

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/23

MEMOIRE DE FIN DE MASTER

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière :** Science Alimentaire

Spécialité : Technologie Agro-alimentaire et Contrôle de qualité

Présenté par :

NACER-BEY Youcef & DJILANI Amal

Thème

**ELABORATION ET CARACTERISATION D'UN FROMAGE
FRAIS DE VACHE ENRICHI AVEC LA LACTOFERRINE
BOVINE ET COAGULÉ PAR LA FICINE DE *Ficus carica* L.**

Soutenu le : 26/06/2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Lamine Salim</i>	<i>MCA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Moudache Messaad</i>	<i>MCA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mazri Chafiaa</i>	<i>MCA.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>

Année Universitaire : 2022-2023

Remerciement

Nous souhaiterons tout d'abord remercier ; le bon dieu nos donner la vie et le courage pour réaliser ce modeste travail, mon encadrant, pour le thème et de nos aider, avec sa patience, sa bienveillance et ses innombrables corrections, il aurait été difficile pour nous de le mener à bien sans son aide.

Le gérant de la laiterie de la vallée, de nous avoir accordé la chance de réaliser notre sujet au sein de son établissement, et un grand merci à son équipe, qui nous a accueillie chaleureusement, et aidé avec son savoir et savoir-faire.

Et aussi nous remercions tous nos proches de près ou de loin, amis (es) et collègues (es) pour les encouragements et leurs aides.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier Dieu de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier ce modeste travail à chère mère Ourdia et à la mémoire de mon chère père Djemaa, à mes sœurs, sabrina, karima, Louiza, et mes frères, soufyane, nabil et hakim.

À mes meilleurs amis : Nassim, Nacer, Afifi, Fateh et Samir.

Et à tous qui ont nous aides de près ou de loin pour réaliser ce travaille.

Nacer benyoucef



Dédicaces

Je dédie ce travail à mes très chers parents pour leur encouragement et leur soutien et leur amour inconditionnel tout au long de mon parcours académiques

À mes très chères frères : Youness et Mohamed et à mes sœurs : Rachida et Hadjer.

À mes meilleurs amis Razika, Khaira, Inas, Malek, Noura, Nacera.

À la personne spéciale dans ma vie Fares, je le remercie beaucoup pour tout.

À mes chères collègues Kenza, Mouna, Nesrin, Amina, Yasmin Aya Sarah

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit réalisable.

Amal Djilan



Liste des Tableaux

Tableau I : Principaux groupes bactériens du lait.

Tableau II : Composition générale de lait de vache.

Tableau III : Composition en lipides de lait de vache.

Tableau IV : Composition du lactosérum du lait de vache.

Tableau V : Différentes enzymes coagulantes et leur origine.

Tableau VI : Composition moyenne comparée du lait et du fromage selon Eck, A et Gillis.

Tableau VII : Echantillons de fromage fabriqués.

Tableau VIII : Caractéristiques physicochimique et organoleptique de l'extrait enzymatique brut de ficine.

Tableau IX : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.

Tableau X : Résultats du pH des fromages fabriqués.

Tableau XI : Résultats du taux de MG des fromages élaborés.

Tableau XII : Résultats du taux de RD des fromages élaborés.

Tableau XIII : Résultats de flore pathogène recherchée dans les fromages fabriqués.

Tableau XIV : Résultats de flore Mésophiles total dans les fromages fabriqués.

Liste des figures :

Figure 01 : Structure de la lactoferrine bovine, selon Beker EM et BekerHM (2005).

Figure 02 : Modèle d'entrée dans les cellules du coronavirus selon Hosam M et al (2021).

Figure 03 : Schéma technologique d'élaboration de fromage frais enrichi en lactoferrine bovine commerciale.

Figure 04 : Variation du pH des fromages élaborés avec présure FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2) par rapport aux normes ANFOR, (1993).

Figure 05 : Variation de l'acidité des fromages élaborés avec présure FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2).

Figure 06 : Variation de la matière grasse des fromages élaborés avec présure FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2).

Figure 07 : Variation de rendement des fromages élaborés avec présure FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2).

Figure 08 : Variation de l'extrait sec total des fromages élaborés avec la présures FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2).

Figure 09 : Variation d'humidité des fromages élaborés avec présure FP, et féchine à différentes doses de lactoferrine bovine commerciale (FF0, FF1 et FF2).

Figure 10 : Profil de l'analyse sensorielle des quatre types fromage élaborés.

Liste des abréviations :

ACEII : La protéine ACE2 est CLE à la physiologie du COVID-19.

ADN: Acide Desoxyribo Nucleotide.

ARN: Acide Ribo Nucleotide.

CMP : Caséino Macro Peptide.

EST : Extrait Sec Total.

FAO : Food Agricultur Organisation.

FF0 : Fromage coagule par la Ficine, sans lactoferrine.

FF1 : Fromage coagulé par la FicineFicine, avec une dose lactoferrine.

FF2 : Fromage coagulé par la FicineFicine, avec deux doses lactoferrine.

FP : Fromage coagule par la présure.

HLF: Human Lactoferrine.

HSPG: Heparan Sulfate Proteo Glycan.

HRP : Histidine Riche en Protéines.

KDa: Kilo Dalton.

LF: Lactoferrine.

LFB: Lactoferrine Bovine.

LPS: Lipoprotéine Soluble.

mM : mili-Moles.

OGM : Organisme Génétiquement Modifié.

PCK : Para-Caséine-Kappa.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

Table des matières

Liste des abréviations :	7
Introduction :	1
I. Lait	5
I.1 Définition :	5
I.2 Propriétés physicochimique de lait de vache :	5
I.2.1 Densité :	5
I.2.2 pH :	5
I.2.3 Acidité titrée ou acidité dornique :	5
I.2.4 Point d'ébullition:	6
I.2.5 Point de congélation :	6
I.2.6 Viscosité :	6
I.2.7 Conductivité électrique :	6
I.2.8 Extrait sec total (EST) :	7
I.3 Caractéristiques microbiologiques du lait :	7
I.4. La composition du lait	9
(Jean-Christophe,2021)	10
I.4.1 L'eau :	10
I.4.2. Glucides :	11
I.4.3. Matière grasse :	11
I.4.4 Minéraux :	12
I.4.5 Les vitamines :	12
I.4.6. Protéines :	13
I.4.6.1 Protéines Solubles (Caséine) :	13
I.4.6.2 Protéines insolubles dans le lactosérum (protéines) :	13
II. La lactoferrine.....	17
II.1. Structure de lactoferrine selon Beker et Beker :	17
II.2. Localisation de lactoferrine dans le corps :	18
II.3. Réactions chimiques observées dans la lactoferrine :	18
II.4. La production de lactoferrine commercial :	19

II.5. Utilisation médicale :.....	19
II.5.1 Développement et la fonction gastro-intestinale et immunitaire :.....	20
II.5.2 Moduler la réponse inflammatoire.....	20
II.5.3 Activité anti-inflammatoire :	20
II.5.4 Activité antioxydant :	20
II.5.5 Régulation de l'absorption du fer :.....	21
II.5.6 Régulation de la croissance osseuse :	21
II.5.7 anticancéreux :	21
II.5.8 Activité antimicrobienne :	21
H.5.8.1 Activités antibactériennes :.....	22
H.5.8.2 Activités antifongiques, antiparasitaires et prions :.....	22
II.5.8.3 Activité antivirale :	22
II.5.9 Traitements préventifs contre la Covid-19 :	22
III. Les enzymes de coagulation.....	26
III.1. Généralité :	26
III.2. La ficine :	28
III.2.1 Utilisation de ficine :	29
III.2.2 Caractéristiques du fromage caillé coagulé par la ficine :.....	29
III.2.3 Effet du pH, de la température et de la concentration du substrat sur l'activité enzymatique de la ficine :.....	29
III.2.4 Mécanisme d'action de Ficine :	30
IV. Fromage	32
IV.1. Définition :	32
IV.2. Composition :.....	32
IV.3. Grandes familles de fromages :.....	33
IV.3.1 Fromage frais :	34
IV.3.2 Fromages à pâte molle à croûte fleurie :	34
IV.3.3 Pâtes molles à croûte lavée :	34
IV.3.4. Pâtes molles à croûte naturelle :.....	34
IV.3.5 Fromages à pâte pressée et cuite :	34
IV.3.6 Fromages à pâte persillée :.....	35
IV.3.7 Fromage fondu :	35
IV.4. Principales étapes du procédé de fabrication :.....	35
IV.4.1. La maturation du lait :	35

IV.4.2 Coagulation du lait :	35
IV.4.2.1 Coagulation acide (coagulation lactique).....	36
IV.4.2.2 Coagulation enzymatique.....	36
IV.4.3 Égouttage :	36
IV.4.4. Pré pressage :.....	36
IV.4.5 Salage :.....	36
IV.4.6 Pressage :.....	37
IV.4.7 Affinage :	37
V. Matériels et méthodes.....	39
V.1. Matières premières utilisées :	39
V.2. Extraction et caractérisation de la ficine	40
V.4. Fabrication de fromage frais enrichi par lactoferrine coagulée par la ficine.....	41
V.6. Analyses physiques, chimiques, microbiologiques et sensorielles	43
V.6.1 Analyses physico-chimiques	43
V.6.2 Analyses microbiologiques	45
V.6.3 Analyse sensorielle du fromage.....	47
VI- Résultats et discussion	50
VI.1. Caractéristiques physicochimiques de l'extrait enzymatique	50
VI.2. Caractérisation physico-chimique des fromages frais	51
VI.3. Résultats de l'analyse sensorielle du fromage fabriqué.....	59
Conclusion.....	63
Références bibliographiques :	66
Annexe	73

Introduction

Introduction :

Le lait en Algérie est un aliment complet, largement consommé par toutes les catégories de la population avec un total de 5,5 milliards de litres par année, soit 140 l/année/habitant. Cette quantité dépasse les normes internationales fixées par la FAO [11].

Parmi les produits laitiers obtenus de la transformation du lait, on retrouve le fromage qui représente ces dernières années un aliment de base du régime alimentaire algérien, surtout pour les enfants. Cependant, le marché de l'industrie fromagère en Algérie n'est pas diversifié ; les deux fromages distingués représentent ; de 100 000 tonnes par an, avec 80 000 à 90 000 tonnes/an pour le fromage fondu et 7 000 à 8 000 tonnes/an du fromage pâte molle de type camembert [18].

Tous les fromages industriels algériens sont élaborés avec la chymosine comme enzyme de coagulation. Il est à signaler que le savoir-faire ancestral algérien a connu l'élaboration du fromage artisanal à base d'enzymes végétales, dont la ficine, enzyme extraite de latex, est la plus connue. Durant ces dernières années, des recherches et des essais ont été lancés dans le but d'extraire, de caractériser et d'utiliser cette enzyme pour profiter de ses avantages tel que le remplacement de l'enzyme de coagulation utilisée dans les industries fromagères [60 ; 61].

Le rejet de lactosérum issu de cette industrie est une des préoccupations des autorités du pays et a fait l'objet de nombreuses recherches pour valoriser ses constituants, comme la fabrication de milieux de cultures [65], suppléments d'alimentation humaine et animale [66], et d'autres applications diverses de ses constituants des fins thérapeutiques [30 ; 31 ; 32]. Dans ce contexte, l'objet de notre travail est axé sur l'élaboration d'un fromage frais fonctionnel, coagulé par l'extrait brut de la ficine de figuier ficus carica, enrichi par la lactoferrine bovine selon le procédé de fabrication mis en place suivi d'une caractérisation de ses propriétés physicochimiques, microbiologiques et sensorielles.

Le travail présenté dans ce mémoire s'élabore autour de deux parties :

La première partie concerne, la partie bibliographique qui comporte quatre chapitres, dont la première, grâce à une étude d'état d'art à donner un aperçu sur le lait, composition et ses propriétés physicochimiques et microbiologiques, le deuxième traite la lactoferrine bovine ainsi que leurs effets thérapeutiques sur l'organisme et le troisième chapitre, parle de la

Introduction

nature et la structure de la ficine et le quatrième chapitre aborde des généralités sur les fromages, classification et les étapes de fabrication.

La seconde partie concerne la partie expérimentale, vise à mettre en évidence le procédé d'élaboration d'un fromage frais enrichi avec la lactoferrine bovine commerciale et coagulé avec la ficine de figuier comme nouveau produit à titre d'aliment fonctionnel, tout en déterminant ses caractéristiques : physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles.

Partie théorique

Le lait

I. Lait

I.1 Définition :

Le lait est un liquide blanc opaque avec une saveur légèrement sucrée constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires, de la femme et celles des mammifères femelles, pour nourrir les jeunes. Le lait cru est un lait qui n'a pas subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente est le jour suivant le jour de la traite. Avant de le consommer, le lait cru doit être porté à l'ébullition car il contient des germes pathogènes [1].

Le lait est la sécrétion mammaire normale des animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur [2].

I.2 Propriétés physicochimique de lait de vache :

I.2.1 Densité :

La densité spécifique du lait de vache est comprise entre 1,029 et 1,039 à 15°C. Elle diminue avec l'augmentation de la teneur en matières grasses et augmente avec l'augmentation de la quantité de protéines, de sucre et de sels dans le lait. Ainsi, le lait écrémé a une densité plus élevée que le lait entier.

I.2.2 pH :

Le pH du lait de vache frais se situe entre 6,5 et 6,75 [3]. Même une petite différence de pH vers l'acidité a des implications majeures pour l'équilibre des minéraux (formes solubles et insolubles) et pour la stabilité de la suspension colloïdale de caséine. Les éléments constitutifs du lait sont nombreux et forment un mélange physique et chimique [4].

I.2.3 Acidité titrée ou acidité dornique :

L'acidité titrable du lait frais exprimée en degré dornique (degré D°) est de 16 à 18 degré dornique (degré D°, 1 degré D° = 0,1 g d'acide lactique / litre de lait). L'acidité du titrage augmente du fait de l'hydrolyse du lactose en acide lactique [8]. Deux laits peuvent avoir le

même pH mais des acidités titrables différents et inversement. Autrement dit, il n'y a pas de véritable relation d'équivalence entre le pH et l'acidité titrable [9].

I.2.4 Point d'ébullition:

Les composants du lait dans la vraie solution sont principalement responsables de l'élévation du point d'ébullition au-dessus de 100 degrés Celsius. A pression atmosphérique normale, le point d'ébullition de l'eau est de 100°C et le point d'ébullition du lait est de 100,17°C. Quant au point de congélation, il est fonction du nombre de molécules dans la solution, il augmente donc avec la concentration du lait et diminue avec la pression [6].

I.2.5 Point de congélation :

Le point de congélation du lait est l'une de ses propriétés physiques les plus stables. Sa valeur moyenne, si l'on considère la production individuelle des vaches, varie entre -0,54 °C et -0,55 °C [7].

I.2.6 Viscosité :

La viscosité du lait est une propriété complexe, et est notamment affectée par les facteurs suivants : particules colloïdales émulsionnées et solutés, teneur en matière grasse et en caséine. L'influence la plus importante sur la viscosité du lait qui dépend également des paramètres technologiques et reste une caractéristique importante de la qualité du lait car il existe une forte relation entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité de consommateur [10]

I.2.7 Conductivité électrique :

La conductivité est l'équivalent de la résistance d'une solution au courant électrique. L'unité de mesure est le millisiemens par centimètre. La concentration d'anions et de cations dans le lait, principalement Na⁺, K⁺ et Cl⁻ détermine la conductivité.

La conductivité du lait d'une vache en bonne santé à 38 °C varie généralement entre 5,5 et 6,5 mL/cm [4].

Lors d'une infection intra mammaire, les concentrations de Na^+ et de Cl^- , augmentent tandis que les concentrations de K^+ et de lactose diminuent ; Cela entraîne une augmentation de la conductivité de lait.

L'infection dans le sein n'est pas la seule cause d'altération de la composition ionique du lait. Cette dernière peut également varier en fonction de la température et de la composition du lait, du stade de lactation, de l'intervalle entre les traites, etc.

I.2.8 Extrait sec total (EST) :

L'extrait sec ou matière sèche du lait précise tous ses composants sauf l'eau. Il est augmenté par des procédés de poudrage, d'édulcoration de lait ou par concentration par séchage

I.3 Caractéristiques microbiologiques du lait :

En raison de sa composition physico- chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait, on constate que le lait contient une flore indigène et une flore contaminée. Tableau N° I, récapitulant les principaux groupes bactériens du lait.

Tableau I : Principaux groupes bactériens du lait.

Groupe bactériennes		Caractères
Bactéries «Gram +»	1-Bactéries lactiques	Activité Biologiques : fermentation de lactose
	2- <i>Microcoques</i>	Flore banale de contamination du lait –Activité enzymatique réduite
	3- <i>Staphylocoques</i>	* Anaérobies facultatifs, lactose fermentatif Exemple : <i>Staphylococcus aureus</i> * Développement dans le lait à 15 °C pendant plusieurs heures
	4- <i>Bacillaceae</i>	* mésophile, inactivé à 45°C * Absentes dans le lait crus et les produits laitiers qui n'ont pas été chauffés. *Responsables des altérations des laits insuffisamment stérilisés.
-Bactéries « Gram-»	1- <i>Entérobactéries.</i>	* coliformes, fermentation du lactose * Sa présence est liée à la pollution fécale. * Moins abondant dans le lait que dans les autres grammes (- * Ces espèces sont résistantes aux antibiotiques, se développant à des températures très différentes.
	2- <i>Achromobactériacéae</i>	* Ne fermentent pas les sucres. * Ces micro-organismes constituent l'essentiel de la flore psychoflore
	3- Différentes bactéries.	les plus importants de <i>Pseudomonas</i> transportés par l'eau non potable et les <i>Brucella</i> pathogènes.

(Alais, 1984)

I.4. La composition du lait

Le tableau II, représente les principaux composants du lait de vache, l'eau représente le composant principal du lait avec une moyenne de 87,5 %, suivi des glucides, principalement du lactose avec un poids de 4,7 %, et sa matière grasse représente une moyenne de 3,8 %, caractérisé par un pourcentage élevé d'acides gras à chaîne courte par rapport aux graisses alimentaires. En revanche, il est plus riche en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés [3], elles fournissent également des quantités notables de cholestérol et de vitamine A en plus de petites quantités de vitamines D et E ; Le lait est une source importante de matières azotées, en moyenne 3,3%, qui sont des protéines de lactosérum, de la caséine sous forme micellaire, des substances azotées non protéiques, de très haute qualité, riches en acides aminés essentiels, notamment en lysine qui est l'acide aminé par excellence pour la croissance [13]. On peut séparer ces différents éléments par la force centrifuge, puis obtenir :

- Une substance globulaire, sous forme de crème, qui se sépare du lait écrémé blanc, par force centrifuge à quelques milliers de "g" ou par repos prolongé à température modérée. De la crème on l'obtient en agitant (barattage) et en séparant le beurre et le "caillé". La caséine est obtenue par ultracentrifugation à 35 000 g de lait écrémé, sous une forme micellaire structurée, pouvant également contenir des sels de calcium. En augmentant la force centrifuge, l'albumine peut être séparée de la globuline de lactosérum. Par conséquent, le lait est constitué d'une suspension de substances protéiques sous forme de micellaire dans le lactosérum, qui retient le lactose, les sels et même d'autres éléments tels que les leucocytes (108/L), les gaz dissous, les vitamines et les enzymes [5].

Tableau II: Composition générale du lait de vache.

L'apport des constituants	Discrétion général	Composition moyenne [g / 100g]
Eau	Phase liquide, solvant	87,5 (85,5-89,5)
Solides non gras	Lactose, protéines, minéraux	8,9 (7,9-10,0)
Matières grasses	Microgouttelettes de matière grasse entourées d'une membrane	3,8 (2,5-5,5)
Glucides	Essentiellement de lactose	4,7 (3,6-5,5)
Matières azotées	Micelles de caséine en suspension	3,3 (2,9-5,0)
	protéines de lactosérum en solution	
	Azote non protéique : urée, créatine, etc.	
Matières salines	Calcium, potassium, phosphore, acide citrique, etc	0,8 (0,7-0,9)
Divers	Vitamines : A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, etc..	Traces
	Enzymes : lactoperoxydase, plasmine, lipase, etc.	
	Gaz dissous : gaz carbonique, azote et oxygène	

(Jean-Christophe,2021)

I.4.1 L'eau :

L'eau est le principal composant du lait avec plus de 80% (Tableau II). La présence d'un dipôle et d'un doublet d'électrons libres, lui donne confère un caractère polaire qui leur permet de former une véritable solution avec des substances polaires telles que les glucides et les minéraux et une solution colloïdale avec des protéines de lactosérum. Les lipides ayant un caractère non polaire (ou hydrophobe), ils ne pourront pas se dissoudre et formeront une émulsion de type huile dans eau (H/E). Il en est de même pour les micelles de caséine (insolubles) qui vont former une suspension colloïdale.

Une partie de l'eau est liée aux protéines, au lactose et aux minéraux. Par exemple, les micelles de caséine lient environ 3,7 grammes d'eau par gramme de protéine. Cette eau liée

n'est pas disponible comme solvant. Enfin, notez que l'activité de l'eau (A_w) du lait est d'environ 0,993 [14].

I.4.2. Glucides :

Les glucides sont le composant le plus important après l'eau en termes de quantité. Environ 38%, de la matière sèche [15]. Presque tous les glucides du lait de vache sont constitués de lactose [16], et le lactose est le principal composé solide du lait. D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose [14].

I.4.3. Matière grasse :

Dans le lait, la matière grasse se présente sous la forme d'une émulsion de type « huile dans eau » dans laquelle chaque gouttelette (GLOBULLE) de matière grasse est dispersée dans le sérum. Ces petits globules ont un diamètre moyen de 3 à 4 μm , le plus petit mesurant 0,1 μm et le plus gros 20 μm (1 μm = 0,001 μm). Leur nombre par millilitre de lait entier hétérogène est estimé à trois à quatre milliards. Ces globules sont principalement constitués de graisses simples (ou neutres), dont la plupart sont des triglycérides. Les matières grasses complexes (ou polaires) représentent environ 1 % de la matière grasse totale du lait : enfin, la fraction non saponifiable, constituée en grande partie de cholestérol et de vitamines liposolubles (bêta-carotène), constitue moins de 1 % de la matière grasse totale du lait [14]. . Le tableau III présente les principales matières grasses du lait de vache.

Tableau III: Composition grasse du lait de vache.

Composition	Lait de vache (%)
Triglycéride	98
Glycérides partielles	0.5
Cholestérol	0.3
Phospholipides	0.9
Acides gras libres	0.4

(Chilliard et al, 1984)

I.4.4 Minéraux :

Le lait est une source très riche en minéraux, d'où son importance dans l'alimentation humaine, notamment pour apporter du calcium. Le lait de vache contient des minéraux, dont les deux tiers sont présents sous forme colloïdale, qui ont peu d'effet sur la pression osmotique. La liste des sels présents dans le lait est longue : calcium, phosphore, sodium, potassium, chlorure, magnésium, zinc, fer et sélénium [19].

I.4.5 Les vitamines :

Toutes les vitamines connues sont présentes dans le lait et certaines de celles-ci, notamment la riboflavine et la vitamine B12, s'y trouvent en quantité appréciable. Facteur nécessaire à la rétention du calcium et du phosphore dans le corps. La vitamine D, présente dans le lait en plus forte concentration en été, sa composition dépend de l'exposition des animaux au soleil.

Selon leur solubilité, on distingue deux classes de vitamines : les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles.

Les vitamines liposolubles (A, D, E, K), comme leur nom l'indique, sont liées à la matière grasse du lait, tandis que *les vitamines hydrosolubles (vitamines B et vitamine C)*, quant à elles, sont fixées dans des micelles de caséine. Ou dispersés dans le sérum. Ainsi, lorsque le lait est écrémé, les vitamines liposolubles sont séparées avec la crème. Par

conséquent, le lait écrémé est exempt. En revanche, ils seront plus concentrés dans des produits comme la crème et le beurre. C'est pourquoi les laits liquides écrémés et partiellement écrémés sont supplémentés en vitamines A et D [14].

I.4.6. Protéines :

Les protéines du lait sont classées en deux catégories selon leur solubilité et leur stabilité. Dans le lait, la caséine est insoluble et liée entre elles sous forme de micelles dans une suspension colloïdale. Ils ont la particularité de précipiter sous l'influence de la présure ou lors de l'acidification au point isoélectrique (pH 4,6). De plus, les protéines sériques sont présentes dans une solution colloïdale et précipitent sous l'action de la chaleur [14].

I.4.6.1 Protéines Solubles (Caséine) :

Dans le lait, la caséine représente environ 80 % des protéines et est souvent (90 % à 95 %) liée entre elles par diverses interactions sous la forme d'une structure globulaire appelée micelle.

Les quatre principales protéines qui composent les micelles sont les caséines α_1 , α_2 , β et κ . Elles représentent respectivement 38%, 10%, 36% et 13% de la caséine totale. En quantité, le lait contient respectivement 13, 10 et 3 g/L d' α , β et κ de caséine. Il y a aussi une petite quantité de χ caséine

Elle se forme après l'hydrolyse de quelques molécules de bêta-caséine par la plasmine (protéase naturelle du lait) [14].

I.4.6.2 Protéines insolubles dans le lactosérum (protéines) :

En général, en ce qui concerne le lactosérum, anciennement appelé "petit lait", il s'agit d'un produit courant de la fabrication du fromage et de la préparation des caséinates. Il est constitué de la phase aqueuse du lait contenant tous les composants solubles du lait. Cette phase aqueuse contient donc de petites molécules comme le lactose, des vitamines hydrosolubles, des nucléotides, des acides aminés libres et des sels minéraux ainsi que des protéines sériques. Le lactosérum peut être obtenu par deux procédés permettant la séparation de la caséine : la coagulation acide ou le procédé enzymatique qui fonctionne grâce à la présure ou à la chymosine [22].

La composition du lactosérum bovin est détaillée dans le tableau 4.

Le lactose est le composant principal du lactosérum à une concentration de 50 g/L. Les autres protéines présentes dans le lactosérum sont : l' α -lactalbumine, la β -lactoglobuline, l'albumine sérique, la lactoferrine, la lactoperoxydase, les immunoglobulines, les macropeptides de caséine et les protéoses peptonées [22].

Tableau IV: Composition du lactosérum bovin.

Composition du lactosérum		g / litre	% de protéines totales	PM (Da)	Le nombre d'acides aminés
Lactose		50	/	/	/
β-lactoglobuline		2.7-3	40	18400	162
α-lactalbumine		1.2	17.72	14200	123
Serum-albumine		0.25	3.7	69000	609
lactoferrine		0.10	1.47	88000	689
Lactoperoxydase		0.07	1.03	78000	612
Immunoglobulines		0.65	9.60	160-960000	
Caséino-macropéptides		1.20-1.50	17.72	8000	64
Protéose peptone		0.60	8.86		
Protéose peptone	PP5			14200	105
	PP8-1			9900	79
	PP8-r			4000	28

(Jouan, 2002)

Le lait contient une variété de peptides et de protéines sains qui ont été étudiés depuis plusieurs décennies maintenant, La lactoferrine est l'une des plus bénéfiques de ces protéines.

La lactoferrine

II. La lactoferrine

La lactoferrine bovine (LFB) est une protéine naturellement présente dans le lait de vache. Glycoprotéine liant le fer, d'environ 77 kDa, constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 690 acides aminés. Le LFB est isolé du lait écrémé par un procédé d'échange d'ions, suivi de plusieurs étapes d'ultrafiltration. Le produit ainsi obtenu est séché et tamisé afin d'éliminer les grosses particules [20].

II.1. Structure de lactoferrine selon Beker et Beker :

La lactoferrine a été extraite pour la première fois du lait de vache en 1939, puis du lait maternel en 1960. La lactoferrine est une protéine inorganique liée au fer. Il fait partie de la famille des protéines de transferrine avec les inhibiteurs de la transferrine, de la mélanotransferrine et de l'anhydrase carbonique.

Structurellement, la lactoferrine est une glycoprotéine de 80 kDa, composée d'environ 690 résidus d'acides aminés. La molécule se compose de deux lobes reliés par un peptide qui forme une structure en hélice alpha comme le montre la figure 01. Chacun des deux lobes de la lactoferrine se divise en deux et s'associe à un ion Fe^{3+} (N1, N2, C1 et C2) [21].

De plus, il a trois isoformes différentes ; ce sont la lactoferrine- α , la lactoferrine- β et la lactoferrine- γ . Alors que la lactoferrine- α agit comme un agent liant le fer mais n'a pas d'activité ribonucléase, la lactoferrine- β et la lactoferrine- γ ont des activités ribonucléase mais sont incapables de se lier aux ions fer [36].

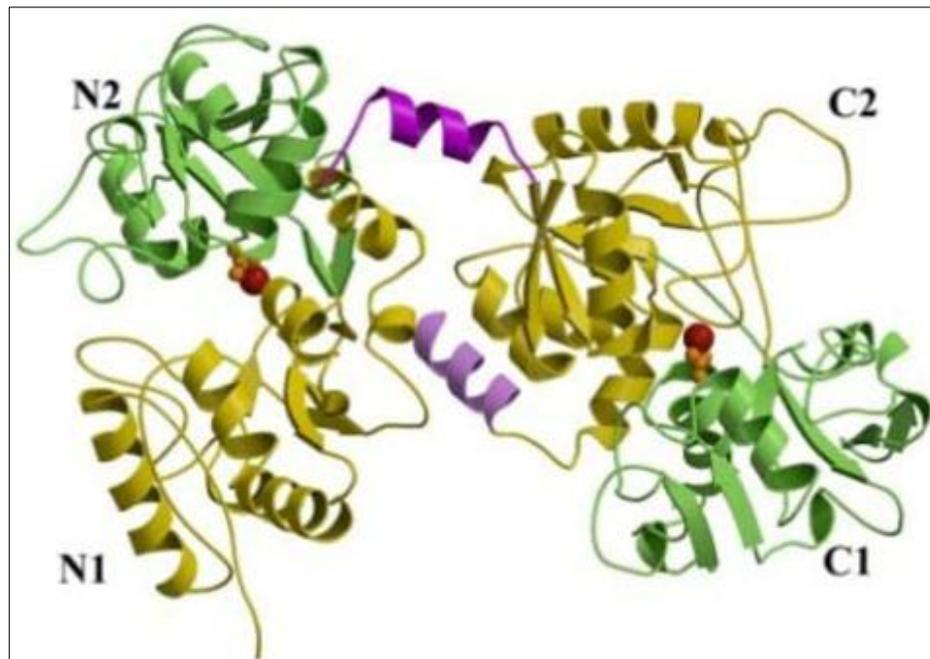


Figure 1: Structure de lactoferrine selon (Beker et Beker, 2005) [23].

II.2. Localisation de lactoferrine dans le corps :

La lactoferrine se trouve en grande partie dans le lait maternel. La concentration de lactoferrine dans le lait dépend du stade de lactation. Ainsi, il a été montré que le colostrum peut contenir jusqu'à sept fois plus de lactoferrine que le lait mature [25]. Les cellules du corps humain peuvent produire de la lactoferrine, de sorte qu'on en trouve dans des nombreux Organes et cellules du corps, comme les voies respiratoires, la salive, les larmes, les intestins, l'urine, le sperme, le pancréas, la bile, la prostate, les sécrétions bronchiques, les sécrétions vaginales, le sang du cordon ombilical, le plasma sanguin et les cellules du système immunitaire [26]. La lactoferrine est présente partout là où le corps a besoin d'une protection rapide et efficace contre les menaces de l'extérieur.

II.3. Réactions chimiques observées dans la lactoferrine :

D'un point de vue chimique, la lactoferrine peut chélater de manière réversible deux ions Fe^{3+} par molécule. Cette interaction est rendue possible par la forte affinité entre la lactoferrine et les ions fer. Elle peut retenir le fer à pH 3, alors que d'autres protéines de la famille des transferrines ont une affinité moindre (libération de fer à pH 5,5) [22]. La lactoferrine peut se lier à d'autres ions métalliques (cuivre, zinc, manganèse) mais avec une affinité moindre [22].

II.4. La production de lactoferrine commercial :

La production de lactoferrine comprend une extraction et une purification contrôlée avec précision, des protéines des matières premières telles que le lait écrémé, le lactosérum de fromage ou le lactosérum « natif », qui est le lactosérum produit directement à partir du lait écrémé, par filtration membranaire. La molécule de lactoferrine est sensible à la chaleur et son activité est considérablement réduite si elle est dénaturée, de sorte qu'une pasteurisation attentive de la matière première est essentielle. Celle-ci est effectuée en combinaison avec le traitement du lait en utilisant des séparateurs d'élimination de bactéries (BRS) ou la microfiltration.

La lactoferrine est ensuite extraite et purifiée en utilisant une combinaison de chromatographie échangeuse d'ions et de filtration sur membrane. Après cela, la lactoferrine purifiée et concentrée et séchée sous la forme d'une poudre par lyophilisation ou séchage par atomisation délicat [24].

II.5. Utilisation médicale :

La lactoferrine, une protéine multifonctionnelle. Les multiples rôles de la lactoferrine sont classés comme suit : rôles antimicrobiens, gastro-intestinaux et immun modulateurs, anti tumoraux, dans l'absorption du fer et la croissance osseuse.

II.5.1 Développement et la fonction gastro-intestinale et immunitaire :

La période postnatale précoce est une période critique pour le développement gastro-intestinal (GI) et immunitaire. Les nouveau-nés nourris au lait maternel ont un développement gastro-intestinal et immunitaire plus rapide que les nourrissons nourris au lait maternisé. De plus, les données cliniques et épidémiologiques fournissent des preuves solides que l'allaitement réduit l'incidence et/ou la gravité des maladies infectieuses. La lactoferrine est une glycoprotéine liant le fer et est présente à des concentrations plus élevées dans le lait maternel que dans le lait de vache et les préparations pour nourrissons. C'est une protéine multifonctionnelle qui intervient dans de nombreux processus physiologiques dans lesquels les nourrissons allaités ont des avantages par rapport à leurs pairs nourris au lait maternisé, notamment la promotion du développement gastro-intestinal et immunitaire, la protection contre les infections et l'amélioration du développement cognitif [28].

Le développement du microbiote intestinal est un élément essentiel du développement intestinal et immunitaire et il est influencé par l'alimentation [29]. Des essais ont été réalisés par *Oda et al* ont démontré l'augmentation des bifidobactéries chez les nourrissons nourris avec des préparations contenant 1 g de LFB/L pendant 14 jours. Ce qui explique les effets bifidogène de lactoferrine [28].

II.5.2 Moduler la réponse inflammatoire

La LFB est un puissant modulateur de la réponse inflammatoire, protégeant l'organisme des attaques des pathogènes mais jouant également un rôle majeur dans les maladies inflammatoires [31].

II.5.3 Activité anti-inflammatoire :

En interagissant avec le LPS et plusieurs récepteurs à la surface des cellules épithéliales et des cellules immunitaires, la LFB régule la production de cytokines et le recrutement des cellules immunitaires au site de l'inflammation et protège ainsi du choc septique [31].

II.5.4 Activité antioxydant :

Sa principale fonction biologique est de piéger les radicaux libres et de protéger l'organisme du stress oxydatif [33]. La lactoferrine agit comme un puissant antioxydant local

qui protège les cellules immunitaires des radicaux libres générés lors de la réponse inflammatoire. Récemment, une étude clinique dans un groupe de 90 patients atteints d'hépatite C chronique, a montré que les sujets qui prenaient de la lactoferrine présentaient une amélioration du statut oxydant hépatique [34].

II.5.5 Régulation de l'absorption du fer :

La lactoferrine est essentielle en raison de son étonnante capacité à se lier au fer. Le fer est utilisé par de nombreux agents pathogènes et tumeurs pour la croissance. En se liant au fer, la lactoferrine les prive de cette ressource tout en facilitant l'absorption intestinale de ce minéral [35].

II.5.6 Régulation de la croissance osseuse :

Le remodelage osseux est le résultat d'une collaboration étroite et délicate entre les ostéoclastes, qui détruisent le tissu osseux, et les ostéoblastes, qui le reconstruisent. LFB stimule la prolifération des ostéoblastes in vitro en favorisant la croissance osseuse. Elle limite également la résorption osseuse en inhibant la formation d'ostéoclastes. Ces résultats sont encourageants, mais le mécanisme d'action reste à élucider. Cependant, la Lf semble jouer un rôle physiologique majeur dans la formation osseuse et pourrait être un agent thérapeutique potentiel dans la lutte contre l'ostéoporose [31].

II.5.7 anticancéreux :

La Lf se situe également au carrefour de la régulation de processus cellulaires cruciaux tels que le cycle cellulaire et la mort cellulaire. En exerçant un rôle de contrôle de la croissance cellulaire, la Lf combat la formation de tumeurs et le développement de métastases, suggérant que cette molécule pourrait jouer un rôle de suppresseur de tumeur. La Lf native et recombinante, les Lfcines (lactoferricine) et la delta-lactoferrine (Δ Lf), l'isoforme intracellulaire de la hLf, ont toutes une activité antitumorale [31].

II.5.8 Activité antimicrobienne :

La Lf est un composant essentiel du système de défense inné de l'hôte et possède un large spectre antimicrobien allant des bactéries gram et gram+, des levures et des champignons à certains virus et protozoaires.

H.5.8.1 Activités antibactériennes :

Le Lf est à la fois bactériostatique et bactéricide, il inhibe la croissance des bactéries en entrant en compétition avec les transporteurs de fer bactériens pour la séquestration du fer libre. Outre cette activité bactéricide, Lf exerce également une activité bactéricide indépendante de sa fonction de chélateur du fer. Par sa capacité à se lier directement aux LPS, aux acides gras (molécules de la paroi bactérienne) ou aux purines, la Lf déstabilise la membrane bactérienne, provoque leur fragilisation et augmente leur perméabilité [31].

H.5.8.2 Activités antifongiques, antiparasitaires et prions :

L'administration orale de LFB a réduit de manière significative la candidose buccale et a atteint une guérison totale chez certains animaux affectés. Cette activité antifongique est liée à la capacité de la Lf à se fixer sur les levures, à déstabiliser leur paroi mais aussi à induire l'apoptose chez ces organismes. L'activité antiparasitaire semble complexe et fait appel aux différentes stratégies posées par la Lf : se lier à la membrane de l'amibe *Entamoeba histolytica* provoquant des dommages importants, inhiber la croissance de *Toxoplasma gondi* dans ses cellules hôtes et interagir avec des récepteurs spécifiques.

LFB peut également réduire l'infectiosité des prions en inhibant l'accumulation de la forme infectieuse dans les cellules infectées [32].

II.5.8.3 Activité antivirale :

La LFB exerce cette activité contre les virus à ADN et à ARN, en particulier les virus de l'hépatite, les virus de l'herpès et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [31].

La lactoferrine est une piste sérieuse dans la recherche de traitements préventifs contre la Covid-19. [37].

II.5.9 Traitements préventifs contre la Covid-19 :

Lactoferrine (Lf), un chélateur de fer naturel, exerce des effets immuno-modulateurs et anti-inflammatoires et peut se lier à plusieurs récepteurs utilisés par les coronavirus, bloquant ainsi leur entrée dans les cellules hôtes. Les chélateurs du fer pourraient donc avoir une valeur thérapeutique élevée contre de COVID-19 [27]. Les chélateurs du fer peuvent avoir un rôle à jouer, non seulement en séquestrant le fer et en soulageant l'inflammation, mais aussi en

empêchant le coronavirus de se lier aux récepteurs qu'il utilise pour pénétrer dans les cellules hôtes [30]. Présent à la surface de *Trichomonas vaginalis* et *Trypanosoma* [31].

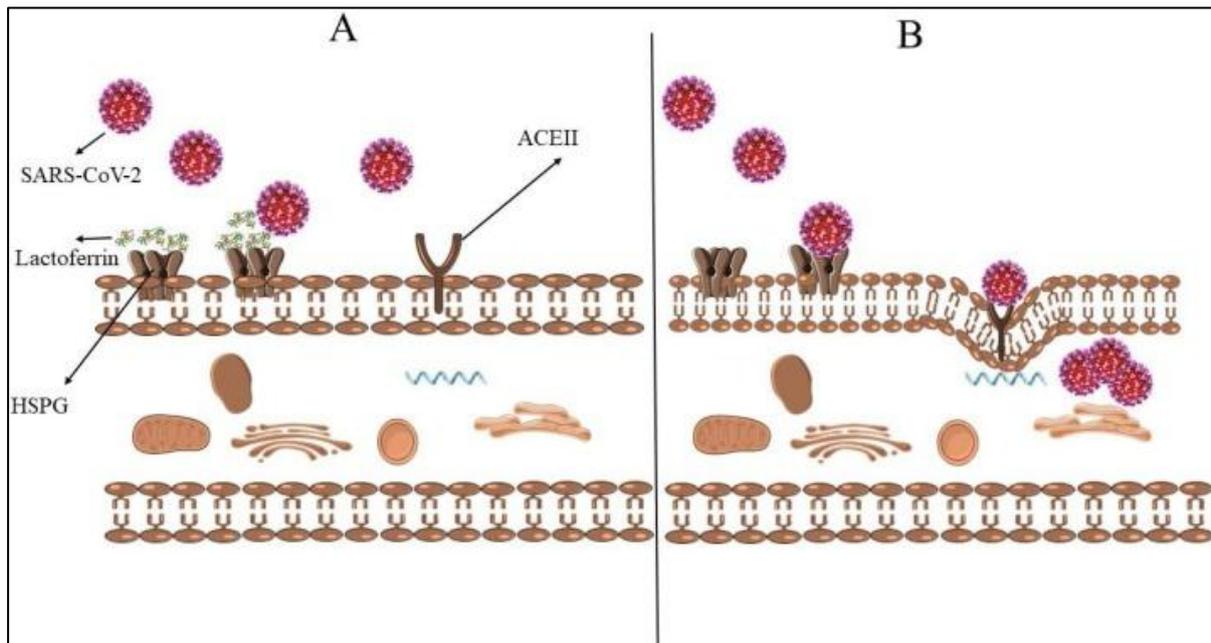


Figure 2: Modèle d'entrer dans les cellules du coronavirus selon (Hosam M et al, 2021) [27].

Un modèle d'entrée dans les cellules du coronavirus et le rôle protecteur de la lactoferrine dans l'infection par le coronavirus.

A : Lf bloque l'infection du coronavirus en se liant aux HSPG. L'expression de la lactoferrine peut être régulée à la hausse lorsque le coronavirus infecte le corps humain. La lactoferrine se localise sur les HSPG de surface cellulaire et empêche l'interaction préliminaire entre le virus et les cellules hôtes et le processus d'internalisation ultérieur.

B : Les HSPG, jouent un rôle important dans le processus de pénétration des cellules de coronavirus. Les sites d'amarrage fournis par les HSPG permettent un premier contact entre le coronavirus et les cellules hôtes et la concentration des particules virales à la surface des cellules. Le coronavirus roule sur la membrane cellulaire en se liant aux HSPG et recherche des récepteurs d'entrée spécifiques (ACEII), ce qui conduit à une entrée cellulaire ultérieure [27].

Les enzymes de coagulation

III. Les enzymes de coagulation

III.1. Généralité :

Dans les années 1970, la crainte d'une pénurie de caillotte qui est à l'origine de l'extraction de la présure, substance coagulante du lait d'origine animale extraite de la caillotte (quatrième estomac) des petits ruminants. Il se compose d'enzymes actives appelées chymosine et pepsine. Des laboratoires de recherche ont réussi à extraire des enzymes de coagulation de champignons (*Mucor Miehei*, *Pusillus mucos*) et/ou de parasites (*Cryptosporidia*). Si ces enzymes coagulantes font cailler le lait, les résultats du fromage sont souvent moyen voire médiocres : diminution du rendement du fromage, amertume du fromage, mauvais affinage, etc... Et ne permettent donc pas de obtenir des fromages de qualité similaire à ceux obtenus par la présure, C'est en utilisant la présure traditionnelle qui est bonne, même si des améliorations ont été apportées à ces enzymes au cours des dernières décennies.

Dans les années 1990, pour des raisons économiques et financières, et toujours en cas de risque de déficience de la caillotte (souvent spéculatif), une nouvelle génération d'enzymes de coagulation a émergé : les chymosines fermentaires génétiquement modifiées. Pour ce faire, une molécule de chymosine issue de la caillotte d'un jeune veau a été clonée dans une bactérie. Ces bactéries transgéniques ont été multipliées afin d'extraire les protéines chymosines et ainsi se multiplier. Aujourd'hui, ces chymosines sont largement utilisées dans le monde entier pour coaguler le lait. Les producteurs, qui sont des multinationales étrangères, ont obtenu des autorisations internationales que l'utilisation de ces chymosines génétiquement modifiées ne soit pas indiquée sur le fromage. On estime que plus de 40 % de la production de fromage dans le monde est fabriquée avec ce type d'enzyme [41].

Autres types de protéases d'origine végétale, selon *Dimurov et Enisho (1962)* ont étudié un grand nombre de plantes poussant en URSS. Ils ont trouvé environ 100 substances contenant une enzyme de coagulation du lait. La carence de plus en plus importante en présure des ruminants a attiré notre attention sur les possibilités offertes par les enzymes d'origine végétale [40].

Les protéases d'origine végétale qui ont la capacité de cailler le lait se trouvent dans les fruits, les feuilles et même les graines de nombreuses espèces végétales.

Les propriétés coagulantes des extraits de *Ficus carica* (ficine) et de *Caricapapaya* (papaïne) étaient déjà connues dans l'Antiquité. Certains de ces extraits ont été utilisés pour faire coaguler le lait pour fabriquer du fromage [40]. Le tableau N° V, résume les différentes enzymes de coagulation et leur origine. Dans notre étude on va bien s'intéresser à étudier la ficine car la végétation de territoire algérien, est connue par ses abondances en figuiers, dont la production national, occupe le troisième producteur à l'échelle mondial ; se réduit principalement à la région du nord, en particulier la wilaya de Bejaia et Tizi-Ouzou [42].

Tableau V: Les différentes enzymes coagulantes et leur origine.

Coagulant		Enzymes		Remarques	
Animale	Ruminants	Veau	Chymosine + pepsines		Liquide, poudre, caillettes
		Chevreau			Liquide, pâte, caillettes
	Agneau	Liquide, pâte, caillettes			
		Bovin adulte	Pepsines + Chymosine		Liquide
	Monogastriques	Porc	Pepsines	Porcine de poulet	Non autorisées en France
		Poulet			
végétales	Figuier (SOC) Chardon - Artichaut (Sanabel) coques (lait de caille) ananas (tige) etc...		Ficine Bromeline		Fromage Mahon au Portugal Très forte activité protéasique(très forte potentiel a utilisation industrielle)
Microbienne	Moisissures	<i>Mucormiehei</i> <i>Mucorpusillus</i> <i>Cryphonectria</i>	Protéases de mm Protéases de Mp Protéases de Cp	Moisissure thermophile du sol Moisissure mésophile du sol Parasite du châtaignier	
Microbienne (Par clonage)	Moisissures Levures Bactéries	<i>Aspergillusawamoris</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Lactis</i> <i>E.coli K12</i>	Chymosines bovines issues d'OGM	*Chymogen* *Maxiren* *Chymax*	Enzymes obtenues par fermentation de microorganismes modifiés génétiquement

(Anonyme, 2023).

III.2. La ficine :

La ficine est une enzyme végétale qui est extraite du latex du figuier : *Ficus Genius*, *Ficus glabatraou* ou *Ficus carica* [38].

III.2.1 Utilisation de ficine :

Les protéases végétales sont utilisées depuis l'Antiquité. On mentionne que le latex du figuier est utilisé dans la fabrication des fromages et comme antihermitique, dans le secteur de la fermentation, afin d'obtenir de bonnes propriétés colloïdales à basse température, ou dans le domaine pharmaceutique, et la ficine sont également utilisée pour attendrir la viande [39].

III.2.2 Caractéristiques du fromage caillé coagulé par la ficine :

Les scientifiques ont comparé les différences observées lors de l'affinage du cheddar entre les fromages à base de fiine et les fromages à base de présure. Dans la plupart des produits utilisant du ficine, le fromage obtenu avait un goût légèrement amer qui se notait surtout lors de la dernière période d'affinage. Il a également été constaté que la texture du fromage à base de ficine devenait, grumeleuse après 5 semaines d'affinage [40].

III.2.3 Effet du pH, de la température et de la concentration du substrat sur l'activité enzymatique de la ficine :

Le pH et la température affectent l'action des enzymes. En conséquence, il existe un pH et une température optimaux : c'est-à-dire le pH et la température autour desquels l'enzyme fonctionnera le mieux et le plus efficacement. Ce pH optimal, spécifique à chaque enzyme, est généralement autour de 7 pour la plupart des enzymes et la température moyenne est comprise entre 37 et 40°C pour les enzymes humaines. Le pH optimal pour la ficine est de 5,0 à 8,0 et la température optimale est de 45 à 55 ° C [43].

L'activité enzymatique dépend également de la concentration du substrat de réaction. Si le substrat est en quantité très faible ou nulle, l'activité sera négligeable, et elle dépend aussi des autres molécules du milieu. Par exemple, la présence d'inhibiteurs qui peuvent être des molécules dont les structures de substrat sont proches de la réaction. L'enzyme occupe sa place dans le site actif de l'enzyme, de sorte que l'activité peut être fortement réduite. Par contre, certaines molécules sont parfois nécessaires à l'action de l'enzyme, comme les coenzymes et les ions. La concentration optimale de tétraméthylbenzidine pour l'activité relative maximale de la ficine est de 0,80 mM. L'effet de la concentration de H₂O₂ sur

l'activité relative a été testé dans la plage de 0,10 à 5,0 mM. L'activité relative augmente avec l'augmentation de la concentration de H₂O₂ dans la plage de 0,10 à 0,80 mM. Avec une concentration de H₂O₂ supérieure à 0,80 mM, l'activité relative diminue. Des concentrations élevées de H₂O₂ inhibent l'activité de type peroxydase de la ficine et ce comportement est similaire à celui de la HRP30 (protéine riche en histidine) [44].

III.2.4 Mécanisme d'action de Ficine :

La ficine a une large spécificité pour l'hydrolyse des liaisons contenant des acides aminés non chargés, aromatiques et/ou hydrophobes. Le mécanisme d'action de la ficine est similaire à celui de la chymosine. La phase initiale ou enzymatique correspond à l'attaque de l'enzyme sur le composant qui stabilise la micelle, c'est-à-dire que l'enzyme hydrolyse la caséine κ se situe au niveau de la liaison Phe105-Met106, donc la chaîne peptidique est clivée en deux parties inégales : le fragment 1-105 est la Para-Caseine-Kappa ou PCK et le fragment 106-169, la caséino-Macro-Peptide ou CMP. La PCK liée à l' α et à la caséine reste intégrée dans la micelle hydrophobe, et la CMP contenant tous les glucides est libérée et passe dans le lactosérum. Lorsque le CMP est libéré, il y a une diminution significative de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation : ainsi deux facteurs de stabilisation sont affectés.

Lors de la phase secondaire appelée agglomération, les micelles déstabilisantes peuvent s'agréger et former des liaisons hydrophobes. Les ions calcium se combinent avec la partie chargée négativement des micelles, réduisant ainsi les répulsions électrostatiques qu'elles subissent et favorisant ainsi leur agrégation [45].

Fromage

IV. Fromage

IV.1. Définition :

Le fromage, selon la norme du Codex Alimentarius, est le produit affiné ou non affiné, avec une consistance molle, semi-dure, dure ou très dure qui peut être enrobé et où le rapport de la protéine de lactosérum et la caséine ne dépasse pas celui du lait. Le fromage est obtenu par coagulation complète ou partielle du lait par l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum produit par cette coagulation. Le caillé est salé et une période de maturation ou d'affinage peut compléter cette production afin d'obtenir la texture et les caractéristiques aromatiques souhaitées.

Le fromage non affiné, y compris le fromage frais, est un fromage prêt à être consommé immédiatement après sa fabrication. Au contraire, le fromage affiné est conservé pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que les changements biochimiques et physiques caractéristiques à la variété de fromage se produisent.

Les matières premières sont ; du lait ou des produits dérivés du lait et les ingrédients sont des cultures de bactéries lactiques, des bactéries productrices d'arômes, d'autres micro-organismes inoffensifs (levures et moisissures), des enzymes appropriées et du chlorure de sodium [14].

IV.2. Composition :

Le fromage est un aliment de base, riche en matières grasses, en protéines, en calcium et en phosphore ; a une longue durée de conservation pour apport le lait ; La composition du fromage frais dépend de la composition du lait d'origine et de la technologie de fabrication utilisée [4 ; 46]. Le tableau VI, résume la composition moyenne du fromage selon Eck et Gillis [47].

Tableau VI: Composition moyenne de 100 gr de fromages.

Constituants		Teneur
Eau	(g)	79.00
Energie	(Kcal)	118.0
Glucides	(g)	4.00
Lipides	(g)	7.50
Protéines	(g)	8.50
Calcium	(mg)	100.0
Phosphore	(mg)	140.0
Magnésium	(mg)	10.00
Potassium	(mg)	130.0
Sodium	(mg)	40.00
Zinc	(mg)	0.50
Vitamine A	(UI)	170.0

(Eck et al, 2006)

IV.3. Grandes familles de fromages :

Différents types de fromages ont des caractéristiques spécifiques liées au mode de caillage, à l'égouttage, à la flore microbienne, qui libèrent des enzymes responsables de la saveur, de la texture et de l'aspect de la pâte, à l'origine du lait et à la subissions ou non à un traitement d'affinage, *J-C Vuilleumard* (2021) [14].

IV.3.1 Fromage frais :

Les fromages frais ne comprennent pas l'étape d'affinage et le caillé est consommé après égouttage, c'est un fromage dans sa forme le plus simple appareil [48 ; 14].

IV.3.2 Fromages à pâte molle à croûte fleurie :

Tous les types de fromages de cette famille ont en commun une croûte blanche recouvrant une pâte molle et onctueuse [50].

IV.3.3 Pâtes molles à croûte lavée :

Les pâtes molles restent en cave pendant une longue période allant d'un à plusieurs mois. Son nom vient des techniques utilisées lors de l'affinage, dans lesquelles les pâtes molles sont lavées avec une croûte lavée et régulièrement nettoyée à l'aide de solutions différentes selon le type de fromage : saumure, eau, et (flore composée de levures et de bactéries dont, par exemple, *Corynebacterium*, y compris *Brevibacterium linze* à l'exclusion de toute moisissure).

Ce traitement permet la sélection de ferments qui se développe à la surface du fromage, et limite le développement de *Geotrichum*. De plus, il favorise la formation d'une peau douce, souple, brillante et fortement parfumée. Ces procédés étaient initialement utilisés pour prolonger la durée de conservation de ces fromages, et cette technique a été développée au moyen âge par plusieurs monastères [51].

IV.3.4. Pâtes molles à croûte naturelle :

La croûte se forme d'elle-même et n'est pas lavée lors de l'affinage. La coquille naturelle est une caractéristique du lait qui contient plus de protéines de lactosérum que de caséine [52].

IV.3.5 Fromages à pâte pressée et cuite :

Une fois le lait coagulé avec de la présure, le caillé est divisé, brassé, puis chauffé à 50-55°C pendant 1-2 heures dans du lactosérum. Cette cuisson favorise la séparation du lactosérum et la production ultérieure de fromages à haute teneur en matière sèche. Les granulés de caillé moulés sont égouttés et pressés pour former des masses cylindriques de 40 à 75 kg en moyenne selon le type de produit. Les meules sont ensuite démoulées, plongées

dans un bain d'eau salée puis stockées une dizaine de jours en cave où elles sont lavées, salées et retournées périodiquement [53].

IV.3.6 Fromages à pâte persillée :

La famille des fromages à pâte persillée comprend des fromages tels que le Stilton, le Gorgonzola, le Roquefort et bien d'autres, qui sont persillés à l'intérieur avec des moisissures bleu-vert, en particulier *Penicillium roqueforti*. Les aiguilles sont utilisées pour percer mécaniquement le caillé, permettant des ouvertures et un apport interne d'oxygène [14].

IV.3.7 Fromage fondu :

Il consiste en un mélange de fromage, de beurre, de crème et de lait pasteurisé (95°C) ou stérilisé (125°C). Appelés aussi fromages fondus, il en existe de nombreux types dont certains sont obtenus après récupération de parties de fromages établis comme le Gruyère qui présentent certains défauts. En fait, il s'agit d'une dissolution suivie d'une dispersion des protéines dans l'eau plus que d'une dissolution qui, au sens physico-chimique du terme, correspond à la dissolution d'une structure cristalline solide par apport d'énergie thermique ou contrainte de pression, sans ajout de levure lactique [54].

IV.4. Principales étapes du procédé de fabrication :

IV.4.1. La maturation du lait :

Lorsque le lait a été conservé plusieurs jours au froid, Il peut être conseillé d'effectuer un affinage à froid avant la fabrication du fromage. La maturation à froid consiste àensemencer du lait cru, refroidi à chaud ou pasteurisé à très faible dose (105 UFC à 106 UFC/ml) et à le maintenir 12 à 18 heures à une température de 10 à 12 C°. Ce processus contribue à restaurer la capacité du lait à coaguler. Les bactéries lactiques ajoutées régulent également le développement de bactéries pathogènes ou indésirables lorsque le lait doit attendre avant d'être transformé [14].

IV.4.2 Coagulation du lait :

Coagulation du lait par voie acide ou enzymatique.

IV.4.2.1 Coagulation acide (coagulation lactique)

La coagulation acide se produit en raison de la fermentation lactique qui convertit le lactose en acide lactique. La production d'acide abaisse le pH du lait de fromagerie, ainsi lorsque le pH atteint le point isoélectrique de la caséine (pH = 4,6), les micelles de caséine précipitent et le lactosérum n'est pas retenu dans le gel [14].

IV.4.2.2 Coagulation enzymatique

Il est obtenu par hydrolyse de la caséine par des enzymes protéolytiques d'origines diverses. Certaines sont d'origine animale comme la présure (composée de 80% de chymosine et 20% de pepsine), d'autres sont d'origine végétale comme la ciprose et la cardiosine (gaillett, figuier et chardon), ou microbienne (*Mucor pusillus*, *d'Endothiaparasitica*) [49].

IV.4.3 Égouttage :

La synérèse est le phénomène par lequel le caillé formé par voie enzymatique ou lactique, se rétracte naturellement et le lactosérum s'expulse automatiquement. L'égouttage est l'étape du processus de fabrication du fromage qui vise à accélérer la synérèse puis à séparer le lactosérum du caillé [14].

IV.4.4. Pré pressage :

Dans le cas de fromages comme le saint-paulin, avant de soutirer complètement le lactosérum, le caillé est regroupé et prépressé afin de permettre une meilleure soudure des grains et d'éviter que le fromage final présente des espaces visibles entre les grains appelés ouvertures mécaniques. Le pré pressage permet d'obtenir un « gâteau » qu'il restera à couper au besoin et à placer dans des moules appropriés.

Dans le cas du cheddar, la soudure des grains est favorisée par une série de retournements et d'empilements des blocs de caillé [14].

IV.4.5 Salage :

Le sel ajouté au fromage améliore la saveur finale, mais complète également l'égouttage sous pression osmotique et ralentit l'acidification du caillé, évitant une déminéralisation excessive de la pâte. Enfin, avec l'acidité et la teneur en eau réduites par

l'égouttage, le sel contrôle le développement des bactéries nocives ou pathogènes et sélectionne le développement des micro-organismes bénéfiques pour la maturation. [14].

IV.4.6 Pressage :

Le pressurage, dernière étape du l'égouttage, permet d'évacuer le lactosérum au sein des granulés et donne au fromage sa forme définitive. Le caillé déposé dans les moules est soumis à une pression de 1,5 à 40 kPa pendant une durée de 2 à 24 heures entre 20 et 30°C. L'acidité augmente légèrement pendant le pressage et favorise le drainage du lactosérum [14].

IV.4.7 Affinage :

Le processus d'affinage du fromage consiste à le conserver dans des cuves spéciales parfois appelées "hâloirs", bien ventilées ou non, dans des conditions de température et d'humidité spécifiées pendant des périodes variables de 2 à 4 semaines pour les pâtes molles et jusqu'à 2 ans pour certains fromages à pâte dure. [49]. Au cours de cette étape, le fromage développe sa texture, sa saveur et son arôme qui varient selon la levure, le pH de la pâte fromagère, la composition du fromage (humidité, protéines, matières grasses et minéraux) et les conditions d'affinage. (Température et humidité relative) [55]. Au cours de cette étape, les levures, moisissures et bactéries se développent, chacune ayant des effets différents sur la transformation du fromage. Ainsi, les levures jouent notamment un rôle dans la protéolyse (dégradation des protéines) et en cas de problème, le fromage peut avoir un goût amer. Les réactions chimiques impliquant la matière grasse affecteront l'arôme et la consistance du fromage (plus les particules de grasse sont petites, plus le fromage est coulant [56].

Partie pratique

V. Matériels et méthodes

- **Objectif**

Le présent travail vise à développer un fromage frais à base de lait de vache, coagulé avec de la ficine, une enzyme extraite du figuier *Ficus carica L.* comme substituant qui a pour but de remplacer les coagulants présents sur le marché actuel et présenter un nouveau fromage typiquement algérien de bonne qualité et qui sera proposé comme start-up à l'échelle industriel.

Ce fromage sera également enrichi par la lactoferrine bovine, Métalo-glycoprotéine connue pour ses vertus thérapeutiques dont l'usage sera étudié sur les plans microbiologique, (plus particulièrement ses effets bénéfiques sur la flore mésophile et utilisée pour l'acidification de notre fromage considéré comme un probiotique utile pour le consommateur), physicochimique et sensoriel.

- **Présentation de la laiterie de la Vallée**

Notre formation pratique a eu lieu à Dairy Valley à Tazmelt. C'est une entreprise familiale créée en 1984 et spécialisée dans la fabrication de lait pasteurisé et de crème glacée, mais aussi dans la fabrication du fromage, et plus particulièrement de camembert même si ce dernier a vu sa production arrêtée depuis 2019 pour cause de pénurie de la matière première.

L'objectif social de cette entreprise est d'alimenter et de satisfaire aux besoins des consommateurs de la willaya de Béjaia mais aussi le marché national. Elle a aussi l'ambition d'exporter ses produits vers l'étranger.

V.1. Matières premières utilisées :

Pour fabriquer nos fromages, nous avons utilisé les matières suivantes : lait de vache, présure, extrait brut de ficine, sel, CaCl_2 et lactoferrine bovine commercial.

- **Le lait de vache** : a été obtenu dans la région d'Aomar gare, willaya de Bouira, conserver à une température de moins de 6 C°, avant son utilisation.
- **Lactoferrine Bioactive** : nous avons utilisé la lactoferrine bovine commerciale sous forme de flacons qui contiennent 60 capsules de 200 mg.

- **La présure** : est d'origine animale, elle a été achetée de la boutique food-mania.
- **CaCl₂** : utilisé pour augmenter la concentration de calcium après les pertes engendrées par le traitement thermique, a été acheté de la boutique food-mania.

V.2. Extraction et caractérisation de la ficine

- **L'extrait brute de la ficine** : extrait par le latex de la figue *Ficus Caerica L*, récolté le mois d'avril 2023, de la région d'Aomar-gare située dans la willaya de Bouira, Algérie.
- **Extrait enzymatique** : le latex est originaire de la propriété de Nacerbey Djemaa, située de la région d'Aomar-Gare dans la willaya de Bouira. Il a été récupéré dans des Eppendorfs et immédiatement conservé à -4 C pour éviter l'oxydation de ses composantes et garder la stabilité de ses molécules. La récolte a été faite le 16 avril sur des figuiers de l'espèce *ficus cartica L*, de type *bifère*.

Le latex par la suite été transféré dans une glacière au laboratoire de la Faculté des sciences naturelles où une centrifugation a été effectuée dans des conditions dont les paramètres sont les suivants :

- Température de moins de 4 C.
- Centrifugation de 3 200 g pendant 15 min.

Le résultat a été un surnageât représentant la gomme ainsi qu'un culot qui représente la ficine brute.

V.3. Caractérisation de la ficine

Trois paramètres ont été évalués pour cet extrait enzymatique : le pH, le rendement et l'extrait sec.

- **pH** : Il est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre électronique qui affiche la valeur sur l'écran, après avoir fait couler l'électrode dans un bécher contenant la solution d'extrait enzymatique.

- **Rendement (R%)** : est le rapport de l'extrait brut ($V_{\text{ext brut}}$) sur le volume du latex de départ (V_0):

$$\mathbf{R\% = (V_{\text{ext brut}} / V_0) * 100}$$

- **Extrait sec** : La teneur en matière sèche est déterminée selon la norme AFNOR NF VO4-207. 1 ml de l'échantillon d'extrait brut est placé dans une boîte de Pétri. Placer 60 minutes dans une étuve à 103°C pour que la masse obtenue soit ferme et sèche. L'échantillon est ensuite séché dans un dessiccateur. Ensuite, le pourcentage de matière sèche est déterminé par le rapport du poids final (P_f) sur le poids initial (P_i) :

$$MS (\%) = (P_f/P_i) * 100$$

V.4. Fabrication de fromage frais enrichi par lactoferrine coagulée par la ficine.

Pour répondre aux objectifs de notre sujet, nous avons récupéré le lait de vache de la même commune à Aomar gare, willaya de Bouira.

Le volume du lait à expérimenter est de 10 litres :

- 7.5 litres de lait ont été coagulés par la ficine.
- 2.5 litres par la présure.

Le tableau suivant représente la répartition des volumes de lait pour élaborer les fromages en question.

Tableau VII: les échantillons de fromage fabriqué.

Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4
Fromage coagulé par la présure	Fromage coagulé par la ficine	Fromage coagulé par la ficine + une dose ¹ de lactoferrine	Fromage coagulé par la ficine+ deux doses de lactoferrine

1 : une dose équivalente de 200 mg de lactoferrine pour 50 g de fromage.

V.5. Schéma technologique de fabrication de fromage frais :

Le schéma suivant représente, les différentes étapes suivies, pour fabriquer les quatre types de fromage voulus.

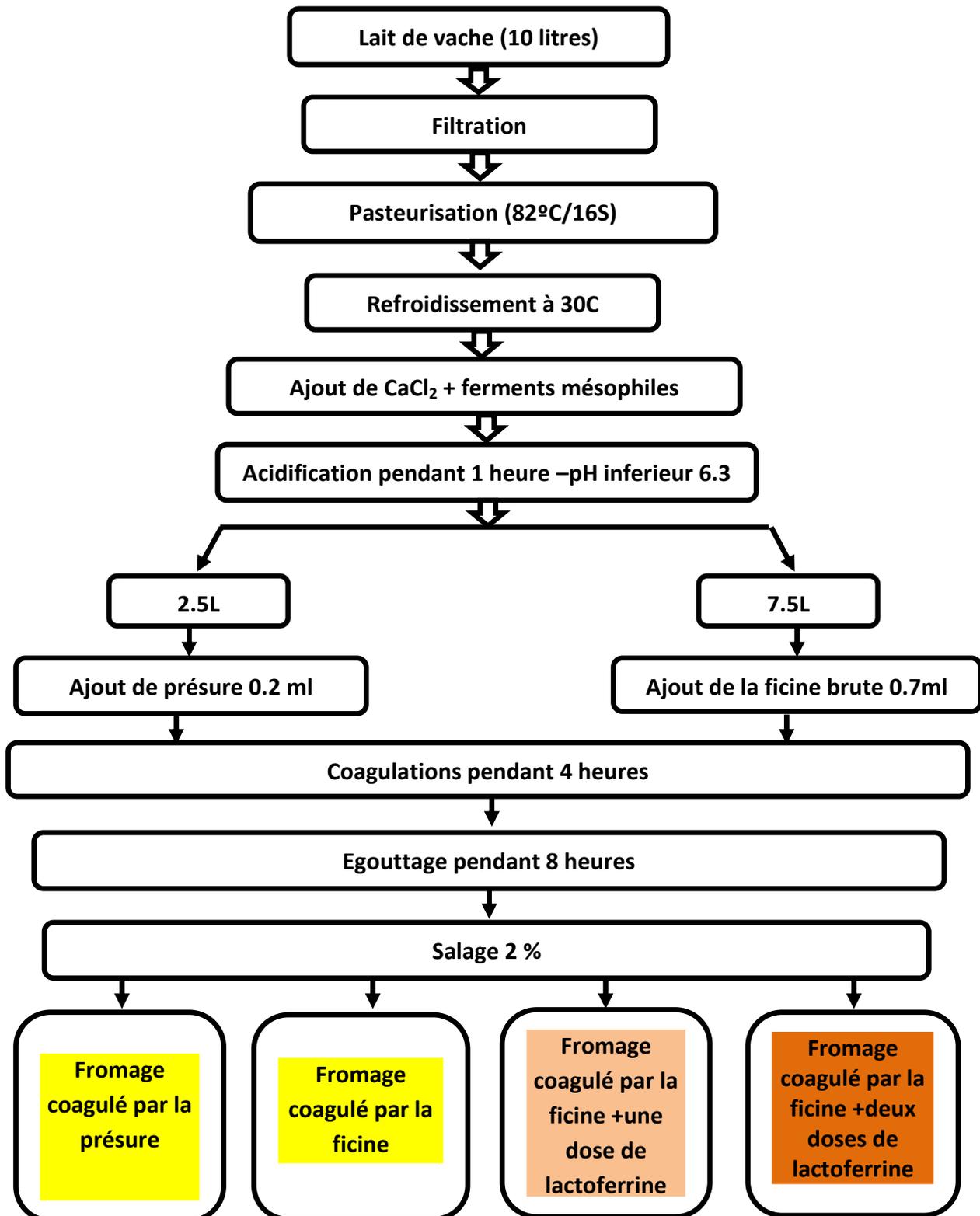


Figure 03 : Schéma technologique d'élaboration de fromage frais enrichi en lactoferrine bovine commerciale

V.6. Analyses physiques, chimiques, microbiologiques et sensorielles

V.6.1 Analyses physico-chimiques

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre électronique qui affiche la valeur sur l'écran, après avoir piqué l'électrode dans un bécher rempli de produit.

Après avoir rincé l'électrode du pH-mètre avec de l'eau distillée, il est recommandé de calibrer l'instrument avec des solutions tampons avant d'utiliser l'instrument.

L'acidité : Elle s'exprime classiquement en degrés DORNIC "°D" : 1°D correspond à 0,1 gramme d'acide lactique par litre de lait. Titrage de l'acidité avec NaOH N/9 en présence de phénolphthaléine comme indicateur. Dans un bécher introduire 10 ml de lait prélevé à la pipette ; Ajouter 3 gouttes de phénolphthaléine dans le bécher et titrer la solution N/9 jusqu'à ce qu'elle vire au rose clair. Le calcul de l'acidité se fait selon la formule suivante :

$$A^{\circ D} = V_{\text{NaOH}} * 10.$$

On considère que le virage est atteint lorsque la couleur rose clair dure une dizaine de secondes. Acidité, exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait.

Détermination des matières grasses : une méthode dite « l'acide butyrométrique », basée sur la dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, à l'exception de la matière grasse du lait, qui se sépare sous l'effet de la centrifugation, dans le beurre, et la séparation est préférée en ajoutant une petite quantité d'isoamyl l'alcool, qui permet la séparation de la phase grasse et aqueuse. La valeur de la teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur l'échelle de butyromètre.

La procédure consiste à suivre ces étapes : A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique, introduire afin que l'acide ne mouille pas le col du bol et n'aspire pas d'air, 10 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄), et 1 mL d'iso -l'alcool amylique est ajouté à l'aide d'un doseur d'alcool, puis, à l'aide de pipettes, ajouter le volume constant de lait (11 ml) et le verser dans le butyromètre, sans mouiller son goulot afin qu'il forme une couche au-dessus de l'acide,

Agitez manuellement le butyromètre, convenablement protégée du risque de casse ou de perte du bouchon, jusqu'à ce que son contenu soit bien mélangé, et jusqu'à ce que les protéines

soient complètement dissoutes, c'est-à-dire jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de particules blanches. Centrifuger pendant 5 minutes, une fois la vitesse souhaitée de 1200 tr/min atteinte, retirer le butyromètre de la centrifugeuse en dirigeant, le bouchon de l'équipement vers le bas dans un bain-marie à $65\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant environ 5 min. Retirez le butyromètre du bain-marie, prenez la lecture de manière à ce que le butyromètre, soit tenu verticalement, l'œil doit être au niveau du point de lecture. La teneur en matières grasses du lait est exprimée en grammes par litre (g/l) de lait et est donnée par la formule suivante :

$$(M'-M) * 10$$

M' : la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne.

M : la valeur atteinte par le niveau le plus bas de la colonne [57]

Rendement fromager : ce paramètre est très important, dans l'industrie fromagère car il permet de calculer les bénéfices de cette industrie mais aussi un indice de la qualité de lait, du coagulant utilisé et le bon déroulement de procès de fabrication.

Il est calculé comme suit :

$$R = M_{\text{FROMAGE}} / M_0 * 100$$

M₀ : Masse initial de la matière premier/

$$M_0 = V_0 * D.$$

Densité : rapport des masses à un volume de lait et au même volume d'eau à 20°C. Cette masse résulte des différentes densités des composants du lait : eau, matières grasses, protéines, sucres, etc. La quantité de ces différents ingrédients n'est pas fixe, la densité du lait est donc variable. Les solides de matière grasse (MG) et les solides non gras (MSD) affectent particulièrement la densité.

Procédure:

Homogénéisation de l'échantillon de lait

Verser dans un tube à essai de 500 ml

- Immerger le densimètre thermo-lactique avec un moment d'essorage

Attendre la stabilité

- lire la valeur de densité est lue sur le bord supérieur en fonction de la température

TSE ou Extrait Sec Total : Cette méthode consiste à évaporer l'eau d'une prise d'essai, afin de déterminer la quantité de matière sèche restant après déshydratation totale. Échantillon de fromage. Mettre dans un plat pétri, bien étaler ; Placer 60 minutes dans une étuve à 103°C pour que la masse obtenue soit ferme et sèche. L'échantillon est ensuite séché dans un dessiccateur. Ensuite, le pourcentage de matière sèche est déterminé par la relation :

$$\text{MS (\%)} = (P/P_i) * 100/p$$

: Masse après séchage, P_i : masse initiale [57].

Détermination de l'humidité :

Le calcul de l'humidité de fromage se fait directement par la teneur en matière sèche avec l'expression suivante [57]

$$\text{H} = 100 - \text{EST}$$

V.6.2 Analyses microbiologiques

L'évaluation de la qualité microbiologique du lait et des produits laitiers est un outil essentiel pour apprécier l'application des règles de bonnes pratiques de fabrication, et le respect des règles générales d'hygiène à la ferme et à l'usine. Il s'agit de démontrer la conformité aux normes du journal officiel. Les germes à rechercher dans le fromage sont : les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, la salmonelle et mésophiles.

• **Préparer la solution mère** : Introduire aseptiquement 25 g de fromage dans un récipient stérile et ajouter de l'eau physiologique (diluant) à 250 mL et homogénéiser cette suspension qui forme alors une dilution mère (DM) qui correspond ainsi à une dilution au 1/10 [57]. Une série de dilutions décimales est réalisée en prenant 1 mL de la solution mère dans 9 mL d'eau physiologique stérile, ce qui constitue une dilution 10^{-2} , puis, après homogénéisation de cette dernière, le même processus est répété pour préparer les dilutions restantes

V.6.2.1- Recherche et dénombrement des coliformes fécaux :

E-coli est tout bacille anaérobie facultatif à Gram négatif, non sporulé, capable de fermenter le lactose en 48 heures, avec formation d'acide et de gaz, à 37°C, *Escherichia coli* est une bactérie typique. En microbiologie alimentaire, les coliformes sont à la fois un indicateur de contamination fécale et de bons marqueurs de la qualité hygiénique générale des aliments [58].

La méthode de référence préconise est l'ensemencement en masse

- A partir de la solution mère, préparer une dilution décimale de 10^{-2} , porter 1 ml aseptiquement, dans des boîtes de Pétri vides préparées à cet effet et les numéroter.

Verser ensuite la gélose désoxycholate liquéfiée en effectuant des mouvements circulaires en 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

Après solidification de la gélose, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 à 48 heures à 44°C pour les coliformes fécaux.

Lire toutes les 24 heures. Les colonies apparaissent collectivement sous forme de petites colonies rouge cerise d'un diamètre de 0,5 mm [57].

V.6.2.2- *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif et à lactase positive qui appartient à la famille des *Staphylococcus*. D'environ 0,5 à 1,5 μm de diamètre, immobiles, sporulée et anaérobies facultatifs (sauf pour *S. aureus anaerobius*) ; Ils sont généralement organisés en grappes. Plusieurs souches produisent des entérotoxines staphylococciques, un syndrome de choc toxique, des toxines super antigéniques et des toxines exfoliatives. *Staphylococcus aureus* fait partie de la flore humaine et se trouve principalement dans le nez et sur la peau [59].

La recherche a été effectuée sur du milieu sélectif de Chapman par étalement en surface de deux boites de 0,1 ml de chaque dilution (10^{-1} et 10^{-2}). L'incubation a lieu à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Elle se détecte par la présence et l'apparition de colonies dorées avec décoloration du milieu.

V.6.2.3- Recherche de Salmonelle

Pré-enrichissement

Insérer 25 mL d'échantillon pour analyse dans 225 mL d'eau peptonée tamponnée qui sera incubée à 37 °C pendant 24 heures

Enrichissement

On transfère 1 ml de la culture obtenue à partir de la solution mère dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif (à place de SFB).

On incube le bouillon nutritif ensemencé à 37 °C pendant 24 h.

Lorsqu'on observe un trouble dans le tube, on fait l'isolement sur la gélose Hecktoen

Isolement

A partir de la culture obtenue dans le bouillon nutritif après 24 h ± 3 h d'incubation, on ensemence avec une anse de platine par des stries sur La surface de la boîte de Pétri contient le milieu d'isolement, la gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD) (JORA N° 44, 2017) [70].

V.6.2.4- Flore mésophiles aérobies total

Le but est de déterminer la charge bactérienne mésophytes dans le fromage après la fabrication ; la méthode consiste à préparer une dilution de 10^{-5} , de la solution mère 10-1, puis ensemencer abondamment à 1 ml, en milieu PCA, puis incuber à 30 °C/72 h [57].

V.6.3 Analyse sensorielle du fromage

L'analyse sensorielle est un ensemble de méthodes de mesure de la perception sensorielle (vision, ouïe, odorat, goût, toucher).

Les paramètres sensoriels choisis pour une caractérisation organoleptique sont le gout, la texture, les arômes et la couleur, qui stimule les organes sensoriels

Nous avons sélectionné 30 personnes intéressées pour participer à la dégustation .Le panel de dégustation était composé de 18 étudiants du master des sciences de la nature et de la vie et de 12 personnes da laiterie de la Vallée.

Des explications comment procéder au remplissage des tableaux ont été données et des mesures pratiques pour une bonne dégustation sont était adoptées.

La dégustation était faite au niveau, des laboratoires de recherche de la faculté de sciences de la nature et de la vie et au niveau de la laiterie la vallée.

Une fiche de dégustation, est conçue et reproduite en annexe.

Les séances de dégustations de nos fromages, afin de comparer 4 types de fromage suivants : fromage frais coagulé par la présure, Fromage frais coagulé à la ficine Fromage frais coagulé à la ficine enrichi de lactoferrine (une dose), et fromage frais coagulé par la ficine enrichi de lactoferrine (deux dose),

Les résultats de cette analyse ont fait objet d'un traitement statistique qui a abouti à une représentation d'un profil sensoriel des 4 fromages

Résultats et discussion

VI- Résultats et discussion

VI.1. Caractéristiques physicochimiques de l'extrait enzymatique

Extraction de ficine brute à partir de latex de *Ficus Cartica* est réalisée Au laboratoire du Collège des sciences naturelles et des sciences de la vie, avec une force centrifuge de 3200 g pendant 15 min.

Le résultat final est composé 2 couches :

- Une couche supérieure, représente la gomme.
- Une couche inférieure qui est l'extrait brute de la ficine.

Le tableau VIII suivant, représente nos résultats physico-chimiques et sensoriels de l'échantillon après analyse.

Tableau VIII: Caractéristiques physicochimique et organoleptique Extrait enzymatique brut de ficine.

Caractéristiques de ficine	Résultats
Rendement (%)	77.0
pH	5,31
Couleur	Brune claire
Extrait sec - ES	16.5%
Texture	Visqueux
Odeur	Prononcé fruitière

Dans le tableau VIII, nous représentons les résultats de la caractérisation de ficine utilisée pour la coagulation de notre fromage, qui a fait objet de cette étude. L'extrait brut était de 14.5 ml pour un volume total de 19 ml, ce qui donne approximativement 77% de rendement, avec un pH légèrement acide de l'ordre de 5.31, De couleur brun clair, d'un aspect visqueux et une odeur forte, prononcée fruitière.

La disponibilité de ce produit reste faible vu le mode d'extraction artisanal qui nécessite la cueillette des fruits et égoutter le latex goutte par goutte dans des Eppendorf.

On remarque que le rendement est légèrement supérieur aux résultats obtenus par *Betraoui I et Sellam N (2022)*, cela est dû aux différences climatiques entre les régions de

collection du latex, ainsi que les caractéristiques du sol qui peuvent influencer la composition du latex.

Pour les autres caractéristiques tel que : extrait sec, pH, couleur, texture et arôme, et ces résultats sont confirmés par les découvertes de *Nouani D et al* (2009) et *Betraoui I et Sellam N* (2022) [68, 61].

1- Propriétés physiques et chimiques du lait cru de vache

De par, les paramètres, physico-chimiques du lait de vache, utilisé dans l'élaboration de nos fromages, et après leur comparaison avec les normes AFNOR, (1986) [62]; nous constatons que ce lait est de bonne qualité, grâce notamment à sa fraîcheur, sa densité et surtout son extrait sec total qui est de 12%. Ce dernier paramètre, est très important dans les industries laitières et fromagères car il permet d'espérer un bon rendement fromager.

Le tableau suivant, résume les paramètres physico-chimiques étudiés

Tableau IX: Caractéristiques physicochimiques du lait de vache.

Paramètres physicochimique	Valeurs	Normes
pH	6,8	6,50-6,80
Acidité (D°)	16.5	15-18
Densité	1030,05	1028-1033
Matière grasse (g/l)	31.1	28-40
Extrait sec total (g/l)	120.0	115-130

VI.2. Caractérisation physico-chimique des fromages frais

- **PH**

D'après les résultats obtenus, qui sont représentés dans le tableau X, ci-dessous, on peut constater que les valeurs de pH sont proches de la norme (légèrement supérieures) à celle-ci. Cela peut s'expliquer par la lente acidification du milieu initialementensemencé par les mésophyles dans le lait pasteurisé à 30 °C ; cette température est légèrement supérieure a la température optimale de profération de ces derniers.

Tableau X: Résultats des pH obtenus pour chacun des fromages fabriqués.

Paramètre	E1-FP	E2 2-FF0	E3 -FF1	E4-FF2	Normes [62]
pH	5,36	5,75	5,66	5,6	4,35-4,55

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

Les valeurs pH obtenues pour les échantillons 2, 3 et 4 sont proches et légèrement différents de celui de l'échantillon 1.

Les paramètres qui peuvent influencer le pH sont : la quantité des ferments ajoutés au départ, la température, le temps d'acidification et l'absence ou présence d'agents inhibiteurs de croissance microbienne.

Dans notre cas, l'extrait brut de la ficine renferme des enzymes coagulantes mais aussi des agents inhibiteurs de croissance. Ceux-là ont fait augmenter légèrement le pH des fromages fabriqués par la ficine.

Nos résultats sont proches des résultats obtenus par *Betraoui I et Sellam N (2022) [61]*.

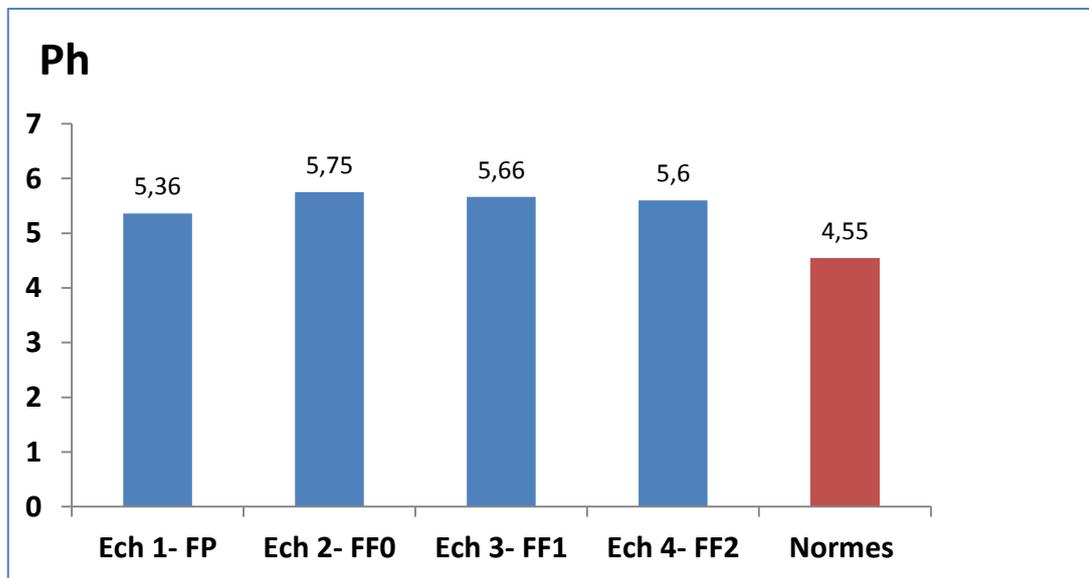


Figure 3: Variation du pH des fromages élaborés avec présure FP, et ficine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2) ANFOR, (1993) [62].

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- **Acidité**

L'acidité du lait est un indicateur de sa qualité au moment de la livraison car elle permet d'évaluer la quantité d'acide produite par les bactéries. D'après les résultats obtenus sur l'acidité des fromages élaborés, nous observons que l'échantillon à base de présure sans lactoferrine est plus acide par rapport à ce coagulées avec la ficine de figuier et enrichi avec différentes concentration de lactoferrine, et que ces derniers ont une Acidité qui augmente avec l'augmentation de la dose de lactoferrine (figure N° : 4).

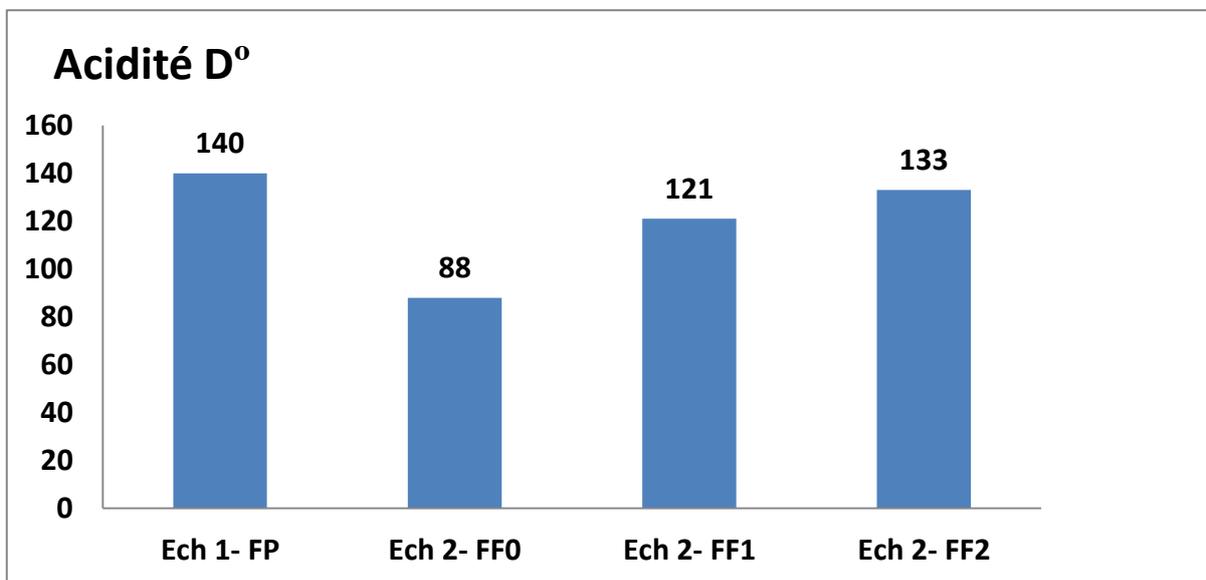


Figure 4: Variation de l'acidité des fromages élaborés avec présure FP, et ficine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2).

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- **La matière grasse**

D'après nos résultats concernant le pourcentage de matière grasse, on constate qu'ils sont identiques et respectent la norme ($\leq 20\%$).

Le tableau suivant représente le taux de MG des fromages fabriqués.

Tableau XI : Résultats du taux de MG des fromages fabriqués.

Paramètre	Ech 1- FP	Ech 2-FF0	Ech 3-FF1	Ech 4- FF2	Normes
MG%	9,78	10,1	10,2	10,25	≤20

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

Nos résultats respectent la norme et sont inférieurs aux résultats obtenu par, *HamerLain et Zoubiri, (2018)* et *Betraoui I et SellamN (2022)* [60 ; 61]. Cela est dû à la teneur initiale en matière grasse du lait utilisé dans la fabrication du fromage et qui est en rapport avec la qualité de la nourriture fournie aux vaches laitières.

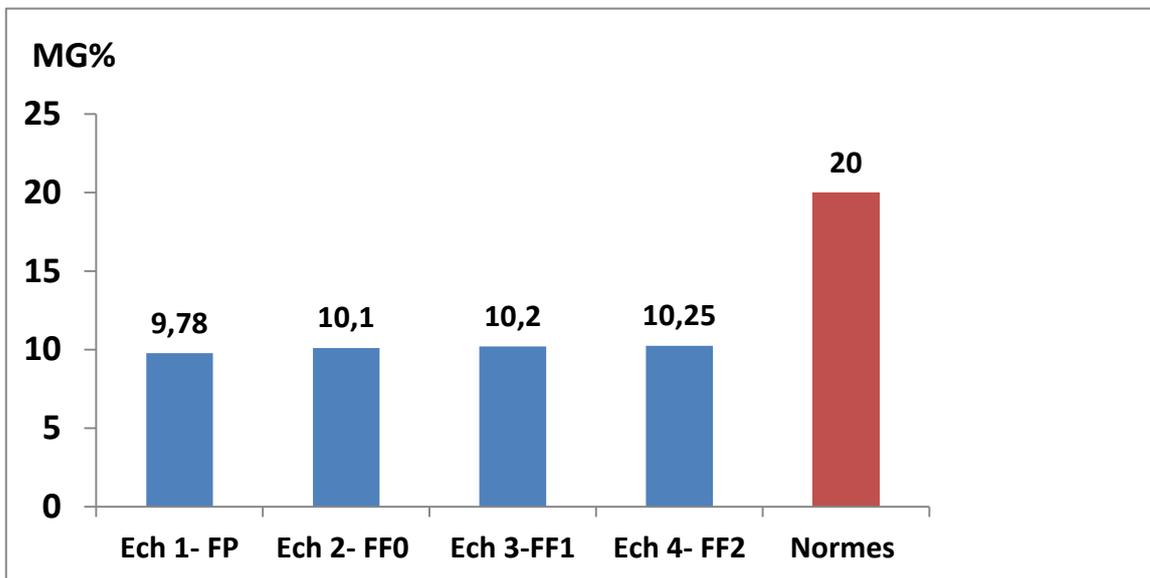


Figure 5: Variation de matière grasse des fromages élaborés avec présure FP, et ficine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2).

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- **Le rendement fromager**

Le rendement de transformation du lait en produits laitiers est d'un grand intérêt dans l'industrie fromagère, car il reflète globalement comment s'effectue la répartition quantitative des composants du lait lors le processus de fabrication, en fonction du type de coagulant et principalement l'étape de l'égouttage.

Tableau XII: Résultats du taux de rendement des fromages fabriqués.

PRODUIT FINI	VOLUME DU LAIT L	POID DU FROMAGE gr	RENDEMENT %
Ech 1- FP	2,5	480	19,2
Ech 2- FF0	7,2	425	17
Ech 3-FF1		427	17,08
Ech 4- FF2		429	17,16

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

On remarque que les rendements des 3 fromages fabriqués par l'extrait brut de la ficine (échantillons 2, 3 et 4) sont identiques et inférieurs à celui du fromage fabriqué par la présure (échantillon 1). Cette différence de rendement est due au facteur coagulant ficine" qui possède une forte activité protéolytique entraînant une perte de masse de peptides réducteurs dans le lactosérum ainsi qu'à l'égouttage facilité par le fromage fabriqué avec de la ficine.

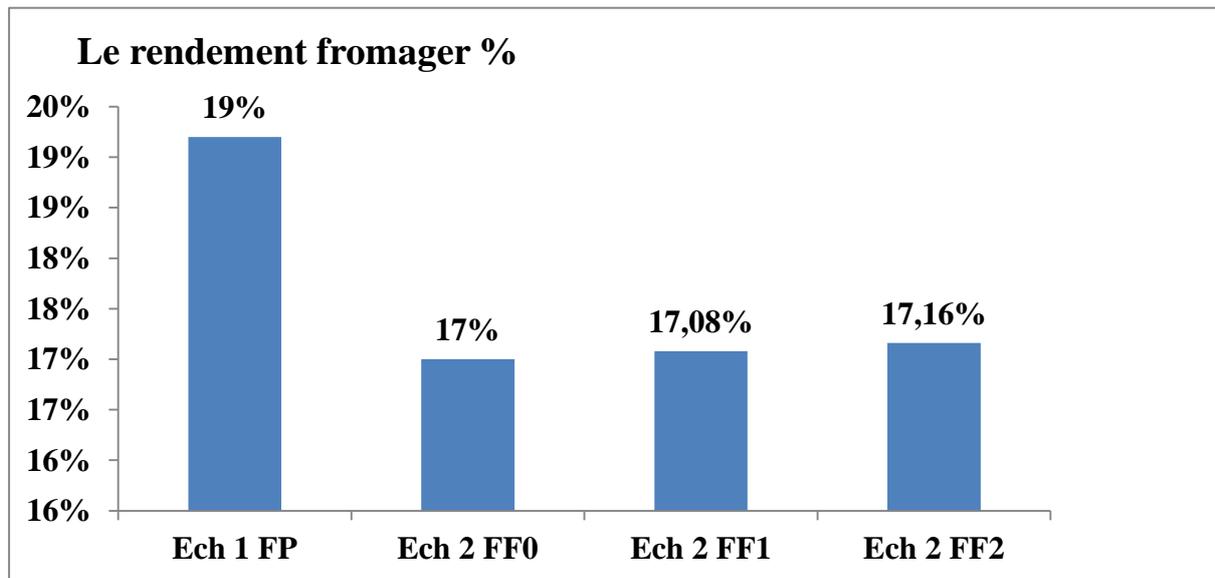


Figure 6: variation de rendement des fromages élaborés avec présure FP, et ficine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2).

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- **L'extrait sec total**

La figure suivante représente la variation de l'extrait sec total des 4 types de fromages fabriqués et qui sont respectivement de 26.30%, 30.20%, 30.45% et 31%.

Selon le JORA N° 37 du 31 mai 2022, la teneur minimale en matière sèche est de 10 g pour 100 g de fromage blanc et de fromage frais [64]. Nos fromages respectent donc la norme indiquée en haut. On remarque également qu'il y a une différence entre le fromage fabriqué par la ficine et celui fabriqué par la présure. Cette différence est due principalement au type de caillé et la force de coagulation exercée par ces deux enzymes; Nous notons qu'il est fort pour la vicine par rapport à la présure, ce qui rend le processus de drainage plus rapide et plus facile. D'autre part, on remarque une légère augmentation de l'extrait sec de l'échantillon 4 par rapport à l'échantillon 3, et l'échantillon 3 par rapport à l'échantillon 2. Cela se traduit par l'ajout de lactoferrine en poudre pour l'échantillon 3 avec une dose et de deux doses pour l'échantillon 4.

Nos résultats sont proches aux résultats de travaux réalisés par *Betraoui et Sellam* (2022) [61].

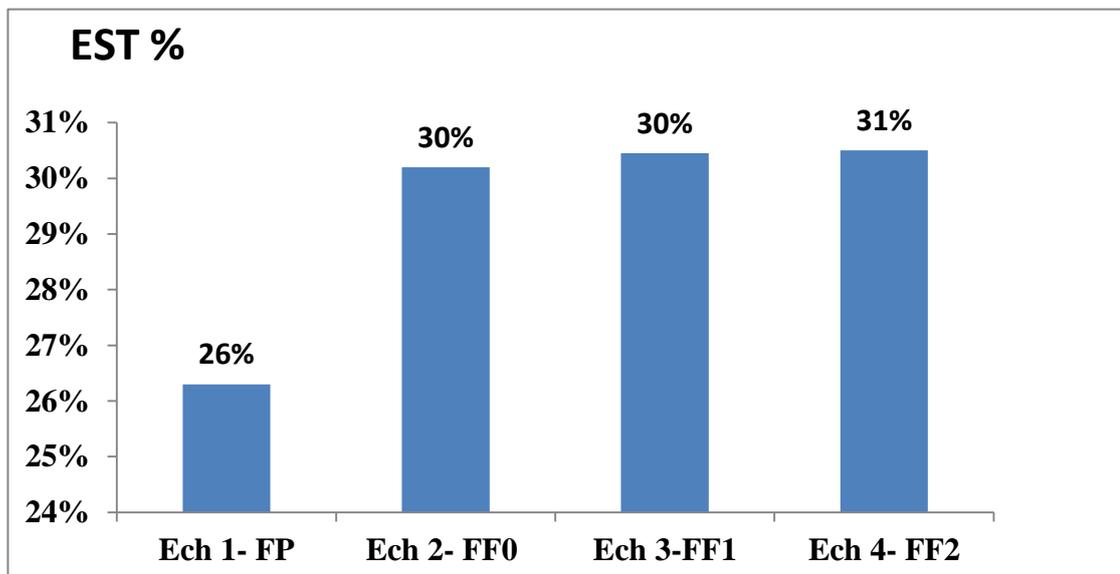


Figure 7: variation de l'extrait sec total des fromages élaborés avec présure FP, et ficine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2)

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- **Humidité**

Les fromages se différencient selon leur type de pâte, et certains types de fromages présentent un taux d'humidité important. Pour la pâte fraîche elle est supérieure à 60% [63].

Selon JORA, N° 37, DE 31 mai 2022, les mentions suivantes doivent afficher sur les produits si l'humidité dépasse un certain pourcentage.

- « **Contient plus de 82% d'humidité** » Lorsque la teneur en matière sèche du produit est inférieure à 18 g pour 100 g et non inférieure à 15 g pour 100 g de produit fini.
- « **Contient plus de 85% d'humidité** »- Lorsque la teneur en matière sèche du produit est inférieure à 15 grammes pour 100 grammes et non inférieure à 10 grammes pour 100 grammes du produit final [64].
- En termes d'humidité et selon ces définitions citées en haut, nos fromages respectent les normes et la définition d'un fromage frais.

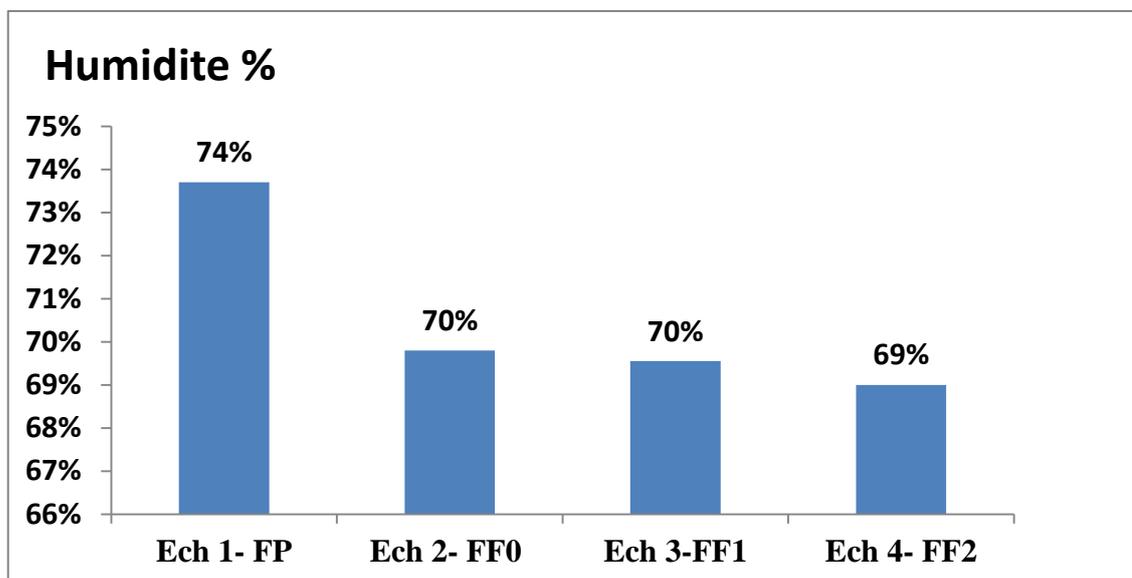


Figure 8: variation de l'humidité des fromages élaborés avec présure FP, et fécine à différentes doses de lactoferrine bovine commercial (FF0, FF1 et FF2)

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la fécine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la fécine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la fécine avec deux dose de la lactoferrine.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus pour, évaluer la qualité hygiénique de 4 types de fromages fabriqués.

Tableau XIII: Résultats de flore pathogène recherchée dans les fromages fabriqués.

Produits analysée	Microorganismes recherchés	Limites microbiologiques UFC /ml	Résultats
Echantillon 1- FP	Coliforme	10^{-2}	0
	Staph aureus	10^{-2}	0
	Salmonelle	10^{-2}	0
Echantillon 2-FF0	Coliforme	10^{-2}	0
	Staph aureus	10^{-2}	0
	Salmonelle	10^{-2}	0
Echantillon 3- FF1	Coliforme	10^{-2}	0
	Staph aureus	10^{-2}	0
	Salmonelle	10^{-2}	0
Echantillon 4- FF2	Coliforme	10^{-2}	0
	Staph aureus	10^{-2}	0
	Salmonelle	10^{-2}	0

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

- Selon le JORA, 3 types de pathogènes sont indispensables pour évaluer la qualité sanitaire ; Nous avons observé l'absence totale de bactéries coliformes, Staphylococcus aureus et Salmonella. Cela est dû au respect total des bonnes pratiques d'hygiène dans le circuit de la ferme au laboratoire, ainsi qu'au respect des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication par les fabricants
- **Flores mésophiles Aérobie Totale**

La flore mésophile totale représente les ferments qui ont été ajoutés dans le lait pasteurisé dans le but d'acidifier les milieux et d'obtenir ainsi un fromage d'une texture pâteuse.

Tableau XIV: Résultats de flore Mésophiles total dans les fromages fabriqués

Produits analysée	Microorganismes recherchées	Résultats UFC/ 10⁻⁵
Echantillon 1- FP	mésophiles	6400/ 10 ⁻⁵
Echantillon 2- FF0	mésophiles	3700/ 10 ⁻⁵
Echantillon 3- FF1	mésophiles	4500/ 10 ⁻⁵
Echantillon 4- FF2	mésophiles	5500/ 10 ⁻⁵

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2 2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3 -FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

On remarque après 48h de fabrication de fromage, que le nombre des mésophiles en UFC pour 1 gr de fromage fabriqué est plus faible dans le fromage fabriqué par la ficine. Cela est dû aux effets ralentisseurs de certains composés de l'extrait sec de la ficine.

D'autre part, on remarque que le nombre des mésophiles augment en présence de la lactoferrine dans nos fromages fabriqués. Oda et al ont démontré l'augmentation des bifidobactéries chez les nourrissons nourris avec des préparations contenant 1 g de bLF/L pendant 14 jours. Ce qui explique les effets bifidogènes de la lactoferrine [28]

VI.3. Résultats de l'analyse sensorielle du fromage fabriqué

Pour déterminer les différences pouvant exister entre les fromages à présure, à ficine, à base de ficine enrichie d'une dose de lactoferrine et les fromages coagulés à la ficine enrichie de deux doses de lactoferrine, nous avons réalisé une série d'analyses sensorielles basées sur l'évaluation de paramètres (couleur, arôme, goût et texture). Ces derniers sont notés sur une échelle de 0 à 10 par un jury composé de 30 dégustateurs qui ont remplis des fiches de dégustation (Annexe 04).

La figure suivante représente le profil organoleptique des 4 types de fromages fabriqués. On remarque qu'il y a une différence remarquable entre le fromage fabriqué par la ficine et la présure, enrichi ou sans lactoferrine, les différences se situent comme suite ;

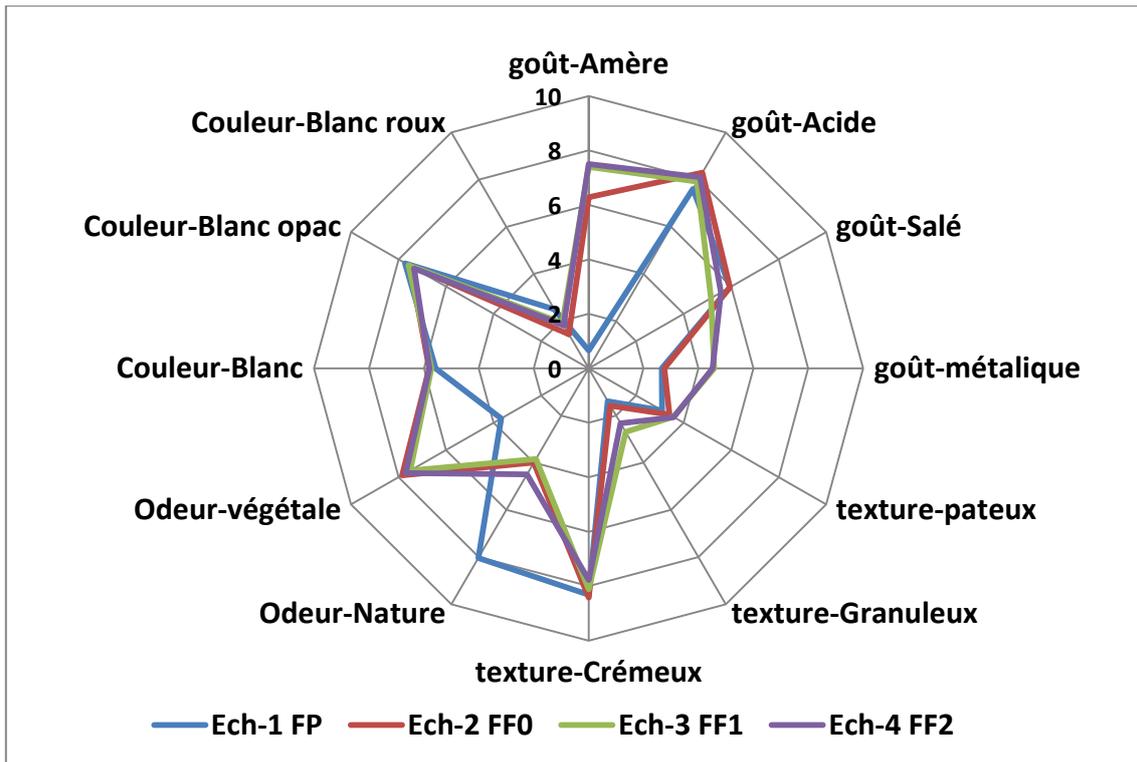


Figure 9: Les paramètres de profil sensorielle des fromages élaborés et enrichi avec de lactoferrine fabriqués

E1-FP: fromages élaborés avec présure E2-FF0: fromages élaborés avec la ficine sans lactoferrine E3-FF1: fromages élaborés avec la ficine avec une dose de la lactoferrine E4-FF2: fromages élaborés avec la ficine avec deux dose de la lactoferrine.

• **Au niveau du goût,** le fromage fabriqué par la ficine est très agréable. Il est moyennement salé et acide avec une amertume moyenne et un arrière-goût typique. Le fromage fabriqué par la présure est moyennement salé et acide sans aucune amertume.

Le fromage enrichi de lactoferrine il a un gout légèrement ferrique, par contre les fromages sans lactoferrine aucune perception de gout métallique.

• **Au niveau de texture :** le fromage fabriqué par la ficine est légèrement granuleux par rapport au fromage fabriqué par la présure. Cela est dû à la force de coagulation forte de la ficine par rapport à la présure. Les 4 types de fromage sont légèrement pâteux et plus crémeux.

• **Au niveau de l'odeur :** le fromage fabriqué par la ficine est submergé par l'odeur végétale qui est senti très forte et agréable par la plupart des dégustateurs. tandis que le fromage fabriqué par la présure est d'odeur nature.

• **Au niveau couleur :** aucune différence remarquable, même pour le fromage enrichi en lactoferrine.

Ces résultats sont similaires aux résultats obtenus par *Betraoui et Sellam* (2022) [61].

Conclusion

Conclusion

Cette étude nous a permis de contribuer à des travaux de recherche préexistants dans le domaine de la fabrication du fromage, approfondissant l'idée de pouvoir trouver de nouvelles sources potentielles d'alternatives à la présure et de développer un nouveau produit utilisant la bioprotéine lactoferrine et lactosérum bovin pour valorisation .

Ce travail vise à caractériser le facteur de coagulation, extrait du latex du figuier *Ficus carica L.* et à tester la possibilité de l'utiliser dans la fabrication de fromage frais enrichi en lactoferrine bovine commerciale. Notre procédure se compose de deux phases. Tout d'abord, la récupération des matières premières contenant le système enzymatique requis, l'extraction et la caractérisation de la ficine. Dans un second temps, des essais de production industrielle de fromage frais sont réalisés à la laiterie "Lavalle" en remplaçant l'agent utilisé dans l'industrie (présure microbienne) par de l'extrait de ficine, suivant le même schéma de fabrication. Regardez aussi l'effet de l'enrichissement des fromages en lactoferrine bovine sur la qualité physico-chimique, microbiologique et sensorielle des fromages, par rapport au témoin obtenu avec la présure commerciale. L'extraction est réalisée par centrifugation (3200g pendant 15 min à 4°C) et les caractéristiques d'extrait de la ficine sont les suivantes : pH de 5.31 qui représente un milieu acide, un rendement de 77%, de couleur brun clair, il a un aspect visqueux et une odeur forte, prononcée fruitière.

Nous avons réalisé ce travail qui visait aussi, d'élaborer un fromage frais fonctionnel, coagulé par l'extrait brut de la ficine. Les résultats encourageants et l'abondance de cette dernière dans notre région, en font des arguments sérieux pour faire d'elle une enzyme candidate pour remplacer la présure.

L'autre finalité de ce travail est d'utiliser l'un des composés de lactosérum dans nos expériences et qui est la lactoferrine (acteur principal de ce sujet) en vue d'encourager sa production et profiter de ses bienfaits divers.

Pour cela, dans le premier lieu, nous avons cherché à rassembler nos besoins en produits nécessaires. Nous avons acheté la lactoferrine de l'extérieur du pays du fait de son indisponibilité localement. Nous avons par la suite fait la récolte et l'extraction de la ficine brute de *ficus cartica*.

Conclusion

En seconde lieu, nous avons fait plusieurs contacts pour trouver notre lieu de stage. Nous avons reçu l'avis de la laiterie *La Vallée*.

Selon nos connaissances acquises et pour répondre au but du présent travail, nous avons élaboré un diagramme de fabrication, avec lequel nous avons réussi à fabriquer les fromages voulus.

Des analyses microbiologiques, physicochimiques et sensorielles en été faites dans l'entreprise d'accueil et dans le laboratoire de la faculté de sciences de la nature et de vie ; ces analyses révèlent que la qualité de nos fromage répond aux normes de bonne qualité, que la ficine peut remplacer la présure à moyen terme, et que la lactoferrine peut être utilisée dans notre fromage, à la fois comme un agent de conservation pour augmenter la dure de vie du fromage, mais aussi comme molécule bioactive aux bienfaits divers tel que ses effets bifidogènes. Elles révèlent également que ce fromage est destiné à la consommation humaine avec des portions ne dépassant pas 50 grammes par jour par personne.

D'après ce travail, il reste à déterminer comment obtenir l'enzyme de la ficine d'une façon massive pour une exploitation à l'échelle industrielle, loin des extractions primitives et artisanales, et aussi d'une façon hygiénique qui respect l'innocuité alimentaire pour éviter toute contamination du lait pasteurisé.

Afin d'encourager la sauvegarde de figuier, espèce rustique de l'agriculture de montagne il sera intéressant de favoriser l'investissement dans les procédés d'extraction et purification de ficine au service d'l'industrie de transformation de produits laitiers.

Pour cela, nous suggérons de travailler :

À obtenir cette enzyme par des procédés avancés du la génie chimie ou du génie génétique cela vas encourager l'investissement dans cette culture et augmente la production des figues et ses dérivées ;

À déterminer La durée limite de consommation du fromage enrichi par la lactoferrine, dans les prochaines études.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- [1] Alais, C. (1984). Science Du Lait. Principes Des Techniques Laitières. Ed. SEPAIC, Paris, 4ème Edition.818p.
- [02]. Codex alimentarius.(1999).Normes alimentaires internationales. 3p.
- [3] Belitz, H-D., et Grosch W. (1999).Milk and dairy products In Food chemistry.2e édition.Berlin: Springer-Verlag. 470-512 P.
- [4] ALAIS, C., LINDEN G., et MICLO, L. (2020). Biochimie alimentaire. 6e édition. Paris. Dunod. 272 P.
- [5] Lafitedupont, A. (2011). les différents laits et leur complexité. les protéines du lait de vache : aspect nutritionnel et allergie alimentaire. thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. université de limoges.
- [6]. Kebchaoui, J. (2013). Le lait compositions et propriétés. ENIL. France. 37 p.
- [7]. Mathieu, J. (1998). Initiation à la physico-chimie du lait .Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Faron. Ed. Tec & Doc : Lavoisier, Paris.12-210 P.
- [8]. Amariglio, S., (1986). Contrôle de la qualité des produits laitiers : analyses physiques et chimiques. AFNOR- 3 ème édition- Paris. 1030p.
- [9]. Bouchachi, A. (2017). Contribution à l'étude de la qualité physicochimique et de la diversité microbienne du lait cru collecter à HassiBounif. W. Oran- Algérie. Mémoire de fin d'études, Exploitation des écosystèmes Microbiens Laitiers. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis-M.
- [10].Rheotest M. (2010). Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST®LK – Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>
- [11]ocde/fao (2016}, perspectives agricoles del'ocde et de la fao 2016-2025, <https://www.fao.org/3/BO101f/BO101f.pdf>

- [12]. Édouard Timsit et Nathalie Bareille(2008}. Conductivité du lait et détection des mammites

<https://www.lepointveterinaire.fr/>

- [13]. FAVIER, J-C., et Dorsainvil, E. (1985). Composition du lait de vache. IRD Ile-de-France.9 p.
- [14]. Jean-Christophe, V. (2021). sciences et technologie de lait. helene-gagnon .3e édition .547p.
- [15]. Perreau, J.M. (2022). Conduire son troupeau de vaches laitières. 2 ème Editions France Agricole, Paris. 530 P.
- [16]. Alais, C., et Linden, G. (1987). Biochimie alimentaire : Abrégé. Masson, Paris, 248 P.
- [17]. Chilliard, G., et Lamberet. (1984). La lipolyse dans le lait : les différents types, mécanismes, facteurs de variation, signification pratique. INRA.544-578 p.
- [18]. <https://ginindex.com/2021/08/02/lindustrie-des-produits-laitiers>
- [19].Alais, C., Linden G, et Miclo L.(2020). Biochimie alimentaire. 6eme édition. Paris : Dunod. 272 P.
- [20]. Journal officiel de l'Union européenne 27.11.2012. autorisant la mise sur le marché de la lactoferrine bovine en tant que nouvel ingrédient alimentaire en application du règlement (CE) no 258/97 du Parlement européen et du Conseil (FrieslandCampina).
- [21]. Emilie scotti2023Qu'est-ce que la lactoferrine ?<https://blog.armor-proteines.com/>
- [22]. Berlutti, F., Natalizi, T., Frioni, A., Paesano, R., Polimeni. A., et Valenti, P. (2011). Propriétés antivirales de la lactoferrine, une molécule d'immunité naturelle. National Centre for biotechnology information. Molécule.
- [23]. Baker, EN., et Baker, HM. (2005). Structure moléculaire, propriétés de liaison et dynamique de la lactoferrine. Cellulaire and Molecular Life Science.
- [24]. <https://www.gea.com/fr/articles/milk-lactoferrin/index.jsp>.
- [25]. Bukowska-Osko, I.,Popiel, M.,et Kowalczyk, P. (2021).The Immunological Role of the Placenta in SARS-CoV-2 Infection-Viral Transmission, Immune Regulation, and Lactoferrin Activity. Int. J. Mol. Sci.

- [26]. Legrand, D., Pierce, A., Ellass, E., Carpentier, M., Mariller., C., et Mazurier, J. (2008). Lactoferrin Structure and Functions. *Bioact.Compon. Milk. Advances in experimental medicine and biologie.* 606, 163–194 PP.
- [27]. Hosam, M Habib., Sahar, I., Aamna, Z., et Wissam, I. (2021). Le rôle du fer dans la pathogenèse du COVID-19 et un traitement possible avec la lactoferrine et d'autres chélateurs du fer. *Biomed Pharmacother.*
- [28]. Donovan, SM. (2016). The Role of Lactoferrin in Gastrointestinal and Immune Development and Function. *J Pediatr.*
- [29]. Kaplan, JL., Shi HN., et Walker WA., (2011). Le rôle des microbes dans la programmation immunologique du développement. *Pédiatres.*
- [30]. Chang, R., Ng, T.B., et Sun, W.Z. (2020). La lactoferrine comme agent préventif et traitement potentiel du COVID-19. *Int J Antimicrob Agents.*
- [31]. Pierce, A., Legrand, D., et Mazurier, J. (2009). La lactoferrine : une protéine multifonctionnelle. *Médecine science.*
- [32]. Iwamaru, Y., Shimizu, Y., et Imamura M. (2008). Lactoferrin induces cell surface retention of prion protein and inhibits prion accumulation. *J Neurochem.*
- [33]. Wal, J-M. (2011). Allergénicité des protéines laitières. *Innovations Agronomiques.* Hal.25-43 pp.
- [34]. Konishi, M., Iwasa, M., Yamauchi, K., Sugimoto, R., Fujita, N., Kobayashi, Y., Watanabe, S., Teraguchi, S., Adachi, Y., et Kaito, M. (2006). Lactoferrin inhibits lipid peroxidation in patients with chronic hepatitis C. *Hepato Res.*
- [35]. Laure, F. (2023). Lactoferrine : bienfaits et posologie. *Rev : Doctonat.*
- [36]. Ecem Bolat, F-E., Merve, K., Hatice, Duman., Ayşenur, A., Sümeyye, S., Arif, S., and Sercan, K. (2022). Lactoferrine pour la prévention, le traitement et la récupération du COVID-19. *J Front Nutr.*
- [37]. Campione, E., Cosio, T., Rosa, L., Lanna, C., Dig, S., Gaziano R., Valenti, P., and Bianchi, L. (2020). Lactoferrin as Protective Natural Barrier of Respiratory and Intestinal Mucosa against Coronavirus Infection and Inflammation. *Int J Molecular Science.*

- [38]. Barros, M., et Cantera, A. (2014). Characterization of the Proteolytic Activity of Latex of *Ficus luschnathiana* and its Application in the Generation of Whey. *Research journal of photochemistry*.
- [39]. Gaussen, H., Leroy, JF., et Ozenda P. (1982). Précis de botanique, tome II : végétaux supérieures. Masson : 558-560 p
- [40]. Poznanski, A., et Reys, E-D. (1975). Propriétés coagulantes et protéolytiques de la protéase extraite de *Cirsium arvense*. *Le Lait*.hal .669-682 pp.
- [41]. Anonyme (2023). Les Enzymes coagulantes utilisées en technologie fromagères, <https://www.laboratoires-abia.com/les-enzymes-coagulantes/>
- [42]. DSASI. (2017). Direction des services agricole statistiques information depuis monographie décembre 2017.
- [43]. Pollaina, J., Mac, C., et Andrew, P. (2007). *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications*. Springer Science & Business Media. 641 p.
- [44]. Yong, Y., Shen, D., Long, Y., Xie, Z., et Zheng, H. (2017). Intrinsic Peroxidase-like Activity of Ficin. *Scientific Reports*.
- [45]. Maamar, H et Zaidi, M (2019). Extraction et caractérisation des paramètres influençant la coagulation du lait par la ficine: Elaboration d'un fromage camembert, Université de Béjaia.
- [46]. Mahaut, M., Jeantet, R., et Brule, G. (2000). *Initiation à la technologie fromagère. Technique et documentation*. 192 P.
- [47]. Eck, A., Gillis JC. (2006). *Le fromage*. 3ème Edition. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 891 P.
- [48]. Chamba J. F. (2008). Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu G. and Luquert F.M. (Eds.), *Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris. 787-815 PP.
- [49]. Bendimerad, N. (2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben». Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie.

- [50]. Gouedranche, H., Camier-caudron, B., Gassi,JY., et Schuck, P.(2001). Procédés de transformation fromagère (partie 2). Techniques de l'ingénieur.
- [51]. Anonyme, Les fromages à pâtes molles et croûte lavée. <http://androuet.com/guide-fromage.html>
- [52]. Mat., (2021). Les principaux fromages à pâte molle à croûte naturelle <http://www.fromage-france.fr/les-principaux-fromages-a-pate-molle-a-croute-naturelle>
- [53].Bernard, GG. (1966). cahier de nutrition et de diététique.Elsevier Masson.43-55 p.
- [54]. Boutonnier J.L. (2012). Fabrication du fromage fondu, Techniques de l'ingénieur, Paris-France. 14 p.
- [55]. Bintsis, T., et Papademas, P., (2017). Global Cheese making Technology: Cheese Quality and Characteristics. Wiley. 496 P.
- [56]. Katell, G. (2014). L'affinage : L'art d'élever des levures, des bactéries et des moisissures. ABIODOC.
- [57]. La laiterie lavallée.
- [58]. Beldjilali, A.(2021).Cours de Toxicologie et Sécurité Microbiologique des Aliments. Université Mohammed Boudiaf.
- [59]. Fiche technique sante-sécurité : agent pathogènes – staphylococcus aureus [.https://www.canada.ca/fr/sante-publique](https://www.canada.ca/fr/sante-publique)
- [60]. Hamer, L.,et Zoubiri, A., (2018). Caractérisation d'un fromage frais "Agougli" fabriqué à partir du lait de chèvre coagulé avec l'enzyme du Ficus carica L. Bouira : université Akli Mohand Oulhadj.
- [61]. Betaoui, I., etSellam, N., (2022). Essai de fabrication et caractérisation d'un fromage frais « j'ben », à base du lait de vache coagulé avec la protéase végétale « ficine » de la variété bifère type "Bakkour" du figuier Ficus carica L. université Akli Mohand Oulhadj.
- [62]. AFNOR. (1993). Contrôle De La Qualité Des Produits Alimentaires : Lait Et Produits Laitiers : Analyses Physicochimiques. Paris La Défense : AFNOR, 4ème Edition, 581 P.
- [63]. Anonyme.,<https://www.nord-humidite.com/>

- [64]. JORA, N° 37, DE 31 mai (2022) (JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE) Portant adoption du règlement technique fixant les spécifications techniques des fromages et des spécialités fromagères.
- [65]. Gana, S., et Touzi, A., (2001). Valorisation du Lactosérum par la Production de Levures Lactiques avec les Procédés de Fermentation Discontinue et Continue.Rev. Energ. Ren : Production et Valorisation – Biomasse.51-57 PP.
- [66]. Zemmouche, R., et Saoudafaf,Kh., (2016). Valorisation du lactosérum : Incorporation dans des pâtes alimentaires. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- [67].AFNOR. (1986).Méthode D'analyse Du Lait Et Ses Sous-produits Laitiers. Recueil De La Normalisation Française, 2^{ème} Edition.
- [68]. Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S.,Bellal, M., et Dadie, A. (2009).Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichokeflowers (Cynarascolymus) and from the fig tree latex (Ficuscarica) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. J. Food Technology.
- [69]. Jouan, P. (2002).Lactoprotéines et lactopeptides, propriétés biologiques. Paris, INRA. 127 p.
- [70]. JORA, N° 44, DE 23 Juillet(2017) (JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE).Fixant les modalités de fonctionnement du compte d'affectation spéciale n°302-144 intitulé : " Fonds de solidarité pour les ressortissants algériens nécessiteux décédés à l'étranger "

Annexe

Annexe

1- Matériels et produits utilisés



CaCl₂



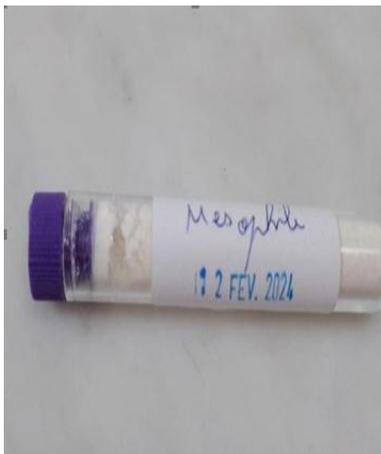
Thermo mètre



Présure



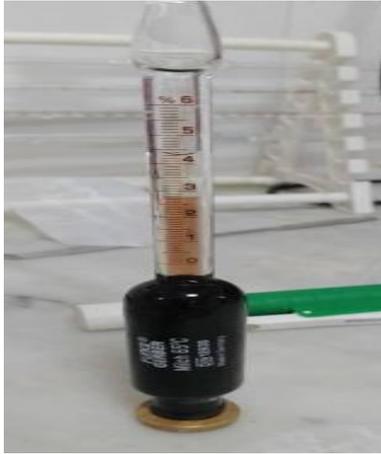
Sel



Mésophiles



Glacière



Butyromètre



Etuve



Thermo-lactodensimètre



Centrifugeuse



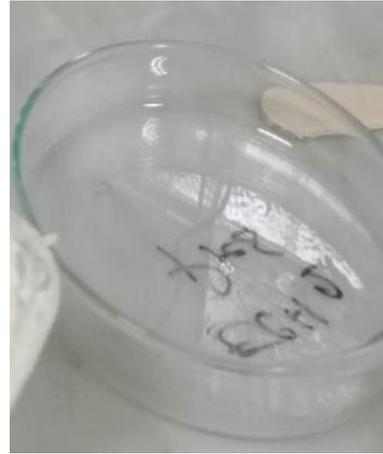
PH-Mètre



Lactoferrine



Balance de précision



Boite de pètrie

2- Récolte et extraction de la ficine brute.



Ficus cartica



Ficus cartica – Bifere



Récolte de Latex



Extraction Ficine Brute

3- Les étapes de fabrication de fromage frais



Filtration



Pasteurisation



Coagulation



Coupage



Égouttage



Salage



Mélangeage avec lactoferrine



Produit fini

4- Fiche de dégustation du fromage frais coagulé avec la ficine enrichi de lactoferrine

Nom :

Niveau :

Date:

Le nouveau produit dont nous vous prions de bien vouloir évaluer est un fromage frais élaboré sur la base de lait de vache, coagulé par la ficine et enrichi de lactoferrine.

Nous vous demandons de goûter et évaluer les caractéristiques sensorielles de chaque échantillon et de le noter sur un échelle de 0 à 10 selon l'intensité de chaque caractère, votre niveau de satisfaction.

Testes	Sensation ressentie	Ech-1 FP	Ech-2 FF0	Ech-3 FF1	Ech-4 FF2
Goût	Amère				
	Acide				
	Salé				
	métallique				
Texture	pateux				
	Granuleux				
	Crémeux				
Arôme	Nature				
	végétale				
Couleur	Blanc				
	Blanc opac				
	Blanc roux				

Autres Remarques :

Merci de votre participation

Résumé:

La fabrication de fromage en Algérie, est en constante évolution et dans le but, à la fois de développer le fromage ancestral et trouver une application pour les bio-protéines issu de la valorisation de lactosérum (la lactoferrine), l'idée était d'élaborer un fromage coagulé par la ficine issu de l'extraction de latex de *Ficus Carica* et enrichi de lactoferrine bovine commercial

Les résultats obtenus démontrent que, l'acidité de ce fromage est remarquable dû aux effets bifedogene de LFB, et les analyses sensorielles sont en faveur de fromage coagulé par la ficine.

Selon nos résultats, la ficine pourra remplacer la présure animale pour la coagulation du lait, mais aussi que le fromage enrichi en lactoferrine pourra être un aliment fonctionnel pour les enfants et les sujets dont leur système immunitaire est faible

Mots clés : *Ficus carica*L. Ficine, lactoferrine, Fromage frais.

ملخص:

تتطور صناعة الجبن في الجزائر باستمرار وبهدف تطوير جبن الأسلاف وإيجاد تطبيق للبروتينات الحيوية الناتجة عن تجميع مصلى اللبن (اللاكتوفيرين) ، كانت الفكرة هي تطوير جبن متخثر بواسطة الفيسين من استخراج اللاتكس من *Ficus Carica* والمخصب مع اللاكتوفيرين البقري التجاري

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن حموضة هذا الجبن ملحوظة بسبب التأثيرات ثنائية المنشأ لـ LFB ، وأن التحليلات الحسية لصالح الجبن المتخثر بواسطة ficin. وفقاً لنتائجنا ، يمكن للفيسين أن يحل محل المنفحة الحيوانية لتخثر الحليب ، ولكن أيضاً يمكن أن يكون الجبن الغني باللاكتوفيرين غذاءً وظيفياً للأطفال والأشخاص الذين يعانون من ضعف جهاز المناعة.

الكلمات المفتاحية: الفيسين ، *ficus carica* ، لاكتوفيرين ، الجبن الطازج.

Summary:

. The manufacture of cheese in Algeria is constantly evolving and with the aim of both developing the ancestral cheese and finding an application for the bio-proteins resulting from the valorization of whey (lactoferrin), the idea was to develop a cheese coagulated by ficin from the extraction of latex from *Ficus Carica* and enriched with commercial bovine lactoferrin

The results obtained demonstrate that the acidity of this cheese is remarkable due to the bifidogenic effects of LFB, and the sensory analyzes are in favor of cheese coagulated by ficin.

According to our results, ficin could replace animal rennet for milk coagulation, but also that lactoferrin-enriched cheese could be a functional food for children and subjects whose immune system is weak.

Keywords: *Ficus carica L*, Ficin, lactoferrin, Fresh cheese.