

SSMINISTEREDEL'ENSEIGNEMENTSUPERIEURETDELARECHERCHESCIENTIFIQUEUNI
VERSITEAKLIMOHANDOULHADJ- BOUIRA
FACULTE DESSCIENCESDELANATURE ET DELAVIE
ETDESSCIENCESDELATERREDEPARTEMENTD'AGRONOMIE



Réf:...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/20

MEMOIRE DE FIN DE MASTER EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPOME MASTER

Domaine:SNV Filière:ScienceAlimentaire
Spécialité: Agro-alimentaire et Contrôle de qualité

Présentépar:

DjennaneChahrazed

Thème

APPLICATION ET EFFET DE LA FICINE DE *Ficus carica*
DANS LE FROMAGE A PATE FRAICHE AUX HERBES

Soutenule: 28/09/2020

Devant le jury composé de:

NometPrénom	Grade		
TaoudiatA.	MAB.	Univ.deBouira	Président
YazzoureneGhania	MCB.	Univ.deBouira	Examineur
MazriChafiaa	MCB.	Univ.deBouira	Promoteur

AnnéeUniversitaire:2019/2020

REMERCIEMENTS

Avant tout je tiens à remercier celui qui nous a créés, protégé, aidé et celui qui m'a donné la force, la patience et le courage pour pouvoir accomplir mon travail de master dans les meilleures conditions en disant « Dieu Merci ».

J'exprime toute ma gratitude et mes sincères remerciements à mon promoteur, Madame Mazri.C, pour avoir accepté de m'encadrer, ses conseils et orientations ainsi que pour la confiance qu'elle m'a donnée tout au long de réalisation de ce travail

Je tiens également à remercier

Tous les enseignants du département Agronomique, en particulier ceux de la filière Technologie Agroalimentaire et Contrôle de qualité.

DEDICACES

Je dédie ce travail

*A ma très chère mère « Lila » pour tous ses sacrifices
et ses soucis pour les besoins de nos études,*

*A mon très cher père « Hamid » pour tous les efforts
fournis afin de nous voir un jour réussir nos projets et
nos études,*

*A mon chère marie « Hachmi » pour son soutien
morale et financier, ainsi que ma très très chère fille
« Nélia » que dieu la protège pour nous.*

*A la mémoire de ma chère tante « Nora », que dieu
l'aqueille dans son vaste paradis.*

*A mes sœurs, et mes frères, en particulier « Ghiles »,
que je remercie pour son aide. Et à mon tout premier
neveu « Gaya », que dieu le protège pour nous et pour
ces parents.*

*A et toutes celles et à tous ceux qui m'aiment, et qui
ont élaboré de près ou de loin à la réalisation de ce
travail.*

Sommaire

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction	1
I. Présure	3
I.1. Généralités	3
I.2. Utilisation au niveau industriel	3
I.3. Succédanés de présure	3
I.3.1. Succédanés de la présure d'origine végétale.....	4
II. Le figuier	5
III. La ficine	7
III.1. La ficine comme protéase d'origine végétale	7
III.2. Application de la ficine en tant que protéase	9
III.2.1. Protéolyse des protéines	9
III.2.2. Production de fragments d'anticorps actifs par protéolyse.....	10
III.2.3. Attendrissement de la viande	11
III.2.4 Utilisation de la ficine pour catalyser les réactions d'admiration.....	11
III.2.5. Les utilisations cliniques de la ficine	11
III.2.6. Production de peptides bioactifs	12
III.2.7. Coagulation du lait	13
III.3. Extraction de la ficine et l'étude de ces caractéristiques enzymatiques.....	13
III.4. Etude comparative entre deux résultats des recherches récentes concernant l'utilisation de la ficine comme un agent coagulant et ces caractéristiques enzymatiques	14

III.5. Effet antimicrobien de la ficine	16
IV. Le fromage.....	18
IV.1. Lait	18
IV.1.1. Définition	18
IV.1.2. Eléments chimiques constituant le lait	18
IV.1.3. Transformation du lait en fromage.....	19
IV.2. Définition du Fromage	20
IV.2.1 Classification des fromages	20
IV.2.2. Fromage à pâte fraîche	20
IV.2.3. Qualité nutritionnel du fromage frais	21
IV. 3. Types d'herbes utilisées pour l'enrichissement du fromage frais.....	22
IV.4. Qualité nutritionnel du fromage obtenu comme aliment fonctionnel	22
V. Utilisation de l'extrait enzymatique « ficine » comme succédané de présure.....	22
V.1. Essais de fabrication du fromage frais à base de la ficine du figuier <i>Ficus carica</i>	22
V.2. Qualité organoleptique du fromage obtenu	23
V.3. L'intérêt d'enrichissement du fromage obtenu avec les herbes aromatiques.....	23
Conclusion.....	25

Références bibliographiques

Résumé

Le savoir-faire de l'exploitation des substances phytochimiques des plantes du patrimoine végétal national existait depuis longtemps, car nos ancêtres qui ont su survivre de l'agriculture de montagne, ont pu les utiliser pour se soigner et transformer leurs aliments pour subvenir aux périodes de disette. Parmi, on retrouve le pouvoir de coagulation du lait des latex de certains végétaux, basé sur l'utilisation direct de l'extrait enzymatique brut, pour la coagulation du lait de vache, ou celle des petits ruminants. Pour notre recherche de synthèse bibliographique, on s'intéresse aux études de la ficine du figuier *Ficus carica* comme une enzyme à activité protéolytique, dans le but de valoriser les pratiques ancestrales algériennes, en ce qui concerne la manière de son usage, ainsi que l'étude de la possibilité de son application, comme une succédanée de présure au niveau industriel surtout qu'actuellement la ficine fait l'objet d'un centre d'intérêt de ces fromagerie, suite à une limite de la disponibilité de présure d'origine animal et de nouvelles tendances de régime alimentaire chez les consommateurs du produit fini bio, puis notre recherche se poursuit par une étude générale de la ficine ; ces caractéristiques enzymatiques, et ses multiples applications dans différents domaines. En fin, une petite recherche était effectuée sur l'étude d'un essai de fabrication d'un fromage frais à base de la ficine du figuier *Ficus carica*, et la proposition d'un essai basé sur étude de l'intérêt d'incorporation de certaines herbes aromatiques au fromage frais coagulé avec ficine afin d'y remédier à l'amertume de son gout.

Mots clés : substances phytochimiques, le pouvoir de coagulation, latex, l'extrait enzymatique brut, coagulation du lait, ficine, *Ficus carica*, activité protéolytique, succédanée de présure, herbes aromatiques.

Abstract

The know-how of the use of phytochemicals from plants of the national plant heritage has existed for a long time, because our ancestors who knew how to survive from mountain agriculture, were able to use them to heal themselves and transform their food to provide for the periods. Of famine. Among these is the coagulation power of milk from the latex of certain plants, based on the direct use of the raw enzymatic extract, for the coagulation of cow's milk, or that of small ruminants. For our bibliographical synthesis research, we are interested in the studies of the ficin of the fig tree *Ficus carica* as an enzyme with proteolytic activity, with the aim of enhancing the ancestral Algerian practices, with regard to the way of its use, as well as the 'study of the possibility of its application, as a substitute for rennet at the industrial level,

especially since ficin is currently the subject of a center of interest for these cheese factories, following a limit in the availability of original rennet animal and new dietary trends among consumers of the finished organic product, then our research continues with a general study of ficin; these enzymatic characteristics, and its multiple applications in different fields. Finally, a small research was carried out on the study of a trial production of a fresh cheese based on the ficin of the fig tree *Ficus carica*, and the proposal of a trial based on the study of the interest of incorporation. Some aromatic herbs in fresh cheese coagulated with ficin to remedy the bitterness of its taste.

Key words: phytochemicals, coagulation power, latex, crude enzyme extract, milk coagulation, ficin, *Ficus carica*, proteolytic activity, rennet substitute, aromatic herbs.

ملخص

إن الدراية باستغلال المواد الكيميائية النباتية من نباتات التراث النباتي الوطن موجودة منذ فترة طويلة، لأن أسلافنا الذين عرفوا كيفية البقاء على قيد الحياة من الزراعة الجبلية، كانوا قادرين على استخدامها لعلاج أنفسهم وتحويل طعامهم لتلبية فترات المجاعة. من بين هذه قوة تخثر الحليب من مطاط بعض النباتات، بناءً على الاستخدام المباشر للمستخلص الأنزيمي الخام، لتخثر حليب البقر، أو من المجترات الصغيرة. بالنسبة لبحوثنا في التوليف الجغرافي، نحن مهتمون بدراسات *Ficin* لشجرة التين *Ficus carica* باعتباره إنزيمًا له نشاط تحلل البروتين، بهدف تعزي الممارسات الأجداد الجزائرية، فيما يتعلق بطريقة استخدامه، وكذلك دراسة إمكاني تطبيقه كبديل للمخثرة على المستوى الصناعي، خاصة وأن الفيسين هو في الوقت الحالي محل اهتمام لمصانع الجبن هذه بعد الحد من توافر المنفعة الأصلية الاتجاهات الغذائية الحيوانية و الجديد بين مستهلكي المنتج العضوي النهائي، ثم يستمر بحثنا بدراسة عامة للفيسين؛ هذه الخصائص الأنزيمية، وتطبيقاتها المتعددة في مختلف المجالات. أخيرًا، تم إجراء بحث صغير حول دراسة إنتاج تجريبي للجبن الطازج بناءً على *ficin* من شجرة التين *Ficus carica*، واقتراح تجربة بناءً على دراسة مصلحة التأسيس. بعض الأعشاب العطرية في الجبن الطازج المتخثر بالفيسين لمعالجة مرارة طعمه.

الكلمات المفتاحية: المواد الكيميائية النباتية، قوة التخثر، اللاتكس، مستخلص الإنزيم الخام، تخثر الحليب، *Ficin*،

نشاط التحلل، بدائل المنفعة، الأعشاب العطرية. *Ficus Carica*

Listes des tableaux

Le tableau N°1 : Sources de protéases à cystéines de coagulation du lait d'origine végétale....	9
Tableau N°2 : la composition moyenne du lait de différentes espèces animales.	18
Tableau N°3 : Composition moyenne du lait de vache.....	19
Tableau N°4 :Composition moyenne d'un fromage frais pour 100g de produits frais.....	21

Listes des figures

FigureN°1 : photo d'un figuier <i>Ficus carica</i>	6
FigureN°2 : Mécanisme réactionnel des peptidases à cystéine.....	8
Figure N°3 : bases de la fromagerie.....	20

Listes des abréviations

E : Enrichi

EST : Extrait sec total

E. Coli : Escherichia coli

H : Humidité

g : Gramme

MS : Matière Sèche

Min: minute

Min : minimum

T° : Température

°C : Degré celsius

VT550 : viscosimètre

Introduction

Les produits transformés ont toujours été une solution importante pour la gestion de la surproduction agricole. Pour la conservation des principaux constituants du lait, l'industrie laitière avait toujours utilisée la présure extraite de la caillette de jeunes veaux pour la coagulation du lait (Larbalétrier, 2015).

Depuis quelques années, une pénurie remarquable de présure avait favorisé la recherche de succédanés de cette dernière en vue de la fabrication du fromage. Elle est due essentiellement à une augmentation croissante de la production et de la consommation des fromages et à l'impossibilité d'augmenter en parallèles la production de présure (Banga, Mbocoet *al.*, 2002). Ces succédanés peuvent avoir plusieurs origines : animale, microbien, fongique, ou végétale.

Dans ce présent travail, on s'intéresse à celle d'origine végétale, vue son importance actuelle. En raison de nouvelles habitudes alimentaires, des travaux très récents menés sur des substrats de plantes, ont été publiés, montrent le nouvel intérêt que suscite les protéases d'origine végétale (Uchikoba *et al.*, 2000 ; KA Pardoet *al.*, 2001 ; Sunariet *al.*, 2002 ; Sousa et Malkata, 2002 ; Lowet *al.*, 2006; Egitoet *al.*, 2007; Chazarra *et al.*, 2007 ; Tejadaet *al.*, 2008 ; Pereira *et al.*, 2008 ; Fernandez-Garciaet *al.*,2008).

Parmi ces végétaux, le figuier *Ficus carica* est une source importante de protéases. Il est largement utilisé pour l'extraction des enzymes protéolytiques dont principalement la ficine. (Sandhya *et al.*, 2004). La Ficine, extraite à partir de la sève (latex) de cet arbre, représente une enzyme à activité protéolytique, et considérée parmi les succédanés de présures. Elle représente aujourd'hui un excellent substrat de substitution dans l'industrie fromagère (Nouani., 2009).

En Algérie comme d'autres pays méditerranées, l'utilisation artisanale de l'extrait enzymatique brute (latex) du figuier, représente un savoir-faire ancestrale qui faisait partie de leurs pratiques traditionnelles. Ils l'utilisaient comme un agent coagulant pour la préparation d'un fromage à pâte fraîche qui porte différents noms selon la région dont il est produit, par exemple au nord centre du pays (en kabyle) il est appelé : « Agougli » (Siar, 2014 et Mazri *et al.*, 2018).

Ce type de fromage frais produit avec la coagulation enzymatique par la ficine de *Ficus carica*, peut avoir une odeur forte du végétale et un goût légèrement amer comme il a été signalé par d'autre études (Mazri *et al.*, 2018), en vue d'une amélioration de sa qualité organoleptique, un mélange d'herbes aromatiques peut lui relever le gout en lui fournissant plus de saveur et de

fraicheur. L'addition de plusieurs herbes aromatiques a été testé dans différents fromages non seulement pour leurs effets antimicrobiens, mais également pour attirer les papilles gustatives du consommateur, et pour stimuler la vente de ces fromages, ce qui a permis d'améliorer sa commercialisation et son stockage (Hayaloglu et Farkye, 2011).

Le fromage enrichi comme aliment fonctionnel, peut avoir un avantage nutritionnel, et des effets favorables sur la santé humaine, qui peuvent être renforcées par l'ajout d'ingrédients bénéfiques, tels que les plantes aromatiques (Ceylan et Fung, 2004).

L'objectif principal de cette recherche qui était envisagée auparavant comme un travail pratique mais vue les conditions sanitaire (covid 19 du 2019) ce travail est rester théorique, est la valorisation de pratiques traditionnelles de nos ancêtres en ce qui concerne la manière d'utilisation de l'extrait de figuier, ainsi que l'étude de la possibilité de l'extraction de son enzyme ; la ficine, son exploitation et la détermination de ces effets antimicrobiens, pour terminer avec, une petite révision bibliographique qui va être consacrés sur l'éventualité d'utilisation au niveau industriel de la ficine comme succédané de présure.

I. Présure

I.1 Généralités

La présure est une enzyme protéolytique, qui se trouve dans la quatrième poche de l'estomac de veau, appelée « caillette », elle permet aux jeunes bovins de bien digérer le lait. Et d'une manière générale le terme « présure » est souvent utilisé d'une manière vague pour désigner toute préparation particulière d'enzyme de coagulation du lait (Fox *et al.*, 2003). La préparation se compose de deux fractions, 80% chymosine et 20% pepsine (Scott, 1981 ; Hupperet *et al.*, 2006). La chymosine, représente le principal facteur de coagulation du lait (Fox *et al.*, 2003). Cette dernière est une aspartyl protéase qui est sécrétée sous sa forme naturelle en tant que précurseur inactif, la prochymosine, qui est irréversiblement convertie en chymosine active par protéolyse limitée (Mohanty *et al.*, 1999).

I.2. Utilisation au niveau industriel

Depuis très longtemps, l'homme avait compris que la présure provenant de la macération des caillettes de jeunes bovins, possède un pouvoir de coagulation du lait, qui transforme ce dernier en fromage.

La production du fromage était jusqu'au milieu du XIX^{ème} siècle juste une exploitation agricole. Aujourd'hui les principales variétés sont désormais produites dans de très grandes usines hautement mécanisées par une technologie hautement développée (Fox *et al.*, 2017).

L'utilisation de la présure au niveau industriel a une grande importance, puisque cette dernière se compose d'une grande fraction de chymosine 80%, cette enzyme qui possède une activité de coagulation du lait très élevée, avec une faible activité protéolytique, ce qui la rend particulièrement adaptée à la fabrication du fromage (Mohanty *et al.*, 1999).

I.3. Succédanés de présure

Sur les enzymes de remplacement de la présure on cite les premiers travaux qui remontent aux années 80, et même avant, concernant diverses sources de protéases (Sardinas, 1968 ; Arimaet *et al.*, 1970 ; Rickert, 1970; Martin *et al.*, 1980; Ottesen et Brown *et al.*, 1990 ; Areceset *et al.*, 1992; Venera *et al.*, 1997 ; Hashem, 1999).

Parmi les facteurs qui ont favorisé les recherches de succédanés de présure ; le prix relativement élevé des préparations commerciales de présure et certaines difficultés d'approvisionnement, les variations importantes de prix de cette matière première, et ses

variations de qualité (Genin., 1968). Et la production de fromage à augmenter d'un facteur d'environ 3.5 depuis 1961, mais l'approvisionnement en présure a diminué en raison de la disponibilité limitée des estomacs de ruminants (Jacob *et al.*,2011).

Les substitues les plus importants qui font l'objet de plusieurs recherches actuelles, sont ceux qui répondent aux exigences de la fabrication du fromage. Elles comprennent les enzymes microbiennes, recombinantes et végétales qui ont été isolés et étudiées (Jacob *et al.*,2011). Les succédanés de présure qui sont produites par les microorganismes et les microorganismes génétiquement modifiés, sont très appropriées pour la présure animale, mais un intérêt croissant a été dirigé vers les coagulants végétaux, c'est à dire les enzymes de coagulation du lait extraites des plantes (Manzoor *et al.*,2013).

I.3.1. Succédané de la présure d'origine végétale

Certaines plantes ont été connus depuis des siècles, par leurs pouvoir de coagulation du lait, elles sont utilisées sous forme de préparations d'enzymes protéolytiques. Comme les extraits de *Ficus carica* (Ficine), papaya (papaine) (Poznanski *etal.*,1975), Solanum extraite de plantes incanum (Lazreg-Arefet *al.*, 2010), et des extraits de *Calotropis procera* (pomme de Sodome) (Roseiro *et al.* 2003).

Les fromages à base de coagulants végétaux se trouvent principalement dans les pays méditerranéens, d'Afrique de l'Ouest et du sud de l'Europe. L'Espagne et le Portugal ont la plus grande variété et production de fromages utilisant *Cynara sp.* Comme coagulant végétale (Roseiro *et al.* 2003).

Après avoir été utilisés pour longtemps uniquement d'une manière artisanale comme extraits brute ; les protéases d'origines végétales ont fait l'objet de beaucoup de recherches qui sont portés sur la possibilité d'utilisé cet extrait enzymatique au niveau industriel, Dès 1906, Chodat et Rouge avaient signalé l'emploi d'enzymes provenant du figuier et en 1907, Gerber était parvenu à préparer une enzyme extraite du latex de *Ficus carica* (Génin., 1968). Par conséquent, la recherche de nouvelles enzymes potentielles de coagulation du lait à partir de plantes est en cours continu, afin de les rendre utiles industriellement et de répondre à la demande mondiale croissante pour une production de fromage diversifiée et de haute qualité (Hashim *et al.*2011).

II. Le figuier

Le figuier est un arbre fruitier comme le murier, il appartient à la famille des Moracées. Il fait partie des plus grands genres de plantes médicinales, ces différentes parties feuille, fleurs et même les bourgeons étaient toujours connus pour leurs multiples propriétés curatives ; grâce à la sève qu'elles contiennent (Baud, 2007). Parmi les 700 espèces que compte le genre *Ficus*, le figuier (*Ficus carica*), est le seul qui est cultivé en zone tempérée tous les autres ficus poussent en zones tropicales ou subtropical (Baud, 2007).

Il s'agit d'un buisson, ou d'un arbre qui peut aller de 1 mètre, à 10 ou 12 mètres de haut dans son habitat naturel avec des conditions idéales pour sa croissance, et peut avoir un tronc allant jusqu'à 1 m de circonférence, l'écorce du figuier est lisse et peu fissurée, de couleur grise pâle.

Le bourgeon terminal comporte une ébauche de feuilles, ces dernières sont caduques, larges et rugueuses à bord denté, qui sont profondément lobées ou parfois presque entières les feuilles et les tiges lorsqu'elles sont cassées elles donnent du latex toutes ces espèces produisent des figues du latex, et certaines sont utilisées pour la production de caoutchouc (Jander et Machado, 2008).

Les fruits du figuier, connus sous le nom de cyconia sont portés à l'aisselle des feuilles de saison actuelle, ils sont d'une couleur verte après fécondation et deviennent violette-brun à maturité ces fruits, de couleur vert jaunâtre (Figue blanche) ou mauve foncé (figue violette) poussent en juin septembre en bout de rameaux (Michel, 2002).

Le rameau est constitué d'un ensemble d'entre nœuds, chaque nœud constitue le point d'insertion d'une feuille et des bourgeons auxiliaires leur disposition alternée, rarement opposés sur les rameaux, est une spécificité de la famille des Moracées (Vidaud, 1997), ces rameaux contiennent du latex.



Figure1 : photo d'un figuier *Ficus carica* (Drouet.,2014).

III. La ficine

La ficine est le nom donné à la substance à activité protéolytique dérivée du latex d'arbres du genre *Ficus* (Ramzani *et al.*, 2003), elle est utilisée depuis l'antiquité pour la fabrication de fromage ou comme agent antihelminthique (Feijoo *et al.*, 2014).

III.1. La ficine comme protéase d'origine végétale

Parmi les protéases, les protéases végétales ont suscité un grand intérêt, principalement dans les applications alimentaires (Meshram., 2014 ; González-Rábade., 2011) ces protéases végétales sont nécessaires aux plantes dans tous les aspects de leur cycle de vie. Ils sont impliqués dans la mobilisation des protéines de stockage lors de la germination des graines à l'initiation de programmes de mort cellulaire et de sénescence (Schaller, 2004). Les formes de ficine avec différentes spécificités sont présentes dans des proportions différentes pendant la maturation des fruits, quatre protéases ont été cristallisées à ce jour (A, B, C et D) et leurs structures sont disponibles (Devaraj *et al.*, 2008 ; Haesaerts *et al.*, 2015)

Les protéases ont été divisées en groupes basés sur le mécanisme catalytique utilisé pendant le processus hydrolytique. Les principaux types catalytiques sont l'aspartate, la sérine, la cystéine et les métallo protéases (Bah *et al.* 2006).

La ficine, est un extrait enzymatique composé de plusieurs protéases obtenues à partir du latex de la figue (*Ficus carica*). Les formes Ficin avec différentes spécificités sont présentes dans des proportions différentes pendant la maturation des fruits, quatre protéases ont été cristallisées à ce jour (A, B, C et D) et leurs structures sont disponibles (Haesaerts *et al.*, 2015; Elle appartient à la famille des protéases à cystéine (Lowe, 1976 ; Nassaret *et al.*, 1987 ; Grzonka *et al.*, 2007 ; Nouaniet *et al.*, 2009 ; Payne, 2009 ; Devaraj *et al.*, 2008, 2011 ; Azarkan *et al.*, 2011 ; Zareet *et al.*, 2013 ; Shahet *et al.*, 2014). Les informations disponibles indiquent qu'elle est semblable à la papaïne dans la séquence d'acides aminés des résidus du site actif (Devaraj *et al.*, 2008).

Les cystéine protéases, ou protéases à thiol, ont un mécanisme catalytique qui implique un groupe cystéine dans le site actif (Manzoor *et al.*, 2013). Et ce sont des enzymes dans lesquelles le nucléophile est le soufre de la cystéine (Barrett et Rawlings, 2001).

Leur mécanisme catalytique débute par la déprotonation du groupement thiol réalisée par un acide aminé adjacent possédant une chaîne latérale basique (souvent une histidine), en suite elle consiste en une attaque nucléophile du soufre anionique de la cystéine sur le groupe

carbonyle du substrat. Dans cette étape, un fragment du substrat est libéré (figure 2). L'histidine dans la protéase est restaurée sous sa forme déprotonisée et un intermédiaire thioester lie l'extrémité carboxy terminale du substrat à la cystéine. La liaison thioester est hydrolysée pour générer un acide carboxy-terminal et l'enzyme est restaurée (Storer et Ménard, 1994) (Figure 2).

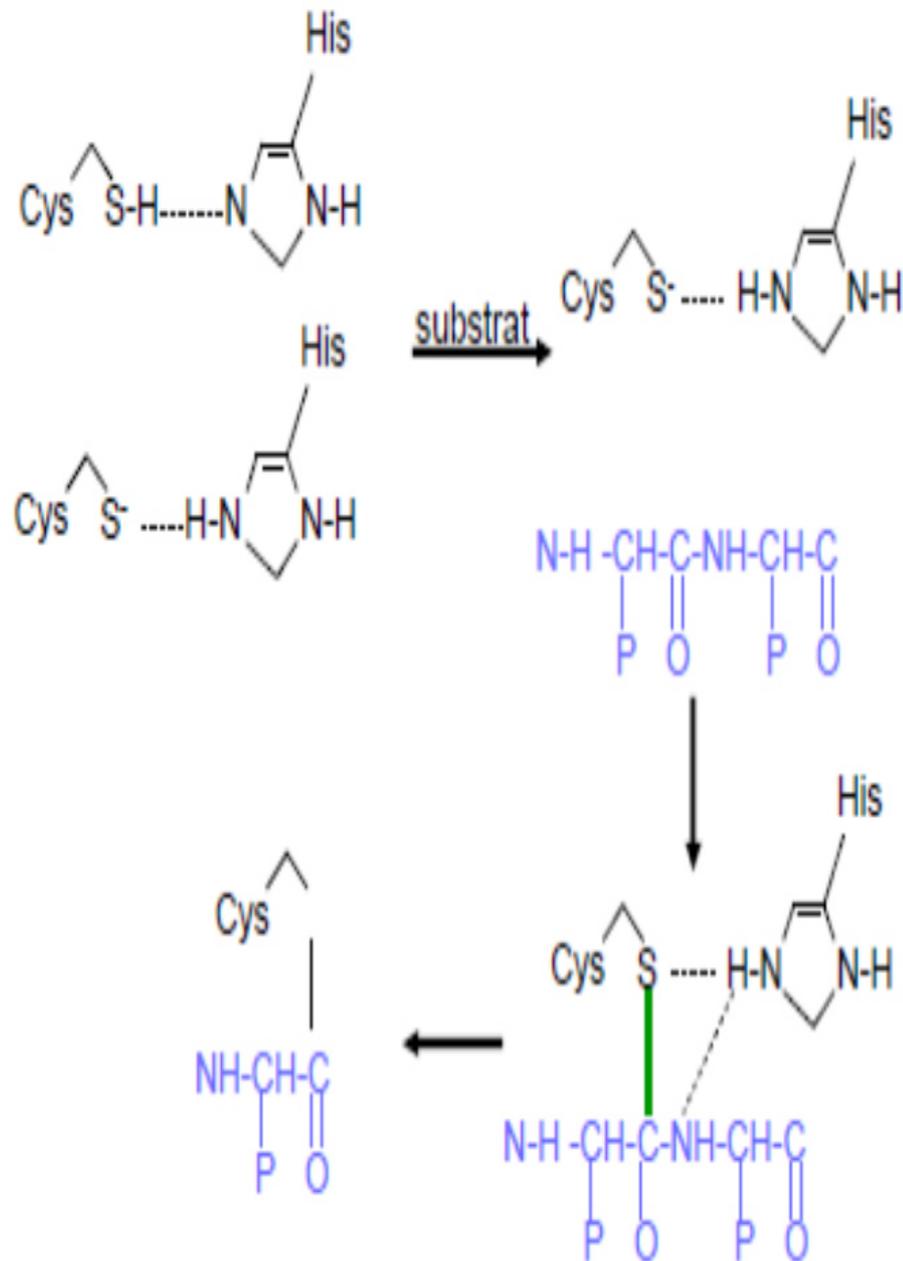


Figure2 : Mécanisme réactionnel des peptidases à cystéine (Storer et Ménard, 1994).

Le tableau, ci-dessous indique quelques sources végétales de protéases à cystéines ;

Le tableau N°1 : Sources de protéases à cystéines de coagulation du lait d'origine végétale.

Type de protéase	Site catalytique de l'acide aminé	Nom de protéase	source	références
Cystéine	Résidu de cystéine	ficine	<i>Ficus racemosa</i>	Devaraj et al.2008
		Coagulant Caprifig	<i>Ficus carica</i> <i>sylvestris</i>	Faccia et al. 2012
		Extrait protéique	<i>Albizia lebeck</i>	Egito et al. 2007
		Extrait protéique	<i>Helianthus annuus</i>	Egito et al. 2007
		Actinidine	<i>Actinidia chinensis</i>	Katsaros et al. 2010

(Manzoor *et al.*,2013)

III.2. Application de la ficine en tant que protéases

L'application de la ficine dans certains cas, a pour but de dévoilé si une substance décrite responsable d'une propriété observée dans un extrait brut, est de nature protéique, par exemple pour vérifier si cette propriété d'extrait demeure ou disparaît après traitement à la ficine. Comme elle est aussi utilisée pour vérifier la stabilité de certains anticorps (Morellon-Sterling *et al.*, 2020) ; cependant notre recherche est basée sur une application plus spécifique de la ficine comme catalyseur.

III.2.1. Protéolyse des protéines

L'hydrolyse de protéines, est l'application la plus simple de la protéase ; une série de recherches ont été effectuées à ce sujet (Morellon-Sterling *et al.*,2020) ;

- ✓ Les tendons de bovin ont été préalablement traités avec de la ficine, puis on leur avait extrait leurs collagènes pour réaliser une étude qui a révélé qu'une quantité significativement plus faible de la ficine est nécessaire pour obtenir des résultats optimaux (Zhao *et al.*, 2004)
- ✓ La protéine de canola a été protéolysée à l'aide de trypsine, de ficine et / ou de broméline, combinant ce traitement par transglutaminase. L'analyse des effets de ces traitements sur la gélification de la protéine a été réalisés (Pinterits et Arntfield, 2007). La protéolyse

produit une diminution de la force du gel, mais une protéolyse limitée a permis une meilleure réticulation utilisant la transglutaminase (Yang et Zhang, 2019 ; Folk et Finlayson., 1977) produisant un gel.

- ✓ L'hydrolyse limitée avec la ficine et la papaïne, a augmenté la capacité moussante de l'hordéine d'orge bien que la protéolyse excessive produit une diminution de la stabilité de la mousse (Kapp et Bamforth, 2002), Cependant, ils ne peuvent pas hydrolyser l'albumine.
- ✓ Une Hydrolyse des protéines de farine de soja, de poisson et d'orge catalysée par la ficine, la papaïne et la protéase de *Streptomyces griseus* ont été utilisées pour prédire la dégradabilité des protéines ruminales (Mirza et Miller ; 2005). L'azote de la farine de soja était presque complètement hydrolysé; alors que pour les protéines d'orge in vitro l'hydrolyse était lente à modérée (cela s'expliquait par une mauvaise accessibilité des protéines structurales aux protéases) (Mirza et Miller ; 2005).

III.2.2. Production de fragments d'anticorps actifs par protéolyse

Beaucoup d'études ont été réalisées, en utilisant la protéolyse des anticorps par des protéinases animales et végétales pour produire des fragments actifs, l'objectif est l'amélioration de certaines applications d'anticorps car ces derniers peuvent être améliorés si on utilise que l'unité de liaison à l'antigène (fab) de fragments actif de la protéine (Medina *et al.*, 2008 ; Clarke *et al.*, 2000).

La Fragmentation des globulines IgG humaines par hydrolyse protéolytique dans la présence d'un agent réducteur a révélé deux fractions séparables avec des coefficients de sédimentation d'environ 3,5S (Edelman., 1960 ; Haber., 1967). Un récepteur spécifique du facteur de croissance anti-épidermique (antiEGFRvIII) est utilisé dans le diagnostic de plusieurs tumeurs (Jing *et al.*, 2018). L'utilisation de l'anticorps entier soulève certains problèmes, comme la circulation à long terme, la rétention et effets de rétention et de perméabilité améliorés. Cela a été résolu par l'utilisant de fragment Fab de 4G1 (Fab-4G1), obtenu par hydrolyse de l'anticorps entier avec de la ficine immobilisée puis purifié par une colonne de protéine A pour générer le fragment Fab (Jing *et al.*, 2018). Une étude menée par (Marion *et al.*, 1968), compare l'évaluation immunochimique et sérologique de globulines IgG isolées à partir d'un seul sérum anti-Rh hydrolysé par quatre enzymes protéolytiques différentes, la subtilisine, l'élastase, la trypsine et la chymotrypsine, et les résultats sont comparés à une étude antérieure de protéolyse par la pepsine, la papaïne, la ficine et la broméline (Wailer *et al.*, 1968).

III.2.3. Attendrissement de la viande

Les enzymes protéolytiques sont connus pour augmenter la tendreté de la viande lorsqu'ils sont correctement utilisés, la tendresse produite par eux est sans aucun doute le résultat de dégradation des protéines; pourtant il y a relativement peu d'informations disponibles concernant la fraction de viande changée pendant l'attendrissement enzymatique (Wangetal.,1957).

L'extrait enzymatique de ficine *ficus carica*, est utilisé depuis longtemps pour l'attendrissement de la viande (Kang et Rice, 1970 ; Solov'ev et Krakova, 1973). Plusieurs recherches ont été consacrées pour l'étude de l'efficacité de l'application de cette enzyme pour l'attendrissement de la viande. Cette utilisation de la ficine a été récemment revue (Bekhit et al., 2014). Par exemple, *Triceps brachii* et *Supraspinatus* ont été soumis à un traitement avec de la ficine, protéase de *Bacillus subtilis*, gingembre frais homogénéisé, bromélaïne, papaïne, et deux protéases d'*Aspergillus oryzae* (Sullivan et Calkins, 2010). L'échantillon de contrôle présente des protéines moins solubles dans l'eau que la ficine (ce qui était l'exception). Tous les traitements enzymatiques ont augmenté la tendreté de la viande via le collagène et la dégradation de la myofibrine et les traitements n'ont pas présenté de différences parmi les muscles du tissu conjonctif haut et bas .

III.2.4 Utilisation de la ficine pour catalyser les réactions d'amidation

L'utilisation de protéases comme catalyseurs dans la synthèse peptidique a commencé au début de ce siècle, et il est toujours un domaine de recherche active. Certains des procédés ont été commercialisés (Carlos *et al.*, 1987). Et l'utilisation pratique des protéases est principalement due à leur capacité à catalyser les réactions de protéolyse (hydrolyse du peptide obligations) (Filippova et Lysogorskaya, 2002). Parmi ces protéases ; la ficine fait l'objet de plusieurs études réalisées sur ce sujet, dans un article, la l-aminoacyl- et la l-peptidyl-antipyrine N-amides ont été synthétisés à l'aide de différentes protéases, dont la ficine (Lang *et al.*, 2009) (L'optimisation, utilisant la précipitation du produit, a permis d'atteindre 100%).

III.2.5. Les utilisations cliniques de la ficine

La ficine à plusieurs utilisations cliniques, elle est utilisée comme un hémostatique, puisqu'elle présente une puissance hémostatique. Cela a été expliqué du fait qu'elle réduit le temps de prothrombine des plasmas normaux et les plasmas déficients en facteurs de coagulation et le partiel active le temps de thromboplastine (Richter *et al.*, 2002). Dans un article, Deux des

composants de la ficine se comportent comme un facteur Activateurs X (par hydrolyse successive dans la chaîne lourde entre Leu178 et Asp179, Arg187 et Gly188, et Arg194 et Ile195 et la libération d'un peptide carboxy-terminal). Le modèle de clivage des produits de dégradation du FXa dans la chaîne légère ont été influencés par le Ca²⁺ et Mn²⁺. Ces données suggèrent que le potentiel hémostatique des protéases de Ficus, est basé sur l'activation du facteur X de coagulation humain (Richter *et al.*, 2002).

La ficine a aussi d'autres utilisations, par exemple Des anticorps monoclonaux (par exemple, TS1 contre cytokératine 8) sont utilisés pour localiser les médicaments dans le traitement des tumeurs, mais ces anticorps doivent être éliminés de la circulation pour éviter les effets secondaires négatifs probables. Plusieurs dérivés de l'anticorps antiidiotypique α TS1, α TS1 monoclonal intact, scFv d'un α TS1 et α TS1 Fab et Fab'2 fragments ont été produits par recombinaison technologie ou par clivage avec Ficin pour étudier la capacité de la compensation (Erlandsson *et al.*, 2006). L'ensemble des IgG antiidiotypiques bivalentes était le plus efficace, les fragments présentant une stabilité plus faible (Morellon-Sterling *et al.*, 2020).

III.2.6. Production de peptides bioactifs

Tous les acides aminés qui sont essentiels pour une croissance normale, et le maintien de la vie et la reproduction, sont puisés à partir de protéines alimentaires qui représente aussi une importante source d'énergie. Leur propriété fonctionnelle contribue aux propriétés physico-chimiques et sensorielles des aliments. En outre, leur digestion partielle par des protéases peut produire des séquences peptidiques avec des propriétés biologiques spécifiques (peptides bioactifs) qui en font des ingrédients potentiels pour les aliments fonctionnels (Udenigwe et Aluko, 2012). Les enzymes protéolytiques ont la capacité de modifier les protéines par clivage limité ou étendu, libérant des acides aminés libres, des peptides ou des polypeptides avec propriétés physico-chimiques différentes de la protéine d'origine (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2008). de nouvelles recherches révèlent que ; l'hydrolysate de gélatine de *Uroteuthis duvauceli* (un calmar indien) qui a été produit avec de la ficine (Shahidi *et al.*, 2018). Les propriétés de l'hydrolysate ont été évaluées comme agents anti-cancer du sein (zymographie matricielle-métalloprotéinases, migration cellulaire, apoptose / nécrose, examen morphologique en contraste de phase, cytotoxicité et croissance clonale). Les cellules cancéreuses du sein MCF-7 et MDA-MB-231 étaient utilisées comme échantillons problématiques, tandis que les cellules normales HUVEC ont été utilisées comme référence. Inhibition significative de MCF-7 et MDA-MB-231 sans cytotoxicité sur les cellules HUVEC a été détectée (Shahidi *et al.*, 2018). Dans une autre recherche ; la caséine bovine a été hydrolysée à l'aide de ficine et l'hydrolysate produit a été évalué

comme un produit antioxydant (Di Pierro *et al.*, 2014). Huit peptides ont été identifiés avec des propriétés antioxydantes potentielles (Di Pierro *et al.*, 2014).

III.2.7. Coagulation du lait

La ficine, est une enzyme protéolytique, qui a été connue depuis toujours pour ses pouvoirs de coagulation du lait. Et pour bien comprendre ces propriétés de coagulation plusieurs recherches ont été effectuées, dont certaines étaient basées sur une étude comparative entre la ficine et une autre substance phytochimique qui possède le même pouvoir de coagulation qu'elle, et cela dans le but d'étudier encore plus son efficacité, par exemple dans une étude, la ficine a été comparée à l'extrait de *Polyporus badius* dans la coagulation du lait en analysant la rhéologie et la microstructure caractéristiques du lait caillé de brebis (Shabani *et al.*, 2018). Les gels produits par les gels *P. badius* étaient plus visqueux et avec une texture plus douce que les gels de ficine. Autrement dit, ils ont une humidité plus élevée et des teneurs en protéines plus faibles présentant une structure plus compacte (Shabani *et al.*, 2018). Une autre méthode basée sur l'étude de l'effet de la ficine, la papaine et la présure, sur les molécules de caséine d'un lait ultrafiltré a été réalisée comme suite ; des échantillons de lait écrémé bovin ultrafiltré ont été traités avec de la présure de veau, de la ficine et de la papaine (Low *et al.*, 2006). Les auteurs ont trouvé que la ficine et la papaine avaient un effet plus significatif sur la protéolyse du caillé formé de lait ordinaire et 1 × ultrafiltré que de 2 × ou 4 × lait ultrafiltré. Les auteurs ont proposé que l'ultrafiltration peut produire des modifications structurelles de certains constituants du lait les propriétés de coagulation et / ou de protéolyse des molécules de caséine (Low *et al.*, 2006).

III.3. Extraction de la ficine du figuier et l'étude de ces caractéristiques enzymatiques

L'enzyme protéolytique du figuier *Ficus carica L.*, se situe exactement à l'intérieur du latex ou la sève élaborée de ce dernier, son extraction s'effectue d'abord par la récolte du latex à partir des feuilles, fruits ou même en cassant les branches de cet arbre (Jander et Machado, 2008). Le prélèvement s'effectue en période de montée de la sève, en printemps vers le mois de mars (Drouet, 2014).

Ensuite, l'extraction de la ficine qui sert à séparer l'extrait enzymatique de la gomme va être réalisée par centrifugation de latex de figuier à 3 200 g pendant 15 minutes à 4 ° C pour récupérer l'extrait enzymatique, qui est représenté par le surnageant, puis elle sera stockée à 18 ° C pour des utilisations ultérieures (Riffaat *et al.*, 1970; Low *et al.*, 2006). Les extraits bruts, peuvent être davantage purifiés pour obtenir une enzyme partiellement purifiée ou pure selon le degré de purification (Manzoor *et al.*, 2013).

Après extraction, la ficine obtenue est une solution visqueuse brune clair qui était collante entre les doigts. Ces caractéristiques sont similaires aux résultats de (Nouani et al., 2009 ; Mazri *et al.*,2018).

L'étude des caractéristiques de l'enzyme, doit être effectuée en utilisant une solution standard ; Le lait utilisé est un lait écrémé obtenu par dissolution de 12 g de lait écrémé en poudre dans 100 ml de solution de CaCl₂ à 0.01M selon le protocole de Berridge (1955).

Les tests doivent être répétés trois fois pour chaque paramètre et l'activité doit être déterminée à partir de leurs moyennes.

III.4. Etude comparative entre deux résultats des recherches récentes concernant l'utilisation de la ficine comme un agent coagulant et ces caractéristiques enzymatiques

La première, réalisée par Mazri *et al.* (2018) ; basée sur l'étude des caractéristiques enzymatique de la ficine du figuier, et la possibilité d'utilisation de cette dernière comme un substitue de présure, En outre, deux essais de fabrication d'un fromage frais et à pâte molle à l'aide de la ficine ont été réalisés, le lait utilisé pour la fabrication des deux types de fromage était le lait de chèvre.

La deuxième étude était celle de Nouani *et al.* (2009) ; sa recherche était basée sur l'étude des propriétés des extraits purifiés de deux plantes ; Les fleurs d'artichaut de capitules fraîches, la variété utilisée dans cette étude est le cultivar appelée violette, et la sève brute de *Ficus carica* qui est dérivée de la variété Onk l'hmam, Le procédé est basé sur une purification par chromatographie d'exclusion sur Sephacryl S-200 et un traitement gel Sephadex G-50 pour décolorer l'excès de pigmentation ainsi que pour mettre en évidence les effets des différents paramètres (pH, température, enzyme et concentration en CaCl) sur les deux coagulants.

Et le but général de ces deux études ; consiste en la valorisation du savoir-faire ancestrale en ce qui concerne l'utilisation des caractéristiques protéolytiques de la ficine du figuier *ficus carica*, qui est puisées de la biodiversité florale du nord de l'Algérie.

Selon les résultats obtenus par les deux études ; on constate que La teneur en protéines de l'extrait brut de la ficine utilisé par Mazri *et al.* (2018) est significativement plus élevés, elle est de **41,75 ± 0,39 mg / ml** que celle obtenue par Nouani *et al.* (2009) qui est de **(22 mg / ml)**, chose qui peut être expliquée du fait que cette dernière étude avait utilisé l'extrait purifiée de la ficine. La concentration totale en protéines des préparations de coagulants enzymatiques bruts est relativement faible par rapport à la masse de matière brute utilisée (Nouani *et al.*,2009). En plus

les deux extraits utilisés ne sont pas d'une même variété ni d'une même région. La relation exacte des différents composants actifs d'extrait de ficine peut changer par la santé de l'arbre, la température ambiante, les conditions d'arrosage, etc. (Haesaerts *et al.*, 2015 ; Zare *et al.*, 2012) Par exemple, le latex présente une augmentation uniforme de la concentration de protéines pendant la maturation des fruits, tandis que le contenu de la ficine a diminué (Raskovic *et al.*, 2016). L'activité coagulante retrouvée par Mazri *et al.* (2018) est de **103,458 ± 1,69 UR**. A ce sujet, Nouani *et al.* (2009) avaient constaté qu'à l'état brut, l'extrait de sève de figuier représente la plus grande activité coagulante, et si on compare ce résultat avec une autre troisième étude Cette valeur est légèrement inférieure à celles rapportées par Williams Donald *et al.* (1968) qui ont trouvé **188, 89 UR**.

En ce qui concerne la force de coagulation, exprimée par le volume de lait coagulé par un volume de coagulant, l'extrait obtenu, elle est de **1 / 21250,911**, ce résultat est obtenu par Mazri *et al.* (2018), puis ils ont conclu que cette force est inférieure à celle obtenue par Nouani *et al.* (2009) évalué à 1/40000. Cette différence peut s'expliquer par les différences climatiques entre les régions de collecte du latex ainsi que par les caractéristiques du sol qui peuvent influencer la composition du latex (Mazri *et al.*, 2018).

En comparant ces résultats avec ceux d'autres enzymes végétales traditionnellement utilisées dans la fabrication du fromage comme les cardosines, nous constatons que la ficine a une activité coagulante, une force coagulante et une teneur en protéines plus élevées que les cardosines obtenues par différents auteurs (Nouani *et al.*, 2009).

Les résultats obtenus par Mazri *et al.* (2018) montrent que l'activité protéolytique de l'extrait de ficine est très élevée (4 fois supérieure) à celle de la présure; **139,094 µg / ml** pour l'extrait de ficine contre **35,75 µg / ml** pour la présure. Cette activité protéolytique excessive de la ficine a été rapportée par plusieurs auteurs (Oner et Akar, 1993; Fadyloglu, 2001; Nouani *et al.*, 2009; Faccia *et al.*, 2012).

La recherche de Mazri *et al.* (2018) montre que l'activité coagulante de la ficine dépend fortement du pH, de la température et de la concentration en sel de CaCl₂. L'activité coagulante optimale pour l'extrait de ficine a été obtenue à une température du lait de 75 ° C, à pH 5 et à une concentration de 0,03 M CaCl₂ avec des valeurs de 2097,90 UR, 911,79 UR et 192,30 UR, respectivement. Ces résultats sont similaires à ceux donnés par Nouani *et al.* (2009) évalué à 80 ° C. Selon ces résultats, il a été constaté que le pH joue un rôle très important dans la coagulation du lait, la solubilisation du phosphate de calcium micellaire, la diminution de la charge nette des

molécules de caséine et la dissociation des caséines micellaires avec un pH optimal pour l'hydrolyse de la κ -caséine entre 5,1 et 5,3 (Mazri *et al.*,2018).

III.5. Effet antimicrobien de la ficine

C'est depuis l'antiquité, que l'homme avait développé la tradition d'utiliser des plantes se trouvant dans son habitat naturel pour ces différentes fins surtout pour se soigner (Destaet *al.*,2020). Actuellement,les thérapies naturelles ont stimulé une nouvelle vague d'intérêt pour la recherche sur les pratiques traditionnelles (Braun Et Cohen, 2007).Des résultats prometteurs ont été obtenus dans les enquêtes de recherche émergentes sur les potentiels thérapeutiques de la flore africaine tels que revus par Gurib-Fakim et Mahomoodally (Gurib-Fakim.,2013). L'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques résultant d'une utilisation intensive des antibiotiques peuvent rendre l'antimicrobien actuel agents insuffisants pour contrôler au moins certaines bactéries infectieuses. Parmi les principaux agents pathogènes qui ont développé cette résistance nous avons les souches de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomaunas ssp.*, *Streptococcus ssp.* Lazreg Aref *et al*(2010) ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de latex de *F. carica* de Bidhi Bither variété (type Saint-Pedro) contre certaines bactéries résistantes.

La recherche était basée sur l'utilisation du latex de caprifig Jrani, qui est collecté à partir de figes non mûres, non comestibles du champ agricole de Mesjed Aissa situé dans le coût central de la Tunisie en juin 2010. Le latex était conservé dans la glace pendant la période de collecte. En suite le latex était macéré dans 1L d 'hexane (Merck, Allemagne) pendant 10 jours puis filtré et évaporé sous pression réduite pour donner un extrait gommeux L'analyse de l'extrait de latex Jrani caprifig a été réalisée sur un MSD inerte GC-MS HP modèle 1909S-433. L'étude a été effectuée sur 10 micro-organismes, comprenant des souches bactériennes Grampositives et Gram-négatives. Parmi ces souches on cite les *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27950, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2783, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Essai de diffusion sur disque La méthode de diffusion de disque conventionnelle (Murray et al., 1995) a été utilisé pour l'évaluation initiale du potentiel antibactérien de l'extrait de ficine.L'analyse phytochimique révèle que la solution aqueuse de l'extrait de fruit sec mûr de *F. carica* contient des alcaloïdes, des flavonoïdes, des coumarines, des saponines et des terpènes (Teixeira et al., 2006; Vaya et Mahmood, 2006). Grace à cette étude, les chercheurs ont arrivés à décrire pour la première fois l'activité antimicrobienne du latex caprifig (*F. carica*) extrait qui a

montré une forte activité contre *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *E. cloacae*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa*.

Sur la base des résultats de cette étude, les chercheurs ont conclu que Le latex caprifig est un agent qui est utilisé en médecine folklorique et pourrait être une source pour trouver de nouveaux agents antibactériens, en vue de traiter et contrôler les infections. Actuellement beaucoup d'autres recherches sont en cours de se réaliser à ce propos (Desta *et al.*,2020).

IV. Le fromage

IV.1. Lait

IV.1.1. Définition

Le lait est un liquide blanc, onctueux et gras, il est doué d'une légère odeur aromatique qui rappelle un tant soit peu l'animale dont il provient (Larbalétrier, 2015) Le tableau ci-dessous représente la composition moyenne du lait de différentes espèces animales.

Tableau N°2 : la composition moyenne du lait de différentes espèces animales

Composants de lait Espèce animale	Eau (%)	Matière grasse (%)	protéines (%)	Glucide (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87	3.8	2.9	4.4	0.9
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7

(Amiot et al,2002)

IV.1.2. Eléments chimiques constituant le lait

Le lait se compose d'eau, de lipides, de glucides, de protéines, de sels (Tableau 2) et d'une longue liste des divers constituants. Il peut contenir jusqu'à 105 types différents de molécules. Sa composition varie avec diverses influent (Jenness, 1988), Parmi eux : race et l'état de santé de l'animal, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005). Le lait de vache est riche en éléments nutritifs, tels que les glucides, les protides, il est aussi riche en calcium, comme il contient aussi des sels et des traces de vitamines (tableau N°3).

Tableau N°3: Composition moyenne du lait de vache

Constituants	Composition g/l
Eau	905
Glucides (lactose)	49
Protides	
Caséine	34
Protéines solubles (globuline, Albumines)	27-2.5
substances azotées non protéiques	1.5
Sels	
De l'acide citrique (en acide)	9
De l'acide phosphorique (P ₂ O ₃) -	2
Du chlorure de sodium (NaCl)	2.6
Constituants divers (Vitamines, enzymes, gaz dissous)	TRACES
Extrait sec totale	127
Extrait sec non gras	92

(Alais *et al.*, 2008)

IV.1.3. Transformation du lait en fromage

Le lait est un liquide instable ; sous l'influence d'un assez grand nombre de causes dont les actions ne sont pas toutes élucidées, il s'altère, tourne, et la modification qu'il subit est définitive (Iarbalétrier, 2015).

La coagulation du lait est la principale étape de la production de fromage, c'est la transformation de lait de l'état liquide à l'état de gel, qui diffère selon que la coagulation est induite par acidification suite à la fermentation de la flore bactérienne lactique et/ou par action d'enzymes coagulantes. Après séparation de phase (égouttage), la caillebotte subit ou non un affinage spécifique pour chaque type de fromage (Jeantet *et al.*, 2008).

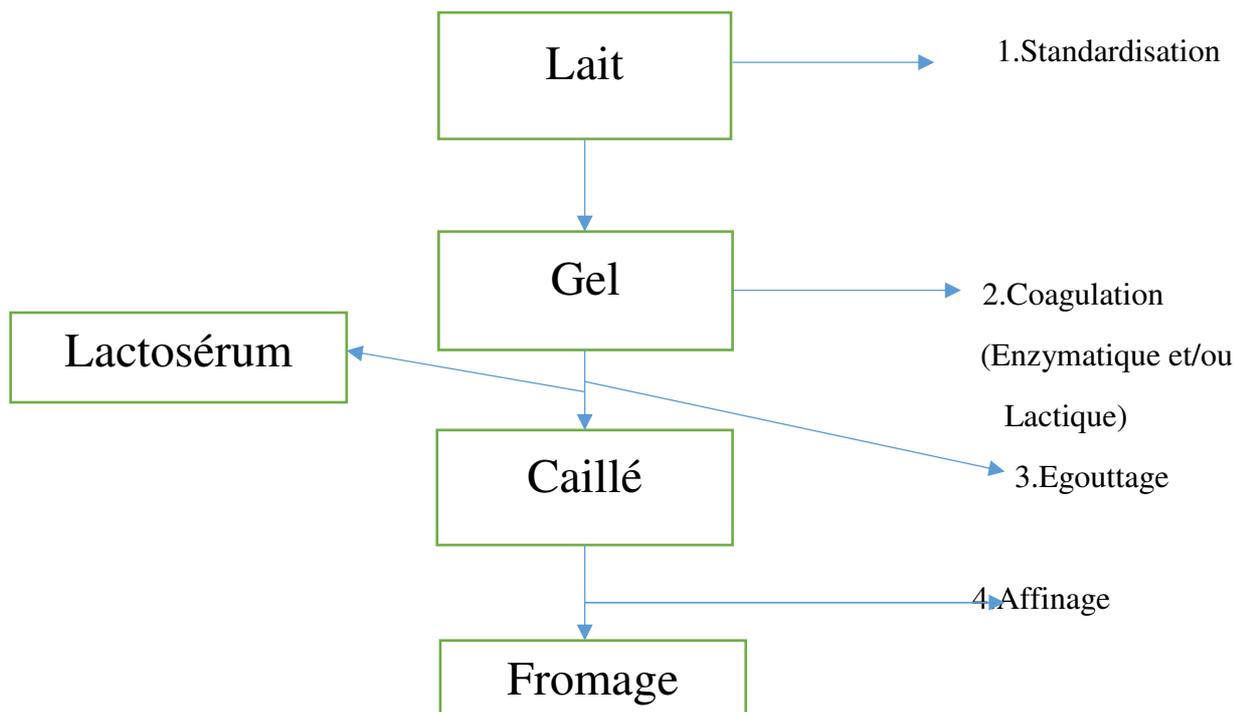


Figure N°3 : bases de la fromagerie (Larbalétrier, 2015).

IV.2. Définition du Fromage

Le terme fromage est réservé au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières (lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème beurre) (Jeantet *et al.*, 2008). Les produits laitiers frais, rassemblent une grande variété de produits qui se différencient par leurs procédés de fabrication, leurs textures et leur qualité organoleptique qui confère à chaque produit une saveur unique.

IV.2.1. Classification des fromages

On divise généralement les fromages en deux grandes sections : ceux à pâte molle et ceux à pâte ferme, catégories qui sont, elles-mêmes, subdivisées en fromage frais et fromages affinés pour la première, et fromages pressés et fromages cuits et pressés pour la seconde catégorie (Larbalétrier, 2015).

IV.2.2. Fromage à pâte fraîche

Le fromage blanc est un fromage non affiné qui, lorsqu'il est fermenté, a subi une fermentation principalement lactique. Les fromages blancs fermentés sont commercialisés avec le qualificatif « frais » ou sous la dénomination « fromage frais » doivent renfermer une flore vivante au

moment de la vente au consommateur (Décret Français n° 2007628, 2007). Ce type de fromage résulte d'une coagulation lente du lait par action de l'acidification combinée ou non de celle d'une faible quantité de présure, ils sont fabriqués à partir de laits ou de crème propres à la consommation humaine. Les fromages frais ou non affinés sont des produits semblables au caillot pouvant être consommés immédiatement après la fabrication (Walstra et al., 2006). Comme ils présentent aussi, une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre, les différents fromages à pâte fraîche sont caractérisés par :

- Un caillé non pressé et une teneur élevée en eau,
- Une durée de conservation courte,
- Des produits à consommer sans période de maturation (Eck et Gillis, 2006 ; Luquet *et al.*, 2005).

IV.2.3. Qualité nutritionnel du fromage frais

Le fromage représente aujourd'hui un des aliments les plus rependu. Il est consommé par toutes les classes de la société, car il réunit des qualités multiples en plus il comporte les plus précieux éléments nutritifs du lait, puisqu'il est en réalité le concentré de ce dernier (Larbalétrier, 2015). Les fromages frais est riches en éléments minéraux (Calcium, sodium) protéines et contiennent aussi de la vitamine A (tableau 4).

Tableau N°4 : Composition moyenne d'un fromage frais pour 100g de produits frais

Composition	Fromage frais
Eau	80 g
Protéine	8 ,5g
Glucide	4 g
Lipide	7,5g
Sodium	40 mg
Calcium	100mg
Vitamine A	100 UI

(Eck et Gillis, 2006)

Les fromages frais possèdent une très importante valeur nutritionnelle, ils constituent une forme de conservation des protéines, de la matière grasse ainsi que d'une partie du calcium et du phosphore (Mahaut *et al.* 2000).

IV.3. Types d'herbes utilisés pour l'enrichissement du fromage frais

C'est depuis la nuit des temps, que l'homme avait recourt à utiliser les différentes plantes qui l'entoure, et qui trouve dans son environnement naturel, non seulement comme arômes alimentaires, mais aussi comme médicaments et conservateurs. Il existe un lien significatif entre les habitudes alimentaires et la prévention des maladies; les effets des aliments sur des maladies telles que le diabète, l'obésité, l'ostéoporose, l'hypertension et les maladies cardiovasculaires sont documentés dans la littérature (Oraon *et al.*,2017).

Parmi ces herbes on cite : romarin, basilic, thym, sauge et origan, elles sont des plantes aromatiques les plus intéressantes, et les plus prometteuses pour la santé, par leurs effets antimicrobiens, et leurs propriétés fonctionnelles antioxydantes sont très recherchés dans les domaines thérapeutique, pharmaceutique et alimentaire(Embuscado,2015 ; Pisoshi *et al.*,2018).

IV.4. Qualité nutritionnel du fromage obtenu comme aliment fonctionnel

L'aliment fonctionnel, selon la définition Japonaise, est un aliment auxquels sont ajoutés des éléments permettant de régulariser le métabolisme (micronutriment, antioxydants, peptides, fibres, etc..). Les herbes aromatiques qui sont connu par leurs richesses en antioxydants, et d'autres ingrédients fonctionnels bénéfiques pour la santé humaine, si encore ils sont associés aux produits laitiers, ils pourraient les rendre des aliments fonctionnels à valeur ajoutée sur le plan santé et économique (Oraon *et al.*,2017).

L'association des extraits végétaux auxfromages, permet non seulement la limitation des contaminations bactériennes et champignons pathogènes, mais elles leurs confère aussi un meilleur goût, en leurs donnant une saveur et une fraîcheur exceptionnelle en particulier l'extrait de *Pimenta racemosa* (Keke *et al.*,2008).

V. Utilisation de l'extrait enzymatique « ficine » comme succédané de présure

V.1. Essais de fabrication du fromage frais à base de la ficine du figuier *Ficus carica*

En vue d'étudier la possibilité d'application de la ficine du figuier comme un succédané de présure, plusieurs recherches récentes qui sont publiées ont été consultées. Cependant ces recherches ont été basées sur une étude comparative entre le fromage fabriqué avec la ficine du figuier comme une protéase coagulante d'origine végétale, et celui produit avec la présure ordinaire dumarché, ou avec une autre protéase végétalepossédant les mêmes effets de coagulation qu'elle, pour cela plusieurs essais de fabrication de fromage à pâte molle et fraîche ont été réalisés par différents auteurs ; on cite par exemple l'étude effectuée par Mazriet *al.*

(2018), c'est une recherche qui était basée sur la fabrication de trois types de fromages ; fromages à pâte molle avec la ficine et à la présure et des fromages frais type Aggouglé préparés avec le lait de chèvre coagulé avec de la ficine, cette étude est basée sur l'analyse sensorielle comparative sur la base de 13 critères organoleptiques (élasticité, texture moelleuse, rugueux texture, texture onctueuse, dispersion en bouche, adhérence, solubilité en bouche, goût amer, goût sucré, goût acide, goût astringent, couleur jaune et odeur lactique), était réalisée sur ces différents produit. Ces critères étaient notés sur une échelle de 0 à 9 par un panel de jury de dégustation composés d'étudiants et enseignants de la faculté de SNV de l'Université de Bouira préalablement formé afin de représenter le consommateur de ce genre de produit, en fin pour une bonne interprétation des résultats, ces derniers qui sont obtenus du test d'intensité ont été traités par Excel, puis représentés graphiquement afin de visualiser les caractéristiques organoleptiques des fromages fabriqués et de faciliter la distinction de produit choisit selon la base de critère hautement évalué. Une analyse instrumentale a été utilisée pour avoir une idée bien précise sur la fermeté du fromage à pâte molle môle en se basant sur sa viscosité et sa force de cisaillement, par le billet d'un test de viscosité avec le viscosimètre **VT550**.

V.2. Qualité organoleptique du fromage obtenu

Les résultats obtenus par l'étude de Mazri *et al.* (2018) révèlent que l'extrait de ficine peut remplacer la présure commerciale dans la fabrication du fromage tout en garantissant des qualités organoleptiques appréciables pour le consommateur.

V.3. L'intérêt d'enrichissement du fromage obtenu avec des herbes aromatiques

Le fromage frais, qui est fabriquer à base de la ficine du figuier, est un produit qui peut présenter une certaine amertume, en ce qui concerne le goût cela peut être due à l'activité protéolytique excessive de la ficine, cette dernière a été rapportée par plusieurs auteurs (Oner et Akar, 1993; Fadyloglu, 2001; Nouani *et al.*, 2009; Faccia *et al.*, 2012 ; (Mazri *et al.*, 2018).

La qualité organoleptique de n'importe quel produit alimentaire représente la cause principale de sa vente vue les exigences du consommateur en ce qui concerne le goût qui augmenté avec la variété de choix sur le marché. Cependant un ajout d'une certaine quantité d'herbes aromatique, peut relever le goût du fromage en lui conférant, une saveur et une fraîcheur exceptionnel, et puis encore renforcer sa teneur en antioxydants (Embuscado, 2015 ; Pisoshi *et al.*, 2018). Les propriétés anti oxydantes de ces herbes sont dues à la présence de certaines vitamines, flavonoïdes, terpénoïdes, caroténoïdes et phytoestrogènes. Ces antioxydants aident à neutraliser

les radicaux libres en inhibant l'initiation ou la propagation de réactions oxydantes en chaîne et peuvent réduire le stress oxydatif dans le corps humain (Oraon *et al.*, 2017).

Conclusion :

L'objectif principale de notre travail, était la réalisation d'une synthèse bibliographique l'incorporation des herbes aux fromages coagulés par la ficine de *Ficus carica* en s'appuyant sur deux recherches ;

La première s'appuie, sur l'exploitation d'un de figuier *Ficus carica*, issu de son latex ; la ficine qui est une protéase dotée d'un pouvoir coagulant sur les caséines. Selon les résultats obtenus par plusieurs chercheurs concernant cette étude citée précédemment, on peut conclure que l'activité coagulante de la ficine dépend de plusieurs paramètres tels que ; le pH, la température, la concentration en sel de CaCl_2 . L'activité coagulante optimale pour l'extrait de ficine a été obtenue à une température du lait de 75°C , à pH 5 et à une concentration de 0,03 M CaCl_2 . Pour bien comprendre le rôle joué par ces différents paramètres, nous avons réalisé une comparaison entre les résultats issus de deux études récentes.

Et selon toujours les résultats obtenus par ces auteurs, on peut dire que l'application de l'extrait enzymatique de la ficine ne se limite pas au niveau alimentaire, mais elle est aussi utilisée pour des applications encore plus importantes par exemple son emploi pour la production de peptides bioactifs. Les recherches les plus récentes qui sont réalisées sur l'utilisation de la ficine comme un agent antimicrobien, révèlent que cette enzyme possède vraiment des effets antibactériens, et son emploi comme un antibiotique de remplacement des médicaments demeure très intéressant, puisqu'il nous permet de faire recourt à des thérapies naturelles.

La deuxième consiste, à étudier l'applicabilité de la ficine comme succédané de présure, pour cela, nous nous sommes intéressés à un essai de fabrication d'un fromage frais à base de cette enzyme ; les résultats obtenus révèlent que ; l'extrait de ficine peut être utilisé comme un substitut de présure au niveau industriel tout en garantissant des qualités organoleptiques de fromage appréciables pour le consommateur. Et puis, une petite révision bibliographique, était consacrée à l'intérêt d'utilisation d'herbes aromatiques comme ingrédients fonctionnel dans le fromage fabriqué à base d'extrait enzymatique « la ficine ».

En fin, on s'appuyant sur les résultats de recherches réalisées, on peut dire que la commercialisation de la ficine comme une enzyme de remplacement définitive de présure, en vue de son utilisation au niveau industriel, reste toujours une perspective d'avenir à encourager par le développement de procédé d'extraction, d'immobilisation et de commercialisation, surtout qu'il y a plusieurs travaux qui ont été réalisés à son sujet, et d'autres qui sont en cours, en vue de mettre en évidence les effets des différents paramètres (pH, température, enzyme et

concentration en CaCl) sur son activité coagulante, afin de bien comprendre et géré les conditions optimales de l'activité de cet extrait enzymatique.

Références bibliographiques

Alais C., Linden G. Et Miclo L. 2008. Biochimie alimentaire, Dunod 6eme édition. Paris. Pp : 86-88.

Azarkan M., Matagn A., Wattiez R., Bolle L., Vandenameele E J., Devarajk.B., Gowda lalitha R. et Prakash V., (2008), An unusual thermostable aspartic protease from the latex of *Ficus racemosa* (L.) *Phytochemistry* 69: 647–655.

Arima K., YU J., Iwasaki S., Tamura G., 1968. Milk clotting enzyme from microorganisms V. Purification and crystallisation of *Mucor* rennin from *Mucor pusillus* var. *Lindt. Appl. Microbiol.*, 16, 1727-1733.

Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R. (2002), Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. *In Science et technologie du lait. C.L. Vignola. Montréal: Presses internationales polytechnique.* P.1-74.

Areces L.B., Bonino M.B.I., Parry M.A.A., Fraile E.R., Fernandez H.M. & Cascone O. (1992). Purification and characterization of a milk clotting protease from *Mucor bacilliformis*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 37, pp. 283-294.

Asakura T, Watanabe H, Keiko A, Soichi A (1997) Oryzasin as an aspartic proteinase occurring in rice seeds: purification, characterization, and application to milk-clotting. *J Agric Food Chem* 45:1070–1075

Berridge, N.J. (1955): Purification and assay of rennin. *Methods in enzymology.* Ed.

Bah S, Paulsen BS, Diallo D, Johansen HT (2006) Characterization of cysteine proteases in Malian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 107:189–198.

Barrett, A. J., & Rawlings, N. D. (2001, May). Evolutionary lines of cysteine peptidases. *Biological Chemistry*, 382, 727-733

Braun L, Cohen M. (2007), *Herbs and Natural Supplements: An Evidencebased Guide*, second ed. Elsevier, Australia, ISBN: 072953796X, p. 791.

Bruno MA, Trejo SA, Aviles XF, Caffini NO, Lopez LMI (2006), Isolation and characterization of hyeronymain II, another peptidase isolated from fruits of *Bromelia hieronymi* Mez (Bromeliaceae). *Protein J* 25:224–231

Banga-Mboco H., Godeau J.M., Drion P.V., EL amiri B., Drion V., Perenyi Z., Sousa N.M. & Beckers J.F. (2002). Evaluation de l'utilisation du pepsinogène sanguin comme bio marqueur de l'intégrité de la muqueuse gastrique chez le porc .1- Historique, physiologie de la muqueuse gastrique et différentes formes de pepsinogènes. *Ann. Méd. Vét.* , 146, pp. 339346.

Bat S, Paulsen BS, Diallo D, Johansen HT (2006) Characterization of cysteine proteases in Malian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 107:189–198

Bekhit. A.A.A.A, Hopkins. D.L, Geesink. G, Bekhit. A.A.A.A, P. Franks, Exogenous proteases for meat tenderization, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54 (2014) 1012–1031,

<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.623247>

Baud Pierre, 2007, *Le figuier pas à pas ,jardinier construire bricoler,* édisud, un éditeur de la Compagnie des éditions de la lesse 13100 Aix-en-Provence-France, www.edisud.com-info@edisud.com.

Banga.Mboko H,Godeau J.M, Perenyiz, Sousa N.M, Beckers.J.F, (2002), Evaluation de l'utilisation du pepsinogène sanguin comme bio marqueur de l'intégrité de la muqueuse gastrique chez le porc.*Anm.Méd.Vét.*,146,339.346.

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

Clarke. W, J.D. Beckwith, A. Jackson, B. Reynolds, E.M. Karle, D.S. Hage, Antibody immobilization to high-performance liquid chromatography supports, *J. Chromatogr. A* 888 (2000) 13–22, [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00548-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00548-3).

Chafiaa Mazri, Hammer el Ain Soumia², Hocine Siar³, Characterization and Application of Phytochemicals Substances of the Fig Tree: Biological and Sensory Characterization of Ficin and Cheeses .“Fresh and Soft Faculty of Science of Nature and Life and Earth Sciences, Akli Mohand Oulhadj University of Bouira, Bouria, ALGERIA ³Laboratory of Nutrition and Food Technologies, INATAA, University of Constantine 1, Constantine, ALGERIA Corresponding Email: sahbi.chafiaa@gmail.com.

Carlos F. Barbas, 111, Jose R. Matos, J. Blair West, et Chi-Huey Wong : Contribution from the Department of Chemistry, Texas A&M University, College Station, Texas 77843. Received November 16, 1987 A Search for Peptide Ligase: Cosolvent-Mediated Conversion of Proteases to Esterases for Irreversible Synthesis of Peptides

Di Pierro. G, O’Keeffe. M.B, Poyarkov. A, Lomolino. G, Fitzgerald. R.J, Di Pierro. R, O’Keeffe G, Poyarkov. M.B, Lomolino. A, Fitzgerald.G, Antioxidant activity of bovine casein hydrolysates produced by *Ficus carica* L.-derived proteinase, Food Chem.

156 (2014) 305–311, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.080>.

Devaraj, P.R. Kumar, V. Prakash. K.B, Purification, characterization, and solventinduced thermal stabilization of ficin from *Ficus carica*, J. Agric. Food Chem. 56 (2008) 11417–11423, <https://doi.org/10.1021/jf802205a>

Devaraj, K. B., Latilha, R., Gowda., Prakash, V. (2008): An usual thermostable aspartic protease from the latex of *Ficus racemosa* (L). Phytochemistry 69: 647-655.

Drouet François : fleurs de figuier à ciel ouvert. Article publié en 2010. Enrichi en 2014, et 2015.

Desta Welday, Mohammed Shumbahri ,and Sibhatu Gebrehiwot , Application of *Ficus carica* L. and *Solanum incanum* L. Extracts in Coagulation of Milk: The Case of Traditional Practice in Ab’ala Area, Afar Regional State, Ethiopia Hindawi Biochemistry Research International Volume 2020, Article ID 9874949, 7 pages <https://doi.org/10.1155/2020/9874949>

Egito, A.S., J.M. Girardet, L.E. Laguna, C. Poirson, D. Molle, L. Miclo, G. Humbert and J.L. Gaillard, 2007. Milk-clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine k-casein. Int. Dairy J., 17: 816-825.

Embuscado, M. E. (2015) Herbs and spices as antioxidants for food preservation. Pages 251-283 in Handbook of antioxidants for food preservation. Elsevier

Edelman G. M., Heremans J. F., Heremans M. Th. And Kunkel H. G., J. exp. Med. 112,203 (1960). Haber E. and Stone M., Biochemis@6,1974 (1967). Hsio S. and Putnam F. W., J. biol. Chem. 236, 122 (1961). Jefferis R. and Stanworth D. R., Nature, Lond. 215,276 (1967). Wailer M., Curry N. and Mallory J., Immunochemistry 5,577 (1968)

Eck A et Gillis J.C. (2006), Le fromage. 3eme édition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p.

Erlandsson. A, Eriksson. D, Johansson. L, Riklund. K, Stigbrand. T, Sundström. B.E, In vivo clearing of idiotypic antibodies with antiidiotypic antibodies and their derivatives, Mol. Immunol. 43 (2006) 599–606, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2005.04.019>.

Erdogan Ceylan, Daniel Y. C. Fung, antimicrobial activity of spices. May 2004 Pages 1-55
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4581.2004.tb00046.x>

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

Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H, Fundamentals of Cheese Science. Provides comprehensive coverage of the scientific aspects of cheese Includes copious references to other texts and review articles Includes 3 new chapters © Springer New York 2017
1 P.F. Fox et al., Fundamentals of Cheese Science, DOI 10.1007/978-1-4899-7681-9_1

Filippova. Yu et E. N. Lysogorskaya, Ref Modified Proteases for Peptide Synthesis in Organic Media I. Yu. Filippova¹ et E. N. Lysogorskaya Faculty of Chemistry, Moscow State University, Vorob'evy gory, Moscow, 119992 Russia Received October 31, 2002; in final form, December 6, 2002

Feijoo, S., Blasco, L., Luis, R. J. (2014), Recent patents en microbial proteases for the dairy industry, n 1, 8: 44-55.

Fadyloglu S (2001) Immobilization and characterization of ficin. Nahrung/Food, (Volume 45 (2): 143–146).

Folk J.E, Finlayson J.S, The ϵ -(γ -Glutamyl) lysine crosslink and the catalytic role of transglutaminases, Adv. Protein Chem. 31 (1977) 1–133, [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(08\)60217-X](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60217-X).

- Fox, P.F. and P.L.H. McSweeney, 1998.** Dairy Chemistry and Biochemistry. UK: Blackie Academic and Professional
- Fernandez-García, E., M. Imhof, H. Schlichtherle-Cerny, J.O. Bosset and M. Nunez, 2008.** Terpenoids and benzenoids in La Serena cheese made at different seasons of the year with a *Cynara cardunculus* extract as coagulant. *Int. Dairy J.*, 18 (2): 147-157.
- Gonzalez-Rabade N, Badillo-Corona JA, Aranda-Barradas JS, Oliver-Salvador MC (2011)** Production of plant proteases in vivo and in vitro—a review. *Biotechnol Adv* 29:983–996.
- Génin. G (1968),** In vitro antimicrobial activity of four *ficus carica* latex fractions against resistant human pathogens (antimicrobial activity of *ficus carica* latex). *Ingénieur E.P.C.I. Supplément technique les succédanés de la présure le lait / janvier-février (1968) / nos 471-472*
- González-Rábade N., J.A. Badillo-Corona, J.S. Aranda-Barradas, M. del C. Oliver-Salvador,** Production of plant proteases in vivo and in vitro - a review, *Biotechnol. Adv.* 29 (2011) 983–996, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.017>
- Gurib-Fakim. A, et M. F. Mahomoodally,** “African flora as potential sources of medicinal plants: towards the chemotherapy of major parasitic and other infectious diseases: à review,” *Jordan Journal of Biological Sciences*, vol. 6, no. 2, pp. 77–84, 2013.
- Grzonka zbigniew, Kasprzykowski Franciszek and Wiczek Wieslaw., (2007).** Cysteine proteases. Chapter 11. *J. Polaina and A.P. MacCabe (eds.), Industrial Enzymes*, 181–195.
- Huppertz T, Upadhyay VK, Kelly AL and Tamime AY (2006)** Constituents and properties of milk from different species. *Brined Cheeses*. Edited by Dr Adnan Tamime. Copyright © 2006 by Blackwell Publishing Ltd. (Pp 1-34).
- Hashim MM, Mingsheng D, Iqbal MF, Xiaohong C (2011)** Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. *Phytochem* 72:458–464.
- Hayaloglu, A. and Farkye, N. (2011)** Cheese with Added Herbs, Spices and Condiments. *Encyclopedia of Dairy Sci.* 783-789.
- Haesaerts. M,S. Rodriguez Buitrago, J.A. Loris, R. Baeyens-Volant, D. Azarkan, S Haesaerts, J.A. Rodriguez Buitrago, R. Loris, D. Baeyens-Volant, M. Azarkan,** Crystallization and preliminary X-ray analysis of four cysteine proteases from *Ficus carica* latex,

Acta Crystallogr. Sect. FStructural Biol. Commun. 71 (2015) 459–465,
<https://doi.org/10.1107/S2053230X15005014>

Houins, G., C. Derroanne and R. Coppen, 1973. Etude comparative de l'activité coagulante et du pouvoir protéolytique de la présure animale et de trois de ses succédanés. *Le lait*, 610: 529-530.

Haesaerts, M., S. Rodriguez Buitrago, J.A. Loris, R. Baeyens-Volant, D. Azarkan, S. Haesaerts, J.A. Rodriguez Buitrago, R. Loris, D. Baeyens-Volant, M. Azarkan, Crystallization and preliminary X-ray analysis of four cysteine proteases from *Ficus carica* latex, *Acta Crystallogr. Sect. FStructural Biol. Commun.* 71 (2015) 459–465,
<https://doi.org/10.1107/S2053230X15005014>

Jing, S, Y. He, Y. He, L.Wang, J. Jia, X. Shan, S. Liu, M. Tang, Z. Peng, X. Liu, Imaging potential evaluation of fab derived from the anti-EGFRvIII monoclonal antibody

Jeanet R, Croguennec T, Mahaut M, Schuck P, Brule G, (2008). Les produits laitiers. 2eme Ed tec et doc, Lavoisier. p1851, *Radiat. Res.* 190 (2018) 194–203,

Jander E.A, Machado K.C, (2008). Evolutionary ecology of figs and their associates: Recent progress and outstanding puzzles. *Ann. Rev. Evol. Syst.* 39:439-458 .

Jacob M, Jaros D, Rohm H (2011) Recent advances in milk clotting enzymes. *Int J Dairy Technol* 64:14–33.

Kang. C.K, Rice, E.E. Degradation of various meat fractions by tenderizing enzymes, *J. Food SCI.* 35 (1970) 563–565, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1970.tb04809.x>

Kate L. Fox, Yogitha N. Srikhanta and Michael P. Jennings, Phase variable type III restriction-modification systems of host-adapted bacterial pathogens, *Molecular Microbiology* (2007) 65(6), 1375–1379.

<https://doi.org/10.1667/RR15069.1>

Kapp G.R, Bamforth C.W., The foaming properties of proteins isolated from barley, *J. Sci. Food Agric.* 82 (2002) 1276–1281, <https://doi.org/10.1002/jsfa.1177>

Keke Martin, Boniface Yehouenou , Comlan de Souza et Dominique Sohounhloue, Evaluation of hygienic and nutritional quality of peulh cheese treated by *sorghum vulgaris* (L)

ane piment a racemosa (miller) extracts corresponding author dominique.sohounhloue@uac.bj

Received: 03/09/2008 Accepted after revision: 12/11/2008

Lang. A, Hatscher C, Wiegert. C, Kuhl .P, Protease-catalysed coupling of Nprotected amino acids and peptides with 4-aminoantipyrine, *Amino Acids* 36 (2009) 333–340, <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0074-1>.

Lowe G., (1976). The cysteine proteinases. *Tetrahedron*.vol. 32: 291 – 302

Low. Y.H, Agboola. S, Zhao. J, Lim. M.Y, Clotting and proteolytic properties of plant Coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk, *Int. Dairy J.* 16 (2006) 335–343, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.03.013>.

Luquet F.M., (1985). Lait et produits laitiers. Vache. Brebis. Chèvre. T2. Ed. Tech. et DOC. LAVOISIER, PARIS

Lazreg-Aref Houda, Massoud Mars, Abdelwaheb Fekih, Mahjoub Aouni, et Khaled Said, Chemical composition and antibacterial activity of a hexane extract of Tunisian caprifig latex from the unripe fruit of *Ficus carica* ; *Pharmaceutical Biology*, 2012; 50(4): 407–412 2012 Informa Healthcare USA, Inc.ISSN 1388-0209 print/ISSN 1744-5116 online DOI: 10.3109/13880209.2011.608192.

LibougaDG, Vercaigne-marko D, Djangal SL, Choukambou I, Ebangi AL, Ombionyo M, Beka RG, Aboubakar TM et Guillochon D (2006) Mise en évidence d’un agent coagulant utilisable en fromagerie dans les fruits de *Balanites aegyptiaca*. *Tropicultura*, Volume 24: 229-238

Larbalétrier, (2015) traité pratique de laiterie lait, crème, beurre, fromage, Fac-similé MAXTOR www.maxtorfrance.com I.S.B.N. :979-10-208-0131-9 Dépôt légal : février 2015

Lefebvre A., Bassereau J. F., 2003, L’analyse sensorielle, une méthode de mesure au service des acteurs de la conception: ses avantages, ses limites, ses voies d’amélioration. Application aux emballages. 10ème Séminaire CONFERE, 3-4 Juillet 2003, Belfort – France ; 3-11.

Lalita Oraon, Jana Atanu, Prajapati PS et Priyanka Suvera : Application of herbs in functional dairy products – a review. ¹National Dairy Development Board, India ²Dairy Technology Department, Anand Agricultural University, India

³Dairy Technology Department, Mansinhbhai Institute of Dairy & Food Technology, India

⁴Sardar Krushinagar Dantiwada Agricultural University, India

Correspondence: Atanu Jana, Department of Dairy Technology, SMC College of Dairy Science, Anand Agricultural University, Anand-388 110, Gujarat State, India, Tel 91 937 501 2630, Fax 91 026 9226 1314 Received: September 23, 2016 | Published: May 18, 2017

Michel A., (2002). La rousse agricole.

Manzoor Ahmad Shah , Shabir Ahmad Mir et Mohd Amir Paray, [Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking.](#) Received: 10 May 2013 / Revised: 17 June 2013

Accepted: 17 June 2013 /Published online: 19 July 2013. This article is published with open access at Springerlink.com.

professeur agrégé Dr habil. S. Poznanski *Biotechnology Advances* 17 (1999) 205–217

Macedo, A.C., Malcata, F.X. and Oliveira , J.C. 1993. The technology,

chemistry and microbiology of Serra cheese: A review. *J. Dairy Sci.*

76, 1725–1739

Mohanty A.K, U.K. Mukhopadhyay, S. Grover, V.K, Batish Molecular Biology Unit, Dairy Microbiology Division, National Dairy Research Institute, Karnal, 132 001, India

Meshram. A, G. Singhal, S.S. Bhagyawant, N. Srivastava, Plant-derived enzymes: A

treasure for food biotechnology, *Enzym. Food Biotechnol*, Elsevier 2019, pp. 483–502, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813280-7.00028-1>

Medina. S -Casanellas, F. Benavente, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot, Preparation and evaluation of an immunoaffinity sorbent with Fab' antibody fragments for the analysis of opioid peptides by on-line immunoaffinity solid-phase extraction capillary electrophoresis–mass

spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 789 (2013) 91–99,

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.06.030>

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. (1995), *Manuel of Clinical Microbiology*. 6th Edn. Washington. DC, ASM, p. 300.

Mahaut M., Jeantet R et Brule G. (2000). Initiation à la technologie fromagère. Ed. Paris :Techniqueet documentation Lavoisier. 185p.

Morellon-Sterling Roberto a,1, Hocine El-Siar a, b,1, Olga L. Tavano c, Ángel Berenguer-Murcia d, Roberto Fernández-Lafuente : Ficin: A protease extract with relevance in biotechnology and biocatalysis. International Journal of Biological Macromolécules. · June 2020
DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.144 journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijbiomac>.

Mirza M.A, Miller E.L, In vitro degradability of feed proteins in the rumen: use of non-rumen proteases, Aust. J. Agric. Res. 56 (2005) 797, <https://doi.org/10.1071/AR04111>.

Nouani A, Dako E, Morsli A, Belhamiche N, Belbraouet S, Bellal MM and Dadie A (2009)
Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynarascolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. Journal of Food Technology, Volume 7: 20-29

Nassar A. H. et Newbury H. J., (1987). Ficin Production by Callus Cultures of *Ficus carica*. *J. PlantPhysiol.* 131: 171-179

Oner MD and Akar B (1993) Separation of the proteolytic enzymes from fig tree latex and its utilization in Gaziantep cheese production. *Lebensm-Wiss. Und Technology*, (Volume 26 : 318-321).

O'MAHONYM. 1979, Psychophysical Aspects of Sensory Analysis of Dairy Products: A Critique. *J. Dairy Sci.* 62 : 1954-1962.18-321).

Pereira, C.I.I., E.O. Gomes, A.M.P. Gomes and F.X. Malcata, 2008. Proteolysis in model Portuguese cheeses: Effects of rennet and starter culture. *Food Chem.*, 108 (3): 862-868.

Poznanski, S., A. Rejs and E. Dowlaszewicz, 1975. Propriétés coagulantes et protéolytiques de la protéase extraite de *Cirsium arvense*. *Le Lait*, 11: 669-682

Pisoschi, A. M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N. K., and Mathe, E. (2018)
An overview of natural antimicrobials role in food. *European J. Medicinal Chemistry*

143, 922-935

Payne T. C., (2009). Enzymes in Meat Systems Enzymes. Chapter 8. R. Tarté (ed.),

Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications. 26p.

Pacheco-Aguilar R., Mazorra-Manzano M.A., and Ramirez-Suarez J.C. (2008), Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chem.* 109: 782 789

Roseiro Luisa Bivar, Manuela Barbosa, Jennifer M Ames, et R Andrew Wilbey, Cheesemaking with vegetable coagulants—the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses First published: 23 April 2003 <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00080.x> Citations: [96](#)

Riffaat, I.D., S. El-shibini, M. Abd-Salam and A.H. Fahim, 1970, Studies on milk clotting enzymes from higherplants. *J. Dairy Sci.*, 23 (3): 151-154.

Ramezani. R, M. Aminalari, AND H. Fallahi, 2003.Effect of Chemically Modified Soy Proteins and Ficin-tenderized Meat on the Quality Attributes of Sausage

Raskovic.B,J. Lazic, N. Polovic, Characterisation of general proteolytic, milk clotting And antifungal activity of *Ficus carica* latex during fruit ripening, *J. Sci. Food Agric.*

96 (2016) 576–582, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7126>

RobertJenness , Composition of Milk, N. P. Wong et al. (eds.), *Fundamentals of Dairy Chemistry 1* © Van Nostrand Reinhold Company Inc. 1988.

Roudaut H., et Lefrancq E. 2005. Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

Raskovic B, J. Lazic, N. Polovic, Characterisation of general proteolytic, milk clotting and antifungal activity of *Ficus carica* latex during fruit ripening, *J. Sci. Food Agric.*

96 (2016) 576–582, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7126>

Romain J, Croguennec T, Mahaut M, Schuck P et Brulé, G (2008), les produits laitiers, achevé d'imprimer en septembre 2012 par EMD S.A.S.(France) N) d'imprimeur : 27150-Dépôt légal : février 2008 N°1032(1) -CRS 90°.

- Renner MJ, Rosenzweig MR. Richter. G, H.P. Schwarz, Dorner. F, Turecek. P.L,** Activation and inactivation of human factor X by proteases derived from *Ficus carica*, Br. J. Haematol. 119 Social interactions among rats housed in grouped and enriched con
(2002) 1042–1051, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2002.03954.x>ditions. Dev Psychobiol 19: 303-313.
- Richter .G, H.P. Schwarz, F. Dorner, P.L. Turecek, Activation and inactivation of human factor X by proteases derived from *Ficus carica*, Brit. J. Haematol. 119
(2002) 1042–1051
- Silva, S.V. and F.X. Malcata,** 1999. On the activity and specificity of cardosin B, a plant proteinase, on ovine caseins. Food Chem., 67: 373-378.
- Siar, E. (2014):** Utilisation de la pepsine de poulet et de la ficine du figuier comme agents Coagulants du lait, mémoire en vue de l'obtention de diplôme de magister en Sciences Alimentaires
- Scott R., (1981),** Cheese making practice, Applied Science Publishers, London, 4-165.
- Huppertz T., Upadhyay V.K., Kelly A.L. et Tamime A.Y., (2006). Constituents and Properties of Milk from Different Species. *Brined Cheeses*. Edited by Dr Adnan Tamime. Copyright © 2006 by Blackwell Publishing Ltd. Pp 1-34.
- (Fox et al.,2017) Authors:
- Schaller A** (2004), A cut above the rest: the regulatory function of plant proteases. *Planta* 220:183–197
- Storer, A. C., & Ménard, R.** (1994), Catalytic mechanism in papain family of cysteine peptidases. *Methods in Enzymology*, 244, 486–500.
- Sousa, M.J. and Malcata , F.X.** 1997. Comparison of plant and animal rennets in terms of microbiological, chemical, and proteolysis characteristics of ovine cheese. *J. Agric. Food Chem.* 45, 74–81.
- Sousa N.M., El Amiri B., Beckers J. F. (2002),** Pepsinogen and progesterone concentration during pregnancy in sows. *Journal of Biotechnology. Agronomy.Sociology. Environnement*, 6, 12-13.

Sandhya.C, Leela Krishna Adapa, K. Madhavan Nampoothiri, P. Binod George Szakacs Ashok Pandey, Extracellular chitinase production by *Trichoderma harzianum* in submerged fermentation First published: 02 February 2004.

<https://doi.org/10.1002/jobm.200310284>

Shahinuzzaman .M, Zahira Yaakob, Farah Hannan Anuar, Parul Akhtar, N. H.A. Kadir, A. K. Mahmud Hasan, K. Sobayel, Majid Nour, Hatem Sindi , Nowshad Amin , K. Sopian et, Md. Akhtaruzzaman, In vitro antioxidant activity of *Ficus carica* L. latex from 18 different cultivars. *Scientific Reports* | (2020) 10:10852 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67765-1>.

Solov'ev .V.I, Krakova V.Z, Enzyme activity of ficin preparations from different sources and their effect on meat, *Appl. Biochem. Microbiol.* 7 (1973) 158–164.

Sullivan. G.A.A, Calkins. C.R.R., Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue, *Meat Sci.* 85 (2010) 730–734, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.033>.

Shahidi. S, Jamili. S, Mostafavi. P.G, Rezaie. S, M. Khorramizadeh, Assessment of the inhibitory effects of ficin-hydrolyzed gelatin derived from squid (*Uroteuthis duvauceli*) on breast cancer cell lines and animal model, Iran, *J. Allergy, Asthma Immunol.* 17 (2018) 436–452, <https://doi.org/10.18502/ijaai.v17i5.302>.

Shabani. R, Shahidi. S.A , Rafe. A, Rheological and structural properties of enzyme induced gelation of milk proteins by ficin and *Polyporus badius*, *Food Sci. Nutr.* 6(2018) 287–294, <https://doi.org/10.1002/fsn3.553>.

Sardinas J.L., 1968. Rennin enzyme of *Endothia parasitica*. *Appl. Microbiol.*, 16, 248-253. *Science*, 84, 1027–1033.

Teixeira DM, Patão RF, Coelho AV, da Costa CT.(2006), Comparison between sample disruption methods and solid-liquid extraction (SLE) to extract phenolic compounds from *Ficus carica* leaves. *J Chromatogr a*, 1103, 22–28.

Tejada, L., A. Abellan, J. Cayuela, A. Martínez-Cacha and J. Fernandez-Salguero, 2008. Proteolysis in goats milk cheese made with calf rennet and plant coagulant *Int. Dairy J.*, 18 (2): 139-146.

Vieira de Sá F and Barbosa M (1970) Activité coagulante comparee d'une presure vegetale extraite du chardon (*Cynara cardunculus*) et de la presure animale. *Proceedings XVIII International Dairy Congress, Sydney* 1 292

Vidaud J., (1997). Le figuier. Editions : centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, 335p

Udenigwe et Aluko, 2012) Udenigwe, C.C., et Aluko, R.E. (2012) Food protein-derived bioactive peptides, Production, processing, and potential health benefits. *J. Food Sci.* 71: R11-R24.

Uchikoba, T. and M. Kaneda, 1996. Milk-clotting activity of cucumisin, a plant serine protease from Melon fruit. *Applied Biochem. Biotech.*, 56: 325-330.

Wang, H., Weir, C.E., Birkner, M.L. and Ginger, B. 1957. The influence of enzyme tenderizers on the structure and tenderness of beef. *Proc. Ninth Research Conference, American Meat Institute Foundation.* P. 72.

Welday Desta, Mohammed Shumbahri., et Sibhatu Gebrehiwot **Application of Ficus carica L. et Solanum incanum L**, Extracts in Coagulation of Milk: The Case of Traditional Practice in Ab'ala Area, Afar Regional State, Ethiopia Correspondence should be addressed to Sibhatu Gebrehiwot; Received 28 October 2019; Revised 15 February 2020; Accepted 16 March 2020; Published 7 April 2020 Academic Editor: Saad Tayyab sibe0913@yahoo.com

Walstra P., Wouters J. T. N, Geurts T.J., 2006. *Dairy Science and Technology*. Second Edition; 762p

Yang X, Zhang Y, Expression of recombinant transglutaminase gene in *Pichia*

pastoris and its uses in restructured meat products, *Food Chem.* 291 (2019)

245–252, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.015>

Zareh A.A. Moosavi-Movahedia, M. Salamia, M. Mirzaeic, A.A. Sabourya, et N. Sheibanid, A.A. Moosavi-Movahedi, M. Salami, M. Mirzaei, A.A. Saboury, N. Sheibani, Purification and

autolysis of the ficin isoforms from fig (*Ficus carica* cv. Sabz) latex, *Phytochemistry* 87 (2013) 16–22, <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.12.006>

Zhao C.-B, Huang Y.-D, Y. Li, Extraction of collagen from cattle tendons, Harbin

Gongye Daxue Xuebao/Journal Harbin Inst. Technol. 36 (2004) 515–519.