissantes et ont une taille de 40à 60cm.

Involucre : Il est sphérique à feuilles très larges de forme ovoïde. Sessiles, il comporte généralement des pointes piquantes.

Capitules : Gros, ils sont de 4-5cm de large. Ils sont isolés, terminaux, ovoïdes à écailles lancéolées. Leur base est étalée, charnue et termine en fortes épines

Akènes : Non ailées, elles ont une couleur jaunâtre souvent maculée de brun.

Fleurs : De couleur allant du bleu au violet, elles ont toutes la même forme. Elles sont androgynes tubulaires se terminant par 5 pointes.

II. Méthodes :

II. 1. Protocole expérimental :

Le protocole expérimental de notre étude est présenté dans le schéma suivant :

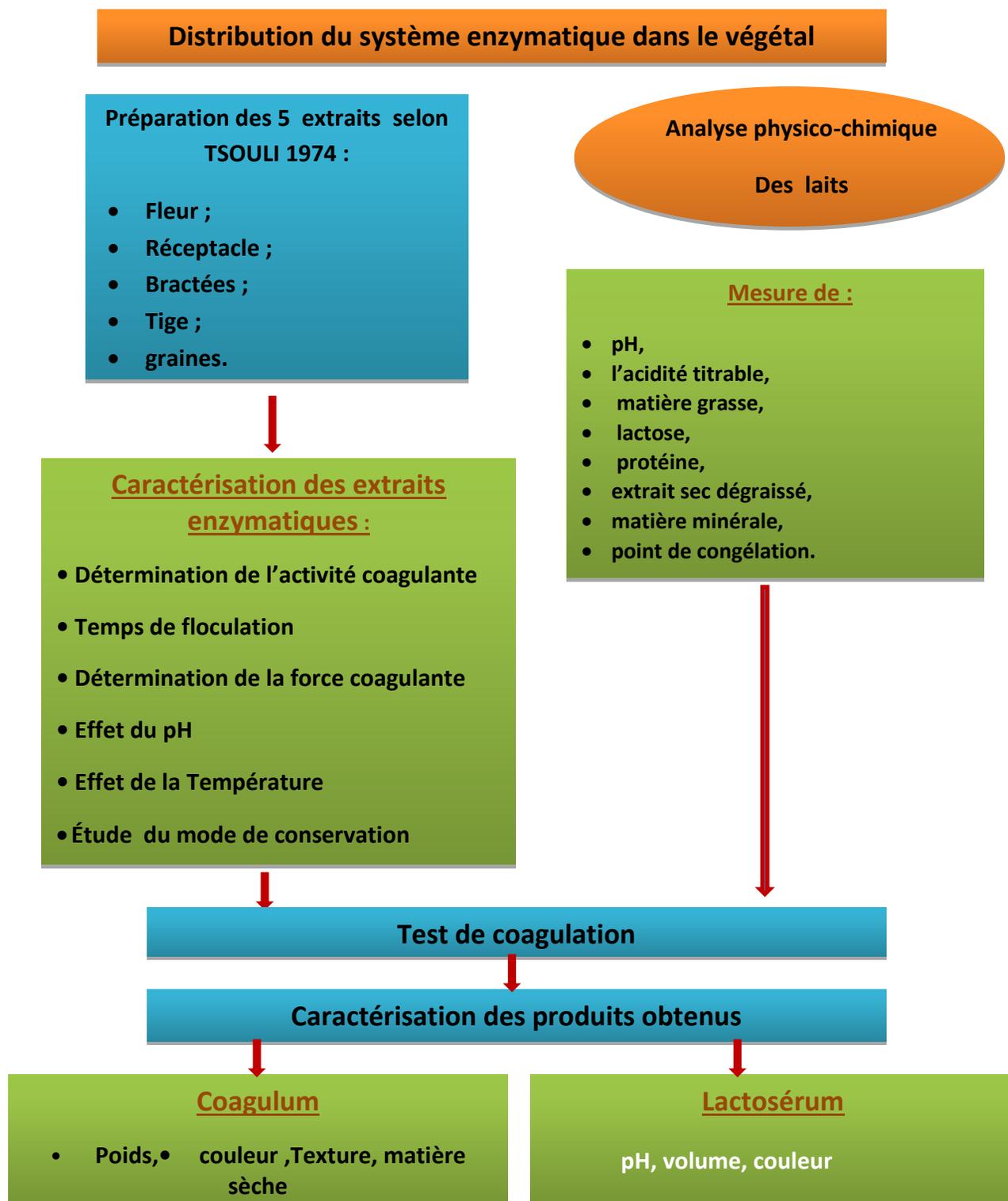


Figure 6 : Schéma du protocole expérimental.

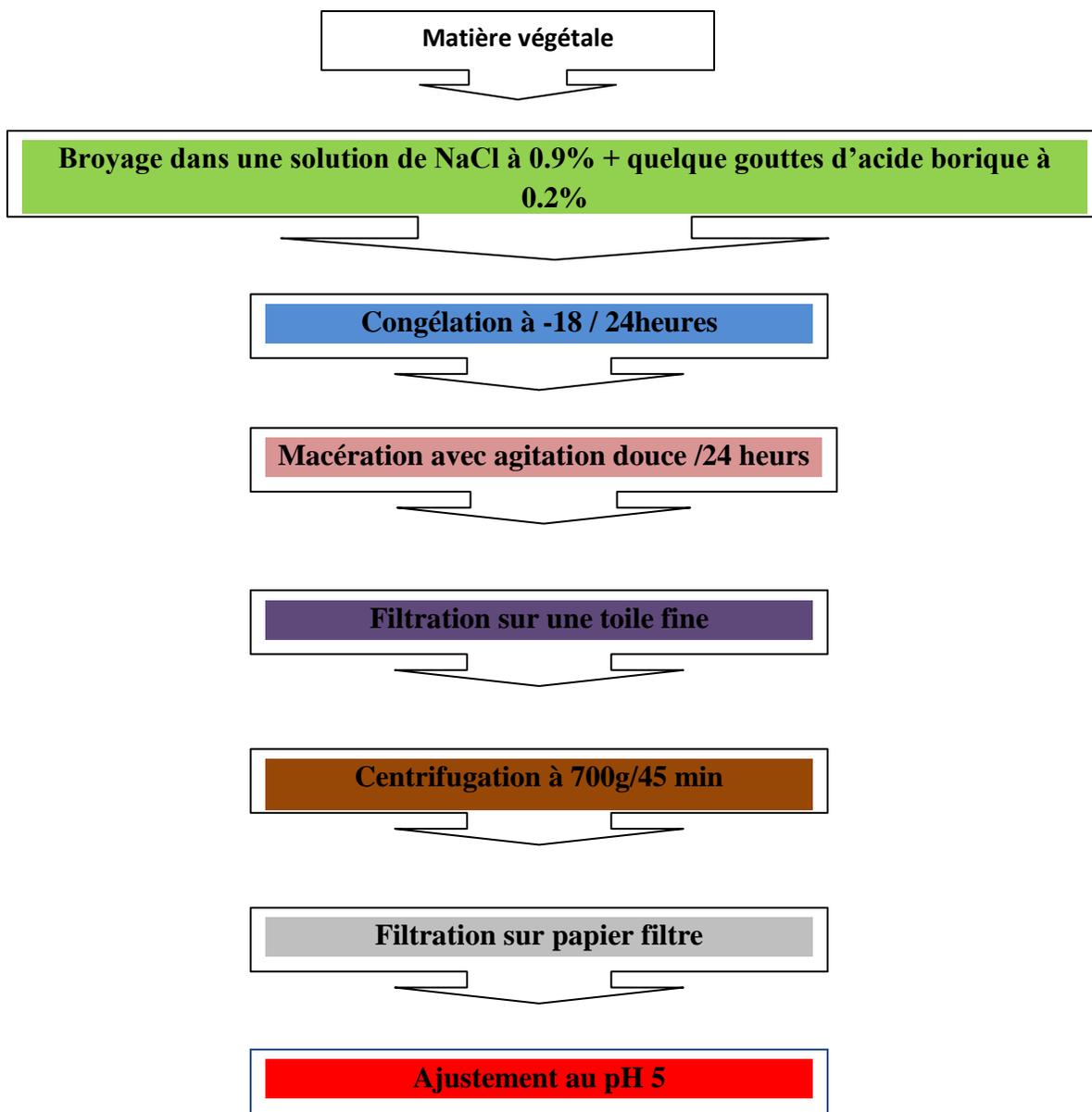


Figure 7 : Protocole de l'extraction selon TSOULI (1974).

II. 2. Préparation des extraits enzymatiques :

La plante *cynara cardunculus* est séchée dans un endroit aéré, assez chaud (de 20 à 25°), et à l'ombre, ce séchage permet de réduire la teneur en eau de la plante et de ralentir la dégradation des principes actifs qu'elle contient. Après 20 jours de séchage, la plante est acheminée vers le laboratoire.

Pour préparer les extraits enzymatiques, la plante est divisée en 5 parties : Fleur, réceptacle, tige, bractées, graines **Photo 5**.



Bractées



Réceptacle



Graines



Fleurs



Tige

Photo 5 : Les différentes parties étudiées.

Pour préparer les extraits coagulants nous avons adopté la méthode de **TSOULI (1974)**, avec modification du protocole :

Une quantité de 10g de la plante de *Cynara cardunculus* sont broyées dans un volume de 50 ml d'une solution de NaCl à 0.9%, quelques gouttes d'acide borique à 0.2% sont ajoutées comme antiseptique.

La préparation est congelée à -18°C pendant 48 heures, après décongélation, elle est recongelée encore pendant 48 heures, puis elle est mise en macération avec une agitation douce et continue pendant 48 heures, ces opérations permettent le passage de l'enzyme vers la solution.

La préparation est ensuite filtrée à travers une gaze, pour éliminer les parties solides, la solution obtenue, est centrifugée pendant 45 minutes à 700 g.

Le surnageant est filtré sur papier filtre, la solution enzymatique brute est ajustée (avec Na₂HPO₄) au pH = 5, pH de stabilité de l'enzyme.

II. 1.2. 1. Caractérisation de l'extrait enzymatique

A- Détermination de l'activité coagulante :

L'activité coagulante est mesurée selon la méthode de **BERRIDGE (1945)**, elle est réalisée sur le substrat standard. La technique consiste à ajouter 1ml d'extrait coagulant brut à 10 ml de substrat standard, puis à noter le temps de coagulation à 30°C. Le substrat est préparé par dissolution de la poudre de lait à (10% p/v).

Une unité d'activité enzymatique ou unité présure (UP) correspond, selon la formule de **BERRIDGE(1945)**, au nombre d'unités de poids ou de volume de lait qui peut être coagulé par 1 ml de préparation coagulante (**BENGAMA, 2001**).

$$\text{UAC ou UP} = 10 \times V / T_c \times Q$$

Où

UP : unité présure

V : volume de substrat standard utilisé

Q : volume d'extrait coagulant

T_c : temps de coagulation

Un volume de 10 ml de lait est versé dans un tube à essai et porté à 30°C, puis additionné de 1 ml de la solution enzymatique, le tube est laissé jusqu'à l'apparition de fins flocons sur la paroi interne du tube, le temps écoulé représente le temps de floculation.

B- Détermination du temps de prise :

Le temps de prise est le point où apparaissent les premières gouttelettes du lactosérum sur la surface du gel, le coagulum devient rigide et ne coule plus sur les parois du tube (**ALAIS, 1974**).

C-Détermination de la force de SOXHLET :

L'activité coagulante des extraits enzymatiques peut être également exprimée en « Force coagulante de SOXHLET (F). », selon la relation suivante : $F = UP/0.0045$ (**BOURDIER et LUQUET, 1981**).

D- Appréciation de l'effet du pH :

Afin d'étudier l'effet du pH sur l'activité coagulante des extraits, le pH du lait est ajusté aux valeurs suivantes : 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5.

Le pH est ajusté par addition d'une solution d'HCl ou de NaOH (1N).

E. Appréciation de l'effet de la température :

L'influence de la température du lait sur l'activité coagulante des extraits est déterminée dans un intervalle de température allant de 30°C à 60°C.

II. 1. 2. Etude du mode de conservation de l'extrait :

Les modes de conservations étudiés est la réfrigération, en vue d'étudier la stabilité de l'activité coagulante, les extraits sont repartis en volume de 3 ml chacun dans des tubes en plastique à 4°C. Un échantillon prélevé tous les 5 jours et leur stabilité est contrôlée par mesure de l'activité coagulante selon la méthode de **BERRIDGE**, l'activité résiduelle est exprimée en pour cent de l'activité initiale.

II. 1. 3. Tests de coagulation :

A. Analyse physico- chimique des laits :

L'analyse physico-chimique des laits utilisés a été effectuée par l'appareil lactoscan.



Photo 6 : Lactoscan.

Avantage de cet appareil :

- Résultats affichés en moins de 90 sec, sans besoin de la présence de l'opérateur et pour plusieurs paramètres différents ;
- Pas besoin de préparation d'homogénéisation ou chauffage des échantillons ;
- Facile à utiliser ;
- Conception portative et compacte ;
- La quantité de lait à exiger très petite;
- Consommation de puissance faible ;
- Aucune utilisation des produits chimiques dangereux ;
- Assistance pour les imprimantes.

Un volume de 25 ml est analysé, les paramètres étudiés sont :

- pH ;
- Matière grasse exprimée en %;
- Densité ;

- Lactose exprimé en % ;
- Protéine exprimée en % ;
- Extrait sec dégraissé exprimé en % ;
- Matière minéral exprimé en % ;
- Point de congélation ;

B. Coagulation du lait :

Les essais de coagulation du lait en utilisant les cinq extraits enzymatiques, ont été réalisés dans les conditions optimales.

- Mettre dans cinq béchers 100 ml de lait entier ;
- Ajouter 1ml de chaque extrait dans un bécher ;
- Placer la solution sous une agitation douce à la température optimale, pendant 30 min ;
- Laisser reposer 24h ;
- Séparer le lactosérum par une simple filtration.

II. 1. 4. Détermination des caractéristiques des produits obtenus :

II. 1. 4. 1. Lactosérum :

- ***Volume dégagé :***

Après 24 heures de repos, nous avons effectué la séparation des deux phases (coagulum – lactosérum), nous avons déterminé le volume à l'aide d'une éprouvette graduée.

- ***Mesure de pH :***

Pour mesurer le pH des solutions, nous avons utilisé le pH mètre.

- ***Appréciation de la couleur :***

La qualité organoleptique (couleur et consistance) est appréciée par l'œil nu.

II. 1. 4. 2. Coagulum :

On détermine :

- **Le poids** : après un égouttage complet, le poids des coagulums obtenus est mesuré à l'aide d'une balance.
- **La teneur en matière sèche** :

La teneur en matière sèche (MS) est exprimée en pourcentage est égale à :

$$(M2 - M0 / M1 - M0) \times 100$$

Où : M0 : masse (g) de la capsule vide;

M1 : masse (g) de la capsule et la prise d'essai (fromage) ;

M2 : masse (g) de la capsule et la prise d'essai sèche.

La matière sèche ainsi définie peut être déterminée par pesage des résidus après élimination totale de l'eau. La matière sèche est la masse restante après dessiccation complète dans une étuve à une température de $120 \text{ }^\circ\text{C} \pm 02^\circ\text{C}$

- **Propriétés organoleptique** : la texture, la couleur.

III. Résultats et discussion :

III. 1. Caractérisation des extraits enzymatiques :

III. 1. 1. Activité coagulante :

Les différentes parties de *Cynara cardunculus*, ont été obtenues par une simple division. Le volume moyen de ces extraits enzymatiques obtenu avec 10 g de chaque partie est de 15 ml à 25 ml, à l'exception de l'extrait des bractées qui a donné 5 ml, ces extraits sont caractérisés par une odeur douce, une couleur violette, foncée légèrement (Fleur), brunâtre (tige, réceptacle), et un peu verdâtre (bractées, graines), ils sont surtout de une faible viscosité.

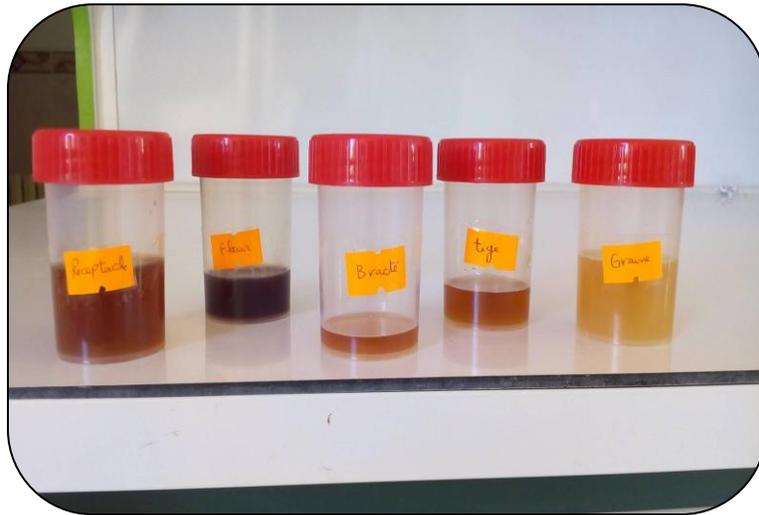


Photo 7 : Les différents extraits obtenus

Le temps de floculation est calculé à partir du moment de l' emprésurage jusqu'à l'apparition des premiers flocons, et le temps de prise jusqu'à l'apparition des premières gouttelettes de lactosérums.



Photo 8 : Apparition des flocons (Fleurs et réceptacle)

L'activité coagulante exprimée en (UAC) et la force coagulante (F) des différents extraits sont regroupées dans tableau suivant :

Tableau 9 : Caractéristiques des extraits enzymatiques.

	fleur	réceptacle	tige	bractées	graines
Temps de floculation (S)	7	245	1200	1440	2040
Temps de prise (S)	18	278	1462	1620	2400
Activité coagulante (UAC)	14.28	0.40	0.083	0.069	0.049
Force coagulante	3174.6	88.88	18.51	15.43	10.88

Nous remarquons que l'extrait brut des fleurs de *Cynara* donne un temps de floculation à 30°C d'environ 7 s, 245 s pour le réceptacle, 1200 s pour la tige, 1440 s pour les bractées, et 2040 s pour les graines.

L'activité coagulante exprimée par le nombre d'unités coagulante (UAC) qui représente la quantité d'enzyme contenue dans 1 ml de la solution enzymatique, qui peut coaguler 10 ml de lait est 14.28 unités pour l'extrait de fleurs, 0.4 pour le réceptacle, 0.083 pour la tige, 0.069 pour les bractées, 0.049 pour les graines.

Nous avons constaté qu'il y a une activité au niveau du réceptacle, elle est plus faible par rapport à la fleur, par contre les extraits de la tige, de bractées, et des graines ne présentent qu'une très faible activité voire inexistante.

Nous pouvons conclure que l'activité est présente essentiellement au niveau des fleurs et réceptacle. C'est la raison pour laquelle, nous avons limité la suite des tests sur ces deux extraits.

III.1. 2. Effet du pH du lait sur l'activité coagulante :

L'effet du pH du lait sur l'activité coagulante des extraits enzymatiques de fleurs et réceptacle a été étudié en ajustant le pH du lait (substrat de BERRIDGE) aux valeurs dans l'intervalle 4,5 à 6,5. Les résultats obtenus sont montrés dans la figure 8.

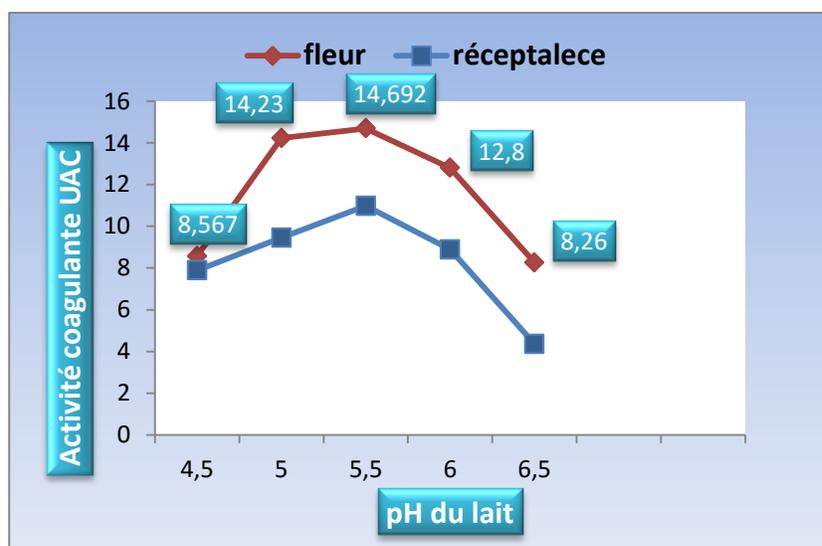


Figure 8 : Evolution de l'activité coagulante en fonction du pH du lait.

Dans l'intervalle étudié, l'analyse des résultats obtenus montre qu'à des valeurs de pH inférieurs à 5.5 l'activité coagulante de fleurs de *Cynara* augmente progressivement, ensuite, elle diminue lorsque le pH est supérieur à 5.5. Pour le réceptacle, nous remarquons que l'activité augmente jusqu'à cette valeur puis elle s'abaisse.

Ainsi, le pH 5.5 représente le pH optimal pour l'activité de ces extraits de *Cynara*, à pH = 6,5 l'activité coagulante n'est pas complètement inhibée, l'enzyme montre encore une faible activité.

En effet, le pH d' emprésurage influe directement sur l'activité coagulante des enzymes, le temps de floculation diminue davantage lorsque le pH est abaissé au-dessous de sa valeur normale dans le lait. Toutes les enzymes coagulantes de fromagerie sont des protéases à caractère acide. De ce fait, leur activité est généralement optimale aux valeurs proches de 5,5 (**RAMET, 1998**).

NOUANI et al, (2009) indiquent une augmentation de l'activité coagulante de l'extrait de fleurs de *Cynara scolymus* lorsque le pH du lait est abaissé de 6, les mêmes auteurs indiquent que l'extrait de figuier de latex (*Ficus carica*) a une activité optimale dans un pH égale à 5.

L'influence de l'acidification sur le temps de floculation résulte pour une part d'un effet sur l'activité de l'enzyme, et d'autre part sur la réaction d'agrégation par suite de la diminution de la stabilité des micelles, liées à la neutralisation des charges négatives, et la libération d'ion calcium à partir des complexes dissous et colloïdaux (**RAMET, 1997**).

III. 1. 3. Effet de la température du lait sur l'activité coagulante :

L'effet de la température du lait sur l'activité coagulante des extraits de de *Cynara cardunculus* est déterminé par la mesure de l'activité coagulante à différentes températures d'incubation allant de 35 à 65°C. Les résultats sont montrés dans la figure suivante :

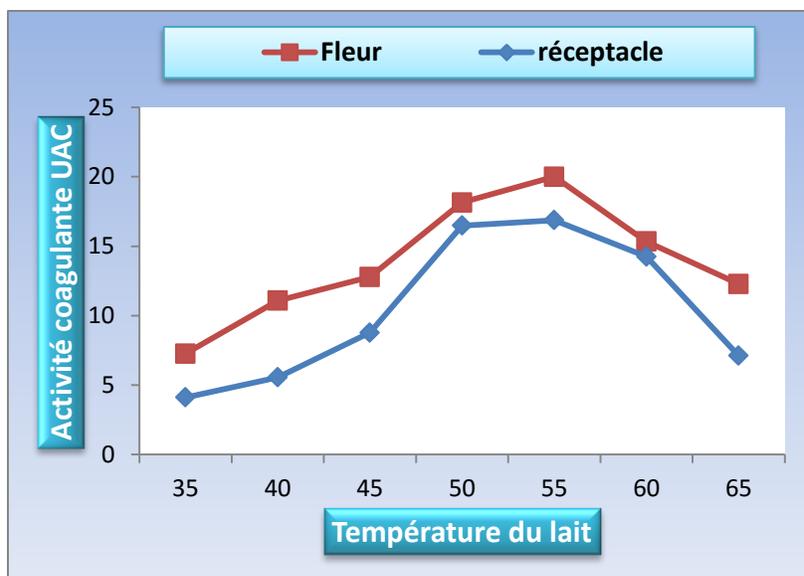


Figure 9 : Evolution de l'activité coagulante en fonction de la température.

Au-dessus de 35°C, l'activité coagulante de fleurs augmente progressivement jusqu'à 55°C pour laquelle l'activité est maximale, ensuite elle diminue. L'extrait du réceptacle a montré un maximum d'activité à des températures comprises entre 50 à 60°C.

L'augmentation de la température du lait entraîne une amélioration très nette de l'activité coagulante des deux extraits étudiés. Toutefois, cette amélioration est plus importante dans le cas de fleurs de *Cynara*.

Ces résultats sont un peu proches de ceux obtenus avec les fleurs de *Cynara scolymus* où l'activité optimale est à des températures comprises entre 60 et 70 °C, ainsi l'extrait de *Ficus carica* présente une activité maximale à 80°C (NOUANI et al, 2009).

Selon RAMET (1993), il existe une relation quasi linéaire entre la température et l'activité des préparations coagulantes dans l'intervalle de 25-40°C.

Il faut noter que l'effet de la température résulte de la conjugaison de deux effets, l'un sur la réaction enzymatique, l'autre sur la phase secondaire de la coagulation et qui correspond à l'étape d'agrégation, en effet, la coagulation du lait ne peut avoir lieu qu'à des températures supérieures ou égales à 18°C. Cela est dû à l'importance des interactions hydrophobes dans l'agrégation des micelles (BRINKHUIS et PAYENS, 1984 in LUCEY, 2002).

III. 1. 4. Etude du mode de conservation :

Tous les 7 jours, l'activité résiduelle de chaque extrait réfrigéré est vérifiée.

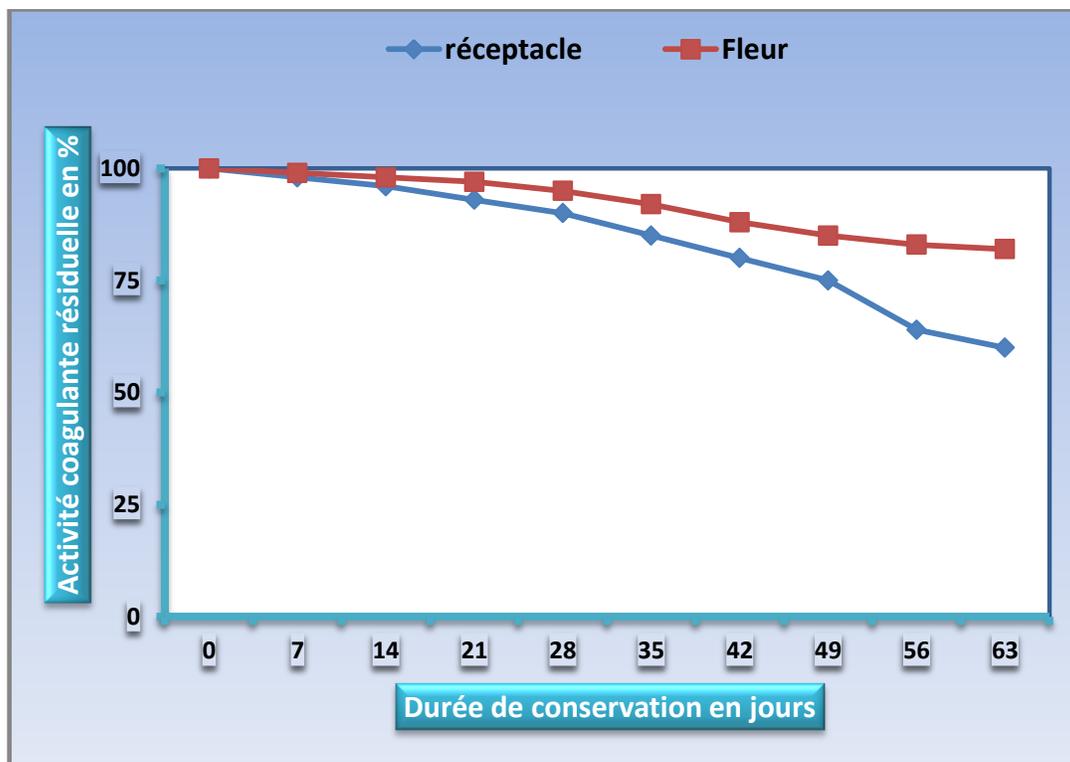


Figure 10 : Evolution de l'activité coagulante des fleurs au cours de la conservation

La figure 10 dévoile que la conservation de l'activité coagulante de l'extrait de fleurs conserve mieux son activité, l'extrait a conservé 92% de son activité initiale après 30 jours, contre, et 85% pour l'extrait réceptacle.

Après 63 jours de conservation, nous avons noté que l'extrait de fleurs conserve toujours mieux son activité coagulante résiduelle qui vaut 82% comparé à l'extrait de réceptacle qui conserve 60%.

III. 2. Test de coagulation :

La possibilité d'utiliser les deux extraits de *Cynara cardunculus* (Fleur et réceptacle) a été testée avec 3 types de lait : chèvre, brebis, et vache.

Le temps de coagulation enregistré avec les différents types de lait est donné dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Temps de coagulation

Extrait	Lait de Chèvre	Lait de Brebis	Lait de vache
Fleur	14 min	8 min	12 min
réceptacle	25 min	21 min	23 min

Il ressort que le temps de coagulation du lait de brebis est le plus court par rapport au lait de chèvre et vache, ceci est dû à la particularité de sa composition, et ses caractéristiques physico-chimiques.

L'analyse physico-chimique des laits utilisés est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Analyse physico-chimique des laits

Paramètres	brebis	chèvre	Vache
Température	12°C	13,4	13
pH	6,6	6,4	6,4
Matière grasse	7,48%	4,2%	3,4%
Densité	1046,6	1022	1037
Lactose	4,8%	4,3%	4,4%
Extrait sec dégraissé	7,91%	9,65%	8,65%
Protéines	5,40%	4,2%	3,7%
Matière minérale	0,71%	0,05%	0,7%
Point de congélation	0,583°C	0,398 °C	0,451°C

III. 2. 1. Caractéristiques des lactosérums :

Avec cette préparation, nous avons pu obtenir un lactosérum et un caillé qui donne, après égouttage, un coagulum différent d'un type à l'autre.

Après égouttage, nous avons obtenus des lactosérums de couleur variable allant de blanc claire au jaune verdâtre, de densité variable,

Selon **WEBB et al. , 1974**, Il se pourrait que la teneur en riboflavine qui est responsable de la couleur verte caractéristique du lactosérum, soit plus faiblement représentée dans le lait de chamelle que dans le lait de vache, et qui est à l'origine de la dominance de cette couleur blanche du lactosérum camelin.

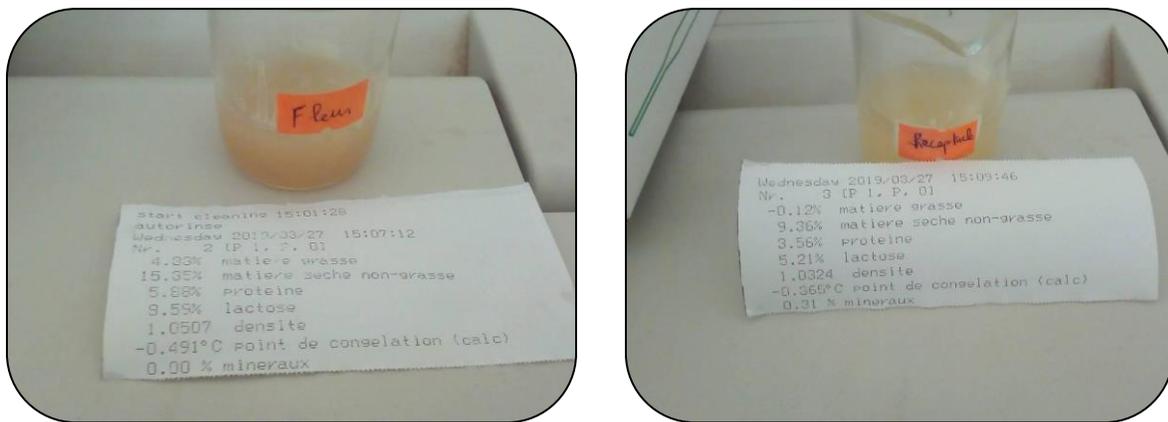


Photo 9 : lactosérums du lait de vache

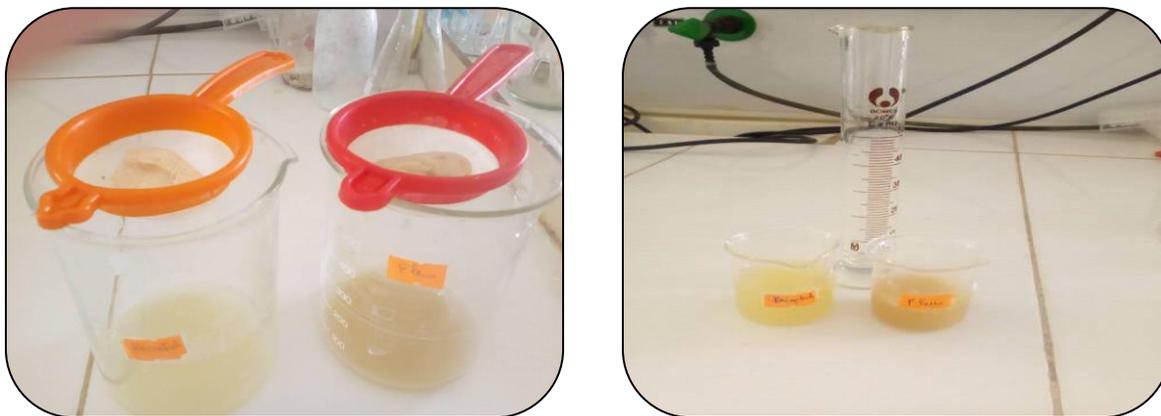


Photo 10 : lactosérums du lait de brebis et chèvre

A. Volume des lactosérums :

Le volume dégagé a été déterminé après chaque égouttage, les valeurs trouvées sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 12: volumes des lactosérums

	chèvre fleur	chèvre réceptacle	Brebis fleur	brebis réceptacle	Vache fleur	Vache réceptacle
Volume	27 ml	19,5 ml	14 ml	20 ml	28	26.5
Couleur	Jaune	Jaune	jaune limpide	jaune verdâtre	Jaune verdâtre	Jaune verdâtre

Une variation des valeurs de volume obtenu lors des différents tests de coagulation a été remarquée. L'analyse de ces résultats montre que la valeur la plus importante est obtenue avec lait de vache (fleur) avec 28 ml, alors que la valeur la moins importante est enregistrée avec le lait de brebis (fleur) avec 14 ml. Ce qui indique l'effet de la race sur le volume du lactosérum.

B. pH :

Tableau 13: Valeurs du pH des laits et lactosérums dégagés

Lait pH	Chèvre		Brebis		vache	
	Fleur	Réceptacle	Fleur	réceptacle	Fleur	réceptacle
Lait	6.66	6.66	6.42	6.42	6.44	6.44
lactosérum	6.63	6.64	6.4	6.38	6.42	6.4

L'analyse des résultats obtenus montre que l'utilisation de l'extrait de fleurs de *Cynara cardunculus* n'a pas provoqué une baisse des valeurs de pH des lactosérums. On peut dire donc que la coagulation avec les extraits de *Cynara* ne modifie pas le pH.

III. 2. 2 Caractéristiques des coagulums :

A. Couleur des fromages :

Les fromages obtenus sont caractérisés par une couleur très claire, allant du blanc (chèvre) au crème pour le lait de brebis, un peu jaunâtre avec le lait de vache. Cette différence peut être expliquée par l'effet génétique de chaque race, l'alimentation qui influe sur la composition des laits.

Les coagulums obtenus sont représentés dans les figures suivantes :



Photo 11 : coagulums avec lait de brebis



Photo 12 : coagulums avec lait de chèvre.



Photo 13 : coagulums avec lait de vache

B. Poids des fromages :

Dans les mêmes conditions, la coagulation aboutit à une séparation de deux parties, un coagulum et un lactosérum, nous avons procédé au pesage des coagulums obtenus après chaque égouttage, dans le but de déterminer leurs poids.

Les valeurs du poids obtenus sont représentées dans la figure suivante :

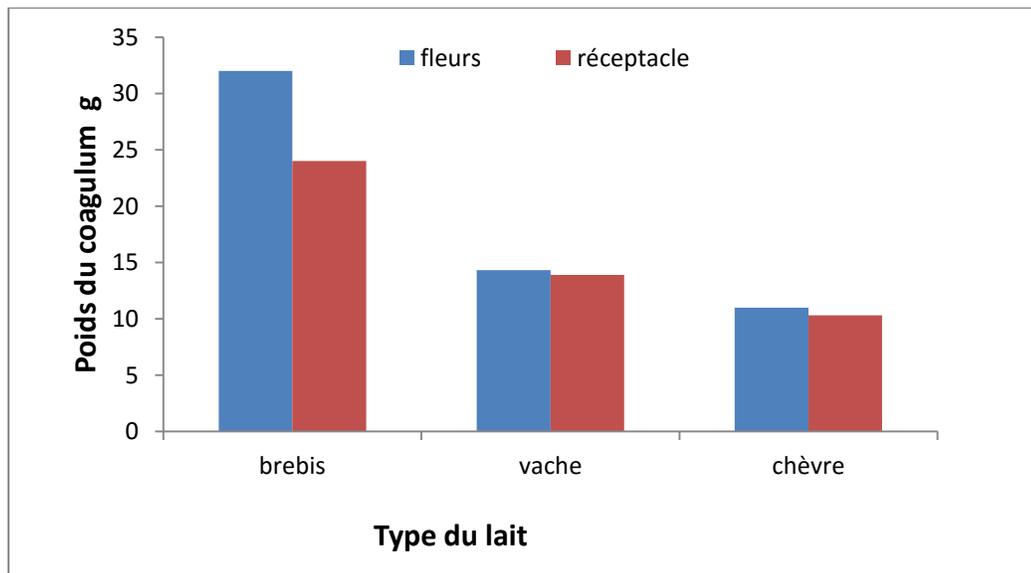


Figure 11 : le poids des coagulums obtenus.

La figure nous montre que le lait de brebis donne le meilleur rendement par rapport au lait de chèvre avec un poids de 31,5 g avec l'extrait de fleurs et 22 g avec l'extrait de réceptacle,

La figure nous montre aussi que l'extrait de fleur donne un rendement plus important que celui de réceptacle dans le cas du lait de brebis, mais pour le lait de chèvre et de vache, nous remarquons qu'il n'y a pas de différence.

La figure nous montre aussi que la race a un effet significatif sur le poids de fromage, la valeur la plus intéressante caractérise le fromage préparé par le lait de brebis, cela résulte de sa richesse en matière grasse, et en protéines qui caractérise ce type de lait.

D'après **BARBAROSA et al.,(1976)**, qui a utilisé l'extrait de fleurs de *Cynara cardunculus* avec le lait de vache, le rendement est de 11.9 kg. Là, il faut tenir compte du stade végétatif, en effet le stade floral de notre plante était bien plus avancé.

C. La matière sèche :

Après le pesage des coagulums obtenus on les a séchés dans une étuve à 100°C pendant une heure nous avons pesé les coagulums secs à l'aide de balance de précision, la teneur en matière sèche est représentée dans la figure suivante :

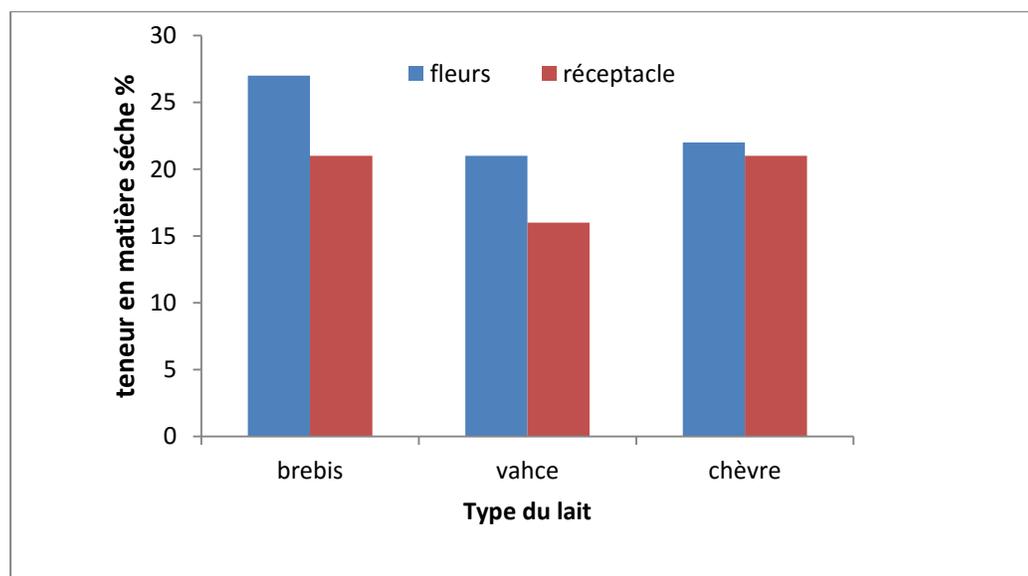


Figure 12 : teneur en matière sèche des coagulums obtenus.

La figure nous montre que le coagulum obtenu avec le lait de brebis en utilisant l'extrait de fleur donne la meilleure teneur en matière sèche environ 28% du poids de coagulum, et celui obtenu avec le réceptacle donne 18%, nous pouvons conclure que l'extrait de fleurs donne un coagulum d'une teneur en matière plus élevée.

Selon **FAO (1998)**, le mode de coagulation influe sur la teneur en matière sèche, en effet la voie enzymatique permet d'obtenir un coagulum à teneur élevée en extrait sec est estimée entre 60 et 65%, par contre la voie acide permet de dégager un coagulum à teneur faible en matière sèche et qui se situe entre 20 et 25 %.

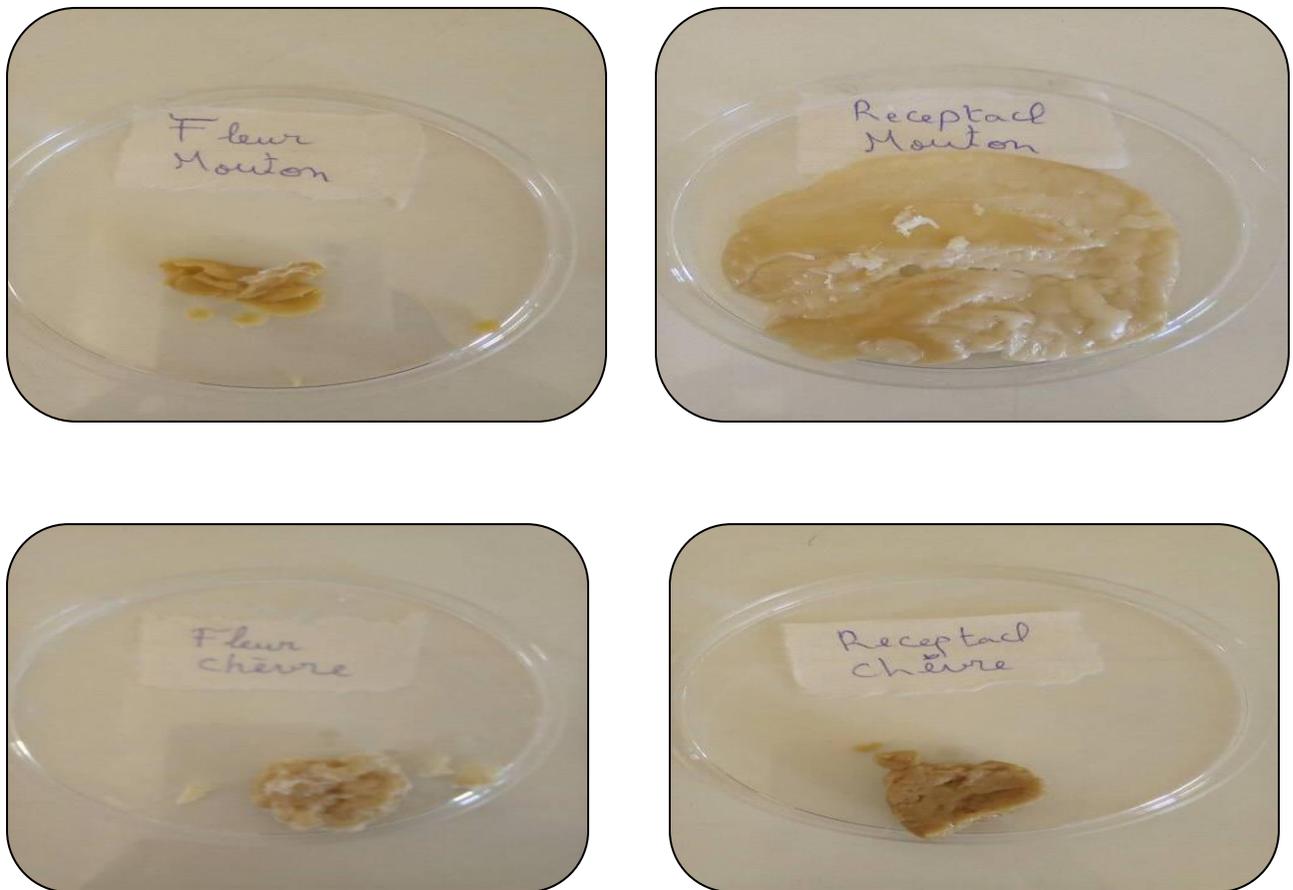


Photo 14 : Les coagulums après séchage.

CONCLUSION

Conclusion :

A travers cette étude, nous avons essayé d'apporter une meilleure connaissance sur l'utilisation de *Cynara cardunculus*, comme agent coagulant le lait, nous avons consacré la première partie sur la caractérisation des extraits enzymatiques obtenus par les fleurs, réceptacle, bractées, tige, et feuilles. Et l'optimisation des conditions de coagulation, ainsi l'étude de l'aptitude à la coagulation en utilisant types de lait : vache ; chèvre ; brebis, et la caractérisation des produits obtenus. A la lumière des résultats obtenus nous pouvons conclure ce qui suit :

Les résultats montrent que l'extrait brut de la fleur a permis de donner à partir de 10 g de plantes séchées une quantité d'extrait allant de 15 à 25 ml d'extrait enzymatique, à l'exception de l'extrait des bractées qui a donné 5 ml, donnant un temps de floculation de 7 s pour l'extrait de fleurs, et 245 s pour le réceptacle, et pour le reste des extraits le temps de floculation a dépassé les 20 minutes.

L'activité coagulante de l'extrait de fleurs est 14.28 U.A.C /ml et donc une force égale à 3174.6. Et pour le réceptacle elle est de 0.40 UAC/ml, et une force égale à 88.88. Pour le reste des extraits l'activité est très faible, et presque inexistante.

Dans la zone de pH étudié (4,5 à 6,5), l'activité coagulante de l'extrait de fleurs et réceptacle est maximale à pH 5,5, l'activité est plus favorisée par l'abaissement du pH du lait, elle n'est pas complètement inhibée à pH 7.

L'extrait de fleur a montré une activité maximale à une température égale à 55°C dans l'intervalle de 35°C et 65°C, l'augmentation de la température entraîne une amélioration nette de l'activité coagulante. Pour l'extrait de réceptacle, l'activité est maximale entre 50 et 60°C.

Les deux extraits montrent une bonne activité résiduelle au bout de 1 mois, l'extrait de fleurs a conservé 92% de son activité et 85% pour le réceptacle, et après 2 mois l'extrait de fleurs conserve 82% de son activité par rapport au réceptacle qui conserve environs 60%.

CONCLUSION

Les essais de préparation du fromage avec les trois types de lait dévoilent que l'agent coagulant semble montrer une plus grande affinité pour le lait de brebis, avec un temps de coagulation le plus court, nous avons remarqué que le rendement le plus important est observé avec le lait de brebis.

Les caractéristiques organoleptiques du fromage fait avec les trois types de lait diffèrent considérablement, en particulier la consistance et la couleur, nous avons remarqué que les fromages obtenus sont caractérisés par une couleur très claire, allant du blanc pour le lait vache, au jaune clair pour le lait de chèvre et de brebis, la texture du fromage est plus ferme avec le lait de brebis par rapport aux autres.

Le rendement fromager obtenu est meilleur pour le lait de brebis avec l'extrait de fleurs 31.5 g et 22g avec le réceptacle, pour le lait de vache et chèvre le poids des coagulums a été enregistré entre 12 et 15 g avec les deux extraits, nous n'avons pas remarqué qu'il y a une différence avec les deux extraits utilisés.

Les lactosérums obtenus sont caractérisés par une couleur claire verdâtre, différent selon la race. L'utilisation des extraits de fleurs et réceptacle de *Cynara cardunculus* n'a pas provoqué une baisse des valeurs de pH, et donc la coagulation assurée *Cynara cardunculus* n'est pas une coagulation mixte.

Enfin, à travers nos résultats nous pouvons conclure qu'il n'y a aucun inconvénient à substituer la présure par les deux extraits de *Cynara cardunculus*, cependant d'autres études plus approfondies sur plusieurs volets doivent être réalisées telles que :

- ⊗ Détermination du comportement rhéologique du gel formé.
- ⊗ Concentration et purification des protéines ayant l'activité enzymatique.
- ⊗ Etude par électrophorèse PAGE dans plusieurs conditions de l'extrait purifié.
- ⊗ Etude de la composition chimique des extraits de *Cynara cardunculus* et leurs activités biologiques.

Références bibliographiques :

ADRIAN J., POTUS J. et FRANGNE R., 2004. La science alimentaire de A à Z ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier : 79 (477 pages)

ALAMAREOT J., 1982. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaire, édition du point vétérinaire-Alfort 1982 289p.

ALAIS C., 1974. Science du lait, principes de la technologie laitière. 3^{ème} édition. Compte de la société d'édition et de la publication agricole industriel et commerciale 42. Paris.

ALAIS C., 1975. Les protides du lait, Sciences du lait. Bd. SEPAIC, 3ème édition, 106-109.

ALAIS C et LINDEN G., 1997. Abrégé de biochimie alimentaire. 4ème édition. Sepaic Paris-248P.

AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et TURGEON H., 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In **VIGNOLA C.L**, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

ANIFANTAKIS E., 1976. Influence d'une présure d'agneau sur la qualité du fromage Kefalotyri, Le lait Jan-Fév1976 N° 551-552 p76-8.

BALCONES E., OLANO A. and CALVO M.M. 1996. Factors affecting the rennet clotting properties of ewe's milk. J. Agric. Food Chem., 44, 1993–1996.

BELHOUT M., 2010. Essai d'optimisation du taux d'extraction, et des méthodes de conservation de la présure du chardon sauvage (*Cynara cardunculus*).

BENGAMA M., 2001. Caractérisation des enzymes protéolytiques (pepsine/chymosine) isolées de caillettes de bovins adultes. Mémoire de Magister, Institut National Agronomique. El Harrach, Alger.

BENLOUC R et OULMIA., 2017. Etude du procédé de production du fromage du type camembert : Effet de la nature des microorganismes sur la qualité du produit. Université Frère Mentouri Constantine 1.

BENSAID I., 2011. Utilisation de l'Extrait Enzymatique des Fleurs du *Cynara cardunculus* pour la Fabrication du Fromage. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

BERRIDGE N. J., 1945.The purification and crystallization of rennin.Biochem.J., 39. 179.

BOUGHELLOUT H., 2007. La coagulation du lait par la pepsine du poulet. Université Mentouri.

BOURDIER J.F. et LUQUET F.M., 1981. Dictionnaire laitier. Tec. Doc. Lavoisier, Paris.

BOUTRK F et SUISSI A., 2017. Utilisation de l'extrait enzymatique de *Mollugo cerviana* dans la fabrication du fromage. Université Ziane Achour. Djelfa.

BRULE G et LENOIR J., 1997. La coagulation du lait in Le Fromage A. Eck 2ème édition Tech. et Doc.

BRULE G., LENOIR J., REMEUF F. 1997. La micelle de caséine et la coagulation du lait. In : Le fromage, 3^{ème} édition, Tec et Doc., Lavoisier, paris.

BRUNNER J., 1981. Cow milk proteins: twenty five years of progress. J dairy Sci, 1981,64 : 1038-1054. In **POUGHEON S.**, Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).

BYLUND G., 1995. Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86 , Lund ,Sweden : 18- 23-381(436 pages).

CAUTY I et PEREAU J- M., 2003. La conduite du troupeau laitier. Ed ; France agricole.

CHAMBA J. F. et IRLINGER F., 2004. Secondary and adjunct cultures. In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, 191-206p. London, UK : Elsevier Academic Press Inc.

CHRISTEN C. et VIRASORO E., 1935. Présure végétale : extraction et propriétés

CODEX ALIMENTARIUS., 2010. Norme Codex pour le Camembert (codex Stan 2831978).[Enligne].

[URL:www.codexalimentarius.org/input/download/standards/218/CXS_276f.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/218/CXS_276f.pdf).

CHRISTEN C. et VIRASORO E., 1935. Présure végétale : extraction et propriétés.

CUVELLIER G.F., 1993. Production des enzymes in Biotechnologie. Coord Scriban R. 4^{ème} édition Tec. et Doc. Lavoisier PP948.

DALGLEISH D.G., 1997. The Enzymatic coagulation of milk. in Advanced Dairy Chemistry V1 Proteins. P. F. Fox Blackie and son Ltd. P579-619.

DALGLEISH D.G. and HOLT C., 1988. A Geometrical model to describe the initial aggregation of partly renneted casein micelles. Journal of colloid and interface science, vol 123, N° 1, May 1988.

DALGLEISH D. G., and LAW J. R. 1989. pH-induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilisation and its relation to casein release. J. Dairy Res., 56, 727- 735.

DEBRY G., 2001. Lait ; nutrition et santé. Ed. Tec & DOC, Lavoisier, Paris.

DESMAZEAUD M., 1997. Les enzymes utilisées en industrie laitières PP582-602 in Laits et produits laitier scoord. Luquet F.M. Tech et Doc Lavoisier.

DYBOWSKA E. and FUJIO Y., 1996. Effect of temperature and gluconod- lactone (GDL) concentration on milk aggregation and gelation process as revealed by optical method. Milchwissenschaft, 51, 557–560.

ERENSTROM C.A., 1983. Milk clotting enzymes and their action in fundamentals of dairy chemistry. Webb B.H., AH. Johnson and J.A. Alford . The Avi Publishing company Inc. 2nd Edition. PP 663-718 .

FAO., 1999. Lait et produits laitiers. Perspectives de l'alimentation N° 5 – Novembre 1999. P.12.

FARKYE N.Y., 2004. Cheese technology. Int. J. Dairy Tech., 57, 91-98.

FENNICHE S, NAOUI H; 2017.suivi de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait UHT (lait entier) à différentes températures du stockage au niveau de Tchén-Lait CANADA.

FOLTMANN B., 1992. Chymosin: a short review on foetal and neonatal gastric proteases. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 52(210), 65-79.

GASTALDI E., PELLEGRINI O., LAGAUE A. and TARODO DE LA FUENTE B., 1994. Functions of added calcium in acid milk coagulation. J. Food Sci., 59, 310–320.

GASTALDI E., LAGAUE A., TARODO DE LA FUENTE B., 1996. Micellar transition state in casein between pH 5.5 and 6.0. J. Food Sci., 61, 1–7

GAUCHERON F; 2004. Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).

GENIN., 1968 ; Mais., 1971. les succédanés de la présure.

GHAOUES S ; 2010/2011. Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits partiellement écrémés commercialisés à l'est Algérien. Université Mentouri-Constantine.

GOURSEAUD J., 1999. Réacteurs enzymatiques à enzymes libres et à enzymes immobilisées, cas de l'industrie laitière : coagulation enzymatique du lait in Biotechnologie Scriban R. 1999,5ème édition Tech et Doc 1999.

GREGNON R.V., 1975. Technologie du lait .Ed : la maison rustique. Paris.

HODEN P et COULON H., 1991. Composition chimique du lait,
<http://www.2.vet.lyon.fr>.

HOUEN G., MADSEN M.T., HARLOW K.W., LONBLAD P. and FOLTMANN B., 1996. The primary structure and enzymatic properties of porcine prochymosin and chymosine. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 28, 667-675.

HUMME H.E., 1972. The optimum pH for the limited specific proteolysis of k-casein by rennin (primary phase of milk clotting). *Neth. Milk Dairy J.*, 26, 180–185.

ISSELNANE S., 2014. Caractérisation chromatographique et électrophorétique de l'extrait coagulant issu de caillettes de dromadaires adultes. UNIVERSITE MOULOUDE MAMMERI DE TIZI-OUZOU.

JANHØJ T. and QVIST K.B., 2010. The Formation of Cheese Curd; In *Technology of Cheesemaking*, 2nd ed.; Law, B. A., Tamime, A. Y., Eds.; Wiley-Blackwell: Oxford, U.K; pp 98-129.

JEAN C., et DIJON C., 1993. Au fil du lait, ISBN 2-86621-3.

JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., 2007. Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456Pages)

JENSEN.,1995. Handbook of milk composition-General description of milks,Academic Press,Inc:3 (919pages).

KOWALCHYK A.W. and OLSON N.F., 1977. Effects of pH and temperature on the secondary phase of milk clotting by rennet. *J. Dairy Sci.*, 60, 1256–1259.

LARBIER M et LECLERC B., 1992. Nutrition et alimentation des volailles : physiologie digestive. INRA Paris 1992.

LARCHER I., 2002. La fabrication fromagère fermière Edition : Centre fromager de carejane, France.

LE GRÄET Y. and BRUL G., 1993. Les équilibres minéraux du lait: influence du pH et de la force ionique. Lait, 73, 51–60.

LENOIR J., REMEUF F. et SCHNEID N., 2006. Le Lait de Fromagerie in : « Le fromage » éd. Eck et Gillis. Technique et Documentation, 3ème éd., Lavoisier, Paris.

LÓPEZ M.B., LOMHOLT S.B., and QVIST K.B., 1998. Rheological properties and cutting time of rennet gels. Effect of pH and enzyme concentration. Int. Dairy J., 8, 289–293.

MAHAUT M., JEANTET R. et BRULE G., 2005. Initiation a la technologie fromagère. Tec & Doc, Paris, France. 1-21.

MAJDI A., 2009. les fromages AOP et IGP.’, in Séminaire sur les fromages AOP et IGP. INT-Ingénieur agronomie, 88p.

MATHIEU J., 1999. Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).

MCMAHON D.J., RICHARDSON, G.H. and BROWN, R.J., 1984. Enzymic milk coagulation: Role of equations involving coagulation time and curd firmness in describing coagulation. J. Dairy Sci., 67, 1185–1193.

MIETTON B., DESMAZEAUD M., DE ROISSARD H. et WEBER F., 1994.

Transformation du lait en fromage ; in : « Bactéries lactiques II » Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

MONTILLA A., BALCONES E., OLANO A. and CALVO M.M., 1995

Influence of heat treatments on whey protein denaturation and rennet clotting properties of cow’s and goat’s milk. J. Agric. Food Chem., 43, 1908–191.

NÁJERA DE RENOBALLESB M. and BARRONA L.J.R., 2003. Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. Food Chem., 80, 345–352.

NOUANI A., BELHAMICHE N., SLAMANI R., FAZOUANE F., BELBRAOUE T. S., BELLAL M.-M., 2009. Purification et caractérisation électrophoretique d'une protéase coagulant le lait de *Mucor Pusillus* : comparaison de méthodes. *European Journal of Scientific Research*, 35 (4):512-52.

PARENT E et COGAN T. M., 2004. Starter cultures: general aspects. In : Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, 123-148p.

POUGHEON S., 2001. Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 34 (102 pages).

QUEZEL P., SANTA S., 1963. Nouvelle flore de l'Algérie. Tome II. Edition du centre national de la recherche scientifique 15, quai Anatole-France – Paris.

RAMET J.P., 1987. Production de fromage à partir de lait de chamelle en Tunisie. FAO, Rome.

RAMET J.P., 1997. Les agents de transformation du lait in *Le fromage*, 3^e édition, Tech. & Doc. Paris, pp: 165-172.

SOLORZA F.J. and BELL A.E., 1998. The effect of calcium addition on the rheological properties of a soft cheese at various stages of manufacture. *Int. J. Dairy Tech.*, 51, 23–29.

STOLL W., 2003. Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait , vol 9 , [http:// www.db- alpadmin-ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-alpadmin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf).

St-GELEIS D. et TIRARD-COLLET P., 2002. Fromage, in *Science et technologie du lait transformation du lait* coordonnateur Vignola C.C, Fondation de technologie laitière du Québec.

THAPON J.L., 2005. *Science et technologie du lait*, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).

TSOULI, J., 1974. Étude comparée de l'activité de trois variétés d'artichauts du genre *Cynara cardunculus* sur la coagulation du lait. 537 : 415 – 421.

VAN HOOYDONK A.C.M., BOERRIGTER I.J., and HAGEDOORN A.G., 1986.

pH-induced physico-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. 2. Effect of pH on renneting of milk. Neth. Milk Dairy J., 40, 297–313.

VIGNOLA C.L., (2002). Science et technologie du lait – transformation du lait, école polytechnique de Montréal, ISBN : 29 – 34 (600 pages).

VISSER S., VAN ROOYEN P.J., and SLANGEN C. J., 1980. Peptide substrates for chymosin (rennin). Isolation and substrate behaviour of two tryptic fragments of bovine k-casein. Eur. J. Biochem., 108, 415–421.

VEISSEYRE R.,1979. Technologie du lait. Constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} édition. La maison rustique. Paris, 714p.

VIGNOLA., 2002. Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales polytechnique, Québec.

WEBMASTER., 2013. les étapes de fabrication du fromage .

YAMAMOTO A.,1975. Proteolytic enzymes in food processing 2nd Edition, Reed G Academic press.

Yildiz F., 2010. Développement et fabrication de yaourt et autres produits laitiers, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435p.

ZIKOU A., 2012/2013. La coagulation du lait par l'extrait des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus*). Constantine.

Résumé

ملخص :

اظهرت التجارب مما سبق قدرة وردة *Cynara Carduculus* على تخثر الحليب . الهدف من هذا البحث هو التأكد من هذه التجارب و دراسة قدرة افضل جزء من هذه النبتة (الساق, الكاس, البذرة , السبلات) على تخثر الحليب وإمكانية استعمالهم كبديل عن المنفحات التجارية .

كنتيجة لبحثنا وجدنا أن مستخلص الكاس يمتلك نشاط تخثري و النتائج كانت في درجة حرارة 55° مئوية و درجة حموضة 5.5 أما بخصوص الساق, البذرة والكاس فقدره التخثر كانت موجودة و لكن ضعيفة مقارنة مع الوردة و اللب للنبتة. و ان وقت التليد اكد تجاويه مع الحليب, اظهر العامل المخثر تجاوبا اكثر مع حليب النعجة, ايضا الخصائص الفيزيوكيميائية بينت ان الجبن و مصال الحليب تختلف اختلافا معتبرا على حسب نوع الحليب. الكلمات المفاتيح : حليب, تخثر, جبن , *Cynara Carduculus* بديلات الانزيم المخثرة, الكاس , السبلات, الساق , البذرة.

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'étudier la distribution du système enzymatique dans le chardon sauvage *Cynara cardunculus* et caractérisation des extraits obtenus en vue de les utiliser comme succédané de la présure.

Les résultats montrent que l'activité se retrouve essentiellement dans la fleur, nous avons pu l'enregistrer dans le réceptacle, par contre elle est trop faible au niveau des autres parties.

L'activité est meilleure à 55°C pour la fleur et entre 50°C et 60°C pour le réceptacle, pH 5,5 semble être l'optimum pour cette activité. Cette activité a été maintenue à plus de 80% pendant 1 mois, et à plus de 60% pendant 2 mois.

L'agent coagulant montre une plus grande affinité pour le lait de brebis, avec un rendement plus important par rapport aux laits de vache et brebis, les caractéristiques physico-chimiques des fromages et lactosérums diffèrent considérablement d'un type à l'autre.

Les Mots Clés: Lait, Coagulation, Fromage, *cynara carduculus*, Présure Végétale, Réceptacle, Tige, Bractées, Graines.

Abstract:

The aim of this work is to study the distribution of the enzymatic system in the wild thistle *Cynara cardunculus* and to characterize the extracts obtained to use them as a rennet substitute.

The results show that the activity is essentially in the flower, we could register in the receptacle, wherever it is too weak in the other parts.

The activity is better at 55 ° C for the flower and between 50 ° C and 60 ° C for the receptacle, pH 5.5 seems to be the optimum for this activity. This activity was maintained at more than 80% for 1 month, and more than 60% for 2 months.

The coagulating agent shows a greater affinity for ewe's milk, with a higher yield compared to sheep's milk, the physico-chemical characteristics of cheeses and whey differ considerably from one type to another

Key words: Milk, coagulation, cheese, *Cynara cardunculus*, vegetable rennet, receptacle, tige, bract, grain.



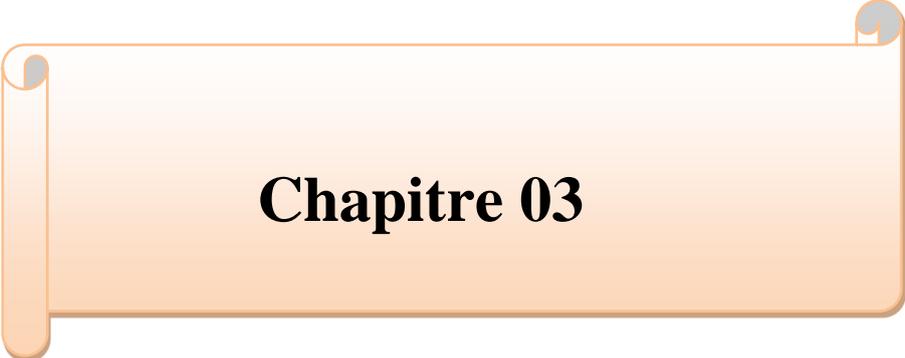
Introduction



Chapitre 01



Chapitre 02



Chapitre 03

A horizontal orange banner with a scroll-like appearance, featuring a vertical strip on the left side and rounded corners. The text is centered within the banner.

Matériel et méthodes

A horizontal orange banner with a scroll-like appearance, featuring a vertical strip on the left side and rounded corners. The text is centered within the banner.

Résultats et discussion



Conclusion