



**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 DE BIOLOGIE**

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

FODIL Ouissam & ALOUACHE Lynda Sandra

Thème

**Étude sur l'activité de quelques extraits naturels dans la
coagulation du lait pour la fabrication du fromage.**

Soutenu le : 13 /07/2021

Devant le jury composé de :

M. THIGHILT Karim

MAA Univ. de Bouira

Président

M. CHERGUI Achour

MCB Univ. de Bouira

Promoteur

M. IMESSAOUDENE Ali

MAA Univ. de Bouira

Examineur

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous commençons par remercier *ALLAH* le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à monsieur *CHERGUI Achour* qui nous a honorés de proposer et diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils. Nous étions satisfaits de votre bon enseignant, merci de nous avoir guidés avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; nous ne pouvons, monsieur , que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury

Monsieur *IMESSAOUDENE.A* et Monsieur *TEGHILIT.K* pour l'intérêt qu'ils ont porté à nos travaux en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions, malgré leurs compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos études.

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Dédicace

*A l'aide de DIEU, le tout puissant, ce travail est achevé;
Je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères ; mes très chers
parents pour leurs sacrifices, soutien et amour. Je leurs serai
éternellement reconnaissante.*

*A ma mère, « **Ouiza** » la perle la plus chère qui ma entourée avec sa
tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.*

*A mon cher père «**Mohamed** », la base de toute ma carrière qui
m'apprit que la patience est le secret du succès.*

*A mon cher et précieux frère et mes deux sœurs, **Amine, Mona et
Meriem***

*Mon frère, mes sœurs merci pour votre générosité, votre affection,
votre soutien moral et financier et pour tout le sacrifice que vous
donnez pour moi.*

*A tous mes amies : **Sandra, Hoda, Yacine, Cherine, Amira, Fatah,
Hamza, Meriem, Samia.** A tous mes camarades de Biochimie. A
toutes qui me connaît de loin ou de près.*

Ouissam

Dédicace

*A l'aide de **DIEU**, le tout puissant, ce travail est achevé ; Je le dédie
A ma mère, «**Malika** » la perle la plus chère qui ma entourée avec sa
tendresse et qui n'a cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père **RABAH** qui a été toujours pour moi un exemple
du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à
honorer l'homme que tu es.*

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité.

*Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta
compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect
que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les
sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je
t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde dans son
vaste paradis inchallah.*

*A mes chers frère **Nadjib, Amine, Arcelane, youcef** et mon oncle
salime*

*Et mes sœurs **Kamilia, Cherine, sabine** et **Lilia** et son fils **zakaria** et
ma belle sœur janna*

*A tous mes amies : **Wisseem, Yacine, Cherine, Fatah, Amira, Hamza,**
Samia, Meriem, Imane, Amel et **Racha***

Sandra

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
Chapitre I. Le lait et sa transformation industrielle et les sous-produits obtenus	
I.1. Généralités sur le lait.....	03
I.2. Les caractéristiques physicochimiques du lait.....	03
I.3. Les caractéristiques microbiologiques du lait.....	04
I.3.1. La flore utile (originale).....	04
I.3.2. La flore indésirable	05
I.3.2.1. La flore d'altération	05
I.3.2.2. La flore pathogène	05
I.3.2.2.1. Contamination par l'animal	05
I.3.2.2.2. Contamination au cours du transport	05
I.3.2.2.3. Contamination au cours de la traite	05
I.4. Les caractéristiques organoleptiques	06
I.4.1. La couleur de lait	06
I.4.2. La viscosité	06
I.4.3. La saveur.....	06
I.4.4. L'odeur.....	06
I.5. La composition du lait	07
I.6. La poudre de lait	07
I.6.1. Définition	08
I.6.2. La fabrication de la poudre de lait	08
I.6.2.1. Par atomisation (par pulvérisation)	08
I.6.2.2. Par séchage sur cylindres (Hatmaker).....	08
I.7. La technologie de la poudre de lait	08
I.8. Les principales étapes de la fabrication des fromages	09
I.8.1. La maturation	09
I.8.2. Les mécanismes de la coagulation.....	09

I.8.2.1. La coagulation acide	10
I.8.2.2. La coagulation enzymatique du lait	10
I.8.2.2.1 La coagulation par les extraits des plantes.....	10
I.8.2.3. La coagulation mixte.....	11
I.8.3. L'égouttage	11
I.8.4. Le salage	11
I.8.5. L'affinage des fromages	11
I.8.6. Les facteurs influençant la coagulation.....	11
I.8.7. L'évaluation de la coagulation.....	13
I.9. Les produits obtenus	13
I.9.1. Le yaourt	13
I.9.2. Les desserts lactés	13
I.9.3. Les crèmes lactières.....	14
I.9.4. Le fromage	14
Chapitre II : les extraits naturels utilisés dans la coagulation du lait	
II.1. L'activité coagulante	16
II.1.1 Les protéases d'origine animale	16
II.1.2. Les protéases d'origine microbienne	16
II.1.3. Les protéases d'origine végétale.....	17
II.1.3.1. Le fruit de figuier.....	17
II.1.3.2 Les feuille du figuier.....	18
II.1.3.2 .1. La ficine.....	19
a. Classification de figuier.....	19
II.1.3.3. Le chardon de marie	19
a. Classification de chardon de marie.....	20
II.1.3.4. Le pin d'Alep.....	20
II.1.3.5. La camomille	21
II.1.3.6. L'artichaut	22
II.2. L'activité protéolytique	23

Partie Expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1. Matériels et méthodes.....	25
III.1.1. Matériels.....	25

III.1.1.1. Echantillonnage « collecte du lait »	26
III.1.1.2. Matériel végétal.....	26
III.1.2. Méthodes.....	26
III.1.2.1. Préparation du lait	26
III.1.2.2. Préparation des extraits des plantes.....	27
III.1.2.2.1. Les graines de pin d'Alep.....	27
III.1.2.2.2. L'artichaut (Cynara cardunculus var scolymus)	28
III.1.2.2.3. La camomille.....	29
III.1.2.2.4. Les feuilles de figuier	29
III.1.2.2.5. Le fruits de figes.....	30
III.1.2.2.6. Le Chardon de marie	31
III.1.2.3. Le dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976).....	32
III.1.2.4. La détermination de l'activité coagulante	32
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1. Résultats et discussion	34
IV.1.1. L'activité coagulante (AC).....	34
IV.1.1.1. Le rapport volumique 100µl d'extrait pour 1000µl de lait	34
IV.1.1.2. Le rapport volumique 600µl et 1000µl d'extrait pour 1000µl de lait respectivement.....	35
IV.1.1.3. Le rapport volumique 1000µl et 1000µl d'extrait pour 1000µl de lait respectivement.....	36
IV.1.2. Dosage des protéines.....	37
Conclusion.....	39

Références bibliographiques

Résumé

Liste des abréviations

AC: Activité coagulante

AFNOR: Association française de normalisation

APs : Protéases à Acide aspartique

BSA : Bovine Sérum Albumine

Ech: Echantillon

EDS : Eau distillé Stérile

FAO : Organisme des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

M: Molarité

MG : Matière Grasse

m/m : Maximum /minimum

MM : Masse molaire

Moy: Moyenne

MS: Matière sèche

N : Normalité.

pH : Potentiel hydrogène

Pro: Protéines

U.P : Unité présure

Liste des figures

Figure 01 : Coupe longitudinale d'une mamelle de vache.....	03
Figure 02: Cyclone des différentes étapes de la production de la poudre de lait.....	09
Figure 03 : Coagulation du lait.....	10
Figure 04 : Du lait aux produits laitiers.....	14
Figure05 : Fruit de la figue sèche	18
Figure 06 : Type de feuille figue.....	18
Figure 07 : Chardon de marie (<i>Silybum marianum</i>).....	20
Figure 08 : Graines de pin d'alep.....	21
Figure 09 : Fleures de camomille.....	22
Figure10 : Artichaut cynara scolymus L.	22
Figure 11 : Préparation du lait.....	27
Figure 12: Poudre délipidée de pin d'alep (<i>Pinus halepensis</i>)	28
Figure 13 : Extraction de la partie intérieure de l'artichaut (<i>Cynara scolymus L.</i>)	28
Figure 14 : Macération de camomille (<i>Chamaemelum nobile</i>)	29
Figure 15 : Feuille de figue (<i>Ficus carica</i>)	30
Figure 16 : figue fruit (<i>Ficus carica</i>)	30
Figure 17 : Chardon de Marie (<i>Silybum marianum</i>)	31
Figure 18 : Lyophilisation des extraits végétaux (CHRIST)	32
Figure 19: Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (0,1ml/1ml: extrait/lait).....	35
Figure 20 : Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (0,1ml/1ml: extrait/lait).....	35
Figure 21: Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (1ml/1ml: extrait/lait).....	36

Figure 22 : La concentration des protéines dans chaque extrait brute (5mg/5mL).....37

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....04

Tableau 02 : Flore microbienne du lait.....06

Tableau 03 : Composition moyenne du lait entier.....07

Tableau 04: Composition des laits en poudre (% m/m).....08

Tableau 05 : Les différents appareils utilisés et leur marque..... 25

Introduction générale

Introduction

Les enzymes protéolytiques ou protéases sont des macromolécules qui catalysent la protéolyse de manière très ciblée. À l'heure actuelle, en raison de leur plus grande efficacité, en plus d'être biodégradables, elles constituent également le plus grand groupe mondial d'enzymes industrielles. Ils ont été appliqués dans divers domaines industriels tels que l'alimentation, la biotechnologie et les produits pharmaceutiques (**Bose et al., 2019 ; Gurumallesh et al., 2019**).

Le plus ancien coagulant utilisé dans la fabrication du fromage est la présure. Ce dernier est utilisé pour fabriquer du fromage commercial, vendu sous forme de poudre, extrait de l'estomac de veaux non sevrés, et composé à 80 % de présure et à 20 % de pepsine. (**Desmazeaud, 1997**). C'est un type d'Aps gastrique responsable du caillage du lait chez les jeunes ruminants (**Fox, 2003**).

L'essor de l'industrie des fromages, demande de plus en plus de présure, les restrictions sur l'abattage des jeunes ruminants et le refus des présures par les pays musulmans, à cause du rituel non Halal de l'abattage, ont causé une pénurie mondiale de présures. Pour cette raison, la recherche d'autres coagulants s'est intensifiée pour conduire à des produits qui fournissent le même fromage que la présure de veau à moindre coût (**Benani, 2017**).

D'après (**Alais, 1984**), il faut en moyenne deux caillettes de veau pour produire 1 litre de présure, et selon **Bauer et al. (2010)**, il faut environ 2 litres de présure pour produire une tonne de fromage, donc il faut sacrifier 4 jeunes veaux pour produire une tonne de fromage.

Les protéases ont de nombreuses sources différentes dans la nature. Notamment les animaux (**Mosztbacher et al., 2019**), les plantes (**Salehi et al., 2017**). Au cours des dernières années, un intérêt croissant pour l'utilisation des différentes parties de la plante médicinale (feuille, tige, fruit, graines...etc.) a été observé dans différentes domaines non seulement dans le domaine médical mais surtout dans les industries agroalimentaires (**Cerretani, 2001**) et les microorganismes (**Matsuoka et al., 2017**). De multiples enzymes coagulantes d'origines bactériennes du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* et d'origines fongiques issues des préparations de *Mucor* sont utilisées comme substituts de présure notamment au Japon et aux USA (**Ramet, 1997 ; Mandy et al., 2011**).

Les fromages à base de coagulant végétal peuvent être trouvés principalement en Méditerranée, en Afrique de l'Ouest et pays du sud de l'Europe. Espagne et Portugal ont la plus grande variété et production de fromages en utilisant *Cynara sp* comme coagulant végétal, par exemple les fromages italiens Cacio Fiore. Ces fromages sont normalement produits à l'échelle artisanale, dans une ferme ou petite laiterie. Les coagulants Animal et microbien donnent des produits plus cohérents et sont également moins cher et plus facile à utiliser (**Bouamine et al., 2020**).

Les extraits végétaux peuvent-ils remplacer la présure ? Sont-ils utiles dans l'industrie de fromage ?

L'objectif de cette étude est l'obtention d'extraits à effet coagulant sur le lait à partir de différentes plantes localisées assez répandues tels que le fruit et les feuilles de figuier, l'artichaut et le chardon marie, le pin d'Alep et la camomille. L'obtention de tels extraits permettrait d'envisager leur utilisation dans l'industrie fromagère

Ce mémoire est divisé en quatre grands chapitres. Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur des généralités sur le lait et la composition et les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du lait. Le deuxième chapitre est la présentation et les caractéristiques des extraits végétaux employés dans notre investigation pour la coagulation du lait.

La dernière partie est consacrée au travail expérimental proprement dit, il comprend deux chapitres : matériel et méthodes puis le chapitre résultats et discussion est dédié à l'illustration et à la discussion des différents résultats obtenus.

Chapitre I
Le lait et sa transformation
industrielle et les sous-
produits obtenus

I.1. Généralités sur le lait

Après la naissance du jeune, le lait est sécrété par les glandes mammaires des femelles. C'est un liquide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, d'une saveur douceâtre et d'un pH légèrement acide (6,6 à 6,8), proche de la neutralité, (**Boubezari, 2010**). En 1909, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le Congrès International de la Répression des Fraudes comme étant le produit global de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il ne doit pas contenir de colostrum et faut le collecté proprement (**Jora, 1993**).

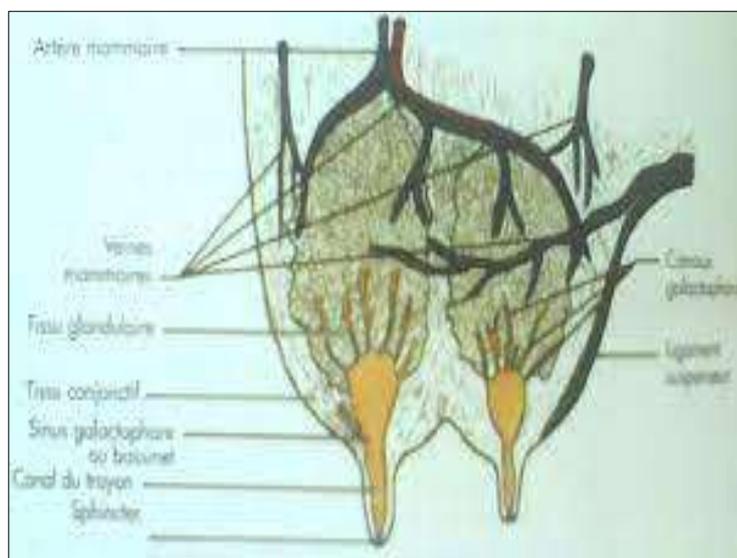


Figure 01 : Coupe longitudinale d'une mamelle de vache (**Cauty et Perreau, 2003**).

I.2. Les caractéristiques physicochimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la densité, le pH, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (**Amiot et al., 2002**).

Les caractéristiques physico-chimiques du lait de vache selon (**Bourgeois et al., 1990**) sont montrées dans le **tableau 01** suivant :

Tableau 01 : Les caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (**Bourgeois et al.,1990**)

Caractéristiques physiques	Valeur
Ph (20°C)	6,6-6,8
Densité	1,030-1,033
température de congélation (°C)	-0,53
Caractéristiques chimiques (g/100g)	
Extrait sec total	12,7
Taux de matière grasse	3,9
Teneur en matière azotée totale	3,4
Teneur en caséines	2,8
Teneur en albumines et globuline	0,5
Teneur en lactose	4,9
Teneur en cendres	0,90
Vitamine, enzymes et gaz dissous	Traces

I.3. Les caractéristiques microbiologiques du lait

Le lait lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions il contient peu de microorganismes, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Larpent, 1997**). Ces microorganismes sont classés en deux types de flores (**Odumeru, 2012**).

I.3.1. La flore utile (originale)

C'est la flore positive, que l'on va chercher à favoriser. Elle va permettre les différents processus de fermentation. Elle peut se trouver naturellement dans l'aliment, ou être additionnée lors des procédés de fabrication (**Odumeru, 2012**).

Le lait cru est protégé vis-à-vis des germes de contamination par des substances inhibitrices appelées "lactenines", mais l'action de celles-ci est de courte durée (1 heure environ) (**Guiraud et Galzy, 1980**). Le lait en prisonné dans les cellules du pis est stérile mais l'infection de la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs le rendent contaminé (**Tolle, 1980**). Selon (**Odumeru, 2012**) ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

I.3.2 La flore indésirable

C'est la flore négative, que l'on cherche à inhiber. Se divise en deux catégories :

I.3.2.1 La flore d'altération

Ces microorganismes peuvent se développer et entraîner des changements physiques et chimiques dans l'aliment. Cela conduit à des odeurs et saveurs désagréables, formation de mucosités, accumulation de gaz, libération de liquide, Donc dégradation de la qualité gustative et esthétique (**Odumeru, 2012**).

I.3.2.2 La flore pathogène

Ces microorganismes peuvent être dangereux pour la consommation humaine, même à faible concentration. En cas d'ingestion, l'aliment peut être source d'intoxication alimentaire (**Odumeru, J., A., 2012**).

Ces deux flores indésirables et pathogènes sont composées d'une flore de contamination qui est l'ensemble de microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits (**Vignola, 2002**).

I.3.2.2.1 Contamination par l'animal

Lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de maturation et de fermentation des produits laitiers de large consommation (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**).

I.3.2.2.2 Contamination au cours du transport

Le transport et la collecte se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales afin de livrer un lait de bonne qualité. En cas d'une altération de la qualité par une mauvaise réfrigération au cours du transport, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (**Weber, 1985**).

I.3.2.2.3 Contamination au cours de la traite

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogènes sont systématiquement détectés. (**Vignola, 2002**).

La flore microbienne du lait selon (**Hassen et al, 2001**) est montrée dans le **tableau 02** suivant :

Tableau 02 : Flore microbienne du lait (Hassen *et al*, 2001).

Flore originale		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques Lactiques	Pseudomonas, Flavobacterium, Enterbacteries, Microcoques, Corynébactéries, Bacillus, Streptocoques, faecalis et Clostridium	Clostridium Coliformes fécaux Salmonella Yersinia et Campylobacter	Staphylococcus aureus Brucella et Listeria

I.4. Les Caractéristiques organoleptiques

I.4.1. La couleur du lait

Dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche (**Reumont, 2009**).

I.4.2. La viscosité

Est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait (**Vignola, 2002**).

I.4.3. La saveur

La saveur du lait est légèrement sucrée et elle varie en fonction de la température de dégustation et de l'alimentation de l'animal (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

I.4.4. L'odeur

L'odeur du lait est peu marquée mais caractéristique. Cependant cette odeur peut changer en fonction de l'alimentation de l'animal et de la conservation du lait (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

I.5. La composition de lait

Le lait est un produit d'origine biologique fortement altérable par voie microbienne et par voie enzymatique. Il se compose d'une phase de nature protéique (micelles de caséines) et d'une phase aqueuse contenant essentiellement le lactose, les minéraux et d'une phase dispersée de nature lipidique (globules gras) (**tableau 03**). Cette composition varie selon différents facteurs liés aux animaux, comme la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison et l'âge (**Vignola, 2002**).

La composition moyenne du lait entier selon (**Fredot, 2006**) est montrée dans le **tableau 03** suivant :

Tableau 03 : Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006).

Composants	Teneur (g/100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséines	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéiques	0.17
Matières grasse	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

I.6. La poudre de lait

I.6.1. Définition

Les laits en poudre sont des produits résultant de l'élimination partielle de l'eau du lait et l'évaporation autant que possible de sorte que l'eau est perdue et le lait devient poudre (**Arie et al., 2011**). Aux termes de la norme n° A5 (1971) du Code des principes, on distingue

trois catégories de lait en poudre : entier, partiellement écrémé et totalement écrémé dont la composition est donnée au **Tableau 04**. Selon cette norme, ils peuvent recevoir des additifs alimentaires (stabilisants, émulsifiants, antiagglomérants) dans certaines conditions (**Fao, 2008**).

I.6.2. La fabrication de poudre du lait

Elle peut être fabriquée par deux manières :

I.6.2.1. par atomisation (par pulvérisation)

Le lait concentré est finement pulvérisé à l'aide d'une turbine dans un courant d'air chaud (150 °C) à l'intérieur d'une tour de séchage par entraînement, l'air chaud servant de vecteur de chaleur et d'humidité. L'évaporation de l'eau se fait par diffusion instantanée, ce qui provoque le refroidissement (90 °C) de la poudre et de l'air (**Soustre *et al.*, 2017**).

I.6.2.2. par séchage sur cylindres (Hatmaker)

Le lait ruisselle à la surface de deux cylindres tournant en sens inverse chauffés intérieurement vers 140 °C à l'aide de vapeur, il se forme un film de lait qui sèche très rapidement formant une croûte détachée par un racleur (**Veisseyre, 1979**).

Les compositions des laits en poudre (% m/m) selon (**Fao, 2010**) sont montrées dans le **tableau 04** suivant :

Tableau 04: Composition des laits en poudre (% m/m) (**Fao, 2010**).

Corposants	Lait entier	Lait partiellement écrémé	Lait écrémé
Matière grasse laitière			
Minimum	26	>1,5	\
Maximum	<40	<26	1,5
Eau maximum	5	5	5

I.7. La technologie de la poudre de lait

Après les traitements d'épuration, de standardisation, de pasteurisation, on procède en deux étapes principales : la concentration et le séchage. L'ébullition se fait sur une surface chaude et la concentration se fait par évaporation. Pour des raisons de qualité, on cherche à limiter la température du lait et à réduire son temps d'où le traitement sous vide et en film

mince. Pour des raisons énergétiques, on utilise l'effet multiple, la compression mécanique des vapeurs et le préchauffage du liquide (Fao, 2008).

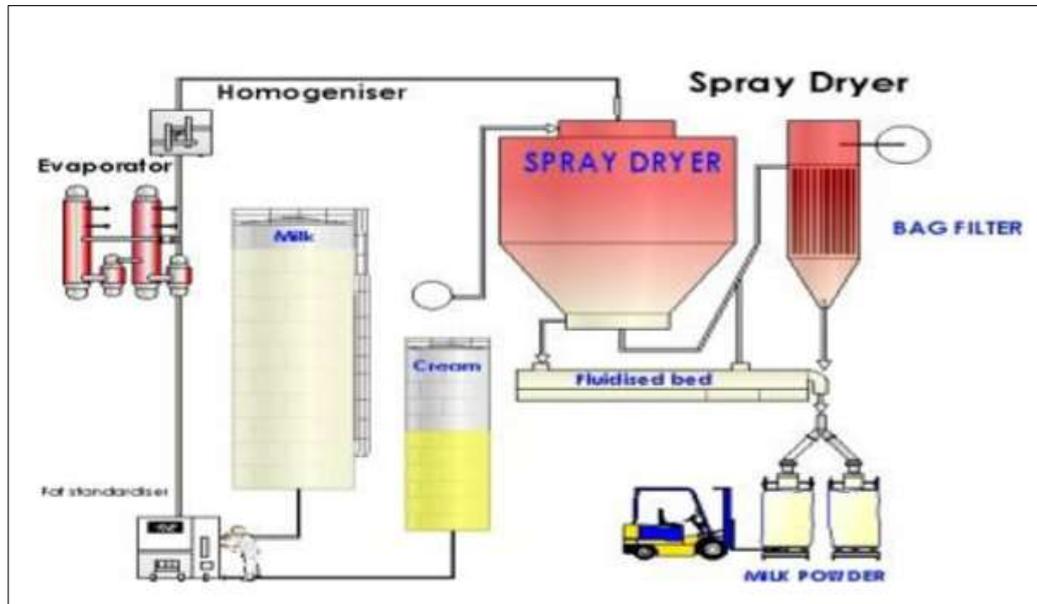


Figure 02 : Cyclone des différentes étapes de la production de la poudre de lait (Soy, 2011).

I.8. Les principales étapes de la fabrication des fromages

I.8.1. La maturation

Le lait cru est incubé à température ambiante pendant différentes durées pour favoriser la reproduction des bactéries lactiques qui joueront un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par l'ajout de levure. L'utilisation des levains artificiels commerciaux n'est pas toujours absolument nécessaire, car l'éleveur laitier lui-même peut cultiver du levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait (Randazo *et al.*, 2009).

I.8.2. Les mécanismes de la coagulation

La coagulation du lait (figure 3) résulte d'un changement irréversible du lait de l'état liquide à l'état semi solide appelé gel ou coagulum (Cecchinato *et al.*, 2012). Cette coagulation résulte des modifications physico-chimiques intervenant au niveau des micelles de caséine. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum sont induits soit par acidification et /ou action d'enzymes coagulantes (Amiar et Baiche, 2015). Il s'agit de l'étape la plus importante pour réussir un fromage (Hsieh et Pan, 2012).



Figure 03: Coagulation du lait (photo originale).

I.8.2.1. La coagulation acide

La coagulation acide est causée par l'acide lactique bactérien, qui convertit le lactose en acide lactique. À mesure que l'acide est produit, le pH du lait de fromage diminue. Cela conduit à la dissolution du phosphate et du calcium colloïdal, qui sont des éléments importants pour la stabilité des micelles de caséine. Ceux-ci vont se lier et former un gel cassant, très fragile et peu élastique (Mietton, 1995). Donc la précipitation de caséine par acidification est la cause de la coagulation. Un lait riche en protéines formera un caillé lactique plus ferme (Vignola, 2002).

I.8.2.3. La coagulation enzymatique du lait

Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques ayant la propriété de coaguler le lait, 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 cyprosine et le cardosine (gaillet, figuier et chardon), ou microbienne (*Mucor pusillus*, *Mucor meihei* et *Endothia parasitica*) (Veisseyre, 1975).

I.8.2.3.1. La coagulation par les extraits de plantes

La coagulation du lait peut provenir de pratiques du monde entier, par l'emploi, non pas d'acide lactique ou d'enzymes animales, mais d'extraits végétaux (Froc, 2001). Dans différents pays, Il existe des plantes susceptibles de fournir des enzymes ayant la propriété de coaguler le lait, généralement, ces diverses préparations végétales donnent des résultats assez

décevants en fromagerie car elles ont généralement une activité protéolytique très élevée et produisent du fromage amer (Lo Piero *et al.*, 2002). En Algérie l'utilisation des fleurs du chardon, de l'extrait de l'artichaut, des graines de citrouille, ou de la sève du figuier sont des pratiques connues pour la production du Jben traditionnel (Benani, 2017).

I.8.2.4. La coagulation mixte

Résultat de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification lactique. Dans la pratique industrielle, un gel mixte peut être obtenu soit en emprésurant un lait au cours de l'acidification et donc la coagulation est généralement plus rapide et le gel ainsi obtenu offre des caractères intermédiaires entre un gel présure et un gel lactique, soit en laissant s'acidifier naturellement un caillé emprésuré, ce qui permet à ce dernier d'acquérir progressivement les caractères lactique (Veisseyre, 1979).

I.8.3. L'égouttage

Après la formation de coagulum, l'égouttage se fait par l'élimination progressive du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement corrélatif du gel donc l'obtention du caillé. Il s'agit d'une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage (Bennett et Johnston, 2004).

I.8.4. Le salage

C'est une phase indispensable de la fabrication des produits affinés. La teneur en sel des fromages varie selon le type de fromage (Alais et Linden, 1997).

I.8.5. L'affinage des fromages

Est l'étape la plus complexe de la fabrication des fromages maturés qui dépend de chaque caractéristique physico-chimique ou microbiologique du fromage. (Bennett et Johnston, 2004). Elle consiste à la transformation biochimique du caillé sous l'action des enzymes (Jeantet *et al.*, 2008).

I.8.6. Les facteurs influençant la coagulation

De Nombreux facteurs peuvent modifier la coagulation du lait et les caractéristiques physiques des coagulums. Ces derniers sont principalement liés au paramètres suivants (Mahaut *et al.*, 2000) :

- **La concentration en enzyme**

La concentration en enzyme est inversement proportionnelle au temps de coagulation. Mais, elle est proportionnelle à la vitesse d'hydrolyse de la caséine (phase enzymatique) et à la vitesse d'agrégation des micelles (phase physique) (Mahaut *et al.*, 2000).

- **La température**

La température optimale d'activité de la chymosine et de la pepsine est de 40-42°C. A cet intervalle de température, le temps de floculation est minimal, puis augmente aux températures plus élevées ; à 65°C la présure perd son activité coagulante. (Mahaut *et al.*, 2000).

- **Le pH**

En passant de pH 6,7 à 5,6 la vitesse de coagulation est accrue à cause d'un accroissement de la vitesse d'hydrolyse et par suite une augmentation de la vitesse de raffermissement du gel. La fermeté est significativement importante de pH 6,6 à pH 6,0 due à une plus grande présence du calcium ionisé. Au-dessous de pH 6,0 la caséine se déminéralise et la désagrégation de la structure micellaire est accentuée jusqu'à devenir totale à pH 5,2 donc il en résulte un affaiblissement du réseau (Mahaut *et al.*, 2000).

- **La teneur en calcium**

L'ajout du CaCl₂ entraîne une augmentation du calcium ionisé et du calcium colloïdal ayant pour conséquence un temps de coagulation plus court et une fermeté du gel plus élevée (Mahaut *et al.*, 2000).

- **La teneur en caséines**

La vitesse d'agrégation et la fermeté des gels augmentent avec la teneur des caséines et donc la vitesse d'hydrolyse enzymatique est proportionnelle à la teneur en protéines. (Mahaut *et al.*, 2000).

- **La dimension des micelles**

La relation entre les dimensions des micelles et le temps de coagulation est proportionnelle. Pour les micelles de faible diamètre, riches en caséine k, la vitesse d'hydrolyse est plus rapide (Mahaut *et al.*, 2000).

I.8.7. L'évaluation de la coagulation

- **Le temps de coagulation**

Le temps de coagulation correspondant au temps entre l'ajout d'enzyme coagulante et le début de tranchage du gel. (**Ramet, 1997**).

- **Le temps de prise**

Le temps de prise s'écoule entre l'emprésurage et le début de la floculation, c'est-à-dire la gélification apparente du lait (**Luquet et Boudier, 1981 ; Mahaut et al., 2000**).

- **L'activité coagulante**

L'activité coagulante est définie par l'unité présure (UP) qui correspond à la quantité d'enzyme contenue dans 1 centimètre cube, qui peut coaguler 10 centimètres cubes de substrat standard en 100 secondes à 30°C (**Berridge et al., 1943**).

- **La force coagulante**

Les méthodes anciennes et les plus répandues. L'unité Soxhlet correspond au nombre d'unité de poids ou de volume de lait qui peuvent être coagulés par une unité de poids ou de volume de préparation coagulante en 40 min et à 35° (**Soxhlet et Berridge, 1945**).

I.9. Les produits obtenus

I.9.1. Le yaourt

C'est un lait fermenté obtenu, par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvent vivantes dans le produit fini jusqu'à la DLC, à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme. La quantité d'acide lactique libre contenue dans 100 g de yaourt ne doit pas être inférieure à 0,7 g (**Georges, 2009**).

I.9.2. Les desserts lactés

Sont fabriqués à partir de matières premières laitières qui entrent dans leur composition pour au moins 50%, auxquelles on a ajouté d'autres ingrédients (sucre, fruits, etc.) et des additifs. Ils subissent un traitement thermique de cuisson, pasteurisation ou stérilisation (**Georges, 2009**).

I.9.3. Les crèmes lactières

Contenant entre 12 g inclus et 30 g non inclus de matière grasse, parmi ces crèmes on cite (Crème crue, crème stérilisée fluide, crème UHT, crème sous pression, crème Chantilly, crèmes fouettées) (Georges, 2009).

I.9.4. Le fromage

Obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse (MG), utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse, parmi ces fromages on cite : (Fromages à pâte molle à croûte fleurie , Fromages à pâte molle à croûte lavée , Fromages bleu ou à pâte persillée, Fromages à pâte pressée , Fromages fondus , Fromages à pâte pressée cuite ,Fromages à pâte pressée non cuite , Fromages à pâte filée, Fromage en saumure, Fromages de lactosérum) (Georges, 2009).

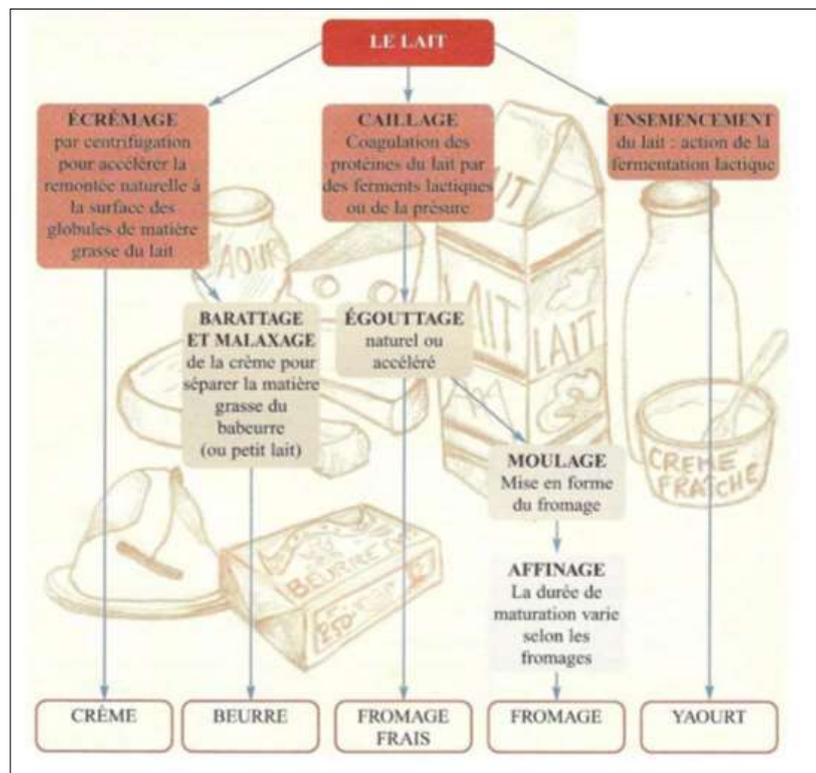


Figure 04: Du lait aux produits laitiers (Mokarem, 2015).

Chapitre II
***Les extraits naturels utilisés
dans la coagulation du lait***

Au cours des 10 dernières années, les recherches ont été activement poussées dans le but de trouver des enzymes coagulant le lait qui peut remplacer la présure animale traditionnelle (Alais et Lagrange, 1972).

Ces dernières années, de nombreux facteurs ont facilité la recherche d'alternatives à la présure pour la fabrication du fromage. Actuellement, les différents substituts de la présure peuvent être divisés en trois groupes : Les produits d'origine animale, les produits d'origine végétale et enfin les produits d'origine microbienne provenant de bactéries ou de champignons (Nouani, 2009).

L'utilisation de la présure végétale est répandue tout autour du bassin Méditerranéen dans les pays tels que l'Espagne, le Portugal ou l'Italie avec l'utilisation des extraits des Ouplantes coagulants comme le chardon, l'artichaut et le gaillet mais aussi en Afrique avec le fruit des arbres comme le Balanites aegyptiaca Angela (Beka, 2011).

II.1. L'activité coagulante

La coagulation du lait se fait par plusieurs types de protéase qui ont plusieurs origines

II.1.1. Les protéases d'origine animale

De nombreuses protéases d'origine animale ont été testées pour une utilisation potentielle en fromagerie. Mais ne sont pas toutes pour la fabrication fromagère, seules les pepsines porcines et bovines présentent un intérêt industriel. Ces derniers ont une activité protéolytique assez proche de celle de la chymosine, leurs sensibilités aux variations des facteurs de milieu sont similaire à l'exception pour l'effet pH, Ils ont des propriétés plus acides et sont meilleurs autour de pH 1,5-2,0. Certains substituts animaux peuvent être considérés comme des substituts à la présure de veau (ex. pepsine de poisson, morue d'Atlantique, requin, estomac de lapin) (Talantikite-Kellil, 2015).

II.1.2. Les protéases d'origine microbienne

En pratique, l'utilisation des préparations enzymatiques microbiennes a été exposée à une stricte réglementation, imposant des contrôles hygiéniques qui sont liés à leur production et extraction et leur toxicologie sévère pour éviter tout risque de toxicité lié à la présence d'antibiotiques et d'aflatoxines. Ces coagulants peuvent être facilement produits par fermentation. Toutefois, ils montrent une forte activité protéolytique pendant la fabrication du fromage, ce qui peut provoquer une perte de protéine, un rendement plus faible, et génération de saveur désagréable (Kahlouche, 2018).

On distingue deux catégories de protéases microbiennes : les succès d'origine bactérienne et les succès d'origine fongique. Les enzymes d'origine bactérienne sont surtout les souches du genre *Bacillus*, leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale. Les caillés obtenus manquent de cohésion du fait d'une trop forte activité protéolytique par comparaison à la présure animale. Les enzymes d'origine fongique, contrairement à celles d'origine bactérienne, ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure, les préparations commerciales employées actuellement proviennent de trois genres de moisissures, *Cryphonectria parasitica*, *Rhizomucor pusillus* et *Rhizomucor Miehei* (Kahlouche, 2018).

II.1.3. Les protéases d'origine végétale

Les protéases sont nécessaires aux plantes dans tous les aspects de leur cycle de vie. Les protéases ont été divisées en groupes sur la base du mécanisme catalytique utilisé pendant le processus hydrolytique. Les principaux types catalytiques sont l'aspartate, la sérine, la cystéine et les métalloprotéases, mais les protéases végétales utilisées comme coagulants du lait n'ont été signalées que pour les trois premiers types et aucune pour les métalloprotéases (Bah *et al.*, 2006). Les protéases utilisées comme coagulants du lait ont été identifiées et étudiées dans presque tous les parties de la plante, qu'il s'agisse de graines, de fleurs ou de latex. (Beka *et al.*, 2014).

Les plus connus sont les ficines, extraites du latex du figuier, la papaïne, extraite des feuilles du papayer, la bromélaïne, extraite de l'ananas et l'extrait de chardon Marie. Ces enzymes peuvent être obtenues à partir de leur source naturelle ou par culture *in vitro* pour assurer un approvisionnement continu en protéases végétales (Shah *et al.*, 2014).

II.1.3.1. Le fruit de figuier

La figue est une sorte de faux fruit de figuier, ce que l'on considère comme un fruit est en fait un réceptacle de forme concave avec un grand nombre de fleurs unisexuées attachées. La figue a la forme d'un petit sac charnu avec un trou, qui est scellé par des bractées imbriquées. Le vrai fruit, ce sont les innombrables petites particules parsemées sur la chair de la figue, ce que l'on appelle akènes. Selon les variétés, la figue peut être trouvée blanche, jaune, verte, noire ou violette et plus ou moins sucrée et se présentent sèches ou fraîches. (El-Khaloui, 2010). Le figuier, dont le nom botanique est *Ficus carica* L, *Ficus* signifie verrue pour (le lait de figuier pour soigner la verrue) et *carica* signifie originaire de la Carie, ancienne province d'Asie mineure (Turquie actuellement) (Cherradou *et al.* 2018). Il

appartient à la famille des Moracées dont la spécificité est celle de contenir du latex. (Siar, 2014).



Figure 05 : Fruit de la figue sèche (photo originale).

II.1.3.2. Les feuille du figuier

Sont très polymorphes, caduques, grandes et à nervation palmée. Elles sont larges (25 cm) et épaisse et fortement lobées (3 à 5 ou 7 lobes profonds selon les variétés). La face supérieure est rugueuse et de couleur vert foncé. Quant à la face inférieure, elle présente des nervures très saillantes de couleur vert clair (Guitnneau, 1992).

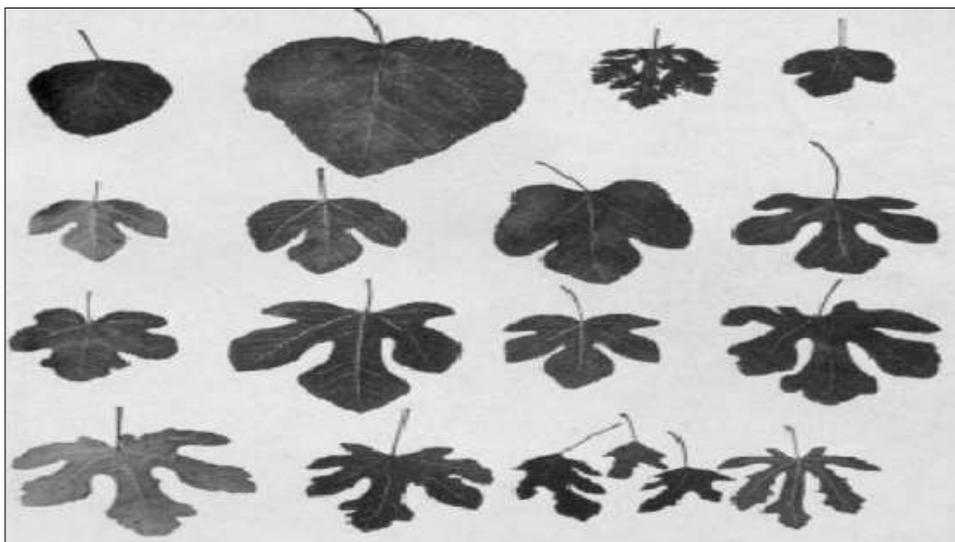


Figure 06 : Type de feuille figue (Condit *et al.*, 1955).

II.1.3.2.1. La ficine de figue

La figue est riche en protéine parmi aux la Ficine (EC 3.4.22.3) qui participe dans la coagulation du lait. Elle est composée de 210 résidus d'acides aminés, son site actif est constitué de deux acides aminés qui sont la cystéine (CYS-25) et l'histidine (HIS-159). La ficine est une protéase à cystéine avec une large spécificité d'hydrolyse des liaisons contenant des acides aminés non chargés, aromatiques et/ou hydrophobes. Le clivage de la liaison Phe105-Met106 de la κ -caséine par la ficine est similaire à celui de la chymosine. D'autre part, la ficine manifeste une activité protéolytique excessive due à l'action non spécifique envers les autres caséines. Par conséquent, le temps de coagulation diminue mais elle mène à la formation de peptides amers, à l'affaiblissement de la concentration du lait caillé et à la dissociation du caillot ce qui affaiblit le rendement du lait caillé (Cherradou *et al.*, 2018).

a. Classification de figuier

Embranchement : Phanérogames

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Hamamélidées

Série : Apétales unisexuées

Ordre : Urticales

Famille : Moraceae

Genre : Ficus

Espèce : *Ficus carica* L. (Joseph et Raj, 2011).

II.1.3.3. Le chardon de marie

Silybum marianum est une plante spontanée ou encore herbe 'mauvaise' identifiée depuis deux mille ans par sa valeur estimable en thérapeutique. Elle a été utilisée comme médicament populaire et traditionnel en Europe et en Asie, sa tige s'appuie sur une épaisse racine principale développée, fibreuse, pivotante, forte, longue et épaisse, c'est une tige cannelée, dressée et rameuse, leurs Feuilles sont vertes, luisantes et en général largement tachetées de blanc le long des nervures bordées de dents épineuses dont l'épine est jaune et très puissante. (Morazzoni *et al.* , 1993).

C'est une plante résistante grâce à la répartition de ces graines sur et en dessous de la surface du sol. Elle ne succombe pas facilement aux différentes tentatives de pâturage (Bonnier, 1990).

Le chardon Marie se trouve particulièrement sur les lieux secs et ensoleillés, souvent sur sols acides, secs et cailloux (Morazzoni et Bombardelli, 1995).

a. Classification de chardon

Selon (Bonnier, 1990), on peut classifier *Silybum marianum* comme suit :

Phylum : Phanérogames

Sous-phylum : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae (Composées)

Sous-famille : Tubuliflores

Genre : *Silybum* Espèces *Silybum marianum* (L)



Figure07 : Fleurs chardon de Marie (photo originale).

II.1.3.4. Le pin d'Alep

Les pins sont des arbres de la famille des pinacées et du genre *Pinus*. Ils sont largement distribués dans les zones tempérées de l'hémisphère. Cette famille comprend environ 250

espèces (Fekih et al., 2014). L'aire de répartition du pin d'Alep est limitée au bassin méditerranéen et occupe plus de 3,5 millions d'hectares et elle est surtout cantonnée dans les pays du Maghreb et Espagne où elle trouve des conditions optimales pour son croissance et en Algérie il occupe 35 de la surface boisée (Quezel, 2003).

Il a une grande valeur économique, écologique et sociale et est aussi utilisé dans le domaine cosmétique et il a une activité antimicrobienne et antifongique. Ses graines sont oléagineuses riches en huile, ce dernier est plein en vitamines essentielles ainsi qu'en macroéléments qui ont un pouvoir nutritif (Houairi, 2019).



Figure 08 : Graines de pin d'Alep (photo originale).

II.1.3.5. La camomille

C'est une plante herbacée bisannuelle ou vivace, qui mesure de 30 à 80 cm de haut et pousse en touffes dressées. La tige, plus ou moins ramifiée, nombreuses ramifications, ridées en longueur. Il a une tige souterraine qui ne rampe pas et il survit grâce aux bourgeons qui poussent sur cette tige. Les feuilles, composées, sont toutes pétiolées et leur limbe est profondément divisé en nœuds latéraux (4 à 12) avec des parties terminales. Capitule (12-22 mm), réuni en une grande corolle de 5-20 voire 30 capitules, possèdent à la périphérie des fleurs ligulées blanches ayant à leur extrémité trois petits denticules ronds et au centre de nombreuses fleurs jaunes tubulées. Le fruit est un akène brun avec 10 côtes longitudinales, avec une courte couronne membraneuse et dentelée, à dissémination anémochore, elle était également utilisée à travers le monde et à travers les âges pour soigner d'autres affections

comme la fièvre, les maux de tête les troubles digestifs, les douleurs dentaires (valdès *et al.*, 2002).



Figure 09 : Fleures de camomille (*Chamaemelum nobile*) (Nelly, 2013).

II.1.3.6. L'artichaut

Originaire de la région méditerranéenne. Il n'existe pas spontanément. Aujourd'hui, on pense que l'artichaut provient du *cynara cardonculus* (*cynara cardonculus*). Trois protéases à activité de caillage (cynarases 1, 2 et 3) ayant une activité de coagulation du lait sont purifiées à partir des fleurs séchées de *Cynara cardunculus*. Protéases sont chacune composées d'une grande et d'une petite sous-unité. Ces trois protéases sont des glycoprotéines contenant des glycanes N-liés à haute teneur en mannose. La *cynarase* 3 présente l'activité protéolytique et de coagulation du lait la plus élevée. Les trois enzymes montrent une activité maximale à pH 5,1 (Silva, 2005).



Figure10 : Artichaut *cynara scolymus* L. (Plagès, 2014).

II.2. L'activité protéolytique

L'activité protéolytique est déterminée en mesurant les unités aspartyl-protéases selon la méthode décrite par **Green et Stackpoole (1975)**, utilisant la caséine du lait comme substrat. Son principe consiste à mesurer l'accroissement des produits d'hydrolyse obtenus par action enzymatique sur la caséine solubilisée dans l'acide trichloracétique (T.C.A.) à 12% concentration finale (**Mouzali, 2001**).

Partie Expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

Problématique

L'objectif principal de cette étude est de déterminer le pouvoir coagulant des extraits des plantes sur le lait. De manière spécifique, il s'agit de déterminer la force de coagulation, puis le dosage des protéines (concentration) dans les différents extraits étudiés.

III.1. Matériels et méthodes

III.1.1. Matériels

Les différents appareils utilisés et leurs marques sont montrés dans le **tableau 05** suivant :

Tableau 05 : les différents appareils utilisés et leurs marques

Les appareils (Matériels)	Marques
Lyophilisateur	CHRIST
Centrifugeuse	SIGMA
Spectroscopie	OPTIMA SP-3000nano
Mixeur	CONDOR
Bain-marie	Nuve bath
pH mètre	STARTER3100
Balance de précision	OHAUS Pmax 50g
Agitateur magnétique+plaque chauffante	JlabTEch
Autoclave	VENTICELL
Distillateur	GFL
Réfrigérateur/Congélateur	Maxipower
Vortex	NAHITA
Conductimètre	METTLER TOLEDO

Les matériels consommables au laboratoire :

Ustensiles

- Micropipette de 100 à 1000), papier whatman, flacons stériles, étiquettes, spatule, epindorff, cuillères stériles, ciseau, pissettes, portoires, papier Josef, papier aluminium, papier film, scotch, barreau magnétique, Portoires.

Verreries

Mortier, Béchers, Tube a essaie, Tube a visse, entonnoir, erlenmeyers (de 250 ml, 500 ml et 1000 ml), éprouvettes graduée (250 ml et 500 ml), flacons stériles, burettes.

III.1.1.1. Echantillonnage « collecte du lait »

Dans la présente étude la matière première utilisée est le lait écrémé provient de la laiterie «d'usine de Yahyaoui» située dans la wilaya de LAKHDARIA(Bouira).

L'échantillon a été récupéré dans des sachets de prélèvement stériles, environ 300 g par sachet. Immédiatement l'échantillon a été transporté dans une glacière au laboratoire de biochimie 4, Faculté des SNV/STU, Université de Bouira.

III.1.1.2. Matériel végétal

Cinq types des plantes ont été utilisés dans cette étude pour la recherche de l'activité coagulase sur le lait :

Les grains de pin d'alep (*Pinus halepensis*), artichauts (*Cynara scolymus L*) et les fruits et feuille de figue (*Ficus carcica*) ont été acheté en mois d'Avril 2021 et Mai 2021 respectivement. Ainsi les fleurs de camomille (*Chamaemelum nobile*) et celles du Chardon Marie (*Silybum marianum*) ont été récoltées fraîchement au mois de Mai 2021 à l'université de Bouira.

Les feuilles de figue (*Ficus carcica*) ont été aussi récoltées au mois de Mai au niveau de jardin de la maison (Ras Bouira).

III.1.2 Méthodes

III.1.2.1 Préparation du lait

12 g du lait en poudre (écrémé) ont été mit dans 100 ml de CaCl₂ (0,02M), le mélange a été agité pendant 15 min à la température ambiante (Ammouche *et al.*, 1985).



Figure 11 : Préparation du lait (photo originale).

III.1.2.2 Préparation des extraits des plantes

III.1.2.2.1. Les graines de pin d'Alep

L'obtention de l'extrait protéique du pin d'Alep a été effectuée selon le protocole de (Clement *et al.*, 2010 ; Kimbaris *et al.*, 2006) modifié.

Après séchage de 50 g des graines de pin d'Alep dans l'étuve à une température de 40°C pendant 24 h, nous les avons broyés. Ensuite, la poudre obtenue a été mélangée avec 250 ml d'hexane pendant 4 h à une température ambiante pour éliminer les lipides, puis une étape de filtration à été réalisée par papier whatman.

La poudre délipidée à été mise dans un tampon Tris/HCL de 0,1M (pH=7,2), Suivi d'une macération pendant 1 h. Enfin une étape de précipitation par l'acétone à été réalisée (1V/3V) puis incubé dans le congélateur pendant une nuit.

Le mélange a été centrifugé à 3000 t/min dans une centrifugeuse (SIGMA 3-16L), le culot obtenu a été lavé par l'acétone suivi d'une deuxième centrifugation 3000 t/15 min puis la masse de 0,32 g à été récupérée et solubilisée dans 6,4 ml de NaCl (137 mM) suivi d'une macération dans NaCl pendant une heure et enfin le pH a été mesuré par un pH-mètre (STARTER3100) ainsi ajuster a pH neutre de 6,4.



Figure 12 : poudre délipidée de pin dalep (*Pinus halepensis*) (photo originale).

III.1.2.2.2 L'artichaut (*Cynara cardunculus* var *scolymus*)

En suivant le protocole décrit par **Sidrach *et al.*, (2005)** modifié

15 g de la partie interieur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) a été mise dans 50 ml de tampon citrate de sodium (0,05 M) pH 3, puis une macération a été fait pendant 24 h, ensuite nous avons filtré l'échantillon en utilisant papier filtre whatman, et a la fin l'extrait brute a été neutralisé a un pH neutre 6,4.



Figure 13 : Extraction de la partie intérieure (le foin) de l'artichaut (*Cynara scolymus* L) (photo originale).

III.1.2.2.3 La camomille

Une quantité de 5 g de fleurs ont été lavées, broyées puis tamisées dans le but d'éliminer les impuretés. Ces fleurs avaient subies a une macération dans 100 ml du l'eau distillée froide avec agitation périodique pendant 24 h. Une étape de filtration a été utilisée par un papier filtre, l'extrait récupéré par la filtration a été neutralisé en ajustant le pH à 6,4 pour éliminer l'effet de coagulation acide (Sidrach *et al.*, 2005).



Figure 14 : macération de camomille (*Chamaemelum nobile*) (photo originale).

III.1.2.2.4 Les feuilles de figuier

L'obtention des extraits protéiques de feuilles de figuier et de la figue sèche a été effectuée selon le protocole (Nouani *et al.*, 2009) modifié.

Les feuilles de figuier n'ont été soumises à aucune protection agricole, après lavage, séchage et broyage des feuilles, une quantité de 7,2 g a été pesée

La masse a été mise dans 150 ml de NaCl (137 mM) et le mélange a été mis dans un sonicateur de type (SELECTA) pendant une heure à 4 °C et fréquence de 50 Hz. Suivie d'une macération pendant 24h, a la fin nous avons filtré l'échantillon par papier filtre whatman, et le filtrat a été neutralisé a un pH 6,4.



Figure 15 : Feuille de figue (Bakour) (*Ficus carica*) (photo originale).

III.1.2.2.5 Les fruits de figue

Après lavage et broyage de figue sèche une quantité de 10 g a été pesée, Cette masse a été subit a une macération dans 100 ml du l'eau NaCl avec agitation périodique pendant 24 h. Ensuite l'ensemble a été filtré par un papier filtre whatman. Le filtrat a été neutralisé a un pH 6,4 afin d'éliminer l'effet de coagulation acide.



Figure 16 : Figue fruit (*Ficus carica*) (photo originale).

III.1.2.2.6 Le chardon de marie

En suivant le protocole de (Vairo-Cavalli *et al.*, 2005) modifié nous avons obtenu l'extrait protéique de chardon de marie.

Après lavage, séchage et broyage de chardon marie une quantité de 10 g a été pesée. La masse a été subit a une macération dans 100 ml du citrate de sodium avec une agitation périodique pendant 24 h .Le mélange obtenu a été filtré par papier whatman et le filtrat a été neutralisé a un pH de 6,4.

L'étude de l'activité coagulante de ces extraits a été réalisée avant et après la lyophilisation ; donc une étape de concentration de ces extraits a été nécessaire dans un lyophilisateur (CHRIST) qui n'indique pas la température.



Figure 17 : Chardon de Marie (*Silybum marianum*) (photo originale).



Figure 18: lyophilisation des extraits végétaux (CHRIST) (photo originale).

III.1.2.3 Le dosage des protéines par la méthode de Bradford (1976)

Elle est basée sur l'interaction en milieu acido-alcoolique entre les protéines et le BBC G-250. Ce colorant rouge/brun à l'état libre, prend une teinte bleue quand il s'adsorbe aux protéines ce qui provoque un déplacement de son pic d'absorption maximale qui passe de (464 nm, forme cationique) au (595 nm, forme anionique).

Cette adsorption se fait principalement et de façon spécifique par des liaisons ioniques avec des acides aminés basiques (Arg, Lys, His) et aromatiques de la molécule protéique. Plusieurs auteurs ont utilisé cette méthode en raison de sa haute qualité déterminée par sa simplicité, rapidité, grande sensibilité avec une bonne stabilité de la coloration (Bradford, 1976). (Préparation du réactif de Bradford et le mode opératoire de la méthode : Voir (l'annexe III).

III.1.2.4 La détermination de l'activité coagulante

L'activité coagulante (AC) de l'extrait enzymatique est déterminée selon la méthode d'Arima *et al.*, (1970). Elle est basée sur l'évaluation visuelle de l'apparition des premiers flocons de la coagulation du lait écrémé et qui s'exprime en termes d'unité d'activité coagulante (UAC). Le temps de coagulation correspond au temps s'écoulant entre l'addition de l'enzyme coagulante et l'apparition des premières particules du caillé sur la paroi interne de tube incliné subissant un lent mouvement de rotation. L'activité coagulante est également exprimée en force de coagulation (F), basée sur le calcul du temps de coagulation sur le

substrat (lait écrémé à 10% dans une solution de CaCl₂ 0,01 M, pH = 6,4) pré-incubé à 35 °C pendant 15min.

Elle est calculée selon la formule suivante: $F (US) = 2400 \times V1 / T \times V2$ (Arima *et al.*, 1970).

Où :

2400 : 40 min x 60 sec;

V1 : volume du lait écrémé à coaguler ;

V2 : volume de l'extrait coagulant employé;

T : temps de coagulation (en sec).

Trois tubes de lait pour chaque extraits végétal (cas lyophilisées, et/non lyophilisées) ont été incubés dans le bain marie (**Nuve bath**) pendant 10 min. un rapport volumique de 100 µl, 600 µl et 1000 µl d'extrait pour 1ml de lait ont été utilisés pour étudier l'activité coagulante des plantes. Puis on a calculé la moyenne et l'écartype pour chaque tube dont on a observé une coagulation. Ces expériences ont été réalisées à températures 35°C, 40°C respectivement.

Ainsi la mesure de l'activité coagulante de la présure en utilisant un rapport volumique de 1000µl de présure pour 1000µl du lait.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1 Résultats et discussion

IV.1.1 L'activité coagulante (AC)

Dans cette étude l'activité coagulante a été déterminée par l'utilisation des différents volumes des extraits protéiques naturels.

IV.1.1.1 Le rapport volumique 100 μ l d'extrait pour 1000 μ l du lait

Les résultats de coagulation de lait par l'utilisation des extraits végétaux sous les conditions de température et de séchage différentes sont représentés dans les figures 19,20 et 22.

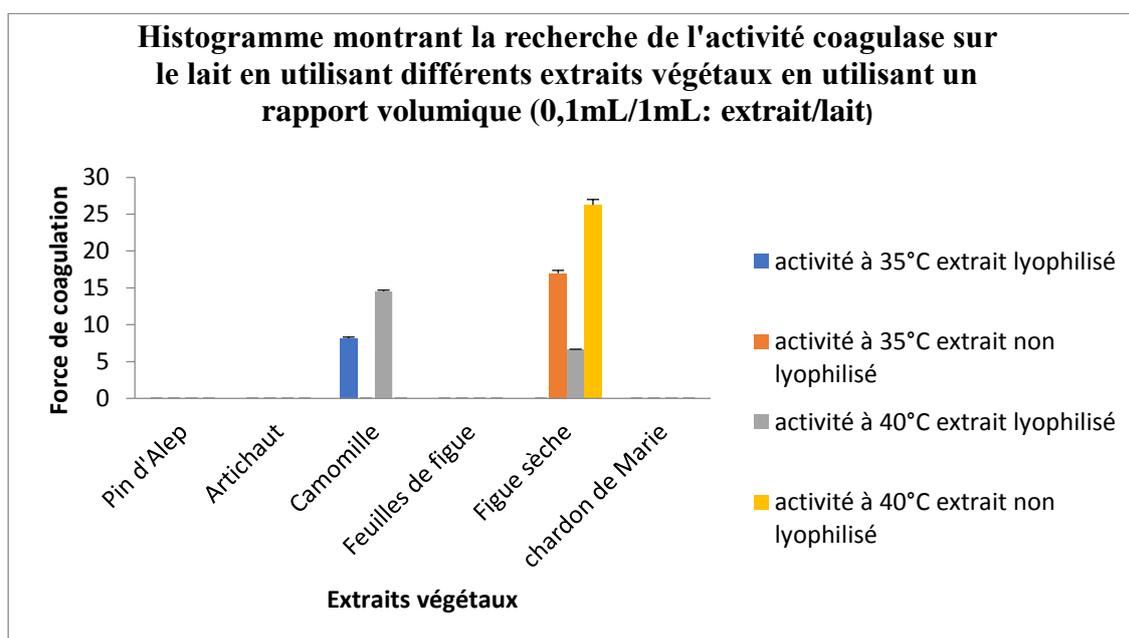


Figure 19: Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (0,1ml/1ml: extrait/lait).

Il ressort à travers l'observation des activités coagulantes illustrées dans la **figure19** que la meilleure activité coagulante a été observée pour l'extrait de figue sèche non lyophilisé ($AC= 42, 43 \pm 2,10$ US) et l'extrait de la camomille lyophilisé ($AC= 30,96 \pm 4,44$ US) sous les conditions de (pH=6,4), température (40° C), par contre aucune activité coagulante a été observé par les autres extraits étudiés.

L'activité élevée de figue sèche est traduite par la récupération facile de système enzymatique qui est très important à l'état brute comme à l'état purifié mais son utilisation nécessite une purification pour améliorer les propriétés sensorielles. (Nouani *et al.*, 2009).

L'absence de coagulation de lait lors de l'utilisation de l'extrait de chardon dans notre étude est expliquée par la forte activité de l'extrait enzymatique à pH acide (3 à 5) et l'essentiel de leur efficacité est perdue à des pH qui se rapprochent de neutralité (Claverie et Hernandez., 2007 ;Vairo-cavalli *et al.*, 2004). Ainsi la couleur brune de notre extrait signifie une concentration élevée en polyphénol qui peuvent interagir avec le site actif des protéases ce qui provoque alors l'inhibition de son activité, donc une étape de purification par le sulfate d'ammonium est nécessaire (Grozdanic, 2013).

IV.1.1.2 Le rapport volumique 600 µl et 1000 µl d'extrait pour 1000 µl du lait respectivement

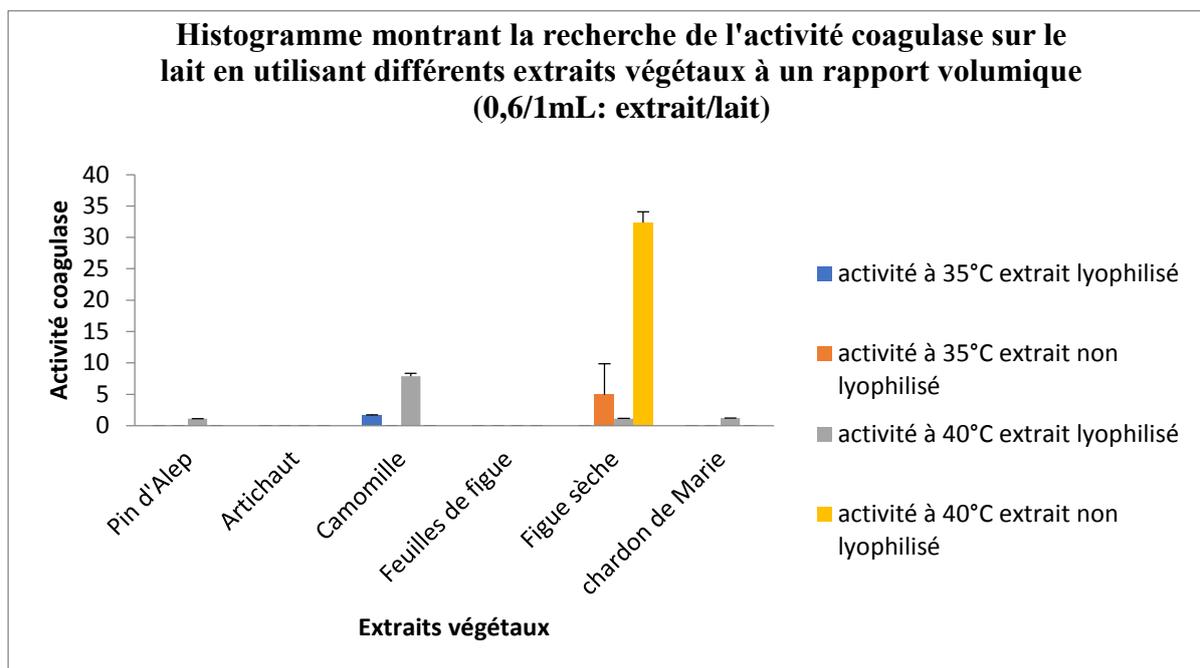


Figure 20 : Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (0,1ml/1ml: extrait/lait).

IV.1.1.3. Le rapport volumique 1000µl et 1000µl d'extrait pour 1000µl du lait respectivement

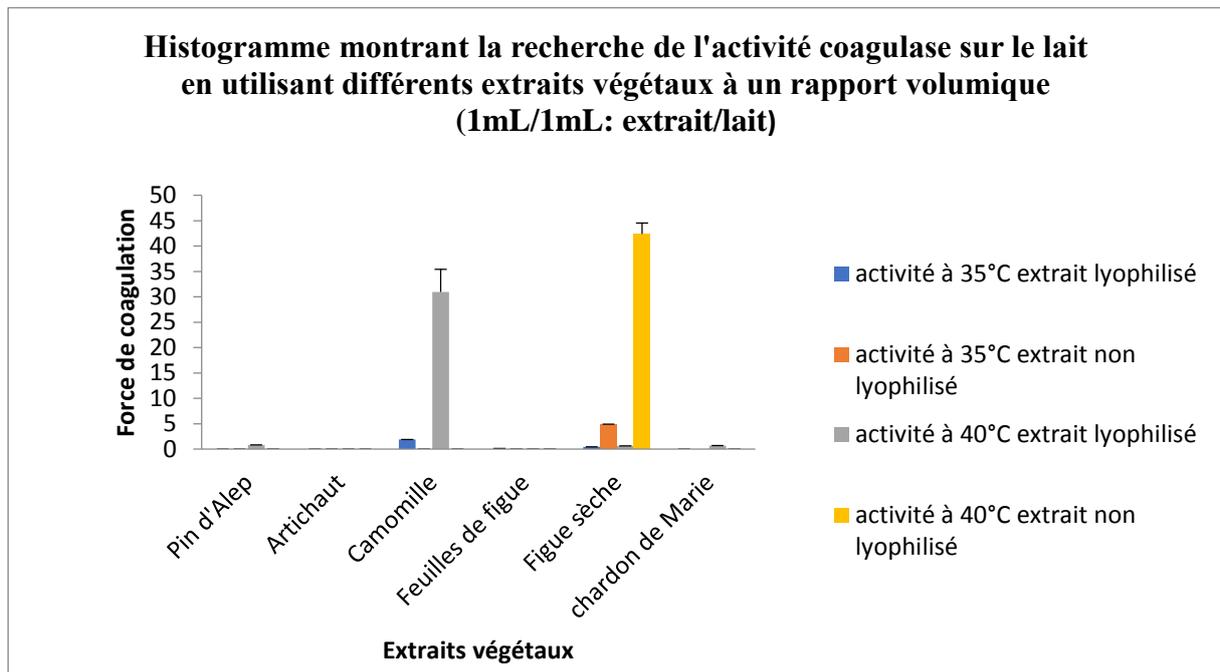


Figure 21: Histogramme montrant la recherche de l'activité coagulase sur le lait en utilisant différents extraits végétaux en utilisant un rapport volumique (1ml/1ml: extrait/lait).

Il ressort à travers l'observation des activités coagulantes des figures 19; 20 et 21 que l'activité coagulante des extraits protéiques est proportionnel a la température (une meilleure activité a été observé a 40 C°).

Raposo et Domingos, (2008) montrent que les protéases végétales ont une meilleure stabilité thermique que la chymosine à haute température ce qui a déjà été observé dans des extraits d'autres plantes comme l'extrait de *C. calcitrapa* .Cela est confirmé par plusieurs auteurs qui précisent que les protéases végétales sont très thermostables et elles ont généralement une température optimale d'activité coagulante beaucoup plus élevée que celle des protéases d'origine animale (**Roseiro et al. 2003 ; Sidrache et al., 2005 ; Chazzarra et al., 2007 ; Claverie et Hernandez, 2007**). Ce qui justifie l'augmentation de l'activité coagulante en augmentant la température de 35 °C a une température de 40 °C.

Le comportement observé peut être dû à la présence de chaînes glycosidiques sur les protéases (**Beka et al., 2011**) puisque la glycosylation des protéines peut contribuer à leur stabilité thermique, leur solubilité et leur architecture fonctionnelle.

Pour la camomille et la figue sèche on observe une diminution significative de leurs activités coagulantes lorsqu'on a augmenté le volume d'extrait. Cependant une augmentation a été observé de l'activité ($AC= 42,43 \pm 2,1$ US) dans le cas de figue sèche non lyophilisée à 40 °C. Et pour le chardon de marie et pin d'Alep on observe une activité coagulante très négligeable.

Les résultats de la présente étude montrent que l'activité coagulante de la présure ($AC=8,73\pm 0,12$ US) est presque 4 fois inférieure à l'activité coagulante de l'extrait de la camomille lyophilisée ($AC= 30,96\pm 4,44$ US) et aussi inférieure à celle de la figue sèche ($AC= 42,43\pm 2,10$ US). Donc l'extrait enzymatique de figue sèches et la camomille peuvent remplacer la présure dans la coagulation du lait.

Cependant, **Faccia *et al.*, 2012** montrent que l'activité protéolytique de l'extrait de ficine est six fois plus élevée que celle de la solution de présure. En effet, elle est estimée à $167,81\pm 0,51$ $\mu\text{g}/\text{mL.h}$ pour l'extrait brut de ficine contre une valeur de $28,2\pm 0,50$ $\mu\text{g}/\text{mL.h}$ pour la présure. Cette activité protéolytique excessive de la ficine a été signalée par plusieurs auteurs (**Nouani *et al.*, 2009**; **Shah *et al.*, 2014**). Donc on ne peut pas utiliser cet extrait dans l'industrie de fabrication de fromage car cette activité protéolytique élevée peut affecter la qualité sensorielle de fromage et donne un goût amer pour notre produit.

IV.1.2. Le dosage des protéines

Dans cette étude la concentration en protéines dans chaque extrait brute (5 mg de la poudre lyophilisée par 5 ml de solvant d'extraction) a été déterminé en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage $y=0,928x-0,044$.

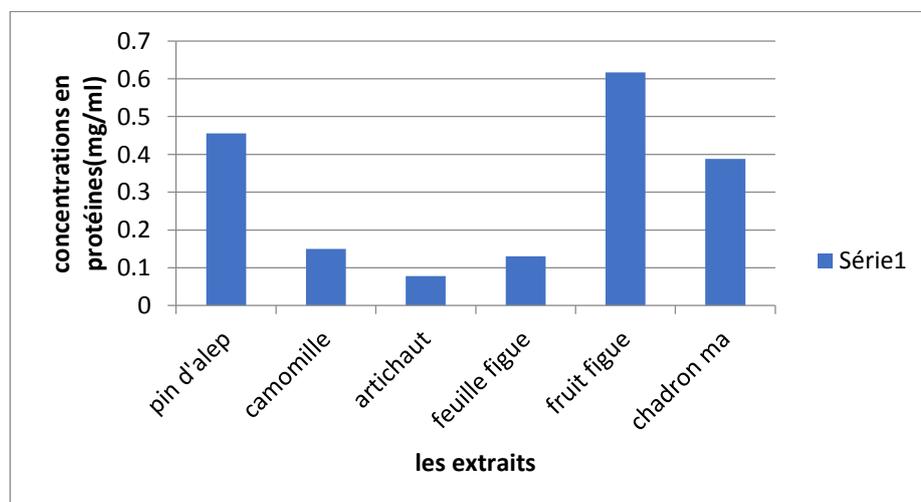


Figure 22 : la concentration des protéines dans chaque extrait brute (5mg/5mL).

D'après la figure 22 on observe que la figue sèche et pin d'Alep ont une concentration en protéine élevée de [c]= 0,62 mg/ml et [c]= 0,46 mg/ml respectivement. Cependant l'artichaut a une concentration en protéine très faible par rapport aux autres extraits bruts étudiés.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par (Nouani *et al.*, 2009) qui montrent que la concentration totale en protéines de préparation brute de figuier est environ 4 fois supérieur à celui de l'artichaut avec un rendement protéique de 11 et 2,02% respectivement. Par ailleurs, l'activité coagulante obtenue est étroitement liée aux taux protéiques. En effet la sève de figuier représente la plus grande activité dans un rapport de 1/50 par rapport à l'extrait coagulant de l'artichaut.

Des études réalisées sur la sève de figue par Raskovic et ses collaborateurs (2015), montrent que l'activité coagulante peut être influencée par le temps de collecte où une activité importante a été observée au mois d'Aout par rapport au mois de Mai ; cela est expliqué par la différence de la concentration des protéines dans la figue par le temps de collecte. Donc l'activité coagulante est étroitement liée à la teneur en protéines.

On peut expliquer l'absence (ou faible activité) de coagulation de lait en utilisant l'extrait brute de chardon et l'artichaut par plusieurs facteurs pouvant influencer l'activité coagulante telles que la méthode d'extraction, la maturité de la plante, la localisation géographique, la partie de la plante utilisé et même par le pH et la température d'activité des protéases.

Conclusion

Conclusion

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la coagulation du lait par des différents extraits en utilisant des protéases végétales (des molécules à forte valeur ajoutée) pourraient intervenir, en remplacement certaines protéases d'origine animale ou microbienne importées au prix fort, par l'utilisation des extraits séchés comme le chardon marie, la figue sèche, la camomille, les feuilles de figue, l'artichaut, le pin d'Alep appartenant aux plantes étudiées dans la fabrication d'un fromage par des procédés moderne.

L'objectif de ce travail est de mieux connaître l'agent coagulant de ces différents extraits et de voir la possibilité de leur utilisation dans l'industrie fromagère. Pour atteindre cet objectif, notre travail a porté sur l'extraction de l'agent coagulant de ces plantes, la caractérisation de l'extrait obtenu et l'évaluation de son activité coagulante et protéolytique par comparaison à la présure, il est nécessaire d'optimiser les méthodes d'extraction pour améliorer le rendement comme la lyophilisation et déterminer la meilleur dose de l'extrait pour une coagulation rapide, déterminer la relation entre le temps et la force de coagulation.

Les deux meilleurs extraits sont le fruit de figue sèche et la camomille, cette dernière n'a pas connu d'utilisation industrielle antérieure, d'où l'importance de notre investigation, qui a démontré à travers l'activité coagulase, l'éventuel intérêt de l'extrait aqueux de la camomille, dans la transformation du lait.

Références

Bibliographiques

« A »

- Alais, C., et Linden, G. (1997)**. Abrégé de biochimie alimentaire. 4^{ème} Edition Masson. Paris, 248 p.
- Alais. (1984)**. Principes des techniques laitières. Sciences du lait. 4^{ème} Edition. Paris: SEPAIC, 814p.
- **Alais, C. et Lagrange, A. (1972)**. Etude biochimique d'une protéase coagulante produite par *Mucor miehei*. I. Activité coagulante et activité protéolytique. *Le lait*, vol. 52, no 517, p. 407-427.
- Amiar, M et Baiche, L. (2015)**. Influence du rapport gras/sec sur le rendement final d'un fromage à pâte molle type camembert fabriqué à la laiterie Draa Ben Khedda. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- Ammouche, A & Morsli, A., Bellal, M. M. (1985)**. Etude Du Pouvoir Coagulant Sur Le Lait De Quelques Plantes Locales. In *Annales de l'Institut national agronomique El Harrach* (Vol. 9, No. 1, pp. 63-84). ASJP.
- Arie, F, Srikumalaningsh et Ariesta .W (2012)**. Process engineering of drying milk powder with Foam mat drying method. *Journal of basic and applied scientific research* 2(4):3588-3592.
- **Arima, A., Gillet, V., & Ginocchio, J. (1970)**. Energies of quartet structures in even-even $N=Z$ nuclei. *Physical Review Letters*, 25(15), 1043.

« B »

- **Bah, T. (2006)**. L'accompagnement du repreneur par le cédant dans les transmissions des PME: une approche par la théorie du deuil (Doctoral dissertation, Montpellier 1).
- **Bradford, M. M. (1976)**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- **Bennett, R. J., & Johnston, K. A. (2004)**. General aspects of cheese technology. In *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (Vol. 2, pp. 23-XIII). Academic Press.
- **Benani Souad Touatia. (2017)**. Mémoire de fin d'études En vue de l'obtention du diplôme de master Valorisation et optimisation de l'utilisation d'un coagulant végétal pour la

fabrication d'un fromage traditionnel. Université Abdelhamid Benbadis Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 38p.

- **Ben Mahdi MH. et Ouslimani S. (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. *European Journal of Scientific Research*,36(3), 357-362.

-**Beka, R. G. (2011).** Une alternative végétale en fromagerie: préparation d'un extrait coagulant à partir des fruits de *Balanites aegyptiaca*: étude biochimique et application technologique (Doctoral dissertation, Lille 1).

-**Beka, R. G., Guïama, V. D., Delmont, A., Donn, P., Slomianny, M.C., Libouga, D. G., et al. (2011).** Glycosyl part identified within *Balanites aegyptiaca* fruit protease. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49, 397-401.

-**Beka, R. G., Krier, F., Botquin, M., Guïama, V. D., Donn, P., Libouga, D. G., & Vercaigne-Marko, D. (2014).** Characterisation of a milk-clotting extract from *Balanites aegyptiaca* fruit pulp. *International Dairy Journal*, 34(1), 25-31.

-**Berridge N. J., Davis J. G., Kon P. M., Kon S. K. et Spratling F. R. (1943).** The production of rennet from living calves. *J. Dairy Res.* 13, 145-161.

-**Boubezari M T. (2010).** Contribution a l'étude des caractéristiques physicochimique et microbiologique du lait chez quelque race bovine, ovine et caprine dans quelques élevages de la région de Jijel. Mémoire pour l'obtention de magister en médecine vétérinaire Mentouri – Constantine. 112p.

-**Bourgeois C., Mescle J.F. et Joseph Z. (1990).** Microbiologie Alimentation ; Aspects Microbiologiques de la sécurité et de la qualité alimentaire. Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris, 422p.

-**Bourgeois C. M et Leveau J.Y. (1980).** Technique d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Tome3., Edition. Tec et Doc. Paris. France.

- **Bose U, Howitt CA, Colgrave ML (2019).** Proteases as Digestive Aids. *Food Chemistry*, 2: 314-321.

-**Bonnier, G., Douin, R., & Poinot, J. (1990).** [La grande flore en couleurs]; La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier: France, Suisse, Belgique et pays voisins. Belin.

-Bouamine, I., Mansouri, F., et Maarfia, R. (2020). Contribution à l'étude de fabrication de fromage à partir de trois types du lait:«cas du lait de vache; lait de chèvre; lait de dromadaire».

« C »

- **Cauty.I. et Perreau.J.M. (2003).** La conduite du troupeau laitier. ED. France Agricole, Paris. 288p

-Cecchinato A, Penasa M, Cipolat gotet C, De Marchi M, Bittante G. (2012). Short communication: Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk. J. Dairy Sci, vol. 95,1709-1713.

-Cerretani, G. (2001). Da detersivo a coagulante: le molteplici azioni del cardo. Caseus-Via Lattea, vol. 6, p. 16.

-Cherradou, Z., et Azidane, L. (2018). Contribution à l'optimisation de la fabrication d'un fromage frais artisanal en utilisant du latex de figuier.

-Claude Michel J., Pouliot M., Richard J. et Vallerand C. (2002). Lait de consommation In VIGNOLA C. L., Science et technologie du lait-transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).

-Chazarra, S., Sidrach, L., Lopez-Molina, D., et Rodriguez -Lopez, J. N. (2007). Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus* L.) flowers. International Dairy Journal, 17, 1393-1400.

-Clement, F., Pramod, S. N., & Venkatesh, Y. P. (2010). Identity of the immunomodulatory proteins from garlic (*Allium sativum*) with the major garlic lectins or agglutinins. International Immunopharmacology, 10(3), 316-324.

-Condit IJ. (1955). Fig Variétés : A Monograph. Hilgardia à journal of agricultural science. p 323-538.

« D »

-Desmazeaud M. et Spinnler E. (1997). Laits et produits laitiers in LARRETAGARDE diététique. Ed. Tec & Doc Lavoisier. 424p.

« E »

-El-Khaloui, M. (2010). Valorisation de la figue au Maroc. Ministère de l'Agriculture et de la pêche maritime. N°186, 1-4.

« F »

-Faccia, M., Picariello, G., Trani, A., Loizzo, P., Gambacorta, G., Lamacchia, C., & Di Luccia, A. (2012). Proteolysis of Caciocotta cheese made from goat milk coagulated with caprifig (*Ficus carica sylvestris*) or calf rennet. *European Food Research and Technology*, 234(3), 527-533.

- **FAO. (2008).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Département de l'agriculture. <http://www.fao.org/3/t4280f/T4280F00.htm>. Consulté le (1/07/2021).

-FAO., (2010). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Lait de consommation <http://www.horizon.documentation.ird.fr>. Consulté le (1/07/2021).

- **Fekih, N., Allali, H., Merghache, S., Chaïb, F., Merghache, D., El Amine, M., ...& Costa, J. (2014).** Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian pacific journal of tropical disease*, 4 (2), 97-103.

-Fredot E. (2006). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 (397 pages).

-Froc J. (2001). Des jus de fruits ou de plantes pour faire du fromage. *INRA mensuel* n°110, 41-42.

-Fox P.F., Mc Sweeny P. L. H. (2003). *Advances in Dairy Chemistry, Proteins*, vol.1, 3rd ed., pp: 277–310.

« G »

- **Goursaud J. (1985)** .Composition et propriétés physico-chimiques. In : LUQUET F.M., *Lait et produits laitiers*. 1ère éd. Paris : Technique et documentation Lavoisier. Vol.1, 1-90.

-Green M.L., Stackpoole A. (1975). The preparation and assesment of a suitable *Mucor pusillus* Lindt proteinase-swine pepsine mixture for Cheeddar cheesemaking. *J. Dairy res.*, 42: 297–31.

- **Grozdanovic, M. M., Burazer, L., et Gavrovic-Jankulovic, M. (2013).** Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) extract shows potential as a low-cost and efficient milk-clotting agent. *International Dairy Journal*, 32(1), 46-52.
- Guiraud, J.Y. et Galzy, P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition de l'usine. 39 p.
- **Guitneau, G. (1992).** Connaitre et reconnaître la flore et la végétation méditerranéenne Ed. Ouest-France. 331p.
- Georges, B. (2009).** Laits et produits laitiers , spécification technique de l'achat public ,47p.
- Gurumallesh P, Alagu K, Ramakrishnan B, Muthusamy,S. (2019).** A systematic reconsideration on proteases. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128: 254-267.

« H »

- Hassen, A. N. et Frank, J. F. (2001).** Starter cultures and their use. In Marth, E. H. *Food Science and Technology*. Marcel Dekker, New York. Pp: 151-206.
- **Houairi, S. (2019).** Evaluation de l'Activité anti-radicalaire de *Pinus halepensis* Mill (Doctoral dissertation).
- HSIEH J.F. et PAN P.H. (2012).** Proteomic profiling of the coagulation of milk proteins induced by chymosin ; *J. Agric. Food Chem.*; 60:2039-2045.

-

« J »

- Jeantet, R., Ducept, F., Dolivet, A., Méjean, S., & Schuck, P. (2008).** Residence time distribution: a tool to improve spray-drying control. *Dairy Science & Technology*, 88(1), 31-43.
- **Joseph J. et Raj S. J. (2011).** Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn—An overview. *International Journal of Pharm-Tech Research*. 3: 0812.
- Journal Officielle de la République Algérienne. (1993).** Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, N° JORA : 069 du 27-10-1993.

« k »

-**Kahlouche, A. (2018)**. Caractérisation biochimique comparée des protéases coagulant le lait d'origine animale (chevreau), végétale (Tourteau de tournesol) et microbienne (*Bacillus mojavensis* P47M). Effets catalytiques sur les caséines des laits bovin et caprin (Doctoral dissertation, ENSA).

-**Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., et Polissiou, M. G. (2006)**. Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics sonochemistry*, 13(1), 54-60.

« L »

-**Larpent J.P., (1997)**. Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire., Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 704-711.

-**Lo Piero A.R., Puglisi I. Et Petrone G. (2002)**. Characterization of lettuce, a serine-like protease from *Lactuca sativa* leaves, as a novel enzyme for milk clotting. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2439- 2443.

-**Luquet f. M. et Boudier J. F. (1981)**. Lexique des termes utilisés en industrie laitière, 2ème édition, Lavoisier Tec. et Doc., 185p.

« M »

-**Mahaut M., Jeantet R., Braule G. (2000)**. Initiation à la technologie fromagère. Editions Tec et Doc Lavoisier, 1-21.

-**Mandy J., Doris J., and Harald R. (2011)**. Recent advances in milk clotting enzymes. Review, *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 14-33.

-**Matsuoka T, Kawashima T, Nakamura T, Yabe T. (2017)**. Characterization and comparison of recombinant honeybee chymotrypsin-like protease (HCLPase) expressed in *Escherichia coli* and insect cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81 (7), 1401-1404.

- **Mahaut M., Jeantet R., Schuck P. Et Brule G. (2000)**. Les produits industriels laitiers Ed Tec et Doc. – Lavoisier 26-40.

- **Mietton, B (1995)** . La typologie des fromages, Symposium organisé par la fondation des Gouverneurs et le centre de recherche et de développement sur les aliments d'agricultures et Agroalimentaire Canada, octobre, 245p.

-**Mosztbacher D, Demcsak A, Sahin-Toth M. (2020)**. Measuring digestive protease activation in the mouse pancreas. *Pancreatology*, 20 (2), 288-292.

-**Mouzali, L. (2001)**. Extraction et caractérisation de l'agent coagulant de la fleur de cardon sauvage (*Cynara cardunculus*).

-**Morazzoni, P., Montalbetti, A., Malandrino, S., & Pifferi, G. (1993)**. Comparative pharmacokinetics of silipide and silymarin in rats. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 18(3), 289-297.

-**Mukhopadhyay M., Sastry S.V.G.K. (1995)**. Process for Cyclic supercritical fluid CO₂ extraction of fragrances (absolute or essential oils) from jasmine flowers. *Indian Patent*, 183-454.

-**Morazzoni, P., et Bombardelli, E. (1995)**. *Silybum marianum* (*Carduus marianus*). *Fitoterapia* (Milano), 66(1), 3-42.

-**Mokarem Fatima. (2015)**. Caractérisation et Evaluation des aptitudes technologiques des Lactocoques isolés d'une crème fraîche crue destinée à la transformation industrielle. *Memoire de master en biologie*. Mostaganem : Université Ibn Abdelhamid ibn Badis, 75p.

« N »

- **Nelly, C.B. (2013)**. Price en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Thèse d'Etat de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques. Toulouse. France. 192p.

-**Nouani, A. (2009)**. Recherche de succédanés de la présure traditionnelle utilisés dans la coagulation du lait (Doctoral dissertation).

-**Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S., Bellal, M. M., & Dadie, A. (2009)**. Characterization of the purified coagulant extracts derived from Artichoke Flowers (*Cynara scolymus*) and from the Fig Tree Latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol*, 7(1), 20-29.

« O »

-Odumeru, J. A. (2012). Food Biochemistry and Food Processing. Wiley-Blackwell, Microbial Safety of Food and Food Products, 787-789.

« P »

-Plagès, J. N. (2014). Artichaut et Cardon Quels sont ces chardons que l'on mange ? Histoire des plantes (629.) : 42-45.

« Q »

- Quézel, P., & Médail, F. (2003). Que faut-il entendre par" forêts méditerranéennes. Forêt méditerranéenne, 24(1), 11-31.

« R »

-Ramet J. P., (1997). Propriétés physiques du coagulum In : Le fromage, de la science à l'assurance de qualité Eck A., et Gillis J.C. (coordonnateurs) pp. 324-333, 3ème édition, Lavoisier Tec. et Doc, 891 p.

- Ramet, J. P., (1997). L'égouttage du coagulum. Le Fromage, Tec et Doc Lavoisier, Paris, 42-61.

- Randazzo, C.L., Caggia, C. and Neviani, C.L.E. (2009). Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. J. Microbiol. Methods, 78: 1–9.

-Raposo, S.,et Domingos, A. (2008). Purification and characterization milk-clotting aspartic proteinases from *Centaurea calcitrapa* cell suspension cultures. Process Biochemistry, 43 (2), 139-144.

- Raskovic, B., Lazic, J., et Polovic, N. (2016). Characterisation of general proteolytic, milk clotting and antifungal activity of *Ficus carica* latex during fruit ripening. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(2), 576-582.

-Reumont P. (2009). Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>. Consulté le (05/05/2021).

-Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M., et Wilbey, A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheese. International Journal of Dairy Technology, 56, 76-85.

« S »

- Salehi M, Aghamaali MR, Sajedi RH, Asghari SM, Jorjani E (2017). Purification and characterization of a milk-clotting aspartic protease from *Withania coagulans* fruit. *International Journal of Biology Macromolar*, 98, 847-854.
- Shah Manzoor A, Shabir A. M. et Aray M. A. P. (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: a review. *Dairy Sci. & Technol.* 94, 5–16.
- Siar, E. H. (2014). Utilisation de la pepsine de poulet et de la ficine du figuier comme agents coagulants du lait.
- Sidrach, L., Garcia-Canovas, F., Tudela, J., & Rodriguez-Lopez, J. N. (2005). Purification of cynarase from artichoke (*Cynara scolymus* L.): enzymatic properties of cynarase A. *Phytochemistry*, 66, 41-49.
- Soyb. (2011). Milk powder production. <http://www.docstoc.com/docs/70425205/MilkPowder-Production>.
- Soustre Y., Farrokh C. et Jeantet R. (2017). Questions sur les produits laitiers et technologie laitière. Paris. France, 2.

« T »

- Talantikite-Kellil, S. (2015). Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie (Doctoral dissertation, Université M'hamed Bougara de Boumerdès, Département de Tec).
- Tolle A. (1980). The microflora of the udder. *Bull, Int, Dairy Fed*, 120 p.

« V »

- Vairo-Cavalli, S., Claver, S., Priolo, N., & Natalucci, C. (2005). Extraction and partial characterization of a coagulant preparation from *Silybum marianum* flowers. Its action on bovine caseinate. *Journal of dairy research*, 72(3), 271-275.
- Valades, B. Rejdali, M., Achhal El Kadmiri, A., Jury, J.L., et Montserrat, J.M. (2002). Catalogues des plantes vasculaires du nord du maroc, incluant des clés d'identification, 2 volumes. 1498p. Madrid.

-**Veisseyre R. (1975)**. Technologie du lait: constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 2ème édition. Maison Rustique. 697 p.

-**Veisseyre R..(1979)**. Technologie du fromage: 3ème édition. Maison Rustique, 714 p

-**Veisseyre R. (1979)**. Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3ème édition. Paris. La Maison Rustique, 714.

- **Vignola C. (2002)**. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 3-75.

« **W** »

-**Weber F. (1985)**. Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

Annexes

Annexe 01

✚ Les réactifs

- Tris_HCl $C_4H_{11}NON_3 \cdot HCl$
- L'acide Chlorhydrique **HCL**
- Ethanol absolu C_2H_5OH
- Acétone C_3H_6O
- Éthanol, (**Honeywell**)
- Bleu de coomassies **G-2500**
- Solution d'acide chlorhydrique **HCl** à 1 N,
- Solution d'hydroxyde de sodium **NaOH** à 1N,
- Citrate de sodium **Na₃C₆H₅O₇**
- Chlorure de sodium **NaCl**
- Hexane C_6H_{14}
- Réactifs de Bradford
- Chlorure de calcium **CaCl₂**

✚ Les étapes de préparation de quelques réactifs

➤ Nacl (137 mM) :

$$m = c \cdot v \cdot M$$

$$m = 0,137 \cdot 0,1 \cdot 58$$

$$m = 0,79 \text{ g} = 0,8$$

0,8 de la poudre de NaCl a été mise dans 100 ml de l'eau distillée

➤ Tris_Hcl (0,1M)

$$1M \text{ Tris} \quad \longrightarrow \quad 121,14g$$

$$0,1M \text{ Tris} \quad \longrightarrow \quad X(g)$$

$$X = 1,2mg/100mL$$

➤ Citrate de sodium (0,05 M)

$m = c \cdot v \cdot M$

$m = 50 \text{ Mm} \cdot 0,1 \cdot 258,06$

$m = 0,05$

$m = 1,29 \text{ g}$

0,3 g a été mise dans 100 ml d'eau distillée

➤ **CaCl₂ (0,02 M)**

$m = 0,02 \cdot 0,250 \cdot 110,98$

$m = 0,55 \text{ g}$

0,55 g de la poudre de CaCl₂ a été mise dans 250 ml d'eau distillée

 **Composition du réactif de Bradford**

- BBC G-250 100 mg.
- Ethanol absolu 50 ml.
- Acide phosphorique à 85% 100 ml.
- Compléter à 1000 ml avec l'eau distillée.
- Conservation pendant 3-4 semaines à 4 °C et à l'abri de la lumière.

Annexe02

 **Préparation de la gamme étalon**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine (BSA) (1mg/1ml). Les échantillons et le blanc sont ajustés à un volume final de 100 µl. Après addition de 3ml du réactif de Bradford et homogénéisation, laisser reposer pendant 5 à 10 min à l'abri de la lumière puis mesurer l'absorbance à 595 nm contre le blanc. Les concentrations protéiques des extraits enzymatiques seront déduites à partir de cette courbe d'étalonnage.

N° du tube	Blanc	1	2	3	4	5
Solution de BSA (ul)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (ul)	100	800	60	40	20	0
Réactif de Bradford (ml)	3					

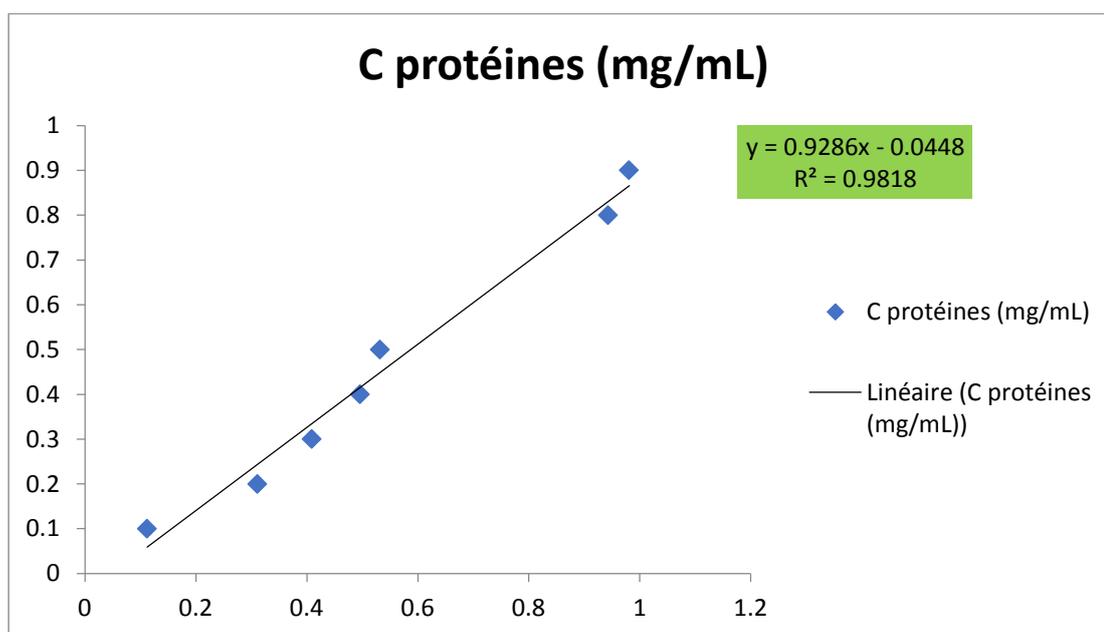


Figure : Courbe d'étalon du dosage des protéines des extraits

✚ Détermination de la concentration en protéines de l'extrait brut

Avant de commencer l'étape de précipitation, il faut mesurer au premier lieu, le volume de l'extrait enzymatique brut, la concentration en protéines et l'activité enzymatique. Pour chaque dosage, appliquer trois répétitions avec l'essai à blanc selon le tableau :

Tableau : Dosage des protéines de l'extrait brut selon la méthode de Bradford

N° du tube	Blanc	1	2	3
Extrait enzymatique brut (µl)	0	100	100	100
Eau distillée (µl)	100	0		
Réactif de Bradford (ml)	3			

Annexe 03

Les résultats:

✚ Pour une température de A 35 C°

1ml de lait et 100ul d'extrait

- Avec lyophilisation

➤ **La camomille lyophilisée**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	48 min (2880 s)	49,55 min (2973 s)	49 min (2940 s)

Moy = $8,19 \pm 0,13$



Figure : (+) de coagulation

Sans lyophilisation

➤ **Fruits de figue**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	23 min (1380 s)	24 min (1440 s)	23,60 min (1416 s)

Moy = $17 \pm 0,37$



Figure : (+) de coagulation

1ml de lait et 600ul d'extrait

- Avec lyophilisation
- La camomille

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	35 min (2100 s)	36 min (2160 s)	35,45 min (2127 s)

Moy = 1, 87±0,03

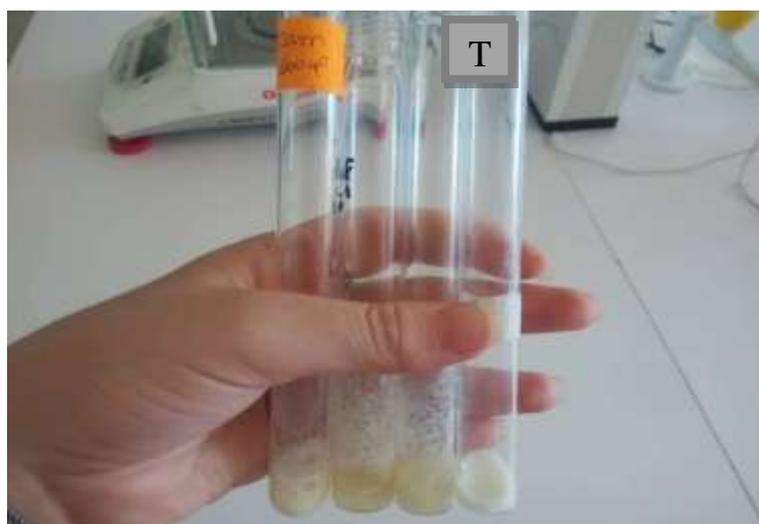


Figure: (+) de coagulation

- L'artichaut (*Cynara cardunculus var scolymus*) lyophilisé
- On a observées une très grande activité protéolytique à 50 seconde.



Figure : Image montre une activité protéolytique

- Sans lyophilisation
- Fruits de figue

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	13 min (780 s)	14,4 min (864 s)	13,20 min (792 s)

Moy = $4,94 \pm 0,27$



Figure : (+) de coagulation

1ml de lait dans 1000ul d'extrait

- Avec lyophilisation
- Artichaut

Une activité protéolytique a été observée à 60 seconde



Figure : Image montre une activité protéolytique

➤ **Camomille**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	20 min (1200 s)	21,33 min (1279,8 s)	20,11 min (1206,6 s)

Moy = $1,92 \pm 0,12$



Figure : (+) de coagulation

➤ **Fruit de figue avec lyophilisation**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	90 min (5400 s)	95 min (5700 s)	90 min (5400 s)

Moy = $0,43 \pm 0,01$



Figure : (+) de coagulation

Sans lyophilisation

➤ **Fruit de figue**

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	8 min (480 s)	8,35 min (501 s)	8,20 min (492 s)

Moy = $4,89 \pm 0,11$



Figure :(+) de coagulation



Pour une température de 40C°

1ml de lait pour 1ml d'extrait

- Avec lyophilisation

Camomille

Moy = 30,96±4,44

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	1 min 15 s (75 s)	1,09 min (69 s)	1,32 min (92 s)



Figure: (+) de coagulation

➤ Figue fruit lyophilisé

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	60 min (3600 s)	60 min (3600 s)	60,55 min (3655 s)

Moy = 0.66±0,006



Figure : (+) de coagulation

➤ **pin d'alep avec lyophilisation**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	49 min (2940 s)	49,55 min (2995 s)	50 min (3000 s)

Moy= $0,81 \pm 0,01$



Figure : (+) de coagulation

➤ **chardon lyophilisé**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	59 min (3540 s)	59,05 min (3545 s)	58,45 min (3525 s)

Moy = 0.68±0



Figure : (+) de coagulation

1ml du lait et 1ml du l'extrait

- **Non lyophilisé**
- **Figue de fruit**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	55 s	55 s	1 min (60 s)

Moy = 42, 43±2,10



Figure : (+) de coagulation

1 ml du lait et 600 ul du l'extrait

➤ **Figue fruit avec lyophilisation**

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	59 min (3540 s)	59 min (3540 s)	58 min (3480 s)

Moy = $1,14 \pm 0,01$

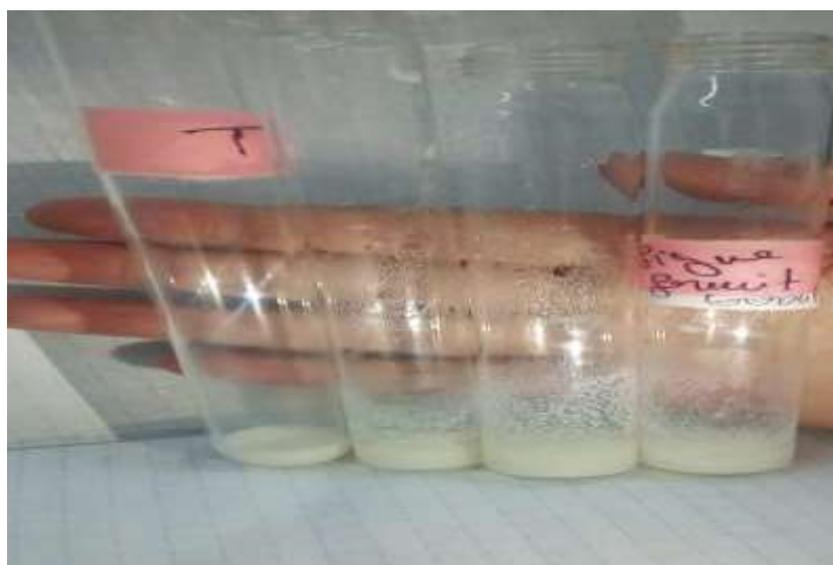


Figure : (+) de coagulation

➤ **chardon marie lyophilisé**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	55min (3300s)	55,42 min (3342s)	56 min (3360s)

Moy = 1,2±0,01



Figure : (+) de coagulation

➤ **de pin d'alep avec lyophilisation**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	60 min (3600 s)	59 min (3540 s)	59,6 min (3576 s)

Moy = 1.12±0.01



Figure: (+) de coagulation

➤ **camomille**

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	8 min (480 s)	8,4 min (504 s)	9 min (540 s)

Moy = $7.89 \pm 0,46$

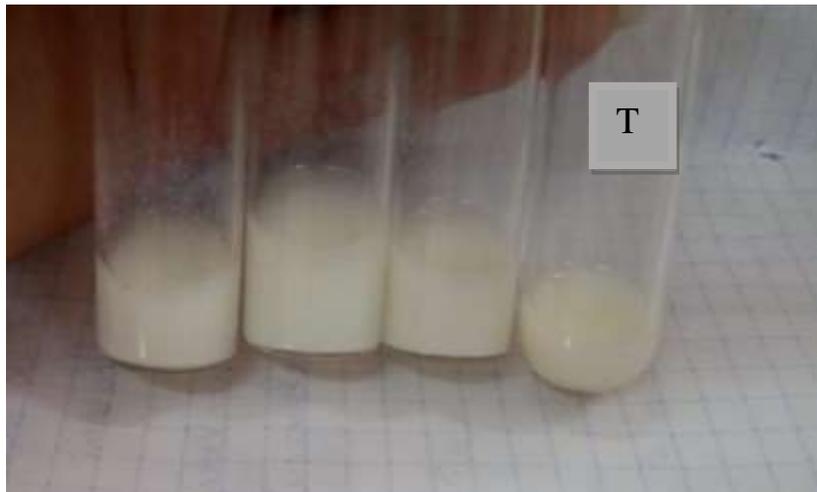


Figure : (+) de coagulation

Fruit de fige sans lyophilisation

Tubes	Tube 1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	2 min (120 s)	2 min (120 s)	2,12 min (132 s)

Moy = $32,33 \pm 1,73$



Figure : (+) de coagulation

1ml du lait et 100ul du l'extrait

Fruit de figue avec lyophilisation

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	60 min (3600 s)	59,55 min (3595 s)	59,55 min (3595 s)

Moy = $6.68 \pm 0,006$.



Figure : (+) de coagulation

➤ **Camomille avec lyophilisation**

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	28,1 min (1690 s)	28,55 min (1735 s)	28,20 min (1700 s)

Moy = $14.05 \pm 0,19$



Figure : (+) de coagulation

1ml de lait avec 100ul d'extrait

➤ Fruit de figue sans lyophilisé

Tubes	Tube1	Tube 2	Tube 3
Temps (min)	15 min (900 s)	15 min (900 s)	15, 45 min (945 s)

Moy = 26.24±0,73



Figure : (+) de coagulation

Résumé

La présure est le plus ancien coagulant utilisé dans la fabrication du fromage. La recherche d'autres coagulants s'est intensifiée pour conduire à des produits qui fournissent le même fromage que la présure de veau à moindre coût. Alors actuellement un intérêt croissant est constaté pour la remplacer par des protéases d'origine végétale. L'objectif principal de cette étude est de déterminer le pouvoir coagulant des extraits des plantes tels que (le fruit et les feuilles de figuier, l'artichaut, le chardon marie, le pin d'Alep et la camomille) sur le lait, de manière spécifique. Il s'agit de déterminer la force de coagulation, puis le dosage des protéines (concentration) dans les différents extraits étudiés. Les résultats obtenus montrent que la meilleure activité coagulante a été observée par l'extrait de figue sèche non lyophilisée ($AC = 42, 43 \pm 2,10$) et l'extrait de la camomille lyophilisée ($AC = 30,96 \pm 4,44$) sous les conditions de ($pH = 6,4$), température ($40\text{ }^\circ\text{C}$), par contre de faibles activités coagulantes ont été observées pour les autres extraits. Enfin, les résultats obtenus convergent vers la possibilité de substitution de la présure par l'extrait de figue sèche (*Ficus carica L*) et de la camomille qui ont un temps de coagulation du lait réduit. Aussi, il serait possible de l'employer dans d'autres domaines ou à des fins techno-industrielles.

Mots-clés : Coagulation du lait, extraits végétaux, présure, fromage, activité coagulante.

Abstract

Rennet is the oldest coagulant used in cheese making. The search for other coagulants has intensified to lead to products that provide the same cheese as calf rennet at lower cost. So currently there is a growing interest in the replacement by proteases of plant origin. The main objective of this study is to determine the coagulant power of extracts of plants such as (fruit and leaves of fig, artichoke, milk thistle, Aleppo pine and chamomile) on milk, specifically, it is to determine the strength of coagulation, then the dosage of proteins (concentration) in the various extracts studied. The results obtained show that the best coagulant activity was observed by the extract of dry fig not freeze-dried ($AC = 42, 43 \pm 2.10$) and the extract of chamomile freeze-dried ($AC = 30.96 \pm 4.44$) under the conditions of ($pH = 6.4$), temperature ($40\text{ }^\circ\text{C}$), but low coagulant activities were observed by the other extracts studied. And finally, the results obtained converge towards the possibility of substitution of rennet by the extract of dry fig (*Ficus carica L*) and chamomile which have a reduced time of coagulation of milk. Also, it would be possible to use it in other fields or for techno-industrial purposes.

Keywords: Milk coagulation, plant extract, rennet, cheese, coagulating activity.

ملخص

المنفحة هي أقدم مادة تخثر تستخدم في صناعة الجبن. تكثف البحث عن مواد تخثر أخرى ليؤدي إلى إنتاج منتجات توفر نفس الجبن مثل منفحة العجل بتكلفة أقل. يوجد حالياً اهتمام متزايد باستبداله بالبروتينات من أصل نباتي. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد قوة التخثر لمستخلصات نباتية مثل (ثمار وأوراق أشجار التين، الأرضي شوكي، شوك الحليب، الصنوبر الحليبي، والبابونج) على الحليب، وعلى وجه التحديد، تتضمن تحديد قوة التخثر، ثم تحديد قوة التخثر. جرعة البروتينات (التركيز) في المستخلصات المختلفة المدروسة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها (مستخلص البابونج $AC = Avg = 42, 43 \pm 2.10$ أن أفضل نشاط للتجلط لوحظ من خلال مستخلص التين الجاف غير المجفف بالتجميد) (من ناحية أخرى، لوحظت أنشطة تجلط (C)، ودرجة الحرارة ($40\text{ }^\circ\text{C}$) ($pH = 6.4$) تحت ظروف ($AC = 30.96 \pm 4, 44$) المجفف بالتجميد) ضعيفة من قبل المستخلصات الأخرى التي تمت دراستها. وأخيراً، فإن النتائج التي تم الحصول عليها تتقارب مع إمكانية استبدال المنفحة بخلاصة التين المجفف (البابونج، والتي تقلل من وقت تخثر الحليب. كما يمكن استخدامه في مجالات أخرى أو لأغراض صناعية تقنية

الكلمات المفتاحية:

، تخثر الحليب ، مستخلصات نباتية ، المنفحة ، الجبن ، نشاط التخثر