

ETUDE DU POUVOIR COAGULANT SUR LE LAIT
DE QUELQUES PLANTES LOCALES.

par A. MORSLI, M. BELLAL, A. AMMOUCHE
Département de Technologie des Industries
Agricoles et Alimentaires.
Institut National Agronomique -Alger.-

خلاصة :

درست مقدرة بعض النباتات المحلية المزروعة في الجزائر مثل التين
Ficus carila L. والخرشوف *Cynara scolymus* استخلصت العادة المخثرة
بواسطة سحق الاوراق والازهار وتجميدها ونقصها في مزيج الماء والكحول (20%)،
اما جلباب التين فقد استخلصناه بالتثجيل (22 36 غ / 15 دقيقة) .
ثم تكثيف مستخلص اوراق وازهار التين بالتجفيف تحت التفريغ او بالترسيب بواسطة
الكحول . ثم تحديد الوقت اللازم للتخثير على حليب مركب بـ 4 في الحليب
المجفف .

تبين بان فعالية المستخلص المخثر تختلف باختلاف نوع النبات، جزء
النبات وحتى حسب طور نموه .
تختلف الثوابت المثلى باختلاف المستخلص :

— مستخلص الخرشوف (ازهارا) : الحرارة = 70 م° ،
ورقم الحموضة (pH) = 5.6 .

— مستخلص التين (الجلباب) : الحرارة = 80 م° ورقم الحموضة .
ويظهران تركيز كلهر الكالسيوم (CaCl_2) في الحليب (0,02M)
في كلتا المستخلصين المذكورين .

تبين ان العديد المستخلصات له اثار غير مستحبه على حفظها ، وعلى تخثير
الحليب .
اظهرت الدراسة بان ثبات المستخلصات النباتية المخثرة بأنها أكثر ثبات
تحت الحرارة المرتفعة من الانفجة الصناعية ، وتتصف كل من المستخلصات بدرجات ثبات

مثلى كما لتالي :

- - مستخلص الخرشوف (الازعار) : pH = 3 و 5 الى 7 .
- - مستخلص التين (الجلباب) : pH = 4 و 7 .

وبالنتيجة فان مستخلص ازهار الخرشوف و مستخلص جلاباب التين يعتبران مخثران مرضيان للحليب .

RESUME

Le pouvoir coagulant sur le lait de certaines plantes cultivées en Algérie, particulièrement le figuier (Ficus carica L.) et l'artichaut (Cynara scolymus) a été étudié, Les extraits coagulants des feuilles et des fleurs ont été obtenus par broyage, congélation et macération dans de l'eau alcoolique à 20%. Celui du latex de figuier a été obtenu par centrifugation à 3622g/15mn. Les extraits de feuilles et de fleurs ont été concentrés par évaporation sous vide ou par précipitation alcoolique. Le temps de coagulation a été déterminé sur du lait en poudre reconstitué.

L'activité des extraits est très influencée par l'espèce, la partie du végétal et son stade de développement. Les paramètres optima varient selon l'extrait considéré :

- Extrait d'artichaut (fleurs) : T° = 70°C ; pH = 5,6
- Extrait de figuier (latex) : T° = 80°C ; pH = 5.

La concentration en CaCl₂ du lait paraît de 0,02 M pour les deux extraits. La dilution des extraits a un effet défavorable sur l'activité coagulante et sur la conservation des extraits.

La stabilité thermique et chimique varie également selon l'extrait . Les extraits végétaux sont plus stables aux températures élevées que la présure. Ces extraits présentent chacun d'eux, deux valeurs de pH optima de stabilité :

- Extrait d'artichaut (fleurs) : pH = 3 et 5 à 7
- Extrait de figuier (latex) : pH = 4 et 7.

Ainsi, l'extrait de latex de figuier et de fleurs d'artichaut obtenus présentent des propriétés intéressantes d'agents coagulant le lait.

Mots clé

Coagulation du lait-Enzymes-Présure-Succédanés de présure -
Protéinases.

Titre abrégé

Extraits végétaux coagulant le lait.

INTRODUCTION

Depuis quelques années, on note une diminution progressive des disponibilités en présure destinée à l'industrie fromagère (RAMET et HARDY, 1973). Cette diminution résulte d'une part de l'obligation d'éviter l'abattage de veaux de lait, source la plus importante de présure. D'autre part, les besoins protéiques dans l'alimentation ont déterminé une forte demande de produits fromagers (ROTONEL et EQUI, 1972). Cette situation a conduit de nombreux chercheurs à s'intéresser aux nouvelles sources d'enzymes coagulantes notamment les enzymes végétales (ESKIN, 1975 ; BARBOSA et al., 1976 ; TSOULI, 1979 et microbiennes (ALAIS et NOVAK, 1968 , HOUINS et al., 1973).

L'objectif de cette étude est l'obtention d'extraits à effet coagulant sur le lait à partir de différentes plantes locales et assez répandues tels que le figuier, l'artichaut, le cardon et le chardon. L'obtention de tels extraits permettrait d'envisager leur utilisation dans l'industrie fromagère.

Les propriétés des extraits coagulants des différentes plantes sont étudiées et comparées à celles d'une présure commerciale d'origine animale.

Une liste des plantes locales (QUEZEL et al., 1962 ; TRABUT, 1936) à effet coagulant sur le lait a été établie (tableau 1) en se basant sur les données de SCOTT, 1973 et de WISEMAN, 1978.

MATERIEL

L'étude a porté sur les végétaux suivants :

- *Ficus carica* L. (figuier), variété "Aberkan", feuilles séchées, feuilles fraîches et le latex (sève). Les échantillons proviennent de la station de l'I.N.A.*
- *Cynara scolymus* (artichaut cultivé), variété "violet d'Alger", feuilles et fleurs séchées. Les échantillons ont été prélevés à la station expérimentale de l'I.D.C.M.**
- *Cynara cardunculum* L. (cardon ou artichaut sauvage), variété "violet", feuilles séchées. Les échantillons proviennent du domaine agricole "El-Alia", Alger.
- *Silybum marianum* L. Gaertn (chardon marie) ; feuilles fraîches. Les échantillons proviennent de la station de l'I.N.A.*.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Avant l'extraction des substances brutes à effet coagulant, les feuilles et les fleurs ont été séchées en atmosphère du laboratoire et conservées à l'état sec (TSOULI, 1979), sauf pour les parties végétales utilisées directement à l'état frais.

* I.N.A.- Institut National Agronomique El-Harrach -Alger.-

** I.D.C.M.- Institut du Développement des Cultures Maraichères
Staoueli - Alger .-

- Extraction : le latex de figuier est centrifugé à 3622g pendant 15 mn (RIFAAT et al., 1970) , ensuite filtré sur filtre Seitz pour réduire la charge microbienne. Les feuilles et les fleurs, après broyage et congélation (24 heures) pour briser la structure cellulaire ont été mises à macérer avec agitation dans l'eau alcoolique à 20% pendant deux jours. Après macération, les solutions sont filtrées sur toile, centrifugées à 906g pendant 45 mn (TSOULI, 1979). Les solutions sont ensuite concentrées et filtrées sur filtre Seitz.

- Concentration : Une concentration par évaporation sous vide a été appliquée pour les extraits des feuilles et des fleurs. L'appareil "Buchi" est réglé à 28°C pour éviter une désactivation des extraits due à un échauffement excessif (TSOULI, 1979). Les extraits des feuilles qui n'ont pas donné une activité coagulante avec la concentration par évaporation sous vide ont été concentrés par précipitation alcoolique. Cette dernière méthode précipitant les protéines permet de concentrer beaucoup plus les extraits et de déceler une faible activité coagulante. Les solutions ont été portées à un degré alcoolique de 75%, refroidies à 4°C pendant 24 heures et ensuite le précipité a été séparé (CHISTEN et VIRASORO, 1935).

- Mesure de l'activité : L'activité enzymatique des extraits est calculée en "force" coagulante (SOXHLET cité par TSOULI, 1974). L'activité coagulante relative est exprimée en pourcentage de l'activité coagulante maximale (100%). Dans cette méthode , il a été utilisé du lait en poudre écrémé dénommé "Low heat ". Ce lait présente l'avantage d'être homogène et ne pose pas de problèmes de conservation pour la durée de l'étude. La reconstitution de ce lait a été faite avec 12g dans 100 ml de solution à 0,01M de CaCl_2 et le pH est ajusté à 6,4 avec HCl ou NaOH 2N, suivant le cas. Le temps de coagulation est déterminé sur le lait porté à 35°C, au moment où les premiers flocons apparaissent sur les parois d'un tube à essai après l'addition de l'extrait coagulant dans le lait (COLLIN et al, 1977). Comme référence, il a été utilisé la présure de veau commerciale de "force " connue : 1/10.000. Les extraits végétaux

et la présure sont utilisées en dilutions dans de l'eau distillée afin d'obtenir des temps de coagulation comparables.

- Test de stabilité

Les extraits végétaux et la présure sont dilués dans de l'eau distillée et ajustée au pH avec HCl ou NaOH 2N.

- Stabilité thermique

Les solutions enzymatiques ajustées à pH 6 sont incubées à différentes températures pendant 48 heures. Leur activité coagulante est mesurée au cours du temps.

- Stabilité chimique (pH des extraits)

Les solutions enzymatiques ajustées à différents pH sont maintenues à 4°C. Leur activité coagulante est mesurée après 48 heures.

- Conservation

Les extraits et la présure sont conservés à 4°C pendant 40 jours. L'activité coagulante est mesurée au cours du temps.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I.- ESSAIS PRELIMINAIRES . (Effet coagulant sur le lait) :

L'extrait de fleurs a donné une coagulation en 40 mn pour l'extrait brut, le temps a été réduit à 6 mn après concentration de cet extrait par évaporation sous vide. Les extraits des feuilles séchées ont donné une coagulation, mais seulement après concentration des extraits; feuilles séchées de figuier en 2h 15 mn et feuilles séchées de cardon en 4 heures. L'extrait de latex de

figuier sans concentration coagule instantanément le lait. Quant à l'extrait des feuilles fraîches (figuier et chardon) ils n'ont pas coagulé le lait après 4 heures d'incubation, même après les deux méthodes de concentration.

Les extraits de feuilles fraîches de figuier sont prélevées à un stade très jeune (printemps) et n'ont montré aucune activité coagulante. Par contre, une faible activité a été décelée dans les feuilles séchées, récoltées à un stade végétatif très avancé (automne). Il semblerait dans le cas du figuier que les extractions doivent être effectuées pendant la période de fructification de l'arbre. En effet, RIFAAT et al., 1979, ont obtenu pendant ce stade, une activité coagulante, plus importante que celle que nous avons obtenue avec l'extrait de latex prélevé à un stade plus avancé.

D'autre part, un essai sur les fleurs d'artichaut montre que le stade de développement des fleurs affecte l'activité coagulante de l'extrait.

Par ailleurs, les feuilles de chardon et d'artichaut prélevées à un stade avancé, ne présentent aucune activité coagulante, même pour des temps prolongés. Nos résultats sont en accord avec ceux de MOULI, 1974. L'auteur explique ce phénomène par une concentration de la substance coagulante dans la fleur. Avant la floraison, la substance coagulante serait répartie dans tout le végétal, mais à une concentration faible.

Ces essais préliminaires nous ont conduit à retenir pour la suite de cette étude, les extraits de latex de figuier et de fleurs d'artichauts (ou extraits de figuier et d'artichaut).

2. ACTIVITE COAGULANTE COMPAREE DES EXTRAITS VEGETAUX

Les "forces" de coagulation des extraits de latex et de fleurs pour 1g de substance sèche (extrait sec) sont respectivement de 1/159 000 et de 1/3588. L'extrait de latex a une "force" comparable à celle de la présure

en poudre qui peut atteindre une "force " de 1/150.000 selon GARNIER et al., 1968. Par contre l'activité de l'extrait de fleurs d'artichaut reste faible. La différence d'activité coagulante serait vraisemblablement due à une différence de concentration en enzymes (protéinases). Notons enfin que l'activité peut être liée à la variété végétale (RIFAAT et al., 1970 ;TSOULI, 1974) mais ce point n'a pas été vérifié dans notre étude.

3. RECHERCHE DES CONDITIONS OPTIMALES D'UTILISATION DES EXTRAITS

- Concentration en CaCl_2 du lait : L'activité coagulante des extraits végétaux et de la présure est influencée par la concentration en CaCl_2 . Plus la concentration en CaCl_2 augmente plus la coagulation est rapide. Cependant la concentration optimale pour éviter une précipitation de la caséine par le CaCl_2 paraît de 0,02M pour les trois coagulants (Fig.1.).
- pH du lait : L'activité des trois coagulants augmente lorsque le pH baisse. Cette augmentation dépend de l'origine de la substance coagulante. L'activité de l'extrait d'artichaut baisse après un pH optimum de 5,6. Celui de la présure paraît inférieur à pH 5 dans les conditions décrites. L'activité de l'extrait de figuier continue de croître aux pH inférieurs à 5 (Fig.2). A des pH supérieurs à 6 il y a une baisse d'activité importante.
- Température du lait : Les extraits de figuier et d'artichaut présentent des températures optimales de coagulation différentes (respectivement de 80°C et de 70°C). L'étude a montré que les extraits végétaux sont plus actifs aux températures élevées que la présure . Dans le lait porté à différentes températures., l'extrait de figuier perd son activité à 92°C, la présure à 65°C et l'extrait d'artichaut à 78°C (Fig.3.).
- Relation entre le temps de coagulation du lait et l'inverse de la concentration (dilution) en extrait coagulant :

Les résultats obtenus (Fig.4.) montrent que le temps de coagulation augmente linéairement en fonction de l'inverse de la concentration pour l'extrait

d'artichaut et la présure. Ce n'est pas le cas pour l'extrait de figuier dont l'augmentation du temps de coagulation est progressif et relativement faible pour les valeurs de 10 à 100; devient très accentué pour les valeurs supérieures. A partir de la valeur 400 (correspondant à une concentration de l'extrait de 0,0025 ml/ml d'eau distillée ou dilution 1/400) le temps de coagulation devient très long. Au-dessous de cette concentration l'activité coagulante est très faible et tend à s'annuler.

4.- ETUDE DE LA STABILITE DES EXTRAITS

- Stabilité thermique : L'extrait d'artichaut est plus stable que l'extrait de figuier et la présure. Il garde son activité même pour un traitement prolongé à 55°C (Fig.5,6,7). A cette température, l'extrait de figuier et la présure perdent leur activité. Cependant pour une température inférieure ou égale à 20°C, ces coagulants gardent une bonne partie de leur activité après 16 heures d'incubation.
- Stabilité chimique (pH des extraits) : La stabilité varie également selon l'extrait. La présure est très stable dans un intervalle de pH de 3 à 6. La présure utilisée est commerciale, contient en grande partie de la chymosine et une faible partie de pepsine bovine. Ceci explique ce large intervalle de pH de stabilité s'étendant aux pH acides. Alors que les extraits végétaux présentent chacun, deux valeurs maximales de pH de stabilité (pH 4 et 7 pour l'extrait de figuier et pH 3 et 5 à 7 pour l'extrait d'artichaut) (Fig.8.). Ces deux pics seraient dûs à la présence de plus d'une enzyme ayant des pH de stabilité différents et non approchés. Particulièrement pour l'extrait de figuier dont la figure 4. pourrait confirmer cette observation.
- Conservation : Au cours d'un long entreposage à 4°C, les extraits végétaux conservent une bonne activité à l'état concentré. Ces extraits perdent une grande partie de leur activité lorsqu'ils sont dilués dans de l'eau distillée (Fig.9.). Ceci pourrait s'expliquer par l'instabilité des extraits aux faibles concentrations.

CONCLUSION

L'étude entreprise sur les extraits végétaux montre une activité coagulante, une stabilité thermique et chimique intéressante. Les résultats acquis, qui se situent favorablement par rapport à ceux de la littérature nous permettent d'espérer l'emploi de ces extraits dans l'industrie fromagère.

Cependant d'autres essais relatifs à la fabrication d'un fromage avec les extraits végétaux en comparaison avec la présure, sont à déterminer. Pour cela, la suite de notre programme de recherche consiste en la mise au point d'un procédé de séparation et de purification enzymatique sur les extraits végétaux.

BIBLIOGRAPHIE

ALAIS C. et NOVAK G., 1968 - Etude d'un enzyme coagulant microbien dérivé d'*Endothia parasitica*.
Le lait, 477 , 397 - 399.

BORBOSA M., VALLES E., VASSAL C., MOCQUOT G., 1976 - L'utilisation d'extrait de *Cynara cardunculus* L. comme agent coagulant en fabrication de fromage à pâte molle et pâte cuite. Le lait, 551-552.

CHRISTEN C. et VIRASORO E., 1935 - Présures végétales , extraction et propriétés. Le lait , 15 , 355 - 358.

COLLIN J.C., GRAPPIN R., LEGRAET Y., 1977- Etude de la méthode de mesure, selon BERRIDGE, du temps de coagulation du lait additionné d'une solution enzymatique. Revue laitière française, 355 , 389.

- ESKIN N.A.E. and LANDMAN A.D., 1975 - A research note. Study of milk clotting by an enzyme from Ash gourd (*Benincasa cerifera*). Journal of food science, 40, 413.
- GARNIER J., MOCQUOT G., RIBALEAU-DUMAS B., MAUBOIS J.L., 1968- Coagulation du lait par la présure : aspect scientifique et technologique. Ann. Nutri. Alim., 22, 495-552.
- HOUINS C., DEROUANE C., COPPENS R., 1973 - Etude comparative de l'activité coagulante et du pouvoir protéolytique de la présure animale et de trois cas de ses succédanés. Le lait, 529-530 . 610.
- POZNANSKI S., REPS A., DOWLASZENICZ., ELZEIETA., 1975 - Propriétés coagulantes et protéolytiques de la protéase extraite de *Cirsium arvense*. Le lait 549-550, 669-682.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962 - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. du centre nat. rech. sci. Paris Tome 1 et Tome 2.
- RAMET I.D., EL-SHIBINY S., ABD-EL-SALAM M.H., FAHMI A.H., 1970 - Studies on milk clotting enzymes from higher plants. I. Milk clotting activity from some local plants. Indian J. dairy sci., 23, (13), 151-154.
- ROTONI O.T. et SEQUI P., 1972 - Recherche sur l'enzyme coagulante de l'*Endothia parasitica*. Ann. Techn. Agric., 21 (3), 367-383.
- SCOTT T., 1973 - Rennet and rennet substitutes. Process Bio-chemistry, 12, 10-14.
- TRABUT L., 1936 - Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique. Inst. Nat. Agr., Alger.
- TSOULI J., 1974 - Etude comparée de l'activité enzymatique de trois variétés d'artichaut du genre *Cynara cardunculus* L. sur la coagulation du lait. Le lait, 537, 415-418.

- TSOULI J., 1979 - Etude d'une protéase coagulante extraite de *Cynara cardunculus* L. et *Cynara scolymus*. Thèse de doctorat d'état es-sciences, Université Claude BERNARD de Lyon, 1-62.
- VIEIRA DE SA F. and BARBOSA H., 1972 - Cheese-making with vegetable rennet from cardo (*Cynara cardunculus* L.). Journal of chromatography, Amsterdam, 39 (3), 335-345.
- WISEMAN A., 1979- Tropics in enzymes and fermentation biotechnology, First published by Ellis Horwood, London, 145-146.

Tableau 1: Plantes locales pour la coagulation du lait (local plants for milk coagulating).

NOMS SCIENTIFIQUES (SCIENTIFIC NAMES)	NOMS VULGAIRES (COMMON NAMES)		
	FRANÇAIS (FRENCH)	ANGLAIS (ENGLISH)	ALGERIENS (ALGERIAN)
<i>Bryonia dioica</i> Jacq.	Bryone	White Bryony	Tailoula Kerma beida
<i>Chrysanthemum parthenium</i> (L.) Pers.	Matricaire	Fever few	Mouniat
<i>Conium maculatum</i> L.	Cigue	Hemlock	Guebaba Sikrane
<i>Cucurbita pepo</i>	Citrouille	Pumpkin	Takhsat Kabouia
<i>Cucumis melo</i> L.	Melon		Afgous Bettikha
<i>Cucumis sativus</i> L.	Concombre	Cucumber	Takhiart Lekhiar
<i>Cynara cardunculus</i> L.	Cardon	Cardoon	Taredout Guernina
<i>Cynara humilis</i> L.			Fegaa
<i>Cynara scolymus</i> L.	Artichaut cultivé	Artichoke	Karnoune
<i>Dipsacus sylvestris</i> Mill.	Cardère	Teasel	Tajahnid gui- zem Denb-es-sebaa
<i>Ficus carica</i> L.	Figuier	Fig tree	Taguerourt Kerma
<i>Galium verum</i> L.	Gaillet	Lady's Bedstraw	Fouaoua
<i>Heracleum sphondylium</i> L.	Berce	Hogweed	Areoul
<i>Malva sylvestris</i> L.	Mauve	Common Mallow	Amedjir Khobbeiza
<i>Ricinus communis</i> L.	Ricin	Castor oil seeds	Akhilouane Kiroua
<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Chardon Marie		Douj-n-ilour' man chouket el- beida
<i>Senecio jacobaea</i> L.	Senecion	Ragwort	Debbouz - el-arab
<i>Solanum dulcamara</i> L.	Douce-amère		Aouzizi Haboua m'ra
<i>Urtica dioica</i> L.	Ortie	Stinging Nettle	Azegdou Bou zegdouf

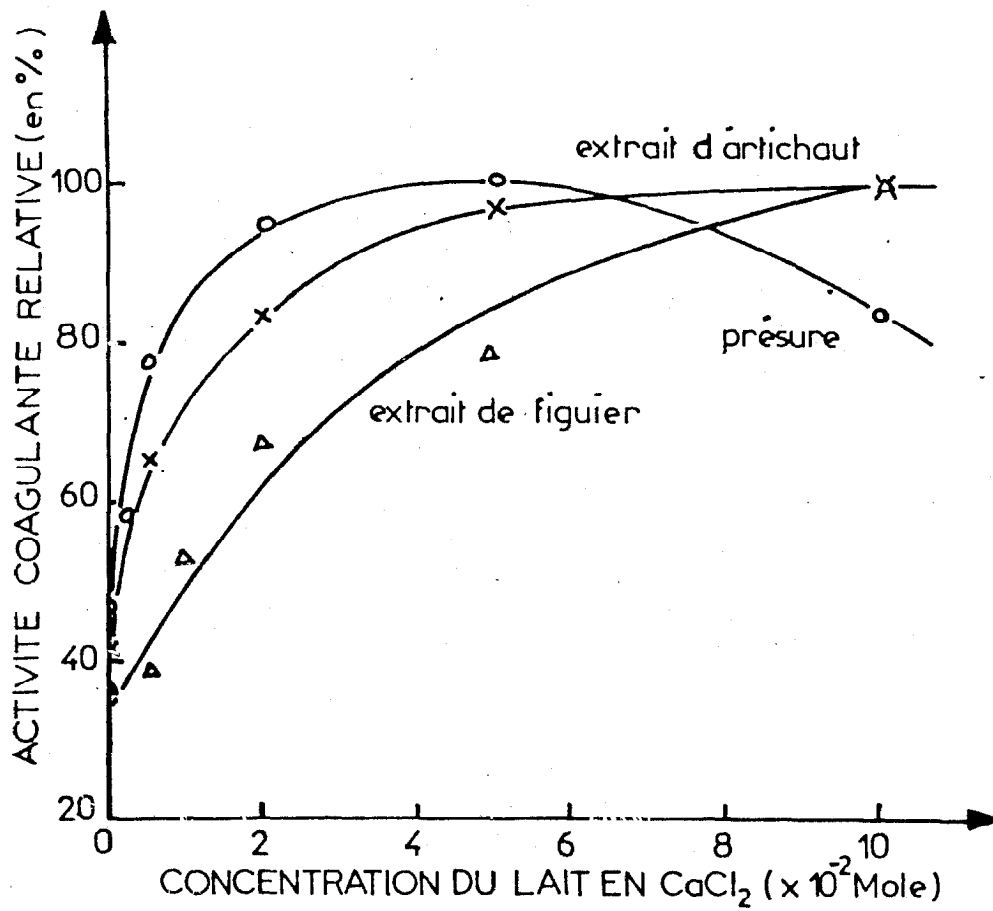


Figure 1: Activité coagulante relative des extraits végétaux et de la présure en fonction de la concentration en CaCl₂ du lait.

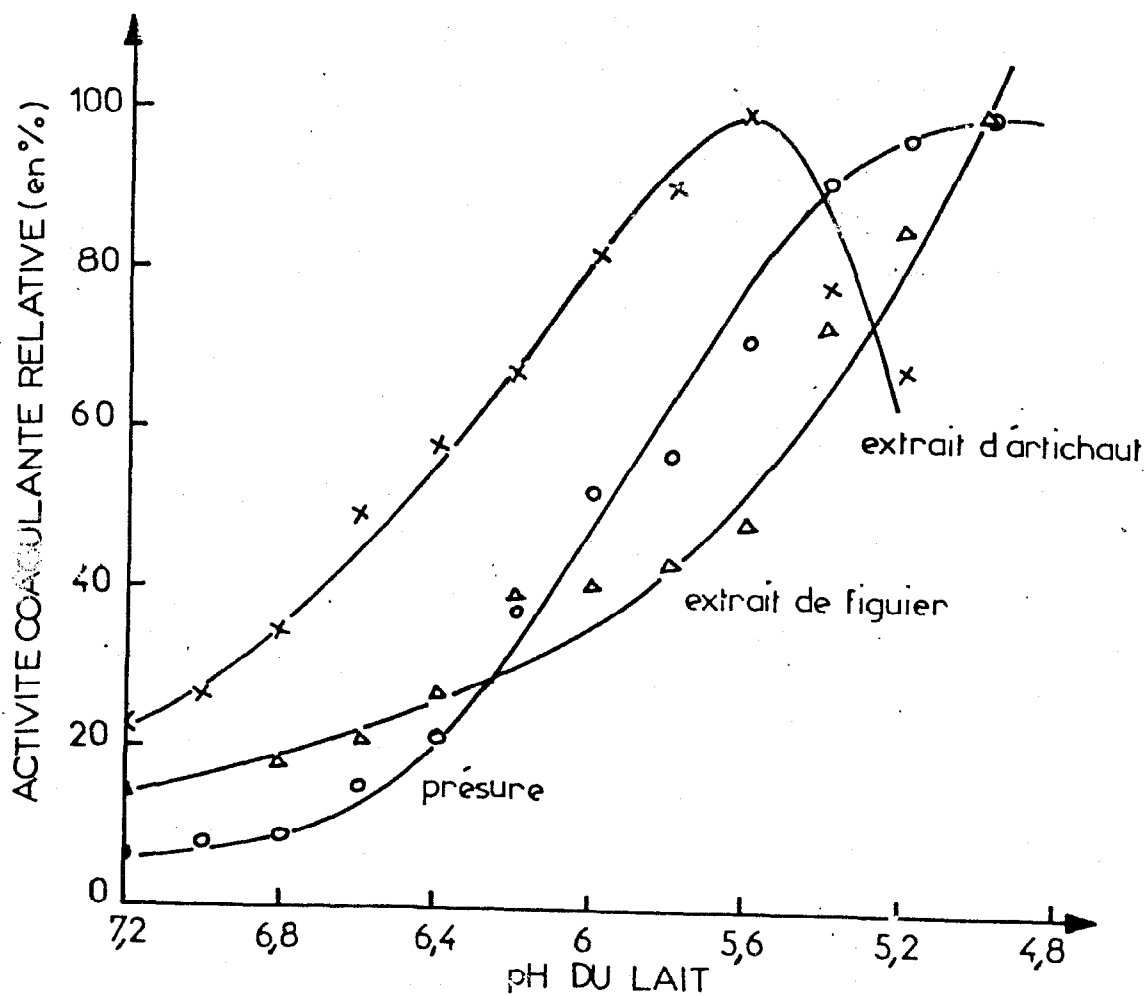


Figure 2: Activité coagulante relative des extrait végétaux et de la présure en fonction du pH du lait.

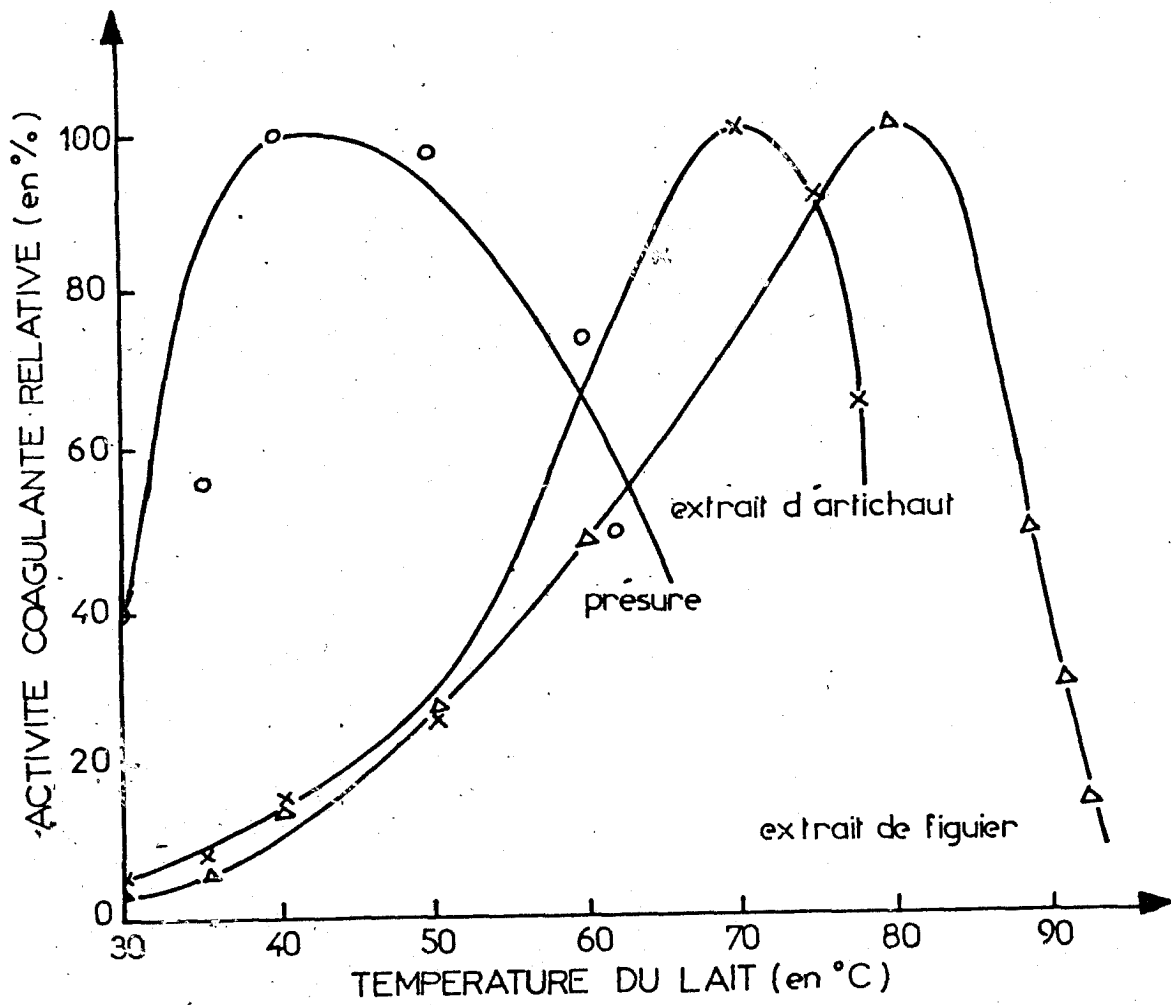


Figure 3: Activité coagulante relative des extraits végétaux et de la présure en fonction de la température du lait.

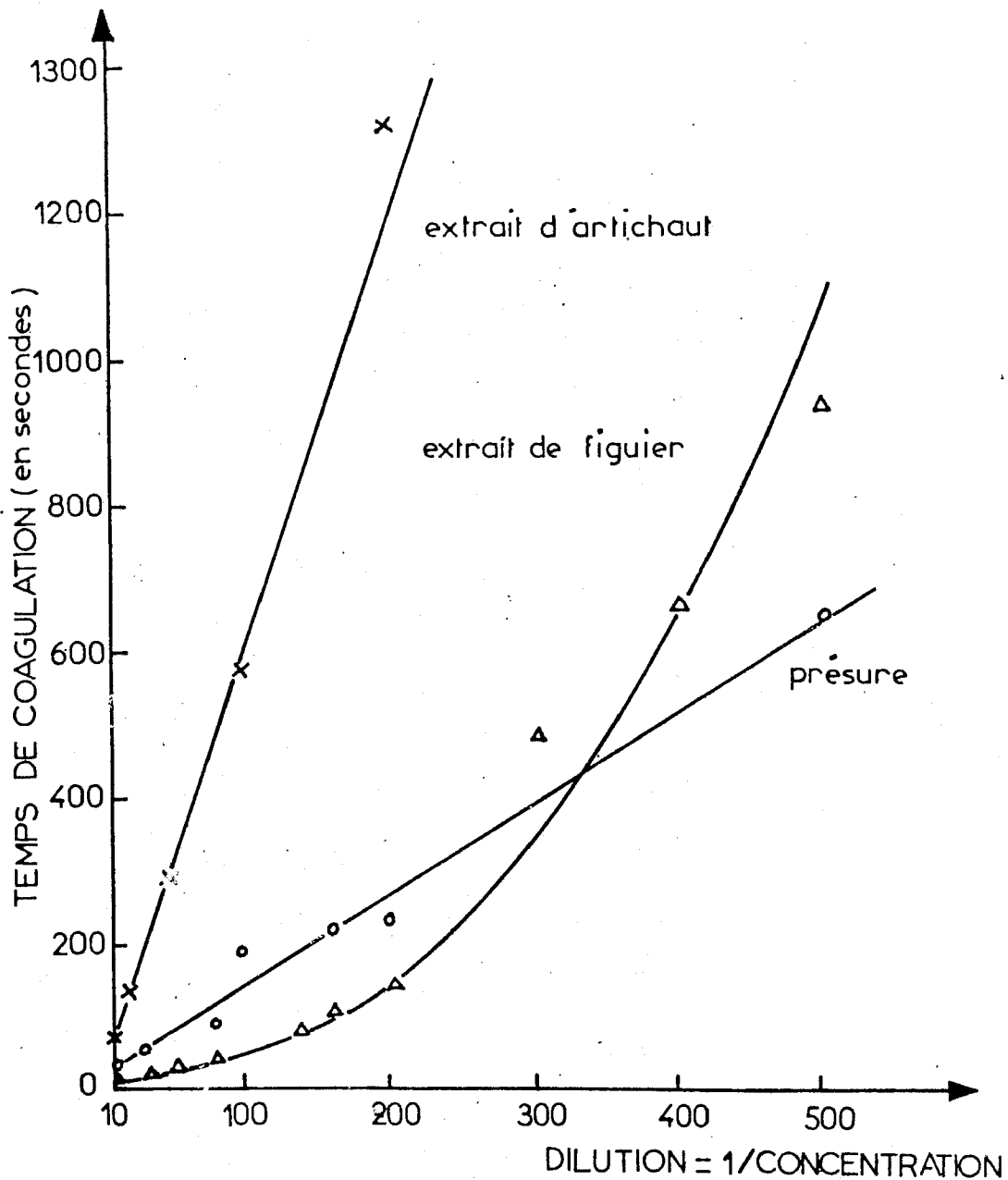


Figure 4 : Relation entre le temps de coagulation et l'inverse de la concentration en extrait coagulant.

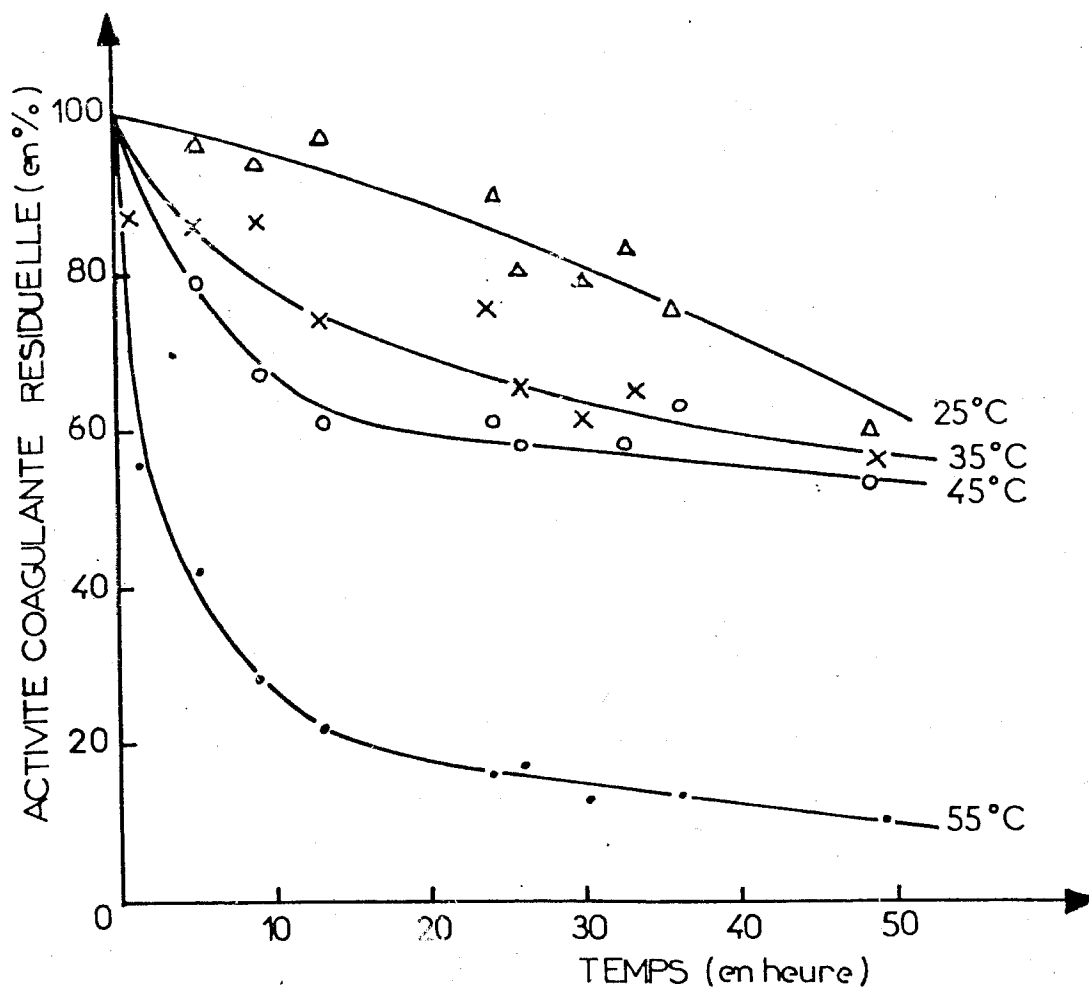


Figure 5: Stabilité thermique de l'extrait de fleurs d'artichaut en fonction du temps.

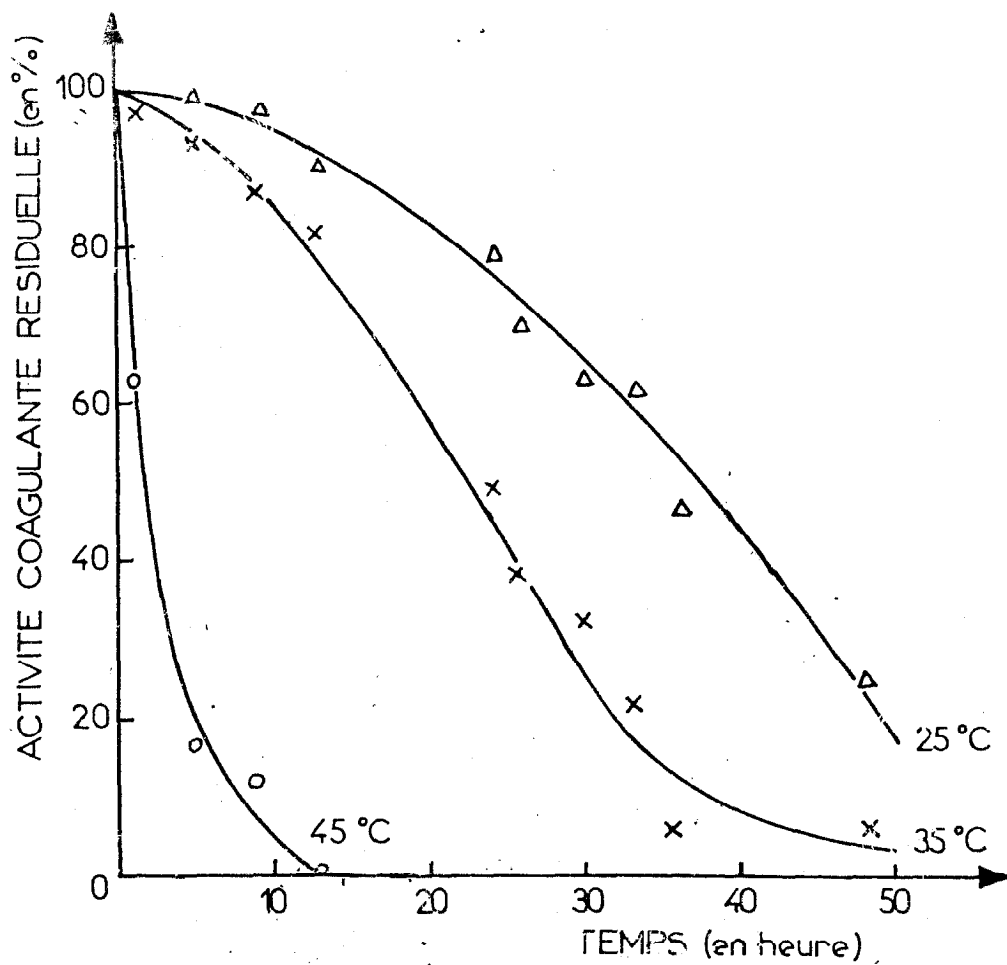


Figure 6: Stabilité thermique de l'extrait de latex de figuier en fonction du temps.

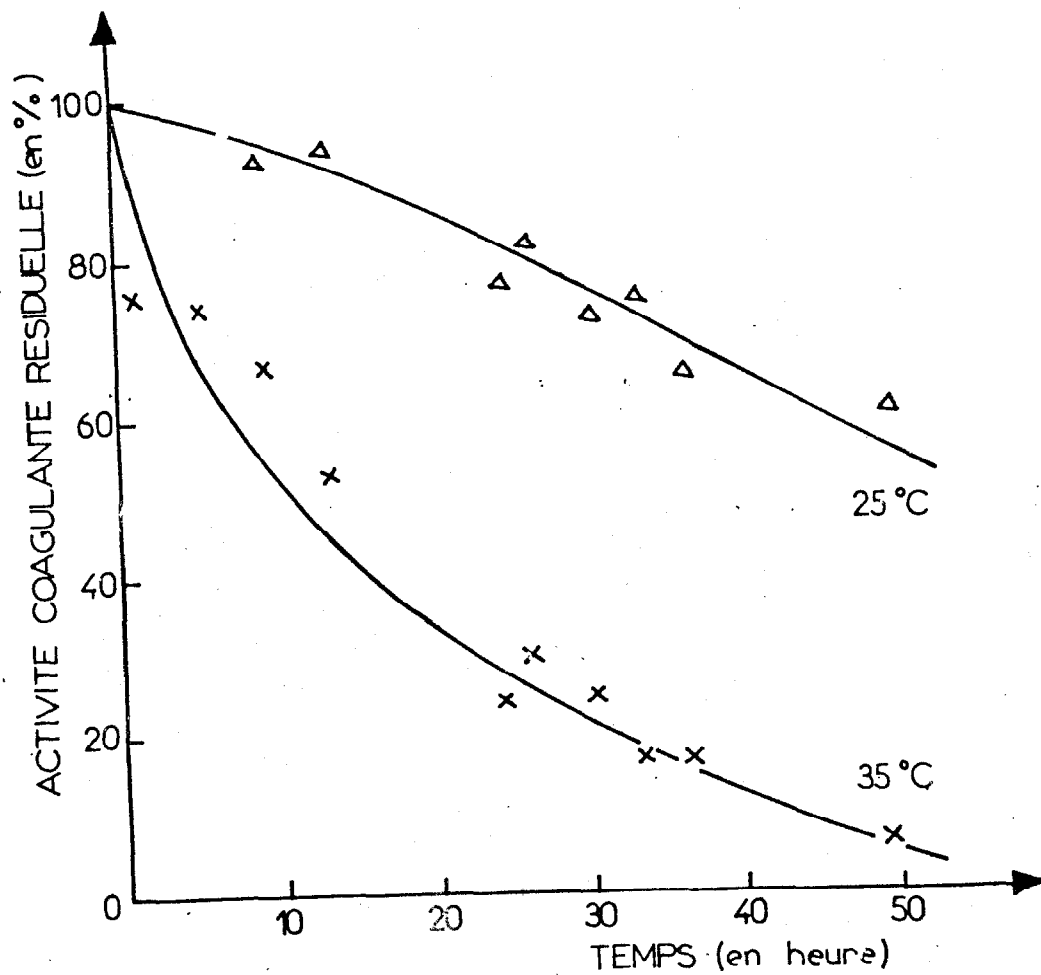


Figure 7: Stabilité thermique de la présure en fonction du temps.

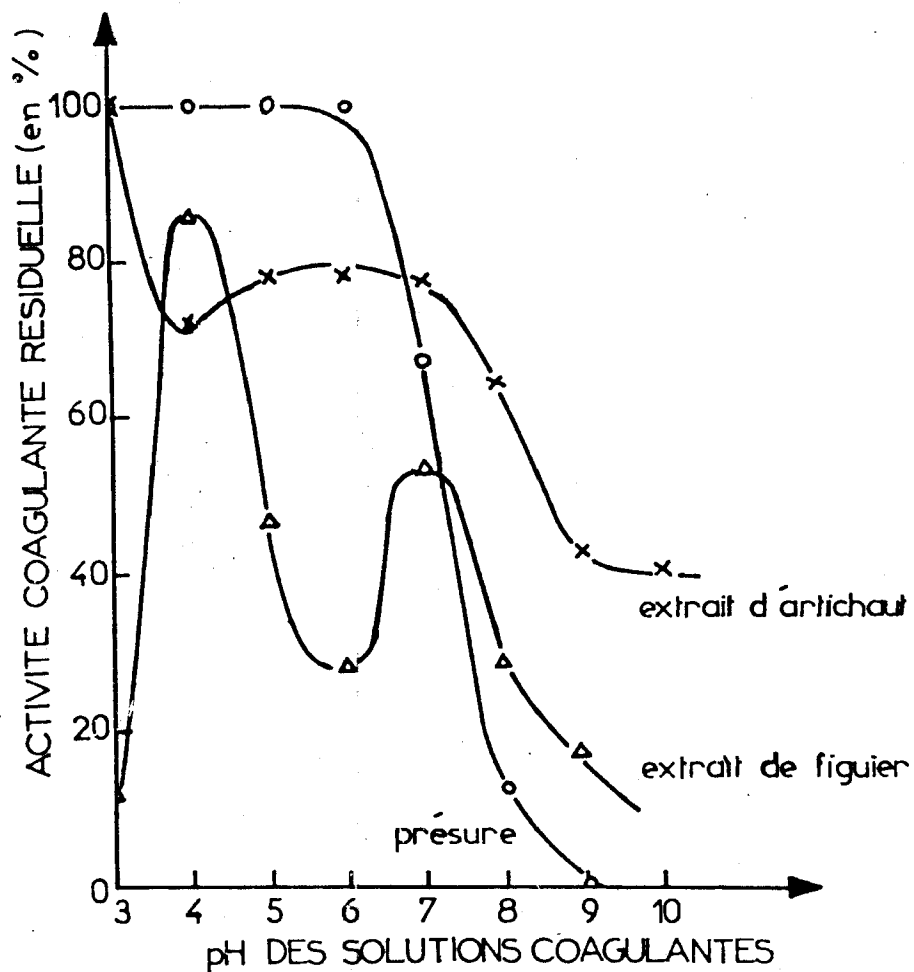


Figure 8 : Stabilité au pH des extraits végétaux et de la présure.

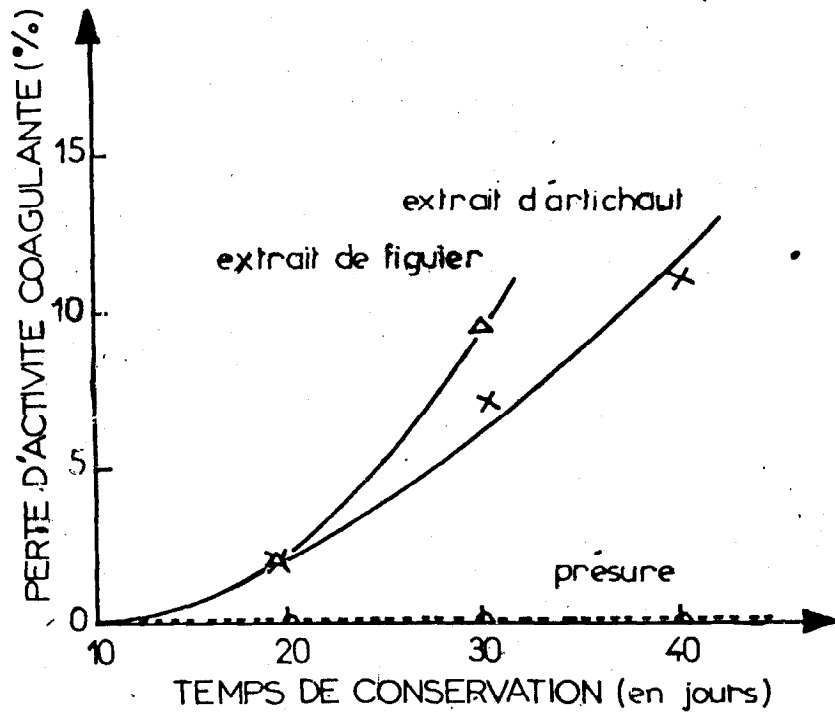


Figure 9: Perte d'activité coagulante des extraits végétaux et de la présure en fonction du temps de conservation.