

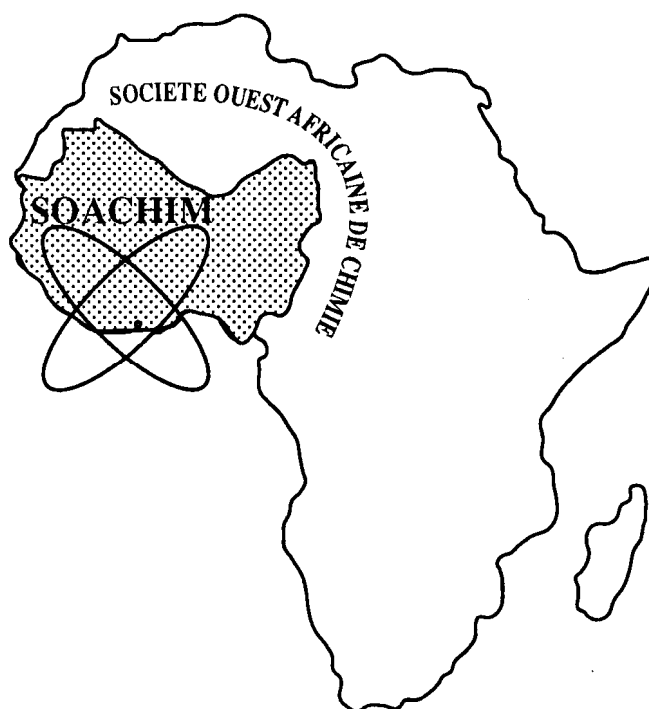
# *Utilisation de la pepsine de chinchard (trachurus mediterraneus) dans la fabrication d'un fromage frais*

**Alpha Oumar Sily Diallo, Mamadou Lamarana Souaré, Lonseny Traoré,  
Youssef Sidimé, Mamadou Sidibé, Alpha Ousmane Diallo,  
Aboubacar Sangaré**

***Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie***

*J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*(2017), 044 : 64 - 69

22<sup>ème</sup> Année, Décembre 2017



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2

Cote INIST (CNRS France) : <27680>

Site Web: <http://www.soachim.org>

## Utilisation de la pepsine de chinchard (*trachurus mediterraneus*) dans la fabrication d'un fromage frais

Alpha Oumar Sily Diallo<sup>1\*</sup>, Mamadou Lamarana Souaré<sup>2</sup>, Lonseny Traoré<sup>3</sup>, Youssouf Sidimé<sup>4</sup>, Mamadou Sidibé<sup>5</sup>, Alpha Ousmane Diallo<sup>6</sup>, Aboubacar Sangaré<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Service Laboratoire, Ateliers et Stations Autonomes, Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire (ISSMV) de Dalaba, BP. 09 Dalaba, République de Guinée,

<sup>2</sup>Département Technologie et Contrôle des Produits Alimentaires, Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire (ISSMV) de Dalaba, BP. 09 Dalaba République de Guinée,

<sup>3</sup>Département Génie Chimique, Institut Polytechnique, Université Gamal Abdel Nasser de Conakry (UGANC), BP... Conakry,

<sup>4</sup>Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire (ISSMV) de Dalaba, BP. 09 Dalaba, République de Guinée,

<sup>5</sup>Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire (ISSMV) de Dalaba, BP. 09 Dalaba, République de Guinée

<sup>6</sup>Institut Supérieur des Sciences et de Médecine Vétérinaire (ISSMV) de Dalaba, BP. 09 Dalaba, République de Guinée

<sup>7</sup>Département Génie Chimique, Institut Polytechnique, Université Gamal Abdel Nasser de Conakry (UGANC), BP1147 Conakry

(Reçu le 10/10/2017 – Accepté après corrections le 05/01/ 2018)

**Résumé :** Au niveau actuel d'évolution de notre pays, les difficultés liées à la conservation du lait persistent. Ainsi donc, la recherche des moyens de transformation visant à prolonger la durée de conservation et à faciliter le maintien des qualités gastronomique et nutritionnelle est une nécessité. Des études sur la diversification des sous-produits laitiers et des sources d'obtention de protéases utilisées dans l'industrie fromagère sont absolument indispensables. L'objectif de ce travail a été d'utiliser la pepsine de chinchard pour la fabrication d'un fromage frais. Un total de 50 poissons vivants a été prélevé au niveau des débarcadères juste à l'arrivée des piroguiers. L'éviscération a permis d'obtenir 262,4g de viscères. L'extraction de la pepsine a été faite par macération dans une saumure de NaCl. Après agitation magnétique et centrifugation, un filtrat a été obtenu. Une quantité de 376 ml de pepsine de Chinchard (*Trachurus mediterraneus*) avec un taux de rendement fromager de 28,19% a permis d'obtenir un fromage frais avec 15,91% de protéines et des qualités organoleptique appréciables.

**Mots clés:** Pepsine, Chinchard, Fabrication, Fromage frais

## Use of chinchard pepsin (*trachurus mediterraneus*) in the manufacture of a fresh cheese

**Abstract:** At the current level of evolution of our country, the difficulties related to the conservation of milk persist. Thus, the search for means of transformation to extend the shelf life and facilitate the maintenance of gastronomic and nutritional qualities is a necessity. Studies on the diversification of dairy by products and sources of protease production used in the cheese industry are absolutely essential. The aim of this work was to use horse mackerel pepsin for the production of fresh cheese. A total of 50 live fish were collected at the landing stages just after the arrival of the boatmen. Evisceration yielded 262.4g of viscera. The extraction of pepsin was made by maceration in NaCl brine. After magnetic stirring and centrifugation, a filtrate was obtained. A quantity of 376 ml of horse mackerel pepsin (*Trachurus mediterraneus*) with a cheese yield of 28.19% yielded a fresh cheese with 15.91% protein and appreciable organoleptic qualities.

**Keywords:** Pepsin, Horse mackerel, Manufacturing, Fresh cheese

---

\* **Auteur de correspondance :** Dr Alpha Oumar Sily DIALLO, MC ; Email : [dialloaos@yahoo.fr](mailto:dialloaos@yahoo.fr) ;  
Tél. : (224) 622 65 31 16 ; BP 09 Dalaba, Guinée.

## 1. Introduction

Le fromage est l'un des principaux produits agroalimentaires au niveau mondial. La production mondiale de fromage s'est élevée à plus de 18 millions de tonnes en 2004. En 2011, la production européenne de fromages au lait de vache par les laiteries (y compris fromages frais, hors fondus) est estimée à 8,4 millions de tonnes, surtout des fromages à pâte pressée et des fromages frais. Si l'on tient compte de l'ensemble des types de laits, la production atteint 9 millions de tonnes. L'Allemagne est le premier pays producteur de fromages devant la France et l'Italie. Les plus grands producteurs mondiaux de fromage sont les États-Unis pour environ 30% du total<sup>[1,2]</sup>.

La fabrication de la plupart des fromages est basée sur la coagulation enzymatique du lait. La présure, extrait obtenu à partir de la caillette de veaux nourris au lait est l'agent coagulant le plus utilisé dans le monde en technologie fromagère. La production mondiale de fromage obtenu à partir de laits issus des diverses espèces a suivi une importante progression au cours des dernières décennies. Cet état de fait, provoqua à partir des années 80 un effort accru dans la recherche de nouvelles enzymes de substitution ayant, comme la chymosine et la présure, une forte activité coagulante et une activité protéolytique réduite. Une pepsine extraite de la muqueuse gastrique du poisson téléostéens possède un rapport activité coagulante (AC)/activité protéolytique (AP) satisfaisant d'une part et d'autre part, ses propriétés biochimiques sont compatibles avec une utilisation en industrie fromagère<sup>[3]</sup>.

La présure d'origine animale ne couvre qu'approximativement 30% de la production fromagère à l'échelle mondiale car la disponibilité des caillettes de veaux de lait devient limitée<sup>4</sup>. Ce manque a suscité la recherche de succédanés de présure de différentes origines animale, végétale ou microbienne. Parmi les enzymes de remplacement d'origine végétale, la cardosine extraite du cardon (*Cynara cardunculus*), la ficine, du latex du figuier (*Ficus caricas*), la papaïne, des feuilles du papayer (*Carica papaya*), la broméline, des tiges d'ananas (*Ananas comasus*) et la calotropine, du *Calotropis procera*<sup>[5-9]</sup>. Les enzymes extraites de ces nombreuses espèces coagulent le lait cependant, leur activité protéolytique est assez intense par rapport à leur activité coagulante comparativement à la présure<sup>[9-12]</sup>.

Aussi il faut noter que de multiples enzymes coagulantes d'origine bactérienne du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* et d'origine fongique issues des

préparations de *Mucor* sont utilisées comme substituts de présure notamment au Japon et aux USA<sup>[11,13,14]</sup>.

Les chercheurs ont trouvé que les viscères d'organismes marins constituent une source abondante de molécules à partir desquelles il est facile d'extraire des enzymes dont les propriétés et les utilisations potentielles en industrie restent à déterminer. En raison de l'abondance des Chinchard, il serait très important de trouver des initiatives pour la valorisation de leurs viscères.

En industrie laitière, le caractère fluctuant de l'approvisionnement en présure conduit à l'emploi de préparations enzymatiques d'origines diverses pouvant coaguler le lait de façon analogue à la présure<sup>[3,15]</sup>.

L'objectif de ce travail a été d'utiliser la pepsine de chinchard pour la fabrication d'un fromage frais ou fromage lactique.

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Échantillonnage

Un total de 50 poissons vivants a été prélevé au niveau des débarcadères à l'arrivée des pirogues, juste après le débarquement des caisses. Les échantillons ont été conditionnés dans une glacière pour le Laboratoire Central Vétérinaire de Diagnostic (LCVD) à Conakry.

Le lait en poudre semi-conditionné (Lp. Whole Milk Powder – Milk fat=26 % minimum, Net Weight 25 kg, Artgarvan Strabane Northern Ireland) a été utilisé comme matière première. Il a été prélevé 1,5 kg de poudre dont une partie a été utilisée pour les analyses physico-chimiques et le reste a été conservé pour la reconstitution et la fabrication du fromage frais.

### 2.2. Analyse physico-chimique

L'analyse de la matière première (lait en poudre) et du produit fini (fromage frais) a été effectuée. Les paramètres suivants ont été déterminés : taux de matière sèche, taux de protéines, taux de matière grasse, cendres totales, l'acidité titrable, et pH. Les normes FIL, méthode normalisée 2B : 1993, NF V18-117, AFNOR NF V O4-208, octobre 1989 et Méthode N°A19 du bulletin ADMI ont été suivis<sup>[1,16-19]</sup>.

### 2.3. Extraction de la pepsine

La pepsine de chinchard utilisée a été extraite par la méthode adoptée par Maachou, D. (2011)<sup>[20]</sup>.

Les estomacs ont été vidés de leur contenu et débarrassés des tissus gras, puis ont été lavés à l'eau courante (figure 1 et 2). Ensuite, ils ont été lavés dans une saumure (NaCl à 5%) pour inhiber les micro-organismes se trouvant dans le produit. Un troisième lavage a été fait à l'eau distillée. Les estomacs ont été pesés sur une balance électronique (précision au 1/100<sup>ème</sup> de g). Ils ont été étalés puis mis dans des bocaux et soumis à une congélation à -18°C pendant 24 heures. Après décongélation à la température ambiante (25°C), les estomacs ont été broyés dans une solution d'acétate de sodium 1M à pH 5 (solution tampon). Le broyat a été par la suite soumis à la macération pendant 3 heures sur un agitateur magnétique. La solution obtenue a été filtrée à l'aide d'un papier filtre pour obtenir l'extrait enzymatique. Cet extrait a été placé dans des tubes puis centrifugés à 4 000 tours / minutes pendant 15 minutes pour séparer le culot du surnageant. Le zymogène obtenu a été activé à pH 2 pendant 30 minutes en pepsine à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 12%. Un ajustement du pH à 5 avec du NaOH a été nécessaire pour stabiliser l'enzyme. La pepsine obtenue a été conservée au réfrigérateur à +4°C (figure 3).

#### 2.4. Mesure de l'activité de l'extrait

L'extrait enzymatique obtenu a été dilué de telle sorte que la floculation soit visible à l'œil nu entre 7 à 8 minutes. L'unité d'activité coagulante (U.A.C.) ou unité présure (U.P.) est définie comme étant la quantité d'enzyme par millilitre d'extrait enzymatique qui provoque la floculation de 10 ml de substrat en 100 sec à 30°C. L'activité coagulante, donnée en U.A.C./ml, pour un même échantillon a été exprimée par la moyenne arithmétique de quatre essais (1) :

$$U.A.C. /ml = \frac{100 \times V}{10 \times T \times V'} \quad (1)$$

L'activité enzymatique de l'extrait brut obtenu a été évaluée selon la méthode de SOXHLET (1977). La force coagulante d'un extrait enzymatique ou d'une enzyme coagulante représente le volume de lait coagulé par unité de l'extrait enzymatique (2) :

$$F = \frac{2400 \times V}{T \times V'} \quad (2)$$

Où :

F : force de l'enzyme

V : volume du lait ajusté

v' : volume de la solution enzymatique

T : temps de coagulation du lait (en secondes)

2400 = 40min × 60sec

#### 2.5. Coagulation du lait

La transformation du lait en poudre en fromage frais a été réalisée selon la procédure suivante: une reconstitution à 12% a été effectuée (30 g de lait en poudre avec une teneur initiale en eau de 88% ont été dissous dans 220 ml d'eau distillée). Cette solution a été homogénéisée par agitation magnétique. Le lait reconstitué obtenu a été conservé à 4°C pendant 24 heures. Au lait reconstitué, il a été ajouté 0,29 ml de pepsine de chinchard en tenant compte de sa force coagulante 1/856. La solution obtenue a été soumise à l'incubation pendant 16 heures à 42°C. Un tissu, blanc et souple, a été utilisé pour filtrer progressivement le lactosérum conduisant à un durcissement du gel obtenu qui est le fromage frais (figure 4) <sup>[21,22]</sup>.

#### 2.6. Rendement fromager

Un erlenmeyer vide de 250 ml a été pesé sur une balance analytique pour obtenir P<sub>0</sub>; puis, l'échantillon (lactosérum + coagulum) contenu dans l'erlenmeyer de même capacité pour trouver P<sub>e</sub> et le poids du lait a été calculé par la formule suivante (3) :

$$P_L = P_e - P_o \quad (3)$$

Où :

P<sub>L</sub> = poids du lait (g) ;

P<sub>e</sub> = poids de l'échantillon (g) ;

P<sub>o</sub> = poids vide de l'Erlenmeyer (g)

Le poids du coagulum égoutté (P<sub>c</sub>) a été déterminé et le rendement calculé par la formule suivante (4) :

$$R = \frac{P_c}{P_L} \times 100 \quad (4)$$

Où :

P<sub>c</sub> = poids du coagulum.

P<sub>L</sub> = poids du lait

Analyses statistiques : l'analyse statistique a été effectuée sur la base des données présentées dans les tableaux. Le logiciel Microsoft Excel 2010 a été utilisé pour calculer les écarts-types.

### 3. Résultats et Discussion

A partir des poissons sélectionnés, 242,6 g de viscères ont été obtenus. Il a été apprécié les propriétés physico-chimiques de la matière première (tableau I). L'activité (force coagulante) de notre extrait a été mesurée et a permis d'évaluer l'aptitude à coaguler le lait par notre pepsine extraite de la muqueuse gastrique de *Trachurus mediterraneus*. Les procédés et analyses effectués ont permis d'obtenir les résultats suivants (tableau II-IV).

Pour le lait en poudre, un taux de matière sèche de  $97,13\% \pm 0,10$  a été obtenu, il est acceptable comparativement à  $96,799 \pm 0,04\%$  recommandé par AFNOR NF V04-208. L'humidité  $2,86\% \pm 0,10$  obtenue était dans l'intervalle normal de 2 à 4%. Cela dénote un bon conditionnement et un bon stockage de la poudre de lait, mais aussi une méthode de séchage efficace. Le taux de protéine de la poudre de lait qui a été obtenu est de  $30,57\% \pm 0,43$ , a été de qualité acceptable. Cependant, il était supérieur à  $25,60\%$  norme AFNOR NF V04-402 recommandée mais se rapprocherait de celui trouvé par Alais, C. (1984)<sup>[23]</sup>, qui a été de  $32,52\%$ . Pour la matière grasse, le taux de 29% trouvé était dans les limites 26 à 40% indiqué par Alais, C. (1984)<sup>[23]</sup> pour les laits en poudre de bonne qualité. Le taux de cendres totales trouvé se situerait dans une fourchette plus ou moins acceptable. Cela corrobore avec l'étude faite par Delacroix, A. et coll. (1994)<sup>[24]</sup> qui ont trouvé une teneur de 6%. De même, le pH 6,6 à 6,8 trouvé était dans l'intervalle indiqué par Veisseyre, R. (1975)<sup>[25]</sup> pour le bon lait. Avec la matière sèche, le taux trouvé était de  $22,47\%$  donc supérieur à  $14,35\%$ <sup>[1,1,20,26]</sup>. Une telle différence pourrait être due d'une part à la qualité nutritionnelle de la poudre de lait, d'autre part à l'effet d'atomisation lors du séchage. Le taux de matière grasse trouvé ( $29,24\% \pm 0,79$ ) était élevé par rapport au taux minimum  $26,621\%$  fixé par ISO3889-2006. Ces résultats prouvent que notre matière première était de qualité acceptable.

Pour le lait reconstitué, l'acidité titrable  $16,2$  trouvée a été bonne, le taux de cendres totales

trouvée a été de  $5,83\%$  tandis que le pH trouvé  $6,61$  était normal, cela dénote une certaine stabilité de la microflore normale du lait en poudre utilisé.

Un total de 376 ml d'extrait enzymatique a été obtenu à partir de 262,4g de viscères, ce qui a donné un rendement égal à  $1/856,575$ , valeur relativement acceptable. Cette force coagulante  $1/856,575$  est faible comparativement à celle trouvée par Maachou, D. (2004)<sup>[20]</sup> sur le poisson (limon)  $1/1200$ , mais supérieure à celle trouvée par Nouani, A. et coll. (2011)<sup>[27]</sup> sur le poisson (lotte)  $1/500$ . Cette différence s'expliquerait par la variété d'espèces utilisées et la non-utilisation de matériel adéquat comme le lyophilisateur et le filtre à gaz. Il faut aussi rappeler ici que pour certaines pratiques, ce sont des viscères fermentés qui sont utilisés pour augmenter la force coagulante<sup>[28]</sup>.

Le taux de protéines du fromage frais obtenu n'est pas éloigné des résultats qui ont rapporté par d'autres auteurs, des études ont trouvé une teneur proche de  $19,2\%$ <sup>[11, 17]</sup>. Avec les cendres totales, un taux égal à  $0,84\%$  avait été trouvé par Queindec, N. B. (1990)<sup>[29]</sup>. Cette différence pourrait être due à une diminution de la matière sèche du lait qui se répercuterait sur les autres constituants pendant le traitement thermique et pendant la reconstitution. Des études faites par Delacroix-Buchet, A. et coll. (1994)<sup>[24]</sup> ont montré des résultats compris entre  $4,6$  et  $5,4$  pour le pH et de  $22$  à  $57^{\circ}\text{D}$  pour l'acidité titrable. Ce qui suppose que le produit fini avait subi une fermentation.

En définitive le rendement fromager  $28,19\%$  trouvé a été bon car il se situe dans l'intervalle de  $22$  à  $30\%$ <sup>[16]</sup> et prouve que la pepsine de chinchard obtenue possédait un rapport activité coagulante (AC) / activité protéolytique (AP) satisfaisant.

Dans l'ensemble, les paramètres physico-chimiques de notre fromage ont été bons. Comparativement au taux de rendement fromager obtenu par Hurlaud, C. et coll. (1991)<sup>[30]</sup> qui ont trouvé  $16,5\%$  avec la pepsine bovine, notre pepsine de poisson avec  $28,19\%$  posséderait des propriétés biochimiques compatibles avec une utilisation à large échelle en industrie fromagère.

**Tableau I :** Récapitulation de l'analyse physico-chimique de la matière première (lait en poudre)

Paramètres	Résultats
Matière sèche (n=3)	$97,13\% \pm 0,10$
Humidité (n=3)	$2,86\% \pm 0,10$
Protéines (n=3)	$30,57\% \pm 0,43$
Matière grasse (n=3)	$29,24\% \pm 0,79$
Cendres totales (n=3)	$5,83\% \pm 0,01$
pH	6,61
Acidité titrable	$16,2^{\circ}\text{D}$

*n=nombre d'essais*



**Figure 1 : Eviscération du Chinchard**



**Figure 2 : Viscères**



**Figure 3 : Pepsine**



**Figure 4 : Fromage frais obtenu**

(Clichés : Alpha Ousmane DIALLO)

**Tableau II : Résultats de la détermination de la force coagulante**

Prise d'essai	Temps de floculation (seconde)	Force coagulante
10 ml de lait reconstitué	23	1043,47
	25	960
	31	774,19
	37	648,64
<b>Moyenne</b>	29	856,575

**Tableau III : Récapitulation de l'extraction et de la caractérisation de la pepsine de chinchard**

Paramètres	Résultats
Poids de viscères (242,6g)	376 ml
Force coagulante	1/856,575

**Tableau IV : Récapitulation de l'analyse physico-chimique du fromage frais obtenu et rendement fromager**

Paramètres	Résultats
Matière sèche (n=3)	29,55% ± 1,02
Humidité (n=3)	70,44% ± 1,02
Protéines (n=3)	15,91% ± 0,38
Matière grasse (n=3)	11,015% ± 0,17
Cendres totales (n=3)	0,64% ± 0,01
pH	5,1
Acidité titrable	25,2°D
Rendement fromager	28,19%

*n=nombre d'essais*

#### 4. Conclusion

La pepsine de Chinchard (*Trachurus mediterraneus*) possède des propriétés coagulantes sur le lait reconstitué. Cette étude préliminaire devrait être complétée par la recherche sur les activités au plan de l'hydrolyse des caséines, notamment de la fraction K. Néanmoins, les résultats ainsi obtenus (fromage frais) en comparaison avec ceux trouvés par d'autres chercheurs déduisent que notre produit est de bonne qualité physico-chimique et qu'il n'y a aucun inconvénient à son utilisation dans la fromagerie. Ces premiers résultats augurent des perspectives plus intéressantes pour la transformation du lait en fromage. Des efforts devraient être fournis dans le sens de la valorisation des viscères de poisson en Guinée.

#### Bibliographie

- [1] FAO. Alimentation et Nutrition N°28, « Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine ». (2008).
- [2] ANONYME, 2011. Planetoscope - Statistiques : Production mondiale de fromage.
- [3] Guérard, F. & LE Gal, Y. Sur l'activité coagulante d'une pepsine de la Rousette *Scyliorhinus canicula*. *C.R. Soc. Biol.* **180**, 651–655 (1986).
- [4] FAO. Situation laitière mondiale. *Bulletin de la fédération internationale de laiterie* **365**, 15–18 (2012).
- [5] Aworh, O. C. & Nakai, S. Extraction of milk enzyme from Sodom apple (*Calotropis procera*). *Journal of Food Science* **51**, 1569–1570 (1986).
- [6] Aworh, O. . & Muller, H. . Cheese making properties of vegetable rennet from Sodom apple *Calotropis procera*. *Food chemistry* **26**, 71–79 (1987).
- [7] Vioque, M. *et al.* Chemical and microbiological characteristics of ewe's milk cheese manufactured with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis*. *J. Agric.Food Chem* **48**, 451–456 (2000).
- [8] Sousa, M. . & Malcata, F. . Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheese from several milk species. *Le Lait* **82**, 151–170 (2002).
- [9] Zhang, X.-Y. *et al.* Diversity of cultivable protease-producing bacteria in sediments of Jiaozhou Bay, China. *Front Microbiol.* **6**, 1021 (2015).
- [10] Curvelier, G. . *Production des enzymes In : Biotechnologie, Ed., Scriban R. (coordonnateur) p.* (Lavoisier Tec et Doc., 1993).
- [11] Ramet, J. . Propriétés physiques du coagulum In : Le fromage, de la science à l'assurance de qualité Eck A., et Gillis J.C. (coordonnateurs). in 324–333 (Lavoisier Tec. & Doc, 1997).
- [12] Wu, F.-C., Chang, C.-W. & Shih, I.-L. Optimization of the production and characterization of milk clotting enzymes by *Bacillus subtilis* natto. *Springerplus* **2**, (2013).
- [13] Mandy, J., Doris, J. & Harald, R. Recent advances in milk clotting enzymes. *Review, International Journal of Dairy Technology* **64**, 14–33 (2011).
- [14] Nouani, A., Moulti-Mati, F., Belbraouet, S. & Bellal, M. M. Purification and characterization of a milk-clotting protease from *Mucor pusillus*: method comparison. *Afr J. Biotechnol.* **10**, 1655–1665 (2011).
- [15] Méziane, L. A. A. Etude comparative de deux protéases coagulant le lait obtenues à partir du proventricule de poulet '*Gallus gallus*' et de l'estomac du poisson '*Seriola dumerili*'.  
[16] Codes alimentarius/FIL, méthode normalisée 2B : Détermination du taux des protéines. (2000).
- [17] Fédération Internationale de Laiterie. Lait et produits laitiers : Dénombrement de la microflore totale Norme Internationale. (1974).
- [18] Fédération Internationale de Laiterie. Lait et produits Laitiers: Détection de Salmonella. Norme Internationale. (1985).
- [19] Serres, L., Amariglio, S. & Petransxiene, D. Analyse physique et chimique. In Contrôle de la qualité des Produits Laitiers. Direction des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture, France. in *Contrôle de la qualité des Produits Laitiers* (Direction des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture, 1973).
- [20] Maachou, D. Extraction et purification de protéase coagulant le lait en vue de leur substitution à la présure traditionnelle: Essai d'obtention d'une protéase issue d'estomac de poisson (*Seriola dumerili* ). (Université M'Hamed Bougara Boumerdès, 2004).
- [21] Lablée, J. Manufacture of cheese from recombined or reconstituted milk 142:119-125. (1982).
- [22] Gilles, J. & Lawrence, R. . The manufacture of cheese and other fermented products from recombined milk. *New Zld. J. Dairy Sei. Teehnol.* **16**, 1–12 (1981).
- [23] Alais, C. *Science du lait, principe et technique laitière.* (Sepaic, 1984).
- [24] Delacroix-Buchet, A., Bariller, F. & Lagriffoul, G. Caractérisation de l'aptitude fromagère des laits des brebis Lacaune à l'aide d'un forma graphe. *Le Lait* **74**, 173–186 (1994).
- [25] Veisseyre, R. *Techniques laitières.* (La maison Rustique, 1975).
- [26] Mietton, B., Desmazeaud, M., DE Roissart, H. & Weber, P. Transformation du lait en fromage. In " DE Roissart et Luquet F.M. - Bactéries lactiques". in 57–72 (Lorica, 1994).
- [27] Nouani, A., Hamrani, L. & Bellal, M. M. Purification et caractérisation de protéase coagulant le lait extraite à partir du proventricule de poulet (*Gallus gallus*). (2011).
- [28] GUÉRARD, F. Une utilisation des enzymes protéolytiques extraites des viscères de poissons : la coagulation du lait. : . *Reo. Trou. Inst. Pêches marit*, **49**, 199–203 (1985).
- [29] Queinnec, N. B. *Techniques d'analyses et contrôle dans les industries agricoles et alimentaires.* (Ed. Tech et Doc A.P.R.I.A, 1990).
- [30] Hurlaud, C., Verité, K. & Rulquin, H. Détermination de l'aptitude des laits à la transformation fromagère, intérêt et limites des tests de laboratoire: journées sur la qualité des laits à la production et aptitudes fromagères. (23-24 janvier 1991).