

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

Les biopeptides issus de l'hydrolyse des protéines du lait sous l'action des bactéries lactiques.

Présenté par: SELLAMI Bouhafs

Devant le jury composé de :

Président:	BENAMAR Ibrahim	MAA	Université de Laghouat
Examineur:	ZERROUKI Mohamed Hocine	MAA	Université de Laghouat
Rapporteur :	BOUNOUALA Fatima Zohra	MCB	Université de Laghouat

Soutenu publiquement le :...../07/2022

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Je remercie mon dieu qui m'a illuminé le chemin du savoir et m'a donné la volonté, la patience et le courage.

*Je voudrais remercier particulièrement Mme **BOUNOUALA F. Z** pour son encadrement. Quoique je dise, les mots ne sauraient exprimer ma profonde gratitude pour avoir dirigé ce mémoire. Ses encouragements et sa patience m'ont beaucoup aidé. Je la remercie vivement d'avoir suivi et orienté ce travail.*

*Mes très sincères remerciements vont également aux membres de jury qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir examiner, évaluer et prendre connaissance de ce travail: Monsieur **BENAMAR Ibrahim** et Monsieur **ZERROUKI Mohamed Hocine**. Les remarques que vous m'adresserez lors de cette soutenance, me seront immensément précieuses. Veuillez trouver ici mes sincères sentiments de gratitude et de respect.*

Liste des Abréviations

A : absorbance
ADN : acide désoxyribonucléique
ARN : acide ribonucléique .
ATP : adénosine triphosphate
Ala : alanine
Arg : arginine
Asp : aspartate
AUC : area under the curve
BS : blanc d'échantillon
BSA : Sérum Albumine Bovine
C : Contrôle
CO₂ : dioxyde de carbone
CN : caséine
CNb : caséine de brebis
CNc : caséine bovine commerciale
CNch : caséine de chamelle
DH : degré d'hydrolyse
DPP-IV : dipeptidyl peptidase IV
ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine
EDTA : éthylène diamine tétra acétate
GIP : gastric inhibitory peptide
GLP : glucagon like peptide
Gln : glutamine
Glu : glutamate
Gly : glycine
HPLC : chromatographie liquide à haute performance
UHPLC : chromatographie liquide à ultra haute pression
IC50 : concentration inhibitrice de 50% de l'activité.
Ileu : isoleucine
EPS : polysaccharides exocellulaires
LAB : lactic acid bacteria
Lb : *Lactobacillus*
Lc : *Lactococcus*
LC/MS : liquide chromatographie/ masse spectrometry
Leu : leucine
Lys /Arg : lysine/arginine
Lys : lysine
Met : méthionine

MS : masse spectrometry (spectrométrie de masse)

OMS : Organisation mondiale de la sante

ORAC : oxygen radical absorbance capacity

Orn : ornithine

Pro : proline

RP-HPLC-MS/MS: reversed phase-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry.

SDS : sodium dodécyl sulfate

SDS-PAGE : sodium dodécyl sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis

Ser : serine

T2DM : Diabète de type 2

TCA : trichloacétique acide.

Thr : thréonine

Tris : Ttris (hydroxyméthyl)- aminométhane.

Try : trypsine.

Val : valine

Liste des figures

- Figure 01 :** Utilisation des protéines, des peptides et des acides aminés par les bactéries lactiques (**De Roissart et Luquet, 1994**).....12
- Figure 02 :** Système protéolytique de *Lactococcus lactis* (**Savijoki et al., 2006**).....13
- Figure 03 :** Protéases de paroi de quelques souches de bactéries lactique (**Siezen, 1999**).....15

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines lactosérique dans le lait de vache et le lait de chamelle.....	09
Tableau 02 : : Peptides bioactifs libérés par certains micro-organismes et enzymes bactériennes à partir des caséines (Korhonen et Pihlanto, 2006).....	27
Tableau 03 : Ingrédients et produits laitiers commercialisés ayant des effets revendiqués sur la santé basés sur des peptides bioactifs issus du lait (Korhonen et Pihlanto, 2006).....	30

Table des matières

Liste des abréviations	i
Liste des figures et des tableauxii
Introduction	01
Synthèse bibliographique	
1. Les bactéries lactiques	02
1.1. Caractéristiques des bactéries lactiques	02
1.2. Habitat	02
1.3. Classification et taxonomie	03
1.4. Intérêt des bactéries lactiques	03
1.4.1. Dans l'industrie alimentaire	04
1.4.2. Dans le domaine thérapeutique	04
1.4.3. Rôles technologiques des bactéries lactiques	04
1.5. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques	05
1.5.1. Exigences en acides aminés	06
1.5.2. Exigences en vitamines	06
1.5.3. Exigences en bases azotées	06
1.5.4. Exigences en glucides	07
1.5.5. Exigences en sels minéraux	07
2. Le lait Source d'azote pour les bactéries lactiques	08
2.1. L'azote non protéique	08
2.2. L'azote protéique	08
2.2.1. Les protéines lactosériques	08
2.2.2. Caséines	09
2.2.2.1. Caséine α_{S1}	10
2.2.2.2. Caséine α_{S2}	10
2.2.2.3. Caséine β	10
2.2.2.4. Caséine κ	10
3. Métabolisme azoté des bactéries lactiques dans le lait	10
3.1. Le système protéolytique des bactéries lactiques	12
3.1.1. Les protéases de paroi	13
3.1.1.1. Les propriétés biochimiques et génétiques	14
3.1.1.2. Classification des protéases de paroi	16

3.1.1.3. Intérêt technologique des protéases de paroi	17
3.1.2. Les protéases intracellulaires	17
3.1.3. Les peptidases	18
3.1.3.1. Classification et propriétés des peptidases	18
3.1.3.2. Intérêt technologique des peptidases	19
3.2. Intérêt de l'activité protéolytique des bactéries lactiques	19
4. Peptides à activités biologiques issus de l'hydrolyse des protéines du lait	20
4.1. Peptides à activité antihypertensive	22
4.2. Peptides à activité antithrombotique	23
4.3. Peptides à activité antimicrobienne	23
4.4. Peptides à activité antioxydante	24
4.5. Peptides à activité antidiabétique	24
4.6. Peptides à activité opiacée	25
5. Méthodes d'obtention de peptides bioactifs	26
6. Fractionnement, purification et identification des peptides bioactifs	28
7. Applications commerciales des peptides bioactifs	29
Conclusion	32
Références bibliographiques	33

Introduction

Les peptides possédant une bioactivité peuvent être apportés par divers aliments, principalement par le lait et les produits laitiers. Les protéines laitières constituent la source la mieux caractérisée de tels peptides (**Léonil et al., 2013**). Par exemple, les protéines du lactosérum contiennent des peptides à effet antidiabète (dont des inhibiteurs de l'enzyme dipeptidyl peptidase IV) et à effet antihypertensif (incluant des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine). De nombreuses investigations ont été entreprises sur les peptides libérés par les caséines pendant l'hydrolyse enzymatique, la fermentation microbienne et pendant la digestion gastro-intestinale.

Au cours du processus de fermentation, les bactéries lactiques hydrolysent les protéines du lait, principalement les caséines, en peptides et en acides aminés qui sont utilisés comme source d'azote nécessaire à leur croissance. La capacité de ces microorganismes à produire des enzymes protéolytiques les rend des producteurs potentiels de peptides bioactifs. Plusieurs bactéries lactiques *Lb helveticus*, *Lb delbrueckii*ssp. *bulgaricus*, *Lc lactis*ssp. *diacetylactis*, *Lc lactis*ssp. *cremoris* et *Streptococcus salivarius*ssp. *thermophilus* ont été largement rapportées dans la littérature possédant un système protéolytique efficace pour l'hydrolyse des protéines et la libération de peptides bioactifs (**Savijoki et al., 2006**). En plus de l'utilisation des microorganismes vivants, des enzymes protéolytiques isolées à partir de bactéries lactiques ont été également utilisées avec succès dans les procédés d'hydrolyse enzymatique pour la production de peptides bioactifs. L'utilisation des protéases d'origine microbienne commercialement disponibles est un avantage, car ces enzymes sont économiques, hautement spécifiques et le rendement de produits est très élevé. Plusieurs peptides issus des caséines ont été identifiés après fermentation avec des bactéries lactiques ou après hydrolyse enzymatique par les protéases commerciales. La présence naturelle de peptides bioactifs dans des produits laitiers traditionnels comme les fromages a été également mise en évidence (**Saito et al., 2000**).

Ces dernières années, les peptides bioactifs dérivés des protéines alimentaires ont été bien étudiés pour déterminer leurs utilisations potentielles et leurs effets sur les principaux systèmes du corps humain (système cardiovasculaire, immunitaire et digestif).

Synthèse bibliographique

1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques occupent une place importante dans l'alimentation. Elles sont responsables de la fermentation de produits alimentaires d'origine laitière, carnée ou végétale. Leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement exploités dans l'agro-alimentaire. Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes caractérisé par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. C'était en 1919 qu'Orla-Jensen a défini pour la première fois le groupe des bactéries lactiques (**Dortu et Thonart, 2009**).

1.1. Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des procaryotes hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles regroupent des bactéries à coloration de Gram positive, généralement immobiles, asporulées, dépourvues de catalase et de cytochromes oxydases. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives: microaérophiles, uniquement capables de fermentation en aérobiose comme en anaérobiose. Ce sont par ailleurs des bactéries dépourvues de nitrate réductase. En outre, elles ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux et seulement quelques espèces hydrolysent faiblement la caséine. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles. Généralement acidototérantes et capables de vivre à des températures comprises entre 10 et 45 °C (**De Roissart, 1986 ; Drider et Prevost, 2009**).

Selon le type de fermentation préférentiellement utilisé, les bactéries lactiques sont dites

- Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation.
- Hétérofermentaires : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO₂ et autres acides organiques (**De Roissart et Luquet, 1994**).

1.2. Habitat

Les bactéries lactiques sont ubiquistes, elles ont comme habitat plusieurs milieux naturels, elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux (plantes et fruits).

Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. On les trouve aussi dans les cavités buccales et vaginales. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux où elles accomplissent de nombreuses fonctions. Elles créent surtout un environnement hostile aux bactéries pathogènes (**Leveau et Bouix, 1993; Dortu et Thonart, 2009**).

1.3. Classification et taxonomie

Depuis la découverte des bactéries lactiques, leur classification a connu plusieurs modifications. La première classification des bactéries lactiques basée sur les propriétés observables à savoir les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques a été établie en 1919 par Orla-Jensen qui rassembla les membres des bactéries lactiques dans un même groupe. (**Stiles et Holzapfel 1997**). Les marqueurs chimio-taxonomiques tels que les compositions des acides gras et les constituants de la membrane cellulaire, ont été aussi utilisés pour la classification (**Konig et Frohlich, 2009**). Les nouveaux outils pour l'identification et la classification des bactéries lactiques remettent couramment et/ou complètent les méthodologies traditionnelles basées sur les phénotypes. La classification s'appuie sur des données moléculaires comme la comparaison des séquences codant pour les ARN16S ribosomiques qui a entraîné des changements importants dans la taxonomie des bactéries lactiques (**Salminen et al., 2004 ; Ho et al., 2007; De Vos et al., 2009**) .

Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des Firmicutes, la classe des Bacilli et l'ordre des Lactobacillales renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres , seulement douze sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, il s'agit de : *Aerococcus* , *Carnobacterium* , *Enterococcus* , *Lactobacillus* , *Lactococcus* , *Leuconostoc* , *Oenococcus* , *Pediococcus* , *Streptococcus* , *Vagococcus* , *Tetragenococcus* , *Weissella* (**Dridier et Privost, 2009**).

1.4. Intérêt des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique. Elles interviennent en effet par elles-mêmes en exerçant des effets sur l'homme directement; par la fermentation qui enrichit l'aliment de probiotiques connus et à découvrir et sur l'aliment en améliorant sa conservation et ses propriétés organoleptiques.

1.4.1. Dans l'industrie alimentaire

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés. Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (**Badis et al., 2005 ; Yateem et al., 2008**). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles sécrètent (**Dortu et Thonart, 2009**). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à des critères comme l'absence de pathogénicité ou l'activité toxique, la capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, la capacité de dominance, la facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (**Marth et Steele, 2001**).

1.4.2. Dans le domaine thérapeutique

On découvre de plus en plus d'effet bénéfique des bactéries lactiques aussi bien pour l'homme que pour l'animal. Etant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (**Yateem et al., 2008**).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (**Mkrtchyan et al., 2010**). D'autres ont cité leur capacité à diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (**El-Ghaish et al., 2011**). **Uehara et al., (2006)** ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus* d'empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

1.4.3. Rôles technologiques des bactéries lactiques

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate (**Hugenholtz et al., 2002**).

Certaines souches ont la capacité de synthétiser et d'excréter, au cours de leur croissance, des polymères de sucre appelés polysaccharides exocellulaires ou EPS, qui permettent d'améliorer la texture et la viscosité du produit fini. En général, la présence de polysaccharides dans des produits fermentés, tels les yogourts, permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable (**Ruas-Madiedo et al., 2002**).

Les bactéries lactiques jouent également un rôle essentiel dans la conservation des produits alimentaires, elles sont capables de produire une variété de produits inhibiteurs dont les effets peuvent se répercuter sur la flore lactique elle-même mais aussi sur la flore indésirable ou pathogène (**florèz et al., 2008**). Les acides organiques sont produits lors du processus de fermentation et permettent d'inhiber la croissance des levures et d'autres bactéries qui ne peuvent se développer à pH acide. L'effet inhibiteur de ces acides organiques est principalement provoqué par les molécules non dissociées qui diffusent à travers les couches lipidiques des membranes des microorganismes provoquant ainsi un abaissement du pH dans le cytoplasme qui a pour conséquence la déstabilisation des cellules (**Slover et Danziger, 2008**).

La production et l'accumulation de peroxyde d'hydrogène créent un environnement toxique pour les cellules non équipées de systèmes de protection capable de dégrader ce composé. Son accumulation est inhibitrice vis-à-vis des souches qui génèrent le peroxyde mais aussi vis-à-vis d'autres microorganismes (**De Roissart et Luquet, 1994**).

Les bactériocines sont des substances de nature protéique synthétisées par les bactéries lactiques et qui ont un pouvoir antibactérien dirigé contre des bactéries taxonomiquement proches du micro-organisme producteur. Ces peptides antibactériens ont une action contre les bactéries à Gram positif associées à l'altération de la qualité hygiénique des aliments et à certaines pathologies humaines (**Rodriguez et al., 2003**).

D'autres agents antimicrobiens sont aussi produites: dioxyde de carbone (CO₂), l'acide acétique, le Diacétyle et l'acétaldéhyde (**Dridier et al., 2006**).

1.5. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de leur environnement. Elles sont considérées comme un groupe bactérien le plus exigeant du point de vue nutritionnel, car

elles requièrent non seulement des substrats carbonés, azotés, phosphatés et soufrés mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligoéléments dont le rôle des coenzymes est plus important. (**Dridier et Prevost, 2009**).

1.5.1. Exigences en acides aminés

Les bactéries lactiques sont en principe incapables d'effectuer la synthèse des acides aminés, et doivent par conséquent faire appel à des sources exogènes pour assurer leur métabolisme. Les lactobacilles ont besoin d'aspartate, d'histidine, de lysine, de leucine, de méthionine et de valine, alors que les lactocoques exigent pour leur croissance seulement deux acides aminés, l'isoleucine et la leucine (**Juillard et al., 1996**).

1.5.2. Exigences en vitamines

Les vitamines jouent dans le métabolisme cellulaire le rôle irremplaçable de coenzyme. Les bactéries lactiques sont, à quelques exceptions près, incapables de synthétiser des vitamines d'où l'importance d'un apport exogène de vitamines au milieu de culture (**De Roissart, 1986**).

Toutes les espèces de lactobacilles présentent une exigence absolue pour le pantothénate de calcium (vitamine B5) et la niacine (vitamine PP) ou la riboflavine (vitamine B2) (sauf pour *Lb brevis*). De plus, *Lb lactis*, *Lb bulgaricus* et *Lb acidophilus* exigent la cobalamine (vitamine B12) ; *Lb brevis* nécessite la thiamine (vitamine B1) et l'acide folique ; *Lb helveticus* la pyridoxine (vitamine B6) ; *Lb acidophilus* l'acide folique ; *Lb casei* la pyridoxine et l'acide folique. Les lactocoques ont une exigence en niacine et en acide pantothénique, ils sont stimulés par la pyridoxine ou l'acide aspartique. Pour ces bactéries, la biotine (vitamine H) agit avec le gaz carbonique ce qui peut expliquer leur stimulation puisque ces composés sont impliqués dans la synthèse de l'acide aspartique et de certains acides gras (**De Roissart et Luquet, 1994**).

1.5.3. Exigences en bases azotées

Chez certaines souches de lactocoques, la production d'acide dans le lait peut être stimulée par le mélange adénine, guanine, uracile et xanthine. Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour ces quatre bases. Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytosine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile (**Ramasamy et Natarajan, 1981**).

D'autre part, l'acide orotique, qui est un intermédiaire de la synthèse des bases puriques, est un facteur de croissance pour *Lb bulgaricus*. L'acide orotique régule la synthèse des acides ribonucléiques, tandis que la synthèse des acides désoxyribonucléiques n'est pas affectée. En général, chez les lactobacilles, les exigences en bases azotées sont très variables selon les souches ; l'addition de ces composés peut même, chez certaines souches, entraîner des phénomènes d'inhibition de la croissance (**Desmazeaud, 1992**).

1.5.4. Exigences en glucides

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes : le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides, deux types de métabolismes fermentaires sont décrits : le métabolisme à caractère homofermentaire et le métabolisme à caractère hétérofermentaire (**Hutkins, 2006**).

1.5.5. Exigences en sels minéraux

Les principaux éléments requis sont le magnésium et le manganèse, ils jouent un rôle important dans la nutrition des *Lactobacillus* (**Letrot et Juillard, 2001**).

Le magnésium est le principal cation divalent des cellules vivantes. Il intervient dans les systèmes de transport intra-membranaires, et serait indispensable pour la croissance de *Lb helveticus* et essentiel pour celle de *Lb lactis* et *Lb delbrueckii*. Le magnésium est un activateur des différentes réactions métaboliques (division cellulaire, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique) (**Corrieu et Luquet., 2008**).

Le manganèse est nécessaire à la structure et le fonctionnement des enzymes, et à la détoxification des cellules mises en présence de l'oxygène, notamment chez *Lb plantarum*. Le fer n'a pas d'action générale sur la croissance ou sur la production d'acide lactique (. Le calcium intervient au niveau membranaire, lors de l'efflux de lactate formé lors de la fermentation lactique, il y a formation d'ATP par une ATPase membranaire dépendante du complexe Ca^{2+} / Mn^{2+} (**Konings et Frohlich., 2009**).

Le potassium joue un rôle important dans la régulation du pH intracellulaire. Cet ion est exigé pour la croissance de *Lb helveticus*, *Enterococcus faecalis* et *Lb casei*. Le sodium

exerce un effet sélectif sur les différentes espèces de bactéries lactiques. Des souches résistantes au sel peuvent être isolées de laits crus salés (jusqu'à 120 g/l) ou de fromages salés comme le Domiati Egyptien : elles appartiendraient aux genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*). Le zinc présente un effet positif pour la croissance de certains lactobacilles, mais il est toxique à forte concentration (Corrieu et Luquet, 2008).

2. Le lait Source d'azote pour les bactéries lactiques

L'azote aminé disponible dans le lait existe sous forme de deux fractions protéiques principales qui sont classées selon leur solubilité à pH 4,6, une fraction soluble et une fraction colloïdale. La fraction soluble se compose des protéines lactosériques et la fraction colloïdale est formée par les caséines.

Dans le lait il existe aussi une fraction non protéique composée d'acides aminés libres et de peptides courts. Ces derniers sont beaucoup moins abondants que les protéines et leurs teneurs sont très faibles (De Roissart et Luquet, 1994). Les fractions protéique et non protéique sont différemment concentrées selon les laits.

2.1. L'azote non protéique

Cette fraction est caractérisée par une haute valeur biologique qui est due à sa richesse en acides aminés libres, en nucléotides et certains précurseurs de vitamines ainsi que des peptides, de l'acide urique, urée et créatine. Dans le lait camelin, les acides aminés libres les plus abondants sont : l'acide glutamique, l'alanine, la phosphosérine, la glutamine et la phénylalanine (El-Agamy, 2000).

2.2. L'azote protéique

2.2.1. Les protéines lactosériques

Les protéines du lactosérum représentent environ 6-7 g/l soit 20% des protéines totales du lait. C'est la fraction qui reste soluble lors d'une précipitation à pH 4,6 et à 20°C des protéines du lait. A l'exception de la β -Lactoglobuline, des homologues à l' α -Lactalbumine, l'Albumine sérique bovine, les Immunoglobulines, les Protéose-peptones, la Lactoferrine, la Lactopéroxydase et le Lysozyme du lait bovin, ont été isolées, identifiées et caractérisées (tableau 01) (Girardet *et al*, 2000)

Tableau 01 : Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines lactosérique dans le lait de vache et le lait de chamelle.

Protéines	Vache	Chamelle
a-lactalbumine	1,5 (45%)	2.50 (37%)
β-lactoglobuline	2,7 (25%)	2,70 (39%)
Albumine sérique	0,3 (5%)	0,20 (3%)
Immunoglobulines	0.7 (12%)	1.35 (20%)
Protéose-peptone	0,8 (13%)	- (-)
Total des protéines solubles(100%)	6,0 (100%)	6,75 (100%)

2.2.2. Caséines

Les caséines sont des protéines spécifiques du lait, elles représentent la majeure partie de ses composants azotés (plus de 80% des protéines laitières). Ce sont des complexes protéiques phosphorés à caractère acide, elles sont naturellement regroupées, formant des particules colloïdales appelées micelles de caséine (**Liu et Guo, 2008**).

Parmi les constituants du lait, la caséine est l'un des plus intéressants par la multiplicité de ses utilisations sous différentes formes, par ses propriétés fonctionnelles et par ses qualités nutritionnelles (**Harless, 2009**).

Constitution de la caséine totale

La caséine totale est constituée de plusieurs fractions caséiniques qui peuvent être séparées, isolées et identifiées par les techniques classiques de séparation des protéines. On distingue quatre espèces de caséines : α_{S1} , α_{S2} , β et κ . Les différentes caséines ont des poids moléculaires très proches les uns des autres. Ce sont des holoprotéines, hormis la caséine κ qui possède un groupement prosthétique glucidique. Les caséines α_{S1} et β sont les plus abondantes. Elles représentent, à elles seules, 70% de la caséine totale (**Delacroix et Jean, 2008**).

2.2.2.1. Caséine α_{S1}

La caséine α_{S1} représente entre 34 et 40% des caséines soit entre 9 et 11 grammes par litre de lait. Cette fraction compte 199 résidus d'acides aminés avec un poids moléculaire de 23615 Da. La molécule de caséine α_{S1} ne présente pas de conformation sous forme d'hélice ou de feuillet β . Cette caséine est sensible à l'action des protéases (**De Roissart et Luquet, 1994 ; Farrel *et al.*, 2004**).

2.2.2.2. Caséine α_{S2}

La Caséine α_{S2} représente entre 11 et 16% des caséines soit entre 4 et 5 grammes par litre de lait. Elle renferme 207 résidus d'acides aminés et possède une masse moléculaire de 25226 Da. La caséine α_{S2} est la plus hydrophile des caséines et sera très sensible à l'action des ions calcium. Elle précipite à une température supérieure à 20°C (**De Roissart et Luquet, 1994 ; Delacroix et Jean, 2008**).

2.2.2.3. Caséine β

La caséine β est présente en très forte proportion, elle constitue entre 36 et 42% des caséines soit entre 11 et 13 grammes par litre de lait. C'est une molécule qui est constituée de 209 résidus d'acides aminés pour une masse moléculaire de 23983 Da. La caséine β est la caséine où l'hydrophobie moyenne d'un résidu d'acide aminé est la plus élevée (**De Roissart et Luquet, 1994**).

2.2.2.4. Caséine κ

La Caséine κ représente environ 12% des caséines de lait, elle est formée de 169 résidus d'acides aminés et possède un poids moléculaire de 19000 Da. La Caséine κ est la plus hydrophobe des caséines après la caséine β . Elle se différencie des autres caséines par sa grande sensibilité à la chymosine, sa faible affinité pour le calcium et la présence de résidus glucidiques. Sa solubilité est peu affectée par la présence de calcium, par conséquent, la caséine κ est un agent stabilisateur de la micelle (**Léonil *et al.*, 2007**).

3. Métabolisme azoté des bactéries lactiques dans le lait

Les bactéries lactiques sont auxotrophes pour de nombreux acides aminés. Elles exigent l'apport exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables, pour la plupart, d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple (**Desmazaud,**

1983). Les bactéries lactiques ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres, peu abondants dans le lait, ou des peptides composés seulement de quelques acides aminés. Leur nutrition azotée exige donc l'hydrolyse des protéines du lait, notamment les caséines, par des enzymes protéolytiques (**Fedrerighi, 2005**).

Le lait de vache contient environ 37 mg/ml de protéines dont la plupart sont de poids moléculaires élevés (caséines et protéines du lactosérum), mais il ne renferme que très peu d'acides aminés libres et de peptides (0.04 à 0.01 mg/ml, soit 8 à 16% de la quantité nécessaire aux bactéries lactiques pour atteindre une densité cellulaire maximale). Cela signifie que le lait contient des substances azotées assimilables suffisantes pour assurer le démarrage du métabolisme bactérien mais un fractionnement des protéines est indispensable pour que la croissance se poursuive (**Juillard et al., 1996**).

L'étude de la croissance de certaines souches de *Lactococcus* dans un lait additionné de protéines et peptides marqués au ^{14}C , lors de l'introduction des peptides marqués, la radioactivité des protéines bactériennes d'une souche de *Lactococcus lactis ssp cremoris* reste identique au cours des 5 premières générations de croissance, suggérant que les peptides du lait procurent une proportion constante de l'azote utilisé pour la croissance, la contribution de la fraction peptidique restant faible par rapport aux besoins azotés totaux.

Lors de l'introduction des protéines marquées dans le lait, la radioactivité des protéines bactériennes augmente régulièrement au cours des 5 premières générations, indiquant que les protéines du lait représentent une source d'azote de plus en plus importante. Lorsque les protéines radioactives sont ajoutées individuellement au lait, la radioactivité est incorporée dans les protéines bactériennes, et ceci quelle que soit la protéine marquée ajoutée. Ceci indique que toutes les protéines du lait (caséine mais aussi les protéines du lactosérum) sont utilisées comme source d'azote (**Mills et Thomas, 1981**). Les bactéries lactiques utilisent toutes ces protéines grâce à leur système protéolytique.

En raison de leur charge et de leur poids moléculaire, les oligopeptides et, à plus forte raison, les protéines, ne peuvent traverser les enveloppes et les membranes cellulaires microbiennes, en particulier la membrane cytoplasmique, pour être utilisés, ils doivent être au préalable hydrolysés par des enzymes protéolytiques soit extracellulaires, soit liées à la paroi cellulaire (**Gupta et al., 2002**). D'autre part, les plus courts peptides qui ont été transportés

dans la cellule, doivent être hydrolysés en acides aminés constitutifs par les enzymes protéolytiques intracellulaires (**Figure 01**).

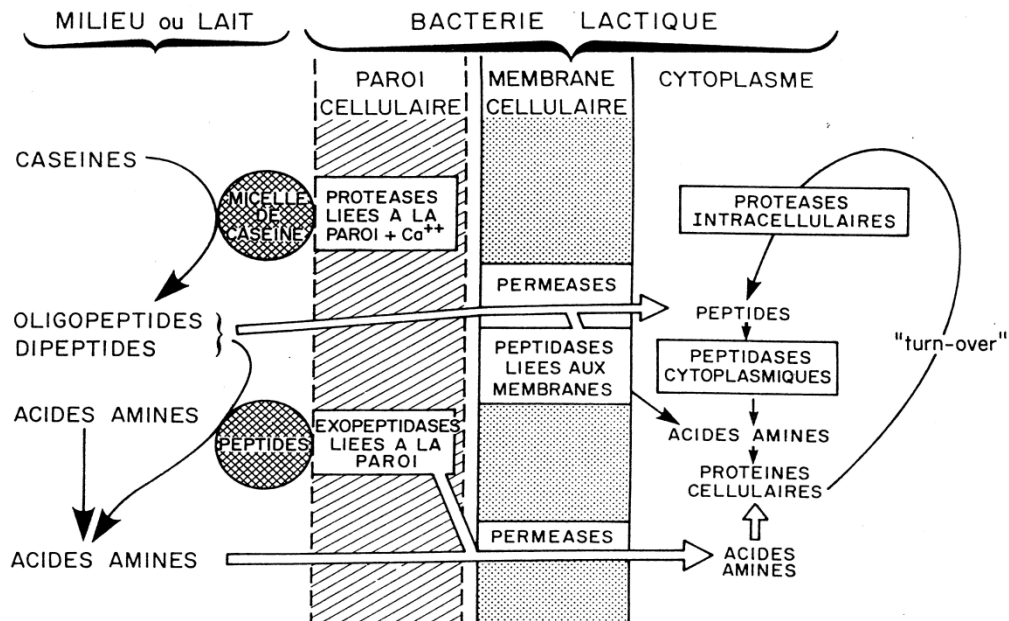


Figure 01 : Utilisation des protéines, des peptides et des acides aminés par les bactéries lactiques (**De Roissart et Luquet, 1994**).

3.1. Le système protéolytique des bactéries lactiques

L'activité protéolytique globale des bactéries lactiques est considérée comme faible comparée à celle d'autres bactéries comme *Bacillus* ou *Pseudomonas* mais leur équipement enzymatique est complexe par la diversité et la nature des enzymes détectées et par leur localisation intra ou extracellulaire (**De Roissart et Luquet, 1994**).

La dégradation des caséines, et l'utilisation ultérieure des produits de dégradation, nécessitent un système protéolytique complexe. Ce dernier n'est pas seulement indispensable pour le métabolisme de l'azote des bactéries lactiques, mais joue aussi un rôle dans le processus d'affinage de plusieurs variétés de fromages (**Gobbetti et al., 2005**).

Le système protéolytique est un ensemble composé d'une ou plusieurs protéases liées à l'enveloppe cellulaire capable de dégrader les caséines en oligopeptides, un système de transport pour des acides aminés et des peptides, une série de peptidases intracellulaires nécessaires à la dégradation de peptides du lait et de peptides dérivés des caséines en amino-acides (**Chaves-López et al., 2014**).

Les études du système protéolytique ont été menées essentiellement pour le genre *Lactococcus lactis* pour l'importance qu'il joue sur le plan industriel, et a permis l'établissement d'un modèle de la protéolyse.

La première étape de la protéolyse fait intervenir une protéase ancrée à la surface bactérienne, appelée protéase de paroi (PrtP). Les peptides sont pris en charge par deux systèmes de transport des oligopeptides (Opp et Opt) pour traverser l'enveloppe bactérienne. Des di et tri peptides peuvent aussi être transportés par deux autres systèmes (DtpT et Opt). Les acides aminés sont eux transportés par des systèmes spécifiques. Dans le cytoplasme bactérien, un éventail de peptidases concourt à achever l'hydrolyse des peptides en acides aminés (Picon *et al.*, 2010) (Figure 02). Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure de formation de molécules aromatiques (alcool, aldéhydes, acides organiques, ...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries lactiques en cas de limitation en nutriments (Williams *et al.*, 2001).

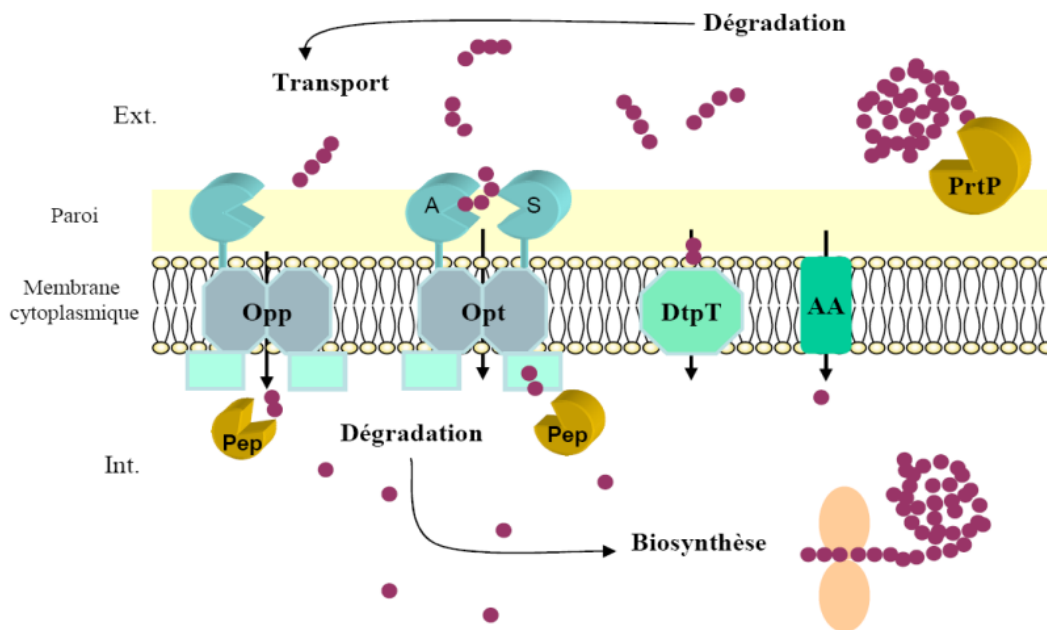


Figure 02 : Système protéolytique de *Lactococcus lactis* (Savijoki *et al.*, 2006).

3.1.1. Les protéases de paroi

Les caséines du lait représentent la principale source d'azote pour les lactocoques : en effet 90% de la croissance bactérienne lui est imputable et son utilisation met en œuvre un système complexe qui fait intervenir plusieurs enzymes agissant séquentiellement. Les

protéases de paroi assurent la première étape dans la cascade des réactions permettant la dégradation des caséines du lait (**Vinogradov et al., 2013**).

3.1.1.1. Les propriétés biochimiques et génétiques

Des travaux de caractérisation moléculaire ont permis de démontrer que les protéases de paroi des bactéries lactiques sont des enzymes monomériques, et font partie de la famille des protéases à sérine. Les protéases sont de haut poids moléculaire, compris entre 180 et 190 kDa (**Kunji et al., 1996**), assez différents du poids moléculaire de 145 kDa estimé pour une protéase de paroi purifiée à partir de *Lactobacillus acidophilus*. Leur maximum d'activité est obtenu dans un spectre de pH allant de 5,5 jusqu'à 6,5 ; la température optimale pour l'activité diffère pour chaque protéase, elle se situe généralement entre 30°C et 40°C (**Kok et al., 1994**). Cependant une protéase de paroi de *Lactobacillus casei* a montré un maximum d'activité à pH 8.0 et à température 50°C (**Sharmin et al., 2004**). Certaines souches de *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* possède une métalloenzyme de paroi insensible au PMSF (**Gobbeti et al., 2005**).

La majorité des protéases de paroi des bactéries lactiques sont Ca²⁺ dépendantes, ces ions jouent un rôle dans l'attachement des protéases à la paroi et dans la stabilisation des sites catalytiques (**Kok, 1990**). Ces enzymes sont libérées dans le milieu à la suite d'un traitement des cellules par le lysozyme ou la glycine ou par un lavage par un tampon contenant des ions Ca²⁺ (**Fernandez-Espla et al., 2000**).

Des analyses génétiques réalisées sur des souches de *Lactococcus lactis* ont montré que les gènes codants les protéases de paroi sont généralement plasmidiques (**Kunji et al., 1996**), par contre, ils sont chromosomiques chez les lactobacilles (**Kojic et al., 1995**). La synthèse des protéinases par les lactobacilles pourrait être plus constante que chez les lactocoques étant donné que les plasmides sont souvent éliminés après plusieurs cycles de division.

Les protéases de paroi des lactocoques sont produites sous forme de pré-protéine de poids moléculaire voisin de 200 kDa. Elles subissent une maturation par libération d'un peptide de 18 kDa résultant de l'hydrolyse de la partie N terminal sous l'action de lipoprotéine PrtM dont le gène se trouve en amont du gène PrtP qui code pour la protéase pariétale (**Fernandez-Espla et al., 2000**). Aucune protéine homologue à PrtM n'a été détectée chez les lactobacilles. Chez ce genre, les protéases ne sont pas libérées par autoprotéolyse

mais après un traitement des cellules par une muramidase (lysozyme) suivi d'un choc osmotique (Savijoki *et al.*, 2006).

Quatre gènes codants pour des protéases de paroi ont été décrits chez les lactobacilles, les gènes prtB et prtH chez *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* NCDO1489 et *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 respectivement, le gène prtR chez *Lactobacillus rhamnosus*, et le gène prtP chez *Lactobacillus paracasei* (Figure 03). Le gène prtP code pour une protéase identique à celle des lactocoques. Les gènes prtH, prtB et prtR codent pour des protéases non solubilisées par les ions Ca²⁺ ayant des propriétés ressemblant à celles observées chez les subtilases de paroi (Savijoki *et al.*, 2006). La transcription des gènes *prtP* est influencée par la composition du milieu : la production de la protéase de paroi est induite par la présence de caséines dans le milieu et est réprimée par une concentration élevée de peptides. Cette répression n'est possible qu'après diffusion des peptides dans la cellule et leur dégradation dans le cytoplasme (Hebert *et al.*, 2000).

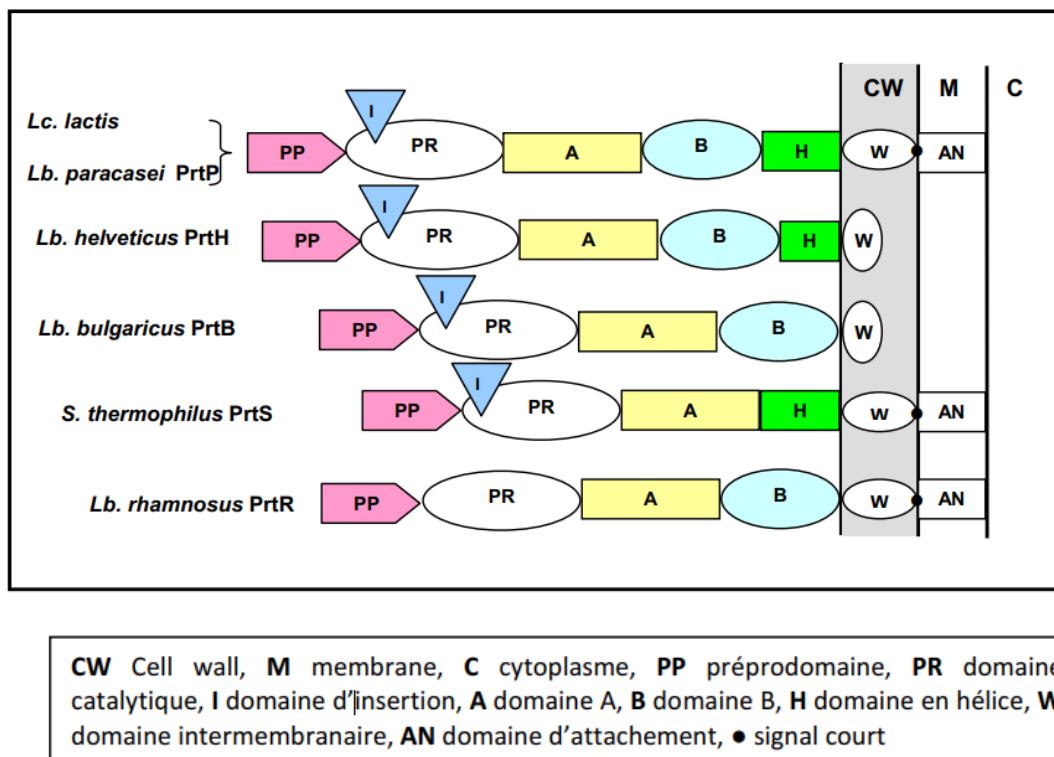


Figure 03: Protéases de paroi de quelques souches de bactéries lactique (Siezen, 1999).

3.1.1.2. Classification des protéases de paroi

Une classification basée sur la spécificité catalytique de ces enzymes envers les caséines a été proposée pour différencier les protéases des lactocoques.

Un premier type de protéinase (ou protéase), appelé PI, et isolé des souches *Lc lactis* subsp *cremoris* HP et *Lc lactis* subsp *cremoris* H2, s'attaque fortement à la caséine β , mais faiblement à la caséine α_{s1} .

Un deuxième type de protéinase, appelé PIII, et isolé des souches *Lc lactis* subsp *cremoris* AM1 et *Lc lactis* subsp *cremoris* SK11 hydrolyse la caséine β d'une manière différente de la protéinase PI, tout en s'attaquant à la caséine α_{s1} , et à la caséine κ . Finalement, d'autres protéinases ont été isolées à partir d'autres souches de lactocoques telles que *Lc lactis* subsp *cremoris* NCDO763 et *Lc lactis* subsp *cremoris* Wg2, et posséderaient des spécificités intermédiaires entre les enzymes PI et PIII. Cette dernière classe de protéinase dégrade la caséine β de la même manière que la protéinase PI, mais elle est incapable d'hydrolyser la caséine α_{s1} (**Exterkate et al., 1992**). PI est le seul type rencontré chez *Lc lactis* subsp *cremoris* HP, TR, C13, et Wg2, alors que PIII est le seul type retrouvé chez les souches *Lc lactis* subsp *cremoris* AM1, et SK11. D'autres souches, comme *Lc lactis* subsp *cremoris* FD27, et E8 possèdent les deux types de protéinases PI et PIII simultanément. (**Visser et al., 1991**).

Chez les espèces du genre *Lactobacillus*, les protéinases sont hautement spécifiques, et se divisent en deux classes PI et PIII (**Kunji et al., 1996**).

Des analyses génétiques réalisées sur des souches de *Lc. lactis* ont montré que les protéases type-PI et type-PIII sont codées sur des plasmides dont l'élimination conduit à une perte de l'activité protéasique. Les séquences génétiques codantes pour les deux types de protéases démontrent une homologie de 98% et pour chacune des deux séquences, il y a production des deux transcrits prtP et prtM (**Kok et al., 1988**).

Naes et Nissen-Meyer (1992) ont démontré que *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* NCDO 151 produit un transcrit de *prtM* identique à celui des souches de lactocoques. La séquence peptidique de la protéase liée à la paroi cellulaire des lactobacilles serait identique à celles des protéases des lactocoques. Toutefois, les séquences génétiques codant les protéases des lactocoques et de *Lb. bulgaricus* montrent peu d'homologie. Cette différence pourrait

s'appliquer à d'autres espèces de lactobacilles car aucune réponse immunologique n'a été observée sur des extraits de plusieurs espèces de lactobacilles (*Lb. bulgaricus*, *Lb. helveticus*, *Lb. buckneri*) et des anticorps monoclonaux dirigés contre les protéases de *Lb. cremoris* Wg2 ou SKI1 (Sasaki *et al.*, 1995 a et b).

3.1.1.3. Intérêt technologique des protéases de paroi

Les protéases de paroi sont les enzymes clés du système protéolytique des bactéries lactiques et sont impliquées dans la première étape de la dégradation des caséines. En plus de leur rôle vital pour la croissance bactérienne, elles contribuent au développement de la saveur et de la texture des produits fermentés. En outre, certaines protéases de paroi peuvent libérer, durant la fermentation laitière, des peptides à activités biologiques (Broadbent *et al.*, 2002).

Durant la fabrication de fromage, la protéolyse de la caséine joue un rôle central, les acides aminés résultants sont les principaux précurseurs d'arôme comme les alcools, aldéhydes, acides, esters et les composés soufrés. L'accumulation de peptides hydrophobes riches en résidus proline, est un problème pour l'industrie fromagère car ce sont les principales causes de l'amertume du produit (Smukowski *et al.*, 2003). Les spécificités de la protéase de paroi jouent un rôle essentiel dans la production de ces peptides (Visser *et al.*, 1991).

3.1.2. Les protéases intracellulaires

Les bactéries lactiques possèdent aussi un équipement protéolytique intracellulaire important. Différentes protéases intracellulaires ont été décrites chez des souches du genre *Lactobacillus*.

En plus de leur rôle strictement nutritionnel qui permet aux bactéries d'utiliser les peptides ayant franchi les enveloppes microbiennes, les enzymes protéolytiques intracellulaires interviennent dans la nutrition à trois niveaux : lors de l'hydrolyse de peptides éventuellement toxiques (résistance aux antibiotiques), dans le « turn - over » des protéines intracellulaires et dans la synthèse et la maturation des protéines intracellulaires (De Roissart et Luquet, 1994).

3.1.3. Les peptidases

La consommation des peptides par les bactéries lactiques dépend, dans un premier temps, de la spécificité des systèmes de transport qui vont les internaliser. Ces peptides seront ensuite hydrolysés par un ensemble de peptidases intracellulaires dépendant de la souche bactérienne.

Une nomenclature a été proposée pour les peptidases, elles sont nommées Pep lorsque le gène correspondant a été caractérisé, suivie d'une lettre capitale indiquant soit la spécificité de l'enzyme ou l'origine bactérienne, par exemple PepS (pour Streptocoques), PepN (pour indiquer la spécificité de l'enzyme) (**Tan *et al.*, 1993**).

3.1.3.1. Classification et propriétés des peptidases

En général, les peptidases des bactéries lactiques peuvent être classées selon la position de la liaison peptidique hydrolysée en endopeptidases ou exopeptidases. Les endopeptidases hydrolysent les liaisons peptidiques à l'intérieur de l'oligopeptide. Sur la base de leur spécificité, on distingue les endopeptidases générales dont la spécificité est large (PepN, PepC, PepV et PepD) et les endopeptidases spécifiques dont la spécificité de substrat est plus étroite (PepS, PepL, PepG, PepW et PepT) voire spécifique d'un acide aminé comme de la proline (PepX, PepI, PepQ et PepR) ou des acides aminés acides (PepA). Par contre, les exopeptidases hydrolysent les liaisons peptidiques à partir des extrémités amino (N)- ou carboxy (C-) terminales des chaînes polypeptidiques et sont donc classées en aminopeptidases et carboxypeptidases (**Gagnaire *et al.*, 2001**).

D'autres peptidases ont plus de spécificité de substrat telles que : PepA qui libère les acides aminés acides à partir des peptides de trois à neuf résidus ; PepP, qui préfère les tripeptides contenant une proline au milieu ; PepR et PepI, qui agissent sur les dipeptides avec une proline en première position ; PepQ, qui dégrade les dipeptides à proline en deuxième position ; et PepS, qui montre une préférence pour les peptides contenant deux à cinq résidus avec une arginine ou des acides aminés aromatiques en position N-terminale (**Kunji *et al.*, 1996 ; Fernandez-Espla et Rul, 1999**).

Les enzymes appartenant à ce groupe sont généralement des métalloenzymes inhibées par l'EDTA, cependant certaines peptidases isolées chez le genre *Lactobacillus* montrent une sensibilité à d'autres agents tels que le paraméthylsulfonate (PMSF) et le phénanthroline.

L'activité des peptidases de type N est liée à la présence de cations métalliques divalents ; le cation Zn^{+2} est le plus fréquemment associé à ces enzymes.

La plupart des peptidases isolées des lactocoques ont également été décrites chez les lactobacilles (**Christensen *et al.*, 1999 ; Chen *et al.*, 2003**) à l'exception des peptidases PepA et PepP ou aminopeptidase P (**Sridhar *et al.*, 2005**).

Différentes localisations ont été décrites pour ce type d'enzymes, elles sont généralement intracellulaires ou membranaires (**Atlan *et al.*, 1990**). Les voies d'utilisation des peptides dérivés des caséines sont des événements intracellulaires, et sont assurées par les peptidases dans le cytoplasme dont la localisation intracellulaire a été confirmée (**Kunji *et al.*, 1996 ; Christensen *et al.*, 1999**).

Toutes les données biochimiques, génétiques et immunologiques aboutissent à une localisation intracellulaire des peptidases. De plus, leur instabilité très élevée conduit à leur dénaturation lors de leur relargage dans le milieu extracellulaire. (**Monnet *et al.*, 1994**).

3.1.3.2. Intérêt technologique des peptidases

Outre leur rôle dans la nutrition azotée, les peptidases des bactéries lactiques permettent l'hydrolyse des peptides amers dans les fromages et la libération d'acides aminés et peptides précurseurs de composés d'arômes (**Monnet *et al.*, 1993 ; Jakob et Piccinali, 2006**). Les peptidases PepN, PepT et PepX ont été rapportées les plus importantes dans le processus de l'affinage du fromage. PepN intervient dans le développement de la flaveur et la diminution de l'amertume (**Guldfeldt *et al.*, 2001**).

3.2. Intérêt de l'activité protéolytique des bactéries lactiques

Le système protéolytique joue un rôle clé dans la fermentation du lait et permet l'obtention d'acides aminés à partir des caséines, les protéines les plus abondantes dans le lait. Les bactéries lactiques provoquent une augmentation des protéines solubles dans le milieu et l'apparition de peptides et d'acides aminés qui outre le fait qu'ils stimulent la croissance des microorganismes, interviennent dans la formation de certains composés aromatiques (**Savijoki *et al.*, 2006**). Ce microorganisme est responsable d'une activité protéolytique qui est le phénomène dominant lors de l'affinage et qui contribue dans l'apparition des courts peptides et acides aminés, précurseurs de nombreuses molécules riches en arômes et en saveurs.

Or la dégradation de la caséine durant ce processus participe également à la modification de la texture et la saveur des fromages. A ce stade les aminopeptidases ont l'activité la plus forte en hydrolysant pratiquement la totalité des courts peptides hydrophobes responsables de l'apparition du goût des fromages (**Desmazeaud, 1998**). Une fraction de ces peptides est susceptible d'exercer des effets désirables chez le consommateur après l'ingestion de ce lait fermenté. Ces peptides sont désignés peptides fonctionnels ou encore peptides bioactifs. Il y a quatre domaines principaux dans lesquels l'effet observé lors de la consommation des produits laitiers, peut être attribué à ces peptides, qui sont respectivement, le système digestif, les défenses de l'organisme, le système cardio-vasculaire et le système nerveux (**Tomé, 1998**).

Certains *Lactobacillus*, notamment *Lb. curvatus* et *Lb. plantarum* sont dotés des enzymes leucine et valine amino-peptidases, contribuant ainsi à la formation de la saveur du produit par les acides aminés et les petits peptides produits.

De nombreux travaux ont été réalisés pour l'élaboration des gammes de produits hypoallergéniques à base de lait de vache qui représentent une part importante dans les allergies alimentaires, en augmentant l'hydrolyse des protéines du lait de vache en utilisant les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques.

4. Peptides à activités biologiques issus de l'hydrolyse des protéines du lait

Les peptides présentent des compositions en acides aminés, des propriétés physicochimiques, des séquences ou des structures particulières qui permettent un éventail très large de fonctionnalités qui vont intéresser divers secteurs d'applications industrielles. La composition en acides aminés et la digestibilité de certains hydrolysats ou de fractions peptidiques vont conférer d'excellentes propriétés nutritionnelles avec des applications dans le secteur de l'alimentation, voire de la santé. Les propriétés physico-chimiques des peptides dues à la variété de fonctions chimiques des chaînes latérales exposées sont à l'origine des propriétés de texturation de produits agroalimentaires (propriétés dites fonctionnelles) ou cosmétiques. Enfin, les activités biologiques portées par de nombreux peptides permettent d'envisager des applications dans le secteur de la santé ou des nutraceutiques.

Les peptides bioactifs sont des séquences protéiques de deux à vingt acides aminés, inactives au sein des molécules précurseurs, mais qui présentent des activités régulatrices des fonctions biologiques après leur libération (**Autelitano et al., 2006**).

A ce jour, les protéines laitières constituent la source la mieux caractérisée de tels peptides. Les effets de ces peptides ont fait l'objet d'études cliniques, à l'origine de l'apparition récente sur le marché européen de produits tels qu'un lait fermenté à activité antihypertensive (*Evolus, Valio Ltd, Finlande*) ou un hydrolysate de caséines à activité anxiolytique (*LactiumTM, Ingredia, France*) (**Seppo et al., 2003**). Outre le développement de ces produits innovants, la présence naturelle de peptides bioactifs dans des produits laitiers traditionnels comme les fromages a été mise en évidence (**Büetikofer et al., 2007**). Or, des données convergentes indiquent que parmi les protéines laitières, les caséines constituent probablement la source potentielle la plus intéressante de peptides bioactifs (**Sofia et al., 2005**).

Les peptides bioactifs sont présents dans les caséines de toutes les espèces laitières (vache, bufflesse, chèvre, brebis, chamelle, humain) y compris dans celles du lait humain. Ils sont généralement formés de 2 à 20 acides aminés, mais des peptides bioactifs de plus longue taille tel que le glyco-caséinomacropéptide (GMP, séquence 106-169 de la caséine κ) de 64 acides aminés existent également (**Ayyash et al., 2018**).

Les différentes formes de caséines (α , β et κ) constituent des produits intermédiaires pour l'obtention de dérivés à haute valeur ajoutée. Au niveau de la caséine β , 4 groupes de fragments peptidiques, ont été reconnus comme ayant des activités biologiques :

- Trois segments comportant des résidus phosphorylés agissent comme vecteur de minéraux.
- Le segment appelé β -casomorphine, riche en proline, ayant une activité morphinomimétique.
- Le segment 177-183 ayant une activité anti-hypertensive par action antagoniste de l'angiotensine (**Wakai et Yamamoto, 2012**).
- Trois segments présentant un rôle d'immuno-modulateur (**Leblanc et al., 2004**).

Au niveau de la caséine κ , des peptides issus du glycomacropéptide ont des activités anti-thrombotiques et anti-gastriques.

Au niveau de la caséine α , une activité opiacée (α -casomorphine) et une autre activité immuno-modulatrice ont été mises en évidence (**Mahaut et al., 2000**).

Un certain nombre de bases de données répertorient les peptides d'origine laitière dont la base libre d'accès BIOPEP www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biopep.

La libération des peptides bioactifs dérivés du lait se fait lors du passage des aliments au niveau de l'appareil gastro-intestinal, une fois assimilés par l'organisme, des bénéfices biologiques s'opèrent. (Léonil, 2013 ; De castro *et al.*, 2015).

Les peptides bioactifs agissent sur différentes cibles physiologiques et peuvent moduler des mécanismes reliés à de grandes fonctions de l'organisme. Les domaines d'action des peptides bioactifs issus des caséines sont les systèmes nerveux, cardiovasculaires, immunitaires et digestifs (Silva et Malacata, 2005). Ils présentent ainsi un profil d'activité large.

4.1. Peptides à activité antihypertensive

L'hypertension artérielle est un problème de santé publique qui affecte environ 25% de la population adulte dans le monde et devrait atteindre 29% de la population d'ici 2025, soit un total de 1,56 milliard de personnes (Ngo *et al.*, 2015). En Algérie, selon les dernières statistiques communiquées et rendues publiques par la société algérienne d'hypertension artérielle (SAHA, 2014), 35% des algériens âgés de plus de 20 ans souffrent d'hypertension. Bien qu'il s'agisse d'une maladie contrôlable, l'hypertension est associée à plusieurs maladies cardiovasculaires.

Le système rénine-angiotensine participe à la régulation de la pression artérielle. La rénine agit sur l'angiotensinogène et libère l'angiotensine I qui est transformée par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) en angiotensine II, un peptide vasoconstricteur augmentant la pression artérielle. L'ECA hydrolyse également la bradykinine, un peptide vasorelaxant, et le rend inactif (Alemán *et al.*, 2011).

Des peptides inhibiteurs de l'ECA issus des caséines, les casokinines, sont générés par hydrolyse de la CN- α_{s1} , de la CN- β et de la CN- α_{s2} bovines (Tauzin *et al.*, 2002). D'autres séquences ont été mises en évidence dans les structures primaires des CN- α_{s1} et CN- κ humaines et pourraient présenter une activité inhibitrice de l'ECA une fois les peptides correspondants libérés (Shah, 2000). L'hydrolyse des caséines humaines par la pepsine et la pancréatine a permis d'identifier un peptide de la CN- β , HLPLP ([125-129]), qui a une forte activité inhibitrice de l'ECA (IC₅₀= 21 μ M) (Hernandez-Ledesma *et al.*, 2007). Des

peptides inhibiteurs de l'ECA ont été mis en évidence dans certains fromages comme le parmesan, le gouda ou le gorgonzola (**Hernandez-Ledesma et al., 2014 ; De Castro et al., 2015 ; Ibrahim et al., 2017 ; Sánchez et Vázquez, 2017**).

4.2. Peptides à activité antithrombotique

Les mécanismes impliqués dans la coagulation du lait par l'action de la chymosine sur la CN- κ et dans la coagulation du sang par l'action de la thrombine sur le fibrinogène présentent des similitudes. Les casoplatélines, fragments CN- κ (f106-116), CN- κ (f106-112), CN- κ (f113-116) sont des peptides inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire. Ils empêchent la fixation de la chaîne γ du fibrinogène sur son récepteur spécifique localisé à la surface des plaquettes. En limitant le risque de thrombose, ces peptides pourraient réduire le risque d'accidents vasculaires cérébraux (**Fiat et al., 1993**).

4.3. Peptides à activité antimicrobienne

Les casécidines sont issues de l'hydrolyse par la chymosine des caséines du lait bovin après chauffage. Il s'agit de peptides polycationiques de faible masse moléculaire, elles font partie des peptides antimicrobiens les plus purifiés actuellement et elles montrent une activité *in-vitro* contre *Staphylococcus*, *Sarcina*, *Bacillus subtilis*, *Diplococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes* (**Lahov et Regelson, 1996**). La casocidine-I est un peptide cationique issu de la CN- α_{s2} bovine (CN- α_{s2} -[165-203]), ce peptide inhibe la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus carnosus* (**Zucht et al., 1995**). Un autre peptide antibactérien (bactériostatique) issu de l'hydrolyse de la CN- α_{s2} bovine (CN- α_{s2} -[f183-207]), appelé Cp2, est actif contre *Escherichia coli* (**Recio et Visser, 1999 ; McCann et al., 2006**). L'isracidine (CN- α_{s1} -[1-23]), appelé Cp1, issu de l'hydrolyse de la CN- α_{s1} bovine par la chymosine et la chymotrypsine protège les souris contre *Staphylococcus aureus* après injection par voie sous-cutanée et contre *Candida albicans* après injection par voie intraveineuse mais protège également les brebis et les vaches contre les mammites quand il est injecté dans la mamelle à des niveaux comparables à ceux utilisés lors d'un traitement antibiotique standard (**Lahov et Regelson, 1996**). Un autre peptide issu de l'hydrolyse de la CN- α_{s1} (CN- α_{s1} -[99-109]) a été identifié après hydrolyse de caséinate de sodium bovin par des enzymes du tractus gastro-intestinal (pepsine, trypsine, α -chymotrypsine). Ce peptide a une action bactériostatique contre les bactéries Gram+ et les bactéries Gram- (**McCann et al., 2006**).

4.4. Peptides à activité antioxydante

Les antioxydants sont largement utilisés comme additifs par l'industrie alimentaire pour empêcher ou retarder l'altération des aliments, en inhibant notamment l'oxydation lipidique. Parallèlement, leur rôle préventif vis-à-vis du stress oxydatif a fait l'objet de nombreuses études, dans le but de freiner l'apparition de maladies graves comme certains cancers, maladies cardiovasculaires ou maladies dégénératives liées au vieillissement. Les problèmes de sécurité liés à l'utilisation d'antioxydants de synthèse, tout comme la préférence du consommateur pour des produits d'origine naturelle, amène à rechercher des peptides d'origine alimentaire aux propriétés antioxydantes. C'est le cas des peptides antioxydants du lait qui, à faible concentration, peuvent retarder ou inhiber l'oxydation d'un substrat et protéger l'organisme contre les dommages causés par les radicaux libres (**Hernández-Ledesma et al., 2014 ; Ibrahim et al., 2018**).

Les caséinophosphopeptides (CPP) ont une activité antioxydante primaire par piégeage de radicaux libres OH (via les résidus Lys, His, Pro et Tyr) mais également une activité antioxydante secondaire due à la chélation de métaux pro-oxydants (**Díaz et Decker, 2004 ; Kitts et Nakamura, 2006**). La présence de CPP dans le tractus gastro-intestinal mise en évidence après la digestion de produits laitiers par les enzymes digestives pourrait avoir un effet bénéfique pour la santé en contribuant à la réduction du stress oxydatif intestinal et au maintien du bon fonctionnement de l'intestin (**Kitts, 2005**).

4.5. Peptides à activité antidiabétique

Le diabète de type 2 est un trouble métabolique chronique considéré comme l'un des principaux problèmes de santé mondiaux en raison de son incidence et de sa prévalence croissantes. La prévalence mondiale du diabète chez les adultes de plus de 18 ans est passée de 4,7% en 1980 à 8,5% en 2014. Les statistiques de l'OMS estiment que le nombre de cas à l'échelle mondiale atteindra la barre de 366 millions à l'horizon 2030 (**OMS, 2016**). En Algérie, le nombre des diabétiques a doublé en l'espace de 15 ans, selon le ministère de la santé. En 2004, la prévalence de cette maladie chronique a été estimée à 8,9% chez la population âgée de 25 à 64 ans. Elle est passée à 14,4% en 2017 chez la population âgée de 18 à 69 ans.

Lors de l'ingestion de nourriture, les cellules K et L de l'intestin grêle libèrent les hormones peptidiques gastric inhibitory peptide (GIP) et glucagon like peptide (GLP-1),

respectivement. Le GIP et le GLP-1 favorisent la sécrétion de l'insuline par les cellules β du pancréas, ce qui favorise l'absorption du glucose par les cellules insulino-dépendantes telles que les myocytes (cellules musculaires). Le GLP-1 diminue la sécrétion du glucagon par les cellules α du pancréas, ce qui réduit la glyconéogenèse au niveau du foie. Ainsi, ces hormones favorisent la diminution de la glycémie. Cependant, l'enzyme dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) clive et désactive le GIP et le GLP-1, ce qui réduit la biodisponibilité de ces hormones. Les inhibiteurs de DPP-IV réduisent son activité et augmentent la demi-vie du GIP et du GLP-1, ce qui favorise les activités hypoglycémiantes de ces deux hormones (**Bastien, 2017**). De nombreux peptides inhibiteurs de l'enzyme DPP-IV naturels provenant de l'hydrolyse de protéines alimentaires, comme les caséines (**Mirmiran et al., 2017**), ont été rapportés dans la littérature. Les peptides inhibiteurs de la DPP-IV sont apparus comme des agents oraux nouveaux et prometteurs pour le traitement du diabète du type 2 (**Silveira et al., 2013**). Les inhibiteurs de la DPP-IV sont une nouvelle classe de médicaments anti-. La plupart des études ont montré un effet bénéfique des hydrolysats de caséines sur la réduction du glucose sérique chez les sujets diabétiques du type 2 (**Manders et al., 2014**).

4.6. Peptides à activité opiacée

Des peptides ayant une activité opiacée ont été identifiés dans plusieurs fractions de caséines hydrolysées par des enzymes du tractus digestif. Ces peptides sont des ligands pour les récepteurs opiacés et ont une activité agoniste ou antagoniste. Ces récepteurs opiacés (types μ , δ et κ) ont généralement un rôle dans les systèmes immunitaires, nerveux et endocrinien mais également au niveau du tractus gastro-intestinal des mammifères. Des ligands endogènes ou des ligands exogènes agonistes ou antagonistes peuvent interagir avec ces récepteurs (**Teschemacher, 2003**).

L'administration orale de peptides opiacés pourrait moduler le phénomène d'absorption intestinale et influencer la fonction gastro-intestinale de deux façons : en stimulant les muscles lisses ce qui réduit la durée du transit intestinal, en affectant le transport intestinal des électrolytes ce qui explique les propriétés anti-sécrétoires de ces peptides (**Léonil, 2013**).

Des peptides opiacés issus de la CN- β , appelés β -casomorphines, ainsi que leurs précurseurs ont été détectés dans le chyme duodénal de cochon nain, dans le plasma de nouveaux-nés et dans l'intestin grêle d'adultes humains après l'ingestion orale de caséines ou de lait. Chez les mammifères adultes, de la β -casomorphine a été retrouvée dans le plasma de femmes enceintes ou postpartum, cependant aucun peptide n'est détecté dans le plasma chez

l'homme ou la femme non-enceinte. L'hydrolyse des CN- α_{s1} , CN- κ et CN- γ produit également des peptides opiacés. Des peptides opiacés, appelés casoxines, exercent une activité antagoniste en supprimant l'activité agoniste de l'enképhaline. Les casoxines A et B sont issues de CN- κ bovine et humaine, la casoxine C dérive de la CN- κ bovine tandis que la casoxine D est issue de la CN- α_{s1} humaine (**Perpetuo *et al.*, 2003**).

5. Méthodes d'obtention de peptides bioactifs

La voie de production de ces peptides la plus commune est la protéolyse des caséines par une ou plusieurs enzymes digestives (telles que la pepsine ou la trypsine). De nombreux peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sont obtenus par ce procédé d'hydrolyse. D'autres enzymes, d'origine végétale, microbienne, ou combinaisons d'enzymes (pepsine, trypsine, chymotrypsine, thermolysine) sont également employées (**Vermeirssen *et al.*, 2004**).

La voie fermentaire est une autre voie de production des peptides bioactifs. Certaines bactéries lactiques telles que *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus* génèrent ces peptides à partir de protéines laitières lors des processus de fermentation grâce à leurs protéases membranaires ou intracellulaires (**Christensen *et al.*, 1999**) (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Peptides bioactifs libérés par certains micro-organismes et enzymes bactériennes à partir des caséines (Korhonen et Pihlanto, 2006).

Bactéries/levures	Protéines précurseurs	Séquences peptidiques et peptides	Activités biologiques
<i>Lactobacillus helveticus</i>		VPP, IPP	Inhibiteur de l'ECA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Caséines β et κ	Dérives de CN β IPP Dérives de CN κ	anti hypertensive
Enzyme De		1-YPFP	1-opiacé
<i>Lactobacillus GG</i> + pepsine et trypsine	Caséines β et α_{s1}	2-AVPYPQR 3-TTMPLW	2-inhibiteur de l'ECA 3-immuno-stimulant
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus</i> IFO 13953	Caséines κ	ARHHPHLSFM	antioxydant
<i>Streptococcus thermophilus</i>			
<i>Lactococcus lactis</i> Subsp <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>	Caséines β	SKVYP	inhibiteur de l'ECA

ECA : enzyme de conversation de l'angiotensine

Divers types de peptides bioactifs ont été trouvés dans les produits laitiers fermentés. Le système protéolytique des bactéries lactiques est la voie principale pour générer des peptides bioactifs au cours de la fermentation du lait et la maturation du fromage.

Les bactéries lactiques possèdent des modèles variables de protéinases, de peptidases et de systèmes de transport de peptides qui affectent la libération et l'ingestion de peptides bioactifs dans le lait d'une manière spécifique à l'espèce et à la souche. Les protéases de la paroi cellulaire dégradent les protéines dans les milieux de croissance en peptides d'environ 5-30 acides aminés qui sont transportés dans la cellule et en outre hydrolysés par les

endopeptidases en peptides plus petits et acides aminés pour la synthèse protéique microbienne. Les endopeptidases PepI, PepP, PepQ, PepR, et PepX ont des activités hydrolytiques spécifiques de la proline qui compte pour la libération principale de peptides bioactifs à partir des caséines α , β et κ riches en proline (Settanni et Moschetti, 2010).

Le rôle de lactobacilles starter dans la libération de peptides bioactifs pendant la fermentation du lait est bien documenté. Parmi les bactéries lactique non-starter les souches *Lactobacillus helveticus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* ont été largement étudiées pour leur activité protéolytique et spécifique dans le lait qui entraîne la libération de plus grandes quantités de peptides actifs par rapport aux autres lactobacilles (Sadat-Mekmene *et al.*, 2011).

6. Fractionnement, purification et identification des peptides bioactifs

Les techniques chromatographiques sont parmi les plus utilisées pour la purification et l'identification des peptides bioactifs, telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie liquide à ultra haute pression. (UHPLC). UHPLC a montré un grand potentiel dans la séparation de peptides bioactifs. Les principaux avantages de cette méthode comprennent l'augmentation du débit, la résolution et la sensibilité. La phase inverse de HPLC (RP-HPLC) peut être utilisée pour séparer les peptides par hydrophobicité. La chromatographie liquide à interaction hydrophile (HILIC) s'est avérée être une méthode utile pour la séparation des substances hydrophiles. Cette méthode est basée sur l'augmentation de la rétention avec une augmentation de la polarité de la phase stationnaire et des solutés et la diminution de la polarité du système de solvant à prédominance organique utilisée pour l'élution (Singh *et al.*, 2014).

Maux *et al.*, (2015) ont rapporté que la méthode HLIC est un outil précieux pour améliorer la séparation des peptides courts et la différenciation des peptides avec des séquences homologues par spectrométrie de masse.

Des techniques d'électrophorèse sur gel et d'ultrafiltration ont également été utilisées comme méthodes auxiliaires pour l'analyse de la composition chimique et structurale de peptides (Singh *et al.*, 2014).

La spectrométrie de masse a considérablement amélioré le processus d'identification des séquences peptidiques et l'étude des profils protéiques et des produits d'hydrolyse. En

particulier, des interfaces ont été développées pour permettre aux ions d'être générés à partir de molécules d'analyte sensibles à la température et / ou ne sont pas très volatiles (**Contreras et al., 2008**).

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse est couramment utilisée pour identifier les séquences peptidiques (**Singh et al., 2014**).

De plus, une approche intéressante a été proposée par **Maux et al., (2015)**. Ces auteurs ont affirmé que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS / MS) fournit les données nécessaires pour le séquençage des peptides. Cependant, bien que cette stratégie ait été utilisée pour des peptides plus longs, l'identification de peptides courts peut être plus difficile, en raison de la présence de peptides avec la même composition en acides aminés mais avec différentes séquences. La méthode HLIC-MS / MS pourrait être un outil précieux pour améliorer la séparation des peptides courts et la différenciation des peptides avec séquences homologues (**De Castro et al., 2015**).

7. Applications commerciales des peptides bioactifs

Des aliments enrichis en peptides bioactifs pourraient être utilisés dans la prévention de pathologies ou en complément d'un traitement médicamenteux. Des produits laitiers contenant des peptides bioactifs pour lesquels des effets bénéfiques pour la santé sont revendiqués sont commercialisés dans de nombreux pays. Des exemples de ces produits sont énumérés dans le **tableau 03**.

Les peptides bioactifs ont suscité un intérêt croissant en tant que candidats de choix pour divers aliments fonctionnels favorisant la santé. Aujourd'hui, les protéines de lait sont la source la plus connue de ces ingrédients. Les techniques de nanofiltration et d'ultrafiltration sont maintenant employées industriellement pour produire des ingrédients qui contiennent des peptides bioactifs spécifiques à base de caséine ou d'hydrolysats de protéines de lactosérum. De telles préparations sont disponibles dans le commerce et sont introduites dans différents produits de consommation, tels que les boissons à base de produits laitiers et à base de fruits, confiseries, pastilles et gélules. De nouvelles technologies, telles que les techniques chromatographiques et de séparation par membrane, semblent fournir la meilleure technique disponible pour enrichir les fractions peptidiques actives à partir des hydrolysats de diverses protéines alimentaires avec une gamme de poids moléculaire spécifique (**Korhonen et Pihlanto, 2006**).

Tableau 03 : Ingrédients et produits laitiers commercialisés ayant des effets revendiqués sur la santé basés sur des peptides bioactifs issus du lait (d'après Korhonen et Pihlanto, 2006).

Nom de marque	Type de produit	Bioactifs peptides fonctionnels	Allégation revendiquée	Producteurs
Calpis	Lait fermenté	VPP Ipp Derive de CN β Ipp Derive de CN κ	Réduction de la pression artérielle	Calpis co. ; Japan
Evolus	Lait fermenté enrichi en calcium	VPP Ipp Dérivé de CN β Ipp Dérivé de CN κ	Réduction de la pression artérielle	Valio oy, Finlande
Biozate	Hydrolysats de protéines du lactosérum	Fragment de β -lactoglobuline	Réduction de la pression artérielle	Davisco, Etats- unis
BIOPURE-GMP	Hydrolysats de CN κ	CN κ (f106-169) glycomacropéptide	Prévient les caries, protège contre les infections virales et bactériennes	Davisco, Etats- unis
Lactium	Hydrolysats de CN α_{s1}	CN α_{s1} (f91-100)	Réduits les effets tensionnels du stress	Ingredia, France
Festivo	Fromage	CN α_{s1} (f1-9) CN α_{s1} (f1-7) CN α_{s1} (f1-6)	Réduction de la pression artérielle	MTT Agrifood research Finlande
Cystéine peptide	Hydrolysats	Peptides dérivés de protéines du lait	Energisant et aide au sommeil	DMV international Pays-bas
C 12	Hydrolysats	Peptides dérivés de la caséine	Réduction de la pression sanguine	DMV international pays-bas
Capolac	Hydrolysats	Peptides dérivés de la caséine	Favorise l'absorption du calcium	ARLA Foods, ingrediets Suisse
Peptopro	Hydrolysats	Peptides dérivés de la caséine	Améliore les performances athlétiques et capacité musculaire	DSM Foods, spécialités Pays-bas

*Allégation approuvée par la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes).

La production de peptides bioactifs à partir de matières premières riches en protéines peut être étendue au niveau industriel en utilisant une fermentation contrôlée dans des bioréacteurs avec des bactéries lactiques connues. A cette fin, la technique des enzymes

recombinées et des souches de production spécifiques ou des peptidases isolées à partir de microorganismes appropriés sont susceptibles d'être employées industriellement. En plus de l'hydrolyse enzymatique, la fermentation microbienne fournit une technique naturelle applicable à la production de peptides bioactifs. Le potentiel de cette approche est déjà bien démontré par la présence de peptides bioactifs dans les produits laitiers fermentés. La formation et la stabilité de tels peptides ne sont cependant pas contrôlées dans les produits laitiers traditionnels et, par conséquent, certains avantages pour la santé ne peuvent pas être garantis. De nouvelles techniques de fabrication telles que l'addition au lait fermenté des peptides bioactifs spécifiques concentrés à partir d'hydrolysats de protéines du lait semblent constituer une solution pratique (**Korhonen et Pihlanto, 2006**).

La stabilité des structures chimiques et l'activité biologique des peptides dans différentes matrices alimentaires et le devenir ultérieur au cours du processus de digestion doivent être pris en compte dans la formulation de produits contenant des peptides bioactifs. De nouvelles technologies telles que la nanoencapsulation peuvent offrir des solutions réalisables pour améliorer la stabilité des peptides dans divers produits alimentaires et pendant la digestion (**De Castro et al., 2015**).

Conclusion

Les bactéries lactiques possèdent des activités métaboliques diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité de propriétés est responsable de leurs nombreuses applications dans de nombreuses industries de transformation dont la plus connue est l'industrie laitière. Depuis quelques années, de nouvelles utilisations des bactéries lactiques se développent le plus souvent en relation avec des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale.

La protéolyse est un processus biochimique complexe qui joue un rôle important dans la dégradation des protéines du lait en acides aminés nécessaires à la croissance des cellules bactériennes (nutrition azotée) et aussi en acides aminés précurseurs dans la synthèse des arômes. Les enzymes qui le constituent (protéases et peptidases) diffèrent par leur mécanisme catalytique, leur spécificité d'hydrolyse, leur localisation cellulaire et leur rôle. Grâce à ces enzymes protéolytiques, les bactéries lactiques participent à l'hydrolyse des protéines (caséines) en peptides courts dont certains ont été identifiés biologiquement actifs.

La production des peptides d'intérêt technologique et biologique est dépendante de la nature du substrat (protéines) et de la spécificité des protéases utilisées.

Références bibliographiques

- Alemán, A., Pérez-Santín, E., Bordenave-Juchereau, S., Arnaudin, I., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P. (2011).** Squid gelatin hydrolysates with antihypertensive, anticancer and antioxidant activity. *Food Research International*, 44, 1044–1051.
- Atlan, D., Laloï, P., Portalier, R. (1990).** Isolation and characterization of aminopeptidase deficient *Lactobacillus bulgaricus* mutants. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1717-1723.
- Autelitano, D. J., Rajic, A. Smith, A.I., Berndt, M, C. (2006).** The cryptome: a subset of the proteome, comprising cryptic peptides with distinct bioactivities. *Literature Review in Drug Discovery Today*, 11(7-8), 306-14.
- Ayyash, M., Al Dhaheri, A, S., Al Mahadin, S., Kizhakkayil, J. (2018).** In vitro investigation of anticancer, antihypertensive, antidiabetic, and antioxidant activities of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 900-911.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». *Science and Technology*, 23, 30-37.
- Bastien, D. (2017).** Identification d'inhibiteurs peptidiques de l'enzyme dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) et de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) dans des laits fermentés. Mémoire de Maîtrise en sciences et technologie des aliments. Québec, Canada.
- Broadbent, J. R., Barnes, M., Brennand, C., Strickland, M., Houck, K., Johnson, M. E., Steele, J. L. (2002).** Contribution of *Lactococcus lactis* cell envelope proteinase specificity to peptide accumulation and bitterness in reduced-fat Cheddar cheese. *Applied and Environmental Microbiology*. 68, 1778-1785.
- Büetikofer, U., Meyer, J., Sieber, R., Wechsler, D. (2007).** Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in hard, semi-hard and soft cheeses, *International Dairy Journal*, 17, 968-975.
- Chaves-López, C., Serio, A., Paparella, A., Martuscelli, M., Corsetti, A., Tofalo, R., et al. (2014).** Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk. *Food Microbiology*, 42, 117-121.
- Chen, Y-S., Christensen, J.E., Broadbent, J.R., Steele, J.L. (2003).** Identification and characterization of *Lactobacillus helveticus* PepO2, an endopeptidase with postproline specificity. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 1276-1282.
- Christensen, J. E., Dudley, E. G., Pederson, J. A., Steele, J. L. (1999).** Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 217-246.
- Contreras, M.M., López-Expósito, I., Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., Recio, I. (2008).** Application of mass spectrometry to the characterization and quantification of food derived bioactive peptides. *Journal of AOAC International*, 91(4), 981-994.
- Corrieu, G., Luquet, F, M. (2008).** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed. *Lavoisier*. Paris. France : 472 -676.
- De Castro, R. J. S., Bagagli, M. P., Sato, H. H. (2015).** Improving the functional properties of milk proteins: Focus on the specificities of proteolytic enzymes. *Current Opinion in Food Science*, 1, 64-69.

- De Roissart, H. B et Luquet, F.M. (1994).** Bactéries lactiques, Vol I et II *Lorica Chemin saint Georges*, F-38410 France.
- De Roissart, H. B. (1986).** Bactéries Lactique dans le lait et produits laitiers. Ed. *Technique et Documentation. Lavoisier*. Paris : 445 p.
- De Vos P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer K. H., Whiteman W.B.(2009).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The firmicutes. Ed. *Springer Dordrecht Heidelberg London, New York*.
- Delacroix, N., Jean, M. (2008).** Le lait ami ou ennemi?, Paris, *Editions Médicis*.
- Desmazeaud, M. J. (1998).** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Laboratoire de recherche laitière. INRA.
- Díaz, M., Decker, E. A. (2004).** Antioxidant mechanisms of caseinophosphopeptides and casein hydrolysates and their application in ground beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 8208-8213.
- Dortu, C., Thonart, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêt pour la bio-conservation des produits alimentaires. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*,13, 143-154.
- Drider, D., Prevost, H. (2009).** Bacteries lactique Physiologie, Métabolisme, Génomique et Application industrielle. Ed, *Economisa 49 rue Harica 75015 Paris* : P 99 - 120.
- El-Ghaish, S., Dalgalarondo, M., Choiset, Y., Sitohy, M., Ivanova, I., Haertle, T., Chobert, J. (2010).** Screening of strains of Lactococci isolated from Egyptian dairy products for their proteolytic activity. *Food Chemistry*, 120, 758-764.
- Farrell, J. H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck G. T., Brown E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., Hicks C. L., Hollar C. M., Ng-Kwai-HangK. F., Swaisgood H. E. (2004).**Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk. Sixth Revision. *Journal of Dairy Sciences*, 87, 1641-1674.
- Fedrighi, M. (2005).** Bactériologie alimentaire. Compendium d'hygiène des aliments. 2^{ème} édition. Ed. *Economica*, Paris, 292 pages. pp 224-233.
- Fernandez-Espla, M. D., Garault, P., Monnet, V., Rul, F. (2000).***Streptococcus thermophilus* cell wall-anchored proteinase. Release, purification, and biochemical and genetic characterization. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4772-4778.
- Fiat A.M., Migliore, D. Jollès, P. (1993).** Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunostimulating activities; *Journal of Dairy Science*, 76, 301-310.
- Florèz, A.B., Ammor, M.S., Mayo, B. (2008).** Identification of tet (M) in two *Lactococcus lactis* strains isolated from a spanish traditional starter free cheese made of raw milk and conjugative transfer of tetracycline resistance to lactococci and enterococci. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 189-194.
- Gagnaire, V., Mollé, D., Herrouin, M., Léonil, J. (2001).** Peptides identified during Emmental cheese ripening: origin and proteolytic systems involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4402-4413.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., Di Cagno, R. (2005).** Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 57-69.

- Guldfeldt, L.U., Sørensen, K.I., Ströman, P., Behrndt, H., Williams, D., Johansen, E. (2001).** Effect of starter cultures with a genetically modified peptidolytic or lytic system on Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11, 373-382.
- Gupta, R., Beg Q.K., Lorenz, P. (2002).** Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59, 15-32.
- Harless, Christopher. (2009).** La caséine et le lactose du lait : les conséquences sur l'organisme de la caséine et du lactose contenus dans le lait. Travail de maturité TM accompagnés par François Lombard à Calvin. .
- Hernández-Ledesma, B., García-Nebot, M. J., Fernández-Tomé, S., Amigo, L., Recio, I. (2014).** Dairy protein hydrolysates: Peptides for health benefits. *International Dairy Journal*, 38, 82-100.
- Hernandez-Ledesma, B., Quiros A., Amigo, L., Recio, I. (2007).** Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. *International Dairy Journal*, 17, 42-49.
- Ho T N T., Tuan, N., Deschamps, A., Caubet, R. (2007).** Isolation and identification lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product. *Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology*: pp 134-142.
- Hugenholtz, J., Sybesma, W., Groot, M. N., Wisselink, W., Ladero, V., Burgess, K., Van Sinderen, D., Piard, J.C., Eggink, G.J., Smid, E., Savoy, G., Sesma, F., Jansen, T., Hols P., Kleerebezem, M. (2002).** Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 82, 217-235.
- Hutkins, R. W. (2006).** In microbiology and technology of fermented food. 1. Ed, IFT Press. *Blackwell publishing*. Oxford. ISBN: 9780813800189.
- Ibrahim, H. R. (2018).** Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. *Archives of Animal Nutrition*, 4, 273-280.
- Ibrahim, H. R. Ahmed, S. A. Miyata, T. (2017).** Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk. *Journal of Advanced Research*, 8(1), 63-71.
- Jakob, E., Piccinali, P. (2006).** L'amertume dans les fromages. *Agroscope. Liebefeld-Posieux*, 01-16.
- Kitts, D. D. (2005).** Antioxidant properties of casein-phosphopeptides. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 549-554.
- Kitts, D. D., Nakamura, S. (2006).** Calcium enriched casein phosphopeptide stimulate release of IL-6 cytokine in human epithelial intestinal cell line. *Journal of Dairy Research*, 73, 44-48.
- Kojic, M., Fira, D., Bojovic, B., Banina, A., Topisirovic, L. (1995).** Comparative study on cell envelope-associated proteinases in natural isolates of mesophilic lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 79, 61-68.
- Kok, J. (1990).** Genetics of the proteolytic system of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. 87, 15-42.
- Kok, J., De Vos, W. M. (1994).** The proteolytic system of lactic acid bacteria. In *Genetics Professional*, London, England. p. 169-210.

- Kok, J., Leenhouts, K. J., Haandrikman, A. J., Ledebøer, A. M., Venema, G. (1988).** Nucleotide sequence of the cell wall-associated proteinase gene of *Streptococcus cremoris* Wg2. *Applied and Environmental Microbiology*, 54, 231-238.
- König, H. Fröhlich, J. (2009).** Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. SpringerVerlag, Berlin Heidelberg. P: 31-46.
- El-Agamy E.I. (2000).** Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors : a comparison with cow's and buffalo. *Food Chem.*, **68**: 227-232.
- Girard et J.M., saulnier F., gaillard J.L., ramet J.P. et humber G. (2002).** Camel (*Camelus dromedarius*) milk PP3: evidence for an insertion in the amino-terminal sequence of the camel milk whey protein. *Biochem. Cell. Biol.*, **78**: 19-26.
- Korhonen, H., Pihlanto, A. (2006).** Bioactive peptides: Production and functionality. *International dairy Journal*, 16, 945-960.
- Kunje ,R., Mierau,I., Hagting,A., Poolman,B., Konings,W.N. (1996).** The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 70, 187-221.
- Lahov, E., Regelson, W. (1996).** Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk:caseicidin, isracidin peptides. *Food and Chemical Toxicology*, 34(1), 131-145
- Leblanc, J., Fliss, I., Matar, C. (2004).** Induction of a humoral immune response following an *Escherichia coli* O157:H7 infection with an immunomodulatory peptidic fraction derived from *Lactobacillus helveticus*-fermented milk. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 11, 1171-1181.
- Léonil, J. (2013).** Peptides bioactifs du lait : bénéfice-santé. Revue. INRA, UMR 1253, Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, AGROCAMPUS OUEST, UMR1253. 65, rue de Saint Briec, F-35042 Rennes cedex France
- Léonil, J., Marchin, S., Henry G., Jouanneau, D., Putaux, J.L, (2007).** La caséine K : quel rôle dans la structuration de la micelle de caséine? *Colloque SFI-Grenoble*.
- Letrot, C., Juillard, V. (2001).** Development of a minimal chemically. Defined medium for the exponential growth of streptococcus thermophilus. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 1023-1029.
- Leveau, J.-V., Bouix, M. (1993).** Microbiologie industrielle. Technique & documentation-Lavoisier, Aprica, Paris, 612 pages.
- Liu Y., Guo, R. (2008).** pH-dependent structures and properties of casein micelles. *Biophysical Chemistry*, 136(2-3), 67-73.
- Mahaut, J., Jeantet, R., Brulé, G., Schuck, P. (2000).** Les produits industriels laitiers. Technique & documentation-Lavoisier, Paris, 178 pages.
- Mahmoud, M.I., Mlone, W.T., Cordle, C.T. (1992).** Enzymatic hydrolysis of casein: Effect of degree of hydrolysis on antigenicity and physical properties. *Journal of Food Technology*, 48, 89-95.
- Manders, R. J., Hansen, D., Zorenc, A. H., Dendale, P., Kloek, J., Saris, W. H., van Loon, L. J. (2014).** Protein co-ingestion strongly increases postprandial insulin secretion in type 2. diabetes patients. *Journal of Medicinal Food*, 17, 758-763.
- Marth, E. H., Steele, J. L. (2001).** Applied dairy microbiology. 2^{ème} édition. Marcel Dekker, Inc., New York.

- McCann, K.B., Shiell, B.J., Michalski, W.P., Lee A., Wan J., Roginski, H. Coventry, M.J. (2006). Isolation and characterisation of a novel antibacterial peptide from bovine α 1-casein. *International Dairy Journal*, 16, 316-323.
- Mirmiran, P., Angoorani, P., Ejtahed, H., Azizi, F. (2017). Camel Milk Has Beneficial Effects on Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 15(2), 421-450.
- Mkrтчyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, 255-260.
- Monnet, V., Gripon, J. C. (1994). Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques. De Roissart, H., Luquet, F. M. Edition *Lorica*. Vol 1.
- Naes, H., Nissen-Meyer, J. 1992. Purification and N-terminal amino acid determination of dipeptide transport in membrane vesicles of *Lactococcus lactis*. *Journal of Bacteriology*, 171, 292- 298.
- Ngo, D. H., Kang, K. H., Ryu, B., Vo, T. S., Jung, W. K., Byun, H. G., Kim, S. K. (2015). Angiotensin-Converting enzyme inhibitory peptides from antihypertensive skate (*Okamejei kenojei*) skin gelatin hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 174, 37-43.
- Perpetuo, E.A., Juliano, L. Lebrun, I. (2003). Biochemical and pharmacological aspects of two bradykinin potentiating peptides from hydrolysis of casein. *Journal of Protein Chemistry*, 22, 601-606.
- Picon, A., Garcia-Casado, M.A., Nunez, M. (2010). Proteolytic activities, peptide utilization and oligopeptide transport systems of wild *Lactococcus lactis* strains. *International Dairy Journal*, 20, 156-162.
- Pro, B., Dang, NH. (2004). CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. *Histology and Histopathology*, 19(4), 1345-51
- Recio, I., Visser, S. (1999). Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine α 2-casein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1428, 314-326.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 163-171.
- Sadat-Mekmene, L, Genay, M, Atlan, D, Lortal, S, Gagnaire, V. (2011). Original features of cell-envelope proteinases of *Lactobacillus helveticus*: a review. *International Journal of Food and Microbiology*, 146, 1-13.
- SAHA. (2014). 12ème Congrès Annuel de la Société Algérienne d' Hypertension Artérielle, 25 et 26 OCTOBRE 2014 à SETIF.
- Salminen, S., Wright, A. V., Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria. microbiological and functional aspects. *Marcel Dekker*. Inc., U.S.A.
- Sánchez, A. Vázquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety*, 1, 29-46.
- Sasaki, S., Bosman, B. W., Tan, P. S. T. (1995a). Immunological and electrophoretic study of the proteolytic enzymes from various *Lactococcus* and *Lactobacillus* strains. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 611-620.

- Sasaki, S., Bosman, B. W., Tan, P. S. T. (1995b).** Comparaison of proteolytic activities in various lactobacilli. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 601-610.
- Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P. (2006).** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 74(1), 394-406
- Seppo, L., Jauhiainen, T., Poussa, T., Korpela, R. (2003).** A Fermented Milk High in Bioactive Peptides has a Blood Pressure-Lowering Effect in Hypertensive Subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(2), 326-30.
- Settanni, L., Moschetti, G. (2010).** Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*. 27, 691- 697.
- Shah, N.P. (2000).** Effects of milk-derived bioactives: An overview. *British Journal of Nutrition*, 84, 3-10.
- Sharmin, S., Towhid, Hossain, M.D., Anwar, M.N. (2004).** Proteolytic activity of a Lactobacillus species isolated from rumen. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 2105-2108.
- Siezen, R. J. (1999).** Multi-domain, cell-envelope proteinases of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 139-155.
- Silva, S.V., Malcata, F.X. (2005).** Caseins as source of bioactive peptides. *International Dairy Journal*, 15, 1-15.
- Silveira, S. T., Martínez-Maqueda, D., Recio I., Hernández-Ledesma, B. (2013).** Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory peptides generated by tryptic hydrolysis of a whey protein concentrate rich in β -lactoglobulin. *Food chemistry*, 141(2), 1072-1077.
- Singh, B.P., Vij, S., Hati, S. (2014).** Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, 54, 171-179.
- Slover, C.M., Danziger, L. (2008).** *Lactobacillus*: a Review. *Clinical Microbiology Newsletter*, 30 (4), 23-27.
- Smukowski, M., Wendorff, W.L., Ping, Y., Rao, R.D. (2003).** Impact of cheese defects on U.S. graded cheeses. *Journal of Dairy Sciences*, 86, 364.
- Sofia, V., Silva, F., Malcata, X. (2005).** Caseins as source of bioactive peptides, *International Dairy Journal*, 15, 1-15.
- Sridhar, V.R., Hughes, J.E., Welker, D.L., Broadbent, J.R., Steele J.L. (2005).** Identification of endopeptidase genes from the genomic sequence of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 and the role of these genes in hydrolysis of model bitter peptides. *Applied Environmental Microbiology*, 71, 3025-3032.
- Stiles, M.E., Holzapel, W.H. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal Food Microbiology*, 36 (1), 1-29.
- Tan, P. S. T., Poolman, B., Konings, W. N. (1993).** Proteolytic enzymes of *Lactococcus lactis*. *Journal of Dairy Research*, 60, 269-286.
- Tauzin, J., Miclo, L., Gaillard, J. L. (2002).** Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from tryptic hydrolysate of bovine α_{S2} -casein. *FEBS Letters*, 531, 369-374.
- Teschemacher, H., Koch G., Brantl, V. (1994).** Milk protein derived atypical opioid peptides and related compounds with opioid antagonist activity. In -Casomorphins and Related Peptides: Recent Developments. 3-17. [V Brantl and H Teschemacher, editors]. Wenham: VCH.

- Tomé, D. (1998).** Peptides fonctionnels. *Danone World Newsletter*. n°17.
- Vermeirssen, V., van der Bent, A., Van Camp, J., Van Amerongen, A., Verstraete, W. (2004).** A quantitative *in silico* analysis calculates the angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity in pea and whey protein digests. *Biochimie*, 86, 231-239.
- Visser, S., Robben, A. J. P. M., Slangen, C. J. (1991).** Specificity of a cell-envelope located proteinase (PIII-type) from *Lactococcus lactis* subsp *cremoris* AM1 in its action on bovine β -casein. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 477-483.
- Wakai, T., Yamamoto, N. (2012).** Antihypertensive peptides specific to *Lactobacillus helveticus* fermented milk, in *Biotechnology – Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life, Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, ed Sammour R. H., editor. (InTech:), ISBN 978-953-51-0151-2.
- Williams, A.G., Noble, J. et Banks, J.M. (2001).** Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 11, 203-215.
- Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R.(2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Sciences*, 3, 194-199.
- Zucht, H.-D., Raida M., Adermann K., Magert, H.-J. Forssmann, W.-G (1995).** Casocidin-I: A casein- α s2 derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Letters*, 372, 185-188.

Ressources électroniques :

BIOPEP-UWM database: www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biopep

MS (2016): Organisation mondiale de la santé : <http://www.who.int/entity/diabetes/global-report/fr/index.html>