

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, Synthèse et activité  
biologique de la faculté SNV-STU



MÉMOIRE

Présenté par

**FATMI Hadjer**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Evaluation de l'effet antidiabétique du  
Camembert : étude *in vitro*

Soutenu le : 13/06/2024, devant le jury composé de :

Présidente : Mme BOUCHRIT Z.

Professeur

Université de Tlemcen

Encadrante : Mme MEDJDOUB H.

MCA

Université de Tlemcen

Examineur : Mr CHAOUICHE M.T

MCA

Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2023/2024**

# **Remerciements**

Tout d'abord, je remercie Dieu, le tout puissant, le plus miséricordieux, de m'avoir donné la santé et la volonté d'achever ce travail.

J'adresse mes profonds remerciements à mon encadrante **Mme MEDJDOUB H.** maître de conférences A à la faculté des sciences de la nature et de la vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour tous ses efforts et ses conseils du début jusqu'à la fin de ce projet.

Un grand merci également à **Mme BOUCHERIT Z.** Professeur à l'université de Tlemcen faculté SNV-STU d'avoir accepté de présider le jury. C'est un honneur pour moi de juger mon travail.

Mes profonds remerciements s'adressent à **Mr CHAOUCHE M. T** Maitre de conférences A au département de Biologie, université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.

Enfin, mes remerciements s'adressent à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.



**Merci**

## Dédicaces

J'ai l'immense plaisir de dédier ce travail :

À mon très chers père **Youcef** tu as toujours été pour moi le bon exemple du père respectueux, honnête, grâce à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, je te remercie pour ton amour, ta générosité, ton soutien, de m'encourager et tes sacrifices que tu as déployés pour mon éducation, que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

À ma très chère mère **Fatima** aucune phrase ou mots ne peuvent exprimer le degré d'amour et ton sacrifice et d'affection que j'éprouve pour toi, tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes coté pour me conseiller quand il fallait ; puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

À mes sœurs que j'adore **Meriem** et **Hadil** pour leurs sacrifices, soutien et affection je vous aime beaucoup.

À mes chers frères **Abdelhak** et **Ibrahim** merci pour votre amour et votre soutien je vous souhaite une vie pleine de succès et de réalisations.

À ma grand-mère et ma tante je souhaiterais que tu viennes aujourd'hui avec moi, vous avez été toujours motivées et réjouie de mes réalisations, vous n'êtes plus avec nous, que Dieu vous accueille dans son paradis.

À toute ma famille **FATMI** et **BAREK** sans exception : oncles, tantes, cousins et cousines et grand parents.

À mes petites nièces **Aya** et **yakín**.

À tous mes collègues Et à tous ceux qui ont participé avec mon soutien de près ou de loin.

Merci à vous tous.

## Résumé

Le diabète est une maladie grave, dont les complications peuvent être dévastatrices, et qui frappe à tout âge partout dans le monde ; c'est un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion d'insuline et/ou de l'action de l'insuline. Pour traiter le diabète, on peut souvent la diminuer l'absorption intestinale du glucose par l'inhibition d'enzymes digestives telle que l' $\alpha$ -amylase comme approche thérapeutique.

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'effet inhibiteur de l' $\alpha$ -amylase porcine par les extraits aqueux du fromage camembert à base de lait (CV) de vache et de chèvre (CC). Pour chaque fromage un extrait est préparé par macération (Extrait 1) et un autre par sonication (Extrait 2).

Les valeurs du pH des extraits 1 et 2 de CV ainsi que 1 et 2 de CC sont 7,54 ; 7,57 ; 6,38 et 6,63. Ce qui laisse remarquer que les extraits de CC sont plus acides que ceux de CV ; la différence est significative. L'extrait 1 CC contient plus de protéines que l'extrait 1 de CV (7,86% contre 6,31%). De même, l'extrait 2 de CC a une teneur en protéines supérieure à celui de l'extrait 2 de CV (3,99% contre 3,51%). Les tests *in vitro* sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase ont révélé un effet inhibiteur pour les extraits de camembert. L'extrait 1 de camembert de vache a montré une  $IC_{50}$  d'environ 41,43 mg/ml, tandis que l'extrait 2 a montré une  $IC_{50}$  d'environ 60,04 mg/ml. Les extraits de Camembert de chèvre ont respectivement des  $IC_{50}$  de 10,14 mg/ml et 33,08 mg/ml, donc une efficacité inférieure à l'acarbose dont l' $IC_{50}$  est de 0,176 mg/ml. Ces résultats suggèrent que les composés du CC1 pourraient contribuer à l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, ce qui pourrait être bénéfique pour la gestion du diabète.

**Mots clés :**  $\alpha$ -amylase, Inhibition, camembert de vache, camembert de chèvre, diabète sucré.

# *Abstract*

Diabetes is a serious disease with potentially devastating complications that affect people of all ages worldwide. It is a metabolic disorder characterized by high blood sugar levels due to a defect in insulin secretion and/or insulin action. To treat diabetes, the absorption of glucose in the intestines can often be reduced by inhibiting digestive enzymes such as  $\alpha$ -amylase as a therapeutic approach. The objective of this work is to evaluate the inhibitory effect of porcine  $\alpha$ -amylase by the aqueous extract of camembert cheese, made from cow's milk and goat's milk. An extract is prepared by soaking (Extract 1), and another by using an ultrasonic homogenizer (Extract 2) for Extracts 1 and 2 from cow's milk camembert, as well as extracts 1 and 2 from goat's milk camembert, the pH values are 7.54 ; 7.57 ; 6.38 and 6.63 respectively. The extracts of goat camembert are more acid than those of cow camembert. This difference is statistically significant. Goat camembert extract number 1 contains a higher percentage of protein compared to cow camembert extract number 1 (7.86% versus 6.31%). Similarly, goat camembert extract 2 contains a higher protein concentration compared to cow camembert extract 2 (3.99% versus 3.51%).

The bioassays on  $\alpha$ -amylase activity showed an inhibitory effect with goat camembert extracts.

The extract of cow camembert number 1 showed a value of  $IC_{50}$  approximately 41.43 mg/ml. The extract 2 showed a value of  $IC_{50}$  approximately 60.04 mg/ml

The extracts of goat camembert showed values of 10.14 mg/ml and 33.08 mg/ml, respectively, indicating lower potency compared to acarbose at 0.176 mg/ml. These results suggest that the compounds present in goat cheese extract number 1 may contribute to the inhibition of  $\alpha$ -amylase, which could be beneficial in managing diabetes.

**Keywords:**  $\alpha$ -amylase; Inhibition; Cow camembert; Goat camembert; Diabetes.

## ملخص

مرض السكري هو مرض خطير مع مضاعفات مدمرة محتملة تؤثر على الناس من جميع الأعمار في جميع أنحاء العالم وهو اضطراب أيضي يتميز بوجود ارتفاع السكر في الدم بسبب خلل في إفراز الأنسولين و/أو عمل الأنسولين. لعلاج مرض السكري، يمكن أن يقلل غالبًا من امتصاص الجلوكوز المعوي عن طريق تثبيط إنزيمات الجهاز الهضمي مثل ألفا أميلاز كنهج علاجي.

يهدف العمل الحالي إلى تقييم التأثير التثبيطي لإنزيم ألفا أميلاز الخنازير بواسطة المستخلص المائي لجبن الكاممبير لكل جبن، المصنوع من حليب البقر والماعز يتم تحضير مستخلص عن طريق النقع (مستخلص 1) وآخر عن طريق جهاز المجانسة بالموجات فوق الصوتية (مستخلص 2).

قيم لدرجة الحموضة وهي لمستخلصات 1 و2 من جبن الكاممبير البقري وكذلك 1 و2 من جبن كاممبير الماعز، 7.54، 7.57، 6.38 و 6.63. يلاحظ أن مستخلصات جبن كاممبير الماعز أكثر حموضة من تلك الخاصة بجبن الكاممبير البقري؛ الفارق يعتبر ذو دلالة إحصائية. يحتوي مستخلص جبن كاممبير الماعز رقم 1 على نسبة أعلى من البروتين مقارنةً بمستخلص جبن الكاممبير البقري رقم 1 (7.86% مقابل 6.31%). وبالمثل، يحتوي مستخلص جبن كاممبير الماعز رقم 2 على تركيز أعلى من البروتين مقارنةً بمستخلص جبنة الكاممبير البقري رقم 2 (3.99% مقابل 3.51%) أظهرت الاختبارات الحيوية على نشاط الألفا أميلاز تأثيراً مثبطاً لمستخلصات الكاممبير. (%)

أظهر مستخلص جبن الكاممبير البقري رقم 1 قيمة  $IC_{50}$  تبلغ حوالي 41.43 ملغ/مل. في حين أظهر مستخلص رقم 2 قيمة  $IC_{50}$  تبلغ حوالي 60.04 ملغ/مل.

أما مستخلصات جبن كاممبير الماعز فقد سجلت قيم تبلغ على التوالي 10.14 ملغ/مل و 33.08 ملغ/مل مما يدل على فعالية أقل مقارنةً بالأكاربوز الذي يبلغ 0.176 ملغ/مل. هذه النتائج تشير إلى أن المركبات الموجودة في جبن كاممبير الماعز من المستخلص رقم 1 قد تساهم في تثبيط الألفا أميلاز، مما يمكن أن يكون مفيداً في إدارة مرض السكري.

**الكلمات المفتاحية:** ألفا أميلاز، تثبيط، الكاممبير البقري، كاممبير الماعز، مرض السكري.

## Liste figures

<b>Figure 1</b> : Structure de l'insuline .....	3
<b>Figure 2</b> : Physiopathologie du diabète de type 1 .....	4
<b>Figure 3</b> : Physiopathologie du diabète de type 2.....	4
<b>Figure 4</b> : Structure de l' $\alpha$ amylase.....	8
<b>Figure 5</b> : composition moyenne de camembert.....	14
<b>Figure 6</b> . Fromage à pâte molle type Camembert.....	15
<b>Figure 7</b> . Fromage à pâte persillée type Roquefort.....	15
<b>Figure 8</b> . Les fromages à pâte pressée.....	16
<b>Figure 9</b> : étape de fabrication de camembert.....	17
<b>Figure 10</b> : étapes de fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert.....	19
<b>Figure11</b> : camembert à base de lait de chèvre .....	20
<b>Figure12</b> : camembert à base de lait de vache .....	20
<b>Figure13</b> : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine.....	26
<b>Figure 14</b> : Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'acarbose sur l' $\alpha$ - amylase....	29
<b>Figure 15</b> : Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 1 CV sur l' $\alpha$ -amylase...	30
<b>Figure 16</b> : Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 1 CC sur l' $\alpha$ -amylase...	30
<b>Figure 17</b> : Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 2 CV sur l' $\alpha$ -amylase...	31
<b>Figure 18</b> : Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 2 CC sur l' $\alpha$ -amylase...	32

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Les complications microvasculaires.....	6
<b>Tableau 2</b> : Quelques propriétés des $\alpha$ -amylases.....	11
<b>Tableau 3</b> : Tableau de comparaison de composition du lait de vache et de chèvre ....	13
<b>Tableau 4</b> : Caractérisation biochimique des extraits.....	26
<b>Tableau 5</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> des extraits de fromage et l'acarbose.....	33

## Liste des abréviations

**CV** : Camembert de vache

**CC** : Camembert de chèvre

**DT1** : diabète de type 1.

**DT2**:diabetes de type 2.

**MODY**: Maturity Onset Diabetes of the Youth.

**AVC** : Accident vasculaire cérébral.

**ACD** : Acidocétose diabétique.

**SHH** : syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire.

**pH** : potentiel hydrogène.

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**°C** : Degré Celsius.

**OMS** : l'Organisation Mondiale pour la Santé.

**FID** : Fédération Internationale du Diabète.

**DNSA** : Acide 3,5-dinitrosalicylique.

**PPA** : Amylase du pancréas du porc.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice médiane.

**SAB** : Sérum d'Albumine Bovine.

**PNDS** : Protocole National de Diagnostic et de Soins.

**GLP-1** : Glucagon-like peptide-1.

# Table des matières

1	Introduction.....	1
---	-------------------	---

## **Première partie : Données Bibliographique**

### **chapitre 01 : diabète sucré**

1	Diabète sucré.....	3
2	L'insuline.....	3
3	Classification du diabète.....	4
3.1	Diabète de type 1.....	4
3.2	Diabète de type 2.....	4
3.3	Le diabète gestationnel.....	5
3.4	Autres types de diabète sucré.....	5
4	Les complications du diabète.....	5
4.1	Complications cardiovasculaires.....	5
4.2	Les complications microvasculaires.....	5
4.3	Complications aiguës.....	6
5	Traitement.....	6
5.1	Les antidiabétiques oraux.....	6
5.2	Insulinothérapie.....	7
5.3	Traitement du diabète par les plantes.....	7

### **chapitre 02 : $\alpha$ -amylase**

1	L' $\alpha$ -amylase.....	8
2	Nomenclature.....	8
3	Caractéristiques structurelles et fonctionnelles de l' $\alpha$ -amylase.....	8
4	Rôle de l' $\alpha$ -amylase dans la digestion des sucres.....	9
5	Mécanisme d'action.....	9
6	L'inhibition d' $\alpha$ -amylase.....	10
7	Origine d' $\alpha$ -amylase.....	10
8	Caractéristiques d' $\alpha$ amylase.....	10
8.1	Température optimum.....	10

8.2	Poids moléculaire .....	11
8.3	pH optimum .....	11

### **chapitre 03 : camembert**

1	Lait : une matière première pour la production de fromage .....	12
2	Le fromage .....	13
2.1	Le camembert .....	13
3	La classification des fromages .....	14
3.1	Fromages à pâte molle .....	14
3.2	Fromage à pâte persillée .....	15
3.3	Fromage à pâte pressée .....	16
3.4	Les fromages frais ou fromages à pâte fraîche .....	16
4	Modalités générales de la fabrication .....	16
4.1	La coagulation .....	16
4.2	Moulage .....	17
4.3	Egouttage .....	17
4.4	Salage.....	17
4.5	L'affinage .....	18

## **Deuxième partie : Partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

1	Objectif .....	20
2	Fromage .....	20
3	Préparation des extraits de fromages .....	20
3.1	Extrait 1 .....	20
3.2	Extrait 2 .....	21
4	Caractérisations des fromages.....	21
4.1	Mise en évidence des acides aminés à la ninhydrine.....	21
4.2	Mesure de pH.....	21
4.3	Détermination de la concentration massique .....	21
4.4	Dosage des protéines .....	22
4.4.1	Principe .....	22
4.4.2	Dosage .....	22
5	Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits du fromage sur l' $\alpha$ -amylase.....	23
5.1	Réactifs utilisés.....	23

5.1.1	Solution tampon phosphate (pH 6,9, 0,02M).....	23
5.1.2	Solution d'α-amylase .....	23
5.1.3	Solution de substrat.....	23
5.1.4	Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique).....	23
5.1.5	Solution de l'acarbose.....	24
5.2	Mode opératoire.....	24

## **Résultats et discussion**

1	Caractérisation des extraits .....	26
1.1	Teneur en protéine .....	26
1.2	pH .....	27
1.3	Concentration massique.....	28
2	Effet inhibiteur des extraits de camembert sur l'α-amylase .....	28
2.1	Acarbose .....	28
2.2	Extrait 1 camembert de vache .....	29
2.3	Extrait 1 camembert de chèvre .....	30
2.4	Extrait 2 camembert de vache .....	31
2.5	Extrait 2 camembert de chèvre .....	31
	Conclusion .....	35
	Références bibliographique.....	36

## Introduction

---

Ces dernières années, le diabète représente un véritable problème de santé publique. Selon la fédération internationale de diabète, le nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde est d'environ 463 millions avec plus de 5 millions de décès par an (**FID, 2019 ; FID, 2017**).

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par la présence d'une hyperglycémie chronique. Elle se traduit par le fait que le glucose est incapable d'entrer à l'intérieur des cellules résultant d'un déficit de sécrétion d'insuline ce qui entraîne progressivement des dommages importants aux vaisseaux sanguins, cœur, yeux, reins et aux nerfs (**Chevenne et Fonfrède, 2011 ; OMS, 2016**).

La metformine, les sulfonylurées, les inhibiteurs du SGLT2 et les agonistes du GLP-1 sont des médicaments pour traiter le diabète de type 2. Les besoins et les circonstances particulières de la personne, tels que son âge, son poids et d'autres problèmes de santé, influencent le choix du médicament (**Scheen et al., 2007**). Malheureusement, ces traitements ne permettent pas de guérir la maladie et ils s'associent à des effets secondaires indésirables sur la santé (**Michelle de Sales et al., 2012 ; Li et al., 2019**).

La dégradation des glucides complexes en sucres simples est catalysée par l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, qui jouent un rôle vital dans la digestion (**Mercier, 1985**). Cependant, la capacité de certains aliments à moduler l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase est un domaine de recherche émergent qui peut influencer la régulation de la glycémie et d'autres processus métaboliques (**Korhonen, 2009**).

Les fromages offrent un terrain d'étude particulièrement fascinant en raison de leur effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase et leur richesse en peptides bioactives (**Korhonen, 2009**).

Le travail réalisé par **Kebaha(2023)** sur le camembert a montré un effet inhibiteur de ses extraits comparés avec les résultats trouvés par **Kadri (2023)** sur l'Edam et le Gouda. De ce fait, cette étude se concentre sur l'effet inhibiteur du fromage camembert à base de lait de vache et de chèvre sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase porcine.

Pour ce faire, deux méthodes d'extraction aqueuse sont choisies, la macération et la sonication.

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

**DONNEES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# **Chapitre01**

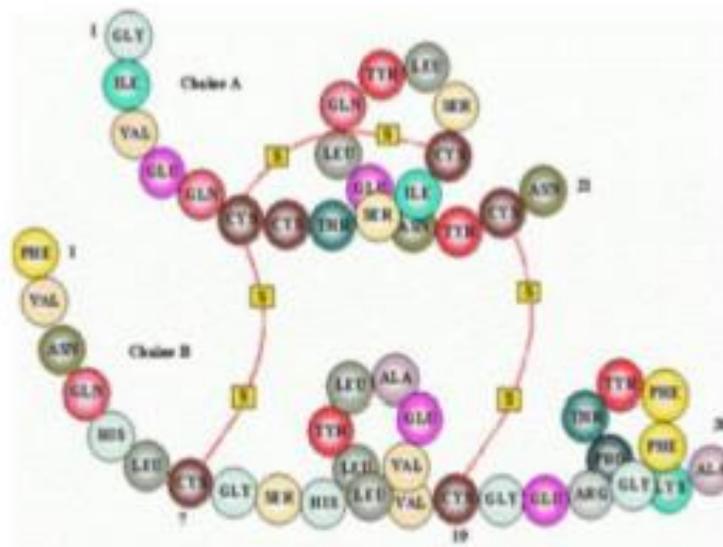
## **Diabète sucré**

## 1. Diabète sucré

Le diabète sucré est une maladie reconnue par la concentration excessive du glucose défini comme affection métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique ( $>1,26\text{g/l}$  ou  $7\text{ mmol}$ ) résultant d'un déficit de sécrétion ou de l'action d'insuline (**Chevenne et Fonfrède, 2001**).

## 2. L'insuline

L'insuline est une hormone polypeptidique de 51 acides aminés (**figure1**), indispensable à la vie et aux grands équilibres métaboliques elle est sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de langerhans ; composée de deux chaînes d'acides aminés : une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés. Elles sont reliées entre elles par deux ponts disulfures (**figure1**). Le principal rôle de l'insuline est le transport du glucose, qui sera redistribué vers des organes cibles pour être stocké sous forme de glycogène (muscles, adipocytes et foie) donc elle est cruciale pour la régulation de la glycémie (**Fougere et al., 2021**).



**Figure 1 :** Structure de l'insuline (**Sanger, 1955**).

### 3. Classification du diabète

Les différentes sortes de diabète sucré ont globalement les mêmes conséquences, mais leurs origines sont très différentes. L'identification des causes du diabète est cruciale (Altman et al., 2012).

#### 3.1 Diabète de type 1

Ce type de diabète résulte d'une réponse auto-immune qui cible les cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques au moment où l'hyperglycémie devient cliniquement apparente, environ 80% des cellules  $\beta$  sont déjà touchées. Cependant, le processus auto-immun affectant ces cellules commence des années avant l'apparition clinique du diabète. C'est une maladie silencieuse qui débute souvent vers le jeune âge (enfance ou adolescence). 50% des patients atteints de diabète de type 1 sont diagnostiqués après leur vingtième année.

Les personnes atteintes de ce type de diabète ne peuvent survivre sans insuline donc ont besoin d'insuline quotidiennement pour contrôler leur glycémie (Spinass et Lehman, 2001).



Figure 2 : Physiopathologie du diabète de type 1 (Anonyme 2).

#### 3.2 Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est la forme la plus répandue de diabète : 85 à 90 % des diabétiques en sont atteints. Le diabète de type 2 se caractérise typiquement par la découverte fortuite d'une hyperglycémie chez un sujet de plus de 40 ans avec un surpoids ou ayant été obèse, avec surcharge pondérale de prédominance abdominale. Le plus souvent on retrouve une hérédité familiale de diabète de type 2 (Fazili et al., 2022 ; Gallienne, 2005).



**Figure 3 :** Physiopathologie du diabète de type 2 (Anonyme 2).

### 3.3 Le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est une affection généralement temporaire qui se développe pendant la grossesse et est associée à un risque accru de diabète de type 2 à long terme. Le dépistage du diabète gestationnel se fait lors des consultations prénatales et ne repose pas uniquement sur la déclaration de symptômes (OMS, 2016).

### 3.4 Autres types de diabète sucré

Il existe également quelques types moins courants de diabète responsable d'environ 1 à 5 % de tous les cas de diabète tels que le diabète MODY-GCK qui peut être confondu avec un DT1 débutant, mais la négativité des auto-anticorps et la stabilité de l'hyperglycémie permettent de différencier ces deux types de diabète (PNDS, 2022 ; Fendler et al, 2012).

## 4. Les complications du diabète

Les complications du diabète peuvent affecter divers organes et systèmes du corps. Voici une liste des complications courantes associées au diabète :

### 4.1 Complications cardiovasculaires

Le diabète augmente le risque de maladies cardiovasculaires telles que les maladies coronariennes, les accidents vasculaires cérébraux (AVC), les maladies vasculaires périphériques, et l'hypertension artérielle (Schlienger, 2013).

### 4.2 Les complications microvasculaires

Les complications microvasculaires du diabète sont des problèmes qui affectent les petits vaisseaux sanguins, notamment les capillaires (Tableau1). Ces complications surviennent principalement chez les personnes atteintes de diabète de type 1 ou de type 2 qui ne parviennent pas à contrôler leur glycémie de manière adéquate sur une longue période (Beer et al., 2005).

**Tableau 1 : Les complications microvasculaires (Beer et al., 2005).**

<b>Tableau 1. Dépistage des complications microvasculaires dans le diabète de type 2</b>		
	<b>Quand</b>	<b>Comment</b>
<b>Néphropathie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lors du diagnostic de diabète de type 2</li> <li>Annuellement si normal</li> <li>Répéter dans un délai de 3 à 6 mois si pathologique pour poser le diagnostic d'albuminurie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mesure du rapport albumine/créatinine (A/C) sur un spot de la 2<sup>e</sup> urine du matin</li> <li>2/3 examens pathologiques dans un délai de 3-6 mois</li> </ul>
<b>Rétinopathie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lors du diagnostic de diabète de type 2</li> <li>Annuellement si normal</li> <li>Aux six mois ou en fonction des indications de l'ophtalmologue si présence d'une rétinopathie</li> </ul>	Examen du fond d'œil dilaté par un ophtalmologue
<b>Examen podologique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lors du diagnostic de diabète de type 2</li> <li>Annuellement en absence de troubles sensitifs</li> <li>Contrôle bi-annuel en présence de troubles sensitifs</li> <li>Contrôle trimestriels en présence de trouble sensitif avec atteinte vasculaire ou déformation orthopédique.</li> <li>Contrôles mensuels ou à chaque consultation lors d'antécédents de mal perforant</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluation de la qualité des phanères, recherche des poulx périphériques, observation des zones d'hyperappuis, de kératose et des déformations orthopédiques.</li> <li>Recherche des mycoses interdigitales et des onychomycoses</li> <li>Evaluation des chaussures du patient</li> <li>Tester la pallesthésie avec le diapason</li> <li>Tester la sensibilité sur les principaux points d'appuis plantaires avec le monofilament de 10 g de Semmes-Weistein</li> </ul>

### 4.3 Complications aiguës

Le diabète présente souvent des complications aiguës qui nécessitent une admission aux urgences et en réanimation. Des complications hyper glycémiques du diabète sont généralement les acidocétoses diabétiques (ACD) et le syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire (SHH) (Levrant et al., 1999 ; Ichai et al., 1999).

L'ACD Environ 4 à 9 % des cas d'hospitalisation des diabétiques sont dus à cette complication. L'ACD est caractérisé par une hyperglycémie et une acidose métabolique organique due à une hyper-cétonémie (Kitabchi et al., 2006).

L'hypoglycémie est l'une des complications métaboliques les plus courantes du diabète. Les symptômes cliniques de l'hypoglycémie impliquent une activation du système nerveux autonome et une privation de glucose cérébral. Les manifestations vont de l'anxiété, des palpitations et de la transpiration à des symptômes neurologiques graves tels que confusion, convulsions et éventuellement coma (Orban et Ichai, 2011).

## 5. Traitement

### 5.1 Les antidiabétiques oraux

Les antidiabétiques oraux n'entraînent la normalisation de la glycémie que dans moins de 50% des cas, sont des médicaments prescrits pour le traitement du diabète de type 2. Ils sont

souvent utilisés en complément d'un régime alimentaire approprié, de l'exercice physique et d'autres mesures de gestion du mode de vie (**Tossou et al., 1995**).

Il repose sur les antidiabétiques oraux qui sont :

Des biguanides comme metformine (ils ont une action anti-hyperglycémie sans risque d'hypoglycémie).

Des sulfamides hypoglycémiantes comme glibenclamide et gliclazide (stimulent la production d'insuline au niveau de pancréas mais avec le risque d'hypoglycémie)

Des inhibiteurs des  $\alpha$ -glucosidases comme acarbose et miglitol qui retardent l'absorption des glucides après un repas (ils ne provoquent pas d'hypoglycémie) (**Anonyme3**).

## 5.2 Insulinothérapie

L'insulinothérapie est un élément essentiel dans la gestion du diabète utilisée seule ou en association à des antidiabétiques oraux. Les doses et les types d'insuline varient en fonction des besoins individuels de chaque patient, de son mode de vie, de son régime alimentaire et d'autres facteurs cette thérapie doit être soit transitoire soit définitive (**Benammar et Chatouani, 2009**).

## 5.3 Traitement du diabète par les plantes

Plusieurs plantes connues avoir un effet antidiabétique comme *Catharanthus roseus* (*Apocyanaceae*), *Phyllanthus amarus* (*Euphorbiaceae*), *Momordica charantia* (*Cucurbitaceae*), *Azadirachta indica* (*Meliaceae*), *Nauclea latifolia* (*Rubiaceae*), *Vernonia colorata* (*Asteraceae*) et *Bridelia ferruginea* (*Euphorbiaceae*). Elles sont utilisées sous forme de décoction, d'infusion, d'extraits alcoolique ou aqueux etc...La posologie est variable selon la plante. Une grande partie de la population diabétique s'oriente vers la médecine traditionnelle pour soulager l'état diabétique (**Tossou et al., 1995**).

# **Chapitre 02**

## **L' $\alpha$ -amylase**

### 1. L' $\alpha$ -amylase

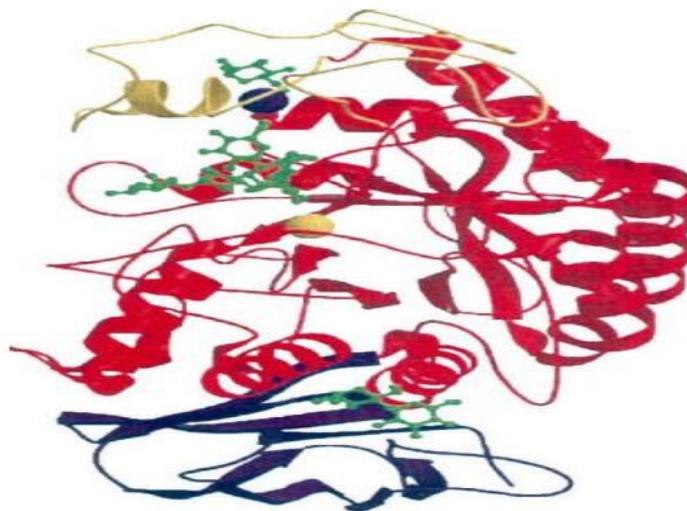
L' $\alpha$ -amylase est une enzyme responsable de la dégradation des polysaccharides de la famille des endoglucosidases, Est un constituant du suc pancréatique et de la salive, requis pour le catabolisme des glucides à longue chaîne (comme l'amidon) en unités plus petites, Il catalyse également l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) glycosidiques dans l'amidon (Henry et al., 2007). Son activité est régulée par la présence de nombreux ions chlorure principalement et par un pH étroit entre 6, 9 et 7,0 (Mercier, 1985).

### 2. Nomenclature

- Nom systématique :  $\alpha$  (1-4) D-glucane gluconohydrolase.
- Nom codifié : E.C. 3.2.1.1.
- Nom recommandé :  $\alpha$  amylase.
- Synonymes :Glycogenase, endoamylase, maxilase, taka-amylase A, thermolase, amylotherm, clarase, amylopin, ptyalin(Mercier, 1985).

### 3. Caractéristiques structurales et fonctionnelles de l' $\alpha$ -amylase

L' $\alpha$ -amylase ( $\alpha$ -1,4-glucan-4-gluconohydrolase) est présente dans les micro-organismes, les plantes et les organismes supérieurs. Elle possède une structure tridimensionnelle capable de se lier au substrat. L' $\alpha$ -amylase humaine est une enzyme contenant du calcium, composée de 512 acides aminés, contient 3 domaines : A, B et C (Souza et al.,2010).



**Figure 4 :** Structure de l' $\alpha$ -amylase (Souza et al.,2010).

La figure 4 montre la structure de l' $\alpha$ -amylase qui est pliée en trois domaines : Le domaine A est le plus grand (représenté en rouge) ; le domaine B est inséré entre les domaines A et C et est attaché au domaine A par une liaison disulfure (en jaune) ; le domaine C a une structure en feuillets  $\beta$  liée au domaine A par une chaîne polypeptidique simple et semble être un domaine indépendant dont la fonction est inconnue(en violet).

La sphère jaune représente les positions du chlorure lié (un activateur catalytique) tandis que les sphères larges bleues indiquent également les positions du calcium (un stabilisant structural et activateur allostérique), Les structures vertes sont liées au site actif et aux sites de liaison de surface (Souza et al.,2010).

#### 4. Rôle de l' $\alpha$ -amylase dans la digestion des sucres

L' $\alpha$ -amylase est une enzyme qui joue un rôle crucial dans la digestion des polysaccharides alimentaires, en le décomposant en sucres plus simples qui peuvent être absorbés et utilisés par l'organisme. Il catalyse l'hydrolyse des liaisons glycosidiques internes de l'amidon, entraînant la production de glucose, de maltose et de maltotriose. Dans le corps humain, l' $\alpha$ -amylase est sécrétée par les glandes salivaires et le pancréas. L'amylase salivaire initie la digestion de l'amidon dans la bouche, tandis que l'amylase pancréatique poursuit la dégradation de l'amidon dans l'intestin grêle. La décomposition de l'amidon en sucres plus simples par l' $\alpha$ -amylase permet une meilleure absorption et une meilleure utilisation de ces sucres par l'organisme, fournissant ainsi une source d'énergie (Saci et Kitouni, 2012).

#### 5. Mécanisme d'action

L' $\alpha$ -amylase, dérivée de plantes, d'animaux ou de micro-organismes, agit sur les polysaccharides tels que l'amidon et le glycogène, ainsi que sur les oligosaccharides. L'enzyme catalyse la rupture des liaisons glucosidiques  $\alpha$  (1-4) présentes dans l'amidon (Heslot, 1996). L'activité enzymatique peut se manifester par divers mécanismes :

- **Une attaque aléatoire :** consiste à rompre les liaisons  $\alpha$  (1-4) à partir de l'extrémité non réductrice. Cela entraînera la libération de glucose et de maltose (Scriban, 1999).
- **Mécanisme uni-chaîne :** où l' $\alpha$ -amylase dégrade une chaîne avant de passer à l'autre (Berry et Paterson, 1990).

- **Mécanisme multi-chaîne** : implique une dégradation simultanée des chaînes (**Kandra et al., 1997**).
- **Attaque multiple ou répétitive** : se produit lorsque l'enzyme se déplace et se fixe tout au long de la chaîne, ce qui entraîne plusieurs hydrolyses avant la dissociation du complexe enzyme-substrat (**Kandra et al., 1997**).

## 6. L'inhibition d' $\alpha$ -amylase

L'inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -amylase peut aider à réguler la glycémie postprandiale, ce qui en fait une cible thérapeutique potentielle pour le traitement du diabète sucré, les fromages tels que le camembert sont à l'étude pour leur activité inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase ainsi. Certains médicaments antidiabétiques couramment utilisés, comme l'acarbose, le miglitol et le voglibose, sont des médicaments oraux de la classe des inhibiteurs enzymatiques, réduisant ainsi la digestion et l'absorption des glucides (**Agarwal et Gupta, 2016 ; Blickli et al., 1999**).

## 7. Origine d' $\alpha$ -amylase

L'origine de l' $\alpha$ -amylase remonte à l'évolution biologique. Les premières formes de cette enzyme sont apparues chez les organismes vivants pour faciliter la digestion de l'amidon, qui est une source importante de glucose et d'énergie. Donc, l' $\alpha$ -amylase provenait de diverses sources notamment de bactéries, de champignons, de plantes et d'animaux.

Des bactéries telles que : *Enterobacterxiangfangensis* ont été identifiées comme des sources potentielles d' $\alpha$  amylase. Les champignons sont également connus pour produire des  $\alpha$  amylases. Des plantes, telles que *Nicotiana tabacum* (tabac), ont été utilisées pour exprimer et produire des agrégats fonctionnels d' $\alpha$ -amylase.

Ainsi les animaux, l' $\alpha$ -amylase animale est couramment obtenue de la salive et du pancréas des mammifères comme les porcs et les veaux. Les humains produisent de l' $\alpha$  amylase dans leur salive ( $\alpha$  amylase salivaire) ainsi que dans leur pancréas ( $\alpha$  amylase pancréatique) (**Desiderato et al., 2019**).

## 8. Caractéristiques d' $\alpha$ amylase

### 8.1 Température optimum

Les  $\alpha$ -amylases ont des températures optimales comprises entre 40°C et 90°C en fonction de leur origine (**Schomburg et Salzmann, 1991**). Les  $\alpha$ -amylase fongiques se trouvent

entre 50°C et 70°C. L' $\alpha$ -amylase bactérienne est caractérisée par un optimum de température qui, selon les applications va de 70°C à 90°C (Sicard, 1982 ; Panchal, 1990).

## 8.2 Poids moléculaire

Le poids moléculaire des  $\alpha$ - amylases est compris entre 40,000 et 90,000 daltons selon l'origine d' $\alpha$ -amylase(tableau 2) (Schomburg et Salzmann, 1991).

## 8.3 PH optimum

L' $\alpha$ -amylase pancréatique humaine purifiée est constante sur une large gamme de valeurs de pH (5,0 à 10,5) avec un pH optimal pour l'activité enzymatique de 7,0(Sky et Thuvasethakul, 1977). Le pH optimal pour l' $\alpha$ -amylase pancréatique et salivaire selon les auteurs peut varier, mais une grande majorité estime qu'elle se situe autour de 6,9, avec une variation pouvant se dérouler entre 6,5 et 7,2 (Ishkawa et al., 1993 ; Berraha et Boukhris, 2019).

**Tableau 2** : Quelques propriétés des  $\alpha$ -amylases (Khacheba et Benamar., 2008).

Enzyme d'origine	Exemple	Poids moléculaires (Da)	pH optimal	Température optimale(°C)
<b>Animal</b>	Salive humaine	50 000	6,9	40
	Pancréas de porc	50 000	6,9	37
<b>Végétale</b>	Malt d'orge	59 500	4,7-5,4	50-55
	Blé	59 500	4,6	60-66
<b>Microbienne</b>	<i>Bacillus coagulans</i>	49 000	5,2	57
	<i>Aspergillus oryzae</i>	52 600	5,5-6,9	40

# **Chapitre 03**

## **Camembert**

### 1. Lait : une matière première pour la production de fromage

Le lait est un liquide de couleur blanche mate ou opalescente, produit par les femelles mammifères telles que les vaches, les chèvres et les brebis. Cet aliment constitue la matière première à base de laquelle tous les fromages sont fabriqués. Il s'agit d'un mélange complexe d'eau varie de 81 à 91 % selon l'espèce (FAO, 2019), de protéines, de graisses, de glucides, de vitamines, de minéraux et d'autres composés bioactifs.

La composition du lait peut varier en fonction de divers facteurs tels que la génétique, la santé de l'animal, le stade de lactation, le système de traite et l'alimentation ainsi de l'espèce, de la race et de l'animal (Bocquier et Caja, 2001).

Les caséines et les protéines de lactosérum sont les deux principaux types de protéines présentes dans le lait. Selon les recherches de (Jerónimo et Malcata, 2016), les caséines représentent environ 80 % des protéines du lait. Elles forment des micelles qui contribuent à la couleur blanche et à l'opacité du lait, ainsi qu'à sa capacité à coaguler lors de la fabrication du fromage. Ainsi, Les protéines de lactosérum, telles que les lactoglobulines et les lactalbumines, sont des protéines solubles qui fournissent des acides aminés essentiels et contribuent à la qualité nutritionnelle du lait (Le graet et Brulé, 1993).

Le lait de chèvre contient une proportion élevée de caséine  $\alpha$ S1, qui représente entre 34 et 40% de la masse totale des caséines présentes dans ce lait. Cette caséine  $\alpha$ S1 est l'une des principales protéines du lait de chèvre, avec les caséines  $\alpha$ S2,  $\beta$  et  $\kappa$ . La forte teneur en caséine  $\alpha$ S1 du lait de chèvre contribue à ses caractéristiques physico-chimiques, sa texture plus ferme et son goût plus prononcé par rapport au lait de vache. Ce sont les spécificités qui donnent au fromage de chèvre son goût caractéristique. Ainsi il est pauvre en vitamine A, ce qui lui donne une coloration plus blanche que les autres laits (Zeller, 2005 ; Moualek, 2011).

Le lactose est le sucre caractéristique du lait, synthétisé dans la mamelle. Il est présent en quantités équivalentes dans les laits de vache et de chèvre soit environ 48 grammes par litre de lait (Morrissey, 1985).

Le lait et les produits laitiers sont une source importante de nutriments essentiels dans de nombreux régimes alimentaires. Ils sont associés à des bienfaits pour la santé des os, des dents, et peuvent contribuer à la santé cardiovasculaire lorsqu'ils sont consommés dans le cadre d'une alimentation équilibrée (Vilain, 2010).

**Tableau 3 :** Tableau de comparaison de composition du lait de vache et de chèvre (Kongo et Malcata, 2016b ; Martin et al., 2018 ; Renhe et al., 2019).

Composition (g/ 100g)	Vache	Chèvre
Matière sèche totale	12,7	12,5
Lipides	3,7	3,8
Caséines	2,6	2,6
Protéines du lactosérum	0,6	0,4
Lactose	4,8	4,1
Cendres	0,7	0,8

En générale, la composition de lait varie d'une espèce à l'autre (Tableau 3). Les taux de lipides varient en fonction de l'espèce (Jeantet et Croguennec, 2018 ; Vignola et al., 2002).

## 2. Le fromage

Le fromage est un produit laitier dérivé du lait par des processus tels que la coagulation et la fermentation du lait de différentes espèces (vache, brebis, bufflonne ou chèvre) (Le Graet et Brulé, 1993). Le fromage est un aliment très nutritif, polyvalent et pratique qui offre une gamme de saveurs et de textures (Farkye, 2004).

La transformation du lait en fromage répondant au besoin de conservation de cet aliment car le lait est hautement périssable (Gillis et al., 2018).

### 2.1 Le camembert

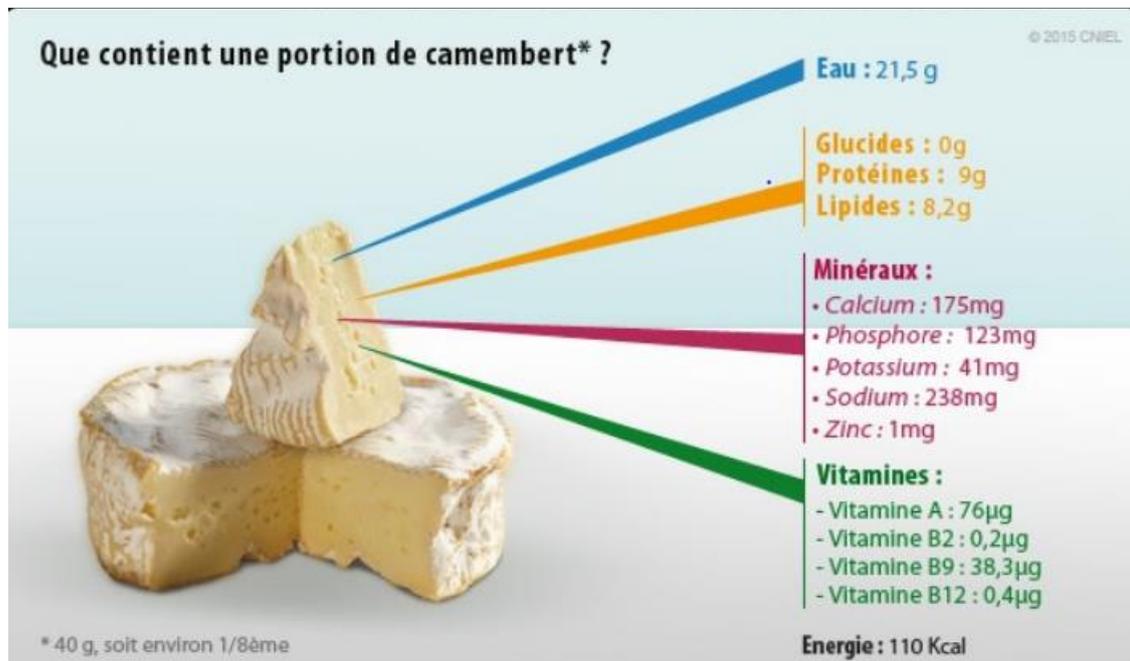
Le camembert est un fromage à pâte molle peut être fabriqué à partir de lait cru, de lait thermisé, de lait microfiltré ou de lait pasteurisé. Il a un diamètre de 10 à 11 cm et une épaisseur de 3 cm, Originaire de Normandie (France), ce fromage est affiné avec des moisissures superficielles *Penicillium candidum* et /ou le *Penicillium camemberti* (Veisseyre, 1975).

Le camembert est une source importante de calcium, phosphore, sodium, protéine, lipide et en vitamines avec un taux moyen de matière grasse d'environ (25 à 40%) (Neelakanten et al., 1971). Et pauvre en glucides car la quantité de lactose restant après l'égouttage est transformée en acide lactique au cours de l'affinage. Les protéines des fromages sont issues des micelles de caséines. Pendant l'affinage, une partie importante subit une dégradation et une solubilisation

en oligopeptides et acides aminés sous l'influence d'une série d'enzymes, différentes selon la microflore, ce qui donne au produit final sa texture et sa saveur (Dillion, 1997 ; Eck, 1990).

Le pH est le paramètre qui influe le plus sur la texture, même à l'intérieur du fromage.

La texture est un élément majeur de la qualité des fromages à pâte molle.



**Figure 5 :** composition moyenne de camembert (Anonyme 4).

### 3. La classification des fromages

Le fromage peut être classé en différentes catégories selon le type de lait, le traitement thermique, le type de coagulation, la méthode de préparation du caillé, les niveaux de teneur en eau et en matière grasse ainsi que les techniques et le degré de maturation.

#### 3.1 Fromages à pâte molle

La catégorie des fromages à pâte molle est caractérisée par une texture douce et crémeuse. Grâce à une teneur en humidité plus élevée d'environ 50 à 65 % et supérieure à 67 %. Le camembert est un fromage à pâte molle typique (figure 6). Ces fromages se caractérisent par une flore bactérienne sur la surface comme le camembert, le munster et la brie (Mahaut et al., 2000).



**Figure 6.** Fromage à pâte molle type camembert (Anonyme 5).

### 3.2 Fromage à pâte persillée

Les fromages de ce genre ont une humidité allant de 45 à 50%. Au cours de la fabrication, des moisissures de type *Penicillium* sont introduites, ce qui provoque la formation de veines bleues dans le fromage.

Des exemples célèbres de fromages à pâte persillée incluent le Roquefort (**Figure 7**), le Gorgonzola et le Stilton, ces fromages contiennent entre 50 et 58 % d'extrait sec, avec une teneur en lipides supérieure à 45 %. L'ensemencement a été réalisé avec des *Streptocoques mésophiles* et des *Leuconostoc* et une suspension de spores de *Penicillium roquefortii*.

La coagulation dure 1h, après découpage, brassage pendant 25-30 minutes, égouttage, le salage est réalisé à 1,5 à 2,5 % dans la masse (**Tremolier et al., 1984**).



**Figure 7.** Fromage à pâte persillée type Roquefort (Anonyme 6).

### 3.3 Fromage à pâte pressée

La teneur en humidité des fromages à pâte pressée sont relativement basses par rapport aux fromages à pâte molle situés généralement entre 30 % et 45 % (**Kongo et Malcata, 2016 b ; McSweeney, 2003**). Il existe deux principaux types de fromages à pâte pressée :

- Fromages pressés cuits soumis à une cuisson des caillés (le Gruyère, le Comté et l'Emmental)
- Fromages pressés non cuits ne sont pas soumis à une cuisson des caillés (Le Cheddar) (**Mahaut et al., 2000**).



**Figure 8.** Les fromages à pâte pressée (**anonyme 7**).

### 3.4 Les fromages frais ou fromages à pâte fraîche

Un fromage à pâte fraîche a une texture molle granuleuse ou lisse, crémeuse et veloutée. C'est un fromage peu égoutté caractérisé par une teneur très élevée de l'humidité (contient jusqu'à 80% d'eau), et une teneur de 60 à 80% de la matière grasse (**Majdi, 2009**).

## 4. Modalités générales de la fabrication

Les principes de base de la fabrication des fromages sont les mêmes pour presque toutes les types de fromages. Sa fabrication se fait selon les étapes suivantes :

### 4.1 La coagulation

Cette étape consiste à produire des acides lactiques dans le but d'augmenter l'acidité, le lait est mis en maturation entre 12 et 14 °C. Ces acides vont interagir avec les enzymes pour donner au lait une consistance solide (**Seminel, 2015**).

Le lait passe de l'état liquide à l'état de gel dans des bassines ; cette phase consiste à solidifier le lait. Avec l'addition d'une petite quantité de présure (une enzyme naturelle extraite

de la caillette du veau). Sa réaction avec les acides lactiques favorise la coagulation du lait (**Legg et al., 2017 ; Troch et al., 2017**).

Lors de la coagulation du lait, l'état micellaire initial de la caséine est déstabilisé. Il y a deux façons principales de réaliser cette déstabilisation :

- Par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes comme la présure, qui est une enzyme habituellement utilisée dans la fabrication du fromage pour provoquer la coagulation du lait.
- Par voie fermentaire, dans ce cas des bactéries productrices d'acide lactique présentes naturellement dans le lait ou ajoutées sous forme de ferments sont utilisées pour acidifier le lait et induire la coagulation.
- Les mécanismes d'action de ces deux agents coagulants sont très différents, mais conduisant à la formation d'un coagulum (caillé) (**Ramet, 1993**)

#### 4.2 Moulage

Le caillé est moulé qui permet de donner au fromage sa future forme. Ce processus de fabrication des fromages à pâte fraîche est la dernière étape, mais les autres fromages doivent encore subir une étape essentielle pour leur goût, leur croûte et parfois leur trou: l'affinage (**Benloucif et Oulmi, 2017**).

#### 4.3 Egouttage

À ce stade, le caillé est séparé de la partie liquide (le lactosérum) par le phénomène de synérèse. Grâce à la présence de présure, à l'acidité et à la température, le coagulum se contracte en éjectant le lactosérum (**Kongo et Malcata, 2016a**).

#### 4.4 Salage

L'ajout de sel lors de la fabrication du fromage, augmentent sa durée de conservation (**FID, 2021**).

Le salage est apparemment simple, il a un impact majeur sur quatre plans :

- Complément d'égouttage



**Figure 9** : étape de fabrication de Camembert (**Seminel, 2015**).

- Formation du goût
- Formation d'une croûte sous l'aspect d'une pellicule fine et dure
- Sélection microbienne.

Le chlorure de sodium (NaCl) est le sel couramment utilisé (**Zeller, 2005**).

#### 4.5 L'affinage

Dans le processus de fabrication, l'affinage du fromage joue un rôle essentiel, il développe la saveur, l'aspect et la texture. Les principes de l'affinage sont :

- Perte d'humidité : Au cours de l'affinage, le fromage perd de l'humidité, ce qui contribue à la concentration des saveurs et à la formation de la texture désirée.
- Désacidification de la pâte : Le processus d'affinage aide à réduire l'acidité présente dans la pâte, ce qui peut adoucir le goût final du fromage.
- Protéolyse : Les matières azotées sont dégradées en éléments de base tels que les peptides et les acides aminés, ce qui contribue au développement de la saveur et de la texture du fromage.
- Lipolyse : La matière grasse du fromage est dégradée en acides gras, ce qui influence la saveur du fromage.
- Les microorganismes présents dans l'environnement d'affinage, tels que les levures et les moisissures, produisent des enzymes qui contribuent à la transformation des constituants du caillé, influençant ainsi la texture et le goût du fromage.

Les conditions idéales d'affinage comprennent une température maintenue entre 8 et 12°C pour réguler les activités enzymatiques, une humidité élevée (entre 85 et 90%) (**Zeller, 2005**).

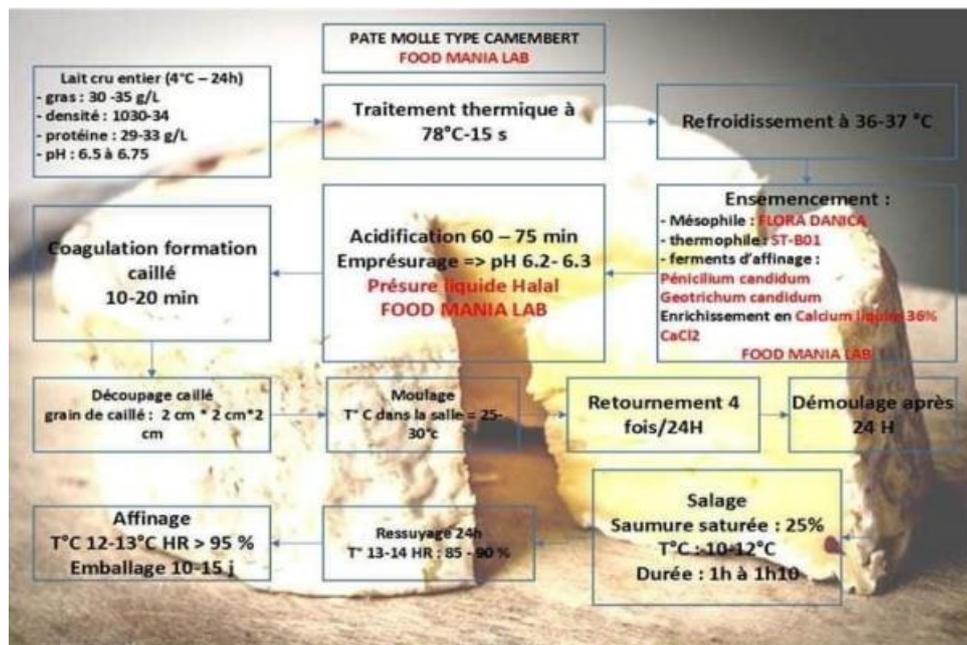


Figure 10 : étapes de fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert

(Ramet, 1985).

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthode**

## 1. Objectif

Notre étude expérimentale est effectuée au niveau de laboratoire de recherche antibiotique, antifongique : physico-chimie, synthèse et activité biologique LAPSAB de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr-Bekaid-Tlemcen.

L'objectif de ce travail pratique est de tester d'éventuel effet inhibiteur de deux fromages de type camembert, sur l' $\alpha$ -amylase pancréatique. Cette dernière est une enzyme clé dans le traitement du diabète sucré.

## 2. Fromage

Nous avons utilisé dans notre étude deux fromages de type camembert l'une à base de lait de vache et l'autre à base de lait de chèvre.



**Figure11** : camembert à base de lait de chèvre **Figure12** : camembert à base de lait de vache  
(Photos prises au laboratoire)

## 3. Préparation des extraits de fromages

### 3.1 Extrait 1

Pour chaque type de camembert, 2g de fromage sont coupés en petits morceaux et mélangés dans un tube avec 10ml de solution tampon phosphate (pH 6,9, 0,02M). 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' $\alpha$ -amylase.

### 3.2 Extrait 2

Pour chaque type de camembert, 2g de fromage sont coupés en petits morceaux et mélangés dans un tube avec 10ml de solution tampon phosphate (pH 6,9, 0,02M). Après à l'aide d'un broyeur homogénéiseur l'ensemble est bien mélangé afin d'extraire le maximum de molécules. Un homogénéisateur sonicateur a été utilisé pour l'homogénéisation de l'extrait. 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 camembert sur l' $\alpha$ -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 pour chaque type de camembert) dans un tube à essai, puis y ajouter 1 ml de la solution de ninhydrine (1% dans l'acétone). Chauffer ensuite au bain marie. Si une coloration violette bleue apparaît 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 (P0). Le contenu du tube est séché à l'étuve. Après séchage complet le tube est de nouveau pesé afin de déterminer P1. Cette opération est répétée trois fois.

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

$$C = (P1 - P0) / V$$

C : concentration massique en g/l.

V : volume de l'extrait à sécher en l.

P0 : poids initial du tube (vide) en g.

P1 : 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 CuSO<sub>4</sub>, 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.

La teneur en protéine des extraits est calculée en suivant l'équation ci-dessous :

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

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

## 5. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits du fromage sur l' $\alpha$ -amylase

### 5.1 Réactifs utilisés

#### 5.1.1 Solution tampon phosphate (pH 6,9, 0,02M)

La solution tampon se prépare en mélangeant deux solutions, acide (A) et base (B), La solution A est monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) ( $M=119,98\text{g/mol}$ ) et B dibasique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) ( $M=141,96\text{ g/mol}$ ) à 0,02 M et pH final de 6,9.

#### 5.1.2 Solution d' $\alpha$ -amylase

L'enzyme utilisée est  $\alpha$ -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 (pH 6,9, 0,02M), la solution obtenue contient une activité  $\alpha$ - amylasique de 3,9 UI/ml, L'optimum de l'activité  $\alpha$ -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 « Larimel50 » est utilisé dans cette expérience comme molécule de référence, afin de comparer son activité vis-à-vis d' $\alpha$ -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.

Différentes concentrations d'acarbose sont préparées dans la solution tampon phosphate (pH 6,9, 0,02M) par des dilutions en cascade à partir de la solution mère.

## 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' $\alpha$ -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 minutes 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 :
- **A contrôle** : absorbance contrôle ; A échantillon : absorbance échantillon

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

- **IC<sub>50</sub>** : la concentration inhibant 50% de l'activité enzymatique. Elle est calculée graphiquement.

**Résultats**

**et**

**Discussion**

## 1. Caractérisation des extraits

Dans ce travail, nous avons étudié l'activité inhibitrice de l' $\alpha$  amylase par les extraits de camembert. Notre étude expérimentale est basée sur des mesures. Les résultats de cette étude ont été regroupés dans un tableau qui porte les points suivants :

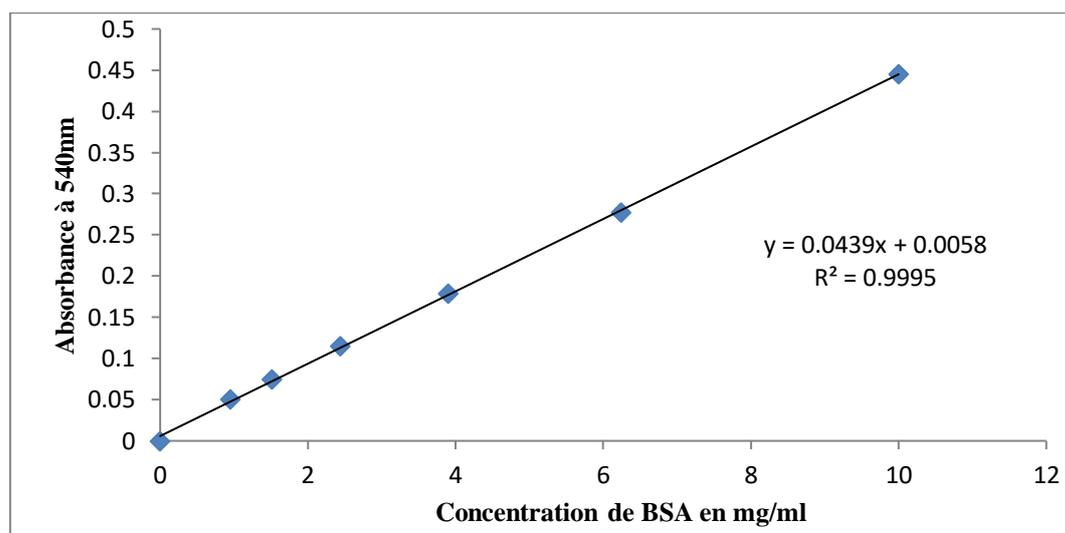
**Tableau 4 :** Caractérisation biochimique des extraits.

	<i>Extrait 1 CV</i>	<i>Extrait 2 CV</i>	<i>Extrait 1 CC</i>	<i>Extrait 2 CC</i>
La teneur en protéine %	6,31±0,12	3,51±0,73	7,86±1,32	3,99±0,008
pH	7,54±0,11	7,57±0,05	6,38±0,01	6,63±0,11
La concentration massique mg/ml	36,4±3,38	59,1±0,7	23,7±0,86	49,66±1,52
Acides aminées	Présent	Présent	Présent	Présent

Note : Extrait 1 CV (camembert à base de lait de vache de l'extrait 1), Extrait 2 CV (camembert à base de lait de vache de l'extrait 2), Extrait 1 CC (camembert à base de lait de chèvre de l'extrait 1), Extrait 2 CC (camembert à base de lait de chèvre de l'extrait 2).

### 1.1 Teneur en protéine

La figure 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.



**Figure13 :** Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine

Les résultats de tableau 4 indiquent, la teneur en protéine des deux types de fromages le camembert à base de lait de vache et le camembert à base de lait de chèvre d'extrait 1 de macération et d'extrait 2 de sonication.

Tout d'abord, en ce qui concerne la teneur en protéines, il est remarqué que les extraits de camembert de chèvre ont une teneur en protéines globalement supérieure à ceux de camembert de vache. L'extrait 1 de camembert de chèvre contient plus de protéines que l'extrait 1 de camembert de vache (7,86% contre 6,31%). De même, l'extrait 2 de camembert de chèvre a une teneur en protéines supérieure à celui de camembert de vache (3,99% contre 3,51%). Cette différence pourrait être due à la nature même du lait de chèvre et de vache, qui ont des compositions protéiques différentes. Les fromages de chèvre possèdent une teneur en protéine, faiblement plus élevée que les fromages de vache (**Guinée et al., 2018 ; Sánchez-Macias et al., 2018**).

Les résultats du dosage des protéines correspondent à ceux obtenus par **Kebaha (2023)** dans son étude, et qui concerne la teneur en protéines dans le camembert de vache avec un taux de 5,58%. Ainsi, d'autres études sur le fromage de chèvre, **Senhadji (2023)** montrent un taux en protéines de  $6,27 \pm 0,89\%$ . Cela montre qu'effectivement le camembert de chèvre est plus riche en protéines que celui de vache.

La composition du lait peut varier en fonction de divers facteurs tels que la génétique, la santé de l'animal, le stade de lactation, le système de traite et l'alimentation ainsi de l'espèce, de la race et de l'animal (**Bocquier et Caja, 2001**).

Et la présence des acides aminés dans les extraits de fromage camembert.

## 1.2 pH

Les résultats sur le tableau 4 montrent que le pH des extraits 1 et 2 de CV ainsi que 1 et 2 de CC sont 7,54 ; 7,57 ; 6,38 et 6,38 respectivement. Ce qui laisse remarquer que les extraits de camembert à base de lait de chèvre sont plus acides que ceux de camembert à base de lait de vache. Ces différences sont statistiquement significatives.

Le pH joue un rôle essentiel dans la texture du camembert. Il augmente, en raison de la consommation d'acide lactique et de la production de composés alcalins par la flore de surface, notamment par le *Penicillium*, et ainsi contribue-t-elle à l'amollissement de la pâte du camembert (**Vassal et al., 1986**). Le pH du camembert à la fin de l'affinage est d'environ 7,4 en surface et 6,9 au centre (**Ramet, 1985**).

Le lait de chèvre frais possède une acidité, soit un pH de 6,6 (proche de la neutralité) (**Badache et Meriane, 2022**). Plusieurs auteurs ont montré que le pH de lait de chèvre, se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90 (**Remeuf et al., 1989**). Ces valeurs démontrent la variation de pH entre les différents types de fromage. Cette variation peut être due à l'alimentation des animaux, aux conditions environnementales ainsi qu'au stade de lactation (**Saïd et al., 2019**).

### 1.3 Concentration massique

Les résultats de cette étude montrent que la concentration massique de l'extrait 2 est plus élevée que celle du l'extrait 1 pour les deux types de camembert. En comparant les deux résultats, nous pouvons conclure que la concentration massique de camembert de vache est plus élevée que celle du camembert de chèvre.

En raison des différences de composition entre le lait de vache et le lait de chèvre, la concentration massique du camembert de vache est généralement supérieure à celle du camembert de chèvre. Les matières grasses et les protéines sont naturellement plus élevées dans le lait de vache que dans le lait de chèvre. Ainsi, pendant la production du fromage, une plus grande proportion de ces éléments est conservée dans le camembert de vache, ce qui entraîne une concentration massique plus élevée.

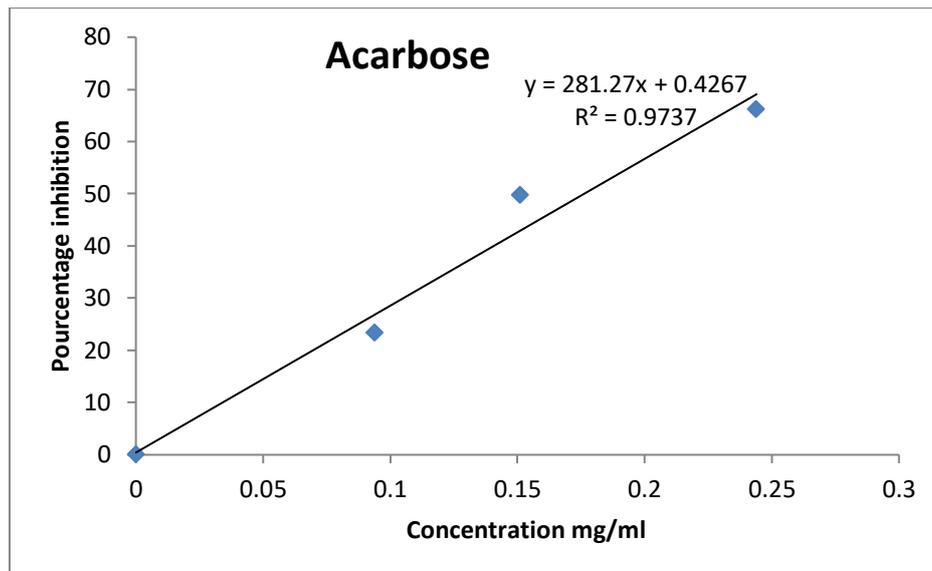
De plus, il est possible que le processus de fabrication du fromage diffère légèrement entre le camembert de vache et le camembert de chèvre, ce qui peut avoir un impact sur la concentration finale des composants dans le produit final (**Kanakis et al., 2016 ; Mucchetti et al., 2019**).

## 2. Effet inhibiteur des extraits de camembert sur l' $\alpha$ -amylase

Pour notre travail nous nous intéressons à l'effet inhibiteur des extraits de camembert de vache et de chèvre sur l'activité enzymatique d' $\alpha$ -amylase qui sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%) en fonction des concentrations d'Acarbose et des échantillons (en mg/ml) afin de déterminer  $IC_{50}$  (la concentration d'inhibition 50% de l'activité enzymatique) graphiquement à partir de l'équation  $y=ax+b$ .

### 2.1 Acarbose

L'acarbose est une molécule de référence pour contrôler l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase. La figure 14 présente les pourcentages obtenus.



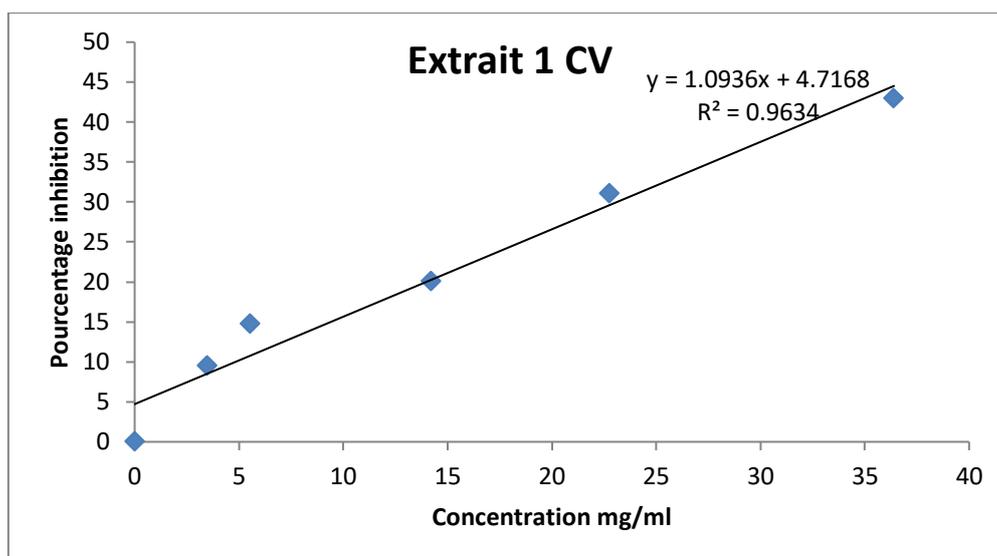
**Figure 14 :** Représentation graphique de l'effet inhibiteur de l'acarbose sur l'α- amylase.

Dans cette étude, nous remarquons que l'acarbose est plus efficace et présente un pourcentage d'inhibition relativement très élevé avec une  $IC_{50}$  de 0,17 mg/ml.

L'acarbose est un inhibiteur de l'α-glucosidase et l'α-amylase fréquemment employé en tant que médicament contre le diabète, d'après **Agarwal et Gupta (2016)**. Il est produit par fermentation microbienne, principalement à partir de la culture de bactéries du genre *Actinoplanes* (**Jung et al., 2020**).

## 2.2 Extrait 1 camembert de vache

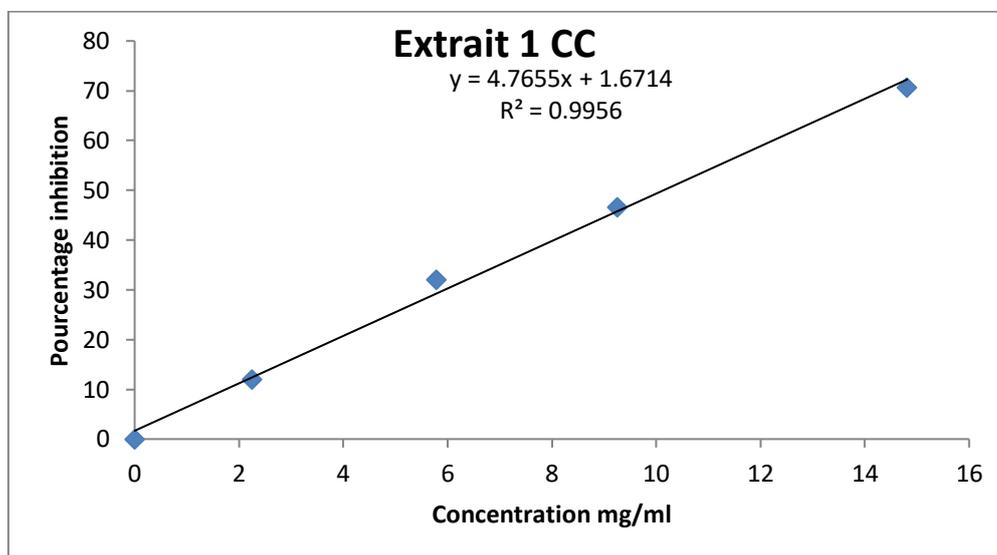
La figure 15 présente les pourcentages obtenus d'inhibition d'α-amylase en fonction des concentrations de l'extrait 1 de camembert de vache. Les résultats que nous avons obtenus ont montré un pouvoir d'inhibition avec une valeur d' $IC_{50}$  de 41,43 mg/ml. Cette inhibition dépasse les 42% pour 36,4 mg/ml.



**Figure 15 :** Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 1 CV sur l' $\alpha$ -amylase

### 2.3 Extrait 1 camembert de chèvre

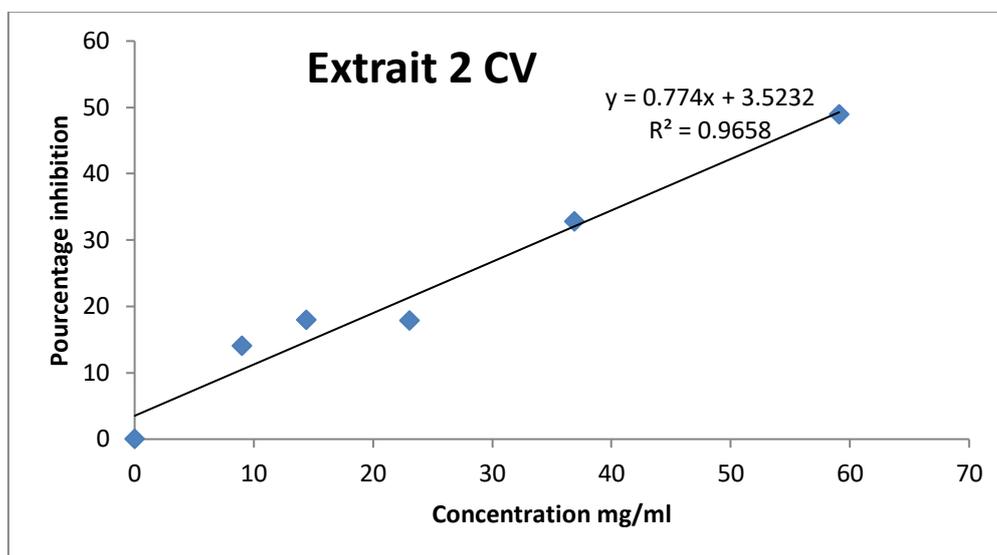
La figure 16 présente les pourcentages obtenus d'inhibition d' $\alpha$ -amylase en fonction des concentrations de l'extrait 1 de camembert de chèvre. Les résultats que nous avons obtenus ont montré un pouvoir d'inhibition avec une valeur d' $IC_{50}$  de 10,14 mg/ml. Cette inhibition dépasse les 70% pour 14,81 mg/ml. Ce qui montre que cet extrait est plus efficace que les autres.



**Figure 16 :** Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 1 CC sur l' $\alpha$ -amylase

## 2.4 Extrait 2 camembert de vache

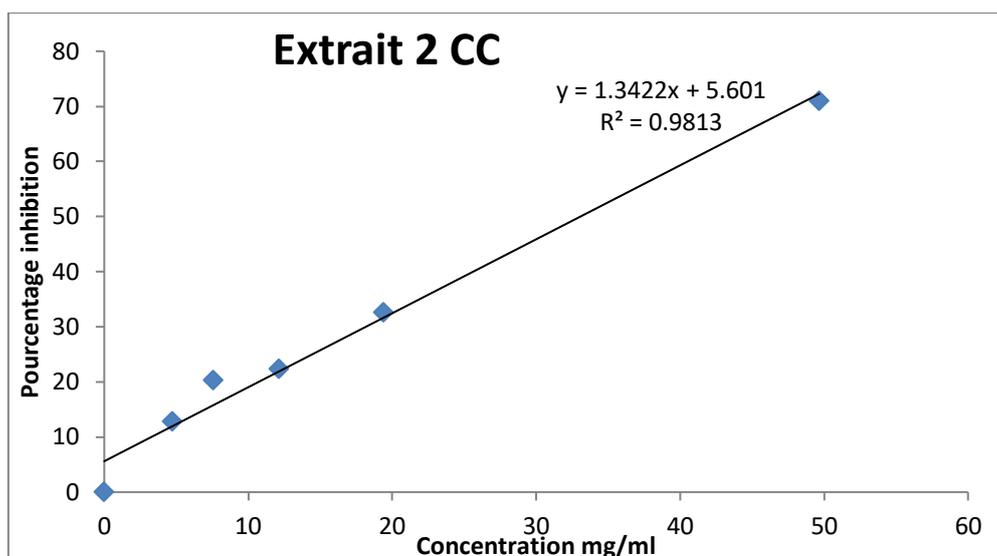
La figure 17 présente les pourcentages obtenus d'inhibition d' $\alpha$ -amylase en fonction des concentrations de l'extrait 2 de camembert de vache. Les résultats que nous avons obtenus ont montré un pouvoir d'inhibition avec une valeur d' $IC_{50}$  de 60,04 mg/ml. Cette inhibition dépasse les 50% pour 59,1 mg/ml.



**Figure 17 :** Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 2 CV sur l' $\alpha$ -amylase

## 2.5 Extrait 2 camembert de chèvre

La figure 18 présente les pourcentages obtenus d'inhibition d' $\alpha$ -amylase en fonction des concentrations de l'extrait 2 de camembert de chèvre. Les résultats que nous avons obtenus ont montré un pouvoir d'inhibition avec une valeur d' $IC_{50}$  de 33,08 mg/ml. Cette inhibition dépasse les 74% pour 49,66 mg/ml.



**Figure 18 :** Représentation graphique de l'effet inhibiteur d'extrait 2 CC sur l' $\alpha$  amylase

Le principal objectif dans la prise en charge du diabète est de réguler la concentration de glucose de sang. La pharmacothérapie implique des agents antidiabétiques. Les médicaments synthétiques comme l'acarbose utilisés pour traiter le diabète de type 2 ont pour effet de diminuer la glycémie en inhibant les enzymes des glucides gastro-intestinaux, comme l' $\alpha$ -amylase et donc la gestion de la glycémie chez les diabétiques de type 2 (**Kazeem et al., 2013 ; Poongunran et al., 2015**).

Dans notre travail, nous avons testé l'activité inhibitrice des extraits « extrait 1 CV, extrait 2 CV, Extrait 1 CC, Extrait 2 CC et l'acarbose » sur l' $\alpha$ -amylase. Le tableau 5 résume les valeurs d' $IC_{50}$  obtenues pour les extraits et l'acarbose. Il est remarqué que pour l'acarbose, la concentration minimale soit 0,094mg/ml, montre un taux d'inhibition égale à 23,33%. Tandis que, la concentration maximale 0,244mg/ml présente un taux d'inhibition égale à 66,2%. Donc l'acarbose est un contrôle positif donne un meilleur effet inhibiteur sur l' $\alpha$ -amylase avec une  $IC_{50}$ = 0,17 mg/ml. Cette valeur est égale à celle trouvée par **Sedjai (2023)** et qui est de l'ordre de  $IC_{50}$ =0,16 mg/ml. Cependant, elle est supérieure au résultat de **Menzel et Medjdoub (2022)**, où l'acarbose représentait une  $IC_{50}$  =0,099mg/ml. Cela pourrait généralement être dû aux conditions de travail et au type de médicament.

**Tableau 5** : Valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits de fromage et l'acarbose.

Échantillon	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Acarbose	0,17 ± 0,016
Extrait 1 CV	41,43 ± 15,22
Extrait 2 CV	60,04 ± 1,56
Extrait 1 CC	10,14 ± 0,18 <sup>a</sup>
Extrait 2 CC	33,08 ± 2,64 <sup>b</sup>

Note : Extrait 1 CV (camembert à base de lait de vache de l'extrait 1), Extrait 2 CV (camembert à base de lait de vache de l'extrait 2), Extrait 1 CC (camembert à base de lait de chèvre de l'extrait 1), Extrait 2 CC (camembert à base de lait de chèvre de l'extrait 2).

<sup>a</sup> différence significative entre les deux extraits de chèvres ( $p=0,005$ )

<sup>b</sup> différence significative entre les extraits 2 ( $p=0,0003$ )

Il ressort des résultats que nous avons obtenu un pouvoir d'inhibition avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 41,43 mg/ml (l'extrait 1 de camembert de vache) ; 60,04 mg/ml (l'extrait 2 de camembert de vache) ; 10,14 mg/ml (l'extrait 1 de camembert de chèvre) ; 33,08 mg/ml (l'extrait 2 de camembert de chèvre) et 0,17 mg/ml (acarbose). Nous remarquons que les extraits 1 de deux types de camembert ont un effet plus marqué que les extraits 2, dans l'extrait 2 nous avons utilisé un sonicateur pour homogénéiser les échantillons ; ce dernier utilise des ondes ultrasoniques pour la rupture de cellules/structures sous-cellulaires en suspension et pour créer des émulsions. Les ondes sonores, en particulier les ultrasons utilisés dans le sonicateur, peuvent avoir plusieurs effets sur les protéines et leur taux dans un extrait, aussi les ultrasons produisent de la chaleur, qui peut dénaturer les protéines. Ceci explique les résultats obtenus (Villamiel et al., 2017).

Le meilleur résultat enregistré dans l'étude est dû au camembert de chèvre (extrait 1) avec une valeur de IC<sub>50</sub>=10,14mg/ml. Les extraits de camembert de chèvre ont respectivement des teneurs en protéines de 7,86% ± 1,32 et 3,99% ± 0,008 plus élevées que ceux de vache. Ces résultats suggèrent que les composés du camembert, notamment les protéines, pourraient contribuer à l'inhibition de l' $\alpha$ -amylase, plus l'IC<sub>50</sub> est faible plus le pouvoir d'inhibition est élevé.

D'après le travail réalisé par **Senhadji en 2023** sur l'évaluation de l'effet inhibiteur du fromage à base de lait de chèvre sur l' $\alpha$ -amylase les résultats démontrent que le fromage de

chèvre frais a un pouvoir inhibiteur de  $IC_{50}=57,94\text{mg/ml}$  et le fromage de chèvre à pâte dure a un  $IC_{50}$  de  $33,71\text{mg/ml}$ . Ce résultat nous constatons que le camembert que nous avons choisi est plus efficace que ces fromages.

D'autre part, **Embouazza et Amimeur en 2023**, étudiaient l'effet antidiabétique des laits, de chèvre et de chamelle. Les résultats montraient un pouvoir inhibiteur très important du lait fermenté de chamelle et de chèvre avec une  $IC_{50}$  de  $0,116\text{mg/ml}$  et  $0,39\text{mg/ml}$  respectivement. Ces résultats sont très proches de la valeur de la molécule de référence (l'acarbose). L'effet de la fermentation sur l'efficacité des deux laits est évident.

La fermentation par des bactéries lactiques peut produire divers composés bioactifs, comme les peptides bioactifs. La fermentation de lait provoque une hydrolyse des protéines ce qui permet d'obtenir des petits peptides actifs (peptides bioactifs) qui caractérisé par son effet antidiabétique et mimétique à l'insuline (**Korhonen, 2009 ; Osman et al., 2010 ; Bengoumi et Faye, 2015**).

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

---

Notre expérimentation a permis d'évaluer l'effet inhibiteur de différents extraits de camembert, fabriqués à partir de lait de vache et de lait de chèvre, sur l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -amylase. L'extrait 1 de camembert de chèvre contient plus de protéines que l'extrait 1 de camembert de vache (7,86% contre 6,31%). De même, l'extrait 2 de camembert de chèvre a une teneur en protéines supérieure à celui de camembert de vache (3,99% contre 3,51%). Le pH des extraits 1 et 2 de CV ainsi que 1 et 2 de CC sont 7,54 ; 7,57 ; 6,38 et 6,38 respectivement.

Les résultats obtenus ont révélé que les extraits de camembert, montrent une capacité à inhiber l'activité de l' $\alpha$ -amylase avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 41,43 mg/ml pour l'extrait 1 de CV ; 60,04 mg/ml pour l'extrait 2 de CV ; 10,14 mg/ml pour l'extrait 1 de CC ; 33,08 mg/ml pour l'extrait 2 de CC et 0,17 mg/ml (acarbose). L'extrait 1 de camembert de chèvre a présenté la meilleure efficacité inhibitrice surpassant les autres extraits testés.

Les extraits de camembert de chèvre ont également montré des teneurs en protéines plus élevées que ceux de camembert de vache, ce qui pourrait contribuer à leur effet inhibiteur accru.

Cette étude suggère que le camembert, notamment celui fabriqué à partir de lait de chèvre, pourrait avoir un potentiel thérapeutique en tant qu'inhibiteur naturel de l' $\alpha$ -amylase, contribuant ainsi à la gestion de la glycémie chez les patients de diabète de type 2.

Toutefois, pour confirmer ces résultats et évaluer pleinement leur application clinique sont nécessaires :

- Les recherches incluant des études *in vivo* et des essais cliniques.
- Evaluation des effets antidiabétiques de peptides bioactifs de ces fromages.
- Optimisation des Processus de Fermentation.
- Identification des molécules bioactives dans le Camembert.
- Tester un camembert contenant moins de matière grasse.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

### A.

- Agarwal, P.; Gupta, R. (2016). Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *Res. Rev. J. Med. Health Sci.* 5, 1–8.
- Altman, J. J., Ducloux, R., & Lévy-Dutel, L. (2012). *Le grand livre du diabète*. Editions Eyrolles.
- Anonyme1. Information traitement diabète/l'insuline. [En ligne]. <https://www.federationdesdiabetiques.org>
- Anonyme2. Diabète : Les symptômes et les traitements d'une maladie chronique. [En ligne] <https://drseb.com/fr/diabete.pdf>. (Article mis à jour le: 10.05.2024).
- Anonyme3. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs d'alpha-glucosidase. [En ligne]: [www.fac.umc.edu.dz](http://www.fac.umc.edu.dz) pdf. (Consulté le 11/03/2022).
- Anonyme 4. Que contient une portion de camembert ? [En ligne] : [www.produits-laitiers.com](http://www.produits-laitiers.com). (Mis à jour le : 28.10.2022).
- Anonyme 5. *Penicillium camemberti*. [En ligne] : [www.20minutes.fr](http://www.20minutes.fr) (Mis à jour le 21/08/2021).
- Anonyme 6. Roquefort : un persillé au caractère bien trempé [En ligne] : [www.tables-auberges.com](http://www.tables-auberges.com)
- Anonyme 7. Different kinds of cheeses isolated on white. [En ligne] : [www.freepik.com](http://www.freepik.com) (Mis à jour 17/11/2020).

### B.

- Badache, K., & Meriane, F. (2022). Etude qualitative et comparative des analyses physico-chimiques du lait de vache et de chèvre et de leurs camemberts. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri.
- Beaudeau, J. L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*. Lavoisier.
- Beer, S., & Ruiz, J. (2005). Prévenir les complications du diabète de type 2: des recommandations Evidence-Based à la réalité Patient-Based. *Rev Med Suisse*, 1, 1492-8.
- Benammar, E.; Chatouani, H. (2009). L'insulinothérapie chez les diabétiques de type deux, Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier faculté de pharmacie de Grenoble, hal.
- Bengoumi M., and Faye B. (2015). Production laitière cameline au Maghreb. *CIHEAM, Watch Letter* n°35.

## Références bibliographiques

---

- Benloucif, R., Oulmi, A., (2017). Etude du procédé de production du fromage du type camembert : Effet de la nature des microorganismes sur la qualité du produit. Mémoire Master Professionnalisant, Université Frère Mentouri Constantine, 1- 102.
- Berriha, A., & Boukhris, A., (2019). Effet des extraits de polysaccharides sur l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase (Doctoral dissertation, université kasdi merbah-ouargla).
- Berry, D. R., & Paterson, A., (1990). Enzymes in the food industry. Enzyme Chemistry: Impact and Applications, 306-351.
- Bocquier, F., & Caja, G. (2001). Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. INRAE Productions Animales, 14(2), 129-140.
- Blicklé, J. F., Andres, E., & Brogard, J. M. (1999). Actualités dans les traitements du diabète de type 2. Les inhibiteurs des alpha-glucosidases. La Revue de médecine interne, 20, 379-383.

### C.

- Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière C.N.I.E.L (2015) composition camembert.
- Chevenne, D., & Fonfrède, M., (2001). Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, 16(4), 215-229.

### D.

- Desiderato, A., Barbeitos, M., Gilbert, C., & Da Lage, J. L. (2019). Horizontal Transfer and Gene Loss Shaped the Evolution of Alpha-Amylases in Bilaterians. G3: Genes, Genomes. Genetics, 6, 1534.
- Dillion, J.,(1997). Le fromage dans l'alimentation. In : Le fromage de la science à l'assurance qualité; (3):713-24.

### E.

- Eck A., (1990). Le fromage. 2ème édition. Lavoisier, Paris.
- Eck A., (1990). Le fromage. 3ème édition, techniques et documentation. Lavoisier, Paris.
- Embouazza, W., Amimeur, kh. (2023). Recherche d'éventuel effet antidiabétique des laits, de chèvre et de chamelle. Etude in vitro. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. Spécialité : Biochimie Appliqué.

### F.

## Références bibliographiques

---

- FAO, (2019). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.
- Farkye, N. Y. (2004). Acid-and acid/rennet-curd cheeses part B: Cottage cheese. In *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (Vol. 2, pp. 329-341). Academic Press.
- Fazili,A. ; Abasi,A . ; Kapenga,A. ; Kalume,A .. ; Tshibumbu,E.(2022). Diabète de type II et statut enzymatique : *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*. ISSN 2429-5396.
- Fendler, W., Borowiec, M., Baranowska-Jazwiecka, A., et al. (2012). Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. *Diabetologia*, 55: 31–35.
- Fédération Internationale du Diabète FID. (2017). *Diabetes Atlas*, 8ème édition.
- Fédération Internationale du Diabète FID. (2019). *Diabete*.
- Fouger E. (2021) .les insulines. *Actualités pharmaceutiques*. 60(606) ,55-57.

### G.

- Gallienne, E. (2005). Synthèse et évaluation d'inhibiteurs potentiels de glycosidases, analogues du salacinol (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- Gariani, K., Hagon-traub, I., & Philippe, J. (2009). Diabète de type 1 ou 2? ou autre?: *Diabète. Revue médicale suisse*, 5(206).
- Gaucheron F., (2018). Micelles de caséines et dynamique ionique. In: *Le fromage*. 96-135.
- Gillis, J. C., Ayerbe, A., Lincet, D., Moineau, S., Roy, D., & Turgeon, S. (2018). *Le fromage. Technique et Documentation*.
- Guinee, T. P., et n,NM.(2018). *Lait et produits laitiers: technologie, chimie et microbiologie*. Springer.

### H.

- Henry, R., Watson, L., Bundock, P., Crawford, A., White, J., Cordeiro, G., McIntosh, S., ... & (2007). SAGE of the developing wheat caryopsis. *Plant Biotechnology Journal*, 5(1), 69-83.
- Heslot, H. (1996). *Proteins engineering and applications; Lingenierie des proteines et ses applications*.

## Références bibliographiques

---

### I.

- Ichai, C., Levraut, J., Grimaud D, (1999). Syndrome d'hyperglycémie hyperosmolaire. Anesthésie réanimation du patient diabétique. Paris: Masson; p. 141—58.
- Ishikawa, K., Matsui, S., Kobayashi, H., Nakatani, K., Honda., (1993). Substrate recognition at the binding site in mammalian pancreatic alpha-amylases. *Biochemistry*(32): 259-265.

### J.

- Jeantet, R. & Croguennec T., (2018). Eléments de biochimie laitière. In: Le fromage. 77-96.
- Jerónimo, E., Malcata F.X., (2016). Cheese: Composition and Health Effects. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 741-747.
- Jung, S. K., Choi, M., Kang, Y. R., Zu, H. D., Lim, I. S., & Chang, Y. H. (2020). Effects of time on phenolics and in vitro bioactivity in autoclave extraction of Graviola (*Annona muricata*) leaf. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 25, 9-15.

### K.

- 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.
- Kandra, L., Gyémánt, G., Farkas, E., & Lipták, A. (1997). Action pattern of porcine pancreatic alpha-amylase on three different series of  $\beta$ -maltooligosaccharide glycosides. *Carbohydrate research*, 298(3), 237-242.
- Kazeem, M- I., Ogunbiyi J- V., Ashafa, A- O., (2013). In vitro Studies on the Inhibition of  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ - Glucosidase by Leaf Extracts of *Picralima nitida* (Stapf), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* October , vol. 12 (5): 719-725.
- Kebaha, F., (2023). Evaluation de l'effet inhibiteur du Camembert sur l' $\alpha$ -amylase. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. Spécialité : Biochimie.
- Khacheba, I., Benamar, H., (2008). Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales - sur l'alpha - amylase. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie, Université Amar Telidji - Laghouat.
- Kindstedt, P. S. (2014). The basics of cheesemaking. *Cheese and microbes*, 17-38.
- Kitabchi AE, Umpierrez GE, Murphy MB, Kreisberg RA.(2006). Management of hyperglycemic crises in patients with diabetes. *Diabetes Care*;29 : 2739—48.

## Références bibliographiques

---

- Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016a). Cheese : Processing and sensory properties. 748-754.
- Kongo, J. M., & Malcata, F. X. (2016b). Cheese : Types of Cheeses – Hard. In Encyclopedia of Food and Health (p.763-767). Elsevier.
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides : From science to applications. Journal of Functional Foods, 1(2), 177-187.

### L.

- Legg, A. K., Carr, A. J., Bennett, R. J., & Johnston, K. A. (2017). General aspects of cheese technology. In *Cheese* (p. 643-675). Elsevier.
- Le Graet, Y., & Brulé, G. (1993). Les équilibres minéraux du lait: influence du pH et de la force ionique. Le lait, 73(1), 51-60.
- Levraut J, Ichai C, Grimaud D. (1999). Acidocétose diabétique. In: Grimaud D, Ichai C, editors. Anesthésie réanimation du patient diabétique. Paris: Masson; p. 125—40.
- Lépine, R. (1906). Les complications du diabète et leur traitement, Paris :les actualités médicales.
- Li, T., Kongstad, K.T., Staerk, D., (2019). Identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in machilus litseifoliaby combined use of high-resolution  $\alpha$ -glucosidase inhibition profiling and HPLC-PDAHRMS-SPE-NMR. Journal of Natural Products 82, 249-258.

### M.

- Mahaut M. ; Jeant R. et Brulé G., (2000). Dans l'initiation à la technologie fromagère. Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 133-178 p.
- Majdi, A., (2009). 'Les fromages AOP et IGP.', in Séminaire sur les fromages AOP et IGP. INT-Ingénieur agronomie. 88p.
- Martin B., Chilliard Y. & Ferlay A., (2018). Facteurs de variation de la qualité fromagère du lait. In: Le fromage. 137-156.
- McSweeney, P. L. H. (2003). CHEESES | Cheeses with 'Eyes'. In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (p. 1087 - 1093). Elsevier.
- Menzel, B., & Medjdoub, I. (2022). Contribution à l'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits de la partie aérienne de *Zygophyllum geslini* sur l' $\alpha$ -amylase. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen.
- Mercier C. (1985). Les Enzymes amylolytiques .In mouranche A.Coste C. Hydrolases et dépolymérasés. Edition Gauthier-Villars. 110-140.

## Références bibliographiques

---

- Michelle de Sales, P., Monteiro de Souza, P., Simeoni, L.A., Magalhaes, P. de O., Silveira, D., (2012).  $\alpha$ -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* 15, 141–183.
- Morrissey, P. A. (1985). Lactose: chemical and physicochemical properties. In *Developments in Dairy Chemistry—3: Lactose and Minor Constituents*. Dordrecht: Springer Netherlands. (pp. 1-34).
- Moualek, I. (2011). Caractérisation du lait de chèvre collecté localement: Séparations chromatographiques et contrôles électrophorétiques des protéines (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Mucchetti, G., Neviani, E., et Gatti, M. (2019). évolution de la protéolyse pendant l'affinage du fromage. *Journal international*, 289, 123-139.

### N.

- Neelakanten, Shahani et Arnold., (1971). Lipases and flavor development in some Italian cheese varieties. *Food Production Development*, 5, 52-58.
- Ninhydrine, fiche de sécurité du Programme International sur la Sécurité des Substances Chimiques, consultée le 9 mai 2009.

### O.

- Orban, J. C., & Ichai, C. (2011). Complications métaboliques aiguës du diabète. Acute metabolic complications of diabetes mellitus. *Réanimation médicochirurgicale, hôpital Saint-Roch, CHU de Nice, France*. (pp. 761—767).
- Organisation mondiale de la Santé (2016). *Rapport mondial sur le diabète*. Genève 27 (Suisse).
- Osman, M.A., Abdel Rahman, I.E., & Dirar H.A., (2010). Biochemical changes occurring during fermentation of camel milk by selected bacterial starter cultures. *African Journal of Biotechnology*. 9(43): 7331-7336.

### P.

- Panchal C.J. (1990). *Yeasts strain selection*. Marcel Dekker (ed) USA, p: 189.

## Références bibliographiques

---

- Poongunran, J., Perera, H-K- I., Fernando, W- I-T., Jayasinghe, L., Sivakanesan, R., (2015).  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Nine Sri Lankan Antidiabetic Plants, *British Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 7(5): 365-374, Article, BJPR. 118 ISSN: 2231-2919.
- Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) (2022). Diabète monogéniques de type MODY. Centre de Référence des Pathologies Rares de l'Insulino-Sécrétion et de l'Insulino-Sensibilité (PRISIS).

### R.

- Ramet, J. P. (1993). La technologie des fromages au lait de dromadaire (*Camelus dromedarius*) (Vol. 113). Food & Agriculture Org.
- Ramet J, (1985). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéen. Organisation des nations unies pour L'Alimentation et L'Agriculture.
- Remeuf, F., Le Noir, J. & Duby, C., (1989). Etude des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. *Lait*, 69,499, 518.
- Renhe I.R.T., Perrone Í.T., Tavares G.M., Schuck P. & de Carvalho A.F., (2019). Physicochemical Characteristics of Raw Milk, *Raw Milk*, Elsevier Inc., 29-43.

### S.

- Saci, A., & Kitouni, M. (2012). Production d'alpha-amylase par *Streptomyces* sp.
- Saïd, M., Safia, M., Mostefa,M., Zakaria, B. & Saliha, B. (2019). Variation des paramètres physico-chimiques et biochimiques au cours de la préparation du Raïb à partir du lait de chamelle. *Revue des Bio-Ressources*, 9(2).
- Sánchez-Macias, D., Morales-delaNuez, 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.
- Sanger, F., Brown H, Kitai R. (1995). The structure of pig and sheep insulins. *Biochem J*;60:556–65.
- Scheen, A., Radermecker, R., Philips, J. C., Rorive, M., De Flines, J., Ernest, P., & Paquot, N. (2007). Le traitement du diabète de type 2: entre insulinosensibilisateurs et insulinosécrétagogues. *Revue Médicale de Liège*, 62.

## Références bibliographiques

---

- Schlienger J. L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5): 839-848.
- Schomburg D and Salzmann M. (1991). *Enzyme Hand book 4. Classe 3: Hydrolases* SpringerVerlag (ed). Berlin Heidelberg. Germany. P: 1-12.
- Scriban R., 1999. *Biotechnologies*. In *Techniques et Documentation- Lavoisier*. PP : 149-157.
- Sedjai, M., (2023). Recherche d'éventuels effets biologiques d'un fromage à base de pâte pressé cuite. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. Spécialité : Biochimie.
- Seminel L., (2015). Le livre blanc du camembert liberté, égalité, Camembert p 10-11. paris.
- Senhadji O., (2023). Evaluation de l'effet inhibiteur du fromage à base de lait de chèvre sur l' $\alpha$ -amylase. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen. Spécialité : Biochimie.
- Sicard P. (1982). Applications industrielles des enzymes ; In : *Les enzymes, production et utilisation industrielles* .Durand G., Monson P. Editions Gauthier .Villars, Paris.p.110-180.
- Sky-Peck, H. H., & Thuvasethakul, P. (1977). Human pancreatic alpha-amylase. II. Effects of pH, substrate and ions on the activity of the enzyme. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 7(4), 310-317.
- Souza, P. M. D. (2010). Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41, 850-861.
- Spinass, G. A., & Lehmann, R. (2001). Diabète sucré : Diagnostic, classification et pathogénèse. *Forum Med Suisse*, 20, 519-525.

### T.

- Tremolier, J., Serville, Y., Jacquet, R., Dupin, H., (1984). *Manuel d'alimentation humaine*. Ed. ESF 1, p547.
- 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.

## Références bibliographiques

---

- Tossou,K. ;Sess,D. ;Adra,A.(1995). Interet et place de la medecine traditionnelle dans le traitement de diabète secré - résultats preuminaires,( Tokoin ). Pharm. Méd. trad. afro, pp 19-28.

### V.

- Vassal, L., Monnet, V., Le Bars, D., Colette, R., & Gripon, J. C. (1986). Relation entre le pH, la composition chimique et la texture des fromages de type Camembert. Le lait, 66(4), 341-351.
- Veisseyre R., (1975). Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3ème édition. Edition la maison rustique, Paris.
- Vignola C.L., (2002). Science et technologie du lait-transformation du lait, canada : presses internationales polytechniques, p.444-460.
- Vilain, A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait?. Revue française d'allergologie, 50(3), 124-127.
- Villamiel, M., Montilla, A., & García-Pérez, J. V. (2017). "Ultrasound in Food Processing: Recent Advances." Dans Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing (pp. 1-14). Springer, New York, NY.

### Z.

- Zeller, B, (2005). Le fromage de chèvre : spécificités technologiques et économiques. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT,p72.