

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences

de la Terre et de l'Univers

Département de BIOLOGIE

Laboratoire Antibiotiques Antifongiques, Physico-Chimie, Activité Biologique
et synthèse de la faculté SNV-STU



MÉMOIRE

Présenté par

SEDJAI Manel

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

**Recherche d'éventuels effets biologiques d'un fromage à base de pâte pressé
cuite**

Soutenu le, devant le jury composé de :

Présidente	M ^{elle} BOUALI W.	MCA	Univ.Tlemcen
Encadrant	Mme MEDJDOUB H.	MCB	Univ.Tlemcen
Examineur	Mr. CHAOUICHE M.T	MCA	Univ-Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour terminer ce modeste travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements à notre encadreur *Madame MEDJDOUB Houria*, maître de conférences B à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen- pour m'avoir orienté, aidé et pour ses conseils avisés sur l'avancement de mon travail, et aussi pour sa gentillesse.

Nous tenons à remercier *M^{elle} BOUALI W.*, Maître de conférences classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen) d'avoir accepté de présider le jury. C'est un honneur pour moi de juger mon travail.

Je désire aussi remercier *Monsieur CHAOUCHE Tarik*, Maître de conférences A, à l'université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen- d'avoir accepté d'examiner ce mémoire. C'est un honneur pour moi de juger mon travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui ont participé à ma formation.

Enfin, un grand remerciement à toutes les personnes qui ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail,



Merci

Dédicace

A Dieu le Tout Puissant, Maître du temps et des circonstances, plein d'amour, de tendresse et de bonté Tout d'abord louange à Allah qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de mes études et m'a inspiré les bons pas.

*À mon père **Mohamed** et le bonheur de ma vie ma mère **Fatima** qui m'apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*À mes trois sœurs que j'adore **nihel, Dounia, Ikram, Amel** , **wahiba** et mes chères frères **Soufyane, Salih**.*

*Mes très chères **Bouchra, hanane ,oumaïma , Fatima** Merci pour tous les bons moments.*

*A tous les membres de ma famille **Sedjai** et à toute personne qui m'a encouragé ou aidé au long de mes études.*

*A tous mes collègues de la promotion de Master II **Biochimie** de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université **Abou Baker Balkaid** et je leur souhaite beaucoup de réussite.*

**Merci à vous tous*

Manel

ملخص

اليوم، حظيت منتجات الألبان باهتمام كبير من قبل الباحثين، ليس فقط كمغذيات، ولكن بسبب تركيبها الاستثنائي للجزيئات النشطة بيولوجيًا. في الواقع، يتم استخدام هذا الأخير كعلاج طبيعي جديد في علاج العديد من الأمراض مثل مرض السكري. في هذا السياق، أجرينا دراسة تهدف إلى اختبار التأثير المثبط لصفنتين من الجبن المضغوط المطبوخ، بما في ذلك Gruyere وEmmentaler على α البنكرياس amylase- يتم تحضير المستخلصات المائية عن طريق نقع الجبن بنسبة 10% ثم يتم تمييزها لتقريب محتوى البروتين وقيمة الأس الهيدروجيني. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلصات تسبب تثبيطًا ل- α أميلاز بقيم IC50 تبلغ 25.9 ملغم/مل و38.5 ملغم/مل لـ Gruyere وEmmental على التوالي. درجة الحموضة للمستخلصات حوالي 5.92 لـ Emmental و5.2 لـ Gruyere. هذا الأخير يحتوي على محتوى بروتين يساوي $6.31 \pm 0.170\%$ ، بينما بالنسبة لـ Emmental يبلغ حوالي $7.61 \pm 0.172\%$. تظهر هذه النتائج أن هذه الأجبان لها تأثير مثبط على هضم السكريات المتعددة عن طريق تثبيط الأميلاز α .

الكلمات المفتاحية: تثبيط α -amylase، Gruyere، Emmental، داء السكري

Résumé

Aujourd'hui, les produits laitiers ont reçu une grande attention par les chercheurs, non seulement en tant que des nutriments, mais en raison de leur composition exceptionnelle en molécules bioactives. En effet ces dernières sont utilisées comme une nouvelle thérapie naturelle dans le traitement de plusieurs maladies comme le diabète.

Dans ce contexte nous avons réalisé une étude, qui a pour but de tester l'effet inhibiteur de deux qualités de fromages à pâte pressé cuite, dont l'emmental et le gruyère sur l' α -amylase pancréatique. Des extraits aqueux sont préparés par macération du fromage à 10% ensuite caractérisés pour se rapprocher des teneurs en protéines et la valeur du pH.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que les extraits provoquent une inhibition de l' α -amylase avec des valeurs d' IC_{50} de 25,9 mg/ml et 38,5 mg/ml pour l'emmental et le gruyère respectivement. Le pH des extraits est de l'ordre de 5,92 pour l'emmental et 5,2 pour le gruyère. Ce dernier présente une teneur en protéine égale à $6,31 \pm 0,170\%$ alors que pour l'emmental elle est de l'ordre de $7,61 \pm 0,172\%$.

Ces résultats montrent que ces fromages ont un effet inhibiteur sur la digestion des polysaccharides en inhibant l' α -amylase.

Mots clés : α -amylase, Inhibition, Gruyère, Emmental, Diabète sucré

Abstract

Today, dairy products have received great attention by researchers, not only as nutrients, but because of their exceptional composition of bioactive molecules. Indeed, the latter are used as a new natural therapy in the treatment of several diseases such as diabetes. In this context we carried out a study, which aims to test the inhibitory effect of two qualities of cooked pressed cheese, including Emmentaler and Gruyere on pancreatic α -amylase. Aqueous extracts are prepared by maceration of the cheese at 10% then characterized to approximate the protein content and the pH value. The obtained results showed that the extracts cause an inhibition of α -amylase with IC₅₀ values of 25.9 mg/ml and 38.5 mg/ml for Emmental and Gruyere respectively. The pH of the extracts is around 5.92 for Emmental and 5.2 for Gruyere. The latter has a protein content equal to $6.31 \pm 0.170\%$, while for Emmental it is around $7.61 \pm 0.172\%$. These results show that these cheeses have an inhibitory effect on the digestion of polysaccharides by inhibiting α -amylase.

Keywords : α -amylase, Inhibition, Gruyere, Emmental, Diabetes mellitus

Table des matières

Résumé

Table de matière

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre 1 : diabète sucré et alpha amylase

1. Diabète	2
1.1. Définition de diabète	2
1.2. Classification de diabète	2
1.2.1. Diabète de type 1 (DT1)	2
1.2.2. Diabète de type 2 (DT2)	2
1.2.3. Diabète gestationnel.....	3
1.2.4. D'autre type de diabète (diabète secondaire).....	3
1.3. Epidémiologie.....	3
1.4. Complications du diabète	3
1.4.1. Complications aiguës métaboliques	4
1.4.2. Complications chroniques.....	4
1.5. Diagnostic du diabète sucré	5
1.6. Traitement du diabète	6
1.6.1. Traitement non médicamenteux.....	6
1.6.2 Traitement médicamenteux.....	10
2. Alpha amylase	10
2.1. Définition.....	10

2.2. Nomenclature.....	10
2.3. Les différentes origines	10
2.3.1. Les origines microbiennes	10
2.3.1.1. α -amylase bactérienne	10
2.3.1.2. α -amylase fongique	10
2.3.2. Origine végétale	11
2.3.3. Origine animale.....	11
2.4. Structure.....	11
2.5. Mécanisme d'action.....	12
2.6. Les caractéristiques d' α amylase	13
2.6.1. Poids moléculaire.....	13
2.6.2. Température optimale	13
2.6.3. pH optimal	13

Chapitre 2 : généralité sur les fromages

1. Lait	15
2. Définition de fromage	15
3. Composition de fromage	15
4. Principales étapes de fabrication de fromage.....	16
4.1. Coagulation de lait.....	16
4.2.1. Coagulation enzymatique.....	16
4.2.2. Coagulation par acidification	16
4.2. Egouttage	17
4.3. Salage.....	17
4.4. Affinage	17
5. Classification des fromages.....	18
5.1. Fromage frais.....	18
5.2. Fromage à pâte molle	18
5.3. Fromage à pâte persillé.....	19
5.4. Fromage à pâte pressé.....	19
5.4.1. Fromage à pâte pressée cuite	20
5.4.2. Fromage à pâte pressé non cuite	20

6. Fromages sélectionnés.....	20
6.1. Emmental.....	20
6.1.1. Définition	20
6.1.2. Composition d'emmental.....	21
6.1.3. Fabrication de l'emmental	21
6.2. Gruyère	22
6.2.1. Définition du Gruyère	22
6.2.2. Composition du gruyère.....	22
6.2.3. Fabrication du gruyère	22

Partie II : partie expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	25
1.Objectif.....	25
2.Fromage.....	25
3.Préparation des extraits de fromages.....	25
3.1.Extrait de gruyère	25
3.2.Extrait d'emmental	25
4.Caractérisations des fromages	26
4.1. Mise en évidence des acides aminés à la ninhydrine.....	26
4.2 .Mesure de pH.....	26
4.3.Détermination de la concentration massique.....	26
4.4. Dosage des protéines	26
4.4.1.Principe	26
4.4.2. Dosage.....	27
4.4.3. Expression des résultats	27
5. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits du fromage sur l' α -amylase.....	28
5.1. Réactif utilisés	28
5.1.1. Solution tampon phosphate (0,02M ; pH=6,9)	28
5.1.2. Solution d' α -amylase	29
5.1.3. Solution de substrat.....	29
5.1.4. Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique).....	29
5.1.5. Solution de l'acarbose.....	29

II. Résultat et discussion	33
5.2. Mode opératoire.....	29
1.Caractérisation des extraits.....	33
1.1. La teneur en protéine	33
1.2. pH	34
1.3. Concentration massique.....	35
2.Effet antidiabétique des extraits de fromage	35
2.1. Acarbose	35
2.2.Gruyère et emmental	36
III.Conclusion.....	41
IV. Référence bibliographique.....	43

Liste des figures

Figure 1 : les complications du diabète.....	5
Figure 2 : illustration des listes et des mécanismes d'action principaux des différentes classes d'antibiotique oraux.....	7
Figure 3 : distribution de l'insuline lorsque l'insuline est d'origine exogène.....	9
Figure 4 : structure tridimensionnelle de l' α - amylase.....	12
Figure 5 : le fromage l'emmental.....	21
Figure 6 : le fromage gruyère.....	22
Figure 7 : gruyère et l'emmental	25
Figure 8 : courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine.....	28
Figure 9 : coloration des tubes après l'ajout du DNSA.....	30
Figure 10 : représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait d'acarbose sur α -amylase.....	36
Figure 11 : représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait du gruyère sur α -amylase.....	37
Figure 12 : représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait d'emmental sur α -amylase	38

Liste des tableaux

Tableau 1 : principale classe des antidiabétiques oraux avec leur mode d'action et leur effet indésirable	8
Tableau 2 : les caractéristiques physicochimiques des extraits.....	33
Tableau 03 : Valeurs des IC50 des extraits de fromage et l'acarbose.....	37

Liste des abréviations

OMS : organisation mondiale de la santé

DT1 : diabète de type 1

DT2 : diabète de type 2

HAS : l'haute autorisé de santé

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale

FID : la fédération internationale de diabète

ADA : l'association American du diabète

SAB : sérum albumine bovine

DNSA : acide 3,5-dinitrosalicylique

IC50 : concentration inhibitrice médiane

Introduction générale

Introduction

Le diabète sucré est une perturbation métabolique chronique, qui est marqué par une hyperglycémie permanente accompagnée d'un dérèglement métabolique. Ce dernier est devenu un problème de santé mondiale qui entraînant, un taux de mortalité très élevé. En effet cette augmentation de la prévalence du diabète est due à plusieurs facteurs notamment la sédentarité et une mal alimentation (Antony & Vijayan, 2021).

En outre, depuis plusieurs années les inhibiteurs des α -amylases et α -glucosidases sont considérés comme des médicaments dans le traitement et la gestion du diabète, car ces enzymes digestives assurent l'hydrolyse des glucides complexes en glucose et par conséquence l'inhibition de leur activité est considérée comme une thérapie efficace pour réduire la glycémie (Antony et Vijayan, 2021 ; Patil et *al.*, 2015) .

Le lait et les produits laitiers constituent une bénéfique et même une meilleure source de certains constituants qui se retrouvent principalement en concentration très élevée dans ces nutriments et qui ont une valeur particulière pour la santé et la prévention des maladies (Sahli, 2013).

En plus, beaucoup des épreuves scientifiques ont montrés que les protéines de lactosérum et des produits laitiers comme les fromages jouent un rôle efficace dans l'inhibition des α -amylase et des α -glucosidases (Patil et *al.*, 2015 ; Korhonen, 2009).

A cet effet, l'objectif de notre travail est de tester l'effet inhibiteur de deux qualités de fromages à pâte pressée cuite qui sont le gruyère et l'emmental sur l' α -amylase pancréatique. Les deux fromages sont fabriqués artisanalement à partir du lait de vache.

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire Antibiotique, Antifongiques, physico-chimie, activité biologiques et synthèse, de la faculté SNV-STU.

1. Diabète**1.1. Définition de diabète**

Le diabète sucré est un trouble métabolique, défini par une élévation permanente du taux du sucre dans le sang (hyperglycémie chronique), parfois associé par des symptômes tel que : une soif sévère, perte de poids inexplicé, des mictions répétées et dans l'état grave une somnolence qui peut aboutir jusqu'au coma et à la mort en manque de traitement. Cette pathologie est le résultat d'une défaillance de la sécrétion d'insuline ou de l'action de l'insuline, ou de ces deux anomalies accompagnés d'une perturbation du métabolisme de lipides, de sucres et de protéines (Wens et *al.*, 2007 ; Drouin et *al.*, 1999; Genève, 1985) .

L'hyperglycémie chronique est à l'origine de plusieurs complications organiques et microvasculaires spécifiques affectant principalement : les vaisseaux, les nerfs, les reins, le cœur et les yeux, ainsi qu'à un risque élevé de maladie cardiovasculaire (Goldenberg et Punthakee, 2013 ; Drouin et *al.*, 1999) .

1.2. Classification de diabète

L'organisation mondiale de la santé (OMS), a montré que les différents types de diabète sucré sont classés en fonction de leur mécanisme physiopathologique (Pascale et *al.*, 2014), essentiellement en deux classes principales : le diabète de type 1 et diabète de type 2 mais peut inclure également d'autre type comme le diabète gestationnel (Portha, 2022).

1.2.1. Diabète de type 1 (DT1)

Le diabète sucré de type 1, est défini par une réaction auto-immune, durant laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules β des ilots de Langerhans du pancréas sécrétrice de l'insuline ce qui conduit à une destruction irréversible de ces cellules (Portha, 2022 ; Jornayvaz et Vionnet, 2015) .

Généralement les personnes ayant le diabète de type 1 ont besoin d'un traitement insulinique au cours de leur vie (Monnier et *al.*, 2018 ; Durand et Beaudoux, 2011) .

1.2.2. Diabète de type 2 (DT2)

Anciennement appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte, est la conséquence d'une mauvaise utilisation de l'insuline par l'organisme sous forme d'une insulino-résistance (Mbaya et Amisi, 2021 ; OMS, 2016).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) et l'haute autorité de santé (HAS), le diabète de type 2 est marqué par une glycémie à jeun ou postprandiale ou aussi par une hyperglycémie causée par voie orale (HGPO) dépassant les limites (David et Boinet, 2018).

Il s'agit, d'une perturbation d'insulino-sécrétion pancréatique, une insulino-résistance, hyperinsulinisme, ensuite une insuffisance insulinaire soit relative ou absolue (David et Boinet, 2018 ; American Diabetes Association, 2015).

1.2.3. Diabète gestationnel

Le diabète gestationnel, est une affection temporaire qui se développe plus précisément chez les femmes soit au cours de la grossesse ou bien causée par la grossesse lorsque la glycémie est supérieure à la normale (OMS, 2016 ; Chevenne et Fonfrède, 2001) .

Au moment de la grossesse, ce type de diabète est à l'origine de plusieurs complications maternelles, fœtales (Chevenne et Fonfrède, 2001) .

1.2.4. D'autre type de diabète (diabète secondaire)

Il existe d'autres types de diabète qui sont plutôt rares. Ces types de diabète incluent le diabète lié à des anomalies génétiques, des infections et l'utilisation de certains traitements qui affectent la capacité du corps à sécréter ou à répondre à l'insuline, ce qui peut entraîner par la suite une hyperglycémie (ASPC, 2011).

1.3. Epidémiologie

Actuellement, le diabète sucré est reconnu comme une épidémie mondiale. Il représente un lourd fardeau pour le système de santé où l'OMS prévoit que d'ici 2030 le diabète pourrait devenir la 7^{ème} principale source de décès dans le monde entier (Mbaya et Amisi, 2021).

En 2013, la fédération internationale de diabète (FID), a évalué le nombre de patient adulte atteints de diabète à 382 million (Mbaya et Amisi, 2021). Le diabète sucré, est l'une des principales sources de morbidité et de mortalité dans le monde. En effet la FID a estimé en 2019, 4,2 million de décès (Mbaya et Amisi, 2021) .

1.4. Complications du diabète

Les complications diabétiques, sont subdivisées en : complications chroniques qui s'apparaissent à long terme en touchant de nombreux organes et des complications aiguës qui sont due soit à une carence ou à une mauvaise adaptation au médicament (Belhadj et *al.*, 2016; Chevenne et Fonfrède, 2001).

1.4.1. Complications aiguës métaboliques

Les complications métaboliques aiguës du diabète sucré, sont un agent fréquent de consultation aux urgences (Orban et Ichai, 2011) :

- Acidocétose, qui est une complication sévère de diabète consécutive d'une insuffisance absolue ou relative d'insuline, commencer habituellement par la néoglucogenèse ensuite formation puis accumulation du corps cétonique ce qui conduit à une acidose (Barlier et Sablonnière, 2022 ; Brassier et *al.*, 2008) .
- L'hypoglycémie, qui est défini par une valeur de glycémie inférieure à 0,7g/l, c'est une complication secondaire due généralement au traitement (soit de insuline ou les sulfamides qui stimulent la sécrétion de l'insuline) (Monnier et *al.*, 2018 ; Brassier et *al.*, 2008) .
- Acidose lactique, qui est due de la sécrétion excessive de lactate, c'est le résultat d'une glycolyse anaérobie qui aboutissant à une situation d'anoxie tissulaire (Monnier et *al.*, 2018).

1.4.2. Complications chroniques

Le diabète sucré entraine plusieurs complications chroniques, qui sont principalement divisés en des troubles microvasculaires et macrovasculaires (Yamazaki et *al.*, 2018 ; Daneman, 2006).

Les complications microvasculaires comprennent la rétinopathie, la neuropathie et la néphropathie qui sont propres au diabète, tandis que les complications macrovasculaires aboutissent à la pathogénèse des troubles cardiovasculaires comme : les maladies artérielles périphériques. Ces derniers ne sont pas spécifiques au diabète, mais les patients atteints de diabète de type 2 ont un risque de développer ces maladies (Yamazaki et *al.*, 2018 ; Katsarou et *al.*, 2017) .

L'existence de ces troubles microvasculaires et macrovasculaires ralenti la qualité de vie, puisque elles conduisent à la cécité, l'insuffisance cardiaque et une altération rénale (Yamazaki et *al.*, 2018) .

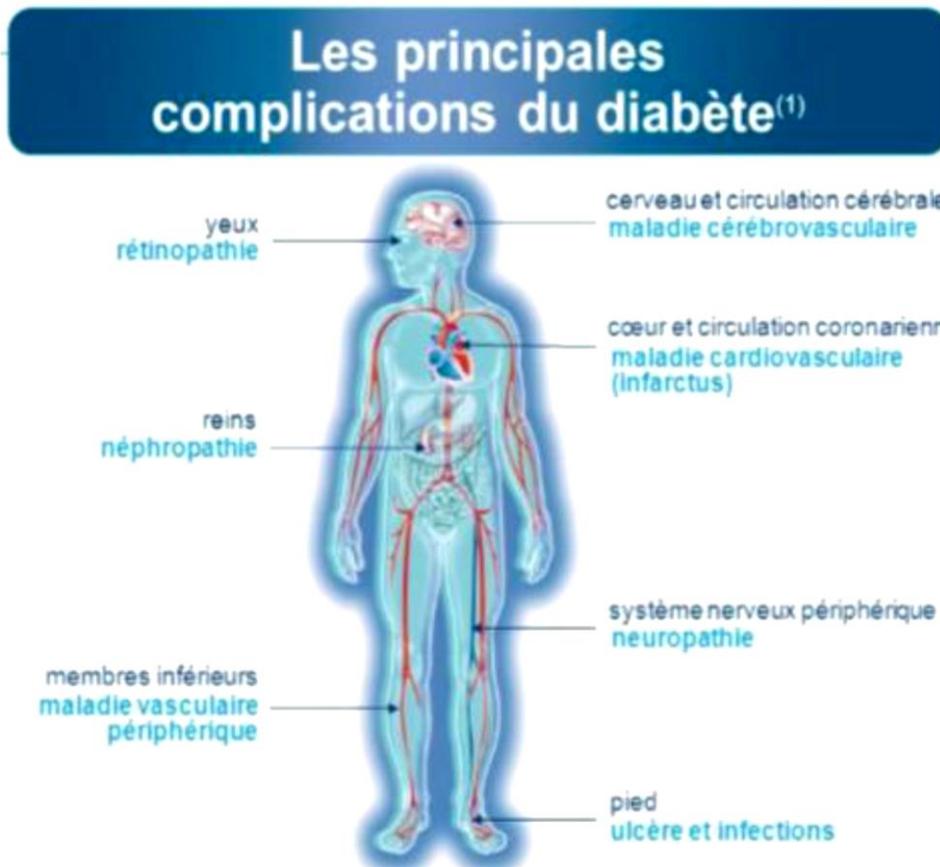


Figure 01 : Les complications du diabète (FID., 2006)

1.5. Diagnostic du diabète sucré

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) et l'association américaine du diabète (ADA), le diagnostic de diabète est déterminé par un simple test de glycémie à jeun mais dans certain situation spéciale accompagnée d'un test de tolérance au glucose pour le dépistage de diabète de grossesse (Spinass et Lehmann, 2001) .

Un taux de glycémie à jeun < 100 mg/dl (5,5mmol/l) est normal, une valeur entre 100 et 125 mg/dl (5,5 et 6,9 mmol/l) indique une glycémie à jeun anormale qui peut accélérer le risque de développer un diabète (Wens *et al.*, 2007) .

Un résultat de glycémie à jeun > 126 mg/dl (7,0mmol/l), peut-être déjà un indice de diabète.

Le Dépistage de diabète est basé surtout sur le seuil d'hémoglobine glyquée (HbA1c) (Goldenberg et Punthakee, 2013).

1.6. Traitement du diabète

En diabétologie, le but du tout traitement est de maintenir l'autonomie du personne et d'éviter les complications aiguës (hyperglycémie, hypoglycémie), de prévenir les complications chroniques, de réduire la mortalité, mais aussi d'améliorer la qualité de vie des patients diabétiques (Pillon et *al.*, 2014; Wens et *al.*, 2007) .

1.6.1. Traitement non médicamenteux**✓ Activité physique**

Cette activité physique entraine beaucoup des bienfaits pour la santé, car elle aide les personnes diabétiques à atteindre différents objectifs notamment :

- Réduire leur insulino-résistance.
- Améliorer leur santé cardiorespiratoire.
- mieux maîtriser leur glycémie.
- accélérer leur endurance physique est maintenir une perte de poids.
- Diminuer leur tension artérielle et améliorer ainsi, leur profil lipidique (Sigal et *al.*, 2018).

✓ Traitement nutritionnel

Une nourriture hygiénique et équilibrée est nécessaire à diminuer l'absorption des sucres, stabiliser la glycémie, contrôler le poids et par la suite d'éviter les complications du diabète sur l'organisme (Battu, 2014).

En outre, la consommation des fibres alimentaires variée comme : les légumes, les céréales et les fruits doit être favorisées car elle joue un rôle bénéfique et efficace en cas d'obésité une alimentation pauvre en graisses est nécessaire pour obtenir un meilleur équilibre de la glycémie (Wens et *al.*, 2007)

1.6.2 Traitement médicamenteux**✓ Les antidiabétiques oraux**

Le diabète sucré de type 2 est une maladie compliqué évolutif chronique qui réduit la qualité et la durée de vie des patients et qui est donc difficile a traité efficacement à long terme (Philippe, 2014 ; Krentz et Bailey, 2005) .

Les antidiabétiques oraux sont appelés également les médicaments hypoglycémifiants oraux. Ces derniers sont subdivisés en cinq classes principales qui sont les Biguanides, les sulfamides hypoglycémifiants, les Glinides, les glitazones et les inhibiteurs des α -glucosidases. La figure 2 et le tableau 1 résument le traitement du diabète de type 2 (Scheen, 2015 ; Wens et *al.*, 2007).

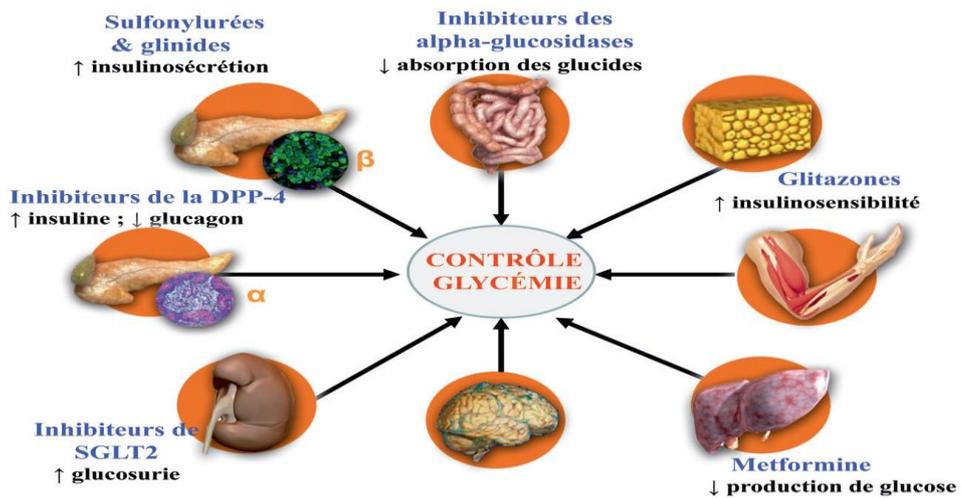


Figure 02 : Illustration des sites et des mécanismes d’action principaux des différentes classes d’antidiabétiques oraux (Scheen, 2015).

Tableau 1 : principales classes des antidiabétiques oraux avec leurs modes d'action et leur effet indésirable

Classe pharmaceutique	Molécule médicamenteuse	Mode d'action	Cible moléculaire	Effet indésirable	Référence
Biguanide	Metformine	<ul style="list-style-type: none"> •augmente la sensibilité des cellules à l'insuline • Inhibition de la néoglucogenèse et la glycogénolyse hépatique • ralentisse l'absorption de glucose intestinale 	Foie	<ul style="list-style-type: none"> • des troubles gastro-intestinaux. • des douleurs abdominales 	(Foretz et Viollet, 2014) (Couic-Marinier, 2009) (David et Boinet, 2018)
Les sulfamides hypoglycémiantes	Glimépiride Glibenclamide Gliclazide Glipizide	Augmentation de la sécrétion de l'insuline Amélioration de la sensibilité des tissus périphérique à l'insuline Réduction sa captation par le foie	Canaux potassique (pancréas)	Inhibition ns de la sécrétion de glucagon par les cellules α des îlots de pancréas et par conséquence une hyperglycémie chronique	(Pillon et <i>al.</i> , 2014) (Roussel, 2010) (Buyschaert, 2018) (Scheen, 2015)
Glimides	Répaglimide Natéglimide Mitiglimide	Meilleur contrôle de glucose post-prandial Stimulation de la sécrétion de l'insuline Inhibition des canaux potassique sensible à l'ATP dans le pancréas	Canaux potassique (pancréas)	Hypoglycémie	(Chen et <i>al.</i> , 2015) (Pillon et <i>al.</i> , 2014)
Glitazones ou thiazolidinediones	Roziglitazone	Améliorer la sensibilité à l'insuline et à la glycémie Effet bénéfique sur le métabolisme lipidique et endothélium vasculaire	PPAR- γ au niveau adipeux	Des troubles vasculaires Une prise de poids	(Scheen, 2015) (Faure, 2011)
Des inhibiteurs de SGLT-2	Canagliflozine	Diminution de la réabsorption du glucose dans le néphron	Co-transporteur (SGLT-2) au niveau des reins	Peu causer des infections génitales et très rare une Acidocétose euglycémique	(Sciotto et Jornayvaz, 2021). (Scheen, 2015)

✓ Les inhibiteurs des α -glucosidase

Une autre classe des antidiabétiques oraux est représentée par les inhibiteurs de l' α -Glucosidase. Ces médicaments jouent un rôle efficace dans l'inhibition des α -glucosidases intestinales, ce qui conduit par la suite à une réduction de l'hydrolyse des sucres en monosaccharide (Pillon et *al.*, 2014).

Dans cette classe médicamenteuse on cite l'acarbose, qui entraîne une inhibition réversible de la liaison des polysaccharides à l' α -glucosidase intestinale. Le miglitol a un mécanisme d'action similaire à l'acarbose (Faure, 2017).

✓ Insuline

Le traitement insulinaire permet de substituer la sécrétion naturelle d'insuline chez les personnes, qui présentent une insuffisance de la production de cette hormone (Halimi, 2017). L'insuline est administré par voie sous cutanée (bras, fesse, jambe ou ventre) et pour quelques types spécifiques d'insuline par voie intraveineuse, à l'aide d'un stylo d'injection (Wens et *al.*, 2007).

L'insuline reste donc, un traitement nécessaire fréquemment utilisé chez les patients diabétiques qui améliore non uniquement le contrôle glycémique mais également la qualité de vie, tout étant puissant pour la prévention des complications aiguës et chroniques (Philippe, 2014).

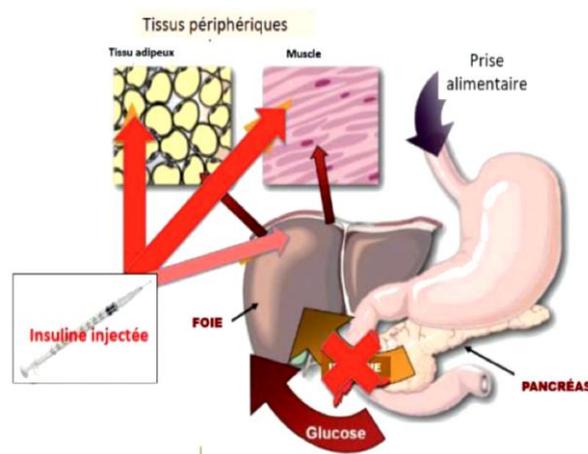


Figure 03 : distribution de l'insuline lorsque l'insuline est d'origine exogène (Halimi, 2017)

2. Alpha amylase**2.1. Définition**

L' α -amylase (E.C.3.2.1.1) est une enzyme qui est largement présent dans les plantes, les microorganismes et chez l'Homme. Elle catalyse l'hydrolyse aléatoire des liaisons α -D(1,4) glycosidiques interne dans l'amidon, glycogène etc... pour donner des simples produits primaires comme le glucose, le maltose et le maltotriose (Shivendra et Srijit, 2018; Sindhu et al., 2017 ; Sundarram et Murthy, 2014 ; Mobini-Dehkordi et Javan, 2012) .

On outre, les α - amylases ont une grandes variétés d'applications notamment dans : l'alimentation, l'industrie, la pharmacie et la détergence (Mobini-Dehkordi et Javan, 2012 ; Sivaramakrishnan et al., 2006) .

2.2. Nomenclature

- **Nom recommandé** : α - amylase
- **Nom systématique** : α - 1,4-glucanohydrolase
- **Nom codifié** : E.C.3.2.1.1 (Kato et al., 2017).
- **Synonyme** : Taka-amylase 1-maxilase-glycogénase-endoamylase (Dauter et al., 1999 ; Schomburg et al., 1991) .

2.3. Les différentes origines**2.3.1. Les origines microbiennes****2.3.1.1. α -amylase bactérienne**

Ces α -amylases peuvent être produits par plusieurs champignons, micro-organismes génétiquement modifiées et des bactéries comme *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Streptomyces sp* (Sindhu et al., 2017 ; Sundarram et Murthy, 2014).

2.3.1.2. α -amylase fongique

Plusieurs champignons peuvent être considérés comme source d' α -amylase, dont : *Penicillium*, *Thermomyces Sp*, *Acremonium* (Sindhu et al., 2017), mais les souches *Aspergillus* sont les souches fongiques les plus couramment employées pour la production commercial d' α -amylase (Sundarram et Murthy, 2014) .

2.3.2. Origine végétale

Les amylases végétales ont une importante primordiale dans le métabolisme glucidique, où elle participe à l'hydrolyse des polymères de sucre à liaison α 1-4 comme en oligosaccharide (Franco et *al.*, 2000).

Les α -amylases d'origine végétale sont généralement obtenus à partir de céréales : orge, riz...etc., elle sont souvent former au moment de la germination des graines (Sundarram et Murthy, 2014 ; Brown et Kelly, 1993) .

2.3.3. Origine animale

Les α -amylases d'origine animale sont principalement, présents dans la salive et le pancréas des mammifères (Sales et *al.*, 2012).

Ces derniers sont incapables d'hydrolyser l'amylopectine ou du glycosyl-oligosaccharide au niveau de la liaison α (1,6).

2.4. Structure

Les α -amylases sont des glycoprotéines qui appartiennent à la famille 13 des glycosyl hydrolases qui sont composés principalement d'une seul chaine oligosaccharide, qui renferment environ 512 acides aminés avec un poids moléculaire de 57,6 kD (Hiteshi et Gupta, 2014 ;Whitcomb et Lowe, 2007) .

Ces enzymes possèdent une structure tridimensionnelle (3D) qui peut la réaction de dégradation grâce à leur site catalytique, tandis que la structure bidimensionnelle (2D) est reparti en 3 domaines essentiels, le domaine A,B et C (Hiteshi et Gupta, 2014).

Tout d'abord, le domaine A est le plus grand domaine former un tonneau (α/β), qui comprend 8 feuilles β placés parallèlement les uns des autres comme un cylindre entouré d'un cercle concentriques de 8 hélices α (Farooq et *al.*, 2021 ;Hiteshi et Gupta, 2014 ;Kaur et *al.*, 2014). Ce dernier est considéré comme le domaine N-terminal catalytique d'enzymes, car il possède des résidus du site actif qui sont impliqués dans la liaison de substrat(Paul et *al.*, 2021; Kaur et *al.*, 2014).

Ensuite, le domaine B est le deuxième domaine qui est intégré particulièrement dans le milieu du domaine A, ce domaine globulaire est une structure β sandwich antiparallèle à 8 brins constitué de 104 à 206 résidus qui apparait comme un long boucle étendu intégré entre

le troisième brin β et la troisième hélice α (Farooq *et al.*, 2021 ; Paul *et al.*, 2021 ;Kaur *et al.*, 2014).

Le Domaine B, joue un rôle important grâce à ces résidus Glu, Asp, dans l'hydrolyse de liaison α (1-4) glycosidique à l'extrémité c-terminal de la boucle.

Et enfin, le domaine C-terminal qui forme une structure globulaire et qui possède exclusivement huit feuilles antiparallèles (Kaur *et al.*, 2014 ; Whitcomb et Lowe, 2007) .



Figure 04 : Structure tridimensionnelle de l' α - amylase (Payan, 2004).

2.5. Mécanisme d'action

L' α -amylase (E.C.3.2.1.1) est une enzyme clé dans la digestion, elle catalyse l'hydrolyse de l'amidon en oligosaccharide court par la rupture des liaisons glycosidiques α -D(1,4) en glucose, qui est ensuite transporté dans le sang(Jemaa *et al.*, 2017 ; Sales *et al.*, 2012) .

Ces actions peuvent être d'écrire en quatre étapes :

- **attaque aléatoire**: les α - amylases, agissent en coupant aléatoirement toutes les liaisons glycosidiques α (1,4) aux niveaux des extrémités non réductrices tout en entraînant la libération du glucose et de maltose(Pazur et Marchetti, 1992 ; Berry et Paterson, 1990) .
- **mécanisme uni-chaîne** : dans laquelle l' α amylase, hydrolyse d'abord une chaîne avant de passer à la suivante (Pazur et Marchetti, 1992).

- **mécanisme multi-chaîne** : ce Mécanisme implique une attaque multiples à plusieurs sites sur la chaîne, ce qui entraîne des raccourcissements entier des chaînes au niveau des extrémités non réductrices (Pazur et Marchetti, 1992 ; Berry et Paterson, 1990) .

- **attaque multiples ou répétitive**: les α - amylases provoquent plusieurs dégradation au niveau de la chaîne avant que le complexe (enzyme-substrat) se dissocie (Kandra et *al.*, 1997).

2.6. Les caractéristiques d' α amylase

2.6.1. Poids moléculaire

Le poids moléculaire des α - amylases est variées d'une espèce à une autre et d'une source à une autre mais la masse moléculaire de la plupart de ces enzymes est situés entre 40 - 70 kDa (El-Fallal et *al.*, 2012).

2.6.2. Température optimale

En général, la température optimale des α -amylases est entre 40° et 90°C°, mais cette température peut être variée selon les espèces (Schomburg et *al.*, 1991).

2.6.3. PH optimal

Généralement, le pH de ces enzymes est constant dans une gamme de 5 à 8 avec un optimum supérieur à la neutralité de 6 à 8,5 pour les amylases d'origine bactérienne et de 4 à 5 pour les amylases fongiques.

Plusieurs auteurs ont montré que le pH optimale de l' α -amylase pancréatique et salivaire est situé entre 6,5 à 7,2 (Ishikawa et *al.*, 1993) .

Chapitre II : Généralités sur les fromages

1. Lait

Par une simple définition, le lait est un liquide de couleur blanche, opaque, produit par les glandes mammaires des mammifères femelles (Vilain, 2010). Dans la majorité des civilisations humaines les laits de, vache, dromadaire, chèvre, mouton sont couramment les plus utilisés dans l'industrie laitière (Vilain, 2010).

Cet aliment constitue la matière première à base de laquelle tous les fromages sont fabriqués. En effet, il est très riche en protéines, lipides, eau, minéraux et sucres (Kindstedt, 2014)

2. Définition de fromage

Depuis l'antiquité, le fromage est un produit laitier, complexe, polyvalent, très nutritif avec une longue histoire dans l'alimentation humaine (López-Expósito et al., 2017; Walther et al., 2008). Le fromage est un aliment affiné ou non, fermenté ou non, de consistance fraîche, dure ou semi-dure, molle ou extra-dure, qui peut être enrobé et dans laquelle le rendement protéine caséine/lactosérum ne doit pas dépasser celui du lait et qui est obtenu par :

- Des matières d'origine uniquement laitière comme le lait (Bourgault., 2015 ;Codex., 2000) .
- Par coagulation spontanée ou artificielle, partielle ou totale du lait, de lait écrémé, de la crème, du babeurre, ou de la matière grasse, seuls ou en mélange sous l'action de la présure ou des facteurs coagulants appropriés (Bourgault., 2015 ; Codex, 2000; Fonteneau, 1997).
- Et/ou par l'utilisation des techniques de fabrication stimulant la coagulation du lait ou des produits dérivant du lait de manière à obtenir un aliment fini possédant des propriétés physico-chimiques et organoleptiques (Codex., 2000).

3. Composition de fromage

Le fromage constitue une riche source de nutriment et d'énergie qui contient particulièrement de la caséine qui est l'élément structurel majeur présent comme un réseau dans la matrice fromagère dans laquelle baignent des substances gras, des minéraux, de l'eau, des bactéries et le lactose (Lamichhane et al., 2018; Everett et Auty, 2008).

En plus de leur rôle alimentaire, le fromage possède également des protéines et des acides aminés essentiels qui favorisent le développement du corps humains, des acides gras comme l'acide linoléique et les sphingolipides qui ont un puissant effet anti-cancérigène et

athérogénique, des vitamines et des minéraux tel que le magnésium, le phosphore, le zinc et le calcium (López-Expósito *et al.*, 2017 ;Walther *et al.*, 2008).

4. Principales étapes de fabrication de fromage

La transformation du lait en fromage nécessite plusieurs méthodes dont la coagulation, l'égouttage du caillé, salage et l'affinage du fromage) Stanley, 1998).

4.1. Coagulation de lait

Par définition, la coagulation est une étape fondamentale et essentielle dans la fabrication dans toutes les types des fromages (Fox et McSweeney, 2017).

C'est une transformation de l'état liquide du lait en un gel semi-solide. Il s'agit d'une déstabilisation des protéines du lait (caséine et micelle) qui flocculent et s'associer pour donner un gel contenant les constituants solubles du lait (Legg *et al.*, 2017 ; Troch *et al.*, 2017).

Le mécanisme de coagulation des protéines du lait et surtout, la caséine peut s'effectuer de trois manières, soit coagulation par acidification, coagulation enzymatique ou par une combinaison des deux (Farkye, 2014 ; Troch *et al.*, 2017).

4.2.1. Coagulation enzymatique

Elle consiste à convertir le lait liquide en coagulum sous l'action des enzymes protéolytiques (Troch *et al.*, 2017) . En général, la présure de veau constitue l'agent coagulant du choix le plus utilisé pour la coagulation de lait (Khanal *et al.*, 2019; Troch *et al.*, 2017). En effet, l'ajout de cette dernière implique deux réactions cinétiques essentielles : la première étape abouti à la dégradation des protéines de la caséine micellaire tandis que, la deuxième étape entraine la déstabilisation des micelles qui ensuite s'agrègent en formant un gel (Khanal *et al.*, 2019). La présure joue un rôle efficace dans le développement de la saveur et la texture lors de la coagulation du fromage (Khanal *et al.*, 2019).

4.2.2. Coagulation par acidification

Ce procédé permet l'acidification progressive du lait à pH =4,6 grâce à des bactéries qui transforment directement le lactose en acide lactique. Cette technique est généralement utilisée pour la production des fromages coagulé à l'acide tel que le fromage cottage ou les fromages à la crème (Farkye, 2014).

4.2. Egouttage

L'égouttage est une opération qui consiste à l'élimination du caillé de son lactosérum par le phénomène de synérèse. Permettant ainsi, la conservation et la concentration des composants les plus importants du lait, afin que les morceaux peuvent fusionner et constituent une entité plus grande qui donne le fromage (Kongo et Malcata, 2016a ; Donnelly, 2014) .

Deux techniques ont été utilisées pour la séparation de lactosérum, premièrement le trempage est une méthode plus ancienne au cours de laquelle le mélange caillé-lactosérum est placé dans un tamis et s'écoule peu à peu à travers les ouvertures, laissant derrière lui une couche de caillé ; deuxièmes le drainage qui sert à déposer le caillé dans une cuve pour la coagulation et le cuisson (Donnelly, 2014).

4.3. Salage

Le traitement de salage est un processus technologique important dans la formation de fromage, le sel généralement utilisé est le chlorure de sodium (NaCl), (Velázquez-Varela *et al.*, 2018). Il est réalisé de différentes manières en frottant la surface avec du sel sec où il se dissout et diffuse rapidement à l'intérieur. Cette méthode est très utilisable pour les petits fromages car elle fournit des produits fromagers lisses de croûte imperméable dense et très durable.

Tandis que le salage en saumure est principalement utile dans la formation de gros fromage, parce qu'elle permet une meilleure déshydratation de toute la surface et une grande absorption du sel à l'intérieur en augmentant ainsi l'humidité au centre de fromage (Donnelly, 2014).

4.4. Affinage

L'affinage est une étape complexe cruciale dans la fabrication du fromage résultant d'une succession d'évènement métabolique et microbiologique (Khattab *et al.*, 2019).

Au cours de cette maturation le fromage acquiert sa texture, son arôme, et sa saveur qui diffèrent en fonction de la composition du caillé (humidité, lipide, quantité en protéine et les minéraux), du pH et les conditions de maturation (humidité relative et la température), ainsi que les pratiques physiques comme : le grattage, le frottement, le retournement et lavage qui sont réalisés par l'affineur où le fromager (Bintsis et Papademas, 2017 ; Donnelly, 2014).

Les variations biochimiques qui se produisent au moment de la finition du fromage peuvent être principalement divisées en réaction primaire comme : la lipolyse, la glycolyse, et la protéolyse qui sont responsables de la texture et la saveur du fromage. Tandis que les réactions secondaires sont particulièrement la décarboxylation, le métabolisme des acides gras, la désamination et l'estérification qui contribuent aux aspects les plus fins du fromage (Murtaza *et al.*, 2014).

La période de l'affinage peut durer des semaines, des mois ou plusieurs années, elle varie généralement selon le type du fromage (Donnelly, 2014; Feeney *et al.*, 2021).

5. Classification des fromages

Il n'est pas facile de diviser par grande famille les fromages puisque, il n'existe pas de liste finale de leurs variétés (Fonteneau, 1997)

Plusieurs systèmes de classification, ont été montrés pour les différentes catégories de fromages basés essentiellement sur le lait utilisé (chèvre, vache, mouton), les méthodes de fabrication, le mode de coagulation de la matière première (soit coagulation par acidification ou par la présure), le type de surface (moisissure, dure, doux ,semi-dure) et enfin la texture qui est couramment définie par la teneur en matière grasse et l'humidité (Walther *et al.*, 2008 ;McSweeney, 2007).

5.1. Fromage frais

Ces fromages sont couramment reconnaissables par leur couleur blanche, et leur aspect luisant avec une saveur laiteuse. Ils ont couramment une texture variée, souple, crémeuse tel que le mozzarella ou ferme comme halloumi (Juliet Harbutt, 2010).

5.2. Fromage à pâte molle

Ce sont tous les fromages à texture molle fermentés, avec une croûte comestible qui ne sont ni cuits ni pressés (Leto et Bode, 2006 ; Fonteneau, 1997). Spécialement, ils sont souples et certains d'entre eux sont tartinables, et coagulés soit avec la présure ou l'acide.

Ils sont caractérisés généralement par une longue période d'affinage avec une teneur d'humidité supérieure à 55% (Bintsis, 2021a)

Les fromages à pâte molle ont une saveur et une odeur très forte et sont habituellement consommés soit frais ou mûris durant 5 à 60 jours. Dans ce groupe de fromage on trouve le camembert (Leto et Bode, 2006).

5.3. Fromage à pâte persillé

Les fromages à pâte persillé, appartient à la famille des fromages bleus dont le non provient des champignons bleu gris ressemblant à des feuilles de persil. Ces fromages sont caractérisés par des veines bleues causées par le développement et la croissance de la moisissure *Penicillium roqueforti* à l'intérieur de la pâte ou cours d'une période de maturation variant entre 6 à 12 mois(Bintsis, 2021b ; Dunoyer, 2019) .

Leurs structures sont généralement très hétérogènes avec des croûtes, jaune/blanche contenant des gradients de pH, de sel, et d'eau, ainsi que des acides aminés comme : la valine, la lysine, l'acide glutamique et la leucine qui contribuent surtout à une saveur de fond dans les fromages à moisissure.

En plus de ces composants, plusieurs constituants aromatiques volatils et non volatils produits spécialement par *Penicillium roquefort* pendant la période d'affinage jouent un rôle efficace dans l'arôme et la saveur du fromage final (Ardo, 2016).

5.4. Fromage à pâte pressé

Les fromages à pâte pressé appelés également les fromages à pâte dure peuvent avoir des aspects différents les uns des autres dans plusieurs pays traditionnelles (Harbutt, 2010).

Généralement ils ont une teneur en humidité comprise entre 30 et 45% qui est très faible par rapport aux autres types de fromage (Kongo et Malcata, 2016 b ; McSweeney, 2007b) avec une longue période d'affinage qui peut aller de quelques mois à 2 ans ou plus (McSweeney, 2007 a).

Leur fabrication nécessite habituellement l'emprésurage à 30°C, ensuite le coupage de coagulum en petite morceaux puis la cuisson du caillé à 39°/40°C pour augmenter la libération de lactosérum, ainsi pendant cette fabrication ces fromage doivent être soumis à une pression très élevée pour donner une texture uniforme, serrée et plus dure (McSweeney, 2007b) .

Plusieurs études récentes, ont montré que sur le plan nutritionnelle ces fromages durs sont très riche en acide linoléique conjugué, en protéines et en graisses avec un taux très faible ou presque absent de lactose ce qui donne un avantage pour les personnes intolérants au lactose (Kongo et Malcata, 2016b).

5.4.1. Fromage à pâte pressée cuite

Les Fromages à pâte pressée cuite ou pâte dure sont des fromages de très grandes dimensions, très fermes et qui contiennent environ 40% d'humidité (Majdi, 2009).

Pour ces fromages, le caillé est chauffé à 65°C après le pressage pour subir un affinage prolongé ce qui entraîne une destruction d'une partie de la flore. Dans ce groupe de fromage en trouve le gruyère, le comté, l'emmental et le beaufort (Fonteneau, 1997) .

5.4.2. Fromage à pâte pressé non cuite

Ce sont des fromages avec une texture ferme qui ne possèdent que 45% d'humidité et se conservent à une plus longue période que les fromages à pâte molle. Leur fabrication nécessite le chauffage du mélange caillé-lactosérum à une température inférieure à 50 °C (Fonteneau, 1997), l'égouttage est effectué par le pressage du caillé qui se fait généralement après le moulage .

Ces fromages sont ensuite, introduit dans un bain saumure durant quelque heures ou salé à sec dans la masse (André et Claude, 2006 ; Tremolier et *al*, 1984).

6. Fromages sélectionnés

6.1. Emmental

6.1.1. Définition

L'emmental est un fromage affiné à pâte dure cuite, d'origine suisse, son nom dérive de la vallée d'Emme, près de Brenne. Actuellement ce fromage est produit dans plusieurs pays comme la France et l'Europe mais surtout en Savoie (Fox et *al.*, 2017 ;Carroll et Lascève, 2012 ; Codex Stan ,1967) .

Ce fromage à l'intérieure a l'image typique d'un fromage suisse qui possède des trous de gaz régulier de la taille d'une noix résultant de la consommation d'acide lactique et sa libération

en gaz carbonique ce qui entraîne la formation des bulles qui font des trous (Kongo et Malcata, 2016b) .

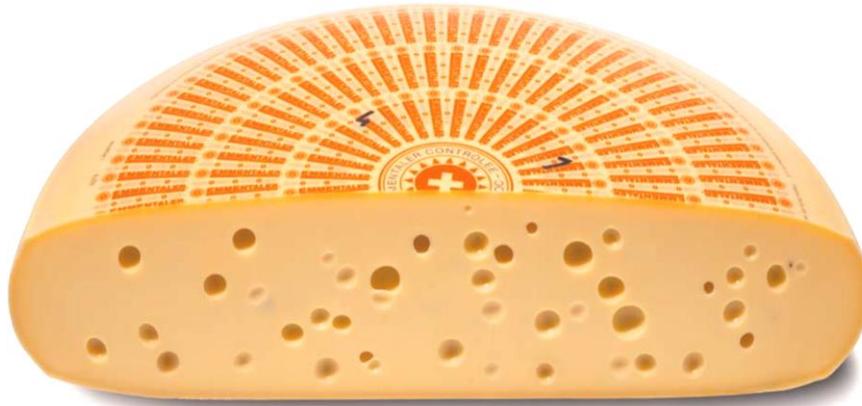


Figure 05 : Le fromage d'emmental (Bachmann et al., 2011).

6.1.2. Composition d'emmental

L'emmental est un fromage caractérisé par un goût doux et sucré et une saveur noisette. Il contient généralement une valeur très faible en sel environ 0,5 à 0,7 %, de 27,7 % de protéines et de 35,5 % de matière grasse (McSweeney, 2003) .

6.1.3. Fabrication de l'emmental

Ce fromage est fabriqué à partir de lait cru de vache acidifié avec des bactéries thermophiles mixtes constituent de *Streptococcus thermophilus* et d'une *Lactobacillus sp* (Fox et al , 2017)

Premièrement, le lait est chauffé à 30 °C ensuite coagulé avec la présure de veau afin que le coagulum soit découpé en petite morceaux puis cuit à 55 °C. Ensuite, le caillé et le lactosérum sont déplacés dans des moules où le lactosérum est éliminé. Une fois le caillé refroidit, la fabrication d'acide par les micro-organismes qui sont en sommeil au moment de cuisson recommence, en complétant ainsi la fermentation du lactose et des monosaccharides constitutifs dans le fromage.

Les moules sont salés à sec et conservés dans des chambres froides (10- 15 °C) durant 10 à 14 jours jusqu'à la formation d'une croûte lisse pour être déplacés dans des chambres chaudes (20 à 24 °C) pendant 3 à 6 semaines jusqu'à la formation adéquate des yeux. Enfin l'emmental est affiné à environ 7 °C durant encore 1 ou 2 mois (Fox et al , 2017).

6.2. Gruyère

6.2.1. Définition du Gruyère

Le gruyère est un fromage à pâte ferme pressée cuite de type suisse qui est probablement le plus connu et le plus consommé dans le monde (Hartmann *et al.*, 2017).

Ce fromage est traditionnellement fabriqué à partir de lait cru de vache, qui présente un faible gonflement avec un talon convexe et une saveur plus forte. Généralement le gruyère à une croûte dure, frotté, grenée et sèche de couleur jaune dorée à brun avec une texture lisse plus compacte et dense (Hartmann *et al.*, 2017 ; Kongo et Malcata, 2016b; Référence à la publication du cahier des charges , article 5 , paragraphe 7, du régallement (CE), 2006) .



Figure 06 : fromage de gruyère (Hartmann *et al.*, 2017).

6.2.2. Composition du gruyère

Selon Fox *et al.*, (2017), le fromage gruyère à pate pressé cuite est très riche en plusieurs composants notamment : les protéines environ 30 %, les graisses 30% et de sel 1,1% .

6.2.3. Fabrication du gruyère

Le gruyère est fabriqué à partir de lait de vache non pasteurisé acidifié avec des levains constitués de bactéries lactiques thermophiles de l'espèce *S.thermophilus*, *Lb .dealbrueckii.ssp* et *Lb.helveticus* (Hartmann et *al.*, 2017 ; Foxet *al*, 2017) .

Tout d'abord, le lait est chauffé à 31 °C puis coagulé avec la présure de veau pendant 30 à 50 minutes ; une fois la coagulation terminée, ce dernier est découpé sous forme d'un grain de blé puis ébouilli à une température entre 54 et 59 °C. Ensuite ce caillé est transféré dans des moules et pressés au moins 16 heures afin d'assurer une bonne cohésion des grains.

Après le démoulage, les fromages sont salés immédiatement soit à sec soit par immersion dans une saumure à une température de 12 à 20 °C.

Enfin, le gruyère est stockée dans des caves d'affinages à une température de 12 à 18 °C pendant au moins 5 mois (Hartmann et *al.*, 2017) .

Matériel et Méthodes

1. Objectif

Notre étude expérimentale est effectuée au niveau du laboratoire de recherche antibiotique, antifongique : physico-chimie, synthèse et activité biologique LAPSAB de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Abou Bekr-Bekaid-Tlemcen. Le but de ce travail pratique est de tester d'éventuel effet inhibiteur de deux fromages artisanaux, le gruyère et l'emmental, sur l' α -amylase pancréatique. Cette dernière est une enzyme clé dans le traitement du diabète sucré.

2. Fromage

Nous avons utilisé dans notre étude deux fromages à base de lait de vache de type gruyère et emmental. Ces deux produits sont des préparations artisanales et ils ont été achetés auprès du magasin « Les délices de Grand-Mère » situé à Tlemcen en Mars 2023. Le magasin est spécialisé dans la préparation artisanale d'une grande variété de fromages.

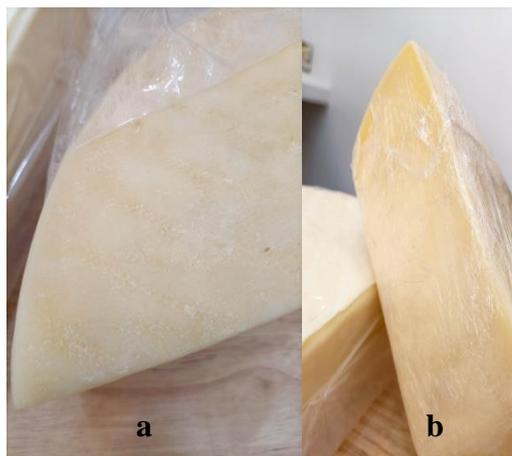


Figure 7: fromages étudiés

(a) gruyère, (b) emmental

3. Préparation des extraits de fromages

3.1. Extrait de gruyère

Pour le l'extrait de gruyère, 2g de fromage sont coupés en petits morceaux et mélangés dans un tube avec 10ml de solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9). L'ensemble est bien agité afin d'extraire le maximum de molécules.

Le tube est recouvert de papier aluminium et laissé reposer pendant 24H à température ambiante. Après, le mélange est centrifugé pendant 10mn à 4000rpm. Le surnageant contient la majorité des molécules solubles et il est, donc, utilisé pour évaluer l'effet inhibiteur du Camembert sur l' α -amylase.

3.2. Extrait d'emmental

Pour le l'extrait d'emmental, 2g de fromage sont coupés en petits morceaux et mélangés dans un tube avec 10ml de solution tampon phosphate (0,02M, pH 6,9). L'ensemble est bien agité afin d'extraire le maximum de molécules.

Le tube est recouvert de papier aluminium et laissé reposer pendant 24H à température ambiante. Après, le mélange est centrifugé pendant 10mn à 4000rpm. Le surnageant contient la majorité des molécules solubles et il est, donc, utilisé pour évaluer l'effet inhibiteur de l'emmental sur l' α -amylase.

4. Caractérisations des fromages

4.1. Mise en évidence des acides aminés à la ninhydrine

La ninhydrine (2,2- dihydroxyindan-1,3-dione) est un composé aromatique utilisé comme révélateur des acides aminés.

Mettre 1 ml de l'extrait (1 ou 2) dans un tube à essai, puis y ajouter 1 ml de la solution de ninhydrine (1% dans l'acétone). Chauffer ensuite au bain marine. Si une coloration violette-bleue apparait le test est positif et confirme la présence d'acides aminés (**Ninhydrine, 2009**).

4.2. Mesure de pH

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre de type "**Inolab**", en introduisant directement la sonde dans l'échantillon à analyser à une température de 20°C.

4.3. Détermination de la concentration massique

1ml d'extrait du fromage (1 et 2) est mis séparément dans un tube de poids initial connu (P_0). Le contenu du tube est séché à l'étuve. Après séchage complet le tube est de nouveau pesé afin de déterminer P_1 . Cette opération est répétée trois fois.

La concentration massique des extraits est calculée en suivant l'équation ci-dessous ;

$$C = (P_1 - P_0) / V$$

C : concentration massique en g/l (mg/ml)

V : volume de l'extrait à sécher en l

P_0 : poids initial du tube (vide) en g

P_1 : poids du tube contenant l'extrait sec en g

4.4. Dosage des protéines

4.4.1. Principe

Le dosage des protéines se fait par la méthode de Biuret selon **Henry et al., (1974)**. En solution alcaline les protéines forment avec les ions cuivriques un complexe coloré

d'absorbance mesurable à 540 nm. La détermination des différentes concentrations se fait en se basant sur une droite d'étalonnage du sérum albumine bovine (SAB).

4.4.2. Dosage

Etape 1 : préparation du réactif de Biuret pour 250 ml d'eau distillée.

- Solubiliser 11,5g de NaOH dans 150 ml d'eau distillée.
- Ajouter les réactifs suivants successivement au mélange précédent : 0,28 g de CuSO₄, 0,25g de KI et 1,48g de tartrate double sodium potassium.
- Ajuster le volume à 250 ml par l'eau distillée.

Etape 2 : préparation de la SAB.

- Peser 0,2 g de la SAB dans 20ml d'eau distillée.
- Réaliser des dilutions en cascades.

Etape 3 : préparation des extraits

- Solubiliser l'extrait (total ; acétone) dans l'eau distillée.

Etape 4 : dosage

- Préparation une série de tubes, extraits, blanc et SAB. Prévoir 3 tubes (essais) pour chaque extrait ou pour la SAB.
- Dans les tubes, mettre 100 µl de la solution à doser (extrait ou SAB) et 1 ml du réactif de Biuret.
- Le réactif de Biuret est utilisé comme blanc pour calibrer le spectrophotomètre.
- Les tubes sont incubés à l'ombre pendant 30 minutes, puis l'absorbance est lue à 540nm.

4.4.3. Expression des résultats

$$\text{Pourcentage (\%)} = [(C \times V) / p] \times 100$$

C : concentration en protéines de l'extrait en « g/l » (déterminée graphiquement).

V : volume de l'eau distillée en « l ».

P : la prise d'essais « g ».

Pourcentage : taux de protéine.

La **figure 8** représente la courbe de corrélation entre l'absorbance et la concentration en BSA par la méthode au réactif de Biuret. Le graphe montre une linéarité entre l'absorbance à 540 nm et la concentration utilisée de BSA mg /ml.

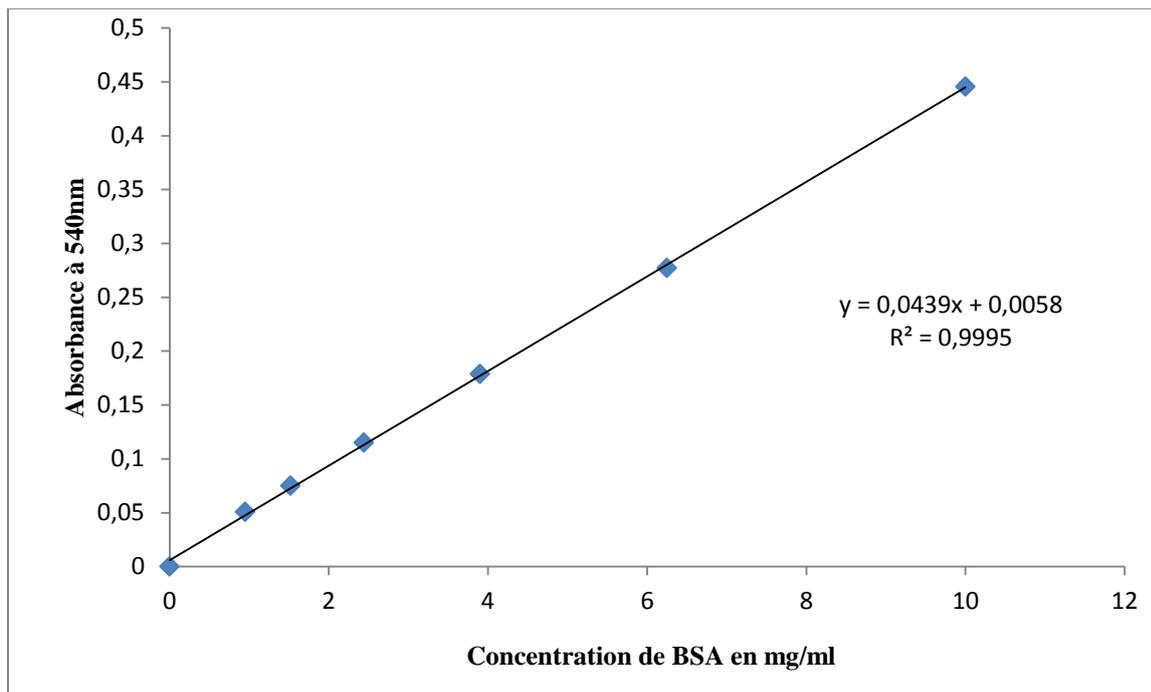


Figure 8 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine

5. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits du fromage sur l' α -amylase

5.1. Réactifs utilisés

5.1.1. Solution tampon phosphate (0,02M ; pH=6,9)

La solution tampon se prépare en mélangeant deux solutions, acide (A) et base (B), La solution A est monobasique (NaH_2PO_4) ($M=119,98\text{g/mol}$) et B dibasique (Na_2HPO_4) ($M=141,96\text{ g/mol}$) à 0,02 M et pH final de 6,9.

2,40g du composé A ajuster à l'eau distillée jusqu'à 1 litre.

2,84g du composé B ajuster avec à l'eau distillée jusqu'à 1 litre.

5.1.2. Solution d' α -amylase

L'enzyme utilisée est α -amylase (E.C.3.2.1.1) du pancréas du porc (PPA) sous forme lyophilisée (Fluka), son poids moléculaire est de 13000 Da, avec une activité spécifique de 13 UI/mg, conservée à + 4°C. 6 mg de PPA sont solubilisés dans 20 ml de solution tampon phosphate (0,02 M ; pH= 6,9), la solution obtenue contient une activité α - amylasique de 3,9 UI/ml, L'optimum de l'activité α -amylasique d'origine porcine est à pH= 6,9 pour une température de 37°C.

5.1.3. Solution de substrat

Le substrat de cette catalyse est l'amidon soluble. 1 g d'amidon est solubilisé dans 100ml de Tampon phosphate additionné de NaCl à 6mM. Le tout est chauffé jusqu'à ébullition sur plaque chauffante agitatrice. Après 10 min, la solution est refroidie et le volume est de nouveau ajusté à 100ml.

5.1.4. Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)

1g de DNSA est dispersé dans 40 ml d'eau distillée, à cette solution 30g de tartrate double de sodium et potassium sont ajouter sous agitation. La solution obtenue est de couleur jaune opaque. L'addition de 20 ml d'une solution de NaOH 2 N rend le réactif limpide avec une couleur orange. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. Le réactif obtenu est conservé à l'abri de la lumière et à 4°C.

5.1.5. Solution de l'acarbose

L'acarbose « Glucobay®50 » est utilisé dans cette expérience comme molécule de référence, afin de comparer son activité vis-à-vis d' α -amylase par rapport à celle des extraits.

Un comprimé de 50 mg est solubilisé dans le tampon phosphate, afin d'avoir une concentration de 1 mg /ml d'acarbose.

5.2. Mode opératoire

Cette méthode est réalisée selon le protocole de Thalapaneni *et al.*, 2008 avec modification :

On prépare une gamme de concentration (dilution en cascade), et on teste l'effet de chaque concentration de l'extrait sur l'activité d' α -amylase.

- Tube blanc (pour le contrôle) : 1 ml solution tampon +0,5ml solution d'amidon
- Tube blanc (pour les extraits) :0,5 ml solution tampon +0,5ml solution d'extrait +0,5 ml solution d'amidon.

- Tube contrôle : 0,5 ml solution tampon +0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de solution enzymatique.

- Tube essai : 0,5 ml solution d'amidon +0,5 ml solution d'extrait +0,5 solution enzymatique.

- Agiter les tubes et incuber pendant 15 minutes à 37C°.

- Après incubation, on ajoute 1 ml de DNSA et on place les tubes dans un bain marie bouillant pendant 8 minute à 100 C°, pour stopper les réactions enzymatiques.

- Afin de stopper la réaction entre le produit et DNSA on possède à un choc thermique en déposant les tubes dans un bain d'eau glacée.

- Mesure les densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 540 nm.

- Le calcul du pourcentage d'inhibition de chaque concentration d'extrait ou d'acarbose par rapport au contrôle (sans inhibition) se fait selon la forme suivante :



Figure 09 : Coloration des tubes après l'ajout du DNSA.

$$\% \text{ d'inhibition d}'\alpha\text{-amylase} = [(A \text{ contrôle}-A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle}] \times 100$$

- **A contrôle** : absorbance contrôle ; **A échantillon** : absorbance échantillon
- **IC50** : la concentration inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elle est calculée graphiquement.

Résultats et discussion

1. Caractérisation des extraits

Notre étude expérimentale est basée sur des mesures, Les résultats de cette étude ont été regroupés dans un tableau qui porte les points suivants :

- ✓ La teneur en protéine.
- ✓ Le paramètre physico-chimique (pH).
- ✓ La concentration massique.
- ✓ La mise en évidence des acides aminés

Tableau 2 : quelques caractéristiques des extraits

	Gruyère	Emmental
La teneur en protéine %	6,31 ±0,170	7,61±0,172
pH	5,2	5,92
La concentration massique mg/ml	42,33±27,39	51,3±26,95
Acides aminées	Présent	Présent

1.1. La teneur en protéine

Les résultats de tableau (2) indiquent, la teneur en protéine des deux types de fromages le gruyère et l'emmental.

En outre, La teneur en protéine du gruyère est de $6,31 \pm 0,170\%$. De même, la teneur en protéine de l'emmental est de $7,61 \pm 0,172\%$.

En comparant les deux résultats, nous pouvons conclure que la teneur en protéine de l'emmental est plus élevée que celle du gruyère.

La teneur en protéine des fromages peut varier en grande partie, de type de lait utilisé, généralement le lait de vache est le lait le plus habituellement utilisé dans la fabrication de fromage et est composé à la moyenne de 32 g/kg de protéine (Guinée et al., 2018), tandis que le lait de chèvre contient environ 30,8g/kg de protéine. Cela indique que les fromages de chèvre possèdent une teneur en protéine, faiblement plus élevé que les fromages de vache (Guinée et al.,2018 ; Sánchez-Macias et al., 2018). Cette teneur peut aussi varier selon les

rares, l'espèce animale, la saison et l'alimentation (Guinée et *al.*, 2018 ; Bidot Fernández, 2017).

De même, la méthode de production peut aussi influencer la teneur en protéine de fromage (guinée et *al.*, 2018). Par exemple : le fromage frais de chèvre possède environ 11% de protéine, alors que le fromage de chèvre affiné contient environ 20% à 25% de protéine. Cela est dû au fait que les fromages frais subissent des procédés de maturation et de dégradation de protéine moins que les fromages affinés (Masweeney et Sousa., 2000).

D'autre part, le cottage est un fromage qui possède environ 12% de protéine, et qui est fabriqué en coagulant le lait avec un acide préférablement qu'avec la présure. Cette technique de fabrication permet de garder une quantité en protéines très élevée que les autres fromages frais (Guinée et *al.*, 2018).

En effet, plusieurs auteurs ont confirmé que les techniques de fabrication des fromages durs peuvent aussi affecter leur teneur en protéine où certains fromages durs subissent un moment de pressage plus long, ce qui élimine une partie de l'humidité et par conséquent, peut entraîner une concentration très élevée en protéine. D'autre part, d'autres fromages sont soumis à des lavages où une quantité de protéine peut être éliminée, ce qui peut provoquer une teneur relativement plus faible en protéine (Fox et *al.*, 2017).

Finalement les variations régionales qui peuvent être également, un facteur important qui peut influencer la teneur en protéine des fromages à pâte pressé (Monségur et *al.*, 2015).

1.2. pH

Les résultats sur le tableau 2, montrent, que le pH d'emmental est élevé que celui du gruyère. Il est égal à 5,92 pour le premier et 5,2 pour le deuxième.

Le pH est une propriété essentielle des fromages, qui affectent principalement leur goût, leur durée de conservation, mais ainsi leur texture. En effet, les fromages peuvent avoir des pH variables en fonctions de leur type, leur technique de fabrication et leur durée d'affinage (Fox et *al.*, 2020).

D'une part, les fromages à pâte pressée comme : le gouda ou le cheddar ont généralement, un pH situé entre 5,2 et 5,5. leur acidité plus élevée aide à augmenter leur période de conservation et leur donner une saveur très prononcée (Fox et *al.*, 2020).

En outre, le pH des fromages varie en fonction de leur durés d'affinage comme le comté qui a un pH de 5,2 quand il est jeune et qui peut diminuer à 4,5 suite à un affinage de plusieurs mois (Fox et *al.*, 2020).

En conclusion, le pH n'est pas toujours le seul facteur qui affecte le goût et la texture des fromages, mais plusieurs facteurs comme la qualité du lait utilisé, les conditions d'affinages et la méthode de production, peuvent aussi avoir une très grande influence (Montel et *al.*, 2014).

1.3. Concentration massique

Les résultats de cette étude montrent que, la concentration massique de l'emmental (53,33 mg/ml) est plus élevée que celle du gruyère (42,33 mg/ml). Cela veut dire que les constituants de l'emmental sont plus solubles dans la phase aqueuse en comparaison avec le gruyère. Ici, la composition est le premier responsable de cette solubilité.

Les variations de la concentration massique des fromages, peuvent être influencées par plusieurs facteurs notamment : la qualité de lait utilisé (Kanakis et *al.*, 2016). En outre, les étapes de processus de fabrication du fromage comme la coagulation du lait, l'égouttage, le pressage et l'affinage peuvent également affecter la concentration massique des constituants du fromage comme la période d'affinage (Mucchetti et *al.*, 2019) .

La période d'affinage du fromage peut influencer ainsi sa concentration, au fur et à mesure que le fromage vieillit, quelques constituants se dégradent, ce qui peut provoquer des changements dans la qualité en matière grasse, en protéines et en eau, par exemple les fromages à pâte dure tel que le parmesan ont une concentration massique très élevée en graisse et en protéines après une longue période d'affinage (Mcsweeney et *al.*, 2017).

2. Effet antidiabétique des extraits de fromage

2.1. Acarbose

Le graphe ci-dessous (figure 10), représente le pourcentage d'inhibition d' α -amylase par l'acarbose, la molécule de référence.

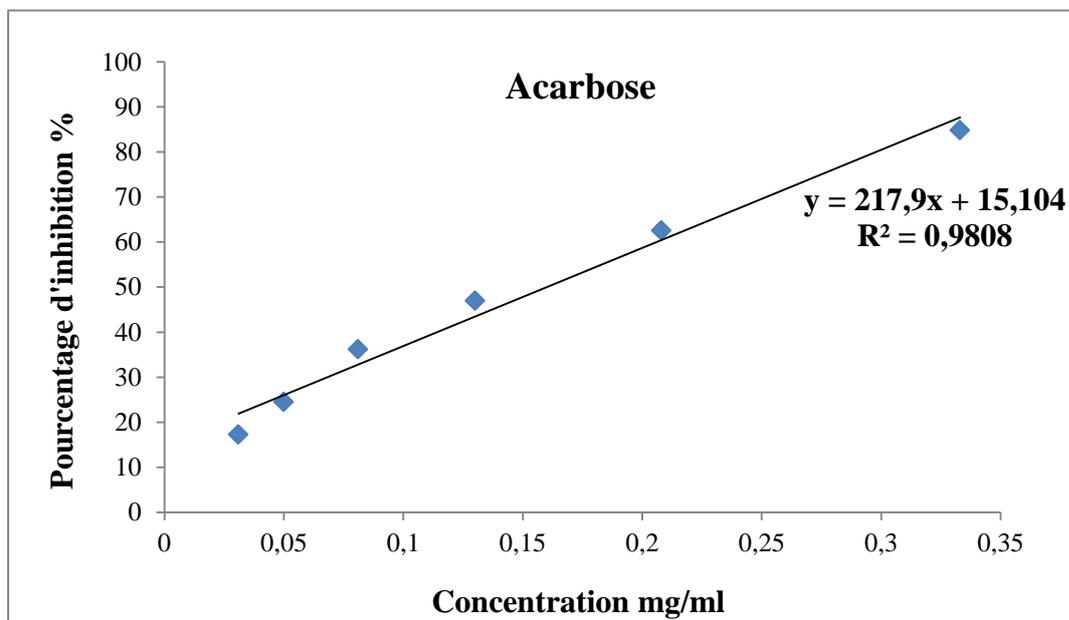


Figure 10 : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'acarbose sur l'α- amylase.

Dans cette étude, nous remarquons que l'acarbose présente un, pourcentage d'inhibition relativement très élevé avec une IC₅₀ de 0,16 mg/ml.

L'acarbose possède un puissant effet inhibiteur contre l'α-amylase, car l'acarbose est une molécule dont l'efficacité est déjà prouvée. C'est le principe actif d'un médicament qui est utilisé dans le traitement du diabète et qui inhibe de manière réversible les α-glycosidases et α-amylases intestinales (Faure, 2017; Scheen, 2015). Ce effet, peut retarder l'absorption des sucres complexes de manière que les pics d'hyperglycémie post prandiale se réduisent et s'étalent dans le temps (Khalifa et *al.*, 1998).

2.2. Gruyère et emmental

Les deux graphes ci-dessous (figure 11 et 12) représentent le pourcentage d'inhibition d'α-amylase en fonction des concentrations des extraits de fromage, gruyère et emmental.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré un pouvoir d'inhibition avec des valeurs d'IC₅₀ de 25,9 mg/ml, et 38,5 mg/ml respectivement,

Tableau 03 : Valeurs des IC₅₀ des extraits de fromage et l'acarbose

	Gruyère	Emmental	Acarbose
IC ₅₀ en mg/ml	38,5	25,9	0,16

Martini et al., (2021) ont étudié l'effet inhibiteur des peptides du fromage du parmesan sur l'activité enzymatique des amylases, des glucosidases et ainsi les dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) avec une valeur d'IC₅₀ d'ordre de 49,5±0,5 µmol/L , qui est relativement élevé par rapport au gruyère et l'emmental étudiés dans ce travail. De même, Patil et al., (2015) ont souligné un effet inhibiteur des extraits des protéines du lait sur les α-glucosidases avec une valeur d'IC₅₀ de 3,5, 4,5 mg/ml qui est généralement très faible par rapport à nos résultats.

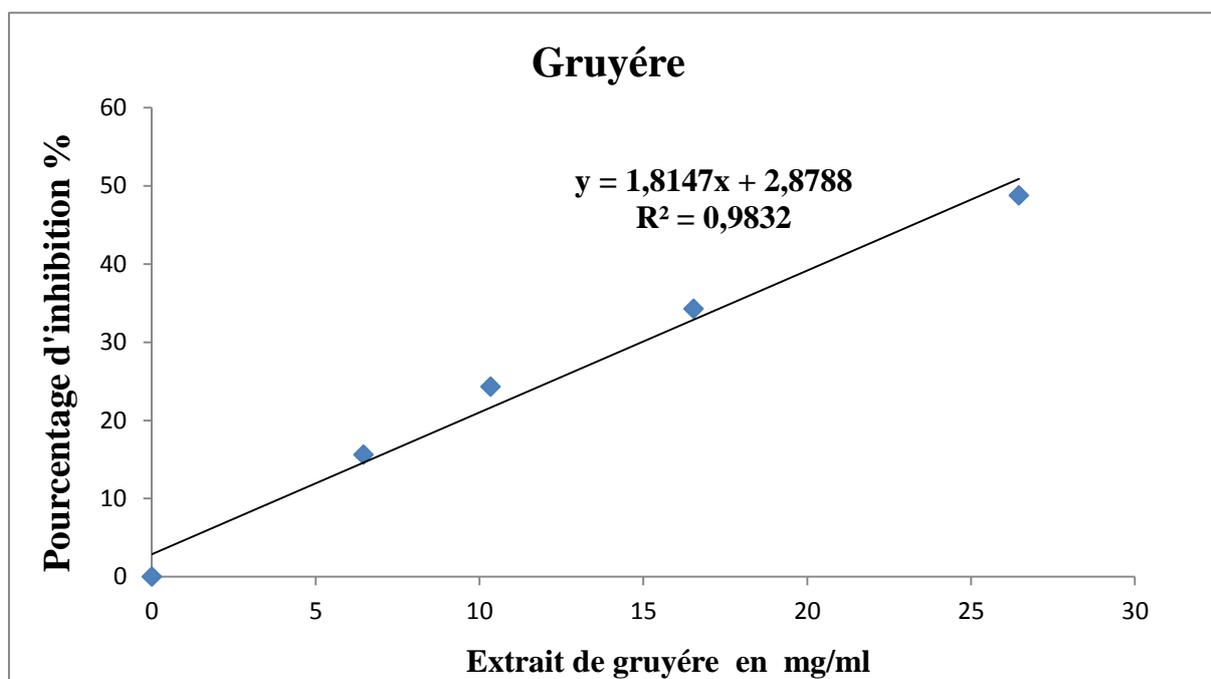


Figure 11 : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait de gruyère sur l'α-amylase

Le diabète sucré est une maladie métabolique chronique, qui est défini par une production défectueuse d'hormone d'insuline et par conséquence une élévation de taux de sucre dans le sang. Cette maladie est devenue actuellement l'une des principales problèmes de santé humaine dans le monde entier (Patil et al., 2015). En effet plusieurs études confirment

que l'inhibition des α - amylases et α -glucosidases jouent un rôle efficaces dans le traitement de cette maladie (Patil et *al.*, 2015) .

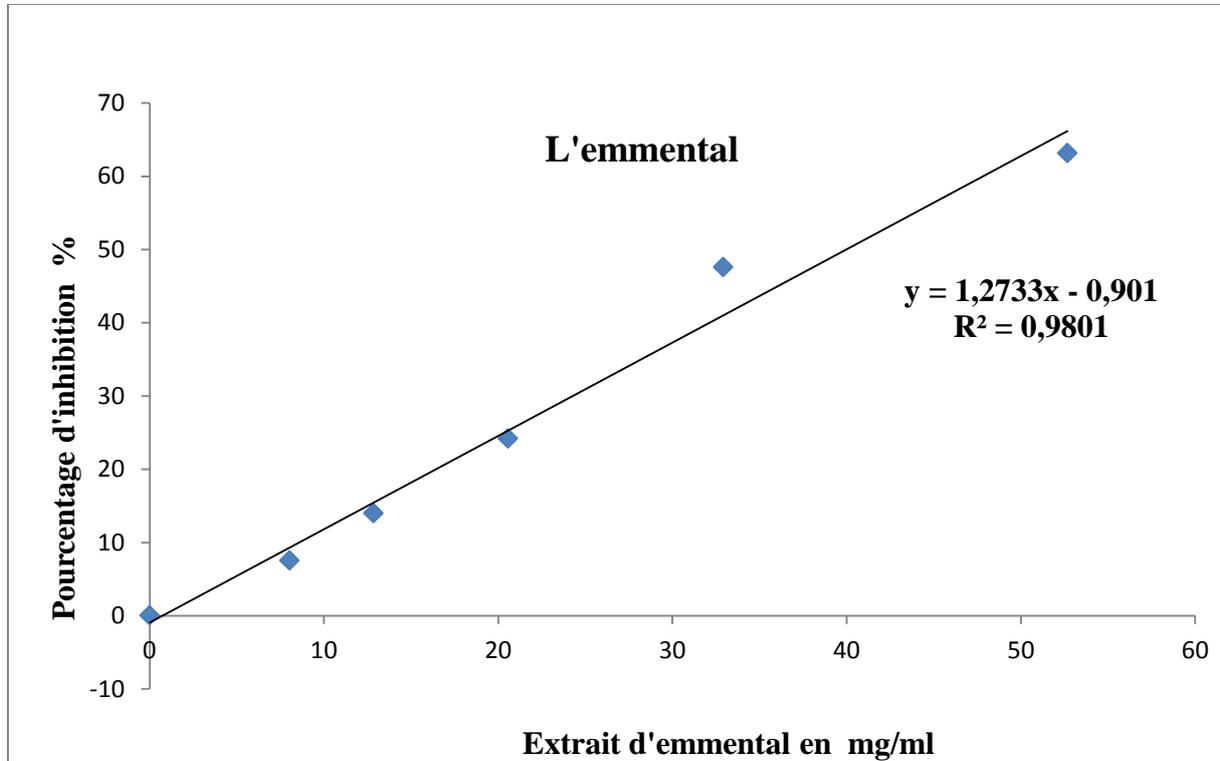


Figure 11 : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'extrait d'emmental sur l' α -amylase.

En outre, beaucoup des médicaments comme : l'acarbose, le miglitol et le miglitate sont considérés comme des traitements thérapeutiques chez les patients diabétiques, mais l'utilisation chronique de ces médicaments entraîne beaucoup des effets secondaires tel que : les nausées et les diarrhées, les crampes abdominales, la prise de poids et un risque élevé de pancréatite ; alors que la plupart des personnes peuvent même ne pas les tolérées (El-Sayed et Awad, 2019).

Pour ces raisons une approche thérapeutique naturelle dans la prévention et la prise en charge de diabète sans effets est devenue aujourd'hui, l'objet de recherche de la thérapie naturelle de cette maladie (Patil et *al.*, 2015 ; Korhonen, 2009).

Depuis l'antiquité, le lait est une molécule naturelle produite par les mammifères femelles qui est consommée grâce à sa valeur nutritionnelle. En plus de sa richesse en lipides, glucides, et protéines. Ce dernier, contient une grande variété de peptides bioactifs qui offrent

beaucoup des bienfaits pour la santé (El-Sayed et Awad, 2019; Pougheon & Goursaud, 2001; Genève, 2008) .

Par définition, ces peptides bioactifs sont des fragments spécifiques de protéines qui sont inactifs au sien de la protéine mère, et qui sont présentés dans les protéines de toutes les espèces laitières comme : les vaches, les chèvres etc... mais aussi dans plusieurs produits laitiers fermentés tel que : le yaourt, le lait caillé et le fromage (El-Sayed et Awad, 2019; Poth et al., 2008). Ces derniers pouvant être libérés des protéines de lait par voie gastro-intestinale, digestion du lait ou par maturation ou fermentation de lait avec des ferments protéolytiques (El-Sayed et Awad, 2019; Korhonen, 2009) , et une fois que se sont libérés et absorbés dans le corps, ces peptides peuvent exercer de multiples activités physiologiques comme antioxydant, antimicrobienne, antihypertenseur, mais également la régulation de la glycémie poste prandiale et la sécrétion d'insuline (El-Sayed et Awad, 2019; Patil et al., 2015).

En effet, l'activité biologique de ces peptides bioactifs du fromage résident principalement dans leur longueur de la séquence et sa composition inhérente en acides aminés. La taille de ces séquences est généralement variable de 2 à 20 résidus d'acides aminés (Patil et al., 2015 ; Korhonen, 2009). En outre plusieurs études récentes suggèrent que ces peptides jouent un rôle essentiel dans le contrôle et la réduction du risque de syndrome métabolique lié au diabète à travers plusieurs mécanismes (El-Sayed et Awad, 2019; Korhonen, 2009).

De plus, ces peptides bioactifs du fromage peuvent inhiber l'activité de la DPP-4, qui est une enzyme intervenant dans la dégradation des incrétines (GIP et GLP-1), hormones qui favorisent la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas. Cependant l'inhibition de cette enzyme augmente la demi-vie d'incrétines, ce qui favorise les activité hypoglycémiantes de ces deux enzymes (Patil et al., 2015 ; Röhrborn et al., 2015 ; Opinto et al., 2013).

Plusieurs études scientifiques confirment que les peptides bioactifs dérivés de protéines du lait possèdent un puissant effet dans l'inhibition des α -glucosidase car ces dernier agissent comme des inhibiteurs compétitifs qui peuvent se lier au site actif de cette enzyme par des liaisons hydrophobes, en provoquant ainsi l'inhibition de cette enzyme au niveau de tube digestif (El-Sayed & Awad, 2019 ; Patil et al., 2015). Nous pensons que les extraits étudiés dans ce travail pourraient agir d'une façon similaire en inhibant l' α -amylase c'est-à-dire par inhibition compétitive.

Résultats et discussion

A la lumière du présent travail, l'effet inhibiteur des extraits de fromages à pâte cuite reste non négligeable et mérite d'être reconduit par d'autres travaux.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le gruyère et l'emmental sont deux fromages à pâte pressée cuite de type suisse qui sont aujourd'hui très populaire et appréciés à l'échelle mondial non seulement pour leur goût mais également pour leur valeur nutritionnelle. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui a pour le but de tester d'éventuel effet inhibiteur de ces deux fromages sur l' α -amylase pancréatique porcine.

Les résultats que nous avons obtenus ont montré que ces fromages ont un pouvoir inhibiteur sur l' α -amylase avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre IC= 25,9 mg/ml et 38,5 mg/ml. Le pH des extraits est de l'ordre de 5,92 pour l'emmental et 5,2 pour le gruyère. Ce dernier présente une teneur en protéine égale à 6,31 \pm 0,170% alors que pour l'emmental elle est de l'ordre de 7,61 \pm 0.172%.

Les recherches sur ces produits laitiers notamment les molécules bioactives qui se retrouvent dans les fromages méritent d'être approfondies par d'autres études :

- Etudes des autres effets biologiques de ces fromages comme antioxydant, antimicrobien ...et leurs mécanismes d'action ;
- Identification des principes actifs présents dans les extraits de fromages et responsables des effets biologiques ;
- Evaluation des effets antidiabétiques de peptides bioactifs de ces fromages *in vivo* ;
- Evaluer les effets biologiques d'autres qualités de fromages.

Références bibliographiques

A.

1. Agence de la santé publique du Canada. (2011). Diabète au Canada. Perspective de santé publique sur les faits et chiffres.
2. Anonyme, Dairy Foods: Includes: Milk, Yogurt, and cheese, *encyclopedia of food* (p. 344-361). (2002).
3. Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus.
4. American Diabetes Association. (2015). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 38(Supplement_1), S8-S16. <https://doi.org/10.2337/dc15-S005>.
5. Diabetes Association. (2016). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 39(Supplement_1), S13-S22. <https://doi.org/10.2337/dc16-S005>.
6. American Diabetes Association. (2019). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes : *Standards of Medical Care in Diabetes—2019*. *Diabetes Care*, 42 (Supplement_1), S13-S28. <https://doi.org/10.2337/dc19-S002>.

B.

7. Bachmann, H.-P., Bütikofer, U., Fröhlich-Wyder, M.-T., Isolini, D., & Jakob, E. (2011). Cheese | Swiss-Type Cheeses. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (p. 712-720). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00085-6>.
8. Bakri, Y., Magali, M., & Thonart, P. (2009). Isolation and identification of a new fungal strain for amylase biosynthesis. *Polish Journal of Microbiology*, 58(3), 269.
9. Barlier, A., & Sablonnière, B. (2022). *Médecine moléculaire* (2e éd). Ellipses.
10. Battu, C. (2014). La prise en charge nutritionnelle d'un adulte atteint de diabète de type 2. *Actualités pharmaceutiques*, 53(533), 57-60.
11. Belhadj, M., Abrouk, S., Nadir-Azirou, D., Gari, S., & Nicolucci, A. (2016). Une clinique mobile pour évaluer le risque cardio-métabolique et détecter les complications du diabète en Algérie. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 10(2), 175-181.
12. Berry, D. R., & Paterson, A. (1990). Enzymes in the food industry. *Enzyme Chemistry: Impact and Applications*, 306-351.
13. Bintsis, T. (2021a). Yeasts in different types of cheese. *AIMS microbiology*, 7(4), 447.
- Bintsis, T. (2021b). Yeasts in different types of cheese. *AIMS microbiology*, 7(4), 447.

Références bibliographiques

14. Bintsis, T., et Papademas, P. (2017). An Overview of the Cheesemaking Process. In *Global Cheesemaking Technology* (p. 120 - 156). John Wiley et Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch0f>.
15. Brassier, Anaïs., Marie-charlotte brion, Laetitia compain, charles coutant, Nael lapidus, Géraldine skunik-minot, & Julien tilleul. (2008). *Endocrinologie, diabetologie, nutrition*. S-Éditions.
16. Brown, S. H., & Kelly, R. M. (1993). Characterization of amylolytic enzymes, having both α -1, 4 and α -1, 6 hydrolytic activity, from the thermophilic archaea *Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus litoralis*. *Applied and environmental microbiology*, 59(8), 2614-2621.
17. Buyschaert, M. (2018). Les sulfamidés hypoglycémiantes en 2018 : Généralités et spécificités. *Louv Med*, 137, 1-6.

C.

18. Carroll, R., & Lascève, C. (2012). *Fromages maison : La petite crèmerie home made*. Marabout.
19. Chen, M., Hu, C., & Jia, W. (2015). Pharmacogenomics of glinides. *Pharmacogenomics*, 16(1), 45-60.
20. Chevenne, D., & Fonfrède, M. (2001). Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 16(4), 215-229.
21. Codex Alimentarius., (2000). *Norme générale codex pour le fromage*. Lait et produits laitiers. 2ème édition, 12.
22. Codex STAN -269.(1967).Norme codex pour l'emmental.
23. Coolbear, T., Daniel, R. M., & Morgan, H. W. (1992). The enzymes from extreme thermophiles : Bacterial sources, thermostabilities and industrial relevance. *Enzymes and Products from Bacteria Fungi and Plant Cells*, 57-98.
24. Couic-Marinier, F. (2009). Du nouveau dans le traitement du diabète non insulino-dépendant avant le passage à l'insuline. *Actualités Pharmaceutiques*, 48(491), 34-37.

D.

25. Daneman, D. (2006). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513), 847-858.
26. Date, K., Satoh, A., Iida, K., & Ogawa, H. (2015). Pancreatic α -amylase controls glucose assimilation by duodenal retrieval through N-glycan-specific binding, endocytosis, and degradation. *Journal of Biological Chemistry*, 290(28), 17439-17450.

Références bibliographiques

27. Dauter, Z., Dauter, M., Brzozowski, A. M., Christensen, S., Borchert, T. V., Beier, L., Wilson, K. S., & Davies, G. J. (1999). X-ray structure of Novamyl, the five-domain “maltogenic” α -amylase from *Bacillus stearothermophilus* : Maltose and acarbose complexes at 1.7 Å resolution. *Biochemistry*, 38(26), 8385-8392.
28. David, C., & Boinet, T. (2018). Diabète de type 2 non équilibré et haut risque cardiovasculaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(573), 14-17.
29. Donnelly, C. W. (2014). Cheese and microbes. *Wiley Online Library*.
30. Dunoyer, C. (2019). Le processus de patrimonialisation d'un petit fromage de montagne, le persillé de Tarentaise. *In Situ. Revue des patrimoines*, 41.
31. Durand, G., & Beaudeau, J.-L. (2011). Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives (2e éd. revue et augmentée). *Médecine sciences publications-[Lavoisier]*.

E.

32. El-Fallal, A., Dohara, M. A., El-Sayed, A., & Omar, N. (2012). Starch and microbial α -amylases : From concepts to biotechnological applications. *Carbohydrates—Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology*, 459-488.
33. El-Sayed, M., & Awad, S. (2019). Milk Bioactive Peptides : Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Diabetic Activities. *Advances in Biochemistry*, 7(1), 22. <https://doi.org/10.11648/j.ab.20190701.15>
34. Everett, D. W., & Auty, M. A. (2008). Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, 18(7), 759-773.

F.

35. Farooq, M. A., Ali, S., Hassan, A., Tahir, H. M., Mumtaz, S., & Mumtaz, S. (2021). Biosynthesis and industrial applications of α -amylase : A review. *Archives of Microbiology*, 203, 1281-1292.
36. Faure, S. (2011). Glitazones. *Actualités Pharmaceutiques*, 50(507), 49-52.
37. Faure, S. (2017). Les inhibiteurs des alpha-glucosidases. *Actualités pharmaceutiques*, 56(571), 18-20.
38. Feeney, E. L., Lamichhane, P., & Sheehan, J. J. (2021). The cheese matrix : Understanding the impact of cheese structure on aspects of cardiovascular health—a food science and a human nutrition perspective. *International Journal of Dairy Technology*, 74(4), 656-670.

Références bibliographiques

39. Foretz, M., & Viollet, B. (2014). Les nouvelles promesses de la metformine-Vers une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action. *médecine/sciences*, 30(1), 82-92.
40. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L., Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). Fresh cheese products : Principals of manufacture and overview of different varieties. *Fundamentals of cheese science*, 543-588.
41. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. H. (2017). *Fundamentals of Cheese Science* (2nd ed. 2017). Springer US : Imprint: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7681-9>
42. Fox,P.F.,Mcsweeney,P.L.H.,Cogan,T.M., Guinée,T.P.(2020).Fromage : chimie, physique et Microbiologie.
43. Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (2017). Cheese : An Overview Cheese. *Chemistry, physics and microbiology*, 1.
44. Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., O'Mahony, J. A., Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Chemistry and biochemistry of cheese. *Dairy chemistry and biochemistry*, 499-546.
45. Franco, O. L., Rigden, D. J., R. Melo, F., Bloch Jr, C., Silva, C. P., & Grossi de Sá, M. F. (2000). Activity of wheat α -amylase inhibitors towards bruchid α -amylases and structural explanation of observed specificities. *European Journal of Biochemistry*, 267(8), 2166-2173.

G.

46. Genève. (1985). *Le Diabète sucré.organisation mondiale de la santé*.
47. Goldenberg, R., & Punthakee, Z. (2013). Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes*, 37, S369-S372.
48. Guinee, T. P., obrie & Fox, P. F. (2017). Salt in cheese : Physical, chemical and biological aspects. In *Cheese* (p. 317-375). Elsevier.
49. Guinee, T. P., et n,NM.(2018). Lait et produits laitiers: technologie, chimie et microbiologie. Springer.

H.

50. Halimi, S. (2017). Des innovations technologiques au service de l'injection d'insuline. *Médecine des maladies Métaboliques*, 11(5), 416-424.

Références bibliographiques

51. Hartmann, K., Licitra, G., Eugster-Meier, E., Fröhlich-Wyder, M.-T., Jakob, E., Wechsler, D., Maubois, J. L., Karatzas, K.-A. G., Bintsis, T., Alichanidis, E., Morales, M. B. L., Berthier, F., Uzunsoy, İ., Özer, B., & Ardö, Y. (2017). Hard Cheeses. In P. Papademas & T. Bintsis (Éds.), *Global Cheesemaking Technology* (p. 204-246). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119046165.ch2>

52. Hiteshi, K., & Gupta, R. (2014). Thermal adaptation of α -amylases: A review. *Extremophiles*, 18(6), 937-944. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0674-5>

I.

53. Ishikawa, K., Matsui, I., Kobayashi, S., Nakatani, H., & Honda, K. (1993). Substrate recognition at the binding site in mammalian pancreatic. Alpha.-amylases. *Biochemistry*, 32(24), 6259-6265.

J.

54. Jemaa, H. B., Jemia, A. B., Khelifi, S., Ahmed, H. B., Slama, F. B., Benzarti, A., Elati, J., & Aouidet, A. (2017). ANTIOXIDANT ACTIVITY AND A -AMYLASE INHIBITORY POTENTIAL OF ROSA CANINA L. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*, 14(2), 1-8. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.1>

55. Johan Wens, Patricia Sunaert, Frank Nobels, Luc Feyen, Paul Van Crombruggen, Hilde Bastiaens, & Paul Van Royen. (2007). Recommandations de bonnes pratique Diabète sucré de type 2 ,*société scientifique de médecine générale*.

56. Juliet Harbutt. (2010). *Le grand livre des fromages*.

K.

57. Kanakis, CD, Vasilakakis, M., et Polissiou, MG. (2016). Le fromage comme aliment fonctionnel: l'exemple de permesan. *Tendances en science et technologie alimentaires*, 57, 1-14.

58. Kandra, L., Gyémánt, G., Farkas, E., & Lipták, A. (1997). Action pattern of porcine pancreatic alpha-amylase on three different series of β -maltooligosaccharide glycosides. *Carbohydrate research*, 298(3), 237-242.

59. Kato, C. G., Gonçalves, G. de A., Peralta, R. A., Seixas, F. A. V., de Sá-Nakanishi, A. B., Bracht, L., Comar, J. F., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2017). Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions. *Enzyme Research*, 2017.

Références bibliographiques

60. Katsarou, A., Gudbjörnsdóttir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, Å. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature reviews Disease primers*, 3(1), 1-17.
61. Kaur, R., Kaur, N., & Gupta, A. K. (2014). Structural features, substrate specificity, kinetic properties of insect α -amylase and specificity of plant α -amylase inhibitors. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 116, 83-93.
62. Khalfa, s., Daoud, a., & Bouyahia, a. (1998). Le diabete sucre. Alger: Office des publicationsuniversitaires.
63. Khanal, B. K. S., Pradhan, M., & Bansal, N. (2019). Cheese : Importance and introduction to basic technologies. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 11, 14-24.
64. 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.
65. Kindstedt, P. S. (2014). The basics of cheesemaking. *Cheese and microbes*, 17-38.
- Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016a). *Cheese : Processing and sensory properties*.
66. Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016b). Cheese : Types of Cheeses – Hard. In *Encyclopedia of Food and Health* (p. 763-767). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00134-3>
67. Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides : From science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 177-187. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.01.007>
68. Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005). Oral antidiabetic agents : Current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 65, 385-411.
- L.**
69. Lamichhane, P., Kelly, A. L., & Sheehan, J. J. (2018). Symposium review : Structure-function relationships in cheese. *Journal of dairy science*, 101(3), 2692-2709.
70. LARPENT-GOURGAUD, M. & SANGLIER, J.J. (1992). Inhibitors of α -Amylase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1575-6000.
71. Legg, A. K., Carr, A. J., Bennett, R. J., & Johnston, K. A. (2017). General aspects of cheese technology. In *Cheese* (p. 643-675). Elsevier.
72. López-Expósito, I., Miralles, B., Amigo, L., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Health effects of cheese components with a focus on bioactive peptides. In *Fermented foods in health and disease prevention* (p. 239-273). Elsevier.

M.

73. M. J. Leto and W. K. H. Bode. (2006). *Chapter 9—The Cheeses (Les Fromages)* (p. Pages 270-280).
74. Majdi A.,(2009). "Les fromages AOP et IGP " , in séminaire sur les fromages AOP et IGP , INT- Ingénieur agronomie, 88p.
75. Malek, R. (2011). Épidémiologie du diabète en Algérie : Revue des données, analyse et perspectives. *Médecine des maladies Métaboliques*, 5(4), 29-33.
76. Mbarki, S., Abdelaziz, A. B., Hassine, D. B., Melki, S., Rejeb, N. B., Omezzine, A., Bouslama, A., & Abdelaziz, A. B. (2022). EPIDEMIOLOGIE DU DIABETE SUCRE EN TUNISIE. Etude Hammam Sousse Sahloul Heart Study (HSHS 2). *La Tunisie Médicale*, 100(3), 229.
77. Mbaya, A. L., & Amisi, C. M. (2021). Profil épidémiologique, clinique et facteurs de risque de diabète sucré. Cas de l'Hôpital Provincial Général de Référence de Kinshasa. *Congo Research Papers*, 1(7), 98-115.
78. McSweeney, P. L. H. (2003). CHEESES | Cheeses with 'Eyes'. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (p. 1087 - 1093). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00199-1>
79. McSweeney, P. L. H. et Sousa, MJ.(2000). voies biochimiques pour la production de composés aromatiques dans les fromages pendant l'affinage: une revue.Lait, 80,293-324.
80. Mobini-Dehkordi, M., & Javan, F. A. (2012). Application of alpha-amylase in biotechnology. *J. Biol. Today World*, 1(1), 39-50.
81. Monnier, L., Schlienger, J.-L., Claude, C., Abdelilah, E. A., & Driss, R. (2018). Manuel de nutrition pour le patient diabétique. Elsevier Masson.
82. Montel,M.C., Buchin,S.,Mallet,A.,Delbes-Paus,C.,Vuillon,D.A.(2014).Des fromages et des hommes :l'art de transformer le lait.édition Quae.
83. Mucchetti,G.,Neviani,E.,et Gatti, M.(2019). évolution de la protéolyse pendant l'affinage du fromage. *Journal international*,289,123-139.
84. Murtaza, M. A., Ur-Rehman, S., Anjum, F. M., Huma, N., & Hafiz, I. (2014). Cheddar cheese ripening and flavor characterization : A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(10), 1309-1321.

N.

Références bibliographiques

85. Noblet, B. (2012). Le lait : Produits, composition et consommation en France. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 47(5), 242-249.
86. Normand Bourgault, D.B.A. (2015). Pour une reconnaissance du terme valorisant FROMAGE FERMIER - *Étude de faisabilité*.
87. N.Y. Farkye. (2014). *CHEESE / Microbiology of Cheesemaking and Maturation* (p. 395-401).

O.

88. Ong,L et Shah,N.P.(2008).fromage cheddar probiotique:influence des températures d'affinage sur la survie des mico-organismes probiotiques,la composition du fromage et les profils d'acides organique.*LWT-food Science and Technology* ,41(9),1555-1566.
89. Opinto, G., Natalicchio, A., & Marchetti, P. (2013). Physiology of incretins and loss of incretin effect in type 2 diabetes and obesity. *Archives of physiology and biochemistry*, 119(4), 170-178.
90. Orban, J.-C., & Ichai, C. (2011). Complications métaboliques aiguës du diabète. In *Désordres métaboliques et réanimation* (p. 347-360). Springer.
- 91.organisation mondiale de la santé. (2016). *Rapport mondial sur le diabète*.

P.

92. P. DROUIN, J.F., BLICKLE, B., CHARBONNEL, E., ESCHWEGE, P.J., GUILLAUSSEAU, P.F, PLOUIN, J.M., BALARAC, J.P., DANINOS, N., & SAUVANET. (1999). Diagnostic et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabetes & Metabolism (Paris)*, 25, 72-83.
93. P. L. H. McSweeney. (2007a). Flavour, texture and flavour defects in hard and semi-cheeses. In *Cheese Problems Solved* (p. 189 - 207). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781845693534.189>
94. P. L. H. McSweeney. (2007b). Principal families of cheese. in *Food Science, Technology and Nutrition*, Pages 176-188, <https://doi.org/10.1533/9781845693534.176>
95. PASCALE, M., Alain, G., & Bénédicte, D. (2014). *Pathologie vasculaire du fond d'oeil/Rétinopathie diabétique (volume 3-coffret rétine)*. Lavoisier.

Références bibliographiques

96. Patil, P., Mandal, S., Tomar, S. K., & Anand, S. (2015). Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. *European Journal of Nutrition*, 54(6), 863-880. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-0974-2>.
97. Paul, J. S., Gupta, N., Beliya, E., Tiwari, S., & Jadhav, S. K. (2021). Aspects and recent trends in microbial α -amylase : A review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193, 2649-2698.
98. Pazur, J. H., & Marchetti, N. T. (1992). Action patterns of amylolytic enzymes as determined by the [1-14C] malto-oligosaccharide mapping method. *Carbohydrate research*, 227, 215-225.
99. Philippe, J. (2014). Quelle insuline pour quel patient en 2014? *Revue Medicale Suisse*, 10(433), 1230-1234.
100. Pillon, F., Tan, K., Jouty, P., & Frullani, Y. (2014). Le traitement médicamenteux du diabète de type 2. *Actualités pharmaceutiques*, 53(541), 23-28.
101. Portha, B. (2022). *Physiopathologie du diabète : Mécanismes d'une pandémie silencieuse*. Elsevier-Masson.
102. Pougheon, S., & Goursaud, J. (2001). Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G. *Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris*, 6, 566.
103. Payan.F.(2004). Structural basis for the inhibition of mammalian and insect α -amylases by plant protein inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta*,171-180. doi:10.1016/j.bbapap.2003.10.012.

R.

104. Röhrborn, D., Wronkowitz, N., & Eckel, J. (2015). DPP4 in diabetes. *Frontiers in immunology*, 6, 386.
105. Roussel, R. (2010). Traitement antidiabétique et insuffisance cardiaque. *La Lettre du cardiologue*, 438, 16-21.

S.

106. Saini, R., Saini, H. S., & Dahiya, A. (2017). Amylases : Characteristics and industrial applications. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1865-1871.
107. Sales, P. M., Souza, P. M., Simeoni, L. A., Magalhães, P. O., & Silveira, D. (2012). α -Amylase inhibitors : A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 141-183.

Références bibliographiques

- 108.** Sánchez-Macias, D., Morales-de-laNuez,A.,Castro-Cabrera, F.(2018).Fractions protéiques du lait et du fromage de chèvre et de brebis: une étude comparative.*Journal Dairy Science* 101:9292-9303.
- 109.** Scheen, A.-J. (2015). Antidiabétiques oraux dans le traitement du diabète de type 2 : Perspectives historique et médico-économique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 9(2), 186-197.
- 110.** Schomburg, D., Salzmann, M., Schomburg, D., & Salzmann, M. (1991). Enzyme handbook. Springer.
- 111.** Sciotto, L., & Jornayvaz, F. (2021). Inhibiteurs du SGLT2 : Que des bénéfiques? *Revue médicale suisse*, 17(741), 1072-1077.
- 112.** Shivendra, K., & Srijit, C. (2018). Amylases. *Enzymes in human and animal nutrition*, 163-180.
- 113.** Sigal, R. J., Armstrong, M. J., Bacon, S. L., Boulé, N. G., Dasgupta, K., Kenny, G. P., & Riddell, M. C. (2018). Activité physique et diabète. *Can J Diabetes*, 42(2), S54-S63.
- 114.** Sindhu, R., Binod, P., & Pandey, A. (2017). α -Amylases. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (p. 3-24). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00001-4>
- 115.** Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). A-Amylases from microbial sources—an overview on recent developments. *Food Technol Biotechnol*, 44(2), 173-184.
- 116.** Spinas, G. A., & Lehmann, R. (2001). Diabète sucré: Diagnostic, classification et pathogénèse. *Forum Med Suisse*, 20, 519-525.
- 117.** Stanley, G. (1998). Cheeses. In *Microbiology of fermented foods*. Springer, Boston, MA, 263-307.
- 118.** Sundarram, A., & Murthy, T. P. K. (2014). α -amylase production and applications : A review.*Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4), 166-175.
- 119.** Suzanne Fonteneau. (1997). *Comment faire les fromages*.
- T.**
- 120.** Thierry,A.,Maillard,M.-B.,Le Bihan,G., et Hébert,A.(2011). Formation d'arome de fromage .critiques alimentaires internationales,27(3),284-310.

Références bibliographiques

121. 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.

V.

122. Velázquez-Varela, J., Castro-Giraldez, M., Cuibus, L., Tomas-Egea, J. A., Socaciu, C., & Fito, P. J. (2018). Study of the cheese salting process by dielectric properties at microwave frequencies. *Journal of Food Engineering*, 224, 121-128.

123. Vilain, A.-C. (2010). Qu'est-ce que le lait? *Revue française d'allergologie*, 50(3), 124-127.

124. Vionnet, A. C., & Jornayvaz, F. R. (2015). Classification du diabète : Vers une hétérogénéité croissante. *Revue Médicale Suisse*, 11, 1234-1237.

W.

125. Walther, B., Schmid, A., Sieber, R., & Wehrmüller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 389-405 ,DOI: 10.1051/dst:2008012 .

126. Whitcomb, D. C., & Lowe, M. E. (2007). Human pancreatic digestive enzymes. *Digestive diseases and sciences*, 52, 1-17,DOI 10.1007/s10620-006-9589-z .

Y.

127. Y Ardo". (2016). *Blue Mold Cheese "*. *Reference Module in Food Sciences*, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00657-0>

128. Yamazaki, D., Hitomi, H., & Nishiyama, A. (2018). Hypertension with diabetes mellitus complications. *Hypertension Research*, 41(3), 147-156. <https://doi.org/10.1038/s41440-017-0008-y>

129. Reference à la publication du cahier des charges (article 5, paragraphe 7, du règlement (CE) n° 510/2006), <https://www.inao.gouv.fr/fichier/CDCIGPGruyere.pdf>.