

Purification et caractérisation d'une protéase coagulant le lait et extraite des fruits d'un arbre africain : *Balanites aegyptiaca*

Robert G. Beka**, Anne-Sophie Pernac*, Delphine Coinon*, Valentine Paquier*, David Libouga**, Didier Guillochon* et Dominique Vercaigne-Marko*

*- Laboratoire de **Procédés Biologiques, Génie Enzymatique et Microbien, (ProBioGEM)**

IUT A – Université Lille1

Département Génie Biologique

Boulevard Langevin, 59653 Villeneuve d'Ascq, France

** Laboratoire de Biochimie Biophysique Alimentaire et Nutritionnel

Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro-Industrielles,

B.P. 455 Ngaoundéré, Cameroun

bekarobertger2004@yahoo.fr ; Dominique.Vercaigne@univ-lille1.fr

Sections de rattachement : 64

Secteur : Secondaire

RESUME : La province de l'Adamaoua dans la partie septentrionale du Cameroun dispose d'un important cheptel bovin et est le siège d'une importante production laitière. Cependant le développement de la filière fromagère se heurte au coût élevé de la présure importée et à la difficulté de sa production du fait de l'interdiction d'abattage des jeunes ruminants. Dans le but de trouver des produits de substitution à la présure et de promouvoir la production des fromages locaux, des sources végétales ont été testées. Les fruits des arbres peuvent constituer un matériel de choix pour obtenir une solution douée d'activité coagulante du lait et exploitable en fromagerie.

*Un extrait protéique coagulant a été obtenu par macération du mésocarpe des fruits de *Balanites aegyptiaca* (arbre des zones soudano-sahéliennes) dans du tampon Tris-HCl 50 mM pH 8,1 contenant 1 mM d'EDTA et 3 mM de 2-mercaptoéthanol. L'extrait a été purifié par le couplage d'une chromatographie d'échanges d'ions sur DEAE Sepharose Fast Flow suivie d'une chromatographie d'interactions hydrophobes sur Hitrap Butyl Fast Flow. L'électrophorèse faite sur gel de polyacrylamide à 12 % en présence de SDS montre que l'extrait purifié est constitué de deux bandes de masses moléculaires de 40 et 55 kDa. La fixation de la protéase sur Concanavaleine A Sepharose indique que l'enzyme possède une chaîne glycanique à mannose. L'enzyme purifiée présente un maximum d'activité à 50°C et à pH 5,5 et est stable entre 40 et 50°C. Elle est complètement dénaturée à partir de 60°C. Sa capacité à hydrolyser le peptide synthétique chromogène H-Pro-Thr-Glu-Phe-(4-NO₂)-Phe-Arg-Leu-OH et son inhibition à 86 % par la pepstatine à une concentration de 10 µM indiquent que cette protéase appartient à la famille des protéases à acide aspartique. Les temps de coagulation obtenus suggèrent que cette enzyme est bien utilisable en fromagerie.*

*MOTS CLES: *Balanites aegyptiaca*, protéases aspartiques, coagulation du lait, purification, spécificité.*