



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Chahid Chikh Larbi Tébessa –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie appliquée



MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Alimentaires

Option : Sécurité alimentaire et assurance de qualité

Thème

Essai de fabrication d'un fromage traditionnel frais type « *Jben* » en utilisant la pepsine de poulet

Présenté par :

Mlle. Ghaida BENTIBA

Devant le jury :

Pr. TALEB Salima	Professeur	Université de Tébessa	Présidente
M. ZOUAOUI Nassim	M.C.B	Université de Tébessa	Examineur
Mme. SENOUSSE Asma	M.C.B	Université de Tébessa	Encadrante

Année universitaire 2022-2023

Résumé

Ce travail a pour objectif la caractérisation de la pepsine de poulet extraite à partir d'un sous produit d'abattage (proventricule de poulet) et l'étude de la possibilité de son utilisation dans la fabrication du fromage traditionnel *Jben* comme succédanés de présure.

L'extraction et la caractérisation de la pepsine de poulet a été réalisé. Puis son utilisation dans la fabrication du fromage traditionnel frais type *Jben* et la caractérisation de se dernier.

L'extrait de la pepsine de poulet a été caractérisé par une teneur en protéine de 12,2 mg/ml, une activité coagulante de 5.5184 U.P, et la force coagulante de 1/2962.96. La composition physicochimique du *Jben* produit en utilisant la pepsine de poulet est la suivante: pH 6.2, acidité titrable 12°D, teneur en protéine 20.06g/100g, matière grasse 25%, l'extrait sec totale 56.60 %.

De point de vue organoleptique, le fromage obtenu a été caractérisé par un profil sensoriel riche. Ce fromage a été plus apprécié par les dégustateurs en comparaison avec le *Jben* commercialisé.

Ces résultats reflètent la possibilité de substituer la présure par l'extrait de la pepsine de poulet dans la fabrication des fromages. Cependant, cette étude mérite d'être élargie et poursuivie sur d'autres types de fromages en vue d'améliorer le rendement fromagère et la qualité des fromages obtenus.

Mots clés :

Lait, Coagulation, Fromage, Proventricule, Pepsine de poulet, *Jben*, Enzymes.

Abstract

The objective of this work is the characterization of chicken pepsin extracted from a slaughter sub-product (chicken proventriculus) and the study of the possibility of its use in the manufacture of traditional *Jben* cheese as rennet substitutes. The extraction and characterization of chicken pepsin was carried out, followed by its use in the manufacture of traditional fresh cheese type *Jben* and the characterization of the latter.

Chicken pepsin extract was characterized by a protein content of 12.2 mg/ml, a coagulant activity of 5.5184 U.P; and a coagulant strength of 1/2962.96. The physicochemical composition of *Jben* produced using chicken pepsin is as follows : pH 6.2, titratable acidity 12°D, protein content 20.06g/100g, fat 25%, total dry extract 56.60%.

From an organoleptic point of view, the cheese obtained was characterized by a rich sensory profile. This cheese was more appreciated by the tasters in comparison with the commercial *Jben*.

These results reflect the possibility of substituting rennet with chicken pepsin extract in the manufacture of cheeses. However, this study deserves to be extended and continued on other types of cheeses in order to improve the cheese yield and the quality of the cheeses obtained.

Key words :

Milk, Cheese, Coagulation, Proventriculus, Chicken pepsin, *Jben*, Enzymes.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استغلال انزيم البيسين المستخرج من معدة الدجاج في تحضير الجبن التقليدي الطازج نوع "جين" و استخدامه كبديل للمنفعة التي تعمل على تخثير الحليب و الحصول على العجينة الجببية. يتميز مستخلص البيسين بقيمة بروتينية قدرها 12.2 غرام /100 غرام ، ونشاط تخثر قيمته 5.518 ، فيما بلغت قوة التخثر |1|2962.96.

خصائص التركيبة الفيزيائية و الكيميائية للجبن المنتج هي:

رقم هيدروجيني قدر ب 6.2 ، درجة الحموضة 12 ° دورنيك ، كما بلغت قيمة البروتين 20.06% ، و قدرت نسبة الدهون ب 25 % ، اما كمية المادة الجافة فقد وصلت نسبتهال 56.6 %

أما من وجهة نظر المتذوقين فقد تم اختبار الجبن المحضر باستخدام بيسين الدجاج على أنه الأفضل مقارنة بالجبن التجاري.

ترمي هذه النتائج إلى مدى فعالية مستخلص بيسين الدجاج و إمكانية استخدامه كبديل للمنفعة لصناعة الاجبان

لذا فلا بد من الاستمرار بهاته الدراسة و توسيع جوانب البحث، من أجل تحسين إنتاجية الاجبان.

الكلمات الدالة:

حليب ، جبن ، تخثر ، معدة ، بيسين الدجاج ، جبن ، إنزيمات.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, mes Héros et mes amours : Mon père *Ridha BENTIBA* et ma mère *Naila TOUALBIA* auxquels je dois toute réussite que j'ai pu atteindre.

Mes chers frères et mes bras droits *Wail, Abd Erakib, Ahmed Almounib*, ainsi que mon petit ange et bout de bonheur ma *Alloula*,

Ma tendre grand-mère *BOUANANI Sakina* et mon précieux grand-père *TOUALBIA Amor*

L'âme la plus belle et précieuse qui est toujours à mes cotés pour me soutenir et me pousser en avant ; ma chère tante *Nihad...* à son mari *Mahdi*,

La personne spéciale dans ma vie, ma jumelle d'âme, ma puce *Chaima.D*

Mes sœurs d'âme *Hadjer.Z, Yasmine.B, Amina.H et Chaima.S*,

Mes très chères amies du cœur : *Takwa.Z, Sihem.S, et Chaima.G*, avec qui j'ai partagé les moments les plus difficiles de ce mémoire mais aussi les meilleurs souvenirs qui seront à jamais gravés à ma mémoire,

Ma grand-mère paternelle, repose en paix -*Que Dieu ait ton âme-*

Ma famille...Mes proches... Mes chères tantes et cousines et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité, qui étaient toujours d'aide et de support.

Ghaida BENTIBA

Remerciements

« Dire merci quand on le pense pour de bon, quand on se rappelle que quelqu'un a vraiment fait quelque chose pour vous, ça fait tellement de bien. » -Kathryn Stockett-

De ce fait, je suis pleinement reconnaissante tout d'abord au *Dieu Tout-Puissant* de m'avoir guidée, aidée, et donné de la force pour accomplir ce travail,

J'exprime mes profonds remerciements à mes parents, les perles de mes yeux et ma fierté, pour leur amour infini, leur soutien inconditionnel et leurs prières tout au long de mes études, qui ont façonné tout ce que je suis aujourd'hui,

Mes reconnaissances sont adressées à *Mme. SENOUSSI Asma*, pour sa supervision, son dévouement, sa confiance, et sa contribution à la réussite de ce travail,

J'exprime mes remerciements les plus respectueux aux honorables membres de jury pour m'être fait l'honneur d'évaluer ce travail :

Professeur *TALEB Salima* pour avoir acceptée de présider le jury,

Docteur *ZOUAOUI Nassim* qui a bien voulu d'examiner ce travail,

Ainsi que l'ensemble des enseignants et du personnel du département « Biologie »,

Je tiens à remercier chaleureusement et du fond du cœur encore une fois *Mme. TALEB Salima* pour son aide et orientation, son soutien continu, ses conseils précieux et tout ce qu'elle a fait pour moi de toute manière et à tout moment.

Un grand merci s'adresse à Mr *FETHALLAH Walid* le directeur de laboratoire de contrôle de la qualité *FETHALLAH* qui m'a donné l'opportunité de réaliser les analyses au niveau de son laboratoire,

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail en particulier *Mme: HAFSSI Yassmin*, *Melles: SAYEDA Nardjessa, Karima* et pour leurs conseils, aides et encouragements.

Sommaire

RESUME

ABSTRACT

ملخص

DEDICACE

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. LAIT.....	3
1.1. Définition du lait.....	3
1.2. Composition chimique globale de lait.....	3
1.2.1. Eau.....	3
1.2.2. Protéines.....	4
1.2.2.1. Caséines.....	4
1.2.2.2. Protéines sériques.....	5
1.2.3. Glucides.....	5
1.2.4. Matière grasse.....	5
1.2.5. Vitamines.....	5
1.2.6. Minéraux.....	6
2. COAGULATION DU LAIT.....	6
2.1. Types de coagulation.....	6
2.1.1. Coagulation acide.....	6
2.1.2. Coagulation enzymatique.....	6
2.1.3. Coagulation mixte.....	7
3. PRESURE ET SUCCEDANES DE PRESURE.....	7
3.1. La présure.....	7
3.2. Succédanées de présure.....	8

3.2.1. Succédanées d'origine microbienne	8
3.2.1.1. Succédanés d'origine bactérienne	9
3.2.1.2. Succédanés d'origine fongique	9
3.2.2. Succédanés d'origine végétale	9
3.2.3. Succédanés d'origine animale.....	10
3.2.3.1. Proventricule	10
3.2.3.2. Pepsine	10
4. FROMAGE.....	10
4.1. Définition de fromage	11
4.2. Fromage frais Jben.....	11
4.2.1. Définition de Jben	11
4.2.2. Procédé de fabrication de Jben	11

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS.....	13
1.1. Réactifs chimiques utilisés	13
1.2. Appareillage.....	13
2. MATIERES PREMIERES UTILISEES	14
2.1. Lait	14
2.1.1. Lait de vache	14
2.1.2. Lait en poudre	14
2.2. Pepsine	14
2.2.1. Préparation des proventricules de poulet.....	14
2.2.2. Extraction de la pepsine de poulet	15
3. METHODES	17
3.1. Caractérisation physicochimique du lait utilisé dans la fabrication du fromage	17
3.1.1. Détermination du pH.....	17
3.1.2. Détermination de l'acidité titrable	17
3.1.3. Détermination de la densité	18
3.1.4. Détermination de la teneur en protéine	18
3.1.5. Détermination de la teneur en matière grasse	19
3.1.6. Détermination de l'extrait sec total (EST).....	20
3.1.7. Détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD).....	20

3.2. Caractérisation de l'enzyme	20
3.2.1. Détermination le teneur en protéine	20
3.2.2. Détermination de l'activité coagulante.....	21
3.2.3 Détermination de la force coagulante.....	22
3.2.4. Détermination de l'activité spécifique	23
3.2.5. Détermination du temps de coagulation	23
3.2.6. Rendement de l'extraction	23
3.3. Essai de fabrication de fromage traditionnel frais type Jben.....	24
3.3.1. Procédé de fabrication du fromage Jben.....	24
3.3.2 Détermination du rendement	25
3.4. Caractérisation physico-chimiques du fromage.....	25
3.4.1. Détermination du pH.....	25
3.4.2. Détermination de l'acidité titrable	25
3.4.3. Détermination de la teneur en protéine	26
3.4.4. Détermination de l'extrait sec totale et l'humidité	26
3.4.5. Détermination du teneur en matières grasses	26
3.4.6. Détermination de l'extrait sec dégraissé.....	27
3.5. Analyse sensorielle du fromage.....	27
3.5.1. Détermination des descripteurs sensoriels.....	28
3.5.2. Évaluation sensorielle du fromage	28

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT	29
1.1. PH.....	29
1.2. Acidité	29
1.3. Densité.....	29
1.5. Matière grasse	30
1.6. Extrait sec total et l'humidité	30
1.7. Extrait sec dégraissé.....	30
2. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE L'EXTRAIT ENZYMATIQUE	30
2.1. Rendement	31
2.2. Teneur en protéine	31
2.3. Activité coagulante	31
2.4. Force coagulante	31

3. CARACTERISATION DU FROMAGE JBEN	32
3.1. Rendement fromager	32
3.2. Caractéristiques physico-chimiques du Jben.....	32
3.2.1. PH.....	32
3.2.2. Acidité titrable.....	32
3.2.3. Teneur en protéine.....	32
3.2.4. Extrait sec total et l'humidité	32
3.2.5. Matières grasses	33
3.2.6. Extrait sec dégraissé	33
3.3. Profil sensoriel du fromage traditionnel Jben.....	33
CONCLUSION GENERALE	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	40
ANNEXES	46

Liste des figures

Figure 1. Représentation schématique de la micelle de caséine.	4
Figure 2. La préparation des proventricules.....	14
Figure 3. Étapes de l'extraction (réalisées par nos propres soins)	15
Figure 4. Diagramme de l'extraction de la pepsine de poulet (BOHAK, 1970)	16
Figure 5. Courbe d'étalonnage de protéines BSA	21
Figure 6. Diagramme de fabrication de <i>Jben</i> (réalisé par nos propres soins).....	25
Figure 7. Description moyenne de l'aspect et la texture des deux fromages <i>Jben</i> (A) et (B)...	34
Figure 8. Description des odeurs et des arômes identifiées dans les deux échantillons du <i>Jben</i>	35
Figure 9. Description des différentes saveurs identifiées dans les deux échantillon du <i>Jben</i> .	36
Figure 10. Description de la consistance de la pâte des deux échantillons du <i>Jben</i>	37
Figure 11. Résultat du test de préférence.....	37

Liste des Tableaux

Tableau 1. Composition globale de lait de vache	3
Tableau 2. Composition physicochimique du lait de vache	29
Tableau 3. Principales caractéristique des enzymes extraites.....	30
Tableau 4. Caractéristiques physico-chimiques du <i>Jben</i>	32

Liste des acronymes et abréviations

°D: Degré Dornic

Ac : Acidité.

AC : Activité Coagulante

AFNOR : Association Française de Normalisation

BSA: Bovine Sérum Albumine

ESD : Extrait Sec Dégraissé,

EST : Extrait Sec Total,

FAO: Food and Agricultural Organization

ISO : International Standardization Organization,

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne.

MG : Matière Grasse,

N/9 : Normalité 1/9.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium (la soude).

pH : Potentiel d'hydrogène.

U.A.C : Unité d'activité coagulante.

U.P : Unité Présure

Introduction

générale

Introduction générale

Les fromages traditionnels sont caractérisés par un lien fort avec leur terroir d'origine et attestent de l'histoire et de la culture de la communauté qui les produit. Chaque fromage traditionnel provient de systèmes complexes qui lui donnent des caractéristiques organoleptiques spécifiques. Ces caractéristiques sont liées à divers facteurs de biodiversité, comme l'environnement, le climat, la prairie naturelle, la race des animaux, l'utilisation de lait cru et de sa microflore naturelle (**Licitra, 2010**).

Concernant le patrimoine laitier algérien et précisément celui des dérivés traditionnels, de premiers travaux ont signalé l'existence de plus d'une dizaine de fromages (frais, séchés ou affinés). Les travaux d'enquête ont permis de recenser dix types de fromages dans différentes régions de pays : *Klila, Jben, Lbaa, Bouhezza, Mechouna*, medghissa dans la région des Chaouia, *Takamarit et Aoules* au sud et *igounenes* dans le nord centre (région de kabyle) (**Aissaoui Zitoun et al., 2011; Medjoudj et al., 2016**). L'activité fromagère est souvent limitée à la sphère domestique mais la connaissance des ressources territoriales laitières dans le milieu rural et tout ce qui définit notre patrimoine laitier doit servir de support pour tout développement local (**Senoussi et al., 2022**).

L'étape clé de la réussite d'un fromage quel que soit son type est la coagulation. Elle consiste à la formation d'un gel suite à des modifications physico-chimique intervenant sur les micelles de caséines du lait. L'agent coagulant le plus anciennement utilisé en fromagerie est la présure. Cette enzyme est extraite à partir de la caillette de veau non sevré (**Britten et Giroux, 2022**).

L'augmentation de la production et de la consommation du fromage d'une part, et l'impossibilité d'augmenter en parallèle la production de présure d'autre part, ont causé une pénurie mondiale en approvisionnement en cet agent coagulant ce qui a engendré des fluctuations très importantes dans son prix. Ces problèmes sont aggravés notamment dans les pays musulmans, pour des raisons religieuses, dues aux rituelles de l'abattage (**Siar et al., 2012**). Cette situation a suscité la recherche de produits de remplacement de la présure. De ce fait, plusieurs succédanés de présure de différentes origines ont été envisagés. Les enzymes de remplacement d'origine végétale sont extraites à partir du chardon (*Cynara cardunculus*), du latex du figuier (*Ficus caricas*), d'artichaut (*Cynara scolymus*), des feuilles du papayer (*Caricapapaya*)... etc (**Andrén, 2021; Nicosia et al., 2022**). Les enzymes de remplacement d'origine bactérienne sont extraites à partir du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* et d'origine fongique (**Bezie et Regasa.,2019**).

En Algérie, la recherche des succédanés de présure a été entamé depuis de nombreuses années, plusieurs études ont montré un intérêt certain de ces enzymes sur les

Introduction générale

plans de la faisabilité et de la stabilité technologique. Cependant, ces recherches menées au stade expérimental n'ont jusqu'à nos jours, pas suscité l'intérêt d'une application industrielle.

Plusieurs travaux scientifiques ont mené sur l'extrait des fleurs de cardon (**Zikiou, 2013**) et sur la pepsine extraite des proventricules de poulet (**Adoui, 2007 ; Boughaluot, 2007 ; Benyahia-krid et al., 2010**).

Vu l'importance des sources disponibles de notre pays, nous avons jugé important d'entreprendre un essai de fabrication du fromage traditionnel *Jben* en utilisant le pepsine de poulet extraite à partir du proventricule (sous produit d'abattage de poulet) en offrant aux investisseurs algériens plus d'opportunités pour exploiter la biodisponibilité locale.

Cet extrait a été exploité depuis une époque lointaine pour la production des fromages traditionnels Algériens, tels que le fromage *Takammérit* consommé dans les régions sud de l'Algérie préparé par utilisation de la pepsine de poulet (**Siar, 2017**)

L'objectif de ce travail est la valorisation des pratiques traditionnelles par la caractérisation de l'extrait clarifié de la pepsine de poulet et l'étude de la possibilité de son utilisation dans la fabrication du fromage traditionnel *Jben* comme succédanés de présure

Pour parvenir à ces objectifs nous avons procédé comme suit :

- Récupération de la matière première (proventricule de poulet) ;
- Extraction de l'extrait enzymatique contenu dans la matière première (proventricule de poulet);
- Caractérisation des extraits enzymatiques obtenus (pepsine);
- Caractérisation physicochimique du lait de vache utilisé dans la fabrication du *Jben*;
- Fabrication du fromage traditionnel frais type «*Jben*» en utilisant l'extrait enzymatique étudié;
- Caractérisation physicochimique du fromage *Jben* obtenu;
- Détermination des caractéristiques sensorielle du fromage *Jben* par comparaison avec celui commercialisé sur le marché.

Le présent manuscrit est structuré en trois parties. La première consacrée à des données bibliographiques, est articulée autour des généralités sur le lait. Dans la seconde partie du manuscrit, nous exposons le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la caractérisation de l'extrait enzymatique, le lait et le fromage obtenu. La dernière partie du manuscrit traite les résultats décrivant la pepsine de poulet et le fromage avec analyse et discussion visant à mettre en valeur les pratiques traditionnel en renforçant leur préservation.

Partie

Bibliographique

Partie bibliographique

1. Lait

1.1. Définition du lait

Le lait, destiné à l'alimentation humaine, est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. (**Ghazi et Niar, 2011**).

Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**Codex Alimentarius, 1999**).

1.2. Composition chimique globale de lait

Le lait, par ses grandes qualités nutritionnelles, a toujours été considéré comme un aliment à part entière (**Romain et al., 2017**). Il est une excellente combinaison de tous macronutriments, et il offre également plusieurs vitamines et minéraux importants pour le corps humain (**Kourkouta et al., 2021**).

Les constituants majeurs du lait de vache sont présentés dans le tableau 01.

Tableau 1. Composition globale de lait de vache (**Romain et al., 2008**)

Constituants	Teneur du lait en ses constituants en g/l
Eau	870
Protéines	32 – 35
Matière grasse	33 – 47
Glucides	49
Minéraux	7

1.2.1. Eau

L'eau est le milieu dans lequel tous les autres composants de lait (solides totaux) sont dissous ou en suspension (**Kailasapathy, 2015**).

Elle se trouve sous deux formes : l'eau libre (96%) qui sert de solvant aux éléments hydrophiles (glucides, minéraux, protéines solubles et certaines vitamines), puisque elle présente un dipôle de doublets d'électron libres qui lui confère un caractère polaire, et l'eau liée (4%) impliquée dans la structure des micelles de caséines et liée aussi au lactose et aux sels, la quantité liée aux protéines est fixée à la surface des micelles et forme une enveloppe d'hydratation qui les protège et stabilise (**Ilboudo et al., 2012 ; Kailasapathy, 2015**).

1.2.2. Protéines

Dans le lait la teneur en protéines varie entre 32 et 35 g / l, Les protéines du lait sont classées en deux catégories selon leur solubilité dans l'eau et leur stabilité (**Ilboudo et al., 2012**).

1.2.2.1. Caséines

Les caséines sont des phosphoprotéines contenant environ 80 % de la teneur totale en protéines du lait (**Phadungath, 2005**). Elles se présentent sous la forme de micelles ; ces derniers sont composées de quatre types principaux de protéines : caséine α S1, caséine α S2, caséine β et caséine κ , représentant 40 %, 12,5 %, 35 % et 12,5 % de fraction de caséine dans le lait, et des minéraux, notamment le calcium et le phosphate. À pH 4,6 les caséines précipitent et forment la matrice fromagère (**Ilboudo et al., 2012 ; Stanislava et al., 2021**).

De plus, toutes les protéines de caséine ont des régions hydrophobes et hydrophiles différentes le long de la chaîne protéique. Ils sont associées entre elles et au phosphate de calcium sous forme de micelles. Avec les globules gras, les protéines de lactosérum et les minéraux du lait, ces micelles jouent un rôle important dans la prévention de la précipitation des protéines de caséine et dans la stabilisation du lait sous forme d'émulsion (**Runthala et al., 2023**).

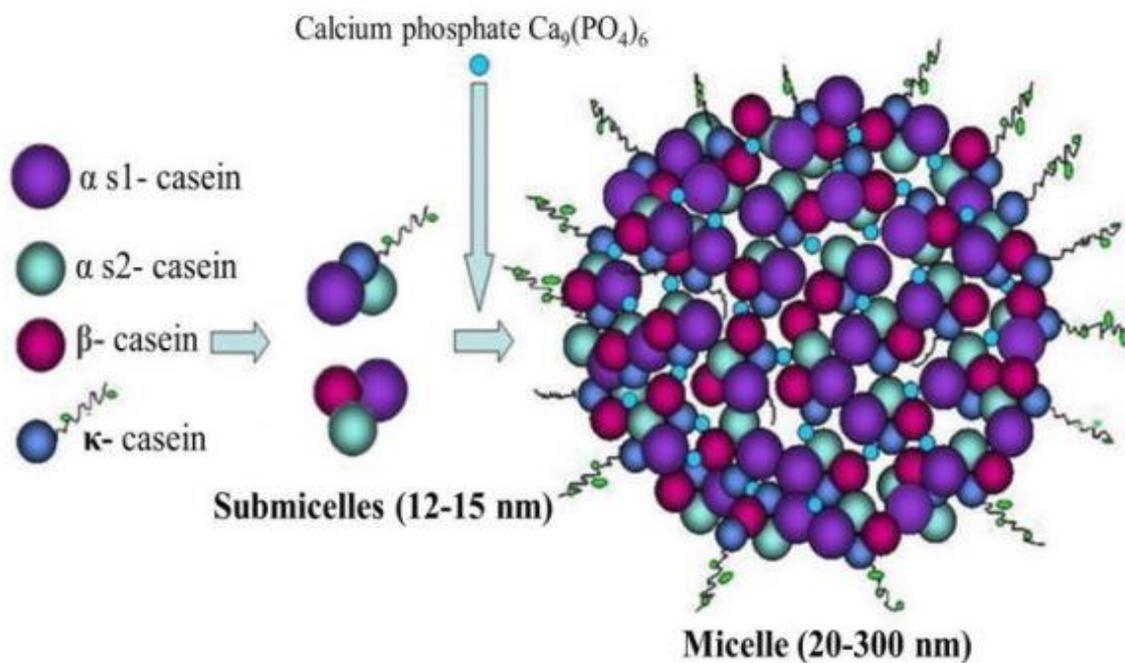


Figure 1. Représentation schématique de la micelle de caséine (**Stanislava et al., 2021**).

- **Micelles**

Les micelles ce sont des particules sphériques d'un diamètre moyen d'environ 100nm, constituées elles-mêmes de sous-unités sphériques appelées sous micelles (**Hervé *et al.*, 1976**), qui sont liées entre elles par des interactions hydrophobes et par phosphate de calcium insoluble, (**Nicosia *et al.* , 2022**) . Elles présentent une grande stabilité en raison de leur charge nette et de leur degré d'hydratation. La charge négative de la surface de la micelle est en partie responsable des répulsions électrostatiques entre micelles et contribue au maintien de la dispersion malgré la forte densité de population des micelles et la faible distance entre les particules (**Ilboudo *et al.*, 2012**).

1.2.2.2. Protéines sériques

Les protéines sériques ou protéines de lactosérum est le terme décrivant les protéines du lait restant dans le sérum après précipitation des caséines ou après élimination de la caséine. (**Phadungath, 2005**), ils sont solubles à toutes les valeurs de pH si elles ne sont pas dénaturées (**Ilboudo *et al.*, 2012**).

1.2.3. Glucides

Le lait contient 4,8 % de lactose ; une faible quantité du glucose et de galactose et certains glucides peuvent se combiner aux protéines. (**Aicha *et al.*, 2021**).

Le lactose est le glucide le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40% des solides totaux. Il joue un rôle important en tant que substrat de fermentation et aussi en tant qu'élément nutritionnel dans les produits laitiers.

1.2.4. Matière grasse

La matière grasse du lait est la plus complexe de toutes les graisses naturelles ; elle est représentée dans le lait sous forme de globules gras ; la quantité et la composition en acides gras du lait dépendent de l'origine animale, et le stade de lactation, ces acides gras sont proviennent soit de l'alimentation ou de l'activité microbienne dans le rumen. Le lait de vache contient presque 39g /l des lipides, en moyenne, 70 % de La fraction lipidique est composée d'acides gras saturés et de 30 % d'acides gras insaturés (**Romain *et al.*, 2008 ;Pereira, 2014**)

1.2.5. Vitamines

De manière générale, les vitamines du lait ont une origine multiple. Le lait contient naturellement l'ensemble des vitamines : A, D, B2, B5, B9 et B12 (**Ferlay *et al.*, 2013**).

Le lait est riche en quantité de minéraux tels que le phosphore, le magnésium, le potassium, le zinc et, évidemment, le calcium. Les vitamines A et D sont des vitamines

Partie bibliographique

liposolubles. C'est pourquoi on ne les retrouve que dans les produits à base de lait entier et demi-écrémé et dans le fromage

1.2.6. Minéraux

Le lait est riche en quantité de minéraux tels que le phosphore, le magnésium, le potassium, le zinc, le sodium, le chlore et évidemment, le calcium (**Adoui *et al.*, 2022 ; Alais, 1984**).

Les éléments basiques majeurs (Ca, K, Mg et Na) se combinent avec des constituants acides comme les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures pour créer des sels. Leur mission si importante est de participer à l'organisation micellaire des caséines (**Romain *et al.*, 2008**).

2. Coagulation du lait

La coagulation du lait est l'une des étapes les plus importantes du processus de fabrication du fromage, car elle détermine les propriétés finales du fromage (**García *et al.*, 2012**). Elle est défini comme la déstabilisation des micelles de caséine qui flocculent et s'agrègent pour former un gel renfermant le lait soluble Composants (**Troch *et al.*, 2017**).

2.1. Types de coagulation

2.1.1. Coagulation acide

L'acidification du lait est l'une des étapes les plus importantes de la fabrication du fromage qui a un effet profond sur l'assurance des caractéristiques souhaitables du caillé du fromage (**Narayana *et al.*, 2022**)

La coagulation par voie acide est provoquée par le ferment lactique qui transforme le lactose en acide lactique. L'acidification doit être lente et progressive. En effet, une acidification rapide et brutale du lait entraîne la formation d'un précipité. Une acidification lente et progressive peut être obtenue par des ferments lactiques et conduit à la formation d'un gel lisse homogène, qui occupe entièrement le volume initial du lait (**Brulé *et al.*, 1997**).

Un gel de lait acide est un réseau tridimensionnel d'agrégats de protéines de lait interconnectés couvrant tout le sérum de lait.

2.1.2. Coagulation enzymatique

La coagulation enzymatique du lait est la modification des micelles de caséine via l'hydrolyse limitée de la caséine par la présure, suivie d'une agrégation des micelles induite par le calcium. La présure est traditionnellement extraite de la caillette de veau et est un mélange des deux protéases gastriques chymosine et pepsine (**Hallén , 2008**).

2.1.3. Coagulation mixte

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. Cette méthode est utilisée pour l'obtention de fromages et de fromages à pâte molle (**Mahaut *et al.*, 2003**).

Le coagulum obtenu présente des caractères intermédiaires entre ceux de gel lactique et présure. Il est caractérisé par une souplesse et une élasticité moins grande, une fermeté et friabilité plus accentuées que celle du gel présure (**Siar, 2014**).

3. Présure et succédanés de présure

Les protéases ou peptidases constituent le plus grand groupe d'enzymes dans la bioindustrie avec un large éventail d'utilisations. Ils jouent un rôle invincible dans la biotechnologie industrielle, en particulier dans le domaine des détergents, de l'alimentation et des produits pharmaceutiques. L'intérêt pour les protéases microbiennes qui ont une importance écologique et commerciale a augmenté (**Sawant et Saraswathy, 2014**).

Dans l'industrie laitière, les protéases sont principalement utilisées dans la fabrication fromagère (**Rajendra *et al.*, 2016**).

Les protéases constituent d'un groupe d'enzymes complexe, qui diffèrent par des propriétés telles que la spécificité du substrat, le site actif et le mécanisme catalytique, le pH et la température optimale. L'étude de ces propriétés est impérative pour l'application réussie de ces enzymes aux industries alimentaires (**Alagarsamy *et al.*, 2005**).

Un certain nombre d'enzymes d'origine animale, végétale et microbienne ont la propriété de coaguler le lait. La présure et les coagulants commerciaux sont formulés sous forme de liquide, de poudre ou de comprimés. La forme liquide est la moins chère à produire, la plus facile à utiliser et se prête particulièrement bien au transport sur de courtes distances (**Law et Tamime, 2011**).

3.1. La présure

À travers le monde, les animaux sont abattus à des âges différents et toutes sortes de mélanges des extraits existent, résultant en une large gamme de composition pour la présure commerciale (**Law et Tamime, 2011**).

Le terme "présure" désigne généralement une préparation enzymatique extraite à partir de la quatrième poche d'estomac des veaux en sevrage, a été utilisée traditionnellement comme le principal agent coagulant dans la production fromagère (**BENSMAIL *et al.*, 2013**).

Il contient deux actives fractions : chymosine (95 % de l'activité enzymatique) et pepsine (**Troch *et al.*, 2017**). La chymosine se caractérise par sa très haute activité spécifique de coagulation et sa faible activité protéolytique générale (**Law et Tamime, 2011**).

Partie bibliographique

La présure naturelle provenant des ruminants est un mélange de différentes espèces moléculaires et variantes génétiques de la chymosine (EC 3.4.23.4) (**Jaros et Rohm, 2017**), qui représente une protéase aspartique, qui peut hydrolyser une liaison peptidique spécifique (Phe105-Met106) présente dans la κ -caséine (**Nicosia et al., 2022**). Cette réaction permet le caillage du lait (**Yakup et al., 2016**). Elle joue un rôle primordial pendant la maturation des fromages, et le développement équilibré de leur saveur et texture (**Wehaidy et al., 2018**).

- **Extraction de la présure**

La présure animale était autrefois produite à partir d'estomacs séchés ou parfois d'estomacs frais, mais aujourd'hui, la plupart de la présure est produite à partir d'estomacs congelés.

Les enzymes sont produites dans la muqueuse de la caillette (le quatrième estomac) sous forme de préproenzymes inactives, où la pré-partie a pour fonction de sécréter la proenzyme dans des canaux qui ont en contacte directe avec la lumière de l'estomac. Les estomacs sont coupés pour obtenir principalement la muqueuse, qui est haché et extrait avec de l'eau, souvent additionnée de sel, de tampon et/ou de conservateurs, et les résidus tissulaires sont ensuite séparés de l'extrait par centrifugation ou filtration. L'extrait brut contient un mélange de proenzymes et d'enzymes actives, et l'extrait doit être « activé » par l'acide pour convertir toutes les proenzymes en enzyme active; ce processus se produit le plus rapidement à pH 2. La clarification ultérieure, par filtration ou centrifugation, est normalement la seule étape de purification de la présure animale (**Law et Tamime, 2011**).

3.2. Succédanées de présure

L'augmentation progressive de la production fromagère et le caractère irrégulier de l'approvisionnement en présure de veau a conduit à l'emploi de préparation enzymatique d'origines divers, et coagulant le lait de façon similaire à la présure. (**Wehaidy et al., 2018, Slamani et Bellal, 2015**).

Actuellement, les différents succédanés de la présure dont on a envisagé l'emploi peuvent être divisés en quatre groupes : les produits d'origine animale, les produits d'origine végétale et enfin les produits d'origine microbienne provenant de bactéries ou de champignons (**Génin, 1968**).

3.2.1. Succédanées d'origine microbienne

Les enzymes coagulants d'origine microbiennes sont principalement produits par les champignons et les bactéries dans les processus de croissance et de métabolisme. Les micro-organismes ont de nombreux avantages, d'un cycle de croissance court, d'une fermentation facile et ne sont pas limités par l'espace et la région de production (**Da Silva et al., 2019**).

Partie bibliographique

La présure microbienne de divers micro-organismes (commercialisé sous des noms commerciaux tels que Rennilase, Fromase, Marzyme, Hanilase, etc.) commercialisés depuis les années 1970 se sont révélés satisfaisant pour la production de différents types de fromage **(El-Sayed *et al.*, 2013)**.

3.2.1.1. Succédanés d'origine bactérienne

Les bactéries sont les plus d'importants producteurs de protéase. Le genre *Bacillus* étant la source la plus importante en raison de leur capacité à produire une grande quantité de protéase, ayant une activité protéolytique et une stabilité importantes à pH et température élevés. Parmi les différentes sources microbiennes disponibles pour la production de bactéries enzymatiques protéases est la source la plus importante. Les espèces de *Bacillus* dominent le secteur alimentaire industriel. **(Saraswathy *et al.*, 2013)**.

3.2.1.2. Succédanés d'origine fongique

Tous les coagulants microbiens bien connus utilisés pour la fabrication du fromage sont d'origine fongique **(Law et Tamime, 2011)**.

La source fongique qui produit ces hydrolytiques sont les enzymes appartiennent au genre *Aspergillus*, *Humicola*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Thermomyces*, ils sont utilisées comme source des protéases acides, neutres et alcalines **(Rajendra *et al.*, 2016)**.

3.2.2. Succédanés d'origine végétale

Les protéases végétales explorées sont la bromélaïne, la ficine et papain extrait d'ananas *comosus*, *Ficus carica* et *Carica papaya*, respectivement. Ces protéases sont utilisées pour de différentes application telle que le brassage, l'attendrissement de viande, coagulation du lait, digestion, virale et traitement du cancer, ainsi que la ficine est principalement utilisée dans les Industrie alimentaire pour attendrir la viande et la coagulation des produits laitiers **(Rajendra *et al.*, 2016)**.

Ces coagulants sont des protéases naturelles, impliquées dans le développement des plantes, dont l'activité de coagulation du lait a été démontrée qui ils ont une activité de coagulation du lait. De nombreux fromages produits avec des enzymes végétales ont un goût amer en raison d'une activité protéolytique trop élevée et de la production de peptides amers. Cette activité protéolytique a également un impact sur le rendement du fromage, car la perte de protéines est plus importante. Pour ces raisons, l'utilisation industrielle est limitée **(Runesson, 2018)**.

3.2.3. Succédanés d'origine animale

Les animaux les plus utilisés dérivés les protéases sont la trypsine pancréatique, la chymotrypsine, pepsine et rénine. Chymotrypsine et rénine sont largement utilisés dans la déallérgénisation du lait hydrolysé de protéines et préparation de caillé, respectivement **(Rajendra et al., 2016)**.

3.2.3.1. Proventricule

La proventricule se considère à l'origine comme un sous produit et un excellent substrat pour l'extraction d'un succédané de la présure. Elle représente l'organe responsable à la sécrétion de l'enzyme gastrique (la pepsine). Elle est considérée comme l'estomac sécrétoire chimique ; dans cette dernière de l'acide chlorhydrique est sécrété. Le contenu de cet organe a donc un pH faible, environ 2,5 chez le poulet. Cette acidité entraîne une dénaturation des protéines et permet d'activer les pepsinogènes qui sont sécrétés par ce même organe **(Larbier et Leclercq, 1992)**.

3.2.3.2. Pepsine

La pepsine est une enzyme proche de la présure **(Alais et Novak, 1968)**. Elle constitue une enzyme coagulant, principalement utilisée dans l'industrie alimentaire. Les espèces porcine, ovine, bovine, avicole et aquatique sont ses principales sources. **(Benyahia-Krid et al., 2016)** La pepsine est une protéase acide présente dans le suc gastrique de tous les mammifères et les oiseaux. L'une de ses remarquables caractéristiques est sa grande activité dans cet environnement acide ; elle est active même à pH 1 où plusieurs enzymes et protéines subissent une rapide dénaturation **(Zidoune et Adoui, 2017)**.

La pepsine du poulet est extraite du proventricule ou ventricule succenturié qui est un renflement fusiforme de 3 cm de long en moyenne, situé au dessus du gésier, il est revêtu d'un épithélium de cellules cylindriques **(Boughalout, 2007)**. La pepsine du pro ventricule du poulet a été utilisée avec succès dans la fabrication de fromages tel que le camembert **(Siar, 2014)**.

4. Fromage

Le fromage est un produit connu et élaboré par l'homme depuis des millénaires. Il est lié à la domestication des espèces laitières et à la connaissance empirique de la richesse nutritionnelle du lait **(Gillis et Ayerbe.,2018)**

La transformation du lait en produits dérivés, comme les fromages, a été depuis longtemps un moyen traditionnel de conservation. En Algérie la consommation de produits laitiers comme les fromages est une vieille tradition liée à l'élevage. **(Leksir et Chemmam., 2015)**. Ils étant fabriqués par des processus artisanaux anciens, à partir du lait ou de mélanges de laits de différentes espèces. Il existe une variété de produits laitiers artisanaux (du terroir),

Partie bibliographique

leur dénomination ainsi que leur processus de fabrication différant d'une région à l'autre, ces produits diffèrent aussi par leur goût et leur consistance, selon la source du lait (vache, chèvre, brebis et chamelle) (Meribai *et al.*, 2017)

4.1. Définition de fromage

Le fromage est l'un des aliments à base de lait fermenté caractérisé par ses nombreuses saveurs, textures et arômes différents. (Khattab *et al.*, 2019)

Le nom « fromage » est réservé au produit fermenté ou non obtenu par coagulation du lait, de la crème, du lait écrémé ou d'un mélange de ceux-ci, suivi d'un égouttage. Le fromage est fabriqué soit par la méthode traditionnelle en milieu rural et traditionnelle, soit par des méthodes semi-industrielles ou industrielles qui restent limitées (Guetouache et Guessas., 2015)

4.2. Fromage frais Jben

Les aliments traditionnels font partie du patrimoine socio- culturel de chaque peuple (Leksir et Chemmam., 2015). Plus de 10 fromages traditionnels sont produits dans tout le territoire algérien mais uniquement le *Jben* et le *Klila* sont connus. La connaissance de ces produits permet la préservation d'un savoir faire ancestral, et contribue à faire vivre les régions rurales. (Derouiche et Zidoune., 2015)

4.2.1. Définition de Jben

Le *Jben* est un fromage frais algérien non affiné, préparé à partir du lait, consommé dans les 10 ou 15 jours après sa préparation. (Meribai *et al.*, 2017)

A l'origine, le *Jben* était traditionnellement le produit de la transformation de lait de vache, de chèvre et de brebis, mais la tendance actuelle semble être vers l'utilisation du lait de vache. (Tajine *et al.*, 2011)

Le *Jben* est fabriqué à partir de lait cru de ruminant caillé spontanément ou par une enzyme coagulante d'origine végétale ou animale. (Tabet *et al.*, 2023)

4.2.2. Procédé de fabrication de Jben

Les méthodes de production artisanales sont encore utilisées dans de nombreuses régions, en particulier pendant la saison abondante de production laitière (Tabet *et al.*, 2023).

Jben peut être fait à la main sans coagulation enzymatique; dans ce cas, le lait cru est spontanément acidifié, et le caillé est égoutté (Tajine *et al.*, 2021).

Une méthode artisanale permet de coaguler le lait par des enzymes coagulantes d'origine végétale comme les fleurs de cardon qui sont entières sont macérées dans le lait. Ou par un agent animal tel que la caillette de veau. Cette variété végétale et animale utilisée

Partie bibliographique

varie d'une région à l'autre ; ça donne un goût et une texture appréciée des gens de la région concernée (**Leksir et al., 2019**).

La fabrication du *Jben* peut être effectuée aussi par combinaison de deux méthodes précédentes ou le lait est spontanément acidifié, ensuite coagulé par des enzymes coagulantes à l'aide de plantes ou présure animale ou levains acidifiants (**Tajine et al., 2021**).

Une autre transformation traditionnelle du lait cru en fromage *Jben* est comme suit : Le lait cru collecté est filtré puis abandonné à lui-même dans les bidons de traite à la température ambiante se situant entre 22 et 26°C pendant 18 à 24 heures; le rayeb obtenu tel qu'il subit un écrémage –barattage dans une peau de chèvre ou de brebis (chekoua). Le beurre obtenu appelé semnahest retiré en une seule motte, le petit lait restant appelé l'ben est chauffé légèrement jusqu'à séparation du lactosérum, la phase aqueuse (lactosérum) est séparée dans une mousseline pendant 10 à 15 heures et le coagulum obtenu représente le fromage *Jben* (**Dahou et al., 2015**).

Le procédé technologique, nécessite l'utilisation d'une présure microbienne, le lait de vache est enrichi par des ferments acidifiants puis emprésuré avec la présure qui permet la formation de caillé ;qui s'égoutte à une température ambiante (**Leksir et al., 2019**).

Partie

Expérimentale

Matériels

et Méthodes

Une partie des analyses a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'université Cheikh Larbi Tebessi. L'autre partie a été effectuée au niveau du laboratoire privé de contrôle de qualité et de conformité sous la direction du Mr FATHALLA située dans la région de Tebessa.

L'objectif de ce travail est la valorisation des pratiques traditionnelles par la caractérisation d'un fromage traditionnel frais type *Jben* fabriqué à partir du lait de vache en utilisant l'extrait clarifié de la pepsine de poulet.

La démarche suivie est divisée en deux parties : une première partie visant la caractérisation du lait de vache et d'extrait clarifié de pepsine de poulet et la seconde partie s'intéresse à la caractérisation physicochimique et organoleptique du *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet.

1. Matériels

1.1. Réactifs chimiques utilisés

- NaOH, HCl, acide sulfurique, acide isoamylique, éthanol, Chlorure de calcium (CaCl_2), NaHCO_3 , NaCl, Albumine de sérum bovin (BSA).
- Phénophtaléine, bleu de commasie

1.2. Appareillage

- Balance de précision (KEREN) ;
- Humidimètre (CAS) ;
- Centrifugeuse (SIG MA) ;
- Balance (Scout pro) ;
- pH mètre (Phep Eco) ;
- Centrifugeuse "Gerber" (Nova Safty 10 min ,65°C) ;
- Congélateur à -18°C;
- Réfrigérateur à + 4°C;
- Plaque chauffante ;
- Bain Marie (WiseBath);
- Agitateur (IVIO) ;
- Hachoir à viande (SINARCO) ;
- Butyromètre.
- Spectrophotomètre (UviLine) ;
- Spectrophotomètre (WPA) ;

2. Matières premières utilisées

2.1. Lait

2.1.1. Lait de vache

Le lait de vache utilisé a été fourni par un crémier situé à Tébessa, Il est transporté jusqu'au laboratoire pédagogique de la faculté dans une glacière en respectant les conditions d'hygiène.

2.1.2. Lait en poudre

Le lait utilisé est un lait écrémé en poudre (0% de matière grasse). Cette poudre est importée par l'ONIL-Algérie (Office National Interprofessionnel du Lait). Elle a été fournie par l'unité de fabrication des produits laitiers "Milk" située à Tébessa. Cette poudre de lait a été utilisée pour la préparation du substrat de Berridge.

2.2. Pepsine

2.2.1. Préparation des proventricules de poulet

Les proventricules sont récupérés d'une boucherie située dans la région de Tébessa.

Après l'abattage, déplumage et éviscération des poulets, les proventricules sont séparés du tube digestif et acheminés au laboratoire dans une glacière ou ils sont immédiatement ouverts par incision longitudinale et vidés de particules alimentaires adhérentes aux parois. Après lavage et égouttage, ces derniers sont repartis en lots de 100g, emballés dans des feuilles d'aluminium puis conservés au congélateur (environ -18°C) jusqu'à l'utilisation.



Figure 2. La préparation des proventricules

2.2.2. Extraction de la pepsine de poulet

L'extraction de la pepsine est réalisée en suivant le protocole d'extraction proposé par BOHAK, (1970) cité par **Benyahia-Krid *et al.*, (2010)**. Les principales étapes sont présentées en figure 4.

Après décongélation au réfrigérateur à 4°C, une quantité de 100 g de proventricules hachés sont versés dans une solution saline de macération de 300ml contenant 30 g/l du NaCl et 7g/l du NaHCO₃ (**Benyahia-Krid *et al.*, 2010 ; Nouani *et al.*, 2011**). Après 3 heures de macération sous agitation, le macérât est filtré à travers une gaze à double couche, puis le pepsinogène est activé par acidification à l'aide d'une solution d'HCl 3N jusqu'à pH = 2 (**Glick *et al.*, 1989**). Après l'activation de l'enzyme, le filtrat est enfin centrifugé à une force centrifuge de 7500g pendant 15 min à 4°C dans une centrifugeuse. Le surnageant obtenu, représentant l'extrait d'enzyme clarifié est récupéré, puis ajusté à pH 6,4 par une solution de NaOH 3N et conservé à - 18 °C (congélation) jusqu'à utilisation. Le culot qui représente le mucilage et les débris des tissus est éliminé.

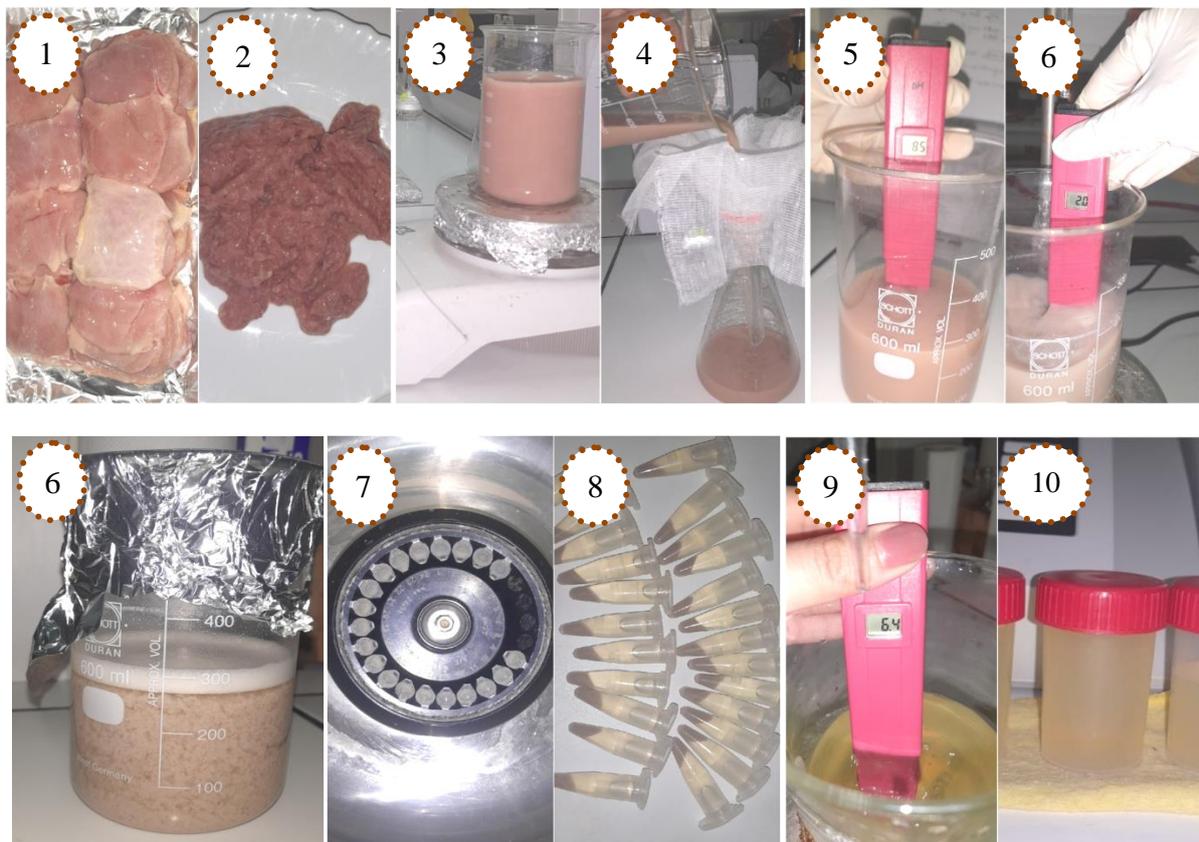


Figure 3. Étapes de l'extraction (réalisées par nos propres soins)

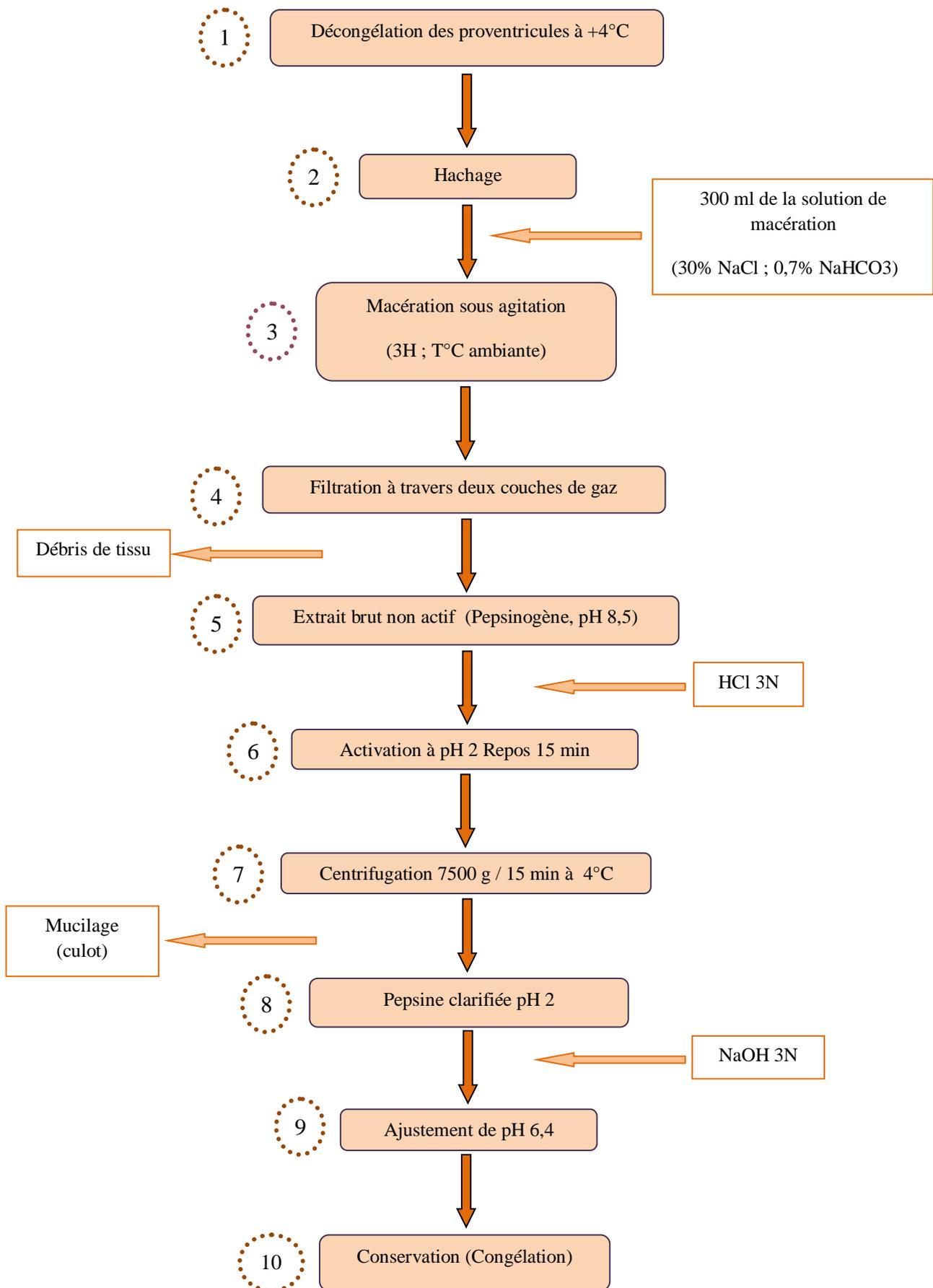


Figure 4. Diagramme de l'extraction de la pepsine de poulet (BOHAK, 1970)

3. Méthodes

3.1. Caractérisation physicochimique du lait utilisé dans la fabrication du fromage

L'échantillon du lait utilisé pour la fabrication du fromage *Jben* a été analysé pour déterminer le pH, la matière sèche, l'humidité, la matière grasse, les protéines. Les résultats sont rapportés en moyenne de trois répétitions \pm écart-type.

3.1.1. Détermination du pH

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné. Il nous renseigne sur l'état du fraîcheur du lait. C'est une détermination de la concentration en ions « hydrogène », contenus dans une solution au but de déterminer quantitativement l'acidité ou la basicité de celle-ci (AFNOR, 1993).

➤ **Mode opératoire**

Le pH de l'échantillon du lait a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre électronique après avoir plongé son électrode dans un bécher contenant l'échantillon de lait. L'appareil doit être étalonné avec deux solutions tampons à pH 4 et 7.

➤ **Expression des résultats**

La valeur du pH s'affiche instantanément sur l'écran.

3.1.2. Détermination de l'acidité titrable

La mesure de l'acidité titrable est effectuée de manière visuelle, elle est basée sur un dosage acido-basique d'un échantillon du lait par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1 N) en présence de l'indicateur coloré phénolphthaléine qui vire en rose pale au point d'équivalence (Sandulescu, 2020).

➤ **Mode opératoire**

Introduction de 10 ml de lait dans un bécher suivie par un ajout de 3 à 4 gouttes de phénolphthaléine, puis une titration avec la soude (NaOH 0,1N) jusqu'au virage de la couleur du milieu vers le rose pale, on considère que le point d'équivalence est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes.

➤ **Expression des résultats**

Détermination du volume d'équivalence de NaOH nécessaire pour neutraliser la teneur d'acide lactique contenue dans le lait. Le résultat est exprimé en degré Dornic ; où 1°D représente 0,1g d'acide lactique par litre de lait ; en appliquant la formule suivante :

$$\text{Acidité} = 10 (V / V_1) \text{ °D}$$

Où :

V : volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de sodium 0.1N.

V₁ : volume de la prise d'essai.

3.1.3. Détermination de la densité

La détermination de la densité du lait de vache se réalise en utilisant un thermo-lactodensimètre gradué à la température de 20°C. (Ouchen-Khalifi *et al.*, 2017) La densité est le rapport des masses d'un volume de lait et d'un même volume d'eau à 20°C. L'addition de l'eau au lait (mouillage) diminue la densité. Donc une densité trop faible ou trop élevée laisse soupçonner une fraude.

➤ Mode opératoire

Après homogénéisation, le lait a été versé dans une éprouvette (500ml). Ensuite, le thermo-lactodensimètre a été doucement plongé dans le lait. Il faut attendre trente à soixante secondes avant la lecture. Celui-ci doit flotter librement dans le lait (ne pas toucher ni le fond ni les parois de l'éprouvette).

➤ Expression des résultats

Dès que l'équilibre a été établi, la lecture de la densité brute a été faite au niveau supérieur du ménisque d'affleurement du lait sur la tige. La densité doit être égale ou supérieure à 1,028 à 20°C.

3.1.4. Détermination de la teneur en protéine

La teneur en protéines est déterminée par la méthode colorimétrique Bradford (1976). Cette méthode utilise le bleu de Coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines de manière non spécifique. Cette adsorption s'accompagne d'une modification du couleur vers le bleu.

➤ Mode opératoire

Une série de trois tubes a été préparée :

Tube 1. Dilution du lait en mélangeant 1 ml du lait avec 20 ml de l'eau distillée;

Tube 2. La solution de BSA et l'eau distillée.

Tube 3. Blanc

Dans chaque tube, 4 ml du bleu de Coomassie a été rajoutée. Les trois tubes ont été incubés pendant 15 minutes. Finalement, l'absorbance a été mesurée à l'aide du spectrophotomètre.

➤ **Expression des résultats**

L'absorbance des échantillons est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm, Les résultats sont exprimés en g/l selon la formule ci-après :

$$\text{Teneur en protéines} = \frac{A(\text{éch}) - A(\text{blanc})}{A(\text{étalon}) - A(\text{blanc})} \times 7$$

3.1.5. Détermination de la teneur en matière grasse

La détermination de la teneur en matière grasse du lait est effectuée selon la méthode GERBER conformément à la norme **(ISO 2446/ IDF 266 :2008)**. La teneur en matières grasses a été déterminée par la méthode acido butyrométrique de Gerber. Cette méthode est basée sur la digestion des constituants du lait et principalement les protéines par de l'acide sulfurique (H₂SO₄), à l'exception la matière grasse, puis la séparation de cette dernière par centrifugation. La séparation est favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool isoamylique et l'obtention de la teneur en matière grasse par lecture directe sur l'échelle du butyromètre.

➤ **Mode opératoire**

- 1- Chauffer le lait dans une bouteille d'échantillonnage à 20°C et agiter prudemment afin d'obtenir une répartition homogène de la matière grasse;
- 2- Verser 10 ml d'acide sulfurique dans les butyromètres sans mouiller le cou de ces derniers ;
- 3- Verser 11 ml de lait dans les butyromètres à l'aide d'une pipette ;
- 4- 1 ml d'alcool isoamylique est déposé sur le lait à l'aide d'une pipette ;
- 5- Fermer les butyromètres à l'aide d'un bouchon ;
- 6- Agiter jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène ;
- 7- Après agitation, les butyromètres sont placés (face à face) dans la douille de la centrifugeuse (1200) tr/min pendant 5 min ;
- 8- A la fin de la centrifugation, placer les butyromètres dans un bain-marie à 65°C pendant 5 min (bouchant en bas).

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matières grasses est exprimée en g/l et déterminée par la lecture de la graduation du Butyromètre.

3.1.6. Détermination de l'extrait sec total (EST)

La matière sèche correspond au poids du résidu restant après dessiccation de l'échantillon à 105°C dans un humidimètre (**Ghaoues , 2011**)

➤ Mode opératoire

La mesure de l'extrait sec totale de l'échantillon du lait a été effectuée en utilisant un humidimètre ; la capsule en aluminium est pesée par la balance qui se trouve à l'intérieur de la chambre chaude du dessiccateur ; 2 ml du lait de vache ont été bien étalés à l'aide d'une spatule. La dessiccation démarre juste après la fermeture du couvercle, à une température de 105°C jusqu'au poids constant.

➤ Expression des résultats

Les valeurs de l'extrait sec total et de l'humidité sont inscrites directement sur l'écran.

3.1.7. Détermination de l'extrait sec dégraissé (ESD)

L'extrait sec dégraissé exprimé par l'ensemble des composants de matière sèche à l'exception des matières grasses (**ADOUI, 2017**).

L'extrait sec dégraissé est calculé suivant la formule suivante :

$$\text{ESD} = \text{EST} - \text{MG}$$

3.2. Caractérisation de l'enzyme

3.2.1. Détermination le teneur en protéine

La teneur en protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Cette méthode est basée sur la capacité de fixation aux protéines du colorant Coomassie bleu brillant G-250, cependant que son maximum d'absorption se déplace de 465 nm à 595 nm. L'absorption de l'échantillon à 595 nm sert d'unité de mesure pour la concentration en protéines. Le colorant possède une affinité pour les protéines (**Smith, 2002**). Une fois lié aux protéines sa couleur vire du vers le bleu. Le haut coefficient d'extinction permet d'avoir un dosage des protéines même à de faibles concentrations, inférieures à 20µg/mL. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présente dans l'échantillon.

➤ Mode opératoire

- Disposer dans un portoir une série de tubes à essai numérotés de 0 à 5;
- Réaliser une gamme d'étalonnage;
- Ajouter le volume nécessaire de solution BSA à une concentration finale de 1mg/ml
- Ajouter à chaque tube 4 mL de réactif Bradford;

- Ajouter à chaque tube 20 μL de chaque dilution ou préparation enzymatique (enzyme brute et les dilutions réalisées);
- Fermer les tubes, puis homogénéiser et laisser dans l'obscurité pendant exactement 15min ;
- Faire la lecture au spectrophotomètre à 595 nm en mettant environ 2mL du mélange réactionnel dans des cuvettes visibles

➤ **Expression des résultats**

La concentration protéique de l'extrait enzymatique est mesurée à partir de la courbe d'étalonnage.

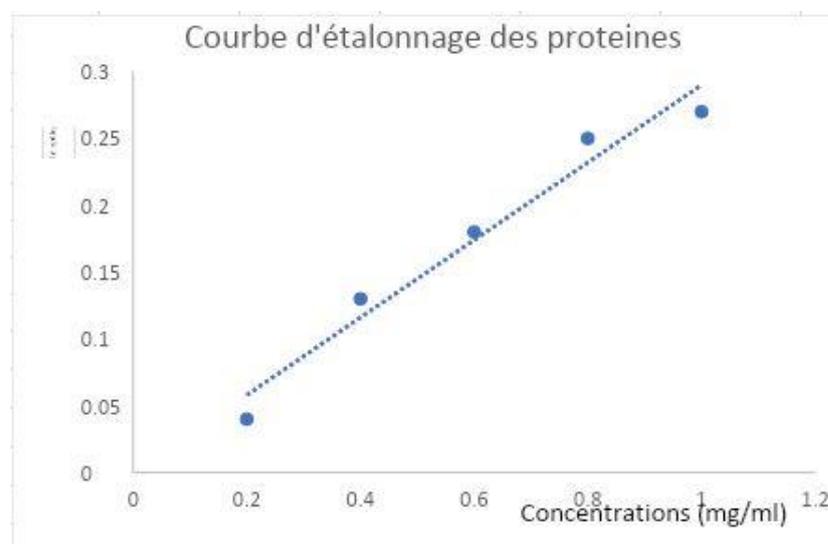


Figure 5. Courbe d'étalonnage de protéines BSA

3.2.2. Détermination de l'activité coagulante

L'activité coagulante est déterminée par mesure du temps de floculation selon la méthode de Berridge (1955). Le temps de floculation est l'intervalle de temps, compris entre le moment de l'emprésurage et l'apparition des premiers flocons de caséines visibles à l'œil nu (Libouga *et al.*, 2006). L'unité d'activité coagulante (U.A.C) ou l'unité présure est défini par la quantité d'enzyme contenu dans 1ml, qui peut coaguler 10 ml de lait en 100 sec à 30°C (Alais, 1974; Daffri *et al.*, 2020).

➤ **Mode opératoire**

Le substrat de BERRIDGE est composé de lait en poudre écrémé (0% MG) à 12 % (m/v) dans une solution de CaCl_2 (0,01M) (Nouani *et al.*, 2009)

Un volume de 10 ml de substrat de BERRIDGE ajusté à un pH de 6,5 -à l'aide d'une solution de NaOH 0,1 N- a été versé dans un tube à essai. Au temps zéro, cette méthode

consiste à ajouter 1 ml d'extrait coagulant dilué et déclencher le chronomètre, le tube a été incubé dans un bain marie à 30 °C de façon inclinée, de telle sorte que le niveau de l'eau soit supérieur à celui du lait avec un mouvement de rotation lente au tour de son axe. Au moment de la floculation, des petits flocons apparaissent au sein même de film.

➤ Expression des résultats

L'activité coagulante est calculée par la formule suivante :

$$U.A.C = \frac{10 \times V}{T \times V'}$$

Où :

V : volume du lait ;

V' : volume de l'extrait enzymatique versée ;

T : Temps de floculation.

3.2.3 Détermination de la force coagulante

L'activité coagulante d'un extrait enzymatique ou d'une enzyme coagulante peut être également exprimée en force coagulante ; cette force représente le volume de lait coagulé par unité de volume de l'extrait enzymatique, en 40min, à 35°C et pH 6,4 (**Bouras et al., 2022**)

➤ Mode opératoire

Le procédé est presque le même que pour l'activité coagulante sauf que les tubes sont maintenus pendant 30 minutes à 35°C au bain Marie pour la stabilisation du lait. Le temps de coagulation correspond au temps qui sépare le moment de l'emprésurage (ajout de l'extrait enzymatique) et la formation de gel (coagulation du lait) (**Alpha et al., 2017**).

➤ Expression des résultats

Elle est exprimée par la formule suivante :

$$F = \frac{2400 \times V}{T \times v'}$$

Où :

F : Force de l'enzyme ;

V : Volume du lait ajusté (pH=6,4, T°=35°C) ;

v' : Volume de la solution enzymatique ;

T : Temps de coagulation du lait (en secondes) ;

Temps standard du test = 2400 secondes (40 min).

3.2.4. Détermination de l'activité spécifique

L'activité spécifique est exprimée par le rapport entre l'activité coagulante de l'extrait enzymatique et le taux de protéines de cet extrait enzymatiques et exprimée en U.P/mg (Nouani *et al.*, 2009).

Elle est exprimée par la formule suivante :

$$\text{Activité spécifique} = \frac{\text{L'activité coagulante}}{\text{La teneur en protéines}}$$

3.2.5. Détermination du temps de coagulation

Le temps de prise est le point où apparaissent les premières gouttelettes du lactosérum sur la surface du gel, le coagulum devient rigide et ne coule plus sur les parois du tube (Luquet et Boudier, 1981).

➤ Mode opératoire

Un volume de 10 ml de lait est versé dans un tube à essai maintenu à 35°C dans un bain marie, puis additionné de 1 ml de la solution enzymatique.

Le tube est laissé jusqu'à la solidification du gel et l'apparition des premières gouttelettes du sérum sur la surface du gel. Le temps écoulé représente le temps de prise.

➤ Expression des résultats

Pour la coagulation, le temps de prise représente généralement environ le double du temps de floculation ; ainsi pour un temps de floculation compris entre 12 et 15 min, le temps de prise est compris entre 25 et 30 min.

3.2.6. Rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction relatif à l'extrait brut de la pepsine de poulet est défini comme étant le rapport entre la quantité de l'extrait enzymatique clarifié de la pepsine récupérée et de l'unité de masse de proventricules frais. Il a été déterminé selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{V}{V_0} \times 100$$

Où :

R (%) : rendement exprimé en pourcentage ;

V : Le volume de l'extrait résultant ;

V₀: Le volume de la solution de macération.

3.3. Essai de fabrication de fromage traditionnel frais type *Jben*

Le fromage est l'un des produits laitiers les plus populaires, En Algérie, les fromages ont une longue histoire et sont traditionnellement fabriqués par des processus anciens à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de mélanges. Plus de 10 fromages traditionnels sont produit dans tout le territoire algérien mais uniquement le *Jben* et le *Klila* sont connus (**M Derouiche et M N Zidoune, 2015**).

Le fromage "*Jben*" a été produit selon la tradition, la méthode de fabrication de ce fromage est simple, à base du lait de vache crue, on remplaçant la présure par l'extrait enzymatique étudié : la pepsine de poulet.

3.3.1. Procédé de fabrication du fromage *Jben*

Le processus de transformation du lait en fromage frais type *Jben* a été réalisé suivant le diagramme traditionnel décrit par **Rachid et al (2023)**.

Cinq litres du lait ont été filtrés à travers une mousseline dans le but de débarrasser le lait de toutes les impuretés. Après chauffage du lait à 40 °C dans un récipient pendant 10 min, l'extrait enzymatique (pepsine) a été ajouté sous agitation continue du lait et laisser agir pendant 2 heures. Après coagulation, le coagulum est égoutté et versé dans un moule. Ces moules sont ensuite suspendus pour accélérer l'exsudation du lactosérum à température ambiante. Après 6 heures, la pâte obtenue est purement lactique et très humide.

Une fois égoutté, le caillé est divisé en petits morceaux et mis dans des boîtes en verre.

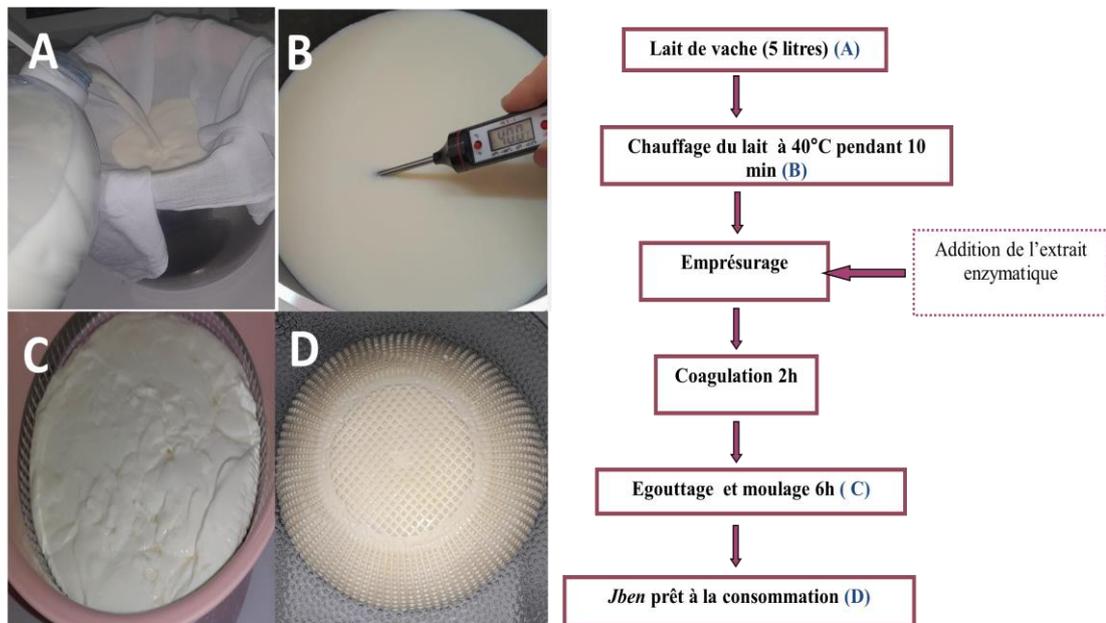


Figure 6. Diagramme de fabrication de *Jben* (réalisé par nos propres soins)

3.3.2 Détermination du rendement

Après la fabrication, la quantité de fromage est mesurée afin de calculer le rendement. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement de fromage} = \frac{\text{Le poids de fromage obtenu (kg)}}{\text{volume de lait (L)}} \times 100$$

3.4. Caractérisation physico-chimiques du fromage

Les différents paramètres physicochimiques décrits ci-dessous ont été étudiés pour l'échantillon du fromage.

3.4.1. Détermination du pH

Un échantillon de 10 g de fromage est fondu dans 90 ml d'eau distillée, la mesure de pH a été effectuée par une immersion directe du pH-mètre électronique dans la solution à tester (Rachid *et al.*, 2023).

3.4.2. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable exprimée en degré Dornic (°D), ou en gramme d'acide lactique pour cent gramme de produit alimentaire a été déterminée après le titrage par une solution de NaOH (0,1N) en présence de l'indicateur coloré phénolphtaléine à 1 % (p/v) sachant que 1 ml de la solution de NaOH correspond à 0.01 g d'acide lactique pour cent ou à 10°D (Aissaoui Zitoun, 2014). 10g de fromage ont été additionné à 90ml d'eau distillée, puis 10ml de la

solution homogénéisée a été titrée par une solution de NaOH (0,1N) en présence de phénolphaléine à 1 % (p/v) (**Bendimerad, 2013**).

3.4.3. Détermination de la teneur en protéine

Ce protocole était réalisé de la même façon que celui effectué lors de la caractérisation physicochimique du lait de vache.

3.4.4. Détermination de l'extrait sec totale et l'humidité

La détermination de la matière sèche a été réalisée par un dessiccateur, son principe repose sur l'élimination de toute l'eau à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à obtention d'un poids constant de la prise d'essai analysée (**Norme algérienne : NA n° 10.54.14**).

➤ Mode opératoire

La matière sèche correspond au résidu sec obtenu après dessiccation dans l'étuve, à température égale à $100 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 heures Cinq grammes de fromage sont pesés dans des coupelles. La dessiccation est réalisée dans une étuve à circulation d'air forcée à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 heures.

➤ Expression des résultats

La matière sèche est déterminée par la relation suivante :

$$\text{EST}(\%) = \frac{MS}{Mi} \times 100$$

Où :

MS: matière sèche résiduelle de la dessiccation dans l'étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$

Mi: l'échantillon de fromage

Le taux d'humidité (H%) est par la suite calculé par la formule suivante :

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

3.4.5. Détermination du teneur en matières grasses

Le dosage de la matière grasse a été réalisé selon la méthode de Van Gulick conformément à la norme (**ISO 3433 : IDF 2008**).

Cette méthode est basée sur la digestion des constituants de fromage et principalement les protéines par de l'acide sulfurique (H_2SO_4), à l'exception la matière grasse, puis la séparation de cette dernière par centrifugation.

➤ **Mode opératoire**

Trois grammes de fromage sont pesés dans un godet adapté au butyromètre. Le godet est placé dans le butyromètre puis recouvert avec de l'acide sulfurique (densité 1.522 g/ml) jusqu'à l'immersion totale du godet et son contenu. Le butyromètre est placé dans un bain marie à $65 \pm 2^\circ C$ sous agitation pendant 3 heures pour favoriser la dissolution totale de fromage. 1 ml d'alcool amylique (densité 0.818 g/ml) est ajouté, puis le butyromètre est remplis jusqu'à la graduation 25 ml avec de l'acide sulfurique (densité 1.522 g/ml). Après une agitation modérée, le butyromètre est centrifugé à 1350 rpm pendant 10 minutes.

➤ **Expression des résultats**

Après la centrifugation, la lecture est effectuée immédiatement, La teneur en matière grasse, est exprimée en gramme par cent grammes de fromage brut. La mesure est répétée deux fois et le résultat est la moyenne des deux répétitions.

3.4.6. Détermination de l'extrait sec dégraissé

3.5. Analyse sensorielle du fromage

Cette analyse a pour but principale de décrire le profil sensoriel globale du fromage traditionnel Jben fabriqué en utilisant la pepsine de poulet et pouvoir le comparer avec le jben commercialisé (fabriqué en utilisant la présure) à l'aide d'un jury de dégustation. Il s'agit d'identifier les caractéristiques organoleptiques des fromages fabriqués et de voir leurs degrés d'acceptabilité par les consommateurs.

L'analyse sensorielle a été réalisée dans le laboratoire pédagogique de la faculté des sciences exactes et science de la nature et de la vie

Le panel est constitué de 60 sujets non entraînés (étudiants), recrutés selon leur motivation et leur disponibilité pour participer au test.

Les deux types de fromages frais ont été préparés, codifiés pour ne pas influencer les réponses sensorielles des dégustateurs.

Cette analyse décrit les caractéristiques sensorielles du fromage soit l'aspect et la texture, l'odeur, l'arôme, l'arrière-goût et la persistance du goût du fromage. En premier lieu une détermination des familles ou descripteurs sensoriels du fromage a été établie avec des

sujets non entraînés ainsi qu'un questionnaire type. Ensuite, des analyses sensorielles proprement dite ont été réalisés avec ce jury.

3.5.1. Détermination des descripteurs sensoriels

Une liste des descripteurs a été établit par le groupe de sujets dans le but de couvrir les caractéristiques sensorielle du fromage. Le principe consiste à présenter au sujet un échantillon du fromage *Jben* qu'il va renifler plusieurs fois pour détecter les odeurs reconnus puis discussion. Ensuite, l'étudiant déguste les deux échantillons du fromage et note progressivement les familles ou les descripteurs d'arômes détectés. Les descripteurs donnés par l'ensemble des membres du jury sont retenus pour l'analyse sensorielle. Les descripteurs choisis ont été regroupés dans des catégories sensorielles (Aspect et texture- Odeurs et arômes- Gout- consistance de la pate)

3.5.2. Évaluation sensorielle du fromage

La première étape consiste à une description des principales caractéristiques sensorielles du fromage puis à leur donner une note (échelle constituée de 9 notes) qui correspond à l'intensité de la sensation perçue pour chacun des attributs sensoriels. L'analyse consiste à présenter à un dégustateur deux échantillons du fromage *Jben* codifié (*A et B*) (10 g de chaque échantillon). Puis au final chaque membre du jury est invité à motionner le fromage préféré.

Il faut recommander aux dégustateurs d'éviter l'utilisation de produits à odeur prononcée, comme les savons et les parfums et d'éviter de manger, de boire ou de fumer avant de participer aux essais.

Résultats

et Discussions

1. Caractéristiques physico-chimiques du lait

La composition physico-chimique du lait cru (lait de vache) utilisé dans la fabrication du fromage est illustrée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Composition physicochimique du lait de vache

Paramètres	Résultats
pH	6.6
Acidité titrable °D	18
Densité	1.032
Protéine (g/l)	20.06
Matière grasse (g/l)	31.0
E.S.T (g/l)	110
E.S.D (g/l)	79
Humidité (g/l)	990

Le lait est conforme aux normes pour chaque type d'analyse effectué, Les valeurs de pH (6,6), l'acidité (18°D), la densité (1,032), matière grasse (31g/l) retrouvée dans notre échantillon du lait permettent de dire que le lait est frais, et sont proches de celles signalés par différents auteurs (**AFNOR, 1993; Lapointe-Vignola, 2002**). Les valeurs de la teneur en matière grasse, protéines et extrait sec total sont inférieure aux valeurs rapportées par **Alais (1984)**.

1.1. pH

Le lait utilisé présente un pH moyen de 6.6. Cette valeur est similaire à celle obtenue par **Siar (2014)** et inférieure a celle obtenu par **Tajine (2020)**. La valeur de pH rapportée dans cette étude est située dans l'intervalle de 6,6 et 6,8 qui caractérise un lait normal et stable (**Lapointe-Vignola, 2002**).

1.2. Acidité

Le lait de vache analysé présente une valeur d'acidité titrable de 18 °D, cette valeur est conforme aux normes. Elle est inférieure à l'acidité titrable trouvée par **Tajine, (2020)** et supérieure à celle trouvée par **Siar (2014)**.

1.3. Densité

La densité, est le paramètre le plus recherché en industrie car il permet la détection de fraudes. Dans notre étude, nous avons trouvé la valeur suivante 1,032 pour notre échantillon du lait de vache. Cette valeur se situe dans l'intervalle des valeurs rapportées dans (**AFNOR,**

1993), ceci indique que le lait est dans son état normal et qu'il n'est pas dilué. Elle est supérieure par rapport à la valeur obtenu par **Siar (2014)** qui est 1,027.

1.4. Teneur en protéine

La teneur en protéines du lait est de 20g/l, ce taux est faible en comparaison avec celui rapporté par **Alais (1984)**.

1.5. Matière grasse

La teneur en matière grasse du lait est de 31g/l; ce résultat est inférieur à celui trouvé par **Siar, (2014)** qui est 38g/l, la valeur de la teneur en matière grasse du lait est dans l'intervalle (28 – 36 g/l) cité dans **AFNOR (1993)**.

1.6. Extrait sec total et l'humidité

La valeur de l'extrait sec totale du lait cru est de 110 g/l avec un taux d'humidité qui correspond à 990g/l, cette valeur est inférieur à celle rapportée dans **AFNOR (1993)** et inférieur au résultat obtenu par **Siar (2014)** qui a trouvé une valeur de 123g/l. La faible valeur d'extrait sec total peut être due à la période de lactation.

1.7. Extrait sec dégraissé

Les calcule d'extrait sec dégraissé nous donne la valeur de 79 g/l. Cette dernière est inférieure aux valeurs mentionnées dans **AFNOR(1993)**.

2. Caractérisation physico-chimique de l'extrait enzymatique

Les caractéristiques de l'extrait de pepsine de poulet sont présentées en tableau 3. L'extrait clarifié de pepsine obtenu selon le protocole de **Bohak, (1970)** est une solution de couleur jaunâtre. Ce résultat est comparable à celui rapporté par **Adoui, (2007)** et **Siar (2014)**.

Il a la même couleur que celle d'une présure extraite par macération à partir des caillettes de veau (**Fao, 1988**).

Tableau 3. Principales caractéristique des enzymes extraites

Caractéristiques	Pepsine
Taux de protéine (mg/ml)	12,2
Activité coagulante (UAC) (UP)	5.518
Force coagulante	1/2962,96
Activité spécifique UP/mg	0.45
Couleur	jaunâtre
Texture	liquide

2.1. Rendement

Le rendement d'extraction est d'environ 79% (pour 100 g de proventricules, nous avons récupéré 237 ml d'extrait enzymatique clarifié).

Le rendement exprimé en unité d'activité coagulante par 100g de proventricules est égale à 1307,86 U.P ; Ce rendement correspond à l'activité enzymatique du volume total de l'extrait obtenu à partir de 100g de proventricules de poulet dans 300ml de solution d'extraction.

2.2. Teneur en protéine

La teneur en protéines de l'extrait clarifié de pepsine de poulet obtenu est de 12,2 ±0,42 mg/ml. Ce résultat est supérieur à celui obtenu par **Adoui (2007)** qui est de 8,77 mg/ml et largement inférieur à celui obtenu par **Nouani et al., (2011)** ayant une valeur de 147,3 mg/ml, et inférieure aussi à la valeur rapportée par **Siar (2014)** qui est 20,10 mg/ml.

2.3. Activité coagulante

L'extrait clarifié de la pepsine de poulet a une activité coagulante de 5.518 U.P similaire à celle trouvée par **Paez de leon et al. (1995)** 5,52 U.P. Cette activité est inférieure aux activités obtenues par **Benyahia-krid (2013)** qui est de 23(UP), **SIAR (2014)** estime à 18.61 U.P., **Nouani et al., (2011)** évalué à 13,33 U.P., **Adoui (2007)** qui est de 15,08 U.P. Par contre elle reste supérieure aux résultats obtenus par **Boughellout (2007)** estimé à 2,42 U.P.

2.4. Force coagulante

En termes de force coagulante, l'extrait de la pepsine que nous avons obtenue à une force de 1/2962,96. Donc 1ml de l'extrait enzymatique peut coaguler 2962,96 ml de lait.

Ce résultat est inférieur à celui obtenu par **Siar(2014)** qui est 1/6041,64, **Nouani et al. (2011)** évalué à 1/3200 et reste supérieure à celui obtenu par **Adoui (2007)** estimé à 1/2579. Avec une telle force la quantité d'enzymes récupérés de 100 g de proventricules peut coaguler environ 702,22152 litres de lait.

2.5. Activité spécifique

L'activité spécifique (exprimée en UP/mg) est le rapport entre l'activité coagulante et le taux de protéines de cet extrait enzymatique.

L'activité spécifique de notre extrait est évaluée à 0.45 UP/mg, cette valeur est inférieure a celle du **Siar (2014)** qui est 0,92 UP/mg et de **Nouani et al.(2011)** qui est 1,85 UP/mg.

3. Caractérisation du fromage *Jben*

3.1. Rendement fromager

Le rendement est la quantité de fromage obtenu à partir d'une quantité indiquée de lait. C'est le paramètre le plus important du point de vue économique dans l'industrie laitière.

Le rendement obtenu par cet essai de fabrication est de 15.32% avec un poids de fromage correspond à 766g obtenues à partir du 5 litres du lait. Ce rendement est inférieure de celui obtenu par **Amimmour (2019)** en utilisant la pepsine de poulet (18.05 %).

3.2. Caractéristiques physico-chimiques du *Jben*

La composition physicochimique du *Jben* est illustrée dans le tableau 4.

Tableau 4. Caractéristiques physico-chimiques du *Jben*

Paramètres	Résultats
pH	6,2
Acidité titrable	1,21
Teneur en protéine(%)	30,17
Matière grasse(%)	25
E.S.T (%)	56,60
E.S.D (%)	31,6
Humidité (%)	43,39

3.2.1. pH

Le pH de fromage fabriqué est de 6.2, cette valeur été supérieure à celle obtenu par **Amimmour (2019)** 5,96 et celle obtenue par **Tabet et al. (2023)** qui est 5.21.

3.2.2. Acidité titrable

La valeur d'acidité titrable est de $1,21 \pm 0,42$ g /100 g cette valeur été inférieur à celle obtenue par **Amimmour (2019)** qui est $2,15 \pm 0,5$ g /100 g.

3.2.3. Teneur en protéine

La teneur en protéine de fromage traditionnel *Jben* est de 3,017% cette valeur est très élevé par rapport à la valeur motionné par **Tabet et al. (2023)** qui est 13,8%.

3.2.4. Extrait sec total et l'humidité

L'extrait sec total de fromage fabriqué est de 56.60%, ce résultat est supérieur à celui obtenu par **Tabet et al. (2023)** qui est 50,1% et à celui trouvé par **Amimmour (2019)** qui est mentionné 47.05%.

Jben fabriqué a été caractérisé par une teneur en eau de 43,40 % ; qui est inférieure à celle obtenue par **Amimmour (2019)** qui est 52.94%.

3.2.5. Matières grasses

Concernant la teneur en matière grasse déterminé dans *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet est de 25 %. Cette valeur est supérieure à celle trouvée par **Amimmour (2019)** qui est 9.61%.

3.2.6. Extrait sec dégraissé

La valeur d'extrait sec dégraissé est de 31,6% qui est inférieure à celle obtenue par **Amimmour (2019)** qui est 37.44%.

3.3. Profil sensoriel du fromage traditionnel *Jben*

Comme les variations des caractères physicochimiques de la matière première participent à la modification des caractéristiques intrinsèques du produit fini, nous nous sommes intéressés à l'effet de ces variations sur la qualité organoleptique du produit fini et comparaison entre les deux fromages.

Ainsi, afin d'apprécier la qualité organoleptique des fromages frais *Jben* à base de lait de vache l'un est fabriqué en utilisant la pepsine de poulet et le deuxième commercialisé produit avec la présure, nous avons effectué un test de dégustation par un jury composé de 40 dégustateurs pour décrire l'ensemble des caractères sensorielle du *Jben*.

➤ Aspect et texture

Les résultats de la description de l'aspect et la texture des deux échantillons de *Jben* fabriqués en utilisant respectivement la présure (A) et la pepsine de poulet (B) sont regroupés dans la figure 7 suivante.

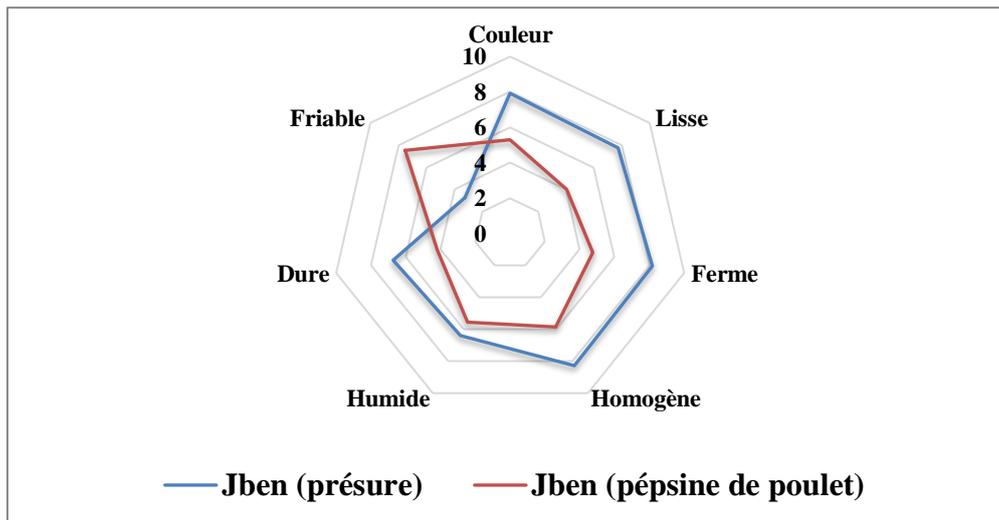


Figure 7. Description moyenne de l'aspect et la texture des deux fromages *Jben*(A) et (B)

Il ressort de la figure suivante que la croûte du *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet a été jugée moyennement lisse, homogène et de couleur blanche crème. La couleur du *Jben* (présure) tend vers la couleur jaune pâle. Concernant la texture, *Jben* fabriqué en utilisant la présure a été jugé plus ferme et plus dure et faiblement friable contrairement au *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet. Quant à l'humidité, *Jben* (présure) présente un taux d'humidité supérieur au *Jben* (pepsine de poulet)

➤ Odeurs et arômes

Les résultats de la description de différentes odeurs (lactique, levure, animal, l'herbe) identifiées dans les deux échantillons du *Jben* sont montées dans la figure 8 ci-dessous

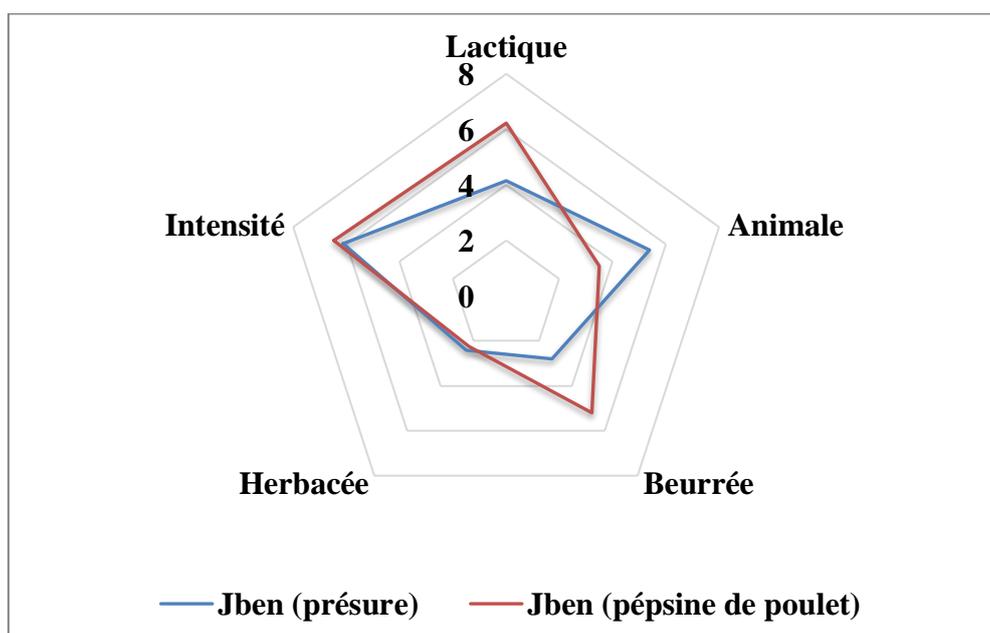


Figure 8. Description des odeurs et des arômes identifiées dans les deux échantillons du *Jben*

D'après la figure 08, les deux types du *Jben* présentent une diversité d'odeurs et d'arômes. L'odeur lactique et beurrée a été perçue de manière intense dans *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet contrairement au *Jben* commercialisé qui a été caractérisé par la dominance de l'odeur animale. La présence d'odeur d'herbe a été détectée dans les deux échantillons de fromage et avec une intensité similaire et faible (une note moyenne 2,5/9).

Le travail réalisé par **Carpino et al. (2004)** a démontré que le fromage dérivé du lait issu des animaux qui se nourrissent au pâturage a été plus jaune et présente une intensité plus faible d'odeurs de beurre et de fumé que le fromage des animaux confinés. De plus, le pâturage induit une intensité plus faible des saveurs amères et une intensité plus élevée des saveurs épicées par rapport au fromage dérivé du lait issu des animaux confinés. En ce qui concerne la texture, les fromages dérivés du lait issu d'animaux qui se nourrissent au pâturage avaient des intensités plus élevées de friabilité et de texture granuleuse

Martin et al. (2005) ont rapporté que le type de pâturage donné aux animaux en lactation induit une modification de la composition en acides gras du lait, ce qui affecte la texture du fromage. Une part importante de pâturage dans la ration alimentaire des animaux laitiers conduit à des odeurs plus « animales » et moins « amères » et moins « aigres ». L'évaluation sensorielle a montré que certaines différences entre les deux échantillons de fromages proviennent probablement de la différence dans la composition du lait utilisés durant la fabrication du fromage. **Esposito et al. (2014)** ont rapporté que les caractéristiques sensorielles du fromage sont influencées par plusieurs facteurs liés à la fois à la technologie fromagère (traitement du lait, conditions de coagulation) et aux caractéristiques chimiques et microbiologiques du lait cru.

➤ **Gout**

Les différentes saveurs perçues dans les deux échantillons du *Jben* sont illustrés dans la figure suivante:

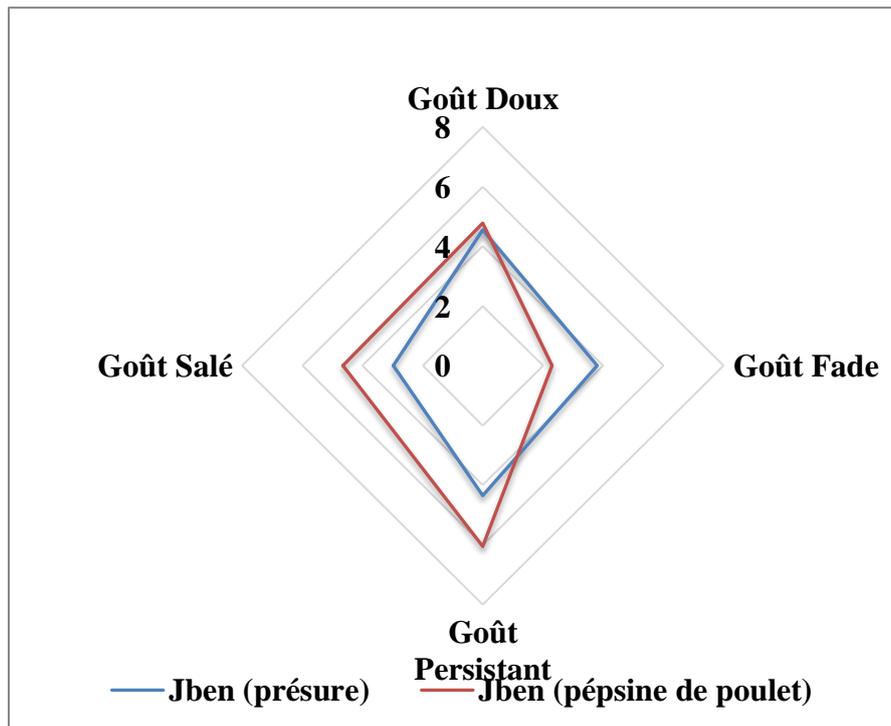


Figure 9. Description des différentes saveurs identifiées dans les deux échantillons du *Jben*

Par la description finale du *Jben* en bouche, nous pouvons constater que *Jben* (pepsine de poulet) se caractérise par un goût intense et persistant en comparaison avec *Jben* (présure). Le caractère Fade a été plus important dans le *Jben* (présure). Une saveur douce moyenne a été appréciée dans les deux échantillons de *Jben*.

➤ **Consistance de la pâte**

Les différentes caractéristiques de la pâte des deux échantillons du *Jben* perçues par les dégustateurs sont illustrées dans la figure suivante:

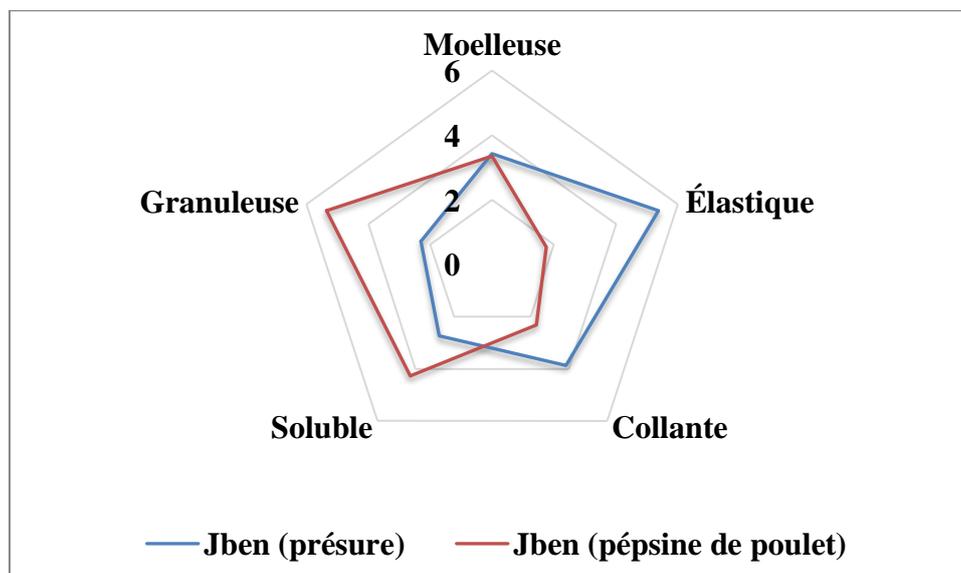


Figure 10. Description de la consistance de la pate des deux échantillons du *Jben*

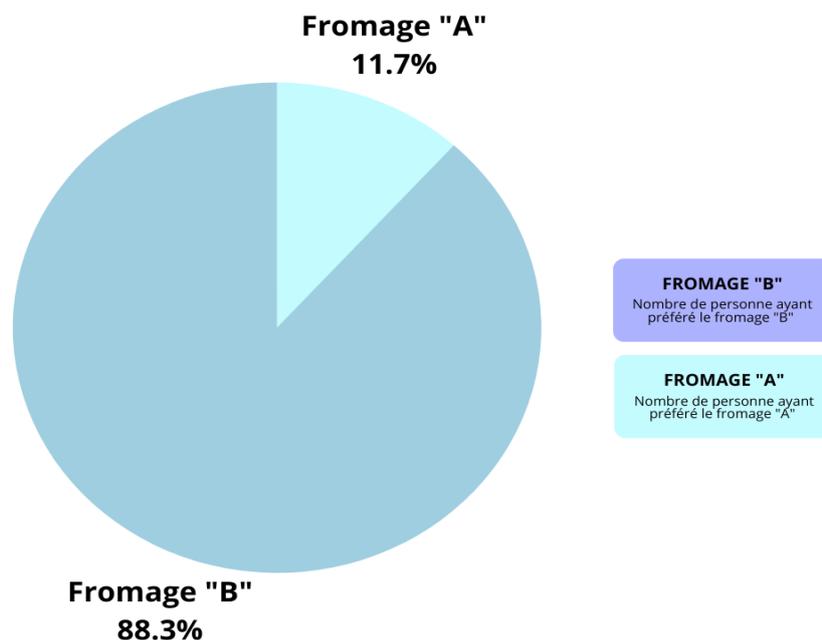
La pate des deux fromages est faiblement moelleuse (une note de 3,5/9) ; le fromage commercialisé est fortement élastique et collant contrairement au *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet. Le caractère élastique et cohésif du fromage peut être attribué à des différences d'activité du plasmine et de composition en acides gras du lait (**Bugaud et al., 2002**).

Le caractère granuleux de la pate est assez important dans *Jben* fabriqué en utilisant la pepsine de poulet en comparaison avec celui du *Jben* commercialisé. La solubilité de la pate présente des valeurs faibles dans les deux échantillons du *Jben*.

4.2. Résultat du test de préférence

Le test de préférence a permis de déterminer la mesure dans laquelle le consommateur accepte un produit

D'après ce test, nous avons demandé aux 60 dégustateurs de choisir l'échantillon de fromage préféré, les résultats sont présentés dans la figure suivante :

**Figure 11.** Résultat du test de préférence

D'après la figure 11, nous remarquons que le fromage préféré est *Jben* obtenu en utilisant la pepsine de poulet comme agent coagulant. Ceci est basé sur la réponse du dégustateur sur le questionnaire établi. D'autre part, 11,7% des dégustateurs ont choisis *Jben*

fabriqué en utilisant la présure microbienne. Nous pouvons conclure que *Jben* que nous avons fabriqué est acceptable de point de vue caractères sensoriels.

Conclusion

générale

Conclusion générale

Notre étude a pour objectif la contribution à la recherche des succédanés de présure utilisables dans l'industrie fromagère.

Nous avons étudié la possibilité de substituer la présure par l'extrait clarifié de la pepsine de poulet (d'origine animale) dans la fabrication du fromage frais Type *Jben*

Notre démarche comporte deux volets: l'extraction de la pepsine de poulet et sa caractérisation de point de vue activité et force coagulante ainsi que son application dans la fabrication d'un fromage traditionnel type *Jben* et sa caractérisation physicochimique et organoleptique.

L'extrait enzymatique de pepsine de poulet présente les caractéristiques suivantes : Une activité coagulante de 5.5184 U.P., une force coagulante de 1/2962.96 et une teneur en protéine de 12,2 mg/ml. Le rendement d'extraction a été estimé à 79%.

Le fromage fabriqué en utilisant la pepsine de poulet possède un pH de $6.2 \pm 0,4$; un extrait sec total qui est de $56,6\% \pm 0,03$ et une teneur en protéine correspond à 20 mg/ml avec un rendement fromagé de l'ordre de 15,32%.

Concernant les analyses sensorielles, le fromage obtenu présente des caractéristiques organoleptiques différentes de celles du fromage commercial, avec des distinctions concernant la texture la couleur.

Pour conclure, nous pouvons dire que les résultats obtenus semblent intéressants d'autant qu'ils montrent la possibilité d'obtention d'un extrait enzymatique capable de remplacer la présure dans l'industrie fromagère. Cet extrait est obtenu à partir de matière assez disponible. De point de vue organoleptique, nous pouvons dire que *Jben* à base de lait de vache fabriqué en utilisant la pepsine est acceptable pour la majorité des dégustateurs

Cependant il est intéressant de poursuivre ce travail en se focalisant sur :

- Etude de la possibilité d'utilisation d'extrait de la pepsine dans la fabrication de différents types de fromages ;
- L'étude de l'utilisation de la pepsine de poulet sur la qualité des fromages obtenus ;
- L'étude des paramètres influençant l'activité de l'enzyme afin d'améliorer la qualité et le rendement ;
- Détermination de la qualité hygiénique du fromage obtenu.

Références

Bibliographiques

- ✓ (ISO 2446/ IDF 266 :2008).

A

- ✓ **Adoui F., (2007).** Extraction d'enzyme coagulant le lait à partir de proventricules de poulet. Thèse de magister en Biochimie et technologies alimentaires, INATAA, Univ. Constantine p 67.
- ✓ **Adoui, F., Boudefa, M., Bouguemra, B., & Boughellout, H. (2022).** Formulation de préparations fromagères à tartiner à base de cheddar et d'emmental.
- ✓ **AFNOR. (1993).** Contrôle de la qualité des produits alimentaires. *lait et produits laitiers, analyses physicochimiques , 4e*, 581. Paris.
- ✓ **Aicha, B., Romaiassa, S., & Nouria, B. (2021).** *ETUDE COMPARATIVE DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU LAIT CRU CHEZ LES TROIS ESPECES (BOVINS, OVINS, ET CAPRIN)* (Doctoral dissertation, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie).
- ✓ **Akishev, Z., Kiribayeva, A., Mussakhmetov, A., Baltin, K., Ramankulov, Y., & Khassenov, B. (2021).** Constitutive expression of Camelus bactrianus prochymosin B in Pichia pastoris. *Heliyon*, 7(5), e07137.
- ✓ **Alais, C., & Novak, G. (1968).** Étude d'un enzyme coagulant microbien dérivé de Endothia parasitica. I.-Propriétés biochimiques de l'enzyme coagulant Pfizer et propriétés rhéologiques des caillés formés dans le lait. *Le lait*, 48(477), 393-418.
- ✓ **Alpha, O. S., Mamadou, L. S., Lonseny, T., Sidimé, Y., Mamadou, S., Alpha, O. D., et al. (2017).** Utilisation de la pepsine de chinchard (trachurus mediterraneus) dans la fabrication d'un fromage frais. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie* (044), 64 - 69.
- ✓ **Andrén, A. (2021).** Milk-Clotting Enzymes. *Agents of Change: Enzymes in Milk and Dairy Products*, 349-362.

B

- ✓ **Bensmail, S., Nouar, H., Bouchenak, K., & Fazouane-Naimi, F. (2013).** ETUDE DE L'APTITUDE FROMAGERE D'UN EXTRAIT ENZYMATIQUE COAGULANT PRODUIT PAR ASPERGILLUS NIGER FFB1. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environ*, 7(1), 98-119.
- ✓ **Benyahia-Krid, F. A., Aissaoui-Zitoun, O., Boughellout, H., Adoui, F., Harkati, A., Siar, E. H., ... & Zidoune, M. N. E. (2016).** Chicken pepsin and

- rennet gels: Internal bonds, rheology and microstructure. *J. Vet. Sci. Technol*, 7, 375.
- ✓ **Benyahia-Krid, F. A., Attia, H., & Zidoune, M. N. (2010).** Comparative study of milk coagulation with chicken pepsin or rennet: interactions and microstructure. *Journal of Agriculture, Biotechnology and Ecology*, 3(1), 75-86.
 - ✓ **Bezie, A., & Regasa, H. (2019).** The role of starter culture and enzymes/rennet for fermented dairy products manufacture-A Review. *Nutr Food Sci*, 9, 21-27.
 - ✓ **Bohak, Z. (1970).** [22] Chicken pepsinogen and chicken pepsin. In *Methods in Enzymology* (Vol. 19, pp. 347-358). Academic Press.
 - ✓ **Bougherra, F., Dilmi-Bouras, A., Balti, R., Przybylski, R., Adoui, F., Elhameur, H., ... & Naima, N. (2017).** Antibacterial activity of new peptide from bovine casein hydrolyzed by a serine metalloprotease of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* BR16. *Journal of Functional Foods*, 32, 112-122.
 - ✓ **Bouras, B., & Aïssaoui-Zitoun, O. (2022).** Optimization of flocculation and clotting time of camel milk with camel and goat rennets, and chicken pepsin in comparison with cow milk using response surface method (RSM). *Emirates Journal of Food and Agriculture*.
 - ✓ **Britten, M., & Giroux, H. J. (2022).** Rennet coagulation of heated milk: A review. *International Dairy Journal*, 124, 105179.
 - ✓ **Brulé, G., Lenoir, J., & Remeuf, F. (1997).** La micelle de caséine et la coagulation du lait. *Dans le fromage: de la science à d'assurance qualité. ECRA et gillis JC (Ed), lavoisier TES. DOC, Paris*, 89.
 - ✓ **Bugaud, C., Buchin, S., Hauwuy, A., & Coulon, J. B. J. (2002).** Texture et flaveur du fromage selon la nature du pâturage: cas du fromage d'Abondance. *Productions animales*, 15(1), 31-36.

C

- ✓ **Carpino, S., Mallia, S., La Terra, S., Melilli, C., Licitra, G., Acree, T. E., ... & Van Soest, P. J. (2004).** Composition and aroma compounds of Ragusano cheese: native pasture and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 816-830.
- ✓ **Codex Alimentarius. (1999).** *NORME GÉNÉRALE POUR L'UTILISATION DE TERMES DE LAITERIE (206)*.

D

Références bibliographiques

- ✓ **Da Silva, R. R., Duffeck, C. E., Boscolo, M., da Silva, R., & Gomes, E. (2019).** Milk clotting and storage-tolerant peptidase from *Aureobasidium leucospermi* LB86. *Process Biochemistry*, 85, 206-212.
- ✓ **Daffri, A., Zerizer, H., Benlounissi, A., & Chebel, B. (2020).** Extraction of ficin from two varieties of *Ficus carica* fig tree latex and comparative enzymatic characterization. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 9(1), 47-50.
- ✓ **Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique Science*, 11(6), 1-13.
- ✓ **Derouiche, M., & Zidoune, M. (2015).** Caractérisation d'un fromage traditionnel, le Michouna de la région de Tébessa, Algérie. *Livestock Research for Rural Development*, 27(11).

F

- ✓ **Ferlay, A., Graulet, B., & Chilliard, Y. (2013).** Maîtrise par l'alimentation des teneurs en acides gras et en composés vitaminiques du lait de vache. *INRAE Productions Animales*, 26(2), 177-192.

G

- ✓ **Génin, G. (1968).** Les succédanés de la présure. *Le lait*, 48(471-472), 53-59.
- ✓ **Ghazi, K., & Niar, A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 29(4), 193-196.
- ✓ **GILLIS, J. C., AYERBE, A., Lincet, D., Moineau, S., Roy, D., & Turgeon, S. (2018).** *Le fromage*. Technique et Documentation
- ✓ **Guetouache, M., & Guessas, B. (2015).** Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cows milk. *African Journal of Microbiology Research*, 9(2), 71-77.

I

- ✓ **Ilboudo, A. J., Savadogo, A., Seydi, M. G., & Traore, A. S. (2012).** Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(6), 6075-6087.

J

Références bibliographiques

- ✓ **J.O.R.A. (2012).** obligatoire la méthode de la détermination de la teneur en matière sèche dans le lait, la crème et le lait concentré non sucré. *JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE (N° 54)*.
- ✓ **Jaros, D., & Rohm, H. (2017).** Rennets: applied aspects. In *Cheese* (pp. 53-67). Academic Press.

K

- ✓ **Kailasapathy, K. (2015).** Chemical composition, physical, and functional properties of milk and milk ingredients. *Dairy processing and quality assurance*, 77-105.
- ✓ **Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., & Farag, M. A. (2019).** Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 343-360.
- ✓ **Kourkouta, L., Frantzana, A., Koukourikos, K., Iliadis, C., Papathanasiou, V., & Tsaloglidou, A. (2021).** Milk Nutritional Composition and Its Role in Human Health. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* , 10-15.

L

- ✓ **Lam, E., Otter, D., Huppertz, T., Zhou, P., & Hemar, Y. (2019).** Effect of transglutaminase and acidification temperature on the gelation of reconstituted skim milk. *International Dairy Journal*, 92, 59-68.
- ✓ **Lapointe-Vignola, C. (2002).** *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Presses inter Polytechnique.
- ✓ **Larbier, M., & Leclercq, B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. *Nutrition et alimentation des volailles*, 1-358.
- ✓ **Law, B. A., & Tamime, A. Y. (Eds.). (2011).** *Technology of cheesemaking*. John Wiley & Sons.
- ✓ **Leksir, C., & Chemmam, M. (2015).** Contribution on the characterization of klila, a traditional cheese in east of Algéria. *Livestock Research for Rural Development*, 27(5).
- ✓ **Libouga, D., Vercaigne-Marko, D., Djangal, S., Choukambou, I., Ebangi, A., Ombionyo, M., et al. (2006).** Mise en évidence d'un agent coagulant utilisable en

Références bibliographiques

fromagerie dans les fruits de *Balanites aegyptiaca*. *TROPICULTURA*, 24 (4), 229-238.

- ✓ **Licitra, G. (2010).** Les fromages traditionnels dans le monde: bannis des affaires. *Dairy Science & Technology*, 90, 357-374.

M

- ✓ **Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G. (2000).** *Initiation à la technologie fromagère*. Editions Tec & Doc
- ✓ **Martin, B., Verdier-Metz, I., Buchin, S., Hurtaud, C., & Coulon, J. B. (2005).** How do the nature of forages and pasture diversity influence the sensory quality of dairy livestock products?. *Animal Science*, 81(2), 205-212.
- ✓ **MEDJOUDJ, H., ZIDOUNE, M. N., & HAYALOGLU, A. A. (2016).** Proteolysis and volatile profile in the Algerian traditional *Bouhezza* cheese made using raw goat's milk. *International Journal of Food Properties*, 20(8), 1876-1893.
- ✓ **Meribai, A., Jenidi, R., Hammouche, Y., & Bensoltane, A. (2017).** Physico-chemical characterization and microbiological quality evaluation of Klila, an artisanal hard dried cheese from Algerian's arid areas: preliminary study. *J New Sci Agric Biotech*, 40, 2169-2174.
- ✓ **Mostafa, E. S. E., Saad, M. M., Selim, M. H., & El-Hadedy, D. E. (2013).** Isolation of clt Genes Encoding milk clotting enzyme and characterization of milk clotting enzyme from new isolate *Streptomyces pseudogriseolus* NRC-15. *Am. J. Biotechnol. Mol. Sci*, 3(1), 8-23.

N

- ✓ **Narayana, Nayana & Palliyaguru, Oshada. (2022).** Combined Effect of Milk Source and Acidification Method of Cheese Milk on Properties of Mozzarella Cheese. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 10. 1603-1610. 10.24925/turjaf.v10i8.1603-1610.4689.
- ✓ **Nicosia, F. D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., & Randazzo, C. L. (2022).** Plant milk-clotting enzymes for cheesemaking. *Foods*, 11(6), 871.
- ✓ **Nouani, A., Daco, E., Morsli, A., Belhmich, N., Belbraout, S., Bellal, M., et al. (2009).** characterization of the purified coagulant extract derived from artichoke

flozers (*cynara scolynus*) 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* 7, 20-29.

P

- ✓ **Pereira, P. C. (2014).** Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), 619-627.
- ✓ **Petrova, S. Y., Khlgtian, S. V., Emelyanova, O. Y., Pishulina, L. A., & Berzhets, V. M. (2022).** Structure and biological functions of milk caseins. *Russian Open Medical Journal*, 11(2), 209.
- ✓ **Phadungath, C. (2005).** Casein micelle structure: a concise review. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27(1), 201-212.

R

- ✓ **Romain, J., Thomas, C., Gilles, G., & Gérard, B. (2017).** *Initiation à la technologie fromagère.* (B. Peyrot, Éd.) France: La voisier.
- ✓ **Romain, J., Thomas, c., Mahaut, M., Schuck, P., & Brulé, G. (2008).** *Les produits laitiers* (éd. Tec and Doc). (L. Voisier, Éd.)
- ✓ **Runthala, A., Mbye, M., Ayyash, M., Xu, Y., & Kamal-Eldin, A. (2023).** Caseins: versatility of their micellar organization in relation to the functional and nutritional properties of milk. *Molecules*, 28(5), 2023.

S

- ✓ **Sandulescu, R. (2020).** *Chimie Analytique Quantitative: ANALYSE VOLUMÉTRIQUE ET GRAVIMÉTRIQUE* . (A. C. Department, Éd., Adela, Luminita, & Andreea, Trads.) PISOPRINT.
- ✓ **Saraswathy, N., Ganesh, S., Arpi, J., & Meena, C. (2013).** PRODUCTION AND OPTIMIZATION OF PROTEASE FROM BACILLUS LICHENIFORMIS NCIM 2044. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*.
- ✓ **Senoussi, A., Zidoune, M. N., Carpino, S., & Aissaoui Zitoun ép Hamama, O. (2022).** *Etude du lien entre le terroir et les caractéristiques du fromage traditionnel Algérien Bouhezza* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

Références bibliographiques

- ✓ **Siar, E. H., Zaak, H., Kornecki, J. F., Zidoune, M. N., Barbosa, O., & Fernandez-Lafuente, R. (2017).** Stabilization of ficin extract by immobilization on glyoxyl agarose. Preliminary characterization of the biocatalyst performance in hydrolysis of proteins. *Process Biochemistry*, 58, 98-104.
- ✓ **Singh, R., Mittal, A., Kumar, M., & Mehta, P. K. (2016).** Microbial proteases in commercial applications. *J Pharm Chem Biol Sci*, 4(3), 365-374.
- ✓ **Smith, B. J. (2002).** Chemical Cleavage of Proteins at Cysteiny-X Peptide Bonds. *The Protein Protocols Handbook*, 503-506.
- ✓ **Sumantha, A., Sandhya, C., Szakacs, G., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2005).** Production and partial purification of a neutral metalloprotease by fungal mixed substrate fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 43(4), 313-319.

T

- ✓ **Tabet, R., Mechai, A., Branes, Z., & Chenchouni, H. (2023).** Effect of vegetable coagulant and lamb rennet on physicochemical composition, fatty acid profile and lipid quality indices of a traditional fresh cheese (Jben). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 102609.
- ✓ **Troch, T., Lefébure, É., Baeten, V., Colinet, F., Gengler, N., & Sindic, M. (2017).** Cow milk coagulation: process description, variation factors and evaluation methodologies. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21.

Z

- ✓ **Zidoune, M. N., & Adoui, F. (2017).** Extraction d'enzyme coagulant de lait à partir de proventricules de poulet.
- ✓ **Zikiou, A. (2013).** La coagulation du lait par l'extrait des fleurs de cardon.
- ✓ **Zitoun, O. A., Benatallah, L., Ghennam, E., & Zidoune, M. N. (2011).** Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(2 part 1), 96-100.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : préparation de la solution de macération du proventricule hachée

Pour préparer une solution de 300ml contienne 3% de NaCl et 0,7% de NaHCO₃ ; il faut effectuer les calcules suivantes :

❖ La masse à prélever de NaCl :

$$m \text{ NaCl} = 3 * 300 / 100$$

$$m \text{ NaCl} = 9\text{g}$$

❖ La masse à prélever de NaHCO₃ :

$$m \text{ NaCl} = 0,7 * 300 / 100$$

$$m \text{ NaCl} = 2,1\text{g}$$

Annexe 02 : préparation de les solutions d'HCl et NaOH pour l'ajustement de PH du pepsine de poulet

❖ Pour préparer une solution de HCl 3N; il faut effectuer les calcules suivantes :

-Calculer la concertation de flacon selon les données motionnées sur celle-ci :

$$\text{La densité} = 1,19 \text{ g/ml}$$

$$\text{La purté} = 37\%$$

-On cherche la masse pure

$$\text{La masse pure} = \text{la densité} * \text{la purté}$$

$$\text{La masse pure} = 1,19 * 0,37$$

$$\text{La masse pure} = 440,3\text{g}$$

-On cherche la concentration de la solution du HCL

$$C = n / v \quad \text{où} \quad n = m/M$$

$$\text{Et au temps que : } M = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$V = 1\text{l}$$

$$M = 440,3 \text{ g}$$

$$\text{Donc : } C = 12,06 \text{ mol/l}$$

-On cherche le volume à prélever pour préparer 100 ml d'une solution de HCl de 3N

$$C1 V1 = C2 V2$$

Annexes

$$V_1 = C_2 \times V_2 / C_1$$

$$V_1 = 100 \times 3 / 12,06$$

$$V_1 = 24,87 \text{ ml}$$

Donc on prend 24,87 ml de HCl et on ajuste jusqu'à 100ml avec l'eau distillé.

❖ Pour préparer une solution de NaOH 3N; il faut effectuer les calculs suivantes :

On cherche la masse à prélever pour préparer 100 ml de NaOH avec une concentration de 3N

$$n = C \times V = m/M$$

$$m = C \times V \times M$$

$$m = 3 \times 0,1 \times 40$$

$$m = 12 \text{ g}$$

Peser 12 g de NaOH et ajouter l'eau distillé jusqu'à le trait de jauge d'une fiole de 100 ml.

Annexe 03 : protocole de préparation de réactif Bradford

-Bleu brillant de Coomassie (BBC) G250100 mg.

-Ethanol (Sigma-Aldrich) à 95%50 mL.

Après une agitation pendant 2 heures à l'abri de la lumière on ajoute :

-Acide ortho phosphorique à 85%100 mL.

-Eau distillée.....1000 mL.

Annexe 04 : protocole de préparation des dilutions de la solution enzymatique dans la partie de dosage des protéines

- 1/10 = 1ml pepsine + 9ml H₂O
- 1/50 = 2ml de la solution 1/10 + 8ml H₂O
- 1/100 = 1ml de la solution 1/10 + 9ml H₂O
-

Annexe 05 : protocole de préparation des dilutions de BSA dans la partie de dosage des protéines

❖ Préparer une série de 5 tubes :

-Tube 01 : 100µl BSA + 900µl de l'eau distillé + 1 ml de réactif Bradford ;

-Tube 02 : 80µl BSA + 920µl de l'eau distillé + 1 ml de réactif Bradford ;

Annexes

-Tube 03 : 60 μ l BSA + 940 μ l de l'eau distillé + 1 ml de réactif Bradford ;

-Tube 04 : 40 μ l BSA + 960 μ l de l'eau distillé + 1 ml de réactif Bradford ;

-Tube 05 : 20 μ l BSA + 980 μ l de l'eau distillé + 1 ml de réactif Bradford.

Annexe 06 : préparation de la solution de NaOH pour déterminer l'acidité titrable du lait

On cherche la masse à prélever pour préparer 100 ml de NaOH avec une concentration de 0,1N :

$$m = C \times V \times M$$

$$m = 0,1 \times 0,1 \times 40$$

$$m = 0,4 \text{ g}$$

Annexe 07 : préparation de la solution de CaCl₂ pour déterminer l'activité coagulante du l'extrait enzymatique

On cherche la masse à prélever pour préparer 50 ml de CaCl₂ avec une concentration de 0,01N :

$$m = C \times V \times M$$

$$m = 0,01 \times 0,05 \times 110,99$$

$$m = 0,05 \text{ g}$$

Annexe 08 : protocole de préparation du substrat de berridge pour déterminer l'activité coagulante du l'extrait enzymatique

-Peser 6 g de lait en poudre écrémé et ajouter 50 ml de la solution de CaCl₂ de 0,01N.

Annexe 09 :

Bulletin d'analyse sensorielle

Nom / Prénom :

Date :.....

1. Examinez et gouttez chaque un des deux échantillons, puis donner une note de 1 à 9 selon l'intensité de chaque caractère. Si le caractère mentionné dans la fiche n'est pas détecté dans le produit, vous mettez 0.

L'ordre d'évaluation sensorielle de ces deux échantillons est le suivant :

1• Aspect et texture, 2• Odeur/Arôme, 3• Goût et 4 consistance de la pâte

	Descripteurs sensoriels	Fromage 1	Fromage 2
Aspect/ texture	Couleur		
	Lisse		
	Rugueux		
	Homogène		
	Dure		
	Ferme		
	Cassant		
Odeur/ Arôme	Odeur Animale		
	herbe		
	Odeur lactique		
	Odeur de levure		
	Intensité de l'odeur		
Goût	Amer		
	Fade		
	Doux		
	Acide		
	Persistant (durée de l'intensité faible-longue)		
Consistance de la pâte	Moelleuse		
	Elastique		
	Collante		
	Homogène		
	Dispersion dans la bouche		
	Soluble dans la bouche		

Après l'analyse des deux échantillons, quel est l'échantillon que vous préférez le plus ?

Fromage A



Fromage B



Annexe 10 : Résultats de l'analyse sensorielle

	Descripteurs sensoriels	<i>Jben</i> (présure)	<i>Jben</i> (pépsine de poulet)
Aspect/ Texture	Couleur	7,925 +- 0	5,3 +- 1,41
	Lisse	7,75 +- 0,71	4,025 +- 2,12
	Ferme	8,175 +- 2,12	4,75 +- 1,41
	Homogène	8,275 +- 2,83	5,85 +- 0
	Humide	6,4 +- 2,83	5,55 +- 0,71
	Dure	6,725 +- 3,54	4,175 +- 3,54
	Friable	3,25 +- 4,95	7,525 +- 2,12
Odeur/ Arome	Lactique	4,15 +- 1,06	6,225 +- 3,18
	Animale	5,3875 +- 2,47	3,5 +- 4,24
	Beurrée	2,8 +- 3,54	5,2 +- 3,54
	Herbacée	2,425 +- 4,24	2,25 +- 5,66
	Intensité	6,125 +- 0,71	6,475 +- 3,54

Annexes

Goût	Doux	4,55 +- 0	4,775 +- 0,71
	Fade	2,3 +- 1,41	3,8 +- 1,41
	Persistant	4,35 +- 0	6,05 +- 0,71
	Salé	2,975 +- 3,54	4,65 +- 0,71
Consistance de la pate	Moelleuse	3,425 +- 4,41	3,35 +- 2,12
	Élastique	5,375 +- 2,12	1,75 +- 1,41
	Collante	3,875 +- 1,41	2,325 +- 0,71
	Soluble	2,75 +- 2,83	4,275 +- 1,41
	Granuleuse	2,3 +- 4,24	5,35 +- 1,41

Annexe11: Déroulement de l'analyse sensorielle.

