

# Étude comparative des coagulations du lait par actions de l'extrait des écorces de l'*Ongokea gore* et des enzymes coagulants bien connus

D.G. Libouga\*

Keywords: Clotting- Enzyme- Formagraph- Milk- *Ongokea gore*- Cameroon

## Résumé

L'évolution de la fermeté du caillé obtenu par l'utilisation d'extrait des écorces de l'*Ongokea gore* a été comparée à celles obtenues par l'action des enzymes coagulants bien connus: *Endothia parasitica*, pepsine bovine, pepsine porcine, présure et *Mucor pusillus*. Le lait reconstitué (substrat de Berridge) a été utilisé pour la coagulation qui a été suivie à l'aide du formagraph. Les amplitudes des formagrammes ont été déterminées en fonction du temps. Pour des temps de coagulation comparables, le caillé obtenu avec l'extrait de l'*Ongokea gore* se raffermait plus vite que celui obtenu avec de la pepsine porcine mais aussi moins vite que ceux obtenus avec *Endothia parasitica*, *Mucor pusillus*, la pepsine bovine et la présure. L'évolution de la fermeté du coagulum en fonction du pH d'une part et des quantités de poudre de lait dissoutes d'autre part montre des similitudes entre les caillés obtenus sous les actions de la présure et les extraits des écorces de l'*Ongokea gore*: effets peu marqués du pH du lait sur la vitesse de raffermissement du caillé et augmentation de cette vitesse avec l'augmentation de la quantité de poudre de lait dissoute.

## Summary

### Milk Clotting Using *Ongokea gore* Bark Extract Compared to those Obtained to Well Known Milk Clotting Extracts

The evolution of firmness in curd obtained using plant extract (*Ongokea gore* barks) and that using renounce coagulating enzymes (bovine pepsin, *Endothia parasitica*, porcine pepsin, *Mucor pusillus*, rennet) were compared. The study was carried out using reconstituted milk (Berridge substrate) and a formagraph was used for the analysis of curd firmness. Variations in amplitude of the formagrammes were measured with time. It was noticed that at the same coagulation time, the curd firming rate of *Ongokea gore* extracts was higher than that of porcine pepsin but lower than those of *Endothia parasitica*, *Mucor pusillus*, bovine pepsin and rennet. The evolution of curd firmness with pH on one hand and the quantity of dissolved powder milk on the other hand showed some similarities in rennet and *Ongokea gore* extract curds: the effect of the pH of the milk substrate is less remarkable on the rate of curd firmness while this rate increases with the quantity of dissolved powder milk.

## Introduction

L'obtention de la chymosine à partir des micro-organismes est en train de résoudre le problème de l'approvisionnement des fromageries en présure mais, dans les pays où cet approvisionnement demeure aléatoire, la recherche des autres sources d'extrait coagulant demeure d'actualité. Les extraits coagulants sont obtenus non seulement à partir des moisissures mais aussi à partir d'une grande variété de plantes: *Albizia julibrissin* (18), *Calotropis procera* (3), *Cynara* (7, 15, 25, 27), *Ficus* (20), *Onopordum turcicum* (27), *Solanum dubium* (30) et *Wrightiana calysina* (18). Ces extraits présentent d'autant plus d'intérêt qu'ils donnent avec le lait un caillé dont le comportement rappelle celui de la présure (8, 16). L'objet de ce travail est de comparer le caillé obtenu avec les extraits des écorces de l'*Ongokea gore* avec ceux des enzymes coagulants bien connus: la présure, les pepsines bovine et porcine, *Endothia parasitica* et *Mucor pusillus*. L'*Ongokea gore* est un arbre de la forêt tropicale humide rencontrée au Cameroun, au Ghana et à l'ex-Zaïre. Son bois est jaunâtre, dur et homogène; son écorce, qui renferme 16% de tanin, est utilisée comme purgatif ou pour faciliter les accouchements (28). Les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait des écorces de l'*Ongokea gore* (pH, densité, teneur en matières sèches organiques et azotées) sont décrites (13). Cet extrait coagule le lait avec une force de 1/50; son action protéolytique est largement supérieure à celle de la présure (11, 13). Il est constitué d'au moins quatre protéines de masse moléculaire comprise entre 14 et 95 kDa (12). Sa température optimum de protéolyse de la caséine est de 54 °C alors que sa température de dénaturation est de 87,4 °C (11, 12). Cet extrait n'est pas

toxique; son importante activité protéolytique, comme c'est le cas de plusieurs extraits coagulants d'origine végétale, pourrait conduire à l'hydrolyse de la caséine  $\beta$  avec apparition des peptides amers ainsi qu'à un faible rendement fromager (6, 11, 13, 14). Les fromages fabriqués avec cet extrait sont appréciés par un jury des dégustateurs camerounais (14).

## Matériel et méthodes

La poudre de lait (low heat lot N° 4) provient de la station de l'Institut Nationale de la Recherche Agronomique (Poligny, France). Le substrat standard est obtenu en dissolvant 12 g de poudre dans 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M. Des échantillons de lait reconstitué sont obtenus par dissolution de 6 à 40 g de poudre de lait dans 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0 à 100 mM) et à différents pH (5 à 7) du substrat standard obtenu par addition de HCl (0,1 M) ou NaOH dilué (0,1 M). La reconstitution du lait a été faite à la température ambiante ( $\approx 20$  °C), les équilibres ont été atteints sur ces échantillons de lait après 2 h environ. La présure (force 1/10.000; 99,5% d'activité due à la chymosine), les pepsines bovine et porcine, les enzymes de *Endothia parasitica*, de *Mucor pusillus* proviennent des Etablissements Boll (Arpajon, France). Les écorces fraîches de l'*Ongokea gore* ont été récoltées dans l'agglomération de Makak, (3°33' latitude nord et 11°02' longitude ouest) (10). L'extrait coagulant de l'*Ongokea gore* a été obtenu en macérant 75 g de poudre des écorces fraîches de l'*Ongokea gore* dans 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  à 3% (p/v),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  à 2% (v/v) (2) (4 °C, 12 h) et suivi d'une filtration sur papier

\*Laboratoire de Biophysique et Biochimie Alimentaires, Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro Alimentaires, Université de N'Gaoundéré, B.P. 455, Cameroun, Afrique Centrale. Tél. / Fax +237.225.27.51 e-mail: libouga@yahoo.fr  
Reçu le 01.02.06 et accepté pour publication le 23.01.07.

Whatman. Après centrifugation (10.000 g, 4 °C, 15 mn), le surnageant a été concentré par ultrafiltration dans une cellule Amicon (Amicon, Épernon, France) à l'aide d'une membrane cellulosique ayant un seuil de coupure de 10 kDa. L'ultrafiltration a été arrêtée après un temps de floculation obtenu avec le concentrat de 20 mn environ. Il a été vérifié que l'activité coagulante de l'ultrafiltrat était négligeable par rapport à celle du concentrat. Le temps de floculation est déterminé en mélangeant 0,5 ml de l'extrait coagulant avec 10 ml de lait reconstitué dans un tube à essai plongé dans un bain marie (30 °C). Le tube à essai est soumis à une lente rotation jusqu'à ce qu'il se forme un mince film à l'intérieur des parois du tube à essai (4). Le temps de floculation est celui qui s'écoule entre le moment de l'introduction de l'extrait coagulant et celui où un mince film se forme à l'intérieur des parois du tube à essai. La coagulation du lait est aussi suivie à l'aide d'un formagraph (Foss Electric, Paris, France). Cet appareil est formé d'un pendule plongeant dans un godet contenant du lait emprésuré et qui est entraîné au fur et à mesure de la coagulation par le mouvement latéral du godet. L'enregistrement de la déviation du pendule se fait sur un papier photosensible se déroulant à une vitesse de 2 mm/mn. Les godets sont remplis de 10 ml de lait et de 0,2 ml d'extrait coagulant (11). Après coagulation, le tracé sur papier enregistreur a la forme d'un diapason. La lettre «r» indique le temps de coagulation qui s'écoule entre l'emprésurage et le moment où l'écartement des deux branches du formagramme atteint 1 mm. On a mesuré les écartements des deux branches des formagrammes (amplitude) en fonction du temps en prenant comme temps initial la fin du temps de coagulation «r». Toutes les expériences ont été répétées 5 fois. L'analyse statistique a été faite avec le logiciel SAS (SAS Institute Inc., Cary USA) (24). Trois modèles mathématiques ont été utilisés.

A/ Modèle mathématique pour l'influence de la nature des extraits coagulants.

Un modèle linéaire a été utilisé pour tester l'influence de la nature des extraits coagulants sur le temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude. Le modèle utilisé était le suivant:

$$Y_{ij} = \mu + N_i + C_j + (N^*C)_{ij} + e_{ij}$$

Où,

$Y_{ij}$  est l'effet de la  $i^{\text{ème}}$  nature des extraits coagulants, du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude;

$\mu$  est la moyenne générale.

Les paramètres ci-dessous sont les effets sur la mesure de l'amplitude pour:

$N_i$  l'effet de la  $i^{\text{ème}}$  nature des extraits coagulants ( $i = EP; MP; OG; PB; PP; PR$ );

$C_j$  l'effet du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 15, 30, 50$  et  $70$  min);

$(N^*C)_{ij}$  l'effet de l'interaction entre la  $i^{\text{ème}}$  nature des extraits coagulants et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible;

$e_{ij}$  l'effet de l'erreur sur la mesure de l'amplitude de la  $i^{\text{ème}}$  nature des extraits coagulants ( $i = EP; MP; OG; PB; PP; PR$ ), du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 15, 30, 50$  et  $70$  min), de l'interaction entre la  $i^{\text{ème}}$  nature des extraits coagulants et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible. Avec EP *Endothia parasitica*, OG *Ongokea gore*, PB pepsine bovine, MP *Mucor pusillus*, PP pepsine porcine, PR présure.

B/ Modèle mathématique pour l'influence du pH du lait.

Un modèle linéaire a été utilisée pour tester l'influence du pH du lait; du temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude. Le modèle utilisé était le suivant:

$$Y_{ij} = \mu + N_i + C_j + (N^*C)_{ij} + e_{ij}$$

Où,

$Y_{ij}$  est l'effet du  $i^{\text{ème}}$  pH du lait, du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude;

$\mu$  est la moyenne générale.

Les paramètres ci-dessous sont les effets sur la mesure de l'amplitude pour:

$N_i$  l'effet de la  $i^{\text{ème}}$  pH du lait ( $i = 5,2; 5,7; 6,1; 6,2; 6,5$ );

$C_j$  l'effet du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 10, 30$  et  $60$  min);

$(N^*C)_{ij}$  l'effet de l'interaction entre le  $i^{\text{ème}}$  pH du lait et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible;

$e_{ij}$  l'effet de l'erreur sur la mesure de l'amplitude, de le  $i^{\text{ème}}$  pH du lait ( $i = 5,2; 5,7; 6,1; 6,2; 6,5$ ), du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 10, 30$  et  $60$  min), de l'interaction entre le  $i^{\text{ème}}$  pH du lait et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible.

C/ Modèle mathématique pour l'influence de la masse de poudre du lait.

Un modèle linéaire a été utilisé pour tester l'impact de la masse de poudre du lait dissoute dans 100 ml de  $CaCl_2$ , 0,01 M; du temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude. Le modèle utilisé était le suivant:

$$Y_{ij} = \mu + N_i + C_j + (N^*C)_{ij} + e_{ij}$$

Où,

$Y_{ij}$  est l'effet de la  $i^{\text{ème}}$  masse de poudre du lait dissoute dans 100 ml de  $CaCl_2$ , 0,01 M, du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible du formagraph sur la mesure de l'amplitude;

$\mu$  est la moyenne générale.

Les paramètres ci-dessous sont les effets sur la mesure de l'amplitude pour:

$N_i$  l'effet de la  $i^{\text{ème}}$  masse de poudre du lait dissoute ( $i = 6, 12, 24, 36, 40$  g);

$C_j$  l'effet du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 10, 20, 45$  et  $75$  min);

$(N^*C)_{ij}$  l'effet de l'interaction entre la  $i^{\text{ème}}$  masse de poudre du lait dissoute et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible;

$e_{ij}$  l'effet de l'erreur sur la mesure de l'amplitude, de la  $i^{\text{ème}}$  masse de poudre du lait dissoute ( $i = 6, 12, 24, 36, 40$  g), du  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible ( $j = 0, 5, 10, 20, 45$  et  $75$  min) de l'interaction entre la  $i^{\text{ème}}$  masse de poudre du lait dissoute et le  $j^{\text{ème}}$  temps de déroulement du papier photosensible.

Les formagrammes ont été traités au scanner puis analysés avec le logiciel de dessin *Ungraph* (Biosoft, Cambridge, United Kingdom).

## Résultats

La figure 1 montre un formagramme obtenu sous les actions de l'extrait de l'*Ongokea gore* et de la présure. La figure 2 montre les variations d'amplitude des formagrammes de différents extraits coagulants (*Endothia parasitica*, *Ongokea gore*, *Mucor pusillus*, pepsine bovine, pepsine porcine et présure) en fonction du temps. Avec l'*Ongokea gore*, on obtient une bonne corrélation positive ( $R^2 = 0,95$ ;  $p = 0,000$ ) particulier entre des extraits, l'amplitude des formagrammes et le temps.

Les amplitudes des formagrammes évoluent différemment selon les extraits coagulants: il y a une différence significative entre les évolutions dues aux extraits de l'*Ongokea gore* et la présure ( $p = 0,000$ ), entre l'*Ongokea gore* et *Endothia parasitica* ( $p = 0,000$ ), entre l'*Ongokea gore* et la pepsine bovine ( $p = 0,003$ ), entre l'*Ongokea gore* et *Mucor pusillus* ( $p = 0,004$ ) et entre l'*Ongokea gore* et la pepsine porcine ( $p = 0,004$ ) (Tableau 1).

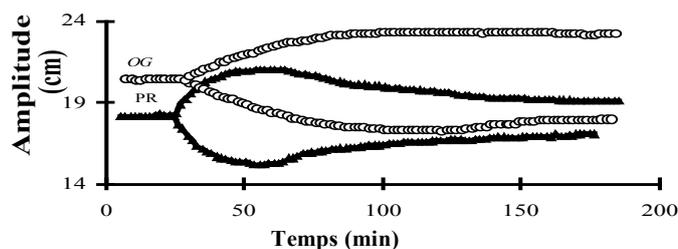


Figure 1: Formagrammes de la coagulation du lait par les extraits de l'*Ongokea gore*, la pepsine bovine et la présure. Lait en poudre (low heat, 12 g / 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M) 10 ml, solution coagulante 0,20 ml; température 35 °C (OG: extrait des écorces de l'*Ongokea gore* et PR: présure ayant 99,5% d'activité due à la chymosine).

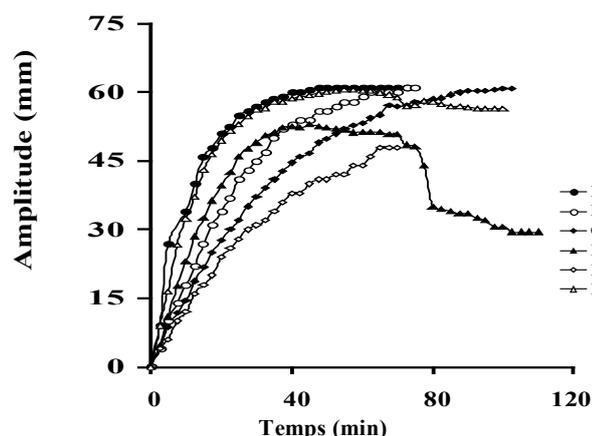


Figure 2: Variations des amplitudes des formagrammes en fonction des extraits coagulants. Lait en poudre (low heat, 12 g / 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M) 10 ml, solution coagulante 0,20 ml, température 35 °C; le temps  $t$  égale zéro est la fin du temps de coagulation,  $r$ . Les barres d'erreur représentent les écarts types. (EP *Endothia parasitica*, OG *Ongokea gore*, PB pepsine bovine, MP *Mucor pisillus*; PP pepsine porcine, PR présure).

La figure 3 représente les variations des amplitudes des formagrammes obtenus sous l'action de l'extrait d'*Ongokea gore* sur des laits reconstitués à 12g/100ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M et ajustés à différents pH. L'analyse statistique montre qu'il y a une différence significative ( $p=0,00$ ) entre le groupe de pH 5,7 à 6,5 et le pH 5,2. Par contre, il n'y pas de différence significative entre les pH 6,2 et 6,5 ( $p=0,08$ ), entre les pH 6,1 et 6,2 ( $p=0,79$ ), et entre les pH 6,1 et 6,5 ( $p=0,12$ ) (Tableau 2).

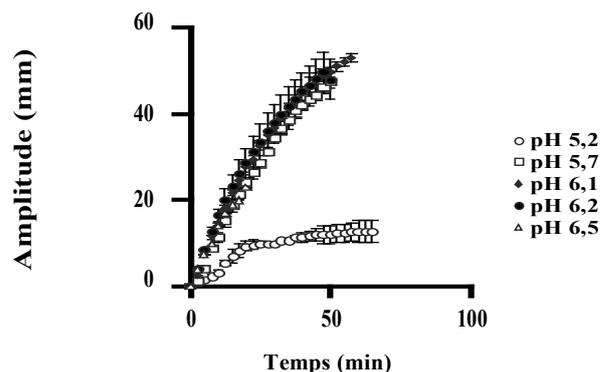


Figure 3: Variation des amplitudes des formagrammes (extrait coagulant *Ongokea gore*) en fonction des pH.

Lait en poudre (low heat) 10 ml, extrait des écorces de l'*Ongokea gore* 0,20 ml, température 35 °C; le temps  $t$  égale zéro est la fin du temps de coagulation,  $r$ . Les barres d'erreur représentent les écarts types. Les pH varient entre pH 5,2 et 6,5.

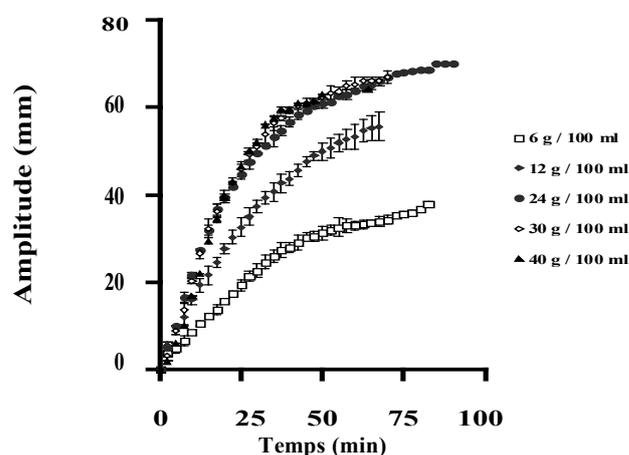


Figure 4: Variation des amplitudes des formagrammes en fonction des quantités de poudre de lait dissoute dans 100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M.

Lait en poudre (low heat) 10 ml, extrait des écorces de l'*Ongokea gore* 0,20 ml, température 35 °C; le temps  $t$  égale zéro est la fin du temps de coagulation,  $r$ . Les barres d'erreur représentent les écarts types. Les quantités de poudre de lait varient entre 6 et 40 g/100 ml de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M.

Tableau 1  
Influence de la nature des extraits coagulants sur les amplitudes

Sources	Amplitude (mm)					
	0 min	5 min	15 min	30 min	50 min	70 min
EP	0 a <sup>1</sup>	26,66 ± 1,08 b <sup>1</sup>	45,66 ± 1,08 c <sup>1</sup>	57,00 ± 1,08 d <sup>1</sup>	61,00 ± 1,08 e <sup>1</sup>	61,00 ± 1,08 e <sup>1</sup>
MP	0 a <sup>1</sup>	10,33 ± 1,08 b <sup>2</sup>	26,66 ± 1,08 c <sup>2</sup>	44,66 ± 1,08 d <sup>2</sup>	56,33 ± 1,08 e <sup>2</sup>	60,00 ± 1,08 f <sup>1,2</sup>
OG	0 a <sup>1</sup>	8,00 ± 1,08 b <sup>2,3</sup>	18,00 ± 1,08 c <sup>3</sup>	36,66 ± 1,08 d <sup>3</sup>	49,66 ± 1,08 e <sup>3</sup>	56,66 ± 1,08 f <sup>3</sup>
PB	0 a <sup>1</sup>	11,66 ± 1,08 b <sup>2</sup>	33,33 ± 1,08 c <sup>4</sup>	49,66 ± 1,08 d <sup>4</sup>	48,33 ± 1,08 d <sup>e3,4</sup>	36,00 ± 1,08 c <sup>4</sup>
PP	0 a <sup>1</sup>	5,66 ± 1,08 b <sup>3</sup>	17,33 ± 1,08 c <sup>3,5</sup>	31,33 ± 1,08 d <sup>5</sup>	40,66 ± 1,08 e <sup>5</sup>	47,66 ± 1,08 f <sup>5</sup>
PR	0 a <sup>1</sup>	15,33 ± 1,08 b <sup>4</sup>	41,66 ± 1,08 c <sup>6</sup>	54,66 ± 1,08 d <sup>1,6</sup>	60,33 ± 1,08 e <sup>1,6</sup>	56,66 ± 1,08 d <sup>f3,6</sup>

EP *Endothia parasitica*, OG *Ongokea gore*, PB pepsine bovine, MP *Mucor pisillus*; PP pepsine porcine, PR présure.

Les valeurs dans la même colonne et ayant les mêmes chiffres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

Les valeurs dans la même ligne et ayant les mêmes lettres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

La figure 4 montre les variations des amplitudes obtenues sous l'action de l'extrait d'*Ongokea gore* sur des laits reconstitués avec des quantités variables de poudre de lait (6 et 40 g) dans 100 ml de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M. L'analyse statistique montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les amplitudes obtenues avec les laits ayant 24 et 36 g/100 ml ( $p=0,87$ ) puis entre 24 et 40 g/100 ml ( $p=0,86$ ) et enfin entre 36 et 40 g/100 ml ( $p=0,74$ ). Par contre, il y a une différence significative ( $p<0,001$ ) entre les groupes 24, 36, 40 g/100 ml, 12 g/100 ml et 6 g/100 ml à partir de 20 min (Tableau 3).

## Discussion

Pour des temps de coagulation voisins ( $21,6 \pm 0,7$  min), le temps de raffermissement du caillé varie avec la nature des extraits: le caillé obtenu avec l'extrait de l'*Ongokea gore* se raffermi presque 2 fois moins vite que ceux obtenus avec la présure ou avec *Endothia parasitica* et au moins 1 fois et demie celui obtenu avec de la pepsine bovine; ce caillé se raffermi plus vite que celui obtenu avec de la pepsine porcine. Puisque la pepsine de porc parfois mélangée à d'autres extraits coagulants a servi à préparer des fromages (29), on peut penser que l'extrait de l'*Ongokea gore* qui donne un meilleur caillé que la pepsine porcine pourra servir à la fabrication des fromages. Les vitesses de raffermissement des caillés décroissent dans l'ordre suivant *Endothia parasitica*, présure, pepsine bovine, *Mucor pusillus*, *Ongokea gore*, pepsine de porc. La fermeté plus grande du caillé obtenue avec *Endothia parasitica* par comparaison avec la présure est connue (21) tout comme celle obtenue dans les 30 premières minutes avec de la chymosine par rapport à celle obtenue avec de la pepsine bovine (1). Trois quart d'heure après le début de la coagulation, tous les caillés,

à l'exception de celui obtenu avec l'extrait d'*Ongokea gore* atteignent le raffermissement maximal avec parfois un début de synérèse; le caillé obtenu avec l'extrait d'*Ongokea gore* n'atteindra son raffermissement maximum qu'une heure et demie après le temps de coagulation. Le raffermissement maximum du caillé obtenu par action des extraits de l'*Ongokea gore* est plus grand que ceux de tous les cas étudiés. Plus le milieu est acide plus rapide est la coagulation sous l'action de l'extrait des écorces de l'*Ongokea gore*. Ce résultat est bien connu pour la présure (9). C'est ainsi que le temps de coagulation est réduit au tiers quand on passe de pH 6,5 à 5,2. La fermeté du caillé augmente avec le pH et passe par un maximum au voisinage de pH 6,1; ce qui est semblable au comportement du caillé obtenu avec de la présure (22). La vitesse de raffermissement du caillé pour différents pH montre que, hormis pour un pH 5,2 et pour des pH compris entre pH 5,7 et 6,5 il n'y a pas de différence significative ( $p>0,05$ ) entre les différentes courbes. La vitesse de raffermissement des caillés obtenus par action de la présure sur des laits à des pH compris entre pH 6,0 et 6,6 a été étudiée et a montré que ce pH est le facteur déterminant de différenciation (26). L'augmentation de la concentration de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  (2,5 à 1 000 mM) a entraîné la diminution du pH du milieu de pH 6,4 à pH 5,1. Tout comme avec la présure, on a observé une diminution du temps de coagulation suite à cette baisse du pH mais avec un seuil de 16 min à pH 6,0 correspondant à du lait reconstitué avec du  $\text{CaCl}_2$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  25 mM (9). Contrairement à la baisse du pH par simple action de HCl dilué, celle due à l'addition de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  au-delà de 25 mM et correspondant à un  $\text{pH}<6,0$  n'entraîne plus une diminution mais plutôt une augmentation du temps de coagulation, suggérant un effet inhibiteur des ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Quand la quantité de la poudre de lait augmente de 6 à 40 g pour 100 ml de  $\text{CaCl}_2$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M,

**Tableau 2**  
Influence du pH du lait sur les amplitudes

Sources	Amplitude (mm)				
	0 min	5 min	10 min	30 min	60 min
pH 5,2	0 <sup>a1</sup>	1,66 ± 0,76 <sup>ab1</sup>	3,33 ± 0,76 <sup>bc1</sup>	10,00 ± 0,76 <sup>d1</sup>	12,66 ± 0,76 <sup>e1</sup>
pH 5,7	0 <sup>a1</sup>	4,5 ± 0,76 <sup>b2</sup>	11,33 ± 0,76 <sup>c2</sup>	34,33 ± 0,76 <sup>d2</sup>	50,00 ± 0,76 <sup>e2</sup>
pH 6,1	0 <sup>a1</sup>	7,33 ± 0,76 <sup>b3</sup>	14,66 ± 0,76 <sup>c3</sup>	36,66 ± 0,76 <sup>d3</sup>	54,00 ± 0,76 <sup>e3</sup>
pH 6,2	0 <sup>a1</sup>	8,50 ± 0,76 <sup>b3,4</sup>	16,50 ± 0,76 <sup>c3,4</sup>	37,83 ± 0,76 <sup>d3,4</sup>	48,66 ± 0,76 <sup>e4</sup>
pH 6,5	0 <sup>a1</sup>	7,66 ± 0,76 <sup>b3,4,5</sup>	14,00 ± 0,76 <sup>c3,4,5</sup>	30,00 ± 0,76 <sup>d5</sup>	45,00 ± 0,76 <sup>e5</sup>

Les valeurs dans la même colonne et ayant les mêmes chiffres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%. Les valeurs dans la même ligne et ayant les mêmes lettres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

**Tableau 3**  
Influence de la masse de poudre de lait sur les amplitudes

Sources	Amplitude (mm)					
	0 min	5 min	10 min	20 min	45 min	75 min
6 g	0 <sup>a1</sup>	5,00 ± 0,44 <sup>b1</sup>	8,66 ± 0,44 <sup>c1</sup>	15,66 ± 0,44 <sup>d1</sup>	30,33 ± 0,44 <sup>e1</sup>	35,66 ± 0,44 <sup>f1</sup>
12 g	0 <sup>a1</sup>	9,00 ± 0,44 <sup>b2</sup>	16,00 ± 0,44 <sup>c2</sup>	27,66 ± 0,44 <sup>d2</sup>	47,66 ± 0,44 <sup>e2</sup>	56,00 ± 0,44 <sup>f2</sup>
24 g	0 <sup>a1</sup>	10,00 ± 0,44 <sup>b2,3</sup>	21,66 ± 0,44 <sup>c3</sup>	39,33 ± 0,44 <sup>d3</sup>	59,33 ± 0,44 <sup>e3</sup>	68,00 ± 0,44 <sup>f3</sup>
36 g	0 <sup>a1</sup>	9,00 ± 0,44 <sup>b2,3,4</sup>	20,33 ± 0,44 <sup>c3,4</sup>	39,66 ± 0,44 <sup>d3,4</sup>	60,33 ± 0,44 <sup>e3,4</sup>	67,33 ± 0,44 <sup>f3,4</sup>
40 g	0 <sup>a1</sup>	6,00 ± 0,44 <sup>b1,5</sup>	17,00 ± 0,44 <sup>c2,5</sup>	39,33 ± 0,44 <sup>d3,4,5</sup>	61,00 ± 0,44 <sup>e3,4,5</sup>	64,00 ± 0,44 <sup>f5</sup>

Les valeurs dans la même colonne et ayant les mêmes chiffres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%. Les valeurs dans la même ligne et ayant les mêmes lettres en exposant ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

le temps de coagulation augmente de 7 à 94 min. La coagulation du lait comprend une 1<sup>ère</sup> phase enzymatique et une 2<sup>nde</sup> réticulaire (5). Le temps de coagulation « r » augmente avec la concentration de la poudre de lait mise en solution tout comme dans le cas de la présure sur du lait plus ou moins concentré (19). Le temps de coagulation d'un lait donné (substrat) sous l'action de la présure (enzyme) augmente avec la dilution de la présure (17). La fermeté du coagulum augmente quand on passe de 6 à 24 g de poudre de lait dans 100 ml de CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O 0,01 M et n'augmente plus entre 24 et 40 g de la poudre de lait dans 100 ml de CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O 0,01 M d'où une similitude avec les coagula obtenus par action de la présure sur différents laits (23) tout comme les actions des présures diluées sur un lait de composition constante (17).

## Conclusion

L'action sur le lait de l'extrait des écorces de l'*Ongokea gore* permet d'obtenir un gel dont l'évolution rappelle celle

obtenue avec des extraits coagulants classiques: *Endothia parasitica*, pepsines bovine et porcine, présure, *Mucor pusillus*. Pour toute chose égale, le raffermissement du caillé obtenu à l'aide des extraits des écorces de l'*Ongokea gore* est plus lent que celui obtenu avec *Endothia parasitica*, la pepsine bovine, présure et *Mucor pusillus* mais il est plus rapide que celui obtenu avec de la pepsine porcine. Tout comme pour la présure, l'effet du pH est peu marqué sur la vitesse du raffermissement du caillé obtenu avec les extraits des écorces de l'*Ongokea gore* et l'augmentation de la matière sèche du lait conduit à une diminution de la vitesse de raffermissement de ce caillé.

## Remerciements

L'auteur remercie T. Ngo Bôm Kônde et C.G. Libouga pour la fourniture gracieuse des écorces de l'*Ongokea gore*, L. Vassal et J.C. Collin pour la mise à sa disposition du formagraph, Dr. A.L. Ebangi, R.G. Beka et V. Guima pour l'analyse statistique.

## Références bibliographiques

- Andrén A. & Reedtz Von C., 1990, Effects of chromatographically pure bovine chymosin and pepsin A on curd firmness. J. Dairy Res. 57, 109-117.
- Anifantakis E. & Green M.L., 1980, Preparation and properties of rennets from lamb's and kid's abomasa. J. Dairy Res. 47, 221-230.
- Aworh O.C. & Muller H.G., 1987, Cheese making properties of vegetable rennet from Sodom apples (*Calotropis procera*). Food Chem. 26, 71-79.
- Berridge N.J., 1952, An improved method of observing the clotting of milk containing rennin. J. Dairy Res. 9, 328-329.
- Carlson A., 1985, Kinetics of gel forming in enzyme coagulated milk. Biotechnol. Prog. 1, 46-52.
- Ernstron C.A. & Wongt N.P., 1983, Milk-clotting enzymes and cheese chemistry in: Fundamentals of Dairy Chemistry, Webb B.H., Johnson A. & Alford J.A. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut pp. 662-718.
- Esteves C.L., Lucev J.A., Wang T. & Pires E.M., 2003, Effect of pH on the gelation properties of skim milk gels made from plant coagulants and chymosin. J. Dairy Sci. 86, 2558-2567.
- Fantuz E., Polidori F., Cheli F. & Baldi A., 2001, Plasminogen activation system in goat milk an its relation with composition and coagulation properties. J. Dairy Sci. 84, 1786-1790.
- Farah Z. & Bachmann M.R., 1987, Coagulation properties of camel milk. Milchwissenschaft, 42, 689-692.
- Letouzey R., 1968, Les botanistes au Cameroun. Laboratoire de phanérogamie. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France p. 79.
- Libouga D.G., Womeni H.M. & Bitjoka L., 2002, Extrait des écorces de l'*Ongokea gore*: protéolyse et conservation. J. Cam. Acad. Sci. 2, 96-106.
- Libouga D.G., 2003, Quelques caractéristiques physico-chimiques de l'extrait des écorces de l'*Ongokea gore*. J. Cam. Acad. Sci. 3, 177-183.
- Libouga D.G., Womeni H.M., Mbofung C.M.F., 2004, A milk clotting agent from *Ongokea gore* tree Trop. Sci. 44, 101-104.
- Libouga D.G., 2004, Edibility of cheese manufactured using *Ongokea gore* extract. Trop. Sci. 44, 180-183.
- Llorente B.E., Brutti C.B. & Caffini N.O., 2004, Purification and characterization of a milk-clotting aspartic proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). J. Agric. Food Chem. 52, 8182-8189.
- Mariani B.P., Summer A., Di Gregorio P.D., Randoe A., Fossa E. & Pecorari M., 2001, Effects of the CSN1(G) allele on the clotting time of cow milk and on the rheological properties of rennet-curd. J. Dairy Res. 68, 63-70.
- McMahon D.J. & Brown R.J., 1982, Evaluation of formagraph for comparing rennet solutions. J. Dairy Sci. 65, 1639-1642.
- Otani H., Matsumori M. & Hosona A., 1991, Purification and some properties of a milk clotting protease from young seeds of *Albizia julibrissin*. Anim. Sci. Technol. 62, 424-432.
- Payens T.A., 1984, The relationship between milk concentration and rennet coagulating time. J. Appl. Biochem. 6, 232-239.
- Pintado A.I., Macedo A.C., Teixeira G., Pais M.S., Clemente A. & Malcata F.X., 2001, Caseinolytic activity of fruit extract from *Opuntia ficus-indica* on bovine, caprine, and ovine sodium caseinates. Biotechnol. Prog. 17, 643-646.
- Ramet J.P., Alais C. & Weber F., 1969, Etude d'un enzyme coagulant microbien dérivé de *Endothia parasitica*. II Fabrications expérimentales des fromages à pâte molle et à pâte cuite. Lait, 49, 40-52.
- Ramet J. P., 1987, Use of bovine calf rennet to coagulate raw camel milk. World Anim. Rev. 61, 11-16.
- Robitaille G., Kwet Fane Ng-Kwai-Hang & Monardes H.G., 1993, Effect of κ-casein glycosylation on cheese yielding capacity and coagulating properties of milk. Food Res. Internat. 26, 365-369.
- SAS Institute Inc. SAS®, 1985, User's Guide: Statistics, Version- 5 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sidrach L., Garcia-Canovas F., Tudela J. & Rodriguez-Lopez J.N., 2005, Purification of cynarases from artichoke (*Cynara scolymus* L.): enzymatic properties of cynarase A. Phytochemistry, 66, 41-49.
- Storry J.E. & Ford G.D., 1982, Some factors affecting the post clotting development of coagulum strength in renneted milk. J. Dairy Res. 49, 469-477.
- Vairo-Cavalli S., Claver S., Priolo N. & Natalucci C., 2005, Extraction and partial characterization of a coagulant preparation from *Silybum marianum* flowers. Its action on bovin caseinate. J. Dairy Res. 72, 271-275.
- Villiers J.F., 1973, Icacinacées, Olacacées, Pentadiplandracées, Opiliacées, Octoknémacées. Vol. 15 La flore du Cameroun. Laboratoire de Phanérogamie Muséum National d'Histoire Naturelle, France, pp.159-162.
- Yiadom-Farkye N.A., 1987, Role of chymosin and porcine pepsin in Cheddar cheese ripening. Diss. Abstr. Intern., B. (Sciences and Engineering), 47, 4367.
- Yousif Bashir H., McMahon D.J. & Shammeth Khilid M., 1996, Milk clotting enzyme from *Solanum dubium* plant. Int. Dairy J. 6, 637-644.

D.G. Libouga, Camerounais, Licence de biochimie, DESS de laiterie, DEA Diplôme d'Etudes Approfondies, Doctorat unique, Enseignant à l'Université de N'gaoundéré, Chargé de Cours à l'Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro Industrielles, Université de N'gaoundéré, B.P. 455 N'Gaoundéré, Cameroun.