



**HAL**  
open science

# Production d'ingrédients laitiers fonctionnalisés par des microorganismes producteurs de composés antifongiques

Lucille Garnier

## ► To cite this version:

Lucille Garnier. Production d'ingrédients laitiers fonctionnalisés par des microorganismes producteurs de composés antifongiques. Microbiologie et Parasitologie. Université de Bretagne Occidentale, 2017. Français. NNT: . tel-02789211

**HAL Id: tel-02789211**

**<https://hal.inrae.fr/tel-02789211v1>**

Submitted on 5 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Table des matières

<i>Liste des abréviations</i> .....	1
<i>Introduction générale</i> .....	3
<i>Synthèse bibliographique</i> .....	7
<b>I. La filière laitière au Niger</b> .....	<b>6</b>
1. Cartographie de l'élevage au Niger .....	6
2. Caractéristiques de la production laitière .....	7
2.1. Le cheptel .....	7
2.2. Les systèmes de production .....	8
2.3. La production laitière .....	9
3. Les acteurs de la filière .....	11
3.1. Les producteurs .....	11
3.2. Les collecteurs .....	12
3.3. Les transformateurs .....	12
3.4. Les distributeurs .....	12
3.5. Les consommateurs .....	12
4. Les produits laitiers locaux .....	13
4.1. Les produits laitiers artisanaux .....	13
4.2. Les produits laitiers « modernes » .....	14
<b>II. Le lait et la coagulation fromagère</b> .....	<b>15</b>
1. Le lait .....	15
1.1. Définition .....	15
1.2. Caractéristiques physiques .....	15
1.3. Composition biochimique .....	15
1.3.1. Les protéines du lait .....	16
1.3.1.1. Les protéines sériques .....	16
1.3.1.2. La micelle de caséine .....	17
1.3.2. Les lipides .....	21
1.3.3. Le lactose .....	23
1.3.4. Les sels minéraux .....	24
2. Les coagulations fromagères .....	25
2.1. La coagulation acide .....	25
2.2. La coagulation enzymatique .....	26
3. Quelques éléments de rappel sur la technologie fromagère .....	29
3.1. Préparation du lait de fromagerie .....	29
3.2. Aspects technologiques de la coagulation fromagère .....	30
3.3. L'égouttage .....	31
<b>III. Les coagulants végétaux</b> .....	<b>32</b>
1. Diversité des coagulants végétaux .....	32
2. Le <i>Calotropis procera</i> .....	34
3. Le fromage « wagashi » .....	36
3.1. Aspects socio-culturels .....	37
3.2. Procédé de fabrication .....	38
3.3. Composition globale .....	39
3.4. Aspects microbiologiques .....	40
3.5. Les protéases .....	41

<b>Objectifs et stratégie</b> .....	<b>43</b>
<b>Matériels et Méthodes</b> .....	<b>56</b>
<b>I. Collecte et traitements statistiques des données de terrain (Partie 1)</b> .....	<b>43</b>
I.1. Collecte de données .....	43
I.1.1. Choix du terrain d'enquête.....	43
I.1.2. Réalisation des enquêtes .....	52
I.2. Formatage des données .....	53
I.2.1. Transformation préalable de certaines variables.....	53
I.2.2. Format final des jeux de données.....	53
I.3. Analyse statistiques des données .....	54
I.3.1. Analyse préliminaire de la composition de l'échantillon.....	54
I.3.2. Etude du lien entre le type de site et les autres variables .....	54
I.3.3. Création de typologies ou clusters .....	56
I.3.4. Analyses complémentaires.....	57
<b>II. Matières premières (Partie 2)</b> .....	<b>57</b>
1. Laits cru, pasteurisé, UHT et poudre de lait écrémé low heat.....	57
2. Matière grasse laitière anhydre.....	58
3. Crème .....	58
4. Présure .....	58
5. Feuilles de <i>Calotropis procera</i> .....	59
<b>III. Préparation des matières premières et produits</b> .....	<b>59</b>
1. Détermination des conditions optimales d'utilisation du coagulant végétal .....	59
1.1. Type de lait et dose de coagulant .....	59
1.2. Température de coagulation .....	60
1.3. pH.....	60
1.4. Concentration en calcium.....	60
1.5. "Evaluation sensorielle" .....	60
2. Préparation des laits de fabrication .....	61
3. Extraction du coagulant.....	63
4. Fabrication des caillés .....	63
<b>IV. Analyses des matières premières et produits</b> .....	<b>64</b>
1. Caractérisation biochimique et physico-chimique .....	64
1.1. Mesure du pH.....	64
1.2. Détermination de l'extrait sec total .....	70
1.3. Détermination des cendres .....	65
1.4. Dosage des cations .....	66
1.5. Dosage de la matière azotée totale et des fractions azotées .....	66
1.5.1. Matière azotée totale.....	71
1.5.2. Azote non caséinique.....	71
1.5.3. Azote non protéique.....	72
1.6. Dosages de la matière grasse.....	67
1.7. Distribution de taille des globules gras .....	73
1.8. Bilan matière, rendements de fabrication et coefficients de récupération de matière .....	68
1.9. Analyse des peptides du lactosérum.....	69
2. Microscopies .....	71
2.1. Microscopie électronique à balayage .....	71
2.2. Microscopie confocale .....	72
3. Analyse de la texture des caillés.....	73
4. Traitement statistique des données expérimentales.....	74

## **Résultats et discussion**

### ***1<sup>ère</sup> partie. Etude préliminaire de la filière laitière au Niger: cas de la région de Maradi***

#### ***Chapitre I. Caractérisation des systèmes de production et de transformation laitière dans la région de Maradi.....75***

##### **I. Introduction..... 75**

##### **II. Caractérisation des systèmes de production laitière ..... 75**

1. Caractéristiques socio-économiques des producteurs ..... 77
  - 1.1. Genre ..... 77
  - 1.2. Niveau d'instruction et appartenance ethnique ..... 77
  - 1.3. Activités associées..... 78
  - 1.4. Modes d'acquisition des troupeaux ..... 78
2. Caractéristiques des élevages laitiers ..... 78
  - 2.1. Types d'élevage..... 78
  - 2.2. Caractérisation zootechnique des élevages..... 78
  - 2.3. Choix des sites d'exploitation par les éleveurs..... 80
  - 2.4. Gestion de la ressource lait dans les exploitations ..... 80
  - 2.5. Alimentation des vaches laitières ..... 81
3. Contraintes de l'activité..... 82
4. Caractérisation des types de site..... 83
5. Caractérisation des pratiques d'élevage selon l'appartenance ethnique des éleveurs ..... 84
6. Typologie des exploitations..... 85

##### **III. Caractérisation des unités de transformation du lait ..... 89**

1. Caractéristiques socio-économiques des transformateurs ..... 89
  - 1.1. Genre ..... 89
  - 1.2. Age et niveau d'instruction ..... 90
2. Caractérisation de l'activité de transformation..... 90
3. Etude des activités de transformation en fonction du site d'implantation..... 92
4. Typologie de transformateurs..... 93
5. Perspectives des unités de transformation ..... 98

##### **IV. Conclusion du Chapitre I..... 99**

#### ***Chapite II. Caractérisation des systèmes de distribution et étude des déterminants de la consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi.....101***

##### **I. Introduction..... 101**

##### **II. Caractérisation des systèmes de distribution..... 102**

1. Caractéristiques socio-économiques des distributeurs ..... 102
  - 1.1. Genre et niveau d'instruction ..... 102
  - 1.2. Appartenance ethnique et critères d'âges ..... 103
2. Caractérisation de l'activité de distribution..... 104
  - 2.1. Points de vente..... 104
  - 2.2. Modes d'acquisition des produits..... 105
  - 2.3. Raison du choix de l'activité de distribution ..... 105
  - 2.4. Problèmes rencontrés ..... 106
3. Variabilité des prix de vente des produits laitiers locaux et artisanaux..... 107
4. Caractérisation de l'activité de distribution en fonction du genre..... 108
5. Typologie de distributeurs..... 117

<b>III. Consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi.....</b>	<b>113</b>
1. Caractéristiques socio-économiques des consommateurs .....	113
1.1. Genre et appartenance ethnique.....	113
1.2. Niveaux d'instruction et activités professionnelles.....	114
2. Produits consommés et fréquences de consommation .....	114
3. Habitudes de consommation .....	115
4. Facteurs influençant les décisions d'achat et de consommation .....	116
5. Déterminants de la consommation .....	118
5.1. Activité professionnelle (pouvoir d'achat).....	118
5.2. Statut matrimonial .....	119
5.3. Age .....	120
6. Typologies de consommateurs .....	120
<b>IV. Conclusion du Chapitre II.....</b>	<b>124</b>

*2<sup>ème</sup> Partie. Etude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de Calotropis procera*

<i>Chapitre I. Optimisation des conditions physico-chimiques d'utilisation de l'extrait coagulant de Calotropis procera.....</i>	<b>127</b>
--	------------

<b>I. Introduction.....</b>	<b>127</b>
-----------------------------	------------

<b>II. Détermination des conditions optimales de coagulation.....</b>	<b>128</b>
---	------------

1. Détermination du type de lait et de la dose de coagulant .....	128
2. Détermination de la température optimale .....	130
3. Détermination du pH optimal.....	131
4. Détermination de la concentration optimale en calcium .....	133
5. Evaluation sensorielle.....	134
6. Fabrications et bilans matière.....	134
6.1. Caractérisation physico-chimiques des caillés et lactosérums .....	135
6.2. Bilan matière .....	136
6.3. Rendements de fabrication et coefficients de récupération .....	136

<b>III. Conclusion du Chapitre I.....</b>	<b>138</b>
---	------------

<i>Chapitre II. Etude de la protéolyse, des rendements de fabrication et des caractéristiques biochimiques et microstructurales des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de Calotropis procera en comparaison avec une fabrication présure .....</i>	<b>140</b>
--	------------

<b>I. Introduction.....</b>	<b>140</b>
-----------------------------	------------

<b>II. Comparaison des caractéristiques physico-chimiques et des rendements de fabrication .....</b>	<b>141</b>
--	------------

1. Caractéristiques physico-chimiques des caillés et lactosérums.....	141
2. Rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers.....	145

<b>III. Activité protéolytique de l'extrait de Calotropis procera en comparaison avec celle de la chymosine .....</b>	<b>145</b>
---	------------

<b>IV. Analyse de la microstructure des caillés.....</b>	<b>151</b>
--	------------

<b>V. Conclusion du Chapitre II.....</b>	<b>152</b>
--	------------

<i>Chapitre III. Impact de la structure de la matière grasse sur les rendements de fabrication, la microstructure et la texture des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de Calotropis procera.....</i>	<b>154</b>
---	------------

<b>I. Introduction.....</b>	<b>154</b>
<b>II. Caractérisation des laits de fabrication.....</b>	<b>155</b>
1. Caractérisation physico-chimique .....	155
2. Distribution de taille des globules gras .....	156
3. Observation microscopique des laits .....	157
<b>III. Fabrication des caillés .....</b>	<b>158</b>
1. Temps de prise .....	158
2. Evolution des teneurs en extrait sec des caillés au cours du pressage.....	159
3. Caractérisation physico-chimique des caillés et lactosérums.....	160
4. Bilan matière .....	162
5. Rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers.....	162
6. Observation microscopique des caillés et lactosérums .....	164
7. Caractéristiques texturales des caillés .....	166
<b>IV. Conclusion .....</b>	<b>167</b>
<i>Conclusion générale et perspectives .....</i>	<i>169</i>
<i>Références bibliographiques.....</i>	<i>179</i>
<i>Annexes.....</i>	<i>207</i>



---

## Liste des abréviations

---

ACM	Analyse en correspondance multiple
ACP	Analyse des composantes principales
AREN	Association pour la redynamisation de l'élevage au Niger
AFNOR	Association française de normalisation
CAH	Classification ascendant hiérarchique
CH	Crème homogénéisée
CIRAD	Centre internationale en recherche agronomique pour le développement
CMP	Caséino-macro peptide
CNH	Crème non homogénéisée
Cr	Coefficient de récupération
CSLM	Confocal scanning laser microscopy
Dim	Dimension
EDTA	Acétylène diamine tétra acétique
ESD	Extrait sec dégraissé
EST	Extrait sec total
FCFA	Franc de la communauté financière africaine
GDL	Glucono-delta lactone
GPS	Système de géo-positionnement par satellite
HFD	Humidité du fromage dégraissé
IDF	Fédération internationale de produits laitiers
INS	Institut national de la statistique (Niger)
MAT	Matière azotée totale
Max	Maximum
MEB	Microscopie électronique à balayage
MG	Matière grasse
MGLA	Matière grasse laitière anhydre
Min	Minimum
Moy	Moyenne
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
NCN	Azote non caséinique
NPN	Azote non protéique
PAPPSO	Plateforme d'analyse protéine de Paris Sud-Ouest
PIB	Produit industriel brut
PPCN	Phospho-caséinate natif
Rb	Rendement brut
Rc	Rendement corrigé
RET	Relative transmission
RP-HPLC	Chromatographie liquide haute performance en phase inverse
SDS	Sodium dodécyl-sulfate
SOLANI	Société laitière du Niger
TB	Taux butyrique
TP	Taux protéique



TPA	Analyse de profil de texture
UFC	Unité formant colonie
UHT	Ultra haute température
v/v	volume/volume
WPNI	Indice de dénaturation des protéines du lactosérum

---

## Introduction générale

---

Le Niger est un pays continental marqué par l'agropastoralisme. Situé en Afrique au Sud du Sahara, il s'étend sur une superficie de 1 267 000 Km<sup>2</sup>. L'élevage est pratiqué par près de 87% de la population nigérienne et contribue à hauteur de 11% au PIB national, et 35% au PIB agricole (Ministère de l'élevage, 2013). Les cheptels sont hétérogènes car à la fois constitués de camelins, de bovins, d'ovins et de caprins. La filière laitière s'organise majoritairement autour des troupeaux de bovins. Le lait fournit par la traite des vaches laitières est essentiellement transformé en produits artisanaux tels que le lait caillé, le beurre fondu et le fromage « Tchoukou ». Les laiteries locales ont plutôt recours à la poudre de lait importée qu'elles transforment en lait pasteurisé, yaourt nature ou aromatisé, dégué et crème glacée.

A côté du Tchoukou, fromage séché bien connu et apprécié des populations locales, on retrouve sur les marchés des grandes villes du pays, le « wagashi », qui est un fromage frais, essentiellement fabriqué dans les pays voisins du Niger (Bénin, Nigéria, Togo). Le wagashi est un fromage obtenu par coagulation du lait de vache avec un extrait de feuilles de l'arbuste *Calotropis procera* Ait. (Aiton, 1789). Il est fabriqué selon un savoir-faire traditionnel, maîtrisé par les femmes Peulhs. Il entre dans la composition de beaucoup de plats traditionnels et est très apprécié des populations des zones de production, aussi bien en milieu urbain qu'en milieu rural. Quelques travaux se sont intéressés au procédé de fabrication du wagashi (Farid et al. 2007; Oseni & Ekperigin, 2013<sup>(a)</sup>), à ses caractéristiques physico-chimiques et sa qualité microbiologique (Belewu, 2001 ; Adetunji & Salawu, 2008 ; Lawal & Adedeji, 2013 ; Oladipo & Jadesemi, 2013), mais aussi à la purification et la caractérisation des enzymes coagulantes présentes dans l'extrait de *Calotropis procera*, utilisé pour la fabrication de ce fromage (Aworh et al., 1994 ; Freitas et al, 2007 ; Singh & Dubey, 2011 ; Singh et al., 2010 ; Singh et al., 2013 ; Oseni & Ekperigin, 2013<sup>(a)</sup> ; Ramos et al., 2013).

L'analyse de la filière laitière dans la région de Maradi au Niger et la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* sont les principaux axes sur lesquels nous avons mené nos travaux. Les objectifs de la thèse étaient dans un 1<sup>er</sup> temps de collecter des informations sur la production, la transformation, la distribution et la consommation du lait et des produits laitiers dans la région de Maradi. L'enjeu de ce travail était de décrire la filière laitière dans une ville secondaire du Niger afin de faciliter l'orientation des interventions et stratégies en matière d'élevage laitier et de transformation du lait par les politiques du pays.

La 2<sup>ème</sup> partie de la thèse s'est intéressée au procédé de fabrication du fromage wagashi, aux propriétés coagulantes de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et aux caractéristiques biochimiques, microstructurales et texturales des caillés obtenus.

Pourquoi le Wagashi ? Ce fromage, habituellement en provenance du Bénin, est très prisé dans les grandes villes du Niger (Niamey, Dosso) où il est consommé frit ou associé à diverses préparations culinaires. Au vu de la bonne appréciation du wagashi par les consommateurs urbains, et de la portée que peuvent avoir les résultats des travaux réalisés sur ce fromage (tous les pays producteurs de l'Afrique de l'Ouest et éventuellement le Niger), la 2<sup>ème</sup> partie de la thèse a donc porté sur l'étude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et l'aspect technologique de la fabrication.

Ainsi, les objectifs de cette partie étaient :

- ✓ de déterminer les conditions optimales de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et mettre au point un itinéraire technologique permettant de fabriquer de façon reproductible, un caillé fromager en utilisant l'extrait de *Calotropis procera* comme coagulant tout en faisant un bilan de matière ;
- ✓ d'étudier l'activité coagulante de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en comparaison avec celle de la chymosine, et de comparer la composition biochimique et la microstructure des caillés correspondants;
- ✓ d'étudier l'impact de la matière grasse, en faisant varier sa structure, sur le bilan matière après fabrication et sur les caractéristiques biochimique, microstructurale et texturale des caillés obtenus.

Le manuscrit est divisé en 4 grandes parties.

La 1<sup>ère</sup> partie est consacrée à la revue de la littérature qui présente dans un premier temps, un tour d'horizon des connaissances sur le contexte de l'élevage et de la filière laitière au Niger. Cette partie rappelle également les connaissances sur le lait et la coagulation du lait en fromagerie et sur l'activité coagulante des extraits végétaux en général et du *Calotropis procera* en particulier.

Dans la 2<sup>nde</sup> partie du manuscrit, nous présentons les stratégies expérimentales développées et les méthodes d'analyses appliquées aux données collectées sur le terrain (1<sup>ère</sup>

partie de l'étude) et aux échantillons de laits et caillés/lactosérums obtenus après coagulation du lait (2<sup>ème</sup> partie de l'étude).

La 3<sup>ème</sup> partie du manuscrit est consacrée à la présentation et à la discussion des résultats obtenus à travers les différentes expérimentations et analyses. Elle est subdivisée en 2 parties présentant:

- (1) les résultats des analyses statistiques réalisées sur les jeux de données recueillies suite aux enquêtes par questionnaire sur les aspects de production, transformation, distribution et consommation du lait et des produits laitiers dans la région de Maradi,**
- (2) les résultats expérimentaux et discussion sur (i) l'étude des conditions optimales de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, (ii) l'étude de la protéolyse et des caractéristiques biochimiques et microstructurales des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en comparaison avec des caillés présure et (iii) l'étude de l'impact de différentes structures de matière grasse laitière sur les bilans matière, les caractéristiques biochimiques, microstructurales et texturales des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*.**

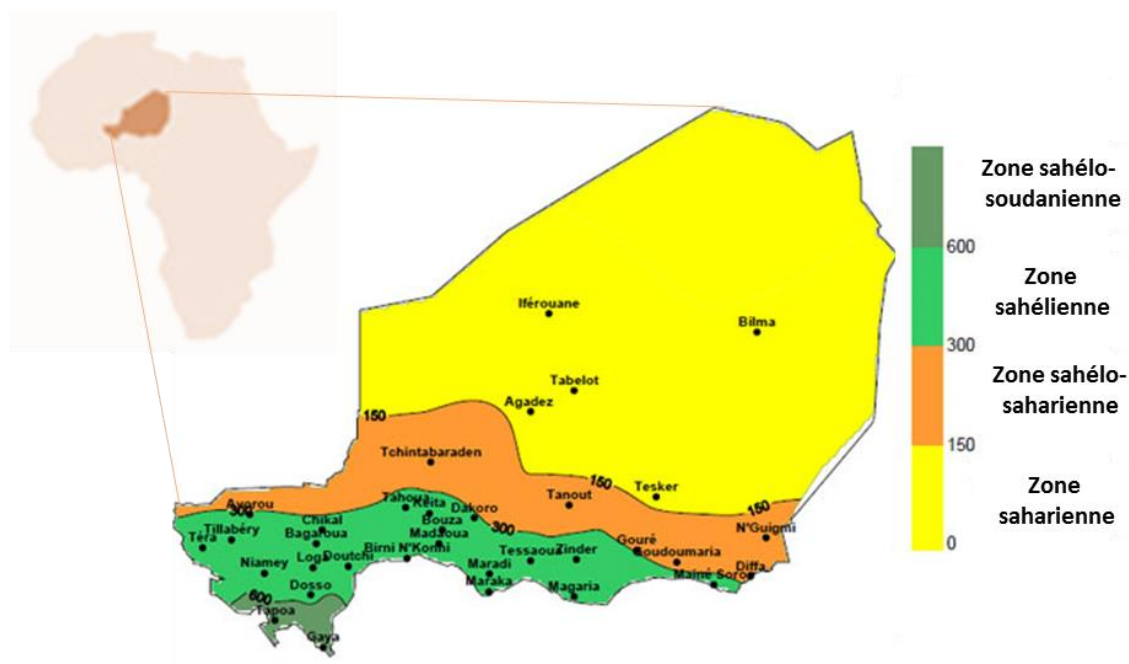
La 4<sup>ème</sup> partie du manuscrit comporte la conclusion générale, l'autocritique et les perspectives de ce travail.

Les références bibliographiques, les annexes et les différentes formes de valorisation du travail sont présentées à la fin du manuscrit.

### I. La filière laitière au Niger

#### 1. Cartographie de l'élevage au Niger

Le Niger est un pays continental à vocation agro-pastorale. Le secteur primaire du pays est dominé par l'agriculture et l'élevage. L'élevage est pratiqué par près de 87 % de la population, soit en tant que principale activité génératrice de revenu, soit comme activité secondaire associée à l'agriculture (Ministère de l'élevage 2013 ; 2014). Il est crédité d'une contribution de 11 % au Produit Industriel Brut (PIB) national et ses produits constituent la 2<sup>nd</sup>e ressource exportée par le pays après l'uranium (Marichatou et al., 2005). Comme dans beaucoup de pays du Sahel, l'élevage au Niger est conditionné par la disponibilité du pâturage et de l'eau. La composition des troupeaux, la sélection des races animales et la conduite de l'élevage répondent aux contraintes climatiques des zones agro-écologiques (**Figure 1**). Malgré le caractère transhumant de l'activité, 4 zones se distinguent par la prédominance de certains animaux.



*Figure 1. Zones agropastorales du Niger (Ministère de l'élevage, 2014).*

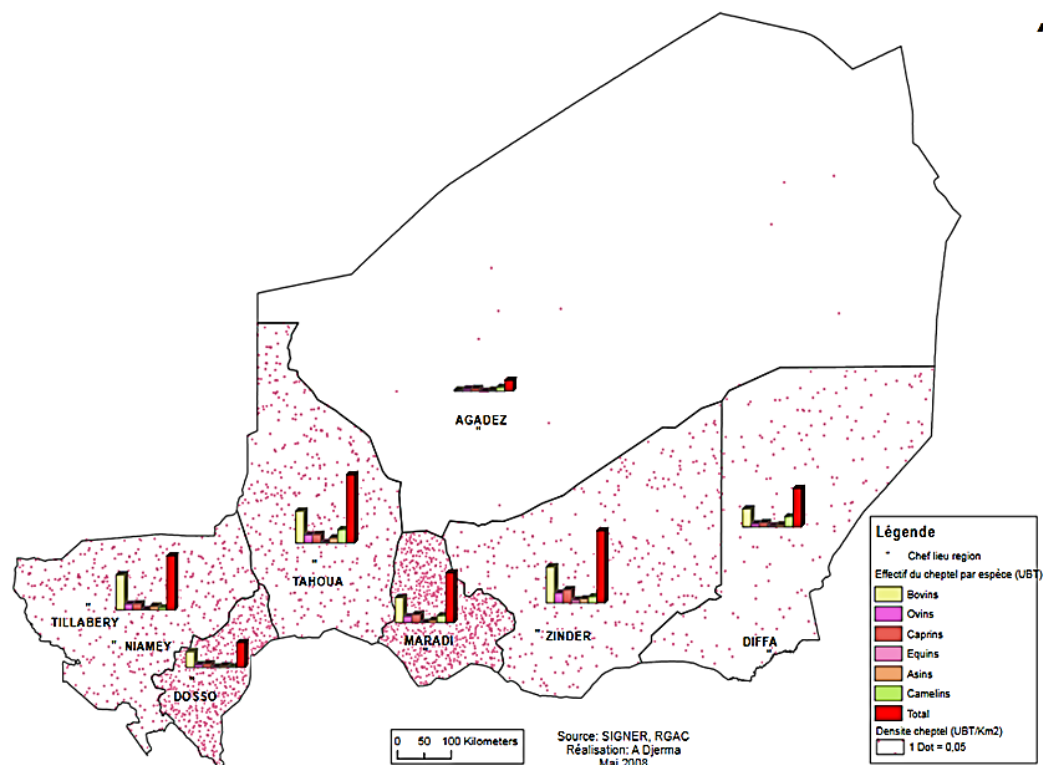
- La zone saharienne ou zone désertique, qui couvre 68 % du pays, avec des hauteurs pluviométriques allant de 0 à 150 mm/an, est la zone privilégiée des camelins et des caprins ;

- La zone sahélo-saharienne est la zone pastorale par excellence. Elle couvre environ 12 % du pays avec des hauteurs pluviométriques comprises entre 150 et 300 mm/an. On y trouve des troupeaux mixtes de bovins, d'ovins mais aussi des caprins et des camelins ;
- La zone sahélienne, comprise entre les isohyètes 300 et 600 mm, occupe 22 % du territoire. C'est la zone agricole par excellence mais on y trouve également l'ensemble des animaux ;
- La zone sahélo-soudanienne qui occupe 1% du pays reçoit entre 600 et 800 mm d'eau par an. On y trouve l'ensemble des animaux mais peu de camelins.

## 2. Caractéristiques de la production laitière

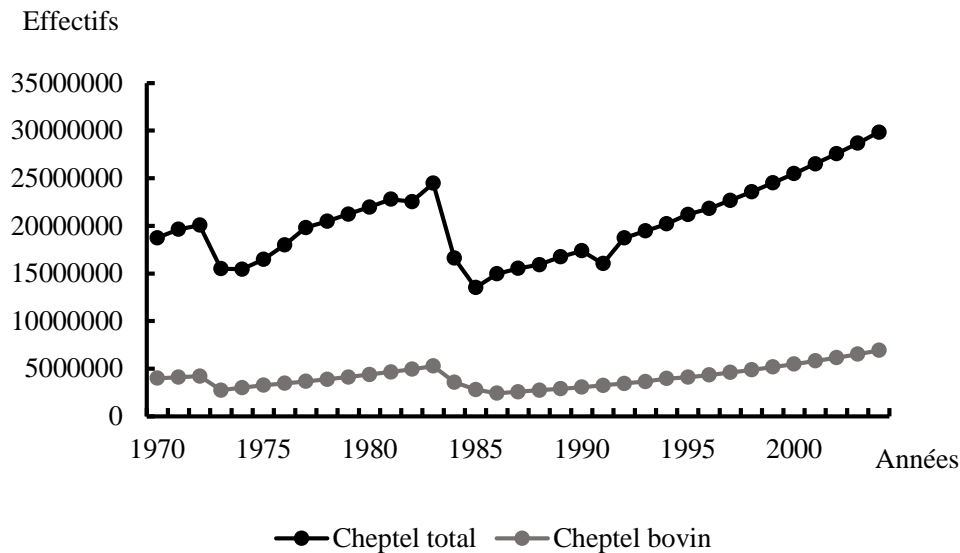
### 2.1. Le cheptel

Le dernier recensement du cheptel effectué par le Ministère de l'élevage (2010) a estimé son effectif à plus de 37 millions de têtes d'animaux, toutes espèces confondues. La composition du cheptel est constamment modifiée par les aléas et chocs climatiques (sécheresse, feux de brousse, désertification) que connaît le pays de manière récurrente. Le cheptel est très hétérogène, constitué à la fois de camelins, de bovins, d'ovins, de caprins, d'asins et d'équins (Marichatou et al., 2005 ; Vias & Banzhaf, 2008) (**Figure 2**).



**Figure 2.** Composition et répartition spatiale du cheptel au Niger (Vias & Banzhaf, 2008).

Le cheptel bovin est constitué de 5 principales races qui contribuent à la production laitière du pays : la race *Azaouak*, la race *Bororo*, la race *Djelli*, la race *Goudali* et la race *Kouri*. La **Figure 3** présente l'évolution de l'effectif du cheptel de 1970 à 2015 au Niger.



**Figure 3.** Evolution de l'effectif du cheptel total et du cheptel bovin au Niger (Ministère de l'élevage, 2013-2014).

## 2.2. Les systèmes de production

Un système de production animale est constitué d'un ensemble d'exploitations qui présentent des similarités au niveau de leurs ressources animales, leurs organisations, leurs fonctions de production, leurs contraintes et qui pratiquent l'élevage comme principale activité économique. Il existe une diversité de systèmes d'exploitations laitières au Niger, qui varient en fonction des zones agro-écologiques et du type d'élevage pratiqué. Trois grands systèmes d'exploitation se dégagent :

- Le système pastoral : il s'agit du système traditionnel de grande transhumance, bien connu des éleveurs au Sahel. Dans ce type d'exploitation, les troupeaux, en général de grande taille (700 têtes), passent 6 à 8 mois en transhumance en zone pastorale (zone sahélo-saharienne et zone saharienne). Les pasteurs transhumants ne disposent d'aucun ancrage territorial en zone agricole ou en zone pastorale. Dans ce système, le lait produit est directement consommé par les éleveurs mais faiblement valorisé en raison de l'éloignement des marchés et des consommateurs. Il est en grande partie transformé en produits de longue durée de conservation (beurre clarifié, fromage séché « Tchoukou ») qui sont écoulés sur des marchés de fortune. Souvent, en raison de la faible capacité de

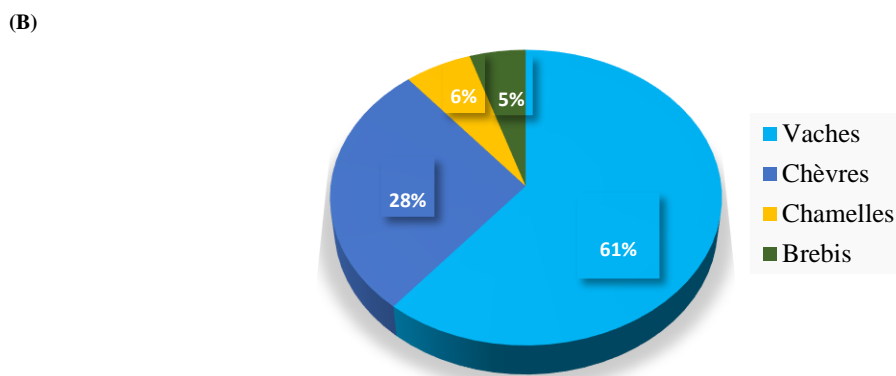
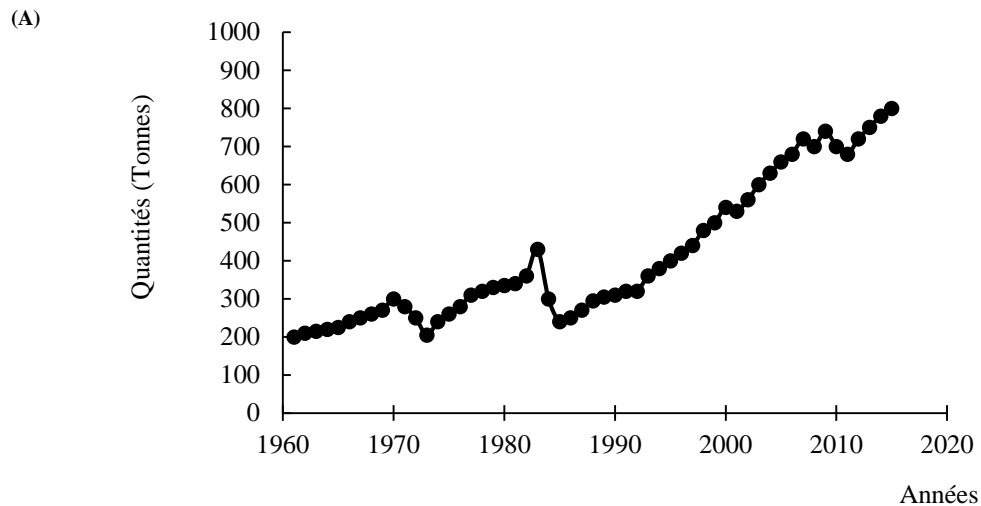
transformation de ces systèmes et de leur précarité, une bonne partie de la production laitière peut être perdue lors des pointes saisonnières de production.

- Le système agro-pastoral : dans ce type d'exploitation, l'élevage est associé à l'agriculture et au commerce. Les animaux jouent un rôle important dans la fertilisation, la traction et l'irrigation des terres cultivables et dans le transport des cultures. Les résidus agricoles sont en retour utilisés pour alimenter le bétail. Ce système d'exploitation est caractérisé par une transhumance moyenne des troupeaux et une sédentarité des femelles laitières et des veaux. Le lait issu de la traite est en majorité transformé en produits artisanaux pour en faciliter la conservation (lait caillé, beurre, fromage) car l'accès quotidien aux marchés n'est pas aisé.
- Les systèmes urbain et périurbain : ce sont les systèmes d'exploitation les plus modernes car imprégnés d'une logique d'exploitation et de rentabilité. Ils existent essentiellement autour des grandes villes, dans un périmètre permettant aux éleveurs d'écouler sans transformation, leur production de lait. Le lait est vendu aux industries de transformation locales ou aux ateliers de collecte situés dans un périmètre proche des campements. La proximité des marchés et la solvabilité des produits entraînent un développement rapide de ce type d'exploitation.

### **2.3. La production laitière**

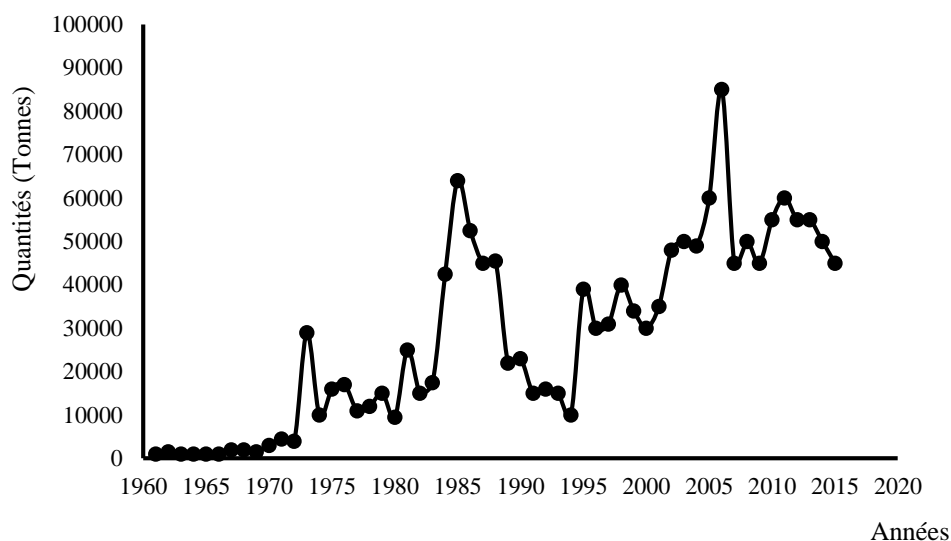
De manière générale, le lait est une denrée alimentaire très appréciée au Niger. Traditionnellement, la consommation de lait frais est une habitude des familles d'éleveurs de la zone pastorale. La productivité en lait des troupeaux est fortement influencée par la disponibilité de l'eau et du pâturage naturel. Le lait est produit dans sa grande majorité par le cheptel bovin, mais les caprins, ovins et camelins contribuent également à la production nationale en lait (**Figure 4B**). La dispersion du bétail sur l'ensemble du territoire, la grande mobilité des troupeaux et le manque de contrôle ne permettent pas de chiffrer, avec précision, la production laitière à l'échelle du pays. Les données présentées dans la **Figure 4A** correspondent à une estimation de la production en lait du pays (en tonnes par an) réalisée à partir de l'effectif du cheptel.





**Figure 4.** Evolution de la production laitière (A) et sa répartition entre les espèces animales (B) au Niger (Ministère de l'élevage, 2014).

La demande urbaine en lait et produits laitiers est en constante augmentation à cause d'un accroissement rapide de la population (3,3 % par an), d'une urbanisation grandissante, et de l'augmentation du pouvoir d'achat de certains groupes (travailleurs du secteur privé, commerçants). La consommation du lait et des produits laitiers est de 30 litres par habitant par an au Niger contre le besoin de 93 litres/habitant/an estimé par les Nations Unies (INS, 2004). Le pays reste donc tributaire des importations de poudre de lait pour satisfaire la demande en lait de la population (**Figure 5**), malgré une augmentation de la production laitière locale au cours de ces dernières décennies (**Figure 4A**). Les importations de lait au Niger, de 1996 à 2006, se sont élevées en moyenne à 37 000 tonnes équivalent lait par an soit en valeur 7,3 milliards de francs CFA (Vias & Benzhaf, 2010). Si la poudre de lait et les produits laitiers importés permettent de répondre à la demande croissante de la population urbaine et à ses exigences gustatives, elle n'occulte aucunement le lait local et ses produits dérivés, très prisés par les nigériens.



**Figure 5.** Evolution des importations en poudre de lait et produits laitiers au Niger (Ministère de l'élevage, 2014). Les périodes de pic d'importation (1974, 1986, 2005) correspondent aux années de crise alimentaire.

### 3. Les acteurs de la filière

La filière laitière du Niger s'organise autour de différents acteurs avec différents niveaux d'implication selon le secteur auquel ils appartiennent (Marichatou et al., 2005).

#### 3.1. Les producteurs

Les producteurs constituent le 1<sup>er</sup> maillon de la filière laitière au Niger. Ils assurent souvent en parallèle de la production, la transformation et la commercialisation des produits laitiers. Selon les systèmes d'exploitation, on distingue les producteurs pastoraux, les producteurs agropastoraux et les producteurs périurbains.

- Les producteurs pastoraux sont peu présents dans l'organisation de la filière laitière du pays à cause de l'éloignement des points de collecte de lait et des unités de transformation. La production laitière de leurs troupeaux est essentiellement autoconsommée et peu transformée.
- Les producteurs agro-pastoraux ravitaillent les marchés ruraux en produits laitiers. Lorsque leurs troupeaux se rapprochent des centres urbains au cours de la descente en zone de culture, ils contribuent également à ravitailler la filière laitière urbaine.
- Les producteurs urbains et périurbains ont fait du commerce du lait, un atout majeur de leur activité. Ils s'installent à proximité des grands centres urbains ou des points de collecte de lait et commercialisent directement leur production laitière.

A ces 3 types de producteurs, s'ajoutent les ranchs (centres de multiplication de bétails) et les stations d'élevage mis en place par les politiques locales pour promouvoir la production laitière du pays.

### **3.2. Les collecteurs**

On les retrouve essentiellement en zones urbaine et périurbaine. Ils assurent la collecte du lait auprès des producteurs éloignés des unités de transformation, sans disposer de moyen de transport efficient. Le transport du lait se fait à bicyclette, à moto ou en voiture en fonction de la capacité du collecteur. Le lait est revendu soit aux unités de transformation soit directement aux consommateurs urbains.

### **3.3. Les transformateurs**

On distingue les transformateurs artisanaux et les transformateurs modernes.

- Les transformateurs artisanaux utilisent aussi bien le lait de vache que les laits de chèvre ou de brebis. Ils fabriquent des produits tels que le lait caillé, le beurre et le fromage sur la base d'un savoir-faire artisanal. En période de faible productivité des animaux, ces transformateurs ont aussi recours à la poudre de lait pour assurer un ravitaillement continu des marchés.
- Les transformateurs modernes : il s'agit des laiteries modernes et des ateliers de transformation appelés « mini-laiteries ». Ces unités transforment principalement le lait de vache et la poudre de lait pour fabriquer des produits frais tels que le lait pasteurisé, le yaourt, le dégué et la crème glacée.

### **3.4. Les distributeurs**

Les distributeurs assurent la liaison entre les transformateurs et les consommateurs. Il peut s'agir de vendeurs fixes ou ambulants, de dépôts de produits laitiers, ou de boutiques de proximité. Cette fonction est aussi assurée par les producteurs et les transformateurs de produits artisanaux.

### **3.5. Les consommateurs**

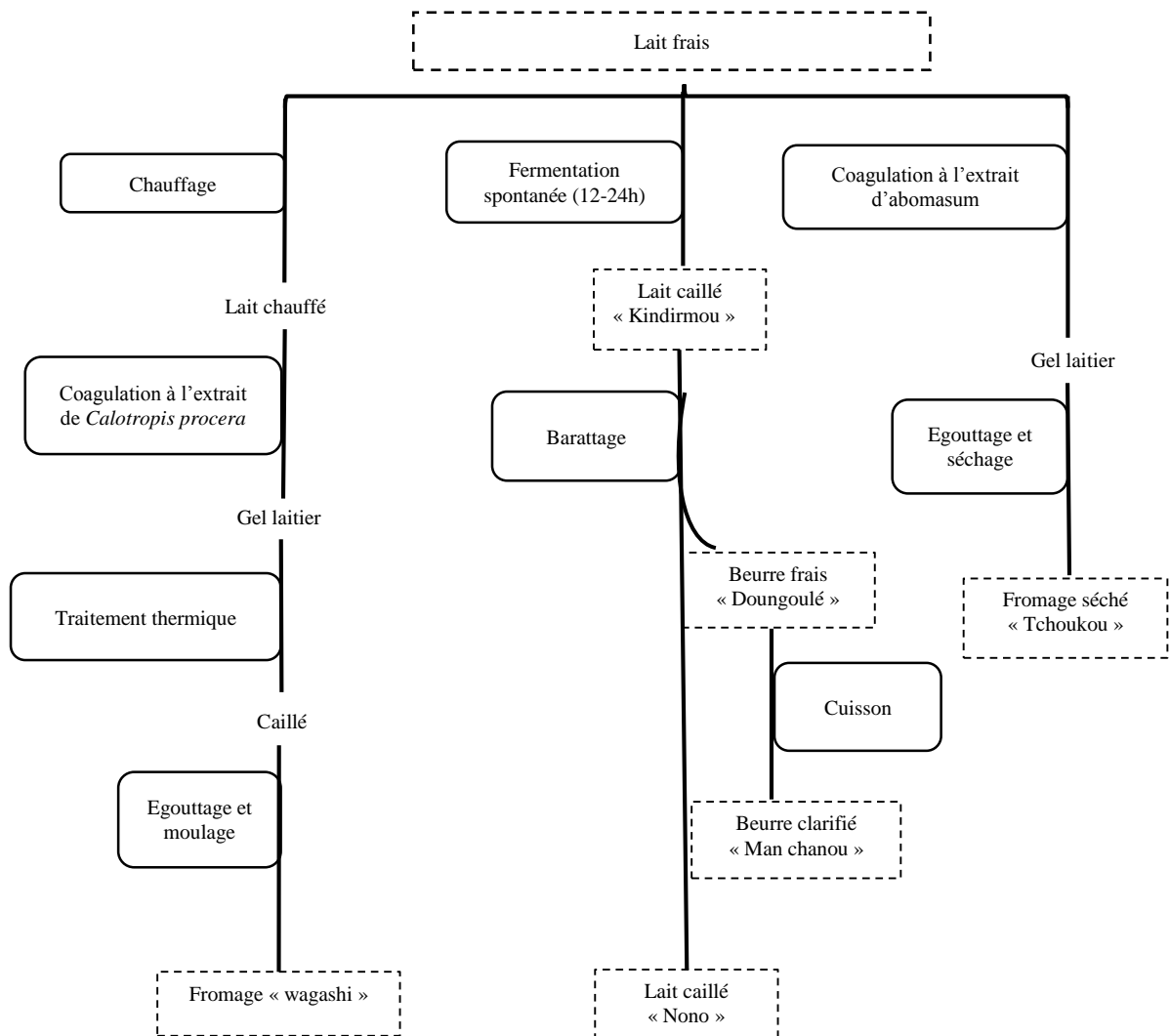
Dans les foyers nigériens, les produits laitiers sont destinés en priorité aux enfants mais aussi consommés par toute la famille lorsqu'ils sont disponibles. Les produits laitiers sont généralement consommés dans des préparations culinaires locales à base de céréales.

#### 4. Les produits laitiers locaux

On distingue 2 types de produits laitiers au Niger : les produits issus de la transformation artisanale du lait local et ceux fabriqués par les unités modernes de transformation.

##### 4.2. Les produits laitiers artisanaux

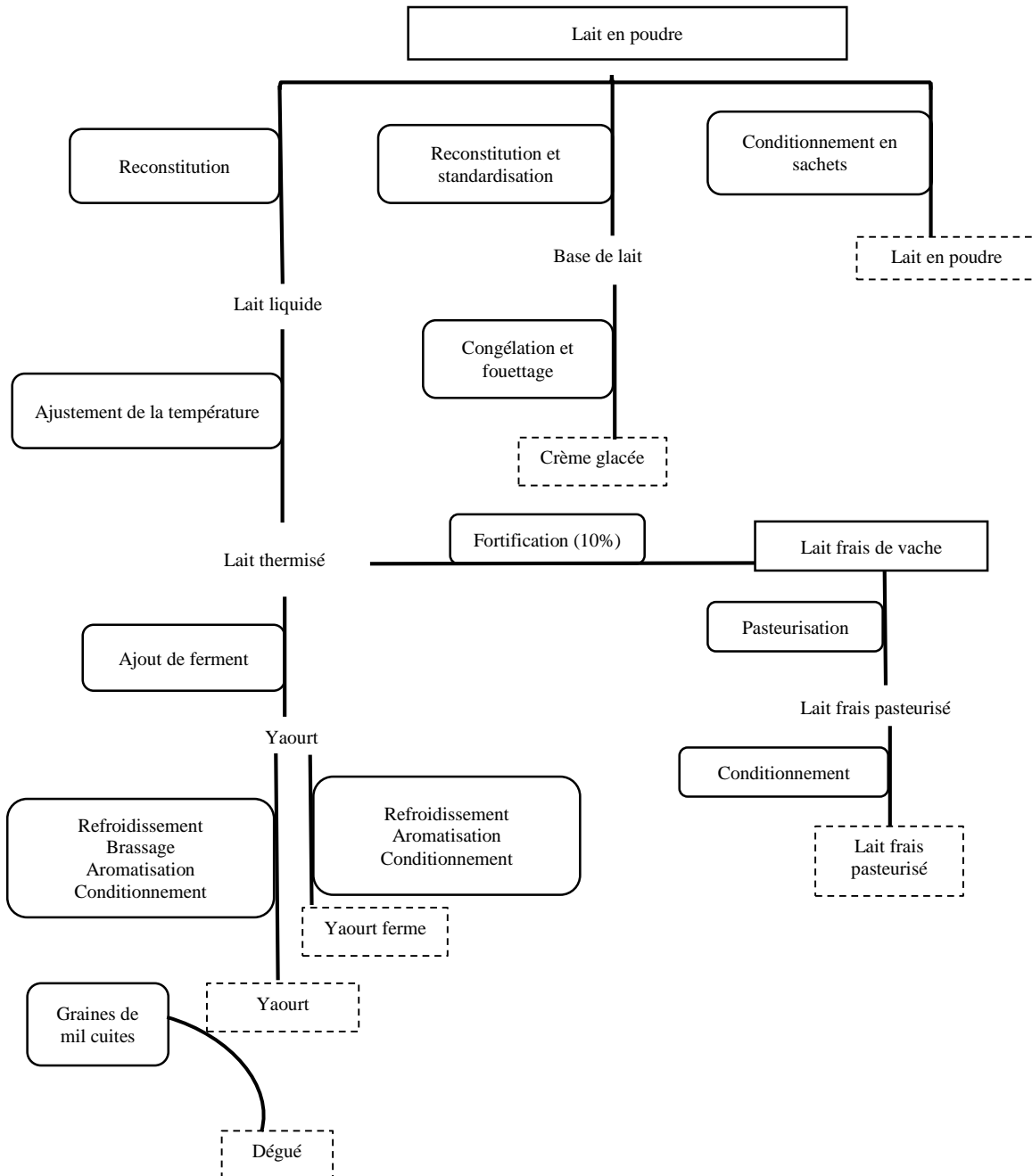
La gestion et la transformation du lait sont des activités traditionnellement menées par les femmes d'éleveurs en Afrique subsaharienne. Certains groupes ethniques tels que les Peuls, les Touaregs, les Arabes et les Toubous possèdent un réel savoir-faire dans la transformation et la conservation des produits laitiers. La **Figure 6** présente différents produits issus de la transformation artisanale du lait au Niger.



**Figure 6.** Diagramme de transformation artisanale du lait au Niger.

## 4.2. Les produits laitiers « modernes »

Les laiteries modernes et semi-modernes (mini-laiteries) transforment principalement de la poudre de lait en produits frais. Elles utilisent le lait local pour fortifier des produits tels que le yaourt (**Figure 7**).



**Figure 7.** Diagramme de transformation « moderne » du lait au Niger.

Dans beaucoup de pays en voie de développement, les méthodes traditionnelles de transformation et de conservation du lait existent et sont encore utilisées car les techniques

modernes sont souvent trop onéreuses et inaccessibles. En Afrique de l'Ouest, la fabrication du fromage wagashi par coagulation du lait de vache avec l'extrait de l'arbuste *Calotropis procera* est un exemple.

## **II. Le lait et la coagulation fromagère**

### **1. Le lait**

#### **1.1. Définition**

Le lait est un liquide biologique produit par les glandes mammaires des mammifères. Le lait est un aliment de premier choix dans l'alimentation de l'homme de par sa teneur équilibrée en protéines, glucides et lipides et son apport en calcium. Selon le dictionnaire Larousse (2017), *le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition de leurs petits*. Le Congrès International de la Répression des Fraudes tenu à Genève en 1908 avait défini le lait comme « *le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum* ».

#### **1.2. Caractéristiques physiques**

Le lait est une émulsion de matière grasse (globules gras) dans une phase aqueuse contenant des éléments solubles (lactose, protéines du lactosérum, vitamines hydrosolubles et sels minéraux) et d'autres sous forme colloïdale (micelles de caséine). Il est de couleur blanchâtre avec une odeur très faible et un goût sucré peu prononcé. Le pH du lait de vache à 25 °C est compris entre 6,5 et 6,7; 6,6 étant la valeur la plus fréquemment rencontrée (McCarthy & Singh, 2009).

La densité du lait entier de vache à 20 °C est de 1029 Kg/m<sup>3</sup>. Cette valeur augmente avec l'extrait sec dégraissé du lait et diminue lorsque la teneur en matière grasse du lait augmente (Fox & McSweeney, 1998 ; Jeantet et al., 2004). Il bout entre 100,15°C et 100,17 °C et se congèle à -0,55 °C (Walstra et al., 2006).

#### **1.3. Composition biochimique**

La composition du lait varie selon les espèces animales (**Tableau 1**) mais aussi selon différents facteurs tels que la race, les stade et nombre de lactation, l'alimentation de l'animal et les facteurs environnementaux tels que le climat et les régions (Walstra & Jenness, 1984 ;

Fox & McSweeney, 1998 ; Yang et al., 2013). Le constituant majeur du lait est l'eau, la matière sèche représente 125 à 130 g/L pour le lait de vache.

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité aussi bien dans la nature que dans la forme de ses constituants. L'eau du lait se présente sous 2 formes : l'eau libre (96%) et l'eau liée aux constituants chimiques du lait (4%).

**Tableau 1.** Composition moyenne et apports énergétiques des laits de vache, chèvre, brebis, chamelle et humain (Fox & McSweeney, 1998 ; Vignola, 2002).

	<b>Eau (%)</b>	<b>Apport énergétique (kcal/100ml)</b>	<b>Protéines (%)</b>	<b>Lipides (%)</b>	<b>Lactose (%)</b>	<b>Calcium (mg/100g)</b>
<b>Vache</b>	87,5	69	3,2	3,6	4,1	122
<b>Chèvre</b>	87,0	70	3,4	3,8	4,7	134
<b>Brebis</b>	81,5	105	6,2	7,9	4,9	193
<b>Chamelle</b>	87,6	-	3,6	3,6	4,7	-
<b>Femme</b>	87,5	68	1,2	4,0	6,9	33

Ces différences dans la composition biochimique des laits s'expliqueraient par les besoins spécifiques des nouveaux nés : les laits plus riches en protéines et en minéraux s'adresseraient plus aux petits dont le développement à la naissance est faible mais la croissance rapide alors que les laits riches en lactose, tels que le lait humain répondraient plus aux besoins liés au développement du cerveau (Cayot & Lorient, 1998).

### **1.3.1. Les protéines du lait**

Les protéines du lait peuvent être subdivisées en 2 groupes : les protéines sériques (ou protéines solubles) et les micelles de caséines qui sont des structures sphériques constituées par des associations de monomères de caséines et de minéraux.

#### **1.3.1.1. Les protéines sériques**

Les protéines sériques représentent approximativement 15 % de l'azote total du lait. Elles ont la particularité de rester solubles à pH 4,6 à 20 °C contrairement aux caséines. Elles peuvent être précipitées par l'acide trichloroacétique à 10 %. Les protéines majeures du lactosérum sont la  $\beta$ -lactoglobuline et l' $\alpha$ -lactalbumine (**Tableau 2**). Elles représentent respectivement 50 et 20 % des protéines solubles du lait (Walstra et al., 2006).

L' $\alpha$ -lactalbumine est une métalloprotéine qui possède un site de fixation du calcium. L'ion calcium stabilise la structure de l' $\alpha$ -lactalbumine et sa perte occasionne des changements dans la structure tertiaire de la protéine (Cayot & Lorient, 1998 ; Walstra et al., 2006).

La  $\beta$ -lactoglobuline possède la particularité de former des polymères de protéines avec l' $\alpha$ -lactalbumine lors du chauffage du lait à pH > 6,5. Le traitement thermique du lait à des températures supérieures à 70 °C pendant plusieurs minutes conduit en effet à la dénaturation des protéines sériques qui interagissent alors avec la caséine  $\kappa$  à la surface des micelles de caséines à travers la formation de ponts disulfures (Corredig & Dalgleish, 1996 ; Corredig & Dalgleish, 1999 ; Donato & Guyomarc'h, 2009 ; Giroux et al., 2015). De nombreux auteurs ont montré que ces interactions limitaient l'activité de la chymosine au cours de la coagulation présure du lait et conduisaient à la formation de gels de faible fermeté (Sandra et al., 2007 ; Khetireddipalli et al., 2010 ; Giroux et al., 2015). A des niveaux de dénaturation supérieur à 60 % (traitement de 140 °C pendant 4s), le lait demeure liquide et la coagulation présure n'est plus possible (Schreiber, 2001).

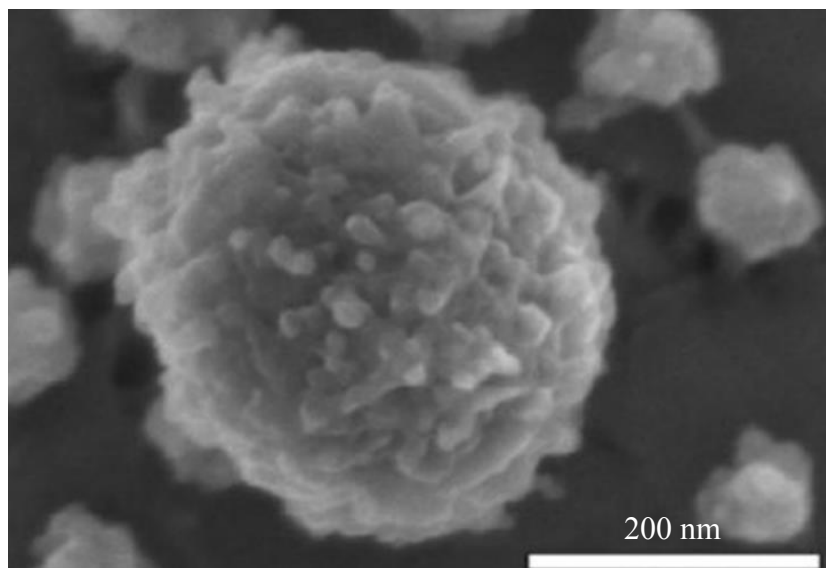
**Tableau 2.** Caractéristiques de la  $\beta$ -lactoglobuline et de l' $\alpha$ -lactalbumine du lait (Cayot & Lorient, 1998)

	$\beta$ -lactoglobuline	$\alpha$ -lactalbumine
<b>Concentration (g/L) dans le lait</b>	2-4	1-1,5
<b>Poids moléculaire (Da)</b>	18300	14200
<b>Nombre de variants génétiques</b>	7	2
<b>Nombre d'acides aminés</b>	162	123
<b>Nombre de ponts disulfure</b>	2	4

### 1.3.1.2. La micelle de caséine

La micelle de caséine est une structure, sphérique dont le diamètre moyen est de l'ordre de 150 à 200 nm (**Figure 8**) (Cayot & Lorient, 1998 ; Dalgleish et al., 2004, Dalgleish & Corredig, 2012).





**Figure 8.** Micelle de caséine observée au microscope électronique à balayage (Dalglish et al., 2004).

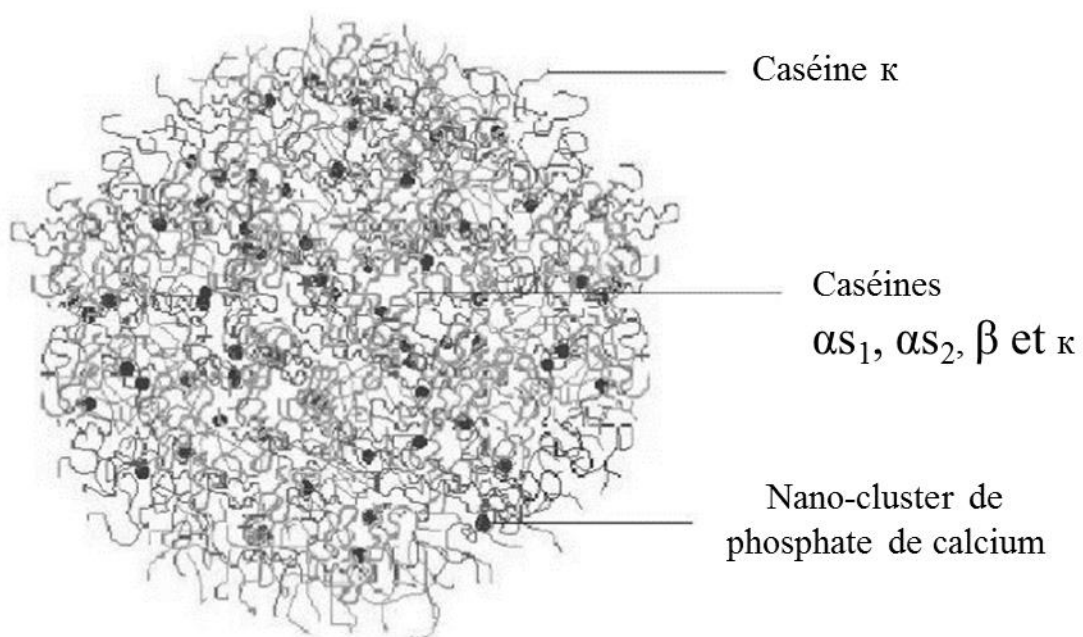
La micelle de caséine est composée de 92 à 94% de caséines et 6 à 8% de minéraux. Les caséines, sont au nombre de 4 (**Tableau 3**): les caséines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  et  $\kappa$  et sont retrouvées respectivement dans les proportions de 4/1/3,7/1,4 au sein de la micelle (Cayot & Lorient, 1998 ; Dalglish & Corredig, 2012).

**Tableau 3.** Caractéristiques physicochimiques des caséines (Brulé et al., 1997)

	$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\kappa$
<b>Concentration (g/L) dans le lait</b>	10	2,6	9,3	3,3
<b>Poids moléculaire (Da)</b>	23600	25200	24000	19000
<b>Résidus d'acides aminés (nombres/moles)</b>	199	207	209	169
<b>Nombre de variants</b>	5	4	6	2
<b>Hydrophobicité (KJ/résidus)</b>	4,9	4,64	5,6	5,1
<b>Charge à pH 6,6</b>	-20,9	-14,8	-12,3	-3,0
<b>Sensibilité à la chymosine</b>	+	-	+	+++
<b>Sensibilité au calcium</b>	++	+++	+	-

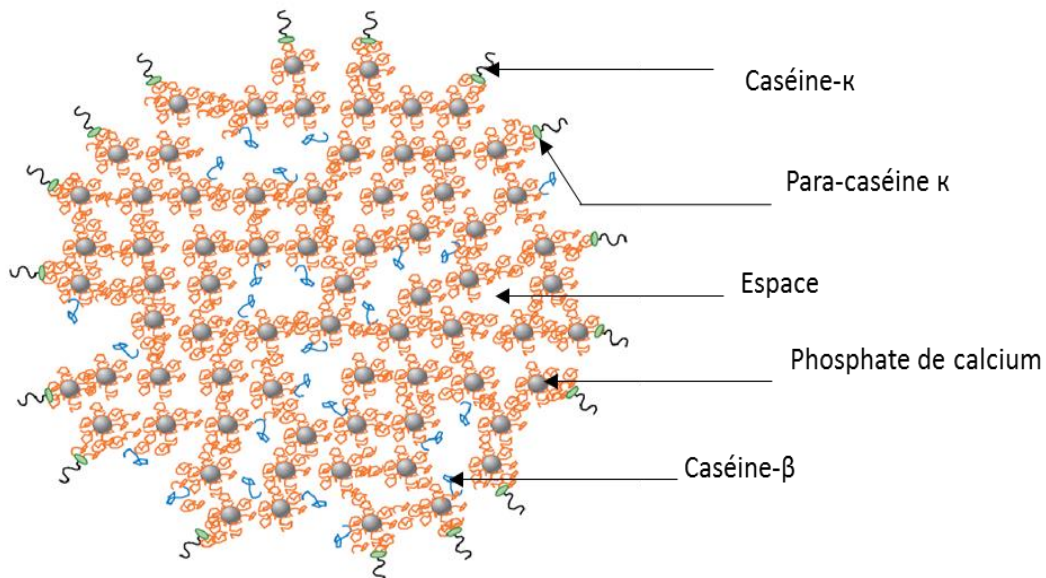
La formation et l'organisation de la micelle de caséine implique des liaisons de nature hydrophobe et des liaisons électrostatiques entre les caséines. Les liaisons résultant de l'affinité entre les groupements phosphoséryls et les ions calcium et magnésium interviennent aussi (Brulé et al., 1997). La structure et les propriétés de la micelle de caséine ont été largement étudiées en raison de son rôle déterminant dans les propriétés physico-chimiques du lait et des

produits laitiers. Quatre principaux modèles de structure de la micelle de caséine se sont succédés au cours de ces 50 dernières années. On distingue : le *modèle cœur enveloppe* (Payens, 1966 ; Parry & Carroll, 1969), le *modèle de structure interne uniforme* (Garnier & Ribadeau-Dumas, 1970), le *modèle à sous-unités* ou *modèle à submicelles* (Schmidt, 1982 ; Ono & Obata, 1989) et le *modèle à structure ouverte* (Holt & Horne, 1996 ; De Kruif & Holt, 2003). Ce dernier modèle écarte la présence des sous-unités micellaires et présente la micelle de caséine comme une structure minéralisée, dense, formée de caséines réticulées qui sont reliées entre elles par des nano-clusters de phosphate de calcium (**Figure 9**).



**Figure 9.** *Modèle à structure ouverte de Holt & Horne (1996).*

Les travaux récents de Marchin et al. (2007), Fox & Brodkorb (2008), Bouchoux et al. (2010), Dalgleish & Corredigh (2012), proposent des modèles ouverts, souvent dits en éponge (**Figure 10**). En effet, Marchin et al. (2007) ont montré, en utilisant des techniques d'observation de cryo-microscopie à transmission, que la caséine  $\kappa$  n'était pas uniquement à la surface de la micelle de caséine. McMahon & Oomen (2008) ont également mis en évidence la présence de canaux d'eau à l'intérieur de la micelle de caséine en utilisant des techniques de microscopie électronique. Ces résultats sont soutenus par les travaux de Bouchoux et al. (2010) et Trejo et al. (2011), parfaitement en accord avec la structure en éponge de la micelle de caséine.



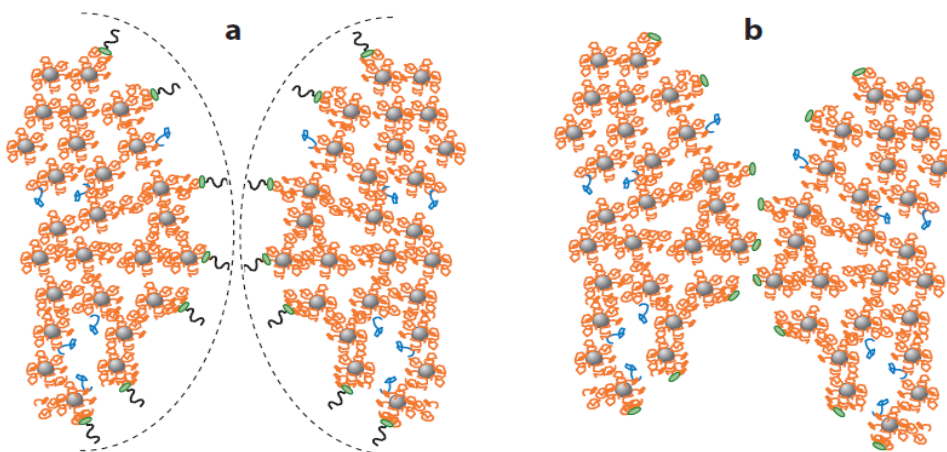
**Figure 10.** Structure en éponge de la micelle de caséine (Dalglish & Corredigh, 2012).

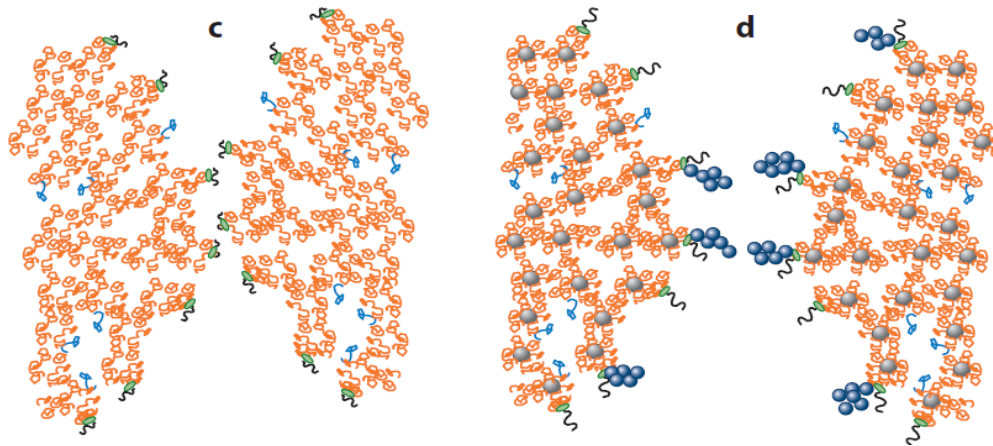
Ce modèle illustre la stabilité (**Figure 11a**) et les dynamiques de la micelle de caséine telles que :

- la solubilisation partielle et la migration de la caséine  $\beta$  et du phosphate de calcium (**Figure 11c**) dans la phase aqueuse du lait à basse température (4 °C) et leur retour dans la micelle lorsque la température redevient normale (Gaucheron, 2005 ; Post et al., 2012) ;

- la fixation des protéines sériques dénaturées à la partie hydrophobe de la caséine  $\kappa$  (**Figure 11d**) au cours des traitements thermiques (Donato et al., 2007 ; Post et al., 2012 ; Khetireddipalli et al., 2010) ;

- l'accessibilité de la chymosine à son site de coupure (liaison 105-106) de la caséine  $\kappa$  (**Figures 11b**) (Dalglish & Corredigh, 2012).





**Figure 11.** Interactions de la micelle de caséine. (a) Stabilisation de la micelle par les répulsions électrostatiques des caséines  $\kappa$ . (b) Rapprochement des micelles après hydrolyse de la caséine  $\kappa$  par la chymosine. (c) Solubilisation du phosphate de calcium et formation du gel en milieu acide. (d) Fixation des protéines sériques dénaturées au cours du chauffage (Dalgleish & Corredig, 2012).

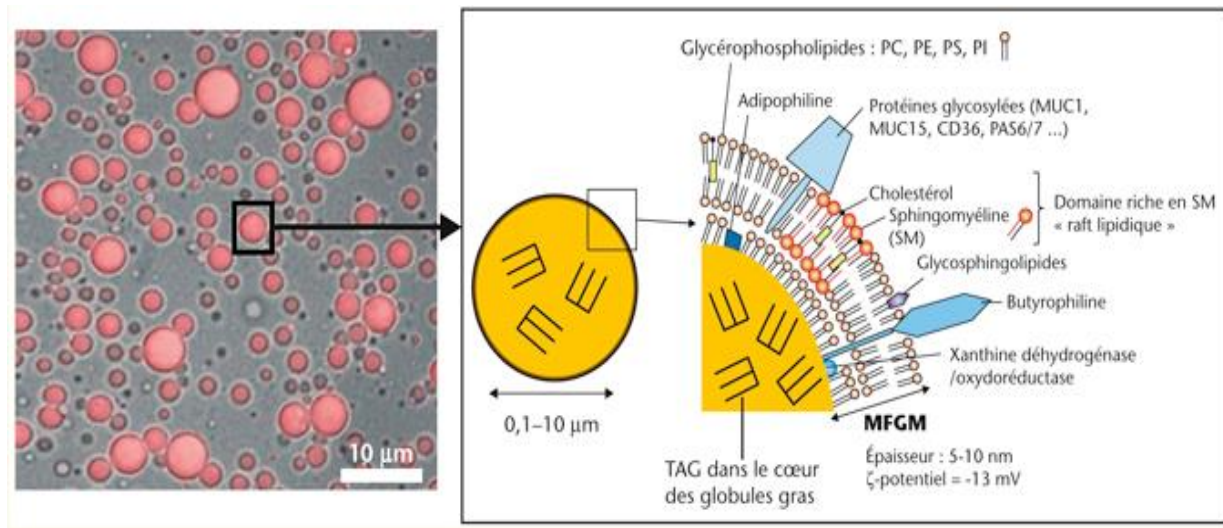
La caséine  $\kappa$  forme une couche hydratée à la surface de la micelle de caséine. Son segment N-terminal (106-169) glycosylé, chargé négativement, et hydrophile est orienté vers l'extérieure où il est en contact avec la phase aqueuse. Ce segment, de par son affinité avec l'eau, forme une couche d'hydratation autour de la micelle qui facilite sa dispersion dans la phase aqueuse du lait. L'orientation externe de la caséine  $\kappa$  confère aussi à la micelle, une charge de surface globalement négative qui assure sa stabilité grâce aux répulsions électrostatiques (Holt & Horne, 1996 ; Lawrence et al., 1998 ; Fox & McSweeney, 1998 ; Fox, 2008).

La stabilité de la structure de la micelle de caséine est également assurée par les interactions qui lient les différentes caséines entre elles. Les interactions avec d'autres micelles (répulsion électrostatique) et les constituants du lait (migration de l'eau et échange de calcium) assurent aussi la stabilité de la micelle dans son milieu. Lorsque les conditions physico-chimiques du milieu changent (température, pH, ajout de sels minéraux), ces interactions évoluent et provoquent des modifications de la structure de la micelle.

### 1.3.2. Les lipides

Le lait de vache contient 3 à 5 % de matière grasse. La matière grasse du lait est un mélange complexe de triacylglycérols (98 %), diacylglycérol (2 %), cholestérol (< 5 %), phospholipides (1 %) et acides gras libres (0,1 %). Elle se présente sous forme de globules gras,

qui sont des structures sphériques dont le cœur est riche en triacylglycérols et la membrane constituée d'une bicouche de phospholipides reposant sur une monocouche (**Figure 12**).



**Figure 12.** Les lipides et la membrane du globule gras du lait (Lopez et al., 2010).

La membrane du globule gras est un assemblage complexe de phospholipides, protéines, glycoprotéines, lipides neutres, enzymes et autres composés mineurs (Danthine et al., 2000 ; Lopez et al., 2010 ; Singh & Gallier, 2017). Elle joue un rôle d'émulsifiant naturel grâce à l'orientation interne de ses composants hydrophobes (sphingomyéline, cholestérol) et externe de ses constituants hydrophiles (protéines). La membrane du globule gras assure ainsi l'émulsion de la matière grasse dans la phase aqueuse du lait. La distribution de taille des globules gras du lait, évaluée par diverses techniques (microscopie, granulométrie laser) va de 0,1 à 15 µm de diamètre avec une moyenne autour de 3 et 5 µm (Fleming et al., 2017; Singh & Gallier, 2017; Zamora et al., 2007).

De par leur composition, leur taille et leur densité, les globules gras du lait sont caractérisés par une instabilité avec une tendance à l'agglomération. L'homogénéisation est le procédé habituellement appliqué au lait pour augmenter la dispersibilité de sa matière grasse et en limiter la remontée. Elle assure une fragmentation des globules gras natifs en petites gouttelettes lipidiques plus stables et dispersibles dans la phase aqueuse du lait. La taille des globules gras influence les propriétés technologiques et sensorielles de nombreux produits laitiers (Lopez et al., 2015). L'homogénéisation n'affecte pas ou très peu la structure de la micelle de caséine (Fox & Brodtkorb 2008).

L'homogénéisation des globules gras augmente l'interface entre la phase aqueuse du lait et la matière grasse qui ne peut plus être entièrement recouverte par la membrane native du

globule gras. Il est décrit que les caséines et protéines solubles du lait s'adsorbent à la surface de nouveaux globules gras formés et en constituent par la suite la nouvelle membrane (Darling & Butcher, 1978; Michalski & Januel, 2006; Lopez et al., 2015). Cette modification dans la structure du globule gras, en particulier sa membrane, modifie ses interactions avec les autres constituants du lait (Lopez et al., 2015 ; Fox & Brodtkorb, 2008). Cet aspect est particulièrement intéressant dans la fabrication des fromages, car l'interaction entre la membrane du globule gras et les protéines du lait influence à la fois la structure et la texture du produit fini (Michalski et al., 2003 ; Lopez & Dufour, 2001 ; Lopez et al., 2015 ; Fleming et al., 2017). L'homogénéisation du lait est utilisée en fromagerie pour augmenter les rendements de fabrication et modifier la texture des fromages. Jana & Upadhyay (1992) ont rapporté une augmentation des rendements fromagers de 3 à 6 % pour le Cheddar et de 3 à 4 % pour l'emmental. L'homogénéisation permet également de modifier les caractéristiques organoleptiques des fromages (Jana & Upadhyay, 1992 ; Rudan et al., 1998).

### **1.3.3. Le lactose**

Le lactose est le principal sucre présent dans le lait avec une teneur d'environ 50 g/Kg. Le lait contient également des quantités infimes d'autres glucides tels que le glucose et le galactose. La teneur en lactose du lait de vache varie en fonction de l'alimentation de l'animal et du stade de lactation. Elle diminue progressivement au cours de la lactation (Fox & McSweeney, 1998).

Le lactose est un dissaccharide constitué d'une molécule de galactose et d'une molécule de glucose. Il est présent sous forme soluble dans la phase aqueuse du lait et est habituellement éliminé dans le lactosérum lors de l'égouttage des fromages. Il est utilisable par beaucoup de micro-organismes et est à l'origine de la fermentation des produits tels que le yaourt et le fromage. Budslawski & Pogorzelski (1964) ont d'ailleurs montré qu'au bout de 3 jours de stockage, les fromages ne contenaient plus de molécules fermentescibles. Le glucose et le lactose sont consommés au bout de 48 h et le galactose au bout de 72 h.

Le lactose est également impliqué dans la réaction de Maillard ou brunissement non enzymatique qui intervient au cours du chauffage des protéines du lait en présence de sucre réducteur. La réaction de Maillard constitue un ensemble très complexe de réactions avec des voies diverses d'évolution des composés formés (van Boekel, 1998 ; Martins et al., 2000). Initialement, le lactose se condense avec un composé possédant un groupe amine libre, comme le groupe  $\epsilon$  de la lysine ou le groupe  $\alpha$ -aminé des acides aminés terminaux, pour former de la

glycosylamine N-substituée. Par la suite, la glycosylamine subit le réarrangement d'Amadori pour former des cétosamines connues sous le nom de produits de glycation précoce. Les cétosamines sont des composés hautement réactifs. Des voies différentes sont alors possibles pour ces composés : i) formation de puissants antioxydants tels que les réductones et déshydroréductones, ii) dégradation de Strecker (formation d'aldéhydes et d' $\alpha$ -amino cétones à partir de composés dicarbonylés et d'acides aminés) ou la voie de Schiff. Le résultat final est la formation d'eau et de polymères et copolymères azotés bruns appelés mélanoidines (Martins et al., 2000).

#### 1.3.4. Les sels minéraux

Si les sels minéraux sont des éléments mineurs dans la composition du lait (9 g/L), ils n'en demeurent pas moins des éléments clé de la stabilité de la micelle de caséine. L'élément majeur de ce groupe est le calcium avec une concentration moyenne de 1200 mg/L. Les minéraux du lait sont répartis entre sa phase aqueuse et sa phase micellaire : le calcium, le phosphate inorganique et le magnésium sont en grande partie liés à la micelle de caséine alors que le potassium, le chlorure et le sodium sont plus abondants dans la phase aqueuse (**Tableau 4**) (Brulé et al., 1974 ; 1997 ; Gaucheron, 2005).

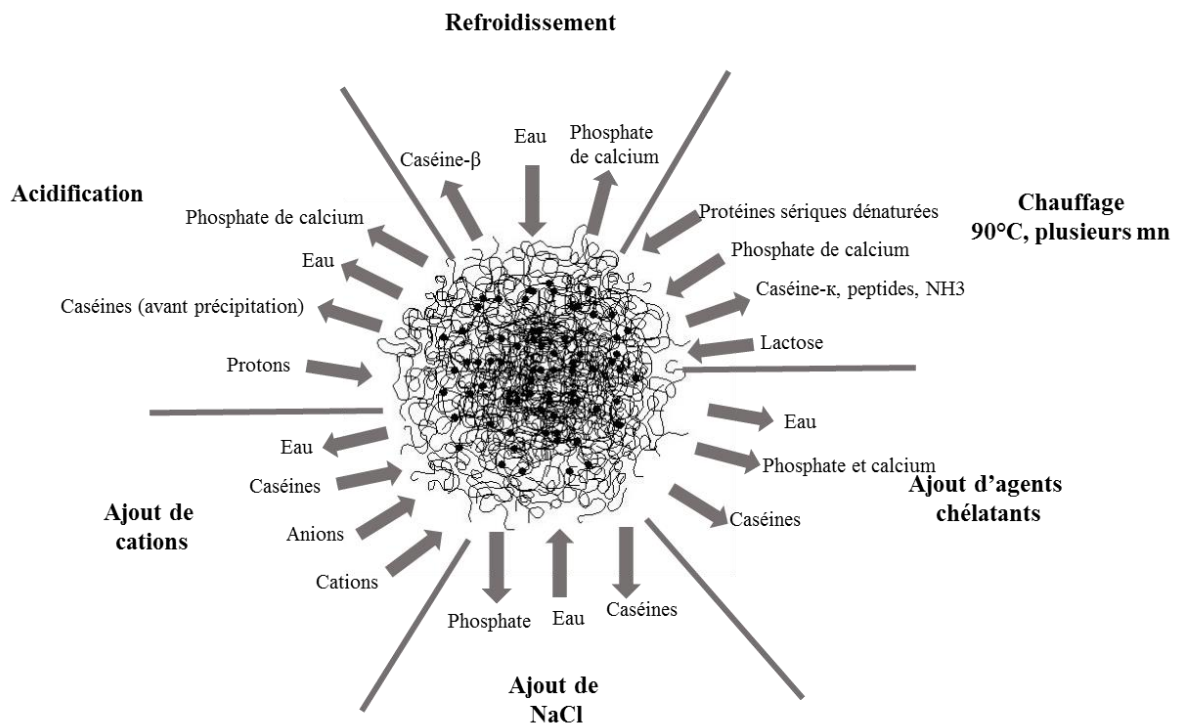
*Tableau 4. Répartition des éléments minéraux entre les phases aqueuse et micellaire du lait (Gaucheron, 2005).*

<b>Eléments</b>	<b>Concentration totale</b>	<b>Concentration dans la micelle de caséine</b>	<b>Concentration dans la phase aqueuse</b>
<b>Calcium</b>	29,4	20,2	9,2
<b>Phosphate inorganique</b>	20,9	9,7	11,2
<b>Magnésium</b>	5,1	1,8	3,3
<b>Citrate</b>	9,2	-	8,2
<b>Sodium</b>	24,2	-	24,2
<b>Potassium</b>	34,7	-	34,7
<b>Chlorure</b>	30,2	-	30,2

Les concentrations sont exprimées en milli Molaire (mM).

Les minéraux solubles sont présents sous formes ioniques ou sous forme de complexe non ionisés (sels). Il n'existe pas de minéraux spécialement associés au lactose ou aux globules gras du lait.

Des modifications de pH, de température ou de concentration en minéraux peuvent affecter l'équilibre minéral du lait et entraîner des changements de la structure de la micelle et de l'état physique du lait (**Figure 13**).



*Figure 13. Dynamique de la micelle de caséine sous différentes contraintes physico-chimiques du milieu (Gaucheron, 2005).*

## 2. Les coagulations fromagères

La coagulation se traduit par le passage de l'état liquide du lait à un état de gel ou coagulum. Elle résulte des modifications physico-chimiques de la micelle de caséine suite à une acidification et/ou à l'action d'enzymes coagulantes. En fromagerie, la coagulation du lait est le plus souvent obtenue par l'action combinée des enzymes coagulantes et de l'acidification.

### 2.1. La coagulation acide

Lorsque l'acidification du lait est rapide, une précipitation/floculation des micelles de caséine avec ségrégation du lactosérum est observée. La coagulation fromagère du lait est obtenue par une acidification lente par voie fermentaire en utilisant des bactéries acidogènes qui transforment le lactose en acide lactique ou par voie chimique acidogène avec la glucono-delta-lactone (GDL) qui s'hydrolyse en acide gluconique (Brulé et al., 1997 ; Lucey & Singh, 1998).



Si la micelle de caséine est très stable au pH du lait, sa structure devient instable au fur et à mesure de l'acidification (Cayot & Lorient, 1998). L'acidification du lait diminue le pouvoir séquestrant des caséines  $\alpha$  et  $\beta$ , ce qui augmente la solubilité du phosphate de calcium qui se déplace vers la phase aqueuse. La perte des nanoclusters de phosphate de calcium colloïdal au cours de l'acidification d'une suspension micellaire est également démontrée par SAXS (Marchin et al., 2007). Jusqu'à un pH de 5,2, la solubilisation du phosphate inorganique ne provoque pas de modifications majeures de la micelle mais au pH isoélectrique de la micelle (pH=4,6), la solubilisation du phosphate de calcium est totale et entraîne un affaiblissement des liaisons hydrophobes des micelles (Phadungath, 2005). L'augmentation de la force ionique de la phase aqueuse affaiblit les répulsions électrostatiques entre les caséines, provoquant leur dissociation en sous-unités suivie d'une floculation. Au cours de cette phase, les caséines interagissent et forment au repos un gel homogène qui emprisonne le lactosérum et occupe entièrement le volume du lait (Fox & McSweeney, 1998).

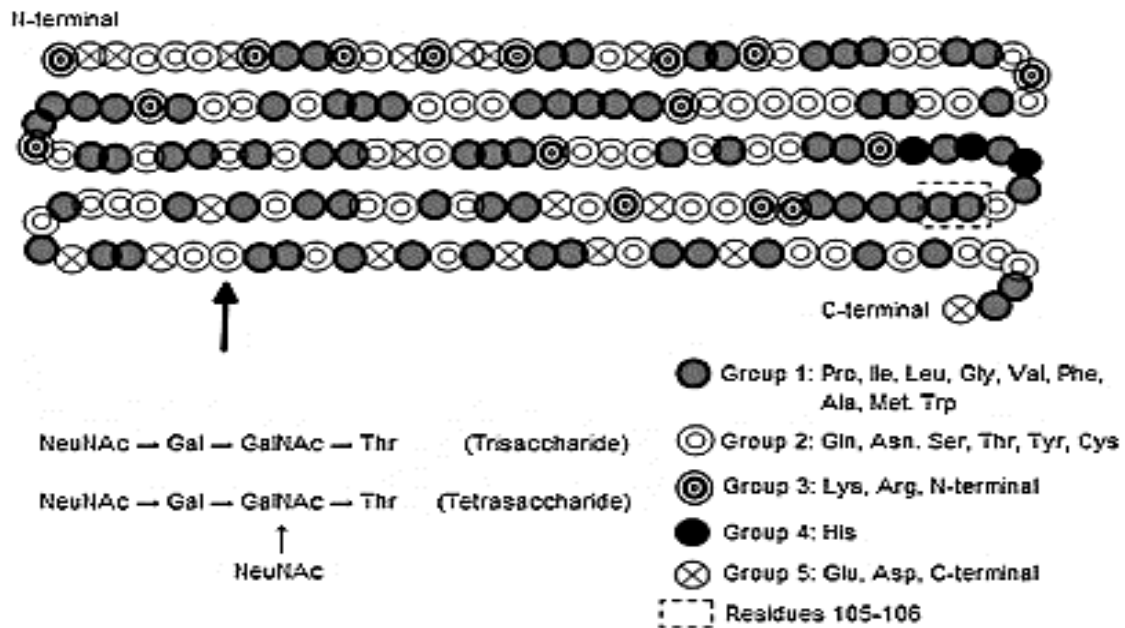
## 2.2. La coagulation enzymatique

La coagulation enzymatique du lait fait intervenir des protéases ayant pour spécificité, l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$ . Ainsi, un grand nombre d'enzymes d'origine animale, végétale et microbienne, possédant cette particularité sont utilisées pour coaguler le lait (Brulé et al., 1997). L'enzyme coagulante la plus utilisée en technologie fromagère est la chymosine. Son action a été longuement étudié et est relativement bien connue. Elle comporte 2 principales étapes:

- La phase enzymatique qui correspond à l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  et à la libération du caséino-macro peptide (CMP). L'hydrolyse de la caséine par la chymosine se fait au niveau de la liaison peptidique Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub> située entre la zone hydrophobe et la zone hydrophile de la protéine (**Figure 14**). Il résulte de cette hydrolyse, la production de 2 segments : la paracaséine  $\kappa$  (segment N-Terminal 1-105) qui est hydrophobe et le CMP (segment C-terminal 106-169) qui est hydrophile. La paracaséine  $\kappa$  reste accrochée à la micelle tandis que le CMP est libéré dans le lactosérum (Walstra et al., 2006 ; Sandra et al., 2007 ; Dalglish & Corredig, 2012).

Cette 1<sup>ère</sup> étape de la coagulation enzymatique du lait est très sensible à la température : elle est lente (voire nulle) entre 0 et 10 °C et optimale entre 30 et 42 °C. A partir de 55 °C, la chymosine est dépourvue d'activité (Cayot & Lorient, 1998). Un autre facteur influençant la coagulation présure du lait est le pH. L'abaissement du pH conduit à la solubilisation du calcium micellaire (Gaucheron, 2005 ; Marchin et al., 2007), à la diminution de la charge de surface des micelles et à la dissociation des caséines les constituant (Gonzalez-Jordan et al.,

2015). Les micelles ainsi modifiées réagissent plus facilement à l'action de la chymosine et à l'agrégation. Cependant, à des valeurs de pH inférieures à 5, la coagulation présure du lait n'est plus possible (Brulé et al., 1997). D'autres facteurs comme le chauffage, la concentration en chymosine, l'addition de calcium supplémentaire et l'extrait sec du lait influencent aussi l'activité enzymatique de la chymosine et l'organisation du gel présure (Najera et al., 2003 ; Lagaude et al., 2004 ; Jovanovic et al., 2010 ; Sandra et al., 2012).



**Figure 14.** Représentation schématique de la séquence en acides aminés de la caséine-κ (Ettelaie et al., 2014).

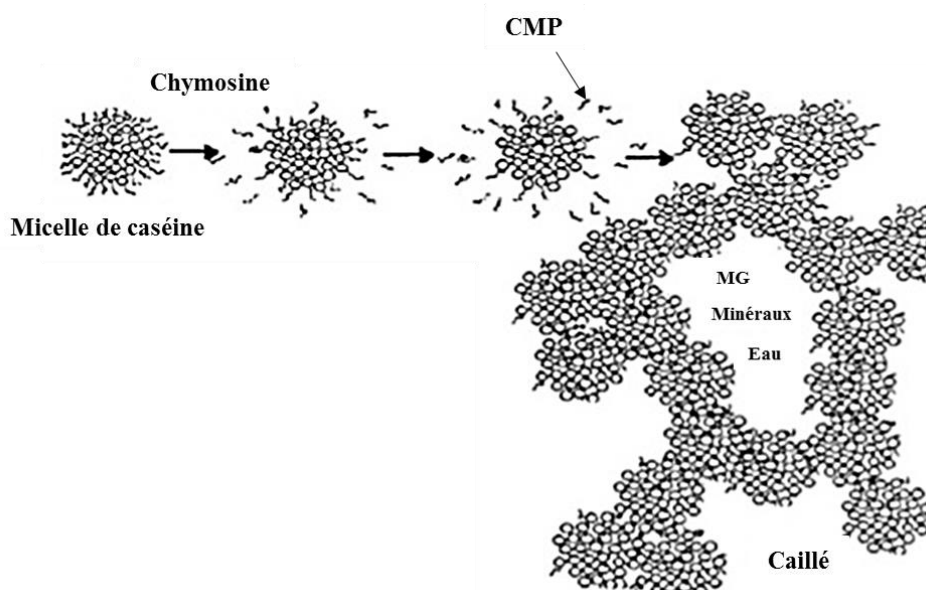
- La libération du CMP entraîne une diminution de la charge de surface des micelles et diminue leurs forces répulsives et leur état d'hydratation. Lorsque 80 à 90 % de la caséine κ est hydrolysée, les micelles de caséine ne sont plus stables (Dalglish 1980, Fox & McSweeney, 1998 ; Sandra et al., 2007). A ce stade, les micelles de caséine se rapprochent et les interactions hydrophobes provoquent une liaison entre les particules. Une augmentation du calcium ionique permet cependant une agrégation à des niveaux plus bas de libération du CMP. L'ajout d'ions calcium, en abaissant le pH du lait et en diminuant la charge de surface des micelles (en masquant les résidus d'acides aminés chargés négativement) facilitent l'agrégation des micelles de caséine (Udabage et al., 2001 ; Sandra et al., 2007). Des quantités de calcium dépassant 10 mM vont cependant conduire à une augmentation des charges positives à la surface des micelles, ce qui augmentera les répulsions électrostatiques et conduira à la formation de gels faibles (Udabage et al., 2001).

L'agrégation micellaire induite par la présure a été décrite comme la formation d'un gel par des sphères dures adhérentes (de Kruif, 1998). Cette agrégation se ferait par un processus

décrit par Smoluchowski, qui est un processus de collision aléatoire, de sorte qu'il n'y ait pas de préférence pour des agrégats de tailles spécifiques à former ou à réagir (Dalglish, 1980 ; de Kruif, 1998).

La structure interne de la micelle et la présence de phosphate de calcium colloïdal deviennent de plus en plus importantes lorsque les réarrangements inter-particulaires se produisent et que les micelles commencent à « fusionner » (Dalglish & Corredig, 2012). Une perte partielle de calcium colloïdal peut réduire les interactions électrostatiques entre les micelles de caséine et accélérer la gélification. Les liaisons qui interviennent dans la formation du gel sont des liaisons de type électrostatique et hydrophobe (Dalglish, 1980 ; Dalglish & Corredig, 2012). Les calcium ionique et micellaire jouent un rôle déterminant dans la réticulation et la fermeté du gel car ils interviennent dans la formation des liaisons intermicellaires (Daviau et al., 2000 ; Sandra et al., 2012).

La fermeté du gel présure dépend du nombre de liaisons créées, alors que le temps de coagulation semble ne pas être affecté par une concentration de protéine jusqu'à 4 fois la quantité initiale de micelles (Sandra et al., 2012).



**Figure 15.** Coagulation enzymatique du lait et formation du coagulum (Banks & Horne, 2003).

Ces 2 étapes sont complétées par la réticulation du gel, phase au cours de laquelle, le gel se restructure et s'organise. De nouvelles liaisons électrostatiques et hydrophobes s'établissent entre les micelles de caséines modifiées. Cette phase correspond au durcissement du gel et à la synérèse.

### **3. Quelques éléments de rappel sur la technologie fromagère**

Le caillé est le produit issu de la coagulation du lait par une préparation coagulante, suivie de l'élimination partielle du lactosérum. La technologie fromagère est l'ensemble des opérations mises en œuvre pour transformer le lait en fromage. Elle repose sur l'aptitude à la coagulation du lait, la possibilité d'ajuster la teneur en eau du gel obtenu (égouttage) et de donner des caractéristiques organoleptiques spécifiques au caillé obtenu à travers le développement de ferments lactiques (affinage).

#### **3.1. Préparation du lait de fromagerie**

Pour maîtriser la coagulation du lait et la qualité du coagulum, le lait de fromagerie peut être soumis à un certain nombre de traitements :

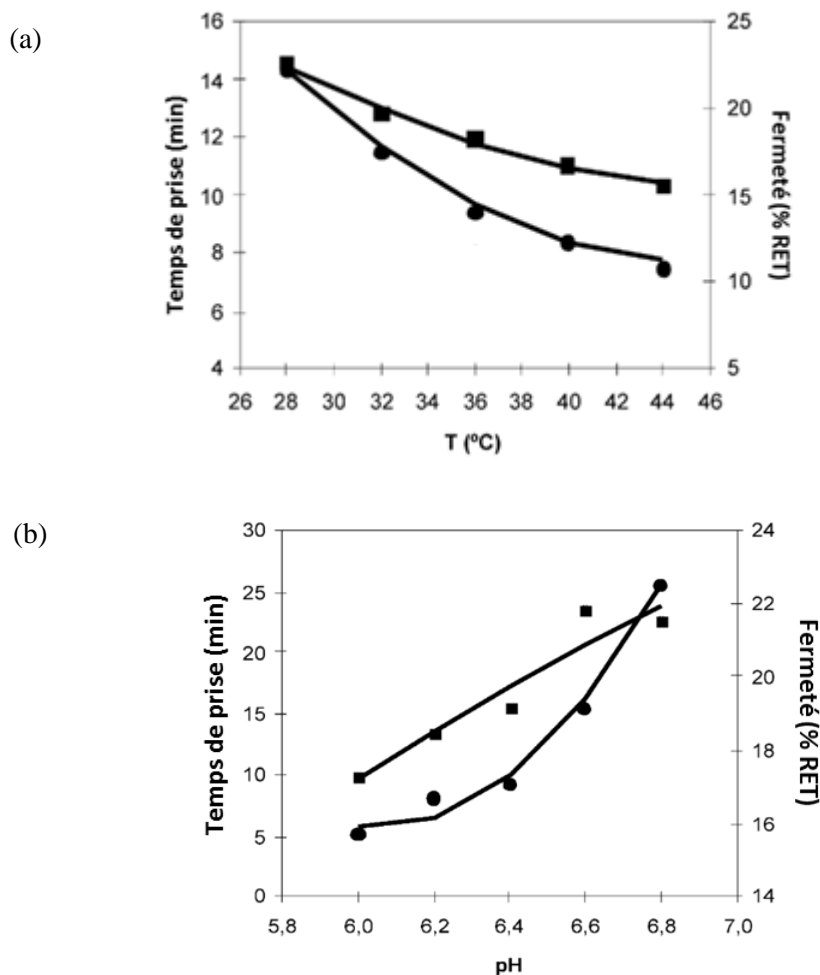
- Epuration physique par filtration ou centrifugation permettant d'éliminer les cellules somatiques, micro-organismes et leucocytes.
- Standardisation en matière grasse et en protéine. Selon le type de fromage désiré, la teneur en matière grasse du lait peut être diminuée par ajout de lait écrémé au lait entier ou augmentée par apport de crème. La teneur en protéine peut être modifiée par ajout de poudre de lait, de caséines ou par ultrafiltration. Un accroissement de 10 % de la teneur en protéines améliore la fermeté du coagulum de 15 % et limite la perte de « fines » de 20 % (Maubois et al, 1997).
- Traitement thermique. Il se fait habituellement par un traitement de type pasteurisation : 30 minutes à 65 °C ou 15 secondes à 72 °C (Fox & McSweeney, 1998).
- L'ajustement du pH et de la concentration en calcium. La concentration en calcium du lait est ajustée par addition de chlorure de calcium à des doses voisines de 0,1 à 0,2 g/L au moins 1h avant l'emprésurage. Pour la correction du pH, diverses techniques sont utilisées mais les plus courantes sont la maturation biologique (apport de levain lactique) et l'ajout de GDL. L'ajustement du pH permet d'amener le lait à son pH optimum de coagulation et l'ajout de calcium permet de rétablir l'équilibre calcique du lait modifié au cours des traitements de thermisation et de refroidissement. Il améliore l'aptitude à la coagulation du lait et la fermeté du coagulum (Walstra et al., 2006 ; Sandra et al., 2011 ; Jeantet et al., 2014).

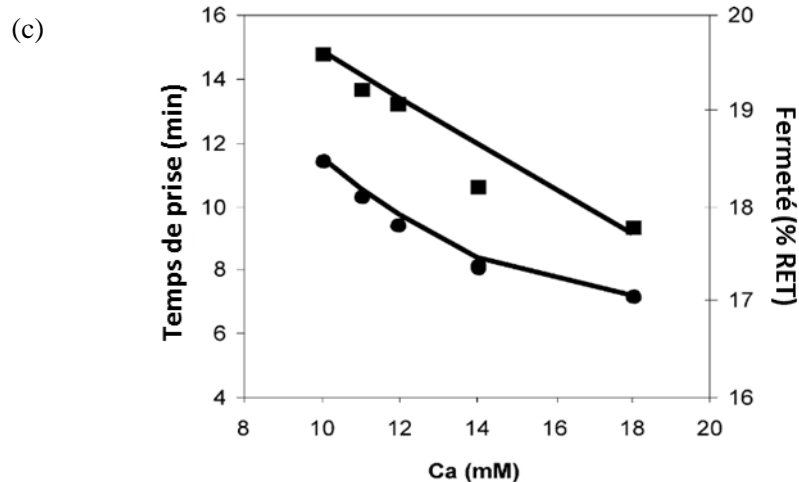
L'ensemble de ces opérations permet de produire des fromages de composition régulière et de qualités hygiénique et organoleptique constantes grâce à l'utilisation d'une matière première de composition identique à chaque fabrication.

### 3.2. Aspects techniques de la coagulation fromagère

Dans la fabrication fromagère, la coagulation du lait est majoritairement obtenue par l'utilisation combinée d'une préparation enzymatique coagulante et de l'acidification. La présure est la préparation enzymatique la plus utilisée pour coaguler le lait en fromagerie. Elle contient 2 enzymes actives : la chymosine responsable de l'activité coagulante majeure de la présure et la pepsine. Deux conditions sont indispensables à la réussite de l'étape de coagulation fromagère :

- L'activité coagulante doit être optimale dans les conditions physico-chimiques du lait standardisé (pH, concentration en calcium, concentration en protéine, température). La formation du coagulum et sa fermeté sont liées à ces conditions (**Figure 16**).





**Figure 16.** Effet de la température (a), du pH (b) et de la concentration en  $\text{CaCl}_2$  sur les temps de prise (●) et la fermeté (■) des gels présure (Najera et al., 2003). % RET = pourcentage relatif de transmission (percentage of relative transmission)

- Les caractéristiques du gel obtenu doivent permettre son égouttage et l'obtention d'un caillé aux caractéristiques de composition et de texture souhaitées.

Il existe différentes approches de mesure de la coagulation du lait et des propriétés physiques du coagulum. Les plus utilisées sont les méthodes visuelles (observation à vue d'œil de l'apparition des « flocons »), les méthodes rhéologiques (mesure de viscosité) et les méthodes chimiques (dosage de l'azote non protéique libéré lors de la protéolyse) (Ramet & Scher, 1997 ; Fox & McSweeney, 1998). On distingue parmi les paramètres permettant de décrire les phénomènes observés au cours de la coagulation :

-le *temps de prise* : il correspond au temps qui s'écoule entre l'addition de la préparation coagulante et le début de la floculation

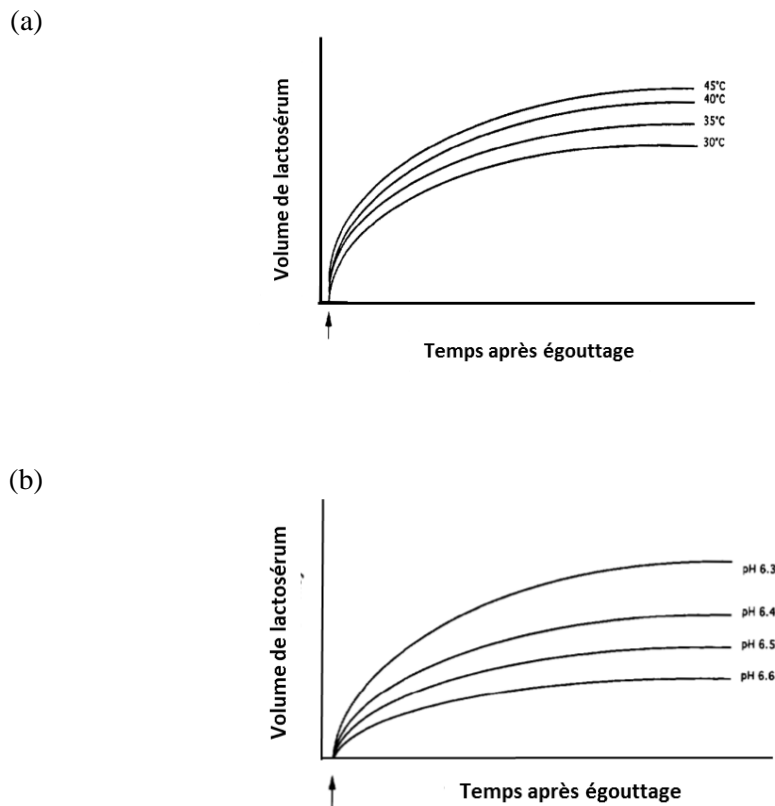
-le *temps de coagulation* : il correspond au temps séparant l'addition de la préparation coagulante et le début du tranchage

-le *temps de durcissement* : il désigne le temps qui s'écoule entre le début de la floculation et le début du tranchage

### 3.3. L'égouttage

L'ajustement de la teneur en eau des caillés fromagers se fait principalement par son égouttage. Les opérations de salage et d'affinage complètent l'élimination du lactosérum et permettent d'obtenir des fromages avec un extrait sec attendu. L'égouttage consiste en une élimination plus ou moins importante du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un

durcissement du gel. L'égouttage du coagulum est accéléré par le tranchage et le brassage du gel, l'acidification et le chauffage (**Figure 17**).



**Figure 17.** Effet du chauffage (a) et du pH (b) sur la cinétique de l'égouttage d'un gel après tranchage (Fox & McSweeney, 1998).

A la fin de l'égouttage, on obtient un caillé avec un extrait sec qui varie en fonction de la technologie fromagère adoptée. Le caillé peut être consommé tel quel ou subir des transformations par ajout de micro-organismes (affinage). Les micro-organismes de l'affinage confèrent au caillé une texture et des caractéristiques organoleptiques spécifiques qui achèvent la transformation du lait en fromage.

### **III. Les coagulants végétaux**

#### **1. Diversité des coagulants végétaux**

Dans beaucoup de pays, les extraits de plantes sont utilisés depuis des siècles pour coaguler le lait et fabriquer du fromage. Cette pratique permet de concentrer et conserver les constituants majeurs du lait que sont les protéines, les minéraux et la matière grasse. Les coagulants végétaux constituent une alternative à la présure bovine et présentent l'avantage d'être accessibles et faciles d'utilisation même à l'échelle artisanale.

L'utilisation des coagulants végétaux est une pratique courante dans les pays méditerranéens, Ouest Africains et d'Europe du Sud. Au Portugal et en Espagne, l'extrait des fleurs de *Cynara cardunculus* est utilisé dans la fabrication de fromages traditionnels tels que Serra da Estrella, Castelo Branco, Torta Del Casar, La Serena ou Los Ibores (Roseiro et al, 2003). Le fromage « Gybna bayda », très consommé au Soudan, est fabriqué en coagulant le lait à l'aide d'un extrait des fruits du *Solanum dubium* (Kheir et al, 2011). En Afrique de l'Ouest, dans des pays tels que le Nigéria et le Bénin, l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* est utilisé dans la fabrication d'un fromage appelé wagashi.

Le **Tableau 5** présente quelques caractéristiques de plantes dont les extraits sont utilisés comme coagulants en fromagerie.

**Tableau 5.** Quelques sources d'extraits de plantes utilisés comme coagulant en fromagerie.

Plantes	Famille	Parties utilisées	Type de lait utilisé	Fromage	Zone de production	Références
<i>Solanum Dubium</i>	Solanaceae	Feuilles Fruits	Lait de vache	Gybna Beyda	Sudan	Sana et al., 2011
<i>Cynara cardunculus</i>	Asteraceae	Fleurs	Lait de brebis	Rorta Del Casar Serra da Estrella	Spain Portugal	Sousa & Malcata, 2002 Silva & Malkata, 1998
<i>Cynara scolymus</i>	Asteraceae	Fleurs	Lait de bufflesse	Tallaga cheese Jeben	Egypt Algeria	El Kholy, 2015 Nouani et al.,2009
<i>Zinziber officinalis</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Lait de bufflesse Lait de vache	Jiangzhinai Jiangzhuangnai Peshawari cheese	Japan	Huang et al., 2010 Hashim et al., 2011(a) Hashim et al., 2011(b)
<i>Calotropis procera</i>	Asclepiadaceae	Feuilles Latex Fleurs Tiges	Lait de vache	Warankashi Woagashi Wagassirou Waragashi	Nigeria Benin Togo Ghana	Aworh & Nakai, 1988 Aworh & Muller, 1987 Adetunji et al., 2008
<i>Ficus carica</i>	Moraceae	Latex	Lait de chèvre	Cacioricotta	Italy	Faccia et al., 2012
<i>Streblus asper</i>	Moraceae	Latex	Lait de vache	« Dadih »	Malaysia	Yazid et al., 1999
<i>Withania coagulans</i>	Solanaceae	Fruits Fleurs	Lait de bufflesse Lait de brebis	Paneer	Indian Iran	Sudesh et al., 2012 Pezeshki et al.,2011

L'activité coagulante des extraits végétaux est due à la présence d'enzymes protéolytiques capables d'hydrolyser les micelles de caséines, causant ainsi leur déstabilisation et leur réorganisation en réseau. L'activité d'une enzyme végétale dépend de sa source, du procédé d'extraction, du degré de purification et de la partie de la plante utilisée (Mahajan & Badgujar, 2010 ; Oseni & Ekperejin, 2013<sup>(b)</sup>). Les principales enzymes végétales dotées d'une activité coagulante sur le lait sont des protéases à cystéine mais des protéases à sérine et des protéases acides existent également (**Tableau 6**).



**Tableau 6. Caractéristiques de quelques enzymes à activité coagulante isolées à partir de plantes.**

Plantes	Enzymes	Classes	Masses moléculaires (KDa)	pH optimal	Temperature optimale (°C)	Références
<i>Cucumis melo</i>	Cucumisine	Protease à sérine	50	7,1	70	Kaneda & Tominaga, 1975
			68	9	60-70	Gagaoua et al., 2017
<i>Streblus asper</i>	Strebline	Protéase à sérine	64	9	65	Tripathi et al., 2011
			55	5,5	55	Senthilkumar et al., 2006
<i>Calotropis procera</i>	Proceraine	Protéase à cysteine	28,8	7-9	55-60	Dubey & Jagannadham, 2003
			25,7	6,5-8,5	40-60	Singh et al., 2010
			25	8	50	Aworh et al., 1994
			30	7	50	
<i>Cynara cardunculus</i>	Cardosine A	Protéase acide	31+15	5,1	70	Verissimo et al., 1996
			34+14	5,1	70	
<i>Cynara scolymus</i>	Cardosine	Protéase acide	30+15	5	37-45	Llorente et al., 2004
<i>Zinziber officinalis</i>	Zingibaine	Protéase à cysteine	36	5,5	60	Hashim et al., 2011 <sup>(a)</sup>
			31	5,5-5,2	70	Huang et al., 2010
<i>Euphorbia milii</i>	Miliine	Protéase à sérine	-	9	35	Moro et al., 2013
<i>Euphorbia nivulia</i>	Nivuliine II	Protéase à cysteine	-	6,3	50	Badgular & Mahajan, 2012
			43	6,3	50	Badgular & Mahajan, 2014
<i>Opuntia ficus indica</i>	-	Protéase à cysteine	23	5,2	70	Teixeira et al., 2000
<i>Solanum dubium</i>	Dubiumine	Protéase à sérine	-	10	70	Kheir et al., 2011
			66	11	70	Ahmed et al., 2014
<i>Carica papaya</i>	Papaine	Protéase à cysteine	23	5-9	50	Monti et al., 2000
<i>Ficus carica</i>	Ficine	Protéase à cysteine	23	7	-	Devaraj et al., 2008
<i>Ficus religiosa</i>	Religosine	Protéase à cysteine	43	8-8,5	50	Kumari et al., 2010
	Religosine B	Protéase à sérine	63	8-8,5	-	Kumari and al., 2012
	Reliosine C	Protease à sérine	80	6-8	45-50	Shah et al., 2012

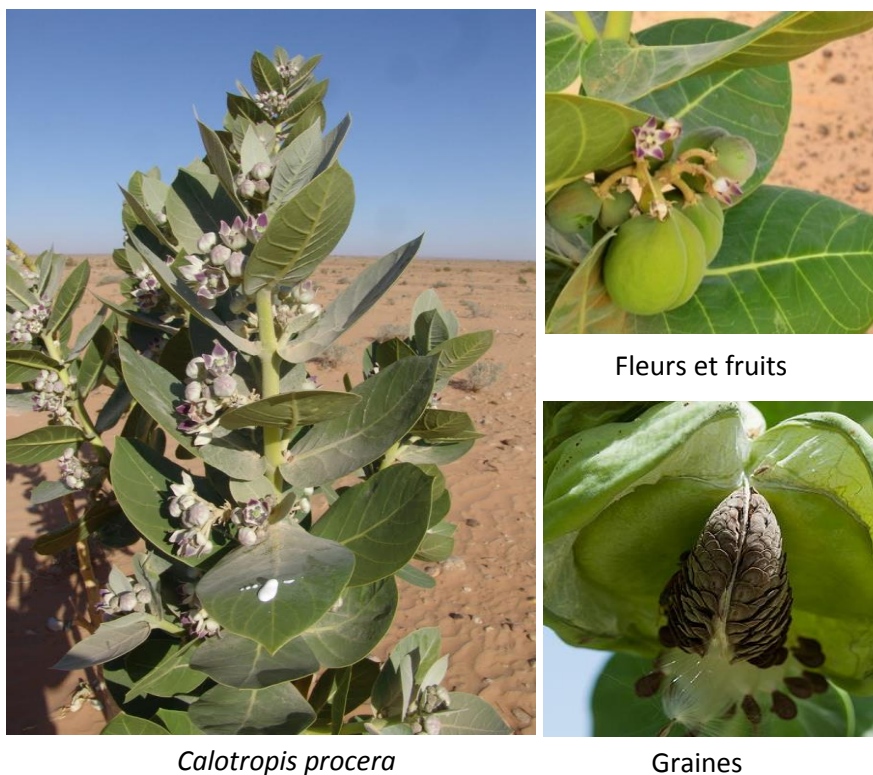
Les 1<sup>ers</sup> travaux qui se sont intéressés à l'activité coagulante des extraits de plante et leur utilisation dans la fabrication des fromages sont ceux de Christen et Virasora (1935). Ils se sont intéressés à l'activité coagulante du chardon (*Cynara cardunculus*) et à l'extraction de l'enzyme à l'origine de cette activité. Dès lors, de nombreuses recherches ont été menées sur l'aptitude à la coagulation du lait d'un grand nombre d'espèces végétales, à l'extraction des enzymes coagulantes responsables de cette activité, et à la caractérisation des produits (fromages) obtenus.

## 2. Le *Calotropis procera*

Le *Calotropis procera* aussi appelé « arbre à soie » ou « pommier de Sodome » est une plante de la famille des Asclépiadacées qui pousse naturellement dans les zones arides et semi-

arides d’Afrique et d’Asie (Afrique de l’Ouest, Pakistan, Arabie Saoudite) (Gupta et al., 2012; Mossa et al., 1991).

Il s’agit d’un arbuste à bois mou qui ne dépasse pas 6 m de hauteur (Kareem et al., 2008). Les tiges sont cylindriques et les feuilles d’un vert foncé sont opposées, légèrement charnues, et recouvertes d’une légère mousse blanche lorsqu’elles sont jeunes. Les fleurs sont groupées en cime dense et ont une position axillaire ou terminale. Elles sont pédonculées, pentamères et bicolores (violet et blanc). Les fruits sont verts et ovoïdes. Les graines sont aplaties, de couleur grise ou noire et surmontées d’un fin duvet blanc. Toutes les parties de la plante exsudent un latex blanc (**Figure 18**).



<b>Kingdom</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Class</b>	Magnoliopsida
<b>Subclass</b>	Asteridae
<b>Order</b>	Gentianales
<b>Family</b>	Asclepiadaceae
<b>Genus</b>	<i>Calotropis</i> R. Br.
<b>Species</b>	<i>Calotropis procera</i> (Aiton)

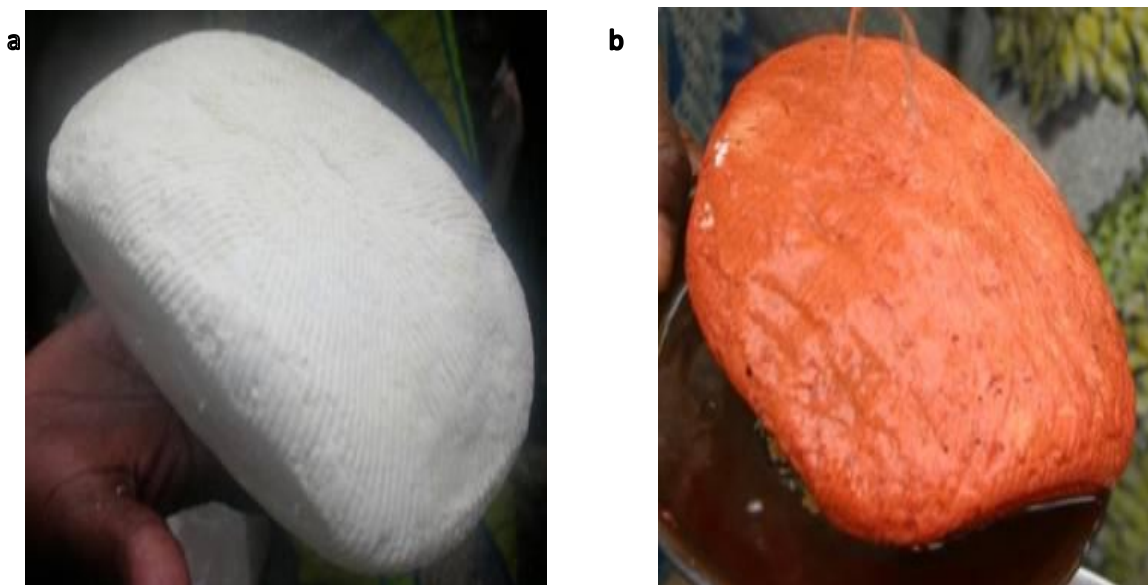
**Figure 18.** L’arbuste *Calotropis procera*, ses fleurs et ses fruits.

Le *Calotropis procera* est connu de nombreuses médecines traditionnelles pour ses vertus thérapeutiques (Sharma et al., 2012). Des études ont mis en évidence l'efficacité antimicrobienne (Abdulmoniem et al., 2012; Kareem et al., 2008; Ahmad et al., 2011; Kawo et al., 2009), anti-helminthique (Kumar & Shivkar, 2004; Sudesh et al., 2012; Murti et al., 2013), antipyrétique (Mossa et al., 1991), anti-inflammatoires (Arya & Kumar, 2005; Babu & Karki, 2011) des différentes parties de la plante. En Inde, les décoctions de la plante sont utilisées en médecine ayurvédique pour traiter la diarrhée, les rhumatismes, l'asthme et comme expectorant et purgatif (Sharma et al., 2011). Au Nigéria, notamment dans le Nord du pays, les populations locales utilisent les extraits de la plante pour traiter les rhumatismes, les dermatoses, la constipation et les indigestions (Kareem et al., 2008; Mainasara et al., 2012).

A l'opposé de ces vertus, le *Calotropis procera* est également connu pour la toxicité de son latex qui provoque des brûlures de la peau et des muqueuses (Kumar & Shivkar, 2004) et une toxicité oculaire pouvant se compliquer en cécité irréversible (Waikar & Srivastava, 2015). De toutes les parties de la plante, les tiges et les racines sont les plus toxiques, probablement en raison de leur teneur élevée en latex (Mainasara et al., 2012).

L'extrait de l'arbuste *Calotropis procera* est bien connu des populations ouest africaines pour ses propriétés coagulantes. Ses feuilles sont utilisées dans la fabrication du fromage wagashi dans des pays tels que le Bénin, le Nigéria, le Togo et le Ghana.

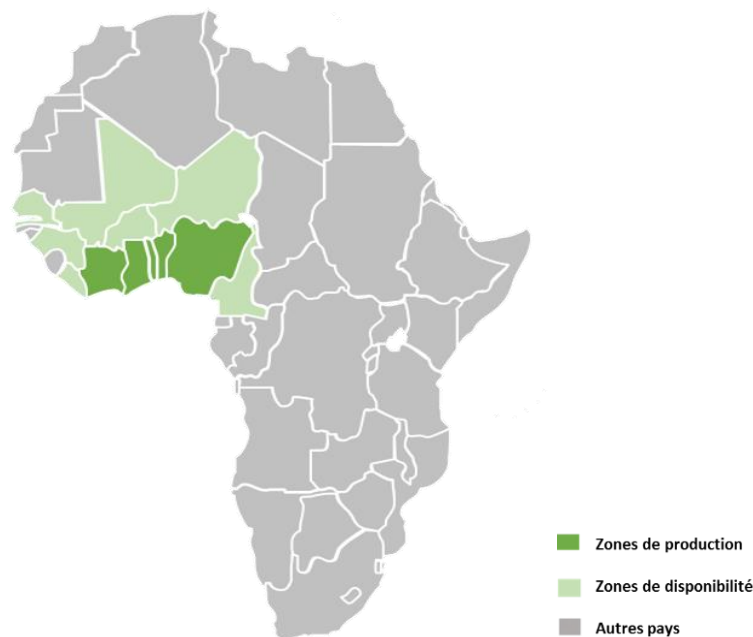
### 3. Le fromage « wagashi »



**Figure 19.** Le wagashi frais (a) et cuit (b). La couleur orange est due à la coloration par l'extrait de *Sorghum panicum*.

### 3.1. Aspects socio-culturels

*Wagashi* est le nom donné au fromage peul fabriqué en Afrique de l’Ouest. Le wagashi est le fromage ouest africain par excellence compte tenu de l’importance de sa production et de l’aire géographique de sa distribution: Bénin, Togo, Nigéria, Ghana et tous les pays voisins (**Figure 20**). Son nom s’adapte aux langages vernaculaires des zones de production: il est appelé « warankashi » ou « wara » au Nigeria, « waragashi » ou « woagashi » au Benin et « wagassi » au Ghana.



**Figure 20.** Zones de production et de commercialisation du Wagashi en Afrique.

Le nom wagassi est composé de 2 parties : « waa » qui veut dire « lait » en langue songhay et « gassi » qui veut dire « gâteau ». Wagassi signifie donc « gâteau de lait ». L’origine du fromage remonte au 17<sup>ème</sup> siècle, période pendant laquelle les communautés sahéliennes, à savoir les Haussas, les Songhays et les Peuls s’installèrent dans le nord du Bénin. La fabrication du wagassi est née de la cohabitation entre les Peulhs producteurs de lait et les Songhays détenteurs de la technologie fromagère du « gassi », fromage à base de lait de chèvre et de présure fabriqué par les Songhays. Cela explique l’origine Songhay du nom wagassi même si le fromage est une spécialité des femmes Peulhs. Avec le temps et la pratique, les peulhs s’approprièrent la technologie de fabrication du fromage et remplacèrent la présure animale par l’extrait de *Calotropis procera* afin de préserver leurs troupeaux (Sow, 2010).

Le commerce du wagashi, même en tant que produit artisanal est très lucratif. Il se fait suivant une chaîne de commercialisation bien organisée allant des zones de fabrication aux pays

frontaliers. Les femmes Peulhs le produisent dans leurs campements, les écoulent dans les villages avoisinants et sur les marchés hebdomadaires auprès des femmes sédentaires qui collectent les fromages et les revendent sur les marchés urbains. Le fromage circule ainsi des campements aux marchés villageois et des grands centres urbains aux pays voisins (Niger, Burkina Faso, Mali). Par la production du wagashi, les Peulhs des zones de production sont devenus riches et leurs élevages beaucoup plus rentables que les élevages sahéliens.

### **3.2. Procédé de fabrication**

Tous les ingrédients entrant dans la fabrication du fromage wagashi sont des produits accessibles dans l'environnement immédiat des Peulhs : lait frais de vache, feuilles de *Calotropis procera*, et écorces de sorgho utilisées comme colorant. Le wagashi est un fromage fabriqué dans un environnement capable de fournir tous les produits entrant dans sa fabrication.

Pour fabriquer le wagashi, le lait frais de vache est filtré à l'aide d'une toile puis mis à chauffer à feu doux. Au lait thermisé, est ajouté l'extrait de l'arbuste *Calotropis procera* et le chauffage continue jusqu'à coagulation. Le coagulum obtenu est cuit jusqu'à ébullition pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum. Le caillé est récupéré dans des moules de raphia ou des moules en matière plastique, et l'égouttage est fait pendant plusieurs heures (**Figure 21**). Quatre à cinq litres de lait sont nécessaires pour fabriquer 1 Kg de fromage (Belewu et al., 2005).

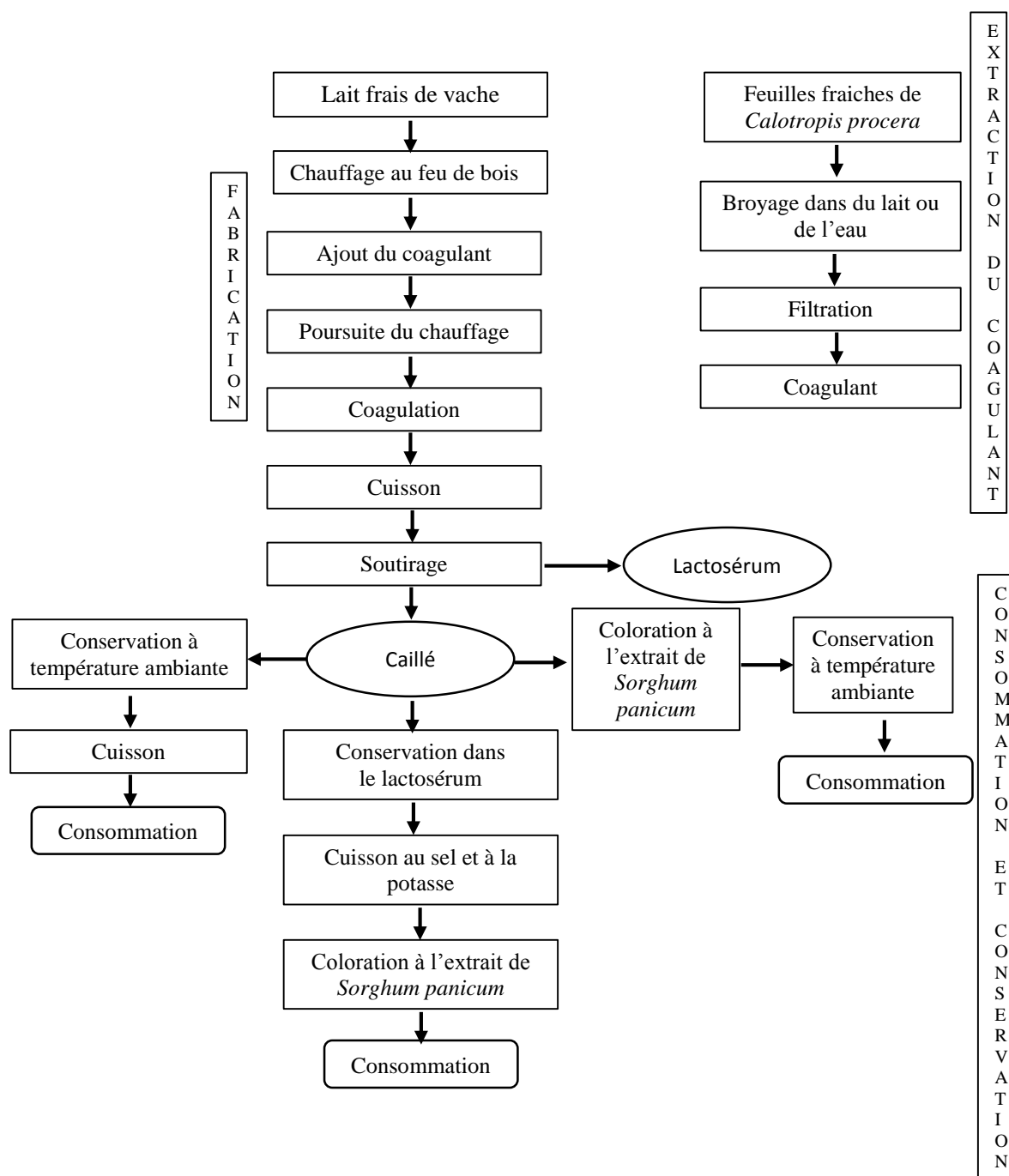


Figure 21. Diagramme de fabrication du fromage wagashi.

### 3.3. Composition globale

Le fromage wagashi est entré dans les habitudes alimentaires et culinaires des pays ouest africains. Il est consommé frais, frit ou cuit et remplace aisément la viande ou le poisson dans beaucoup de mets traditionnels.

L'évaluation de la composition biochimique du fromage a révélé des teneurs en protéines, lipides et minéraux très variables (**Tableau 7**).

**Tableau 7.** *Caractéristiques physico-chimiques du fromage wagashi de fabrication artisanale. Les teneurs sont indiquées en pourcentage.*

	pH	Protéines	Lipides	Lactose	Sels minéraux	Sources
1	6,50	23,10	15,30	-	4,50	Belewu, 2001
2	4,8	37,08	39,00	-	2,53	Alalade & Adeneye, 2006
3	5,2	21,09	5,2	4,27	10,07	Lawal & Adedeji, 2013

Les différences observées sont probablement dues à la disparité des procédés de fabrication, à la qualité du lait utilisé, à la durée de conservation du fromage et aux méthodes d'analyses employées. L'importante variation de la teneur en lipides du fromage wagashi (**Tableau 7**) est principalement imputable aux différences dans les procédés de fabrication. Au cours de certaines fabrications, le film de matière grasse formé à l'interface lait/air au cours du chauffage du lait est retiré, ce qui diminue la teneur en matière grasse du fromage. Malgré ces variabilités, le wagashi peut être considéré comme un apport alimentaire non négligeable surtout pour des populations dont l'alimentation est déficiente en protéines et éléments minéraux (Belewu et al., 2005; Oladipo & Jadesimi, 2013; Ayeni et al., 2014).

Comme pour de nombreux coagulants végétaux, un inconvénient du *Calotropis procera* est son amertume souvent observée dans le fromage frais. L'amertume serait liée à un excès de coagulant au cours de la fabrication du fromage et/ou à l'activité protéolytique importante de l'extrait conduisant à la libération de peptides amers (Adetunji & Salawu, 2008).

### 3.4. Aspects microbiologiques

Lorsque le fromage n'est pas vendu, il est conservé dans son lactosérum pour limiter la perte d'eau. Le fromage ne se conserve que 2 à 3 jours sous cette forme (Belewu et al., 2005; Ashaye et al., 2006; Adetunji & Babalobi, 2011) en raison d'un développement microbien important qui conduit à l'altération du goût et de la texture, rendant le produit impropre à la consommation (Joseph & Akinyosoye, 1997). Le wagashi ne subit pas d'affinage mais les

conditions de conservation (température moyenne de 30°C) favorisent naturellement la croissance des bactéries fermentaires du lait, ce qui peut lui donner un gout acidulé.

En raison des faibles mesures d'hygiène et du manque de standardisation du procédé de fabrication, le wagashi se retrouve en fin de vie avec une charge microbienne très élevée et souvent des isolats pathogènes. Belewu et al. (2005) ont mis en évidence un grand nombre de moisissures (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp. et *Mucor racemosus*) et de bactéries (*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella tiphymurim*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. et *Lactobacillus acidophilus*) dans des échantillons de fromages frais et cuit. Alalade & Adeneye (2006) ont également signalé un nombre de coliformes d'environ  $475 \cdot 10^5$  ufc/g. Les travaux de Adetunji & Arigbede (2011) ont mis en évidence la présence de micro-organismes pathogènes (*Escherichia coli* O157:H7 et *Listeria monocytogenes*) avec des chiffres excédents les normes sanitaires. Ces caractéristiques du wagashi diminuent son acceptabilité par les consommateurs urbains.

Traditionnellement, la cuisson au sel et à la potasse suivie de la coloration à l'extrait de *Sorghum panicum* est utilisée pour ralentir la croissance microbienne et prolonger la durée de vie du fromage (Mazou et al., 2012). Récemment, des conservateurs naturels ont été testés à cette fin : la citronnelle (Belewu et al., 2012), le gingembre (Oladipo et al., 2013) et l'épice *Aframum danielli* (Ashaye et al., 2006) et ont prouvé leur efficacité dans le ralentissement de la croissance microbienne dans le fromage et la prolongation de sa durée de conservation.

### 3.5. Les protéases

Le latex de *Calotropis procera* a fait l'objet de plusieurs études dans le but d'isoler et caractériser ses constituants et les protéases responsables de ses activités pharmacologique et coagulante. Freitas et al. (2007) ont mis en évidence la présence de dismutases, peroxydases, chitinases, protéases à cystéine et protéases acides dans le latex de la plante en utilisant la spectrométrie de masse. Parmi ces enzymes, les proceraines sont les mieux étudiées. Elles se présentent sous 2 formes :

- La proceraine ou proceraine A ou I, est une protéase à cystéine de 30 KDa de poids moléculaire. Elle est active à un pH optimal de 8 et une température de 60°C. Son activité est cependant moins spécifique que celle de la proceraine II ou B (Aworh et al., 1994 ; Dubey & Jagannadham, 2003).
- La proceraine II ou B est également une protéase à cystéine. Son poids moléculaire est de 25 KDa et son activité est optimale à un pH de 7 et une température de 50°C (Aworh



et al., 1994 ; Dubey & Jagannadham, 2003 ; Singh et al., 2010 ; Singh et al., 2013). La proceraine B est très efficace dans la protéolyse de la caséine  $\kappa$  et la coagulation du lait. L'activité coagulante de la proceraine B est catalysée par le magnésium, le calcium et la cystéine et est inhibée par le cuivre (Singh & Dubey, 2011 ; Oseni & Ekperigin, 2013<sup>(a)</sup>).

Des auteurs (Freitas et al., 2007 ; Ramos et al., 2013) ont récemment mis en évidence et caractérisé 3 nouvelles protéases à cystéine distinctes des proceraines A et B. Ces nouvelles protéases ont des poids moléculaires (26213, 26133 et 25086 Da, respectivement) et des activités très proches. Les auteurs ont suggéré que ces protéases provenaient de la même protéine source et étaient modifiées au cours des étapes post-traductionnelles de maturation.

Les proceraines conservent leur activité à des températures supérieures à 70°C (Ogundiwin & Oke, 1983 ; Farid et al., 2007 ; Oseni & Ekperigin, 2013<sup>(a)</sup>, 2013<sup>(b)</sup>; Singh et al., 2010). Par ailleurs, les liaisons peptidiques hydrolysées au cours de la protéolyse n'ont pas encore été identifiées. Récemment, Freitas et al. (2016) ont mis en évidence un peptide de 16 KDa provenant de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  au cours de la coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera*.

## Objectifs et stratégie

La filière laitière au Niger est marquée par une transformation artisanale du lait frais et une transformation industrielle de poudre de lait importée. En plus des produits issus de ces 2 systèmes de transformation, on retrouve sur le marché, des spécialités de la sous-région ouest africaine, dont le wagashi. Le wagashi est très apprécié en Afrique de l’Ouest et entre dans la composition de nombreux plats traditionnels. Ainsi, notre travail s’est intéressé à la fois à l’analyse de la filière laitière et à l’étude de la coagulation du lait par l’extrait de feuilles de *Calotropis procera*, base de la fabrication du fromage wagashi (**Figure 22**).

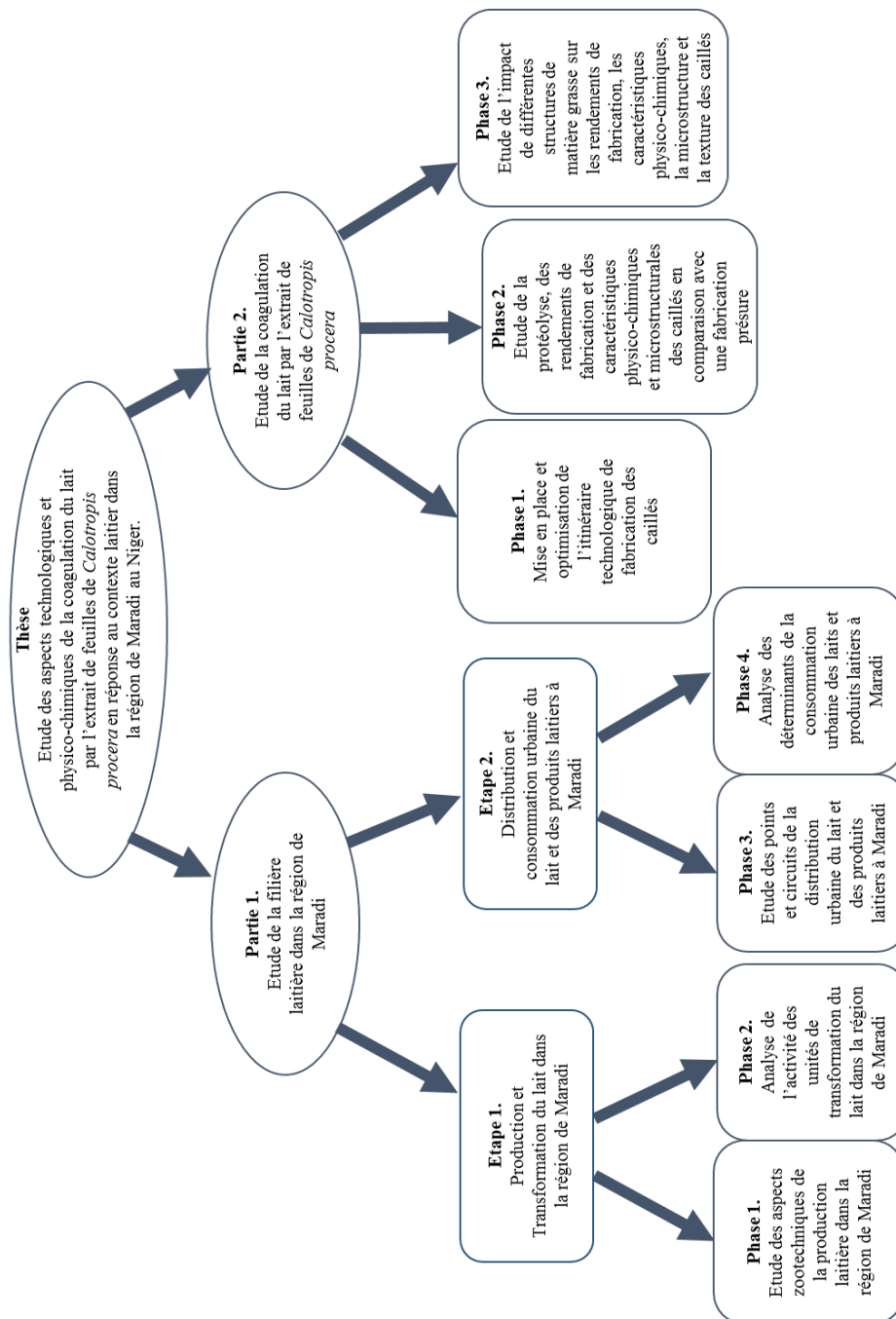
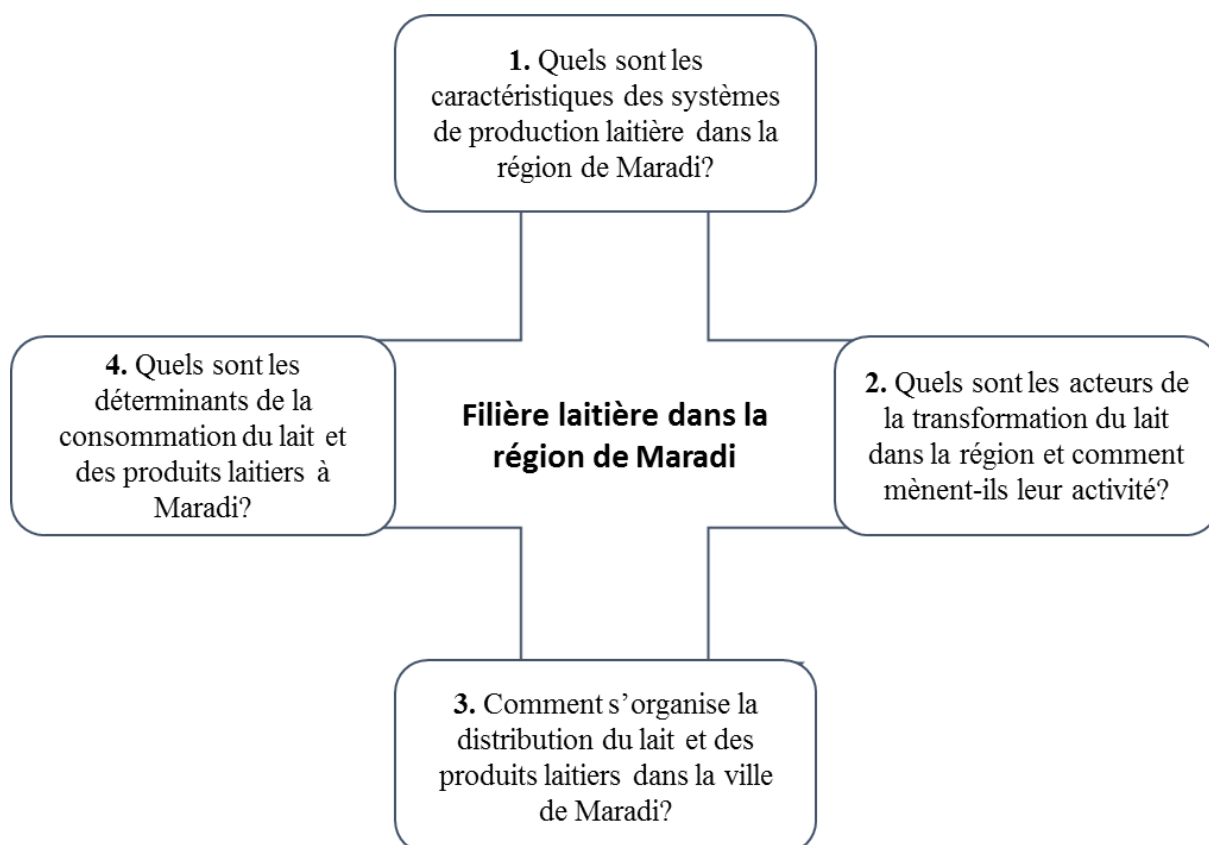


Figure 22. Analyses mises en œuvre et calculs effectués pour répondre aux questions de recherche.

L'*objectif premier* de notre travail a donc été *d'apporter des éléments de compréhension de la filière laitière dans la région de Maradi* en collectant des informations au niveau des 4 maillons de la filière laitière que sont la production, la transformation, la distribution et la consommation.

Les questions qui ont orienté nos recherches dans cette 1<sup>ère</sup> partie de la thèse sont présentées dans la **Figure 23**.



**Figure 23.** Questions de recherches posées pour répondre à l'objectif 1.

Pour répondre à ces questions, notre stratégie a été de collecter des informations auprès des producteurs, transformateurs, distributeurs et consommateurs de lait et produits laitiers dans la région de Maradi à travers des enquêtes par questionnaire. La région de Maradi a été choisie en raison de sa position géographique qui rassemble une zone urbaine et périurbaine principalement agricoles et une zone pastorale. Les pratiques d'élevage, de production de lait, de transformation et de consommation pourraient être influencées par ces zones agro écologiques. Le travail de collecte de données a été effectué durant la 1<sup>ère</sup> et la 2<sup>ème</sup> année de la thèse (2015 et 2016).

Cette 1<sup>ère</sup> partie de notre travail, s'est déroulée en 2 étapes :

- ✓ **Etape 1** : enquête sur la production et la transformation du lait dans la région de Maradi. Cette enquête a consisté à rencontrer 347 producteurs et transformateurs de lait et à leur soumettre des questionnaires semi-ouverts afin de collecter des informations sur leurs activités.
- ✓ **Etape 2** : enquête sur la distribution et la consommation du lait et des produits laitiers dans la ville de Maradi. Elle a concerné 430 distributeurs et consommateurs auxquels nous avons soumis des questionnaires semi-ouverts sur l'activité de distribution, et les habitudes et déterminants de consommation des produits laitiers.

Les données recueillies ont été analysées à l'aide de méthodes de statistiques descriptives et d'analyses uni et multidimensionnelles pour déterminer les corrélations existant entre les variables.

Au vu des résultats obtenus dans cette 1<sup>ère</sup> partie, qui ont montré que les consommateurs étaient en attente de produits laitiers nouveaux et de qualité, parmi lesquels le wagashi, la suite de nos travaux s'est intéressée à la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* utilisé dans la fabrication de ce fromage. Les caillés obtenus ont été caractérisés du point de vue physico-chimique, texturale et microstructurale. La synthèse des données de la littérature nous avait permis de faire le point sur :

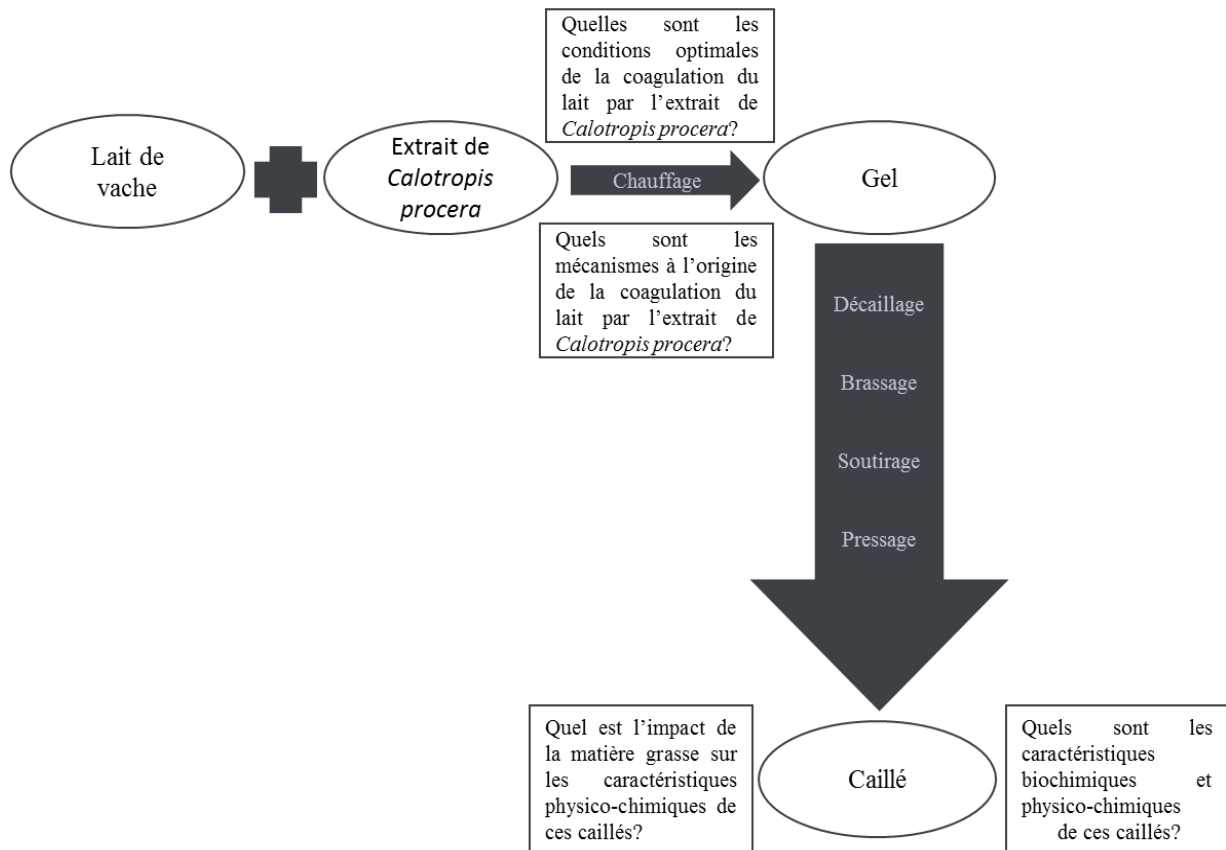
- l'extrait de *Calotropis procera* et son utilisation dans la fabrication du fromage wagashi en Afrique de l'Ouest
- les caractéristiques physico-chimiques du lait et les modifications subies par la micelle de caséine au cours des coagulations acide et enzymatique du lait

La coagulation enzymatique du lait par la chymosine a fait l'objet de nombreux travaux et le mécanisme d'action est à présent relativement bien connu. Les données de ces travaux permettent aux fromagers d'optimiser leurs fabrications et de diversifier leurs produits. Il n'est malheureusement pas de même pour l'extrait de *Calotropis procera*. Quelques travaux se sont intéressés à la purification et la caractérisation des protéases contenues dans le latex de la plante, mais peu ont étudié les mécanismes conduisant à la coagulation du lait par ces protéases.

Ainsi, le 2<sup>nd</sup> **objectif** de ce travail a été ***d'étudier expérimentalement les mécanismes de la coagulation du lait par l'extrait de Calotropis procera en absence et en présence de matière grasse différemment structurée et de déterminer les caractéristiques biochimiques et physico-chimiques des produits obtenus.*** Du lait écrémé puis du lait contenant de la matière grasse homogénéisée ou non ont été utilisés à cet effet. Le but de cette partie était de proposer

un itinéraire technologique permettant de fabriquer des produits gélifiés à l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en optimisant les rendements de fabrication et les caractéristiques organoleptiques des produits.

La **Figure 24** présente les questions de recherche que nous nous sommes posées pour répondre à ce 2<sup>ème</sup> objectif.



**Figure 24.** Questions de recherche posées pour répondre à l'objectif 2.

Pour répondre à ces questions, notre stratégie a été de fabriquer des caillés coagulés à l'extrait de *Calotropis procera* et d'effectuer des analyses physico-chimiques sur les matières premières (lait), les produits obtenus après coagulation (caillés et lactosérums), et tout au long du processus de fabrication (**Figure 25**). Des laits, avec et sans matière grasse ont été reconstitués et utilisés pour la fabrication des caillés et des bilans de matière ont été réalisés au cours de chaque fabrication.

### 1. Matière première (lait)

### 2. Transformation

### 3. Produits (caillé et lactosérum)

<ul style="list-style-type: none"><li>-Mesure de pH</li><li>-Détermination de l'EST et des cendres</li><li>-Dosage des protéines (MAT) et des fractions azotées NCN et NPN</li><li>-Analyse des peptides par RP-HPLC</li><li>-Dosage des minéraux (Ca, K, Na, Mg) par absorption atomique</li><li>-Mesure de la taille des globules gras par granulométrie laser</li><li>-Analyse de la microstructure par microscopie confocale</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Mesure de pH aux différentes étapes</li><li>-Mesure du temps de prise</li><li>-Détermination de l'EST du caillé au cours du pressage</li><li>-Bilan matière</li><li>-Calcul des rendements de fabrication et des coefficients de récupération des constituants laitiers</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Mesure de pH</li><li>-Détermination de l'EST et des cendres</li><li>-Dosage des protéines (MAT) et des fractions azotées NCN et NPN</li><li>-Analyse des peptides par RP-HPLC dans le lactosérum</li><li>-Dosage des minéraux (Ca, K, Na, Mg) par absorption atomique</li><li>-Mesure de la taille des globules gras par granulométrie laser (lactosérum)</li><li>-Analyse de la microstructure par microscopie confocale (caillé et lactosérum) et microscopie électronique à balayage (caillé)</li></ul>
--	--	---

**Figure 25.** Analyses mises en œuvre et calculs effectués pour répondre aux questions de recherche.

Les travaux de cette 2<sup>ème</sup> partie de la thèse se sont déroulés en 3 phases (**Figure 22**) :

- ✓ **Phase 1** : mise au point d'un itinéraire technologique de fabrication d'un caillé fromager en utilisant l'extrait de *Calotropis procera* comme coagulant. Cette phase a consisté à déterminer, à l'échelle de la paillasse, les meilleures conditions d'utilisation (pH, température, concentration en calcium, quantité de coagulant, type de lait) du coagulant végétal. Une fois les conditions optimales déterminées, un itinéraire technologique de fabrication reproductible a été mis en place et a été utilisé pour les phases suivantes.
- ✓ **Phase 2** : comprendre le mécanisme de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. Dans cette étape, une série de fabrications de caillé fromager a été réalisée en utilisant l'extrait de *Calotropis procera* ou la présure. La matière première et les produits étaient caractérisés du point de vue physico-chimique et comparés à la fabrication présure prise comme témoin.
- ✓ **Phase 3** : comprendre l'impact de la structure de la matière grasse sur les rendements de fabrication et les caractéristiques des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de *Calotropis procera*. Pour ce faire, le lait a été reconstitué avec de la crème ou de la MGLA homogénéisée ou non avant de procéder à la fabrication des caillés. Les

caillés ont été ensuite caractérisés du point de vu biochimique, microstructurale et texturale.

L'originalité de notre travail réside dans :

- ✓ Les analyses multidimensionnelles réalisées sur les données qualitatives et quantitatives recueillies au cours des enquêtes de terrain (**Objectif 1**). En effet, dans la plupart des études réalisées sur les filières laitières des pays du Sud, ce sont des méthodes d'analyses descriptives (moyennes, écarts types, fréquences, fréquences cumulées) qui sont utilisées dans le traitement des données. Dans le cadre de nos travaux, vue que nous avons obtenu d'importantes matrices de données qualitatives et quantitatives, nous avons choisi d'utiliser l'analyse en composante multiple (ACM) qui est une méthode d'analyse multidimensionnelle permettant de synthétiser des données à la fois quantitatives et qualitatives et de mettre en évidence des relations existants entre les différentes variables.
- ✓ L'utilisation de l'extrait de *Calotropis procera* dans la fabrication des caillés sur une plateforme technologique (**Objectif 2**). Le wagashi est habituellement fabriqué à l'échelle artisanale, suivant un protocole de fabrication empirique et non standardisé. L'un des points clés de notre travail a été de définir les conditions physico-chimiques (pH, température, matière première, ajout ou non d'ions calcium) optimales d'utilisation de l'extrait de *Calotropis procera*. Le but était d'obtenir un gel de qualité constante, pouvant subir par la suite, les opérations de décaillage, brassage et pressage. Le protocole de fabrication ainsi mis en place a été rigoureusement suivi dans la fabrication des caillés tout au long de la thèse.
- ✓ L'utilisation de la chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem pour analyser le profil peptidique des lactosérums. La RP-HPLC couplée à la spectrométrie de masse en tandem est une méthode d'analyse performante permettant d'identifier des séquences peptidiques avec un seuil de confiance de 95% pour les peptides de plus de 8 acides aminés. Nous avons choisi cette méthode d'analyse pour identifier les peptides présents dans les lactosérums après coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera* et la chymosine dans le but de comprendre l'activité coagulante de l'extrait végétal et la protéolyse en comparaison à celle de la chymosine.
- ✓ L'utilisation des techniques de microscopie électronique à balayage (MEB) et de microscopie confocale (CLSM) pour étudier l'organisation des caillés et comprendre

les interactions entre ses différents constituants notamment la matière grasse et les protéines formant le réseau.

Dans la partie Résultats et discussion, les différentes études réalisées au cours de la thèse sont scindées en 2 grandes parties et présentées sous forme de chapitres.

La 1<sup>ère</sup> partie intitulée « **Etude préliminaire de la filière laitière au Niger : cas de la région de Maradi** » est constituée de 2 chapitres.

Le 1<sup>er</sup> chapitre « **Caractérisation des systèmes de production laitière et des unités de transformation** » présente les résultats relatifs à l'analyse des données recueillies au cours des enquêtes de terrain sur les aspects de production et de transformation du lait dans la région de Maradi.

Le 2<sup>ème</sup> chapitre est consacré aux résultats obtenus après l'analyse des données recueillies au cours des enquêtes sur la distribution et la consommation du lait et des produits laitiers dans la ville de Maradi.

La 2<sup>ème</sup> partie des résultats résume les données obtenues sur **l'étude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera*** et est subdivisée en 3 chapitres.

Le 1<sup>er</sup> chapitre est consacré à la description et discussion des résultats préliminaires ayant conduit à la mise en place du protocole de fabrication des caillés et à l'étude de la protéolyse. Il est intitulé « Optimisation des conditions physico-chimiques de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* ».

Le 2<sup>ème</sup> chapitre présente les résultats de l'étude de la protéolyse de l'extrait coagulant de *Calotropis procera* en comparaison avec l'activité protéolytique de la chymosine. Les résultats de ce chapitre ont fait l'objet de la publication « Physico-chemical characterization of dairy gel obtained by a proteolytic extract from *Calotropis procera* - A comparison with chymosin » dans le journal Food Chemistry.

Le 3<sup>ème</sup> chapitre est intitulé « Impact de la structure de la matière grasse sur les rendements de fabrication, la microstructure et la texture des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de *Calotropis procera* ». Il a été soumis dans le journal Food Research International sous le titre « Dairy curd coagulated by a plant extract of *Calotropis procera*: role of fat structure on the chemical and textural characteristics ». Il présente les résultats obtenus sur la caractérisation biochimique, microstructurale et texturale des caillés obtenus par



coagulation de laits reconstitués avec différentes structures de matière grasse coagulés avec l'extrait de *Calotropis procera*.

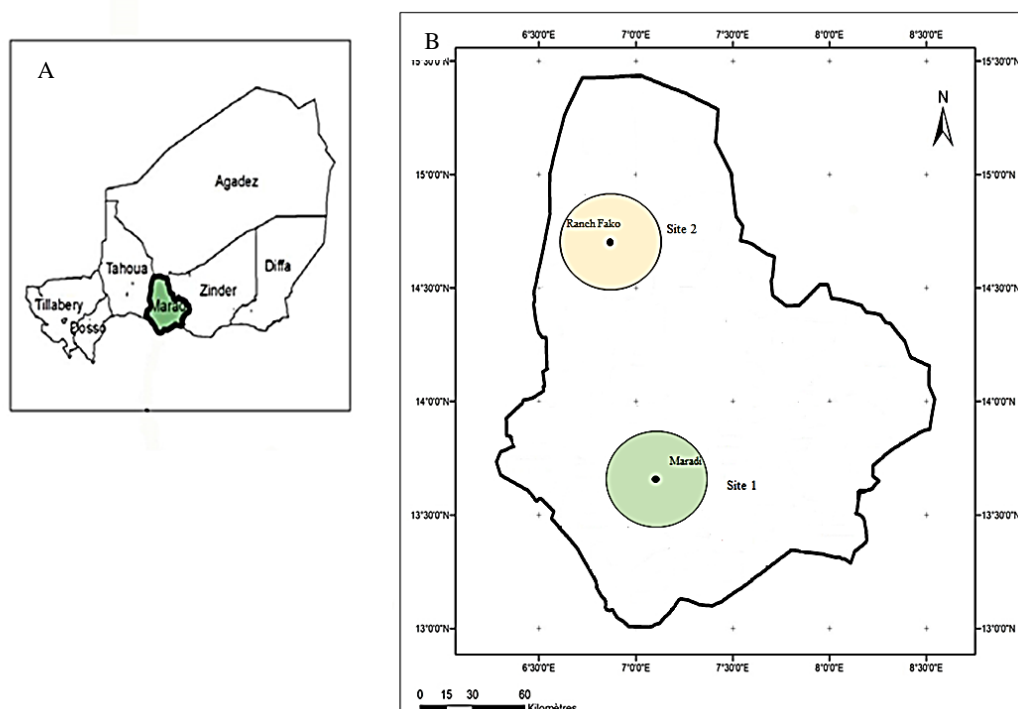
Les différentes formes de valorisation de la thèse (publications, posters, conférences) sont présentées en annexe.

### I. Collecte et traitements statistiques des données de terrain (Partie 1)

#### 1. Collecte de données

##### 1.1. Choix du terrain d'enquête

Afin de décrire la chaîne de valeur lait dans la région de Maradi, des données ont été recueillies sur la base de 4 questionnaires portant respectivement sur la production, la transformation, la distribution et la consommation du lait et des produits laitiers dans la région de Maradi. Les zones concernées étaient les zones urbaine et périurbaine de la ville de Maradi (**Site 1**) et la zone pastorale du ranch Fako Nord-Dakoro (**Site 2**) pour les enquêtes sur la production et la transformation du lait et des produits laitiers. Un rayon de 30 Km était choisi pour délimiter la zone périurbaine autour de la ville de Maradi et la zone pastorale autour du ranch Fako Nord-Dakoro (**Figure 26**). Les données sur la distribution et la consommation ont été recueillies uniquement en zone urbaine de la ville de Maradi dans les quartiers de Zaria, Maradaoua, Limantchi, Ali Dan Sofo, Bourja, Nouveau carré, Soura Bildi, Sabon Gari, Yan Daka et Bagalam.



**Figure 26.** Délimitation de la zone d'étude. (A) : région de Maradi en vert dans la carte du Niger et (B) : Position des sites 1 et 2 dans la région de Maradi.

La région de Maradi a été choisie en raison de sa situation géographique : on y trouve une zone principalement agricole au Sud où les précipitations sont abondantes et les sols propices à l'agriculture, et une zone pastorale au Nord où l'activité prédominante de la population est l'élevage. La région de Maradi est située au Centre-Sud du Niger, entre le département de Zinder à l'Est et celui de Tahoua à l'Ouest. Elle partage au Sud, une frontière de 150 Km avec le Nigéria, le long de laquelle on observe une dynamique importante d'échanges commerciaux transfrontaliers (exportation de bétail sur pied et de produits agricoles et importation d'hydrocarbure et divers produits manufacturés) (Abdo, 2008). La région de Maradi couvre une superficie de 41 796 Km<sup>2</sup> dont 71 % de terres agricoles et 25 % de surface pastorale. C'est la 2<sup>ème</sup> grande ville du Niger après la capitale Niamey, et également la capitale économique du pays. Sa population était estimée à environ 3,5 millions habitants soit 20 % de la population du pays selon le dernier recensement de la population (INS, 2012), ce qui fait d'elle la ville la plus peuplée du pays. La population est majoritairement rurale (86 %) et son économie est essentiellement basée sur le commerce, l'agriculture et l'élevage. L'ethnie prédominante est le Haussa à laquelle se mélangent les Peuls, les Touaregs et les Zarmas.

La collecte des données a concerné un échantillon de 195 producteurs, 152 transformateurs, 225 distributeurs et 205 consommateurs de lait et produits laitiers, rencontrés au hasard dans les périmètres délimités par l'étude. Les questionnaires identifiaient les acteurs de la filière (sexe, âge, niveau d'instruction, appartenance ethnique) et les caractéristiques de leurs activités (mode d'acquisition, taille et composition des troupeaux, gestion de la ressource lait, type de lait transformé dans les unités de transformation, nature des produits laitiers commercialisés, méthodes de conservation des produits, déterminants de la consommation des produits). Les 4 questionnaires utilisés dans l'étude sont présentés dans les **Annexes 1, 2, 3 et 4** du manuscrit respectivement pour les enquêtes de production, transformation, distribution et consommation.

## **1.2. Réalisation des enquêtes**

Les enquêtes sur la production et la transformation du lait et des produits laitiers ont été conduites du 10 au 22 Avril 2015. Une équipe de 3 enquêteurs, 1 chauffeur et 1 superviseur était constituée. Dans le site 1, les déplacements étaient orientés par un guide recruté à l'AREN de Maradi (Association pour la Redynamisation de l'Elevage au Niger), qui a facilité également le contact avec les chefs coutumiers des groupements enquêtés. Dans le site 2, 2 fonctionnaires du ranch Fako Nord-Dakoro s'étaient joints à l'équipe et avaient endossé le rôle de guides et d'enquêteurs. Après avoir pris contact avec les chefs des groupements, une réunion était

organisée au cours de laquelle les membres des groupements étaient briefés sur l'objectif de la mission. Chaque producteur ou transformateur consentant à participer à l'étude était interrogé individuellement par un enquêteur qui consignait les réponses dans le questionnaire correspondant. Les coordonnées GPS de tous les groupements enquêtés ont été relevés à l'aide d'un GPSMAP 62 (Garmin, Kansas, USA).

La collecte des données sur la distribution et la consommation du lait et des produits laitiers a été réalisée les 25 et 26 Novembre 2016. Une équipe de 10 enquêteurs avait été constituée et briefée sur l'organisation du questionnaire, le but et le déroulement de la collecte des données. Chaque enquêteur avait en charge un quartier de la ville de Maradi et  $40 \pm 5$  questionnaires dont 20 destinés aux distributeurs et 20 aux consommateurs avec une marge de 5 questionnaires. Les enquêteurs se déplaçaient à pieds ou à moto et rencontraient les distributeurs et consommateurs avec qui ils s'entretenaient individuellement à l'aide des questionnaires correspondants.

## 2. Formatage des données

### 2.1. Transformation préalable de certaines variables

Toutes les réponses aux questions à choix multiples avaient été transformées pour être présentées dans les jeux de données comme des réponses à des questions à choix unique. En guise d'exemple, la transformation des réponses à la question concernant les types de matières premières utilisées dans les unités de transformation de lait est présentée dans la **Figure 27**.

Types de matières premières utilisées	Matières premières utilisées	
	= lait en poudre	= lait frais
Lait en poudre + Lait frais	Oui	Oui
Lait en poudre	Oui	Non
Lait frais	Non	Oui

**Figure 27.** Exemple de transformation des réponses aux questions à choix multiple dans le jeu de données relative à l'enquête de transformation.

### 2.2. Format final des jeux de données

Les données collectées pour chaque questionnaire ont été mises en forme dans une matrice notée X. Par définition, X était la matrice contenant I lignes et J colonnes ; chaque ligne

i correspondant à un individu ayant répondu à une enquête donnée (*i.e.* un individu statistique) et chaque colonne j correspondant à une caractéristique à propos de l'individus ou de son activité (production, transformation, distribution, consommation) (*i.e.* une variable) ; et xij correspondant à la réponse du transformateur i pour la caractéristique j. Les libellés des variables ainsi que leur descriptif pour les 4 jeux de données correspondant aux 4 enquêtes effectuées sont présentées dans l'**Annexes 5**.

### **3. Analyses statistiques des données**

Les analyses statistiques décrites ont été réalisées grâce au logiciel R version 3.3.3 (R Core Team, 2017). Les différents graphiques ont été réalisés grâce au package R ggplot2 (Wickham, 2009).

#### **3.1. Analyse préliminaire de la composition de l'échantillon**

Dans le but d'avoir un résumé des caractéristiques des individus interrogés au cours de chaque enquête, les variables des thématiques « site d'implantation de l'activité », « informations complémentaires sur l'activité », « caractéristiques identitaires du répondant au questionnaire » et « problèmes rencontrés dans l'exécution de l'activité » étaient succinctement décrites à l'aide de statistiques descriptives élémentaires.

Le type de statistiques descriptives élémentaires qu'il était possible d'obtenir pour une variable donnée dépendait du type de la variable. Si la variable était quantitative, les principales statistiques descriptives élémentaires qu'il était possible d'obtenir étaient la valeur minimale, la valeur du premier quartile, la valeur moyenne, la valeur médiane, la valeur du troisième quartile, et la valeur maximale de la variable.

Si la variable était qualitative, les principales statistiques descriptives élémentaires qu'il était possible d'obtenir étaient les différentes modalités de la variable (*i.e.* les différentes valeurs prises par la variable) et l'effectif de chacune de ces modalités au sein du jeu de données. Ces différentes statistiques descriptives ont été représentées graphiquement grâce à des diagrammes en « camembert ».

#### **3.2. Etude du lien entre deux variables**

Dans le but de savoir si une variable X influençait les activités de production transformation, distribution et consommation dans nos 4 jeux de données, des analyses statistiques univariées ont été réalisées. Ces analyses ont concerné les variables les plus caractéristiques de nos jeux de données telles que le site d'implantation des élevages et des

unités de transformation, le genre du distributeur, l'âge et l'activité professionnelle des consommateurs... Les liens entre les variables caractéristiques et les autres variables (qualitatives ou quantitatives) des quatre jeux de données ont été étudiés indépendamment.

Pour évaluer la relation entre la variable X (par exemple le type de site dans le jeu de données production) et une autre variable qualitative du jeu de données, un test du  $\chi^2$  était réalisé. Ce test d'hypothèse permettait de tester l'hypothèse nulle selon laquelle le type de site et l'autre variable qualitative étaient indépendantes. Plus la probabilité critique (p. value) associée à ce test était faible, plus l'indépendance entre la variable X (type de site) et l'autre variable qualitative était questionnable, et donc le lien entre le type de site et l'autre variable qualitative était significatif. Si ce lien était significatif, alors les liens entre les différentes modalités de la variable X (par exemple pastoral, urbain et périurbain pour la variable type de sites) et les modalités de l'autre variable qualitative étaient à leur tour explorés à l'aide de tests statistiques de valeurs tests, comme décrit par Husson et al. (2011). La mise en place de ces tests statistiques supplémentaires permettait de déterminer si, par exemple, une modalité de l'autre variable qualitative était significativement surreprésentée pour les producteurs implantés en zone pastorale par exemple (comparativement aux observations faites sur la globalité de l'échantillon de producteurs ou transformateurs).

Pour évaluer la relation entre la variable X (par exemple le type de site dans le jeu de données production) et une variable quantitative du jeu de données, une analyse de variance à un facteur permettant de modéliser la variable quantitative en fonction du type de site était préalablement réalisée. À la suite de cette analyse de variance, un test de Fisher était réalisé. Ce test d'hypothèse permettait de tester l'hypothèse nulle selon laquelle le type de site n'avait pas d'effet sur la variable quantitative. Plus la probabilité critique (p. value) associée à ce test était faible, plus l'absence d'un effet du type de site sur la variable quantitative était questionnable, et donc plus le lien entre le type de site et la variable quantitative était significatif. Si ce lien était significatif, alors les liens entre les différents types de sites et les valeurs de la variable quantitative étaient à leur tour explorés à l'aide de tests statistiques de valeurs tests, comme décrit par Husson et al. (2011). La mise en place de ces tests statistiques supplémentaires permettait de déterminer si, par exemple, les producteurs en zone pastorale présentaient des valeurs moyennes significativement importantes pour la variable quantitative d'intérêt (comparativement aux observations faites sur la globalité de l'échantillon de producteurs).

Le package R FactoMineR (Lê & Husson, 2008) était utilisé pour réaliser de manière automatique ces différentes analyses univariées.

### 3.3. Création de typologies ou clusters

Une analyse multidimensionnelle était réalisée sur les données de chaque enquête afin d'étudier la variabilité inter-individus. Compte tenu du taux important de variables qualitatives au sein des jeux de données (**Annexe 5**), une Analyse des Correspondances Multiples (ACM) était réalisée. L'ACM peut être vue comme une Analyse en Composantes Principales (ACP) dédiée à l'analyse de données qualitatives. Tout comme l'ACP, l'ACM permet de mettre en évidence les principaux axes de diversité au sein d'un jeu de données multidimensionnel, dans lequel chaque individu statistique est décrit par un ensemble de variables.

L'ACM permet d'obtenir 2 types de représentations majeures : une représentation des individus statistiques et une représentation des modalités des variables qualitatives. Sur la représentation des individus statistiques, 2 individus statistiques sont proches s'ils présentent des profils de réponses aux différentes variables similaires. Ce type de représentation permet donc de mieux comprendre les similarités et les différences de caractéristiques observées au sein de l'échantillon interrogé. Sur la représentation des modalités, 2 modalités sont proches si elles caractérisent les mêmes individus statistiques. L'un des avantages de l'ACM est que ces 2 types de représentations peuvent être superposées et, par conséquent, interprétés conjointement. Plus précisément, sur la représentation superposée des individus statistiques et des modalités, une modalité est au barycentre des individus statistiques qu'elle caractérise, et un individu statistique est au barycentre des modalités qui le caractérisent.

Dans l'objectif que la distance entre 2 individus reflète une différence relative à la conduite de leurs activités, seules les variables véhiculant ce type d'informations étaient choisies comme variables actives dans l'analyse : les variables relatives aux thématiques du questionnaire d'enquête en lien avec les matières premières et coagulants utilisés ou en lien avec les différents types de produits finis fabriqués ont été considérées comme variables actives dans le traitement des données relative à l'activité de transformation du lait et des produits laitiers. L'ACM ne permettant de gérer comme variables actives que des variables qualitatives, les variables quantitatives étaient au préalable, discrétisées sous la forme de nouvelles variables qualitatives avec des modalités correspondant à des intervalles d'effectifs égaux. Toutes les autres variables (qualitatives ou quantitatives) des jeux de données ont été considérées comme variables illustratives lors de l'analyse. Un récapitulatif du mode de traitement des différentes variables dans l'ACM est présenté en **Annexe 6**.

Dans l'objectif de déterminer si des groupes homogènes de producteurs, transformateurs, distributeurs ou consommateurs (appelés clusters) existaient au sein des échantillons, l'ACM était suivie d'une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) réalisée sur les coordonnées des individus statistiques sur le premier plan factoriel de l'ACM (distance euclidienne et critère d'agglomération).

### **3.4. Analyses complémentaires**

Pour avoir une idée des perspectives et pistes d'amélioration possibles pour les activités des différents maillons de la filière laitière, les variables relatives aux problèmes rencontrés par les différents acteurs de la chaîne, à leurs besoins en formation professionnelle, et à leurs perspectives et souhaits pour l'avenir ont été succinctement décrites à l'aide de statistiques descriptives élémentaires.

Plus précisément, les effectifs des différentes modalités de ces variables étaient calculés. Dans le but d'obtenir une visualisation esthétique et facilement interprétable de ces informations, une représentation graphique de type « word cloud » était privilégiée. Dans ce type de représentation, et ce pour une variable donnée, la grosseur d'un mot est proportionnelle à son taux de citation dans le panel.

La fonction wordcloud package R wordcloud (Fellows, 2014) a été utilisé pour réaliser les représentations en word clouds.

## **II. Matières premières (Partie 2)**

### **1. Laits cru, pasteurisé, UHT et poudre de lait écrémé low heat**

Le choix de la matière première en vue de l'utilisation de l'extrait végétal comme coagulant a concerné 5 types de laits : le lait entier, le lait pasteurisé, le lait UHT, le lait reconstitué à partir de poudre de lait écrémé low heat et une suspension de phospho-caséinate natif (PPCN). La composition de ces laits est présentée dans le **Tableau 8**. Les laits pasteurisé et UHT provenaient du commerce et étaient conservés à 4 °C avant utilisation. Le lait entier provenait d'une ferme d'élevage de vaches Froment du Léon (Earl Lemarchand, Pacé, France) et était conservé aussi à 4 °C pendant 48 h. La poudre de lait écrémé provenait de Lactalis Ingrédients (Retiers, France). Il avait subi un faible traitement thermique au cours de la fabrication et son WPNI (Whey Protein Nitrogen Index) était > 6. Le WPNI, est un indice de mesure de l'effet du traitement thermique appliqué au lait pendant la fabrication de poudre. Un



WPNI de 6 correspond à une poudre de lait ayant subi un faible traitement thermique ou low heat. Le lait en poudre était stocké dans des sacs kraft multicouches à température ambiante.

La reconstitution du lait en poudre était réalisée avec de l'eau distillée de manière à obtenir un extrait sec total (EST) de 10 %, valeur proche de celle d'un lait écrémé. Le lait reconstitué était laissé 12 h à 4 °C avant utilisation pour permettre une bonne dissolution de la poudre.

*Tableau 8. Caractéristiques physico-chimiques des laits.*

	Teneur en eau (%)	Protéines (%)	Lipides (%)	Cendres (%)
Lait entier cru	90	3,3	3,6	1
Lait 1/2 écrémé micro-filtré	90	3,2	1,6	1
Lait écrémé pasteurisé	90	3,2	0	1,2
Lait entier UHT	89	3,2	3,6	1,3
Lait en poudre reconstitué (10 %)	92	3,0	Traces	0,8

## **2. Matière grasse laitière anhydre**

La matière grasse laitière anhydre (MGLA) utilisée dans la reconstitution des laits de fabrication provenait de chez Corman Ingrédients (Limbourg, Belgique). Elle était constituée à 99,9 % de matière grasse et était conservée avant utilisation à 4 °C.

## **3. Crème**

La crème utilisée dans la reconstitution des laits de fabrication était obtenue par écrémage de lait entier de vache provenant d'une ferme d'élevage de vaches de race Froment du Léon (Earl Lemarchand, Pacé, France). Le lait était préalablement chauffé à 50 °C puis écrémé à l'aide d'une écrémeuse Elecrem 3 (Elecrem, Vanves, France).

## **4. Présure**

La présure utilisée pour la coagulation du lait était une préparation de chymosine pure 100 % (CHYMAX-200, Saint-Germain-lès-Arpajon, France). Elle était diluée 10 fois dans de l'eau distillée juste avant utilisation et était utilisée à raison de 40 mL/Kg de lait.

## 5. Feuilles de *Calotropis procera*

Les feuilles de *Calotropis procera* étaient récoltées dans la région de Maradi, au Niger où elles étaient nettoyées à l'eau puis séchées à l'ombre, à 30 °C, pendant 7 jours avec des retournements constants pour éviter le développement des moisissures. Elles étaient ensuite transportées au laboratoire STLO où elles étaient broyées grossièrement à l'aide d'un mixeur (**Figure 28**), conditionnées dans des flacons hermétiquement fermés et conservées à 20 °C.



*Figure 28. Poudre de feuilles séchées de Calotropis procera.*

### III. Préparation des matières premières et produits

#### 1. Détermination des conditions optimales d'utilisation du coagulant végétal

##### 1.1. Type de lait et dose de coagulant

Afin de déterminer le type de lait sur lequel l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* avait une activité optimale, 5 types de laits étaient utilisés : du lait cru de vache, du lait pasteurisé, du lait UHT, du lait reconstitué à 10 % d'extrait sec à partir de poudre de lait écrémé low heat et une solution de PPCN à 25 g/L. Des concentrations en feuilles de *Calotropis procera* de 0, 1, 3, 5, 7 et 9 g/L de lait étaient utilisées pour déterminer la dose optimale du coagulant. Les tests de coagulation étaient réalisés à 95 °C, conformément au procédé traditionnel de fabrication du wagashi. Les temps de prise (exprimés en minutes) et les fractions de NPN étaient déterminés pour chaque type de lait. Les valeurs de NPN des extraits aqueux de feuilles de *Calotropis procera* aux différentes doses de matériel végétal étaient à chaque fois déduites des valeurs de NPN des gels aux doses correspondantes. L'aptitude à l'égouttage des gels obtenus était évaluée en mesurant la masse des lactosérums et caillés obtenus après filtration des gels pendant 12 h à 4 °C. Les tests de coagulation étaient réalisés 3 fois pour chaque couple lait-dose de coagulant.

## **1.2. Température de coagulation**

Pour déterminer la température optimale de coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, les tests de coagulation étaient effectués aux températures de 45, 55, 75 et 95 °C. Du lait reconstitué à 10 % d'extrait sec à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillé était utilisé avec la concentration en feuilles de 5 g/L. Les tests étaient réalisés 3 fois pour chaque couple température-concentration en feuilles et les temps de prise étaient déterminés.

## **1.3. pH**

L'acidification du lait était obtenue par ajout de Glucono-delta lactone (GDL) (Chr Hansen, Danemark) à différentes concentrations (0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L). Le mélange lait + GDL était laissé au repos 12 h à 4 °C pour permettre une bonne hydrolyse de la GDL. Les laits acidifiés étaient coagulés en utilisant une concentration de 5 g/L de feuilles de *Calotropis procera* et une température de 75 °C. Les temps de prise étaient déterminés et les gels obtenus étaient filtrés (12 h sur du papier filtre à 15 µm de pores). Les lactosérums et caillés ainsi séparés étaient pesés. Chaque série de coagulation était répétée 3 fois.

## **1.4. Concentration en calcium**

Pour étudier l'impact du calcium sur la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, du lait reconstitué à 10 % d'extrait sec à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillé étaient supplémentés de 0 ; 0,035 ; 0,050 et 0,100 g/Kg à partir d'une poudre de chlorure de calcium dihydraté (Prolabo, Leuven, Belgique), 1 h avant le début de la coagulation. Les pH étaient corrigés à l'aide d'une solution de NaOH 0,5 N puis les volumes étaient ajustés à la même valeur avec de l'eau pure. Les laits ainsi préparés étaient chauffés à 75 °C puis coagulés en utilisant une concentration de 5 g/L de feuilles de *Calotropis procera*. Les temps de prise étaient chronométrés et les gels obtenus étaient filtrés 12 h à 4 °C. Les lactosérums et caillés obtenus étaient pesés. Les tests de coagulation étaient répétés 3 fois.

## **1.5. « Evaluation sensorielle »**

Afin de choisir la meilleure dose de coagulant du point de vue acceptabilité des caillés par le consommateur, un test sensoriel était réalisé sur des gels fabriqués avec différentes doses de coagulant (3, 5, 7 et 9 g/L) auprès d'un échantillon de 10 individus. L'odeur, l'amertume et l'acceptabilité générale des caillés étaient évaluées sur une échelle de 0 à 10. La note de 0 indiquait une faible odeur, une faible amertume et une faible acceptabilité. La note de 10

indiquait une forte odeur, une forte amertume et une excellente acceptabilité. Chaque dose de coagulant était caractérisée par la moyenne de 10 évaluations concernant ces 3 paramètres.

## 2. Préparation des laits de fabrication

Pour éviter les variations de composition de la matière première et son impact sur les produits, les laits destinés à la préparation des caillés par l'extrait de *Calotropis procera* et la chymosine étaient reconstitués à partir de la poudre de lait écrémé low heat et de MGLA ou crème. La reconstitution permettait ainsi d'avoir des laits standardisés en protéines et en lipides.

La MGLA était rajoutée au lait à raison de 35 g/Kg. Elle était préalablement chauffée à 50 °C puis mélangée à 4 L de lait thermisé à 60 °C à l'aide d'un ultra turrax IKA T25 (ImLab, Lille, France) à 10000 tours par minute (rpm) pendant 15 min. Le mélange était ensuite incorporé au volume total de lait reconstitué puis homogénéisé à 100 + 10 bars à 60 °C à l'aide d'un homogénéisateur Rannie (Seaborg, Danemark).

Lorsque la crème était utilisée, les teneurs en protéines et en matière grasse de la crème étaient préalablement déterminées en utilisant un lactoscope Humeau (La-Chapelle-sur-Erdre, France). Les quantités de poudre de lait, d'eau et de crème à utiliser étaient calculées en fonction de la teneur en eau, en protéine et en matière grasse de la crème sur la base de l'équation suivante :

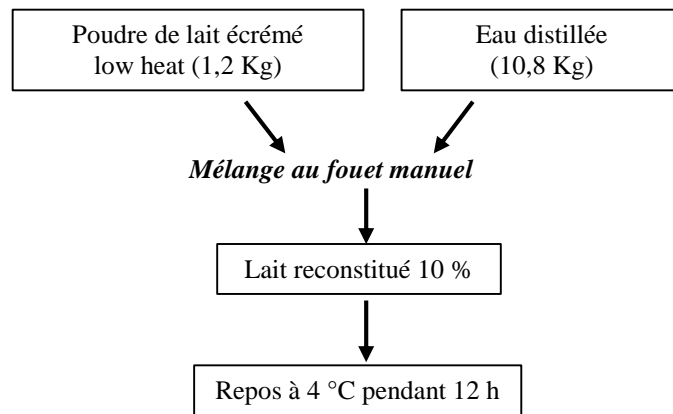
$$\begin{cases} a + b + c = 12 \\ a \times \text{TP eau} + b \times \text{TP crème} + c \times \text{TP poudre} = 12 \times \text{TP lait} \\ a \times \text{TB eau} + b \times \text{TB crème} + c \times \text{TB poudre} = 12 \times \text{TB lait} \end{cases}$$

Où TP = Taux Protéique ; TB = Taux Butyrique et 12 Kg la quantité de lait reconstitué.

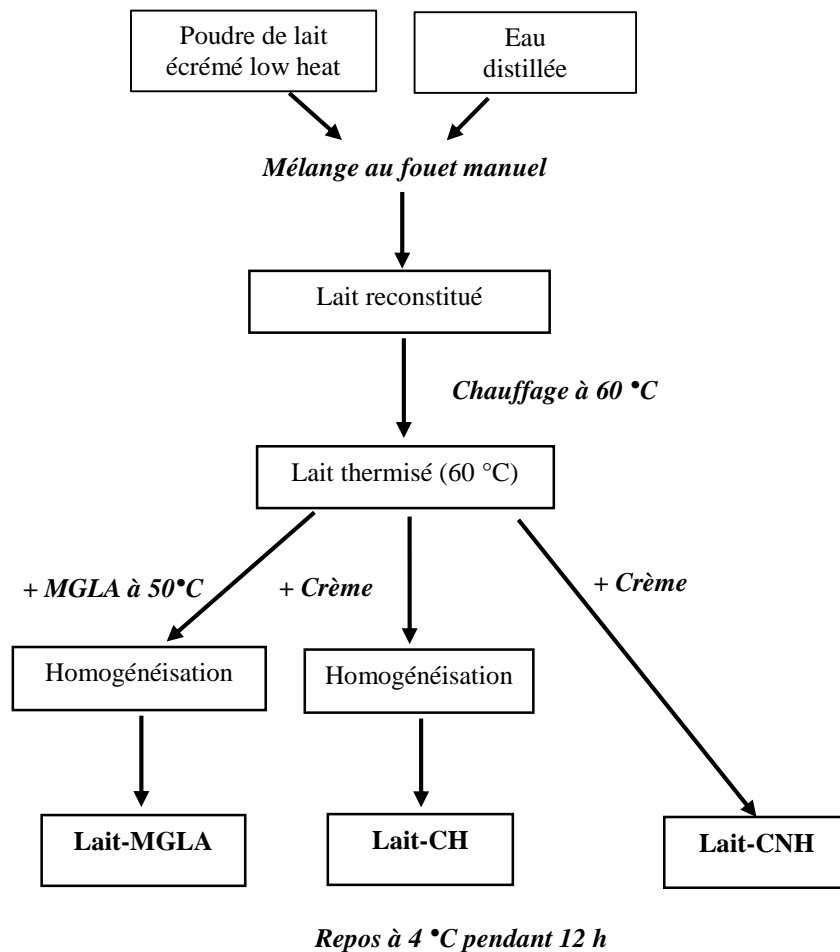
a = quantité d'eau en Kg, b = quantité de crème en Kg et c = quantité de poudre de lait en Kg.

Le mélange obtenu était porté à 60 °C puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéisateur Rannie (Seaborg, Danemark) à 100 + 10 bars. Les laits non homogénéisés étaient refroidis à température ambiante puis gardés dans une chambre froide à 4 °C pendant 12 h pour obtenir une bonne dissolution de la poudre.

Les **Figures 29** et **30** présentent les diagrammes de préparation des laits de fabrication.



**Figure 29.** Diagramme de préparation du lait écrémé.



**Figure 30.** Diagramme de préparation des laits contenant de la matière grasse. CH=crème homogénéisée, CNH=crème non homogénéisée, MGLA=matière grasse laitière anhydre.

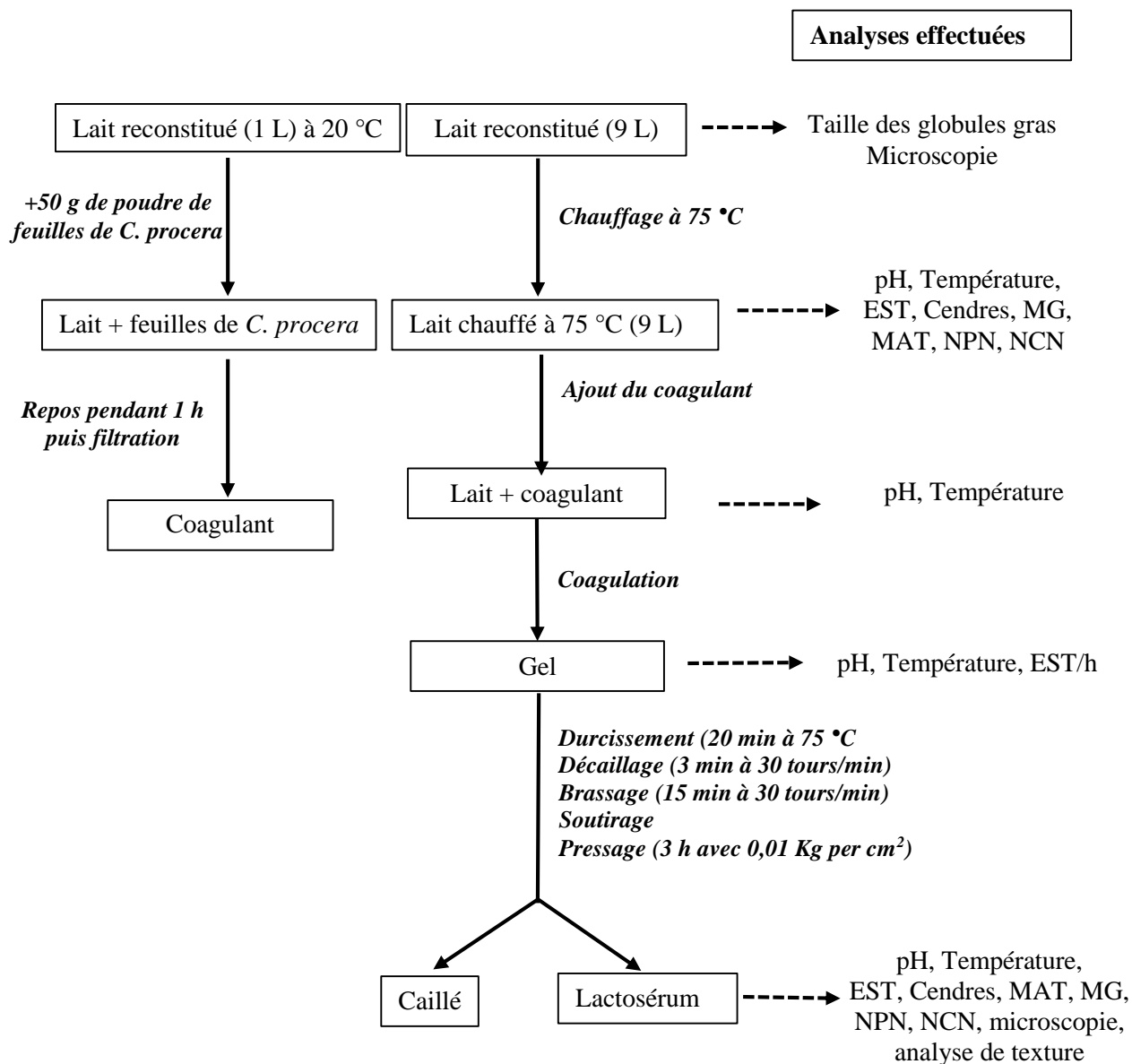
### 3. Extraction du coagulant

Pour préparer le coagulant végétal, la poudre de feuilles de *Calotropis procera* était mélangée à 10 % du lait destiné à la coagulation. Après 1 h à 20 °C, le mélange était filtré à l'aide d'un tissu pour éliminer les débris de feuilles, puis le filtrat obtenu était utilisé pour coaguler le lait.

### 4. Fabrication des caillés

La fabrication des caillés était réalisée sur la plateforme lait du laboratoire STLO ([http://www6.rennes.inra.fr/plateforme\\_lait](http://www6.rennes.inra.fr/plateforme_lait)). Un volume de 10 L de lait était utilisé pour chaque fabrication. Un volume de 1 L était prélevé et utilisé pour l'extraction du coagulant végétal. Les fabrications étaient réalisées dans des mini-cuves automatisées Coquard d'une capacité de 10 L (Villefranche sur Saone, France). La température de la salle de fabrication était réglée à 30 °C pour reproduire les conditions artisanales de fabrication du fromage wagashi. Des mesures de pH et de température ainsi que des échantillonnages de produits étaient réalisées aux différentes étapes du processus de fabrication. La **Figure 31** présente le diagramme de fabrication des caillés ainsi que les analyses effectuées sur les échantillons prélevés au cours de la fabrication.

Le même protocole de fabrication était appliqué lorsque la chymosine était utilisée comme coagulant. Le lait était cependant chauffé à 30°C, température utilisée pour une coagulation par la chymosine (ChyMax200). En effet, une température élevée telle que celle utilisée pour l'extrait végétal (75°C) aurait entraîné une inactivation de la chymosine (Cayot & Lorient, 1998 ; Jovanovic et al., 2010). L'étape de brassage était également supprimée en raison de la fragilité du gel présure et remplacée par un temps de repos sous sérum de 15 min (temps équivalent à celui du brassage du gel fabriqué avec le coagulant végétal).



**Figure 31.** Diagramme de fabrication des caillés. MG=Matière Grasse, MAT=Matière Azotée Totale, NPN=Azote Non Protéique, NCN=Azote Non Caséinique.

#### IV. Analyses des matières premières et produits

##### 1. Caractérisation biochimique et physico-chimique

###### 1.1. Mesure du pH

Les pH des échantillons étaient mesurés à l'aide des pH mètres HI 9025 (Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal) pour les échantillons analysés au laboratoire et HI 9124 (Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal) au cours de la préparation des laits et de la fabrication des caillés sur la plateforme. Les pH mètres étaient étalonnés à l'aide des solutions tampon de pH 4 et 7 et à 20 °C.

### 1.2. Détermination de l'extrait sec total

L'EST des laits, lactosérums, gels et caillés étaient déterminés conformément aux protocoles décrits dans les normes International Dairy Federation (IDF, 1987) pour les laits et lactosérums et IDF, 1982 pour les caillés. Une masse de 5 g de lait ou lactosérum et 3 g de gel ou caillé étaient pesés dans des capsules de sable fin (sable de Fontainebleau, Villeurbanne, France) préalablement séchées à l'étuve à 150 °C. La masse des capsules contenant le sable était notée  $m_0$  et celle des capsules contenant l'échantillon  $m_1$ . Les échantillons étaient ensuite séchés dans une étuve à 150 °C pendant 7 h puis refroidis au dessiccateur à température ambiante et pesés. Cette masse était notée  $m_2$ . La teneur en EST de l'échantillon était calculée sur la base de la formule :

$$\text{EST} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Les mesures étaient effectuées en double pour chaque échantillon et les résultats étaient exprimés en pourcentage. L'erreur expérimentale était de 0,01 g d'EST par 100 g de lait ou de fromage.

### 1.3. Détermination des cendres

Les cendres des échantillons étaient déterminées en utilisant les protocoles décrits dans les normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1989<sup>(b)</sup>) pour les laits et lactosérums et IDF, 1964 pour les caillés. Environ 2,5 g de caillé ou 10 mL de liquide (lait ou lactosérum) étaient pesés dans des creusets en porcelaine préalablement séchés à l'étuve à 150 °C pendant 30 min. La masse des creusets vide était notée  $m_0$  et celle des creusets contenant les échantillons  $m_1$ . Les creusets étaient ensuite placés à l'étuve à 150 °C pendant une nuit puis minéralisés au four à 550 °C pendant 5 h et refroidis dans des dessiccateurs à température ambiante. La masse des coupelles contenant les cendres était notée  $m_2$ . La teneur en cendres des échantillons était calculée sur la base de la formule :

$$\text{Teneur en cendres} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Les mesures étaient effectuées en duplicata à partir d'un même échantillon et les résultats étaient exprimés en pourcentage. L'erreur expérimentale était de 0,01 g de cendres pour 100 g de lait et 0,15 g pour 100 g de fromage.



#### **1.4. Dosage des cations**

Les cations (calcium, sodium, magnésium et potassium) étaient dosés par spectrométrie d'absorption atomique à l'aide d'un spectromètre Varian SpectrAA 220 FS (Varian SA, Les Ulis, France). La méthode utilisée pour le lait et le lactosérum était celle décrite par Brulé et al. (1974).

Le dosage des cations dans les caillés était réalisé sur les cendres récupérées dans 1 mL d'acide chlorhydrique 1 mol/L et traitées tel que pour le lait et le lactosérum. Le dosage en cations était réalisé en duplicata pour tous les échantillons. L'erreur expérimentale est de 0,01 g par Kg d'échantillon.

#### **1.5. Dosage de la matière azotée totale et des fractions azotées**

##### **1.5.1. Matière azotée totale**

Pour déterminer leur teneur en matière azotée totale (MAT), les échantillons étaient préalablement minéralisés par ajout d'acide sulfurique concentré et chauffage à 400 °C pendant 3 h (AFNOR, 1971). La teneur en azote des échantillons ainsi traités était déterminée par la méthode de Kjeldahl en utilisant un équipement Tecator 2400 Kjeltoc (Nanterre, France). Un facteur de conversion de 6,38 était utilisé pour convertir la teneur en azote en teneur en protéines et le résultat était exprimé en g/Kg. Les mesures étaient effectuées en double pour tous les échantillons.

L'erreur expérimentale était de 0,1 g d'azote exprimé en g de protéine par Kg.

##### **1.5.2. Azote non caséinique**

Pour les liquides (lait et lactosérum), les teneurs en azote non caséinique (NCN) étaient évaluées sur les filtrats des échantillons préalablement acidifiés à pH 4,6 avec un mélange d'acide acétique à 10 % (v/v) et de tampon acétate de 1 mol/L. Des filtres Wattman® N° 42 (Buckinghamshire, UK) étaient utilisés pour filtrer les mélanges. Pour les caillés, une solution citratée était d'abord préparée avec 20 g d'échantillon, 40 mL de solution de citrate trisodique (0,5 mol/L) et 40 mL d'eau distillée. Après 20 min dans un bain marie à 40 °C, le mélange était broyé à l'aide d'un broyeur Polytron 3100 (Kinematica, Littau-Luzerne, Suisse) et le volume complété à 200 mL. Le filtrat NCN était préparé à partir de cette solution acidifiée au pH 4,1 tel que décrit pour le lait et le lactosérum.

Les filtrats NCN étaient minéralisés comme pour la MAT et l'azote était également dosé par la méthode de Kjeldahl. Les dosages de NCN étaient réalisés en double pour tous les échantillons. Les résultats étaient convertis en équivalent protéine en utilisant un facteur de conversion de 6,19 et étaient exprimés en g/Kg. L'erreur expérimentale était de 0,1 g d'azote exprimé en g de protéine par Kg.

### **1.5.3. Azote non protéique**

Les teneurs en azote non protéique (NPN) des liquides (lait et lactosérum) étaient déterminées sur les filtrats d'échantillons mélangés à de l'acide trichloroacétique (TCA) 15% (p/v) (IDF, 1993). Les filtres utilisés étaient des filtres Whatman® N° 40 (Buckinghamshire, UK). Pour la détermination de la teneur en NPN des caillés, la solution citratée (1.5.2) était utilisée comme décrit pour le lait et le lactosérum. Les filtrats obtenus étaient minéralisés comme pour la MAT et le dosage de l'azote était réalisé par la méthode de Kjeldahl. Les résultats obtenus étaient convertis en équivalent protéine en utilisant un facteur de conversion de 6,19 et exprimés en g/Kg. Tous les dosages étaient réalisés en double pour les échantillons.

L'erreur expérimentale était de 0,1 g d'azote exprimé en g de protéine par Kg.

### **1.6. Dosages de la matière grasse**

La teneur en matière grasse des échantillons de lait et lactosérum était déterminée selon la méthode butyrométrique décrite dans la norme IDF (1997). Dans des butyromètres à lait, 10 mL d'acide sulfurique concentré, 11 mL de lait ou lactosérum à 40 °C et 1 mL d'alcool isoamylique étaient successivement introduits. Après agitation, les butyromètres étaient placés dans des centrifugeuses à 65°C et centrifugés à 1100 rpm pendant 8 min. La teneur en matière grasse (exprimée en g/Kg) était déterminée par lecture du niveau de la matière grasse sur le butyromètre gradué.

La méthode décrite dans la norme AFNOR (1989)<sup>(b)</sup> était utilisée pour la détermination de la teneur en matière grasse des caillés. Une masse de 3 g de caillé à 40 °C était pesée dans le godet du butyromètre et de l'acide sulfurique était ajouté aux 2/3 de la chambre du godet. Le mélange était chauffé au bain marie à 65 °C pendant 1 h puis 1 mL d'alcool isoamylique y était ajouté. Le butyromètre était ensuite centrifugé à 1100 rpm pendant 10 min. La lecture était effectuée telle que décrite pour le lait et le lactosérum et le résultat était exprimé en g/Kg. L'erreur expérimentale était de 0,01 g de matière grasse par 100 g de lait ou de fromage.

Le dosage de la matière grasse était réalisé en double pour tous les échantillons.

### 1.7. Distribution de taille des globules gras

La distribution de taille des globules gras dans les lait et lactosérum était déterminée à l'aide du granulomètre laser Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Grande Bretagne) qui utilisait 2 sources laser. La méthode est basée sur le principe de la diffraction d'un rayon laser en interaction avec une particule. Les indices de réfraction utilisés pour les lasers à 633 et 466 nm étaient respectivement de 1,458 et 1,460 pour la matière grasse du lait. L'indice de réfraction de 1,333 a été utilisé pour l'eau. Environ 0,2 mL d'échantillon était placé dans la cellule de dispersion contenant de l'eau déminéralisée afin d'obtenir une obscurité proche de 8. Un volume de 1 mL d'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA/NaOH, 35 mmol/L, tampon de pH) était rajouté aux échantillons directement dans l'appareil pour dissocier les micelles de caséine et n'observer que les globules gras. Le dodécylsulfate de sodium (SDS) (1%) était également utilisé pour dissocier les gouttelettes lipidiques agrégées. Les mesures étaient réalisées en 3 fois à  $20 \pm 2$  ° C pour chaque échantillon.

### 1.8. Bilan matière, rendements de fabrication et coefficients de récupération de matière

En fabrication fromagère, le bilan matière est utilisé pour vérifier l'efficacité du procédé de fabrication et la répartition des matières à l'issue des fabrications. Il permet d'estimer les constituants du lait entrant en fabrication et qu'on ne retrouvera ni dans le caillé, ni dans le lactosérum. Les pertes de matière sont dues essentiellement :

- à la mauvaise qualité de la matière première (mouillage du lait, contamination)
- aux erreurs de manipulation (chauffage élevé)
- aux rétentions de matière dans l'équipement de fabrication

Le but principal du bilan matière est d'apprécier les quantités de matières récupérées à l'issue de la fabrication. Une perte de matière revient à une perte de revenu pour le fabricant. Le bilan d'un constituant X se calcule suivant la formule suivante :

$$\text{Bilan (X)} = \frac{[\% \text{ en A(caillé)} \times m \text{ caillé (Kg)}] + [\% \text{ en A(lactosérum)} \times m \text{ lactosérum (Kg)}]}{\% \text{ en A(lait)} \times m \text{ lait (Kg)}}$$

Les rendements de fabrication (rendements brut (Rb) et corrigé (Rc)) et les coefficients de récupération de matière (Cr) étaient calculés à partir des données de suivi de fabrication et des résultats des analyses physico-chimiques réalisées sur les laits de fabrication et les caillés et lactosérums obtenus à l'issue des fabrications.

Le Rb correspond au rapport de la masse du caillé obtenu (m caillé) après pressage sur la masse de lait (m lait) mise en œuvre dans la fabrication. Il est exprimé en pourcentage.

$$Rb = \frac{m \text{ caillé (Kg)}}{m \text{ lait (Kg)}} \times 100$$

Le Rc prend en compte les teneurs en EST des lait, caillé et lactosérum. Il est également exprimé en pourcentage.

$$Rc = \frac{EST \text{ lait (g/Kg)} - EST \text{ lactosérum (g/Kg)}}{EST \text{ caillé (g/Kg)} - EST \text{ lactosérum (g/Kg)}} \times 100$$

Le Cr d'un élément correspond au rapport de la masse de l'élément dans le caillé sur la masse de l'élément dans le lait. Il est exprimé en pourcentage. Soit A l'élément considéré :

$$Cr (A) = \frac{Teneur \text{ en A dans le caillé (g/K)} \times m \text{ caillé (Kg)}}{Teneur \text{ en A dans le lait (g/K)} \times m \text{ lait (Kg)}} \times 100$$

L'humidité du fromage dégraissé (HFD) peut également être calculé pour apprécier la disponibilité de l'eau dans les caillés et caractériser les fabrications du point de vue technologique. Il est exprimé en pourcentage.

$$Cr (A) = \frac{100 - EST \text{ du fromage}}{100 - MG \text{ du fromage}} \times 100$$

### 1.9. Analyse des peptides du lactosérum

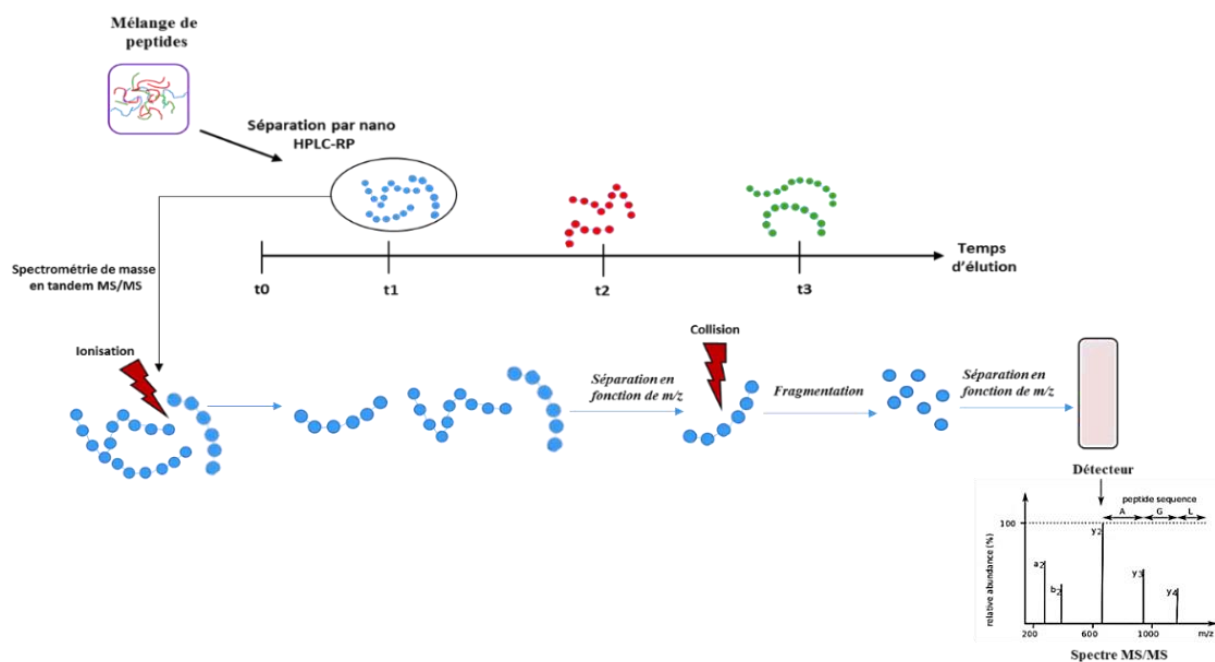
Les peptides des lactosérums étaient analysés par nano chromatographie liquide haute performance en phase inverse (nano HPLC-RP) couplée à une analyse par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). La nano HPLC-RP permet la séparation des peptides en fonction de leur hydrophobicité. Les peptides sont d'abord adsorbés sur une phase stationnaire (colonne) grâce à leur hydrophobicité. La séparation est obtenue grâce à un gradient d'éluant qui est basé sur l'augmentation continue de l'hydrophobicité de l'éluant. Au cours de l'éluant, les peptides retenus sur la colonne vont être graduellement élués à un temps de rétention donné sous forme d'un pic chromatographique.

Après la coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera* ou la chymosine, les lactosérums étaient récupérés puis analysés en vue d'en déterminer la composition en peptides. Les lactosérums étaient filtrés sur des papiers filtre de 0,45 µm de pores pour éliminer les

morceaux de caillés et congelés à - 20 °C avant de procéder aux analyses. Des échantillons témoins étaient préparés en récupérant les surnageants d'ultracentrifugation (100 000 g pendant une heure) des laits de fabrication chauffés à 75 °C (coagulation avec le *Calotropis procera*) et 30 °C (coagulation avec la chymosine).

Les échantillons à analyser ont été préalablement décongelés dans un bain marie à 20 °C. Ils ont ensuite été injectés sur le système NanoLC Dionex U3000 RSLC (Dionex, Amsterdam, Pays-Bas) avec une étape préliminaire de concentration sur une pré-colonne de phase inversée PepMap100 (C18, taille de particule de 5 µm, taille de pores de 100 Å, 300 µm de diamètre intérieur et 5 mm de longueur) (Dionex, Amsterdam, Pays-Bas). Cette étape était suivie d'une phase de séparation sur une colonne PepMapRSLC C18 (taille de particule de 3 µm, taille de pores de 100 Å, 75 µm de diamètre intérieur et 150 mm de longueur) (Dionex, Amsterdam, Pays-Bas) à 35 °C avec un débit de 300 nL/min. La séparation des peptides a été réalisée à l'aide d'un gradient d'acétonitrile utilisant 2 tampons (tampon A contenant de l'eau désionisée + 2 % d'acétonitrile + 0,08 % d'acide formique + 0,01 % d'acide trifluoroacétique et le tampon B contenant de l'eau désionisée + 95 % d'acétonitrile + 0,08 % d'acide formique + 0,1 % d'acide trifluoroacétique). Le gradient d'élution exprimé en % de tampon B était le suivant: 0 min: 5 % - 5 min: 5 % - 50 min: 60 % - 52 min: 85 % - 55 min: 85 % - 56 min: 3 % - 65 min: % B et 70 min: 5 %. Les volumes injectés pour le lactosérum obtenu après coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera* et le lactosérum après coagulation par la chymosine étaient de 8 et 4 µL, respectivement. Les peptides étaient détectés à une longueur d'onde de 214 nm.

Les peptides ainsi séparés par nano HPLC-RP ont été analysés par un spectromètre de masse (quadripole orbitrap Q Système Exactif, ThermoScientific, San Jose, USA) directement relié au système chromatographique. Il fonctionnait en mode positif avec une tension de 2,2 Kv. La spectrométrie de masse en tandem permet de déterminer la séquence des acides aminés qui composent un peptide. Elle repose sur un principe d'ionisation des peptides étudiés en fonction de leur m/z (m et z représentant respectivement la masse et la charge du peptide). La fragmentation des peptides était réalisée sur les 10 ions les plus intenses. Après la fragmentation ionique, les spectres MS/MS étaient enregistrés à une résolution de 17500. Avec ces paramètres, le nombre d'acides aminés présents dans les peptides identifiés était supérieur à 6. La **Figure 32** présente brièvement le principe de la spectrométrie de masse en tandem couplée à la chromatographie liquide en phase inverse.



**Figure 32.** Schéma du principe de la spectrométrie de masse en tandem MS/MS couplée à la RP-HPLC.

Le logiciel de pipeline en tandem (Plateforme d'Analyse Protéine de Paris Sud-Ouest (PAPPSO), INRA, Jouy en Josas, France, <http://pappso.inra.fr>) était utilisé pour identifier les peptides à partir de leurs spectres de fragmentation. La recherche était effectuée en utilisant les paramètres suivants: (i) banque de données contenant 116 principales protéines du lait; (ii) pas de clivage enzymatique spécifique; (iii) la phosphorylation de la serine et l'oxydation de la méthionine avaient été prises en compte comme modifications variables; (iv) la tolérance de masse était de 10 ppm pour MS et 0,05 Da pour MS et MS/MS, respectivement. L'identification des peptides avait été validée avec un score minimum correspondant à une valeur  $e$  inférieure à 0,05.

## 2. Microscopies

### 2.1. Microscopie électronique à balayage

Les caillés provenant de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et la chymosine étaient prélevés lors d'une fabrication et préparés en vue d'une observation par microscopie électronique. Ils étaient d'abord découpés en morceaux d'environ 3 mm d'épaisseur puis fixés dans une solution de glutaraldéhyde 2,5 % (v/v) en présence de cacodylate de sodium (0,1 M à pH 7,3 à 7,4) pendant une nuit à 4 °C sous lente agitation. Après rinçage dans du tampon de cacodylate de sodium (0,1 M à pH 7,3 à 7,4), les échantillons étaient déshydratés en utilisant un gradient d'éthanol (60, 70, 80, 90, 95 et 100 % (v/v)) à raison de 15

min dans chaque bain. L'osmium tetroxyde a ensuite été utilisé pour contraster l'observation des échantillons déshydratés. Pour finir, les morceaux de caillés ont été séchés en utilisant le point critique de CO<sub>2</sub> et recouverts d'or (métallisation) pour en améliorer la conductivité.

Les échantillons étaient observés avec un microscope électronique à balayage JSM-7100F à l'émission de champ (Jeol LTd, Tokyo, Japon). Les grossissements x 5, 10, 20 et 50 000 étaient utilisés pour observer les microstructures des caillés.

## **2.2. Microscopie confocale**

La microscopie confocale (CSLM) était utilisée pour observer les échantillons de lait, caillé et lactosérum contenant de la matière grasse. Cette technique permet de colorer différemment la matière grasse et les protéines et de mettre en évidence les interactions existant entre ces matières. Les laits étaient préparés pour l'observation microscopique directement après homogénéisation ou reconstitution pour les laits non homogénéisés et 12 h après la fabrication pour le caillé et le lactosérum. Les observations microscopiques étaient effectuées à l'aide d'un microscope NIKON Eclipse-TE2000-C1si (Nikon, Champigny sur Marne, France). Le microscope était équipé d'un laser He-Ne fonctionnant à une longueur d'onde d'excitation de 543 nm et une diode fonctionnant à 633 nm. L'émission du laser était détectée entre 565 et 615 nm et celle de la diode à 650 nm. Les observations ont été effectuées en utilisant un objectif d'immersion de grossissement 100, en faisant varier les zooms.

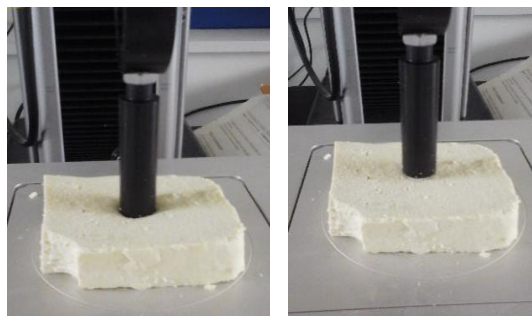
Avant observation, les échantillons étaient marqués avec des sondes fluorescentes : du rouge de Nil (5H-Benzo  $\alpha$  phénoxine-5-one, 9-diéthylamino, Sigma-Aldrich, St Louis, États-Unis) et du Fast Green FCF (Sigma-Aldrich, St Louis, États-Unis) préparés à une concentration de 10 mg/mL dans de l'eau. Le rouge de Nil colore les lipides apolaires (c'est-à-dire les triglycérides) en rouge et le Fast Green les protéines en vert. La phase aqueuse apparaît en noir. Pour marquer les laits et les lactosérums, 5  $\mu$ L de colorant Fast Green et 10  $\mu$ L de rouge de Nil étaient mélangés à 1 mL d'échantillon dans des tubes eppendorf. Après 30 min de repos à l'abri de la lumière (pour limiter la dégradation des sondes), une goutte du mélange était étalée entre lame et lamelle et observée avec l'objectif à immersion 100. Pour préparer les échantillons de caillés, des morceaux d'environ 5 mm x 5 mm x 3 mm étaient coupés à l'aide d'un scalpel et placés sur des lames dans une boîte de pétri recouverte de papier aluminium pour protéger les échantillons de la lumière. Un mélange des sondes fluorescentes (1:1, v/v) était ajouté sur chaque tranche et l'ensemble était recouvert pendant au moins 30 min pour permettre aux

colorants de pénétrer dans les échantillons. Pour chaque fabrication, 2 échantillons de lait, caillé et lactosérum étaient à 19 °C.

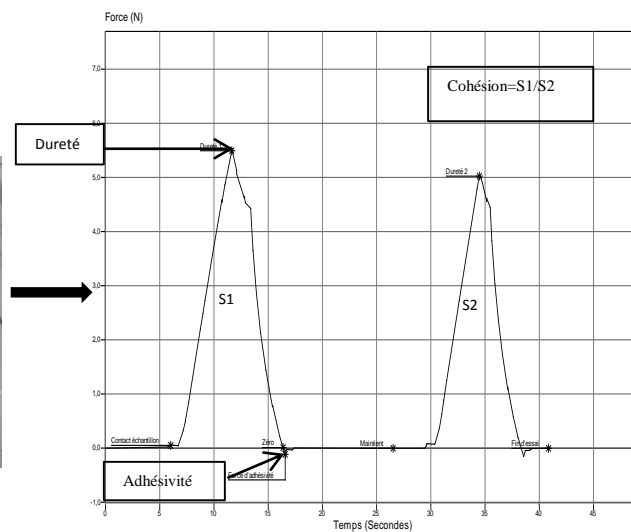
### 3. Analyse de la texture des caillés

Un analyseur de texture TA + (Lloyd Instruments, Chatillon, France) équipé d'un capteur de force de 100 N était utilisé pour les analyses de texture. Après pressage, les caillés étaient laissés à 20 °C pendant 16 h avant d'analyser leur texture. L'analyse du profil de texture (TPA) et le test de rupture ont été utilisés à cet effet.

Pour le test TPA, des morceaux de caillé de 2 cm d'épaisseur étaient découpés et soumis à un cycle de 2 compressions successives appliquées à l'aide d'une sonde circulaire de 1 cm de diamètre, progressant à une vitesse de 0,1 mm/s (**Figure 33**). La dureté (force nécessaire pour atteindre une déformation donnée sous la contrainte de la compression) et l'adhésivité (effort nécessaire pour retirer le piston de l'échantillon après la première compression) étaient déterminées. La cohésion (résistance du produit à la compression) qui se calcule par le rapport de l'aire sous la seconde courbe à l'aire sous la première courbe de compression et la masticabilité, qui est le produit de la dureté et de la cohésion, étaient également calculées.



A. Cycle de 2 compressions à 5 s d'intervalle



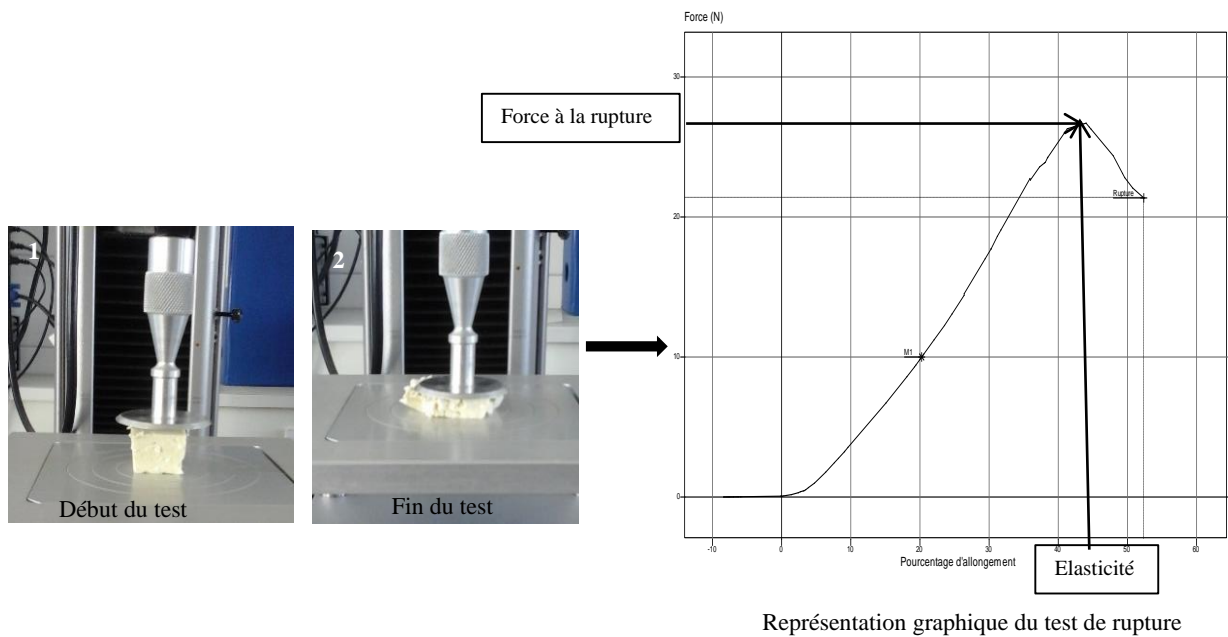
B. Représentation graphique du test TPA

**Figure 33.** Test TPA (A) et profil de texture (B) correspondant.

Pour le test de rupture, des cubes de caillé de 2 cm de côté ont été soumis à une force de compression exercée par une sonde circulaire de 4 cm de diamètre progressant à une vitesse de 1 mm/sec jusqu'à écrasement de l'échantillon. À partir de ce deuxième test, la force à la rupture



qui est la force requise pour écraser l'échantillon et l'élasticité qui traduit la force avec laquelle l'échantillon s'oppose à la rupture pendant la déformation ont été déterminées (**Figure 34**).



**Figure 34.** Test de rupture et profil de texture correspondant.

Toutes les analyses de texture ont été effectuées 4 fois pour chaque caillé.

#### **4. Traitement statistique des données expérimentales**

Les calculs de moyennes et d'écart types étaient réalisés à l'aide du logiciel Excel (Microsoft office, 2016).

Une analyse ANOVA était effectuée sur les données numériques à l'aide du logiciel statistique Stat (STAT GRAPHICS, 4.0). Les évaluations étaient basées sur un niveau significatif de  $P < 0,05$ .

## **Résultats et discussion**



## **1<sup>ère</sup> Partie**

**Etude préliminaire de la filière laitière au  
Niger : cas de la région de Maradi**



# **Chapitre I. Caractérisation des systèmes de production et des unités de transformation**

## **I. Introduction**

Dans les grandes villes d'Afrique subsaharienne, le lait représente une denrée difficile d'accès en raison de la croissance démographique et de l'expansion urbaine qui réduisent considérablement l'étendue des zones agropastorales, éloignant ainsi les producteurs (Corniaux et al., 2007). A cela, s'ajoutent la faible productivité des femelles laitières et les sécheresses récurrentes qui diminuent les effectifs des troupeaux (Garba et al., 2013). Ainsi, beaucoup de pays (Mali, Sénégal, Burkina Faso, Niger) ont recouru à l'importation de lait en poudre pour combler le déficit et satisfaire la demande croissante en lait et produits laitiers de leurs populations urbaines.

Dans les villes secondaires, malgré la pression démographique, les élevages périurbains et la proximité du milieu rural permettent encore aux consommateurs d'accéder facilement au lait et aux produits issus de la transformation artisanale. Au Niger, la ville de Maradi s'inscrit dans cette dynamique. L'activité pastorale au Nord et les échanges transfrontaliers avec le Nigéria au Sud assurent un approvisionnement régulier de la population en produits laitiers locaux et importés. Cette dynamique est caractérisée par une intensification des systèmes d'élevage et un développement des systèmes de transformation informelle. Dans ce contexte, il nous a paru utile de mener des travaux pour mieux comprendre les dynamiques de la filière laitière dans la ville de Maradi afin d'identifier le potentiel des différents maillons de la chaîne et en comprendre l'organisation.

Très peu de travaux ont en effet été consacrés récemment à l'étude de la filière laitière dans les villes secondaires du Niger alors que le secteur de la transformation du lait est en plein essor dans ces villes. Ainsi, notre approche a été d'étudier dans un premier temps, les secteurs de la production et de la transformation du lait dans la région de Maradi. L'objectif était de recenser les acteurs de la production et de la transformation du lait dans la région, de connaître les modalités de production et de transformation du lait ainsi que les problèmes rencontrés dans le cadre de ces activités

La 1<sup>ère</sup> étude se rapportait au diagnostic des systèmes de production laitière. Au vue des constats et des discussions menées avec les cadres de l'Association pour la Redynamisation de l'Elevage au Niger (AREN-Maradi), nous nous étions posés les questions suivantes :

- ✓ Qui sont les producteurs de lait dans la région de Maradi ?
- ✓ Quelles sont les caractéristiques zootechniques des troupeaux, et comment sont-ils gérés ?
- ✓ Quels intérêts particuliers les producteurs accordent-ils à l'élevage laitier bovin?
- ✓ Quels sont les problèmes que rencontrent les producteurs dans leur activité ?

La seconde étude était consacrée à l'analyse des unités de transformation de lait dans la région de Maradi. Les questions qui ont émergé de l'analyse de la dynamique de transformation des systèmes de production étaient les suivantes :

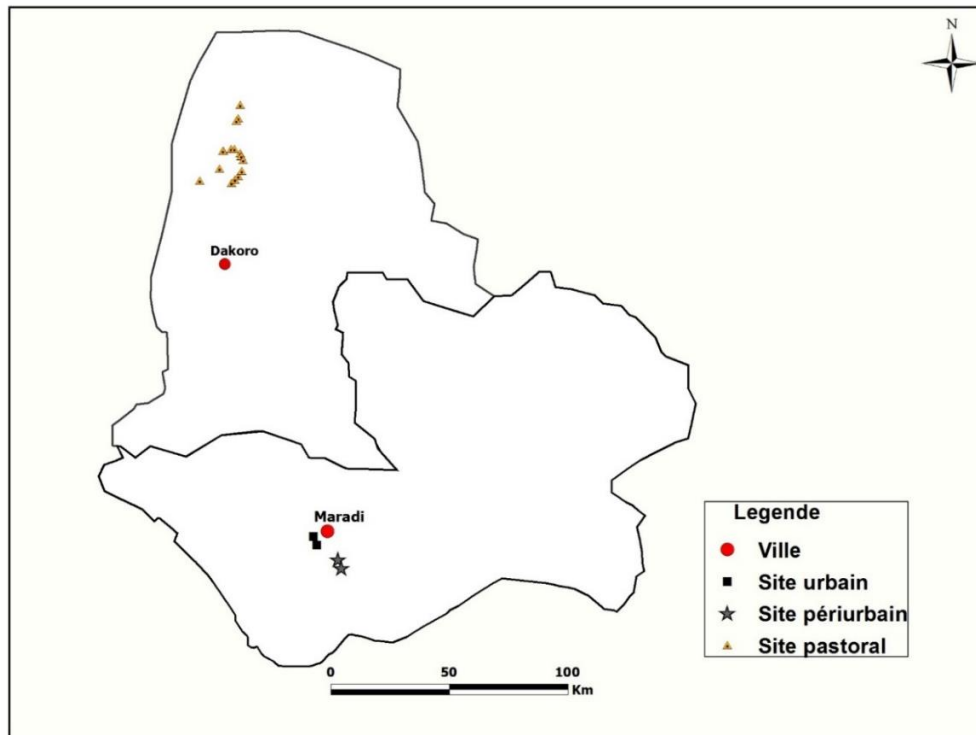
- ✓ Quelles sont les types d'unités de transformation et leurs caractéristiques?
- ✓ Quelles sont les matières premières transformées et les produits issus de cette transformation ?
- ✓ Quelles sont les perspectives d'évolution de ces unités de transformation et quels problèmes rencontrent-elles dans l'exercice de leurs activités ?

Pour répondre à ces interrogations, la stratégie adoptée a été de collecter des données auprès des différents acteurs de la production et de la transformation du lait dans la région de Maradi au moyen de questionnaires d'enquête. Les données ont été collectées en Avril 2015. Les enquêtes sur les aspects de production et transformation du lait ont été réalisées en zones urbaine (ville de Maradi) et pastorale (Nord Dakoro) de la région de Maradi.

Les données recueillies ont été saisies puis analysées en collaboration avec Margot BRARD du département Statistique et Informatique d'Agrocampus Ouest, Rennes. Les résultats présentés dans ce chapitre sont le fruit d'une première analyse des données recueillies au cours des 2 enquêtes. Une étude approfondie sera réalisée ultérieurement et fera l'objet d'une publication dans la *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* du CIRAD.

## II. Caractérisation des systèmes de production laitière

La **Figure 35** présente l'emplacement des exploitations au niveau desquelles les enquêtes ont été effectuées. Les points ont été placés à l'aide des coordonnées GPS recueillies sur place au cours de l'enquête.



*Figure 35. Localisation des campements et groupements d'éleveurs enquêtés au cours de l'étude.*

## **1. Caractéristiques socio-économiques des producteurs**

### **1.1. Genre**

Notre échantillon était constitué de 195 producteurs dont 64 dans le site 1 (16 en zone urbaine et 48 en zone périurbaine) et 131 dans le site 2. Les producteurs étaient majoritairement de sexe masculin et représentaient 95 % des enquêtés. Il est en effet bien connu que dans les communautés pastorales d'Afrique subsaharienne, les hommes sont propriétaires des troupeaux alors que les femmes s'occupent plutôt de la gestion de la ressource lait (Schneider et al., 2007). La fréquence des femmes propriétaires était de 8 et 15 % respectivement pour les sites 1 et 2.

### **1.2. Niveau d'instruction et appartenance ethnique**

Les producteurs présentaient en général un faible niveau d'instruction. Plus de la moitié (57 %) n'avaient reçu aucune forme d'alphabétisation, 23 % avaient été à l'école coranique, 15 % avaient reçu des cours d'alphabétisation à l'âge adulte et seulement 2 et 3 % avaient respectivement été à l'école primaire et secondaire.

Les Peulhs représentaient 81 % des producteurs rencontrés au cours de l'enquête. Ils représentaient 100 % des éleveurs dans le site 1 mais en zone pastorale, d'autres ethnies (Touareg 18 %, Katsinawa Peulhs 8 % et Haoussa 3 % des enquêtés) étaient également



propriétaires de troupeaux et pratiquaient l'élevage aux cotés des Peulhs. Ces données montrent que malgré l'urbanisation des villes d'Afrique de l'Ouest et la modernisation des sociétés, les Peulhs restent intimement liés à leur activité ancestrale qu'est l'élevage.

### **1.3. Activités associées**

A côté de l'élevage et de la commercialisation de ses produits, les producteurs pratiquaient également diverses activités génératrices de revenus (agriculture, aviculture, commerce, artisanat). Dans les 2 sites, l'agriculture était la principale activité associée à l'élevage, suivie de l'aviculture et de l'artisanat. Cependant, une part non négligeable des producteurs (28 %) ne pratiquait aucune activité en dehors de l'élevage.

### **1.4. Modes d'acquisition des troupeaux**

Les modes d'acquisition des troupeaux étaient identiques dans les 2 sites. Les plus fréquents étaient l'héritage familial (82 %) et l'achat (16 %). La pratique du « habbenayé » (don), qui consiste à confier à un tiers (parent, ami) une génisse et à la récupérer après la mise bas d'une velle était également observée. Pour 11 % des éleveurs, les troupeaux étaient confiés par des tiers (entretien).

## **2. Caractéristiques des élevages laitiers**

### **2.1. Types d'élevage**

L'élevage semi-intensif et l'élevage transhumant étaient les principaux types d'élevages pratiqués par les éleveurs : 94 et 5 % des exploitations respectivement. L'élevage intensif n'était pratiqué que par 2 élevages rencontrés en zone urbaine. Selon les éleveurs, l'élevage intensif n'était pas des plus courants en raison du coût qu'il impliquait (alimentation animale, aménagement d'étables, soins des animaux, main d'œuvre).

La raréfaction du pâturage en dehors de la saison pluvieuse aussi bien en zone agricole qu'en zone pastorale, contraint les éleveurs et leurs animaux aux déplacements à la recherche de pâturage et d'eau. D'autre part, en plus d'être un type d'élevage, la transhumance est également un mode de vie pour beaucoup d'éleveurs d'Afrique subsaharienne.

### **2.2. Caractérisation zootechnique des élevages**

Les troupeaux étaient hétérogènes, à la fois constitués de bovins, d'ovins, de caprins et de camelins (**Tableau 9**). Très peu d'éleveurs (n=2 dans le site 1 et n=4 dans le site 2) s'orientaient vers l'élevage d'une seule espèce d'animaux (élevage bovin en zone urbaine et

élevage caprins en zone pastorale). Des contraintes telles que la perte de bovins pendant une sécheresse en zone pastorale par exemple, obligent les éleveurs à s'orienter vers l'élevage des petits ruminants ou des camelins, plus résistants aux sécheresses et aux aléas climatiques. En général, les troupeaux comportaient toujours un certain nombre de bovins probablement en raison de l'intérêt portée à la production et la commercialisation du lait et des produits dérivés. Le nombre de vaches laitières dans les troupeaux variait considérablement probablement à cause des orientations différentes des exploitations et de la variabilité de la taille des troupeaux. Les camelins faisaient partie des troupeaux aussi bien en zone pastorale qu'en zones urbaine et périurbaine. Ils sont généralement utilisés comme animaux de travail notamment pour tirer l'eau des puits et abreuver le reste du troupeau, ou comme moyen de transport au cours de la transhumance.

**Tableau 9.** Taille (en nombre de têtes d'animaux) et composition des troupeaux (en pourcentage) dans les exploitations enquêtées.

	Min	Max	Médiane	Moyenne
Taille des troupeaux	4	740	50	76
Pourcentage de bovins	0	100	42	39
Pourcentage d'ovins	0	88	30	30
Pourcentage de caprins	0	100	26	27
Pourcentage de camelins	0	29	0	1
Pourcentage de vaches laitières	0	100	13	14

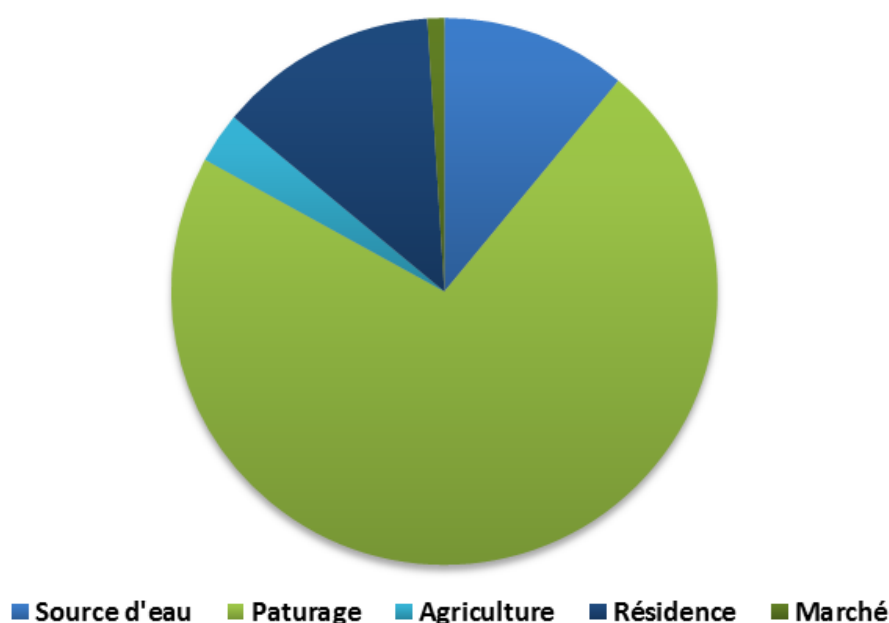
Le choix des races animales dans les élevages sahéliens est souvent dicté par les conditions climatiques des zones d'élevage. Lorsque les conditions climatiques sont rudes (sécheresse et raréfaction du pâturage et de l'eau en zone pastorale), les espèces qui s'adaptent bien à ces conditions et à la transhumance sont privilégiées (bovins Azawak, chèvre sahélienne). Le **Tableau 10** rapporte la fréquence des races animales rencontrées dans les exploitations au cours de notre étude.

**Tableau 10.** Fréquence en pourcentage des races animales constituant les troupeaux.

Races bovines			Races ovines			Races caprines		
Bororo	Azawak	Djelli	Balami	Oudah	Ara-Ara	Rousse	Sahélienne	Métisse
40	18	42	57	38	5	25	71	4

### 2.3. Choix des sites d'exploitation par les éleveurs

La disponibilité du pâturage est la raison principale évoquée par les éleveurs pour l'implantation de leurs exploitations (**Figure 36**). Il s'agit de la condition *sine qua non* de l'installation d'un campement en zone pastorale. A côté de ce critère, les éleveurs privilégient également la présence d'un point d'eau pour l'abreuvement des animaux, la disponibilité de terres cultivables permettant la production de céréales pendant la saison pluvieuse et des marchés pour écouler les produits de leurs activités. Le milieu de résidence était également une raison non négligeable évoquée par les éleveurs comme raison du choix du site d'exploitation.



**Figure 36.** Raison du choix du site d'exploitation

### 2.4. Gestion de la ressource lait dans les exploitations

La grande majorité des éleveurs (95 %) rencontrés dans cette étude possédaient des vaches laitières. Le lait collecté dans les exploitations était autoconsommé, vendu, transformé, offert ou utilisé pour alimenter les jeunes veaux gardés aux campements lorsque les vaches allaient au pâturage (**Tableau 11**).

**Tableau 11.** Utilisation des volumes de lait (en pourcentage) collectés dans les exploitations.

	<b>Autoconsommation</b>	<b>Transformation</b>	<b>Vente</b>	<b>Don</b>	<b>Alimentation animale</b>
<b>Min</b>	0	0	0	0	0
<b>Max</b>	100	100	95	100	30
<b>Médiane</b>	30	30	0	0	0
<b>Moyenne</b>	41	35	16	3	1

La commercialisation du lait et des produits laitiers constitue une part importante de l'activité d'élevage au Niger. Les revenus issus du commerce servent habituellement à subvenir aux besoins des familles d'éleveurs et aux soins des animaux. Les prix de vente du litre de lait de vache variaient en fonction des saisons (**Tableau 12**) probablement en raison de la variabilité de la productivité des vaches laitières influencée par la disponibilité du pâturage.

**Tableau 12.** Variabilité des prix de vente du litre de lait de vache (en FCFA) en fonction des saisons.

	<b>Saison sèche</b>			<b>Saison froide</b>			<b>Saison pluvieuse</b>		
	Min	Max	Moy	Min	Max	Moy	Min	Max	Moy
<b>Prix (FCFA)</b>	150	1000	470 ± 240	125	800	400 ± 190	100	750	370 ± 150

## 2.5. Alimentation des vaches laitières

Les vaches reçoivent habituellement une alimentation complémentaire pendant la période de lactation pour optimiser leur production en lait. Les aliments les plus utilisés sont les sous-produits agricoles (son de céréales, tourteaux de graines de coton) et les résidus de cultures (tiges de céréales et graines de coton) (**Tableau 13**). En zone pastorale, 19 % des vaches laitières ne recevaient cependant pour alimentation que de la paille de brousse à l'image du reste du troupeau. Cette alimentation monotone pourrait limiter la productivité de ces femelles, surtout en période sèche où le pâturage se fait rare.

**Tableau 13.** Alimentation complémentaire des vaches laitières dans les exploitations.

Groupes d'aliments	Nature des aliments	Effectif des exploitations	Fréquence (%)
Fourrages	<i>Paille de brousse</i>	36	19
Résidus de culture	<i>Fanes (arachides, niébé)</i>	3	2
	<i>Tiges de céréales</i>	37	19
	<i>Graines de coton</i>	20	10
Sous-produits agricoles	<i>Son de céréales</i>	76	40
	<i>Tourteaux de graines de coton</i>	16	8
Céréales	<i>Mil</i>	2	1
	<i>Sorgho</i>	1	1

### 3. Contraintes de l'activité

En zones urbaine et périurbaine et en zone pastorale, les éleveurs faisaient face à divers problèmes dont le plus fréquent était l'alimentation animale (**Figure 37**). En effet, en Afrique subsaharienne, le couvert végétal spontané constitue la première source d'alimentation des troupeaux. Malheureusement, la dégradation de ce couvert, due aux chocs climatiques récurrents, met souvent en péril la survie des troupeaux, surtout en zone pastorale (Binot et al., 2006). A l'alimentation animale, s'ajoutaient les problèmes liés à la santé animale, aux feux de brousse et à la sécheresse, aux aires de pâturage et points d'abreuvement des animaux, aux couloirs de passage du bétail et aux conflits entre agriculteurs et éleveurs.



**Figure 37.** Problèmes rencontrés par les producteurs dans les sites enquêtés. La taille d'un item est proportionnelle à sa fréquence de citation à l'échelle de l'échantillon.

#### 4. Caractérisation des types de site

Après l'analyse descriptive des différentes variables, il nous est apparu intéressant d'étudier les liens entre les variables les plus importantes de notre jeu de données et les autres variables par des méthodes d'analyses unidimensionnelles. Ainsi, nous avons étudié le possible effet de la variable « Type de site » avec 3 niveaux : périurbain, urbain et pastoral sur les autres variables réponse du jeu de données. Les analyses unidimensionnelles (tests du  $\chi^2$  et de Fisher) montraient que les races animales dans les troupeaux, l'alimentation des vaches laitières, le prix de vente du litre de lait, l'appartenance ethnique des éleveurs, l'appartenance ou non à une association d'éleveurs et les problèmes rencontrés par les producteurs dans leurs activités étaient liés de manière significative au site d'implantation des élevages (**Annexe 7**).

Les exploitations situées en zone pastorale étaient caractérisées par une sous-représentation de l'appartenance des éleveurs aux associations et une surreprésentation de la race caprine sahélienne, des races bovines Djelli et Azawak, des ethnies Touareg et Katsinawa peulhs, du genre féminin parmi les éleveurs, des pourcentages élevés de lait autoconsommé, d'une complémentation de l'alimentation des vaches laitières par du tourteaux ou des graines de coton, de l'acquisition des troupeaux par achat, de la pratique de l'agriculture comme activité secondaire des éleveurs et des problèmes de santé animale par rapport à la moyenne de l'ensemble des éleveurs. La surreprésentation de l'acquisition des troupeaux par achat en zone pastorale pourrait être un mode de reconstitution des troupeaux après des périodes de sécheresse.

Les élevages des zones périurbaines étaient caractérisés par une surreprésentation de l'ethnie Peulh parmi les éleveurs, de la race caprine rousse, de la race bovine Bororo, de la race ovine Oudah dans les troupeaux, de l'appartenance aux associations d'éleveurs, de l'acquisition des troupeaux par héritage familial, de la pratique de l'aviculture comme activité complémentaire dans les exploitations, des résidus de culture pour l'alimentation complémentaire des vaches laitières, des faibles pourcentages d'autoconsommation et de vente du lait, des prix de vente élevés du litre de lait de vache et des problèmes liés aux aires de pâturage, aux couloirs de passage et à l'abreuvement des animaux.

En zone urbaine, les élevages étaient caractérisés par une surreprésentation de l'ethnie Peulh parmi les éleveurs, de l'appartenance aux associations d'éleveurs, de la race bovine Bororo, de la race caprine rousse, de la race ovine Oudah parmi les animaux, de l'absence d'activité complémentaire dans les exploitations, des résidus de culture pour l'alimentation

complémentaire des vaches laitières, d'une part importante du volume du lait destiné à la vente et à l'alimentation animale, du prix de vente élevé du litre de lait de vache, du milieu de résidence comme raison du choix du site d'exploitation et des problèmes liés aux aires de pâturage et aux couloirs de passage des animaux. Les pourcentages élevés de lait vendu et transformés en zones urbaine et périurbaine au détriment de l'autoconsommation chez les éleveurs Peulhs pourraient correspondre à un changement de leurs habitudes alimentaires et une orientation de leurs élevages vers une rentabilisation des produits dérivés probablement en raison de leur sédentarisation.

### **5. Caractérisation des pratiques d'élevage selon l'appartenance ethnique des éleveurs**

Une 2<sup>ème</sup> analyse unidimensionnelle était réalisée pour étudier le possible effet entre la variable « Appartenance ethnique » des éleveurs avec 4 niveaux : Peulh, Touareg, Katsinawa peul et Haoussa et les autres variables réponse du jeu de données. Un extrait des résultats (uniquement pour les caractéristiques associées à une p value < 0,05) est présenté dans l'**Annexe 8**.

L'ethnie Peulh était retrouvée majoritairement dans les zones urbaine et périurbaine (groupements de Doga peulh, Doullou peulh, Danjan peulh et Bermo) avec une prédominance du genre masculin et une sous-représentation du genre féminin parmi les éleveurs. La race bovine Bororo était surreprésentée dans les élevages Peuls de même que la race caprine rousse et la race ovine Oudah. Les Peulhs adhéraient souvent aux associations d'éleveurs probablement à cause de leur proximité des centres urbains. Les prix de vente du litre de lait de vache pratiqués par les Peuls étaient plus élevés que la moyenne : 400 FCFA contre 370 FCFA en moyenne en saison pluvieuse, 450 FCFA contre une moyenne de 405 FCFA en saison froide et 520 FCFA contre une moyenne de 465 FCFA en saison chaude. La pratique de l'élevage intensif ainsi que celles des activités complémentaires était absente dans ce groupe ethnique.

Les élevages des Touaregs étaient caractérisés par un pourcentage élevé de camelins, de bovins Azawak et d'une sous-représentation d'ovins. Ils étaient majoritairement rencontrés en zone pastorale (Zouraré, ranch Fako) et faisaient majoritairement face au problème de santé animale. Le genre féminin était surreprésenté par rapport à la moyenne de l'échantillon d'éleveurs. Le lait était majoritairement transformé mais également vendu au ranch où il était transformé en fromage. Les Touaregs étaient caractérisés par la pratique du commerce (vente de maroquinerie et bijoux traditionnels) en parallèle avec l'élevage des animaux et un niveau

d'instruction supérieur par rapport à la moyenne de l'échantillon. Ils adhéraient peu aux associations d'éleveurs et étaient caractérisés par une sous-représentation du mode d'acquisition par héritage familial.

Chez les Haoussas, le principal mode d'acquisition des troupeaux était l'achat. Les élevages des Haoussas étaient caractérisés par une surreprésentation de caprins et une pratique de l'élevage intensif. Le genre féminin était également surreprésenté ainsi que la pratique du petit commerce en parallèle à l'activité d'élevage. Le milieu de résidence était la raison fréquemment évoquée par les Haoussas pour le choix du site d'exploitation. Ce groupe ethnique était caractérisé par une faible autoconsommation du lait produit (12 % contre une moyenne de 40 % observée dans l'échantillon global) et la pratique de faibles prix de vente du litre de lait de vache (100 FCFA contre 370 FCFA en moyenne en saison pluvieuse, 125 FCFA contre une moyenne de 405 FCFA en saison froide et 150 FCFA contre une moyenne de 465 FCFA en saison chaude).

Les élevages des Katsinawa peulhs étaient caractérisés par une grande taille des troupeaux, une surreprésentation des bovins Djelli et une sous-représentation des ovins. Ils étaient rencontrés essentiellement en zone pastorale (groupements Hardo Bouzourou, N'Guel Bala). Les Katsinawa peulhs sont l'exemple type de l'agro-pastoralisme au Sahel. Ce groupe ethnique est caractérisé par la pratique de longues périodes de transhumances pendant les saisons sèches et chaudes et une sédentarité pendant la saison hivernale (De Sardan et al., 2009). Les élevages Katsinawa peulhs étaient associés à la pratique de l'agriculture comme activité secondaire à l'élevage et une absence d'adhésion aux associations d'éleveurs dans notre étude. Le lait produit dans ces élevages était vendu à des prix bas probablement en raison d'une production abondante (grande taille du troupeau) et de l'éloignement des consommateurs.

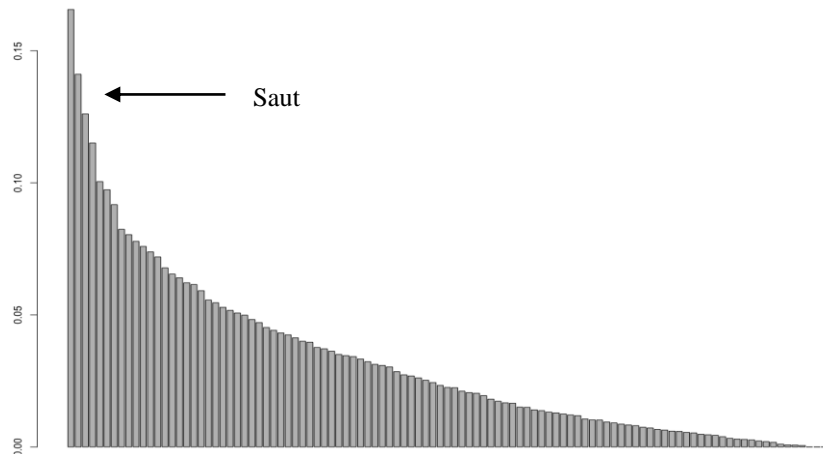
## **6. Typologie des exploitations**

Afin d'étudier la variabilité entre les différents types d'exploitations rencontrées au cours de l'enquête, une analyse des correspondances multiples (ACM) était réalisée sur les données qualitatives (ou rendues qualitatives) collectées au cours de l'enquête sur la production laitière dans les élevages de la région de Maradi. La description des types de variables considérées au cours de l'ACM (variables actives et variables illustratives) est présentée dans l'**Annexe 6a**.

Le nombre optimal de dimensions de projection de l'ACM était déterminé grâce au «saut» observé sur le graphique de la diminution des valeurs propres (**Figure 38**). Le premier « saut » était observé après la deuxième dimension et donc seul le premier plan factoriel comportant les



2 premières dimensions de l'ACM sera interprété. Les 2 premières dimensions expliquaient environ 9 % de la variabilité de l'échantillon des producteurs. Ce pourcentage qui peut paraître faible est à relativiser avec le nombre important de variables actives et par conséquent le nombre élevé de modalités. Les 2 premières seront donc retenues pour l'interprétation tel que suggéré par la méthode du « saut ».

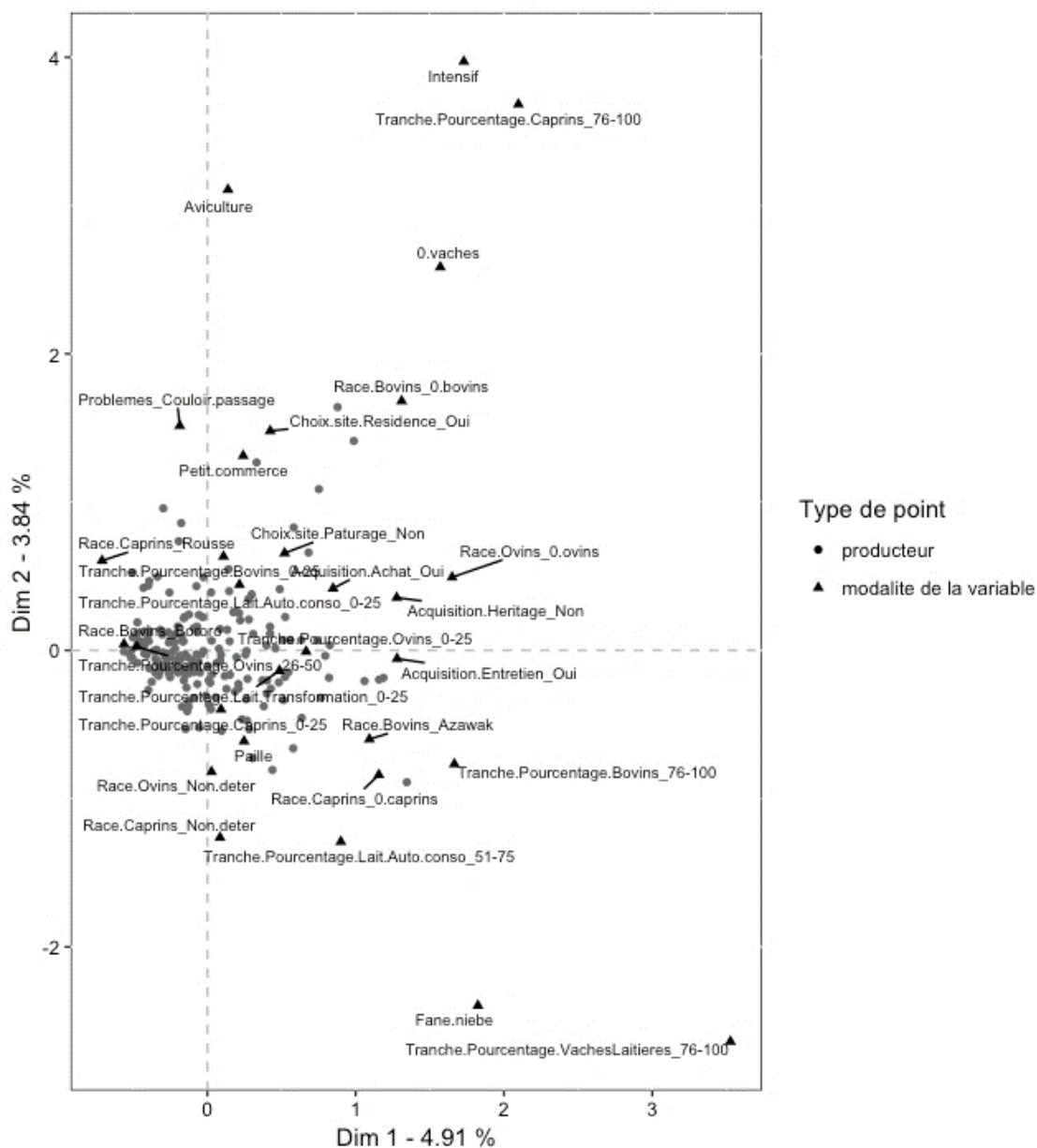


**Figure 38.** *Décroissance des valeurs de l'ACM*

Sur le plan factoriel correspondant à la superposition des représentations des élevages et de leurs caractéristiques (**Figure 39**), 2 élevages sont proches s'ils présentent des caractéristiques identiques (même profil de réponses selon les différentes variables) et 2 caractéristiques sont proches si elles sont citées à plusieurs reprises pour décrire les élevages. Cette représentation permet de comprendre les similitudes entre les élevages.

La 1<sup>ère</sup> dimension distinguait à gauche, les élevages comportant un nombre élevé d'ovins, de bovins de race Bororo, de caprins roux et caractérisés par des problèmes de couloir de passage des animaux, et à droite les élevages comportant un nombre élevé de caprins, de bovins de race Azawak et de vaches laitières dans les troupeaux.

La 2<sup>ème</sup> dimension distinguait les élevages en fonction des races animales présentes dans les troupeaux et de l'utilisation du lait produit dans les élevages. Elle discriminait les élevages caractérisés par la présence de bovins de race Bororo, de caprins roux, un faible pourcentage de lait autoconsommé, l'acquisition des troupeaux par achat, la pratique de l'élevage intensif, la pratique de l'aviculture et du petit commerce comme activité complémentaire à l'élevage et des problèmes de couloir de passage des animaux en haut, et en bas les élevages comportant un nombre élevé de bovins en général et de race Azawak en particulier, un faible pourcentage de lait transformé et l'acquisition des troupeaux pour entretien.



**Figure 39.** Représentation factorielle superposée des élevages et des modalités

Une fois la diversité des élevages résumée en utilisant l’ACM, une classification ascendante hiérarchique (CAH) était réalisée pour déterminer si des clusters homogènes d’élevages pouvaient être identifiés. Pour cela, les coordonnées des 195 fermes sur les dimensions de l’ACM étaient utilisées comme base pour construire une matrice de dissemblance entre les élevages qui était ensuite soumise à un algorithme ascendant de regroupement hiérarchique (CAH) (critère de Ward). Trois clusters homogènes d’élevages ressortaient de la CAH (**Figure 40**). La description des variables caractérisant ( $p < 0,05$ ) chacun de ces clusters est présentée en **Annexe 9**. Une représentation des exploitations en fonction de leurs clusters est réalisée sur un plan factoriel (**Figure 41**).

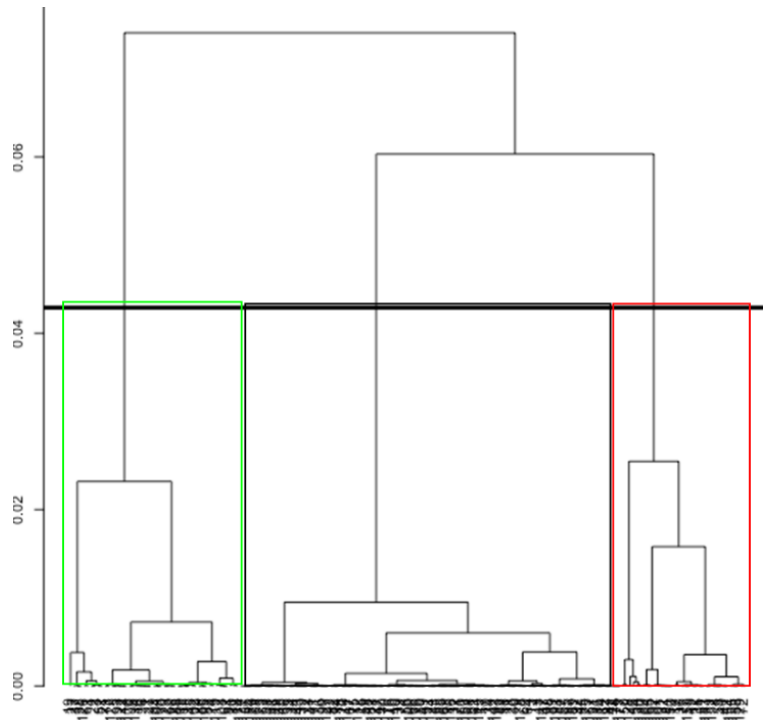


Figure 40. Dendrogramme des groupes d'exploitations formés.

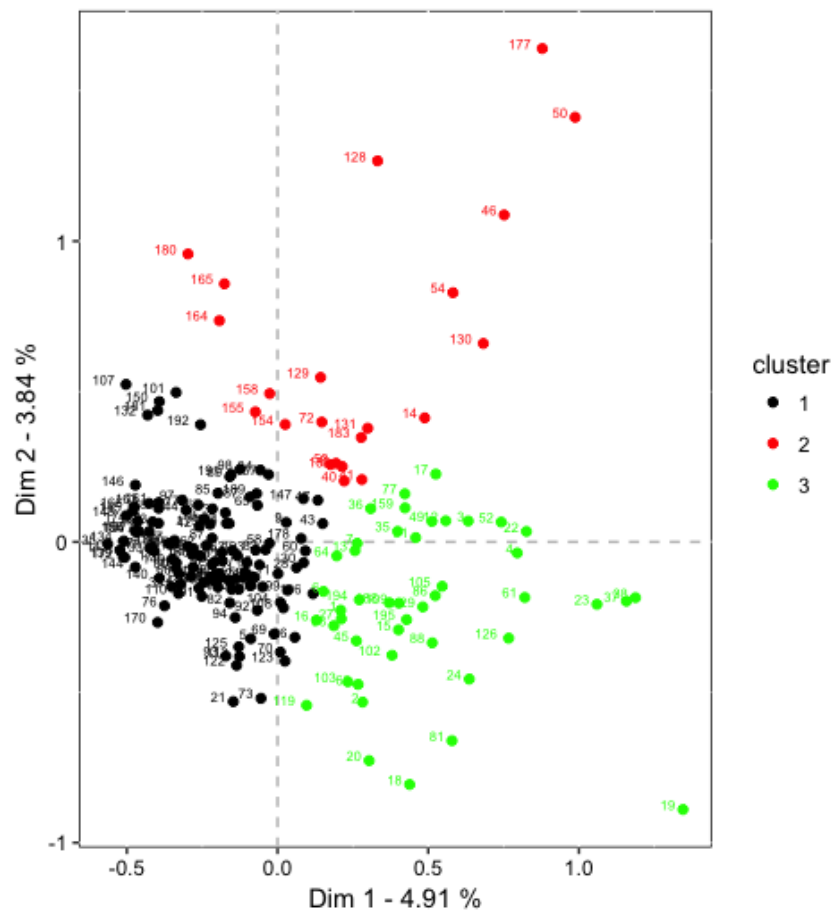


Figure 41. Plan factoriel des exploitations en fonction de leurs clusters.

### **Cluster 1 (n = 128)**

Les élevages de ce cluster étaient caractérisés par un nombre élevé d'ovins, de bovins de race Bororo, une faible représentation de bovins et la pratique de l'élevage intensif. Le mode d'acquisition par héritage familial était surreprésenté de même que le genre masculin parmi les éleveurs. Le lait produit était majoritairement destiné à la transformation et à l'autoconsommation. Ce cluster était caractérisé par une surreprésentation des exploitations rencontrées en zone périurbaine.

### **Cluster 2 (n = 22)**

Ce groupe d'exploitations se distinguait par une surreprésentation des bovins de la race Bororo et du milieu de résidence comme raison du choix du site d'implantation des élevages. Les éleveurs appartenaient majoritairement à l'ethnie Peulh et constituaient majoritairement leurs troupeaux par héritage familial. Le lait bovin produit était essentiellement vendu. Les prix de vente du litre de lait pratiqués par ces exploitations étaient élevés par rapport au prix moyen pratiqué par l'ensemble des producteurs. Ce type d'élevage n'était associé à aucune autre activité génératrice de revenus. Ce cluster était caractérisé par une surreprésentation des élevages urbains. Les problèmes surreprésentés étaient ceux des couloirs de passage et d'aires de paturage pour les animaux.

### **Cluster 3 (n = 45)**

Les élevages formant ce groupe étaient caractérisées par un nombre élevé de bovins dans les troupeaux avec une surreprésentation de la race bovine Azawak. L'ethnie Touareg, le site pastoral et le genre féminin étaient surreprésentés dans ce cluster. Le mode d'acquisition des troupeaux par achat était surreprésenté. Le lait produit était majoritairement destiné à l'autoconsommation et à la transformation.

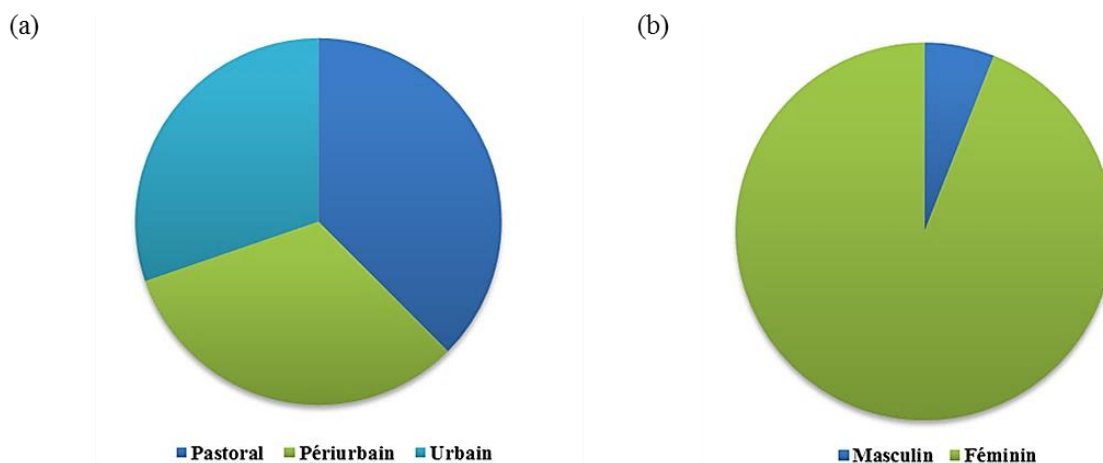
## **III. Caractérisation des unités de transformation**

### **1. Caractéristiques socio-économiques des transformateurs**

#### **1.1. Genre**

L'échantillon de transformateurs interrogés dans cette étude était constitué de 152 individus et était équilibré selon le site d'implantation (**Figure 42a**). A l'opposé de l'échantillon de producteurs, celui des transformateurs était majoritairement constitué de femmes (**Figure 42b**). En effet, si les troupeaux sont la propriété des hommes dans les communautés d'éleveurs

d’Afrique subsaharienne, la gestion de la ressource lait revient aux femmes. Elles participent à la collecte du lait, mais surtout à la transformation et à la commercialisation des produits dérivés, ainsi qu’à la gestion des revenus générés par l’activité.



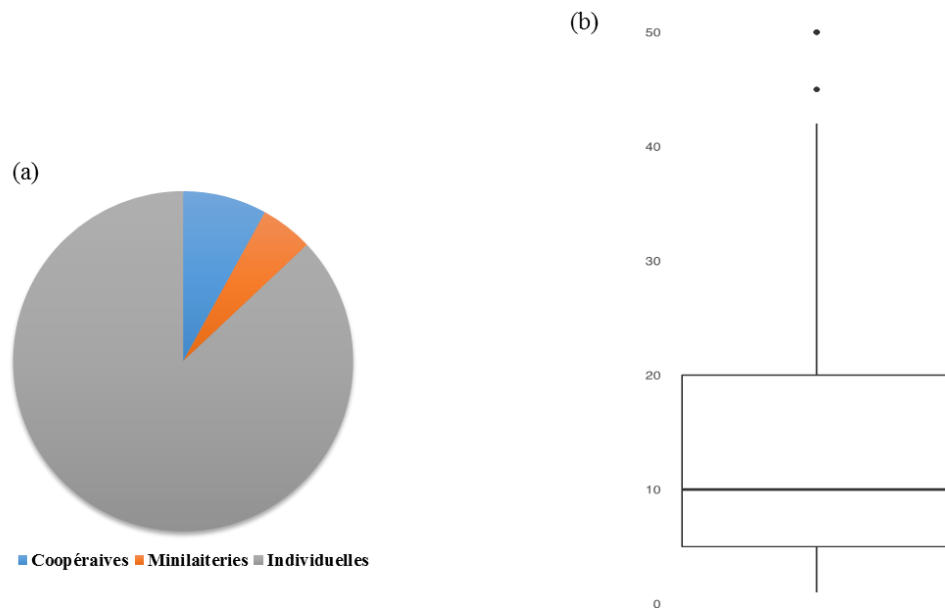
**Figure 42.** Répartition des unités de transformation en fonction du site d’implantation (a) et appartenance genre des transformateurs (b).

### 1.2. Age et niveau d’instruction

La moitié des transformateurs (51 %) avaient moins de 40 ans. Les tranches d’âge les plus représentées étaient celles de 30-40 ans et de 40-50 ans. Les transformateurs présentaient en général un faible niveau d’instruction. 60 % n’avaient reçu aucune forme d’alphabétisation, 23 % avaient été à l’école coranique, 9 % avaient reçu des cours d’alphabétisation à l’âge adulte et seulement 6, 1 et 1 % avaient été à l’école primaire, secondaire et supérieure respectivement.

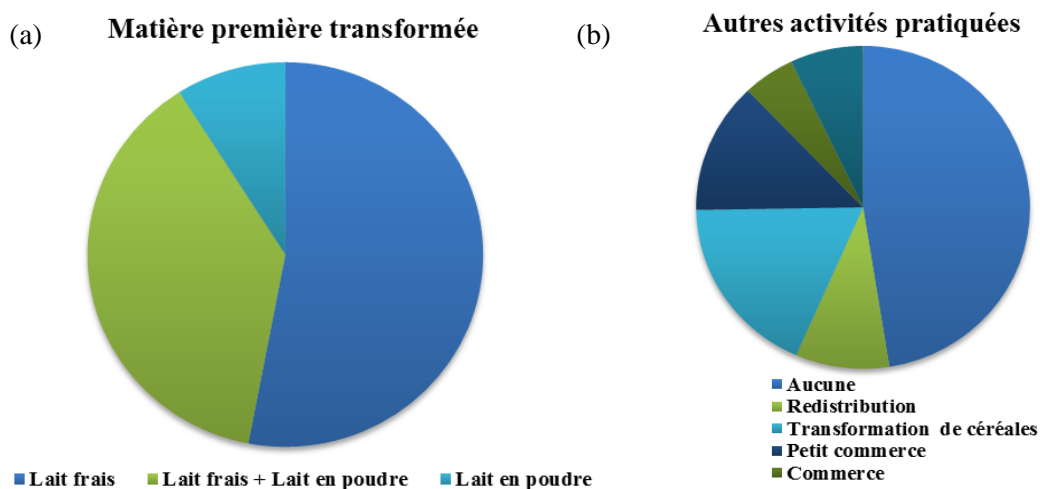
### 2. Caractérisation de l’activité de transformation

La transformation du lait était très majoritairement effectuée par des unités de transformation individuelles, le nombre de coopératives et de mini-laiteries était faible (**Figure 43a**). La durée d’exercice de l’activité de transformation était très variable, allant de 1 à 50 années, avec une durée médiane de 10 années (**Figure 43b**). La raison majoritairement évoquée par les transformateurs concernant le choix de l’activité de transformation du lait était la culture pour 63 %, suivie de la rentabilité pour 32 % et de la disponibilité du lait pour 5 % des transformateurs.



**Figure 43.** (a) Types d'unités de transformation et (b) durée d'exercice de l'activité de transformation en années.

L'activité de transformation reposait sur des fonds propres pour 63 % des unités de transformation, des emprunts pour 34 % et des fonds mis en communs par un groupe de transformateurs pour 3 %. Les unités de transformation utilisaient aussi bien du lait en poudre que du lait frais ou les 2 à la fois (**Figure 44a**). A côté de la transformation du lait, les individus interrogés pratiquaient également d'autres activités génératrices de revenus (**Figure 44b**) dont la plus fréquente était la transformation et la vente de produits céréaliers (boule de mil, de sorgho). Cependant pour beaucoup de transformateurs (47 %), la vente des produits laitiers issus de leur activité de transformation était la seule activité génératrice de revenus.



**Figure 44.** Matières premières transformées(a) et activités complémentaires (b) des unités de transformation.

### 3. Etude des activités de transformation en fonction du site d'implantation

Afin d'étudier la spécificité du site d'implantation sur l'activité de transformation, des analyses univariées (tests du  $\chi^2$  et test de Fisher) étaient réalisées entre la variable « Type de site » avec 3 niveaux : pastoral, périurbain et urbain, et les variables réponses de l'ensemble des données recueillies sur l'activité de transformation. Les résultats des tests montraient que le type de site d'implantation de l'activité de transformation était significativement lié à la matière première transformée, aux types d'unités de transformation, aux types de produits fabriqués dans les unités de transformation, aux prix de vente des différents produits transformés, au type de présure utilisée dans la fabrication des fromages, à la raison du choix de l'activité de transformation du lait et aux caractéristiques socio-économiques des transformateurs (**Annexe 10**).

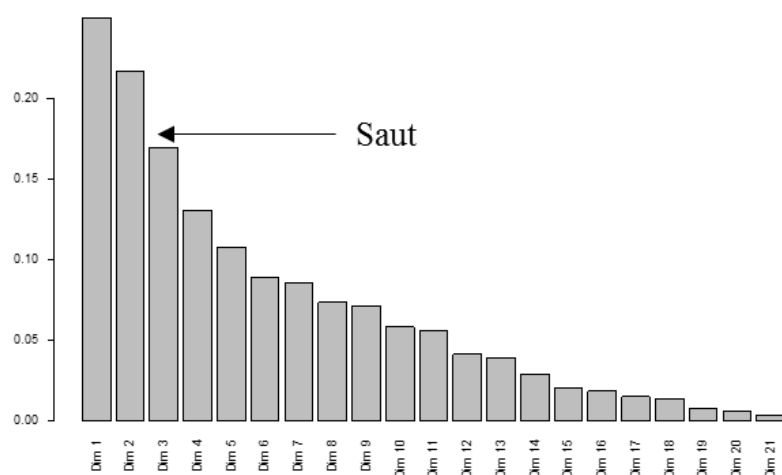
Les analyses montraient qu'en milieu pastoral, la transformation de lait de vache, l'utilisation de coagulants (animal et végétal), la fabrication de fromage, de lait caillé et yaourt (à base de lait de vache), étaient surreprésentées alors que l'utilisation de lait en poudre et la fabrication de beurre étaient sous-représentées (comparativement aux taux d'utilisation et de transformation observés sur la globalité de l'échantillon). Le milieu pastoral était également caractérisé par une surreprésentation des unités de transformation de type coopérative gérée par des femmes, un niveau d'instruction des transformateurs de type alphabétisation et la pratique de l'artisanat et du petit commerce comme activité complémentaire à l'activité de transformation alors que les unités de transformation de type minilaiteries et le genre masculin étaient sous-représentés. Les unités de transformation en milieu pastoral étaient caractérisées par un nombre élevé d'employés (4 à 14), une surreprésentation des problèmes de faible rentabilité et une sous-représentation des problèmes de faible production de lait et d'alimentation animale (comparativement à la globalité de l'échantillon). Le milieu pastoral était également associé à des prix de vente moyens du yaourt significativement élevés et des prix de vente du lait caillé nature et du lait significativement faibles (comparativement au prix de vente moyens observés sur la globalité de l'échantillon).

En milieu périurbain, c'était la transformation de lait en poudre qui était surreprésentée de même que les fabrications de beurre et de lait caillé alors que la transformation de lait de vache, l'utilisation de présure, la fabrication de fromage et de yaourt étaient sous-représentées. Les unités de transformation individuelles étaient surreprésentées avec un capital basé sur l'emprunt de la matière première auprès des grossistes. Les transformateurs du milieu

périurbain étaient caractérisés par une absence d’alphabétisation et une surreprésentation du genre féminin. Les unités de transformation en milieu périurbain étaient caractérisées par un nombre d’employés faible, une sous-représentation des capitaux sous forme de fonds propres et une surreprésentation des problèmes de faible capital et d’écoulement des produits. Les résultats des tests de Fisher associés aux différentes analyses de variance montraient également que le milieu périurbain était associé à des prix de vente moyens du beurre frais et du fromage significativement faibles.

Enfin, en milieu urbain, c’étaient les unités de transformation de type mini-laiteries et des capitaux basés sur des fonds propres, qui étaient surreprésentées. La transformation de lait frais, l’utilisation de présure et la fabrication du fromage étaient par contre sous-représentées. Les transformateurs du milieu urbain étaient caractérisés par un niveau d’instruction de type école coranique et primaire, une surreprésentation du genre masculin et la pratique du commerce comme activité secondaire. L’activité de transformation était affectée par des problèmes d’alimentation animale et de faible productivité des vaches laitières. Enfin, en milieu urbain, les prix de vente moyens des produits (beurre fondu, lait, lait caillé, fromage, dégué) étaient significativement élevés alors que le prix de vente moyen du fromage était significativement faible.

#### 4. Typologie des unités de transformation



**Figure 45.** Décroissance des valeurs propres de l’ACM.

Le diagramme présentant la décroissance des valeurs propres de l’ACM indiquait un premier saut d’inertie après la deuxième dimension de l’ACM (**Figure 45**). Par conséquent, seul le premier plan factoriel composé des 2 premières dimensions de l’ACM sera interprété

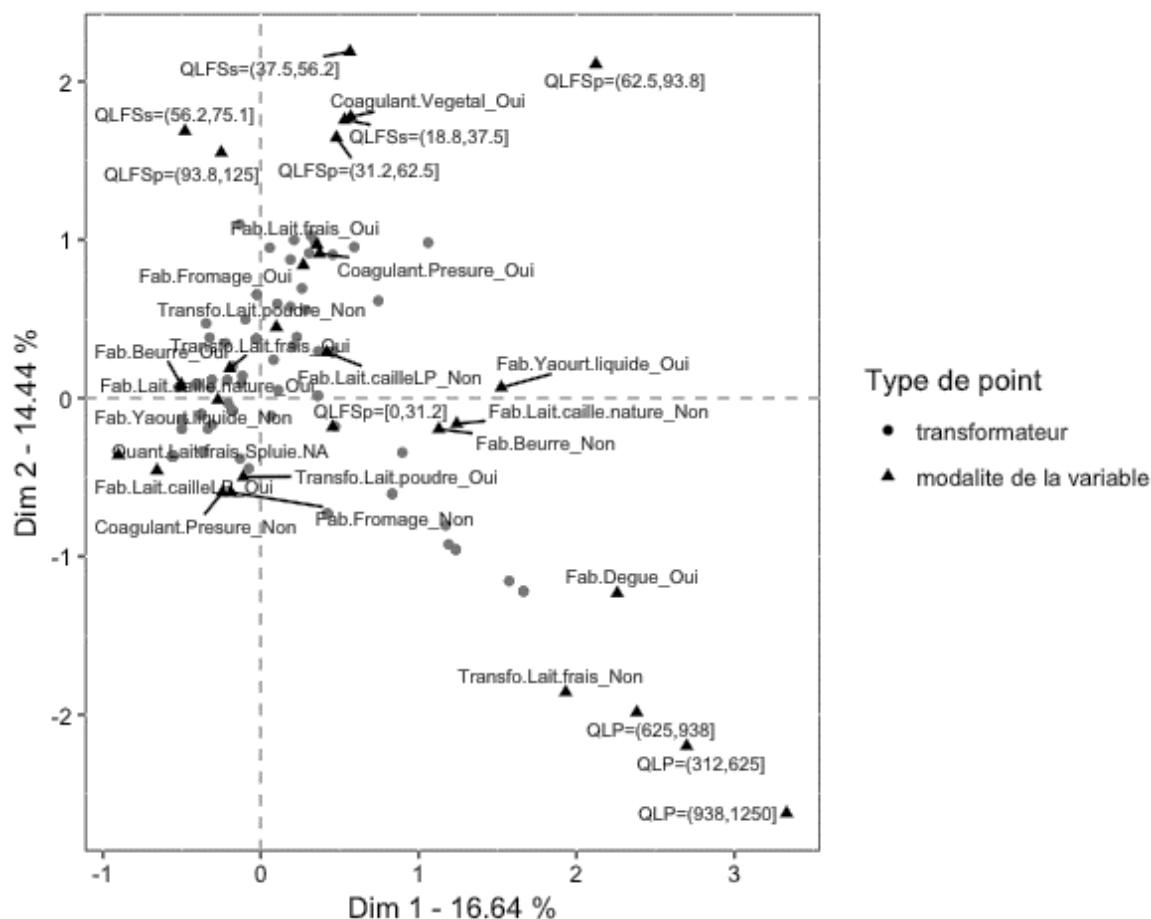


par la suite. Ces 2 premières dimensions expliquaient environ 31 % de la variabilité totale de l'échantillon de transformateurs (**Figure 46**).

L'analyse de la projection des individus et des modalités des variables (**Annexe 6b**) sur les 2 premières dimensions de l'ACM permettait de mieux comprendre les oppositions observées entre les transformateurs (**Figure 46**).

La 1<sup>ère</sup> dimension opposait les transformateurs selon la quantité de lait en poudre transformée quotidiennement, la transformation ou non de lait frais de vache et la fabrication de certains produits finis tels que le lait caillé, le beurre, le yaourt nature et le dégué. Plus précisément, cette 1<sup>ère</sup> dimension de l'ACM opposait des transformateurs qui ne transformaient pas de lait frais mais en poudre, qui fabriquaient du dégué, du yaourt, et ne fabriquaient pas de lait caillé ni de beurre (à droite de la dimension), aux transformateurs qui transformaient du lait frais et pas en poudre, qui fabriquaient du lait caillé nature, du beurre, et ne fabriquaient pas de yaourt (à gauche de la dimension). Cette première dimension constitue le principal axe de diversité des transformateurs.

La 2<sup>ème</sup> dimension opposait quant à elle, les transformateurs selon l'utilisation ou non de la présure, la fabrication de certains produits finis tels que le fromage et la transformation ou non de lait de vache. Plus précisément, cette 2<sup>ème</sup> dimension opposait des transformateurs qui utilisaient de la présure, qui fabriquaient du fromage, qui transformaient du lait frais et pas en poudre (en haut de la dimension), à des transformateurs qui n'utilisaient pas de présure, ne fabriquaient pas de fromage, ne transformaient pas de lait frais mais en poudre (en bas de la dimension).



**Figure 46.** Représentation superposée des transformateurs et des modalités des variables actives. Seules les variables les plus contributives à la construction des dimensions de l'ACM sont présentées sur le graphique.

Dans le but de déterminer si des groupes homogènes de transformateurs (ou clusters) existaient au sein de l'échantillon, une CAH avait suivi l'ACM réalisée sur les coordonnées des individus statistiques sur le 1<sup>er</sup> plan factoriel de l'ACM (distance euclidienne et critère d'agglomération). La CAH avait conduit à répartir les 152 transformateurs en 3 clusters homogènes (Figures 47 et 48). Les modalités des variables caractérisant significativement chaque cluster (valeur de  $p < 0,05$ ) sont présentées en Annexe 11.

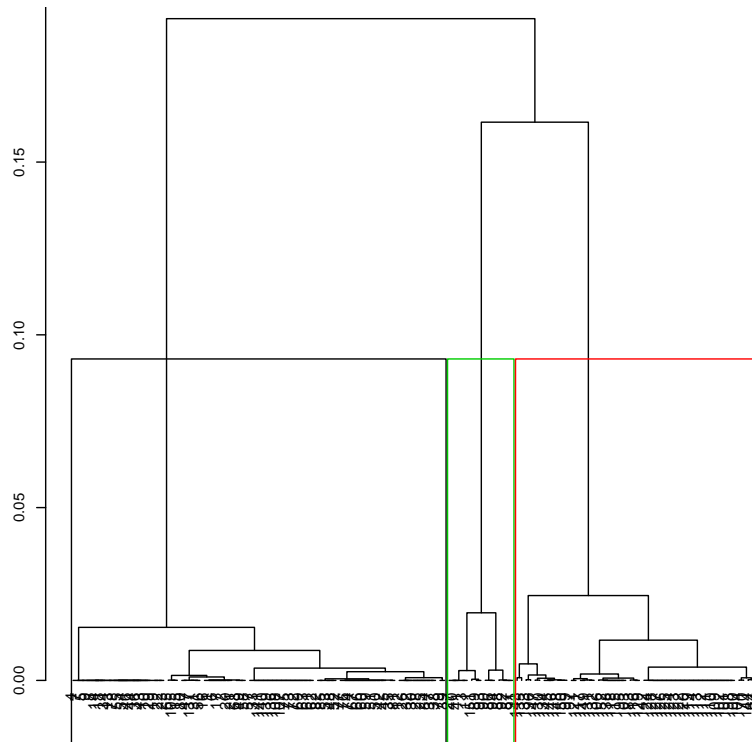


Figure 47. Arbre hiérarchique obtenu lors de la CAH de l'échantillon des transformateurs.

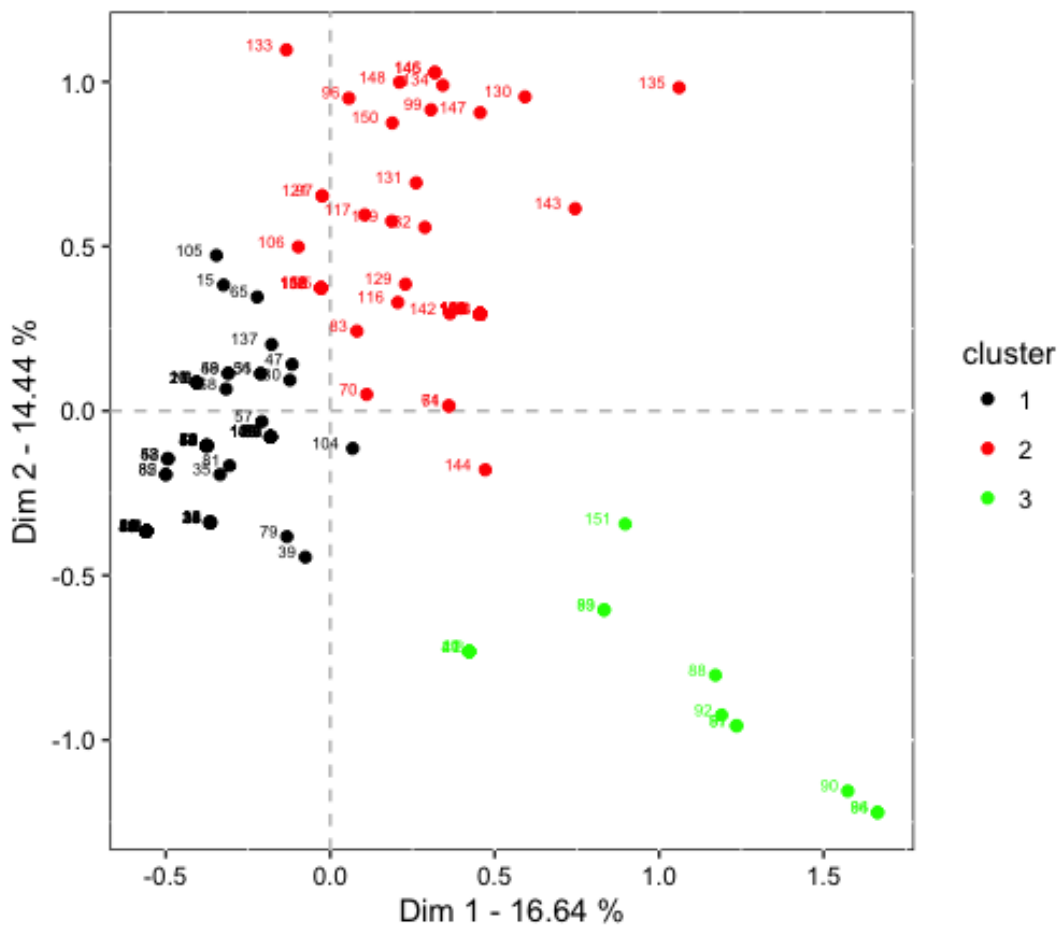


Figure 48. Représentation des transformateurs de l'ACM selon leurs clusters d'appartenance.

### **Cluster 1 (n = 84)**

Ce cluster regroupait 55 % des transformateurs impliqués dans l'étude. Il était caractérisé par une surreprésentation de la transformation du lait de vache et du lait en poudre, de la non-utilisation de présure, de la fabrication de beurre, de lait caillé, de la non-fabrication de yaourt et de fromage. Ce groupe de transformateurs était également caractérisé par une surreprésentation d'individus de sexe féminins, un faible niveau d'instruction des transformateurs, un faible nombre d'employés dans les unités de transformation (souvent individuelles), une durée d'exercice de l'activité élevée, la culture comme raison du choix de l'activité de transformation du lait, des implantations en milieux périurbain ou urbain et des structures individuelles. Les problèmes les plus couramment rencontrés par les transformateurs de ce cluster étaient des problèmes d'alimentation animale et de faible productivité des vaches.

### **Cluster 2 (n = 53)**

Le cluster 2 correspondait à un sous-groupe homogène composé de 53 transformateurs, soit 35 % de l'échantillon. Ce cluster était caractérisé par une surreprésentation de la transformation de lait de vache, de l'utilisation de présure et de coagulant végétal, de la fabrication de fromage, de yaourt et de la non-fabrication de lait caillé et de beurre. Ce cluster était également caractérisé par un nombre élevé d'employés dans les unités de transformation et une durée d'existence de l'activité faible, une surreprésentation des femmes, des implantations en milieu pastoral, du choix de l'activité de transformation pour raison de rentabilité ou de forte disponibilité du lait, des unités de transformation de type coopératives, des problèmes de faible productivité, de conservation du fromage, de manque d'équipement (comparativement aux observations faibles sur l'ensemble de l'échantillon).

### **Cluster 3 (n = 15)**

Le cluster 3 (10 % de l'échantillon) était caractérisé par une surreprésentation de la transformation du lait en poudre, la non-transformation de lait de vache, la non-utilisation de présure, la fabrication de yaourt et de dégué, la non-fabrication de lait caillé, de beurre et de fromage. Ce cluster était également caractérisé par une durée d'existence de l'activité faible, une surreprésentation des hommes, des structures de type mini-laiteries, des niveaux d'instruction du transformateur de niveau primaire et supérieur, d'implantations en milieu urbain et des problèmes d'accidents de fabrication, de distribution des produits fabriqués et de concurrence (comparativement aux observations faibles sur l'ensemble de l'échantillon).

## 5. Perspectives des unités de transformation

La majorité du panel de transformateurs avait déclaré avoir des perspectives d'amélioration pour leur activité, la citation de « Aucune » étant très minoritaire comme en témoigne la taille de ce terme sur la représentation word cloud (**Figure 49**). L'augmentation des capacités de fabrication à travers les perspectives d'augmentation de la production et de renforcement des capacités des acteurs était la principale perspective citée par les transformateurs. L'acquisition de capitaux plus importants apparaissait aussi comme une perspective d'amélioration. La modernisation des équipements de fabrication et l'industrialisation des unités de transformation étaient également envisagées comme perspectives par les transformateurs.



*Figure 49. Représentation graphique des perspectives d'amélioration de leur activité par les transformateurs. La taille d'un item est proportionnelle à sa fréquence de citation à l'échelle de l'échantillon.*

Une part importante des transformateurs avait déclaré n'avoir aucun besoin particulier de formation professionnelle (**Figure 50**). Les besoins en formation évoqués étaient surtout relatifs aux procédés de transformation (transformation du lait en fromage et transformation du lait en yaourt) et de conservation (conservation du lait et conservation du fromage) des produits. Des besoins de formation en alimentation animale ou en management des entreprises comme le marketing ou la gestion étaient également cités par les transformateurs.



*Figure 50. Représentation graphique des besoins en formation professionnelle des transformateurs. La taille d'un besoin en formation est proportionnelle à sa fréquence de citation à l'échelle de l'échantillon.*

#### **IV. Conclusion du Chapitre I**

Les résultats de cette étude ont montré que les pratiques d'élevage étaient particulièrement influencées par le site d'implantation des exploitations qui dictait aussi bien le choix des espèces animales que la gestion du lait. Les races animales constituant les troupeaux étaient différentes en fonction des sites d'implantation des élevages. En zone pastorale, les races bovines Azawak et Djelli, la chèvre sahélienne et les ovins Balami constituaient les troupeaux tandis qu'en zones urbaine et périurbaine, les zébus Bororo, la chèvre rousse et les ovins Balami prédominaient dans les troupeaux. Lorsque les conditions climatiques sont rudes (sécheresse et la raréfaction du pâturage et d'eau en zone pastorale), les espèces qui s'adaptent bien à ces conditions et à la transhumance sont privilégiées (zébu Azawak, chèvre sahélienne, ovins Balami). A titre d'exemple, la chèvre sahélienne, à cause de sa forme longiligne qui lui permet d'accéder au pâturage en hauteur (feuilles des arbres) et de sa capacité à supporter les longs déplacements (Marichatou et al., 2002) était privilégiée dans les élevages pastoraux alors que la chèvre rousse est caractéristique de la région de Maradi et est prisée pour la qualité de sa peau et la fréquence de ses mises-bas.

En zones urbaine et périurbaine, après la disponibilité du pâturage, la raison du choix de l'implantation des exploitations était le milieu de résidence. Les quartiers périphériques de la ville, qui ne côtoient pas directement des superficies cultivables, demeurent des endroits stratégiques où les éleveurs s'installent avec leurs animaux. Ces espaces permettent aux animaux d'accéder aux couloirs de passage et aux aires de pâturages en évitant les aires cultivées.

En milieux urbain et périurbain, les parts de lait transformé étaient plus importantes qu'en milieu pastorale alors que celles destinées à l'autoconsommation étaient plus élevées en milieu pastorale qu'en milieux urbain et périurbain. Ces données montrent que les familles d'éleveurs Peulhs résidentes en zones urbaine et périurbaine tendent à perdre leurs habitudes de consommation au profit des tendances de consommation urbaine et consacrent plus leur production de lait à la transformation et à la commercialisation des produits transformés. En zone pastorale, le prix de vente du litre de lait de vache variait très peu en fonction des saisons probablement à cause de la faible demande en lait dans la zone. En zones urbaine et périurbaine, la demande croissante en lait et la faible productivité des animaux en saisons sèche et froide augmentent les prix du litre.

La transformation du lait et la commercialisation des produits laitiers est une part importante du pastoralisme en Afrique subsaharienne. Les femmes sont au cœur de l'économie laitière en Afrique de l'Ouest. Elles participent à la traite et assurent la transformation et la commercialisation des produits laitiers. Les revenus générés permettent de subvenir aux besoins des familles et d'assurer les soins des animaux. A côté de la transformation du lait de vache, comme dans beaucoup de pays d'Afrique subsaharienne, la transformation de la poudre de lait est omniprésente dans la région de Maradi, aussi bien en milieu urbain et périurbain qu'en milieu pastorale. La faible productivité des animaux contraint les producteurs à recourir à la transformation de la poudre de lait. Elle permet aux unités de transformation « moderne » de répondre à la demande croissante en produits frais en zone urbaine et aux unités artisanales d'assurer un approvisionnement régulier en lait caillé.

## **Chapitre II. Caractérisation des systèmes de distribution et étude des déterminants de la consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi**

### **I. Introduction**

En Afrique de l'Ouest, la demande en laits et produits laitiers est satisfaite par une gamme diversifiée de produits provenant des systèmes locaux de transformation et des importations. Dans ce contexte, la production locale est en plein essor et l'offre en produits laitiers se compose à la fois de produits laitiers de fabrication artisanale, de produits frais locaux et de produits industriels importés. La disponibilité de ces produits et l'évolution du pouvoir d'achat de certaines catégories socio-professionnelles engendrent des changements dans les habitudes de consommation des populations.

Il nous a paru donc utile de comprendre la dynamique de la distribution et les déterminants de la consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi afin d'identifier le potentiel de développement du marché pour les produits laitiers locaux. Très peu de travaux ont en effet été récemment consacrés aux tendances de distribution et habitudes de consommation des produits laitiers dans les villes secondaires du Niger alors que le secteur de la transformation du lait est en plein essor à travers d'une part, l'ouverture des frontières aux échanges commerciaux et d'autre part, une dynamique des systèmes de production locaux.

La stratégie adoptée dans cette étude était de collecter des informations auprès des distributeurs et consommateurs de produits laitiers dans la ville de Maradi afin de caractériser les systèmes de distribution et étudier les principaux déterminants de la consommation urbaine de produits laitiers. L'étude visait aussi à compléter les résultats décrits précédemment dans le **Chapitre I** afin d'obtenir une analyse complète de la filière laitière dans la région de Maradi. L'enquête conduite en Novembre 2016 visait à déterminer les caractéristiques socio-économiques des distributeurs et des consommateurs de produits laitiers à Maradi, les types de produits distribués et consommés, les habitudes de consommation de la population urbaine, les caractéristiques des produits influençant la décision de consommation, la perception de la qualité des produits laitiers par la population et les problèmes rencontrés au cours de l'activité de la distribution des produits. Une démarche en 2 étapes était adoptée :



La 1<sup>ère</sup> consistait à étudier les caractéristiques des distributeurs et des systèmes urbains de distribution de produits laitiers. Les acteurs impliqués dans le commerce urbain des produits laitiers avaient fait l'objet d'une enquête par questionnaire en vue de renseigner :

- ✓ Leurs caractéristiques socio-économiques et la raison du choix de l'activité de distribution de produits laitiers
- ✓ Les différents types de points de vente
- ✓ Les différents types de produits distribués par ces acteurs
- ✓ Les moyens, températures et durées de conservation des produits dans les points de vente

La 2<sup>ème</sup> enquête s'est intéressée à l'analyse de la consommation des produits laitiers et ses principaux déterminants. Les questionnaires élaborés à cet effet portaient sur :

- ✓ Les caractéristiques socio-économiques des consommateurs (âge, sexe, niveau d'instruction, appartenance ethnique, profession)
- ✓ Les types de produits consommés et les fréquences et modes de consommation des différents produits
- ✓ Les caractéristiques des produits qui influencent la décision d'achat
- ✓ La sensibilité des consommateurs à la qualité des produits et leurs attentes vis-à-vis du système de production.

Les données recueillies à travers les enquêtes étaient saisies puis analysées en collaboration avec Margot BRARD du département de Statistique et Informatique d'Agrocampus Ouest, Rennes. Les résultats présentés dans ce chapitre sont le fruit d'une première analyse des données. Une étude approfondie sera réalisée ultérieurement et fera l'objet d'une publication dans la *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* du CIRAD.

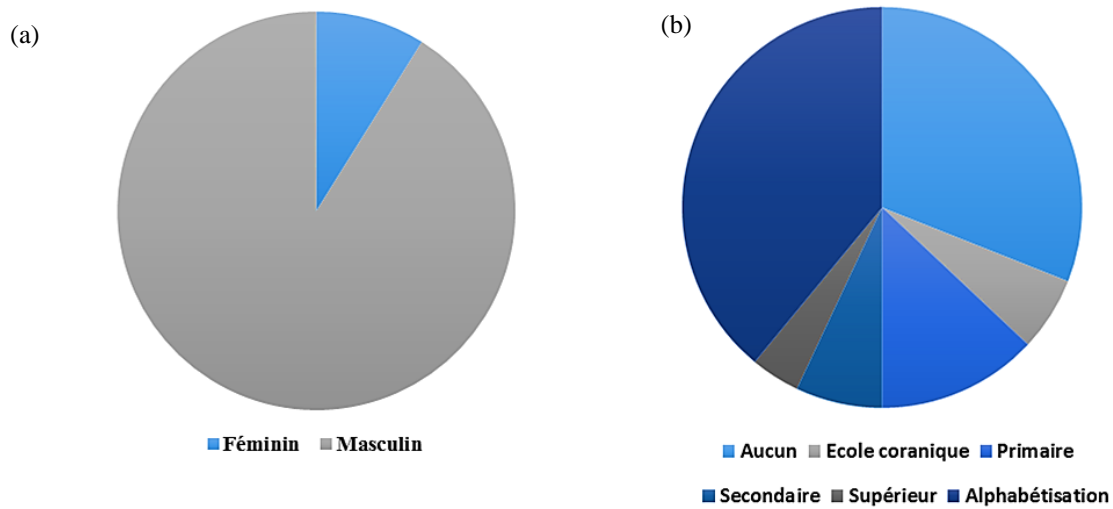
## **II. Caractérisation des systèmes de distribution**

### **1. Caractéristiques socio-économiques des distributeurs**

#### **1.1. Genre et niveau d'instruction**

L'échantillon de distributeurs interrogés dans cette étude était constitué de 225 individus impliqués dans le commerce urbain de lait et produits laitiers à Maradi. L'échantillon était caractérisé par une surreprésentation du genre masculin (82 %) (**Figure 51a**). Contrairement aux producteurs et transformateurs de lait et produits laitiers, les distributeurs étaient

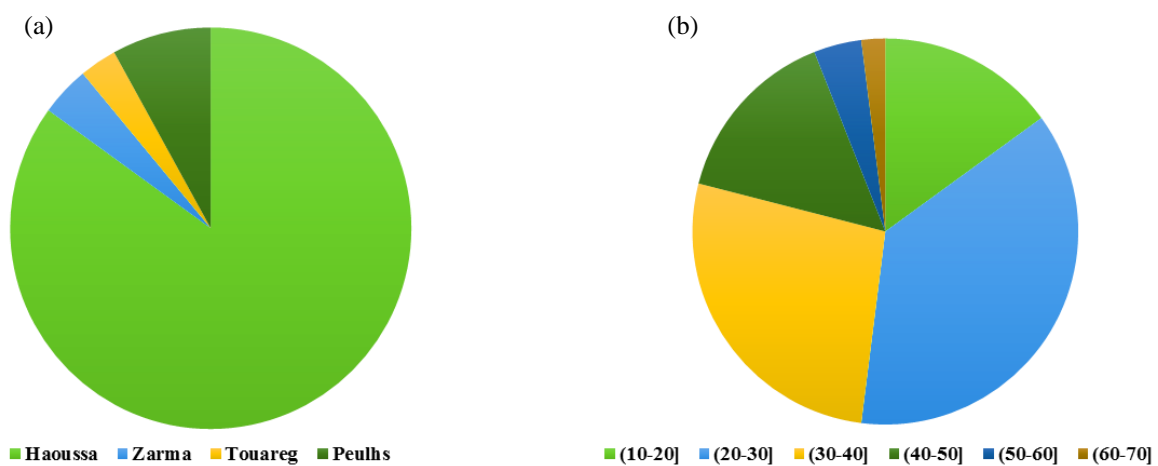
caractérisés par un niveau d’instruction modeste : 13 % avaient arrêté leur scolarité à l’école primaire, 7 % au secondaire et 4 % avaient fréquenté l’enseignement supérieur (**Figure 51b**).



**Figure 51.** Genre (a) et niveau d’instruction (b) des individus impliqués dans le commerce urbain de lait et produits laitiers à Maradi.

## 1.2. Appartenance ethnique et critères d’âges

Les distributeurs appartenaient majoritairement à l’ethnie Haoussa (85 %) (**Figure 52a**). Cette donnée est en accord avec les caractéristiques socio-économiques de la région de Maradi où résident majoritairement les Haoussas. L’échantillon de distributeurs était majoritairement jeune avec 52 % des individus interrogés ayant moins de 30 ans (**Figure 52b**). Cette donnée illustre la nouveauté et la dynamique du commerce des produits laitiers dans la ville de Maradi.

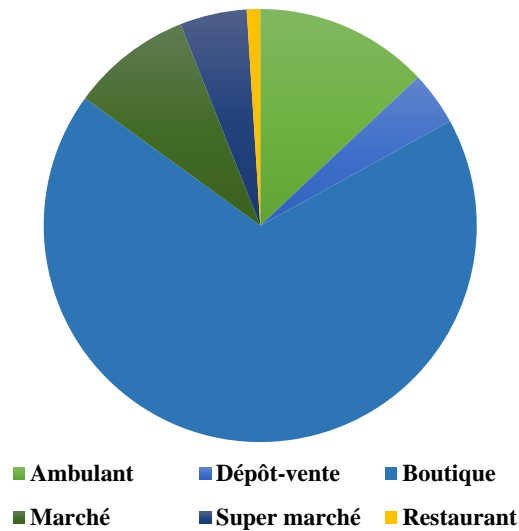


**Figure 52.** Appartenance ethnique (a) et âge (b) des distributeurs de produits laitiers dans la ville de Maradi.

## 2. Caractérisation de l'activité de distribution

### 2.1. Points de vente

La distribution du lait et des produits laitiers dans la région de Maradi est réalisée à travers 7 types de points de vente (**Figure 53**).



*Figure 53. Points de vente de laits et produits laitiers dans la ville de Maradi.*

La vente ambulatoire était caractérisée par une grande mobilité des distributeurs. Les distributeurs ambulants se déplacent à pieds ou à bicyclette et vont à la rencontre des clients dans les différents quartiers de la ville. Les produits vendus sont conservés dans des glacières pour les produits frais, ou dans des caibasses pour les produits artisanaux.

Les dépôts-vente sont des points de distribution caractérisés par un entreposage en grande quantité de produits laitiers frais (produits dans les laiteries et mini-laiteries) et la vente en gros, souvent à des distributeurs détaillants. Les produits sont entreposés dans des congélateurs de grande capacité (400 à 1000 litres) en attendant d'être écoulés.

Les boutiques de quartier sont les surfaces de vente les plus fréquemment rencontrées dans l'étude (68 % des points de vente). Elles constituent un commerce de proximité où les consommateurs se ravitaillent essentiellement en produits frais locaux (yaourt, dégué) mais aussi industriels (lait en poudre, lait concentré, beurre).

Les marchés sont des espaces ouverts où s'achètent et se vendent essentiellement les produits laitiers artisanaux (lait caillé, beurre, fromage). Ils sont animés par des rendez-vous journalier ou hebdomadaire des distributeurs urbains et périurbains.

Les super marchés sont des surfaces de vente modernes, où sont essentiellement commercialisés des produits laitiers importés (beurre, lait UHT, yaourt) mais aussi quelques produits frais locaux (yaourt, dégué, lait frais pasteurisé) provenant dans leur grande majorité des laiteries du pays (Niger Lait, SOLANI).

Le secteur de la restauration collective sert également de point de vente des produits laitiers. On y trouve généralement des produits frais locaux (yaourt, dégué).

## **2.2. Modes d'acquisition des produits**

Les points de vente des produits laitiers ci-dessus décrits étaient ravitaillés par achat des produits auprès de grossistes (mini-laiteries, importateurs de produits laitiers industriels, dépôts-vente, laiteries), livraison par les transformateurs ou production personnelle pour les distributeurs qui fabriquaient eux-mêmes leurs produits.

Pour la majorité des points de vente (63 %), le mode d'acquisition des produits était l'achat auprès des grossistes.

28 % des points de vente se faisaient livrer les produits par les unités de transformation, en particulier les mini-laiteries. Dans ce type de distribution, le transformateur utilise le point de vente (généralement les boutiques de quartier) comme interface d'écoulement de ses produits. Le distributeur fixe un prix de vente lui permettant de réaliser un bénéfice par rapport au prix fixé par le transformateur auquel il retourne les invendus en cas de péremption avant écoulement.

Pour 14 % des points de vente, les produits commercialisés étaient issus de leur propre activité de transformation (production personnelle). Ce mode de ravitaillement était essentiellement observé pour les distributeurs de produits artisanaux et les points de dépôt-vente des mini-laiteries.

Beaucoup de points de vente combinaient par contre 2 ou 3 de ces modes de ravitaillement.

## **2.3. Raison du choix de l'activité de distribution**

Pour 55 % (**Figure 54**) des distributeurs, la demande croissante de la population en lait et produits laitiers était la raison principale pour laquelle ils avaient choisi le métier de distributeurs de produits laitiers à Maradi. Cette caractéristique assure un écoulement rapide de

la marchandise et un renouvellement régulier des stocks, limitant ainsi les problèmes liés à la mévente et à la péremption des produits.

Si les Peulhs sont connus pour leur patrimoine culturel basé sur la transformation et la vente des produits laitiers, l'activité semble à présent relayée par d'autres ethnies à cause de sa rentabilité. Des produits tels que le fromage Tchoukou ou le lait de chamelle, autrefois disponibles que chez les transformateurs ou les producteurs, se retrouvent actuellement en vente dans les super-marchés. Ces exemples témoignent de la dynamique de la filière laitière dans la ville de Maradi.

**Forte demande**  
**Accessibilité de la marchandise**  
Culture  
**Grande rentabilité**

***Figure 54.** Représentation graphique des raisons du choix de l'activité de distribution des produits laitiers dans la ville de Maradi. La taille d'un item est proportionnelle à sa fréquence de citation à l'échelle de l'échantillon.*

#### **2.4. Problèmes rencontrés**

Les problèmes de conservation des produits frais étaient les plus fréquemment rencontrés par les distributeurs dans leur activité (**Figure 55**). La faible couverture en électricité et les délestages (souvent de longue durée) entraînent une péremption des produits, contraignant ainsi les distributeurs à subir des pertes. La faible rentabilité de l'activité est le problème le moins fréquemment rencontrés par les distributeurs.

# Problèmes de mévente

Problèmes d'approvisionnement  
Problèmes de faible rentabilité

# Problèmes de conservation

*Figure 55. Représentation graphique des problèmes rencontrés par les distributeurs dans leur activité. La taille d'un item est proportionnelle à sa fréquence de citation à l'échelle de l'échantillon.*

### 3. Variabilité des prix de vente des produits laitiers locaux et artisanaux

La comparaison des résultats des statistiques descriptives effectuées sur les prix de vente des produits laitiers montrait une certaine homogénéité des prix des produits frais locaux (**Tableau 14**). Aucune différence n'était observée entre les produits issus de mini-laiteries différentes. Ces dernières pratiquaient des prix de vente similaires probablement pour éviter les conséquences de la concurrence liée à un prix de vente élevé des produits sur le marché. Les boutiques de quartiers qui constituaient les principaux points de vente des produits frais locaux pratiquaient également des prix de vente homogènes.

**Tableau 14.** Prix de vente des produits frais locaux. *n* = nombre de répondants ayant donné une valeur à la modalité « prix de vente du produit ».

	Yaourt (200 mL)	Yaourt (500 mL)	Dégué (300 mL)	Crème glacée (50 g)
n	133	84	130	7
Min	75	250	100	50
Max	150	500	150	50
Moy	100	300	140	50
E. Type	7,12	24,84	14,24	0

Les prix de vente des produits industriels importés (lait en poudre, beurre, lait UHT) (**Tableau 15**) étaient également assez homogènes. Une variabilité était cependant observée d'une marque de fabrication à une autre. Un autre facteur influençant considérablement les prix de vente des produits laitiers importés est la volatilité du taux de change du naira, qui influence

considérablement les échanges commerciaux avec le Nigéria, principal partenaire commercial de la ville de Maradi.

**Tableau 15.** Prix de vente en FCFA de quelques produits laitiers importés. *n* = nombre de répondants ayant donné une valeur à la modalité « prix de vente du produit ».

	Lait en poudre en vrac (1 Kg)	Lait en poudre conditionné (1 Kg)	Beurre (250 g)	Lait UHT (500 mL)	Fromage fondu (200 g)
n	23	85	9	21	6
Min	1000	1400	1000	600	1000
Max	1250	2500	1000	700	1000
Moy	1102	1775	1000	620	1000
E. Type	151,11	320,05	0,00	37,32	0,00

La variabilité des prix était surtout observée sur les produits laitiers artisanaux (**Tableau 16**). Elle est probablement liée à l'hétérogénéité du conditionnement des produits (mesures en poids et volumes des produits très variables) et à leur qualité : les produits artisanaux issus de la transformation artisanale du lait de vache sont vendus à des prix plus élevés que ceux issus de la transformation du lait en poudre. Sur les marchés, les prix des produits sont en général fixés à la suite d'une négociation entre le client et le distributeur, ce qui est également un facteur de variation des prix de vente.

**Tableau 16.** Prix de vente en FCFA de quelques produits laitiers artisanaux. *n* = nombre de répondants ayant donné une valeur à la modalité « prix de vente du produit ».

*Tiya* = en langue haoussa désigne un récipient traditionnel utilisé pour mesurer divers produits alimentaires notamment les céréales.

	Lait caillé (Tiya)	Beurre frais (Motte)	Beurre fondu (1 L)	Fromage Tchoukou (Feuille)
n	13	7	4	7
Min	150	50	1500	100
Max	2000	150	7000	400
Moy	950	90	4875	250
E. Type	589,65	60,99	2657,53	155,43

#### 4. Caractérisation de l'activité de distribution en fonction du genre

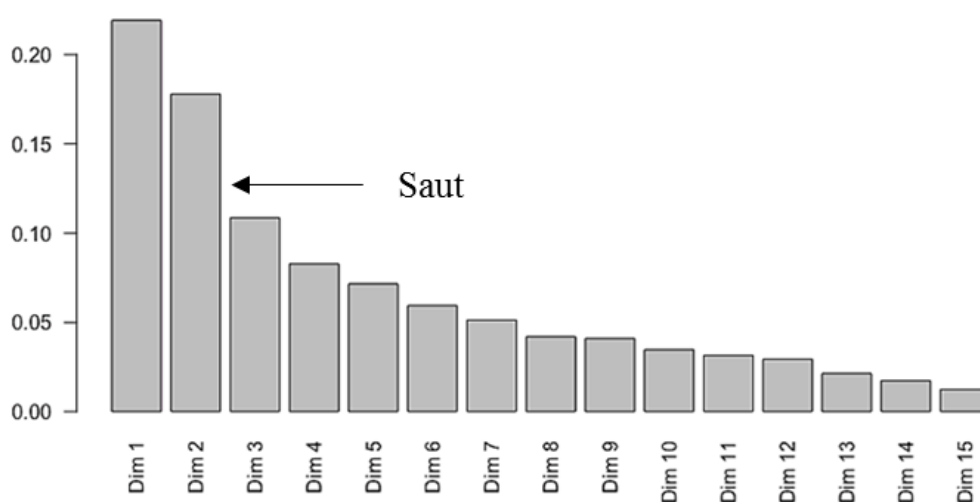
Les tests univariés réalisés pour étudier les relations entre la variable explicative « Genre » avec les modalités masculin et féminin et les 96 variables du jeu de données de

distribution montraient que les types de produits distribués, l'appartenance ethnique des distributeurs, les types de points de vente étaient significativement lié au genre du distributeur (**Annexe 12**).

Le genre féminin était associé à une surreprésentation de la vente des produits laitiers artisanaux (lait caillé, beurre, fromage Tchoukou) et une sous-représentation de la vente de produits frais locaux (yaourt, dégué). Ce groupe de distributeurs était également caractérisé par une surreprésentation de l'ethnie Peulh et de la fabrication des produits distribués. La distribution était réalisée au niveau des marchés ou des points de restauration collective dans ce groupe.

Le genre masculin était associé à une surreprésentation de l'ethnie Haoussa et de l'absence de transformation des produits distribués. La distribution en boutique était surreprésentée dans ce groupe alors que les ventes dans les points de restauration collective, et les marchés étaient sous-représentées. Le genre masculin était également caractérisé par une surreprésentation de la vente de produits frais locaux (yaourt, dégué) et une sous-représentation de la vente de produits laitiers artisanaux (lait caillé, beurre, fromage Tchoukou, lait frais).

## 5. Typologies de distributeurs



**Figure 56.** Histogramme des valeurs propres de l'ACM.

L'examen de l'histogramme des valeurs propres de l'ACM (**Figure 56**) met en évidence un coude, suivi d'une décroissance régulière, entre le 2<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> facteur, ce qui incite à retenir les 2 premières dimensions pour l'interprétation des données de l'ACM. Ces 2 dimensions cumulaient un pourcentage d'inertie d'environ 40 %, autrement dit, elles

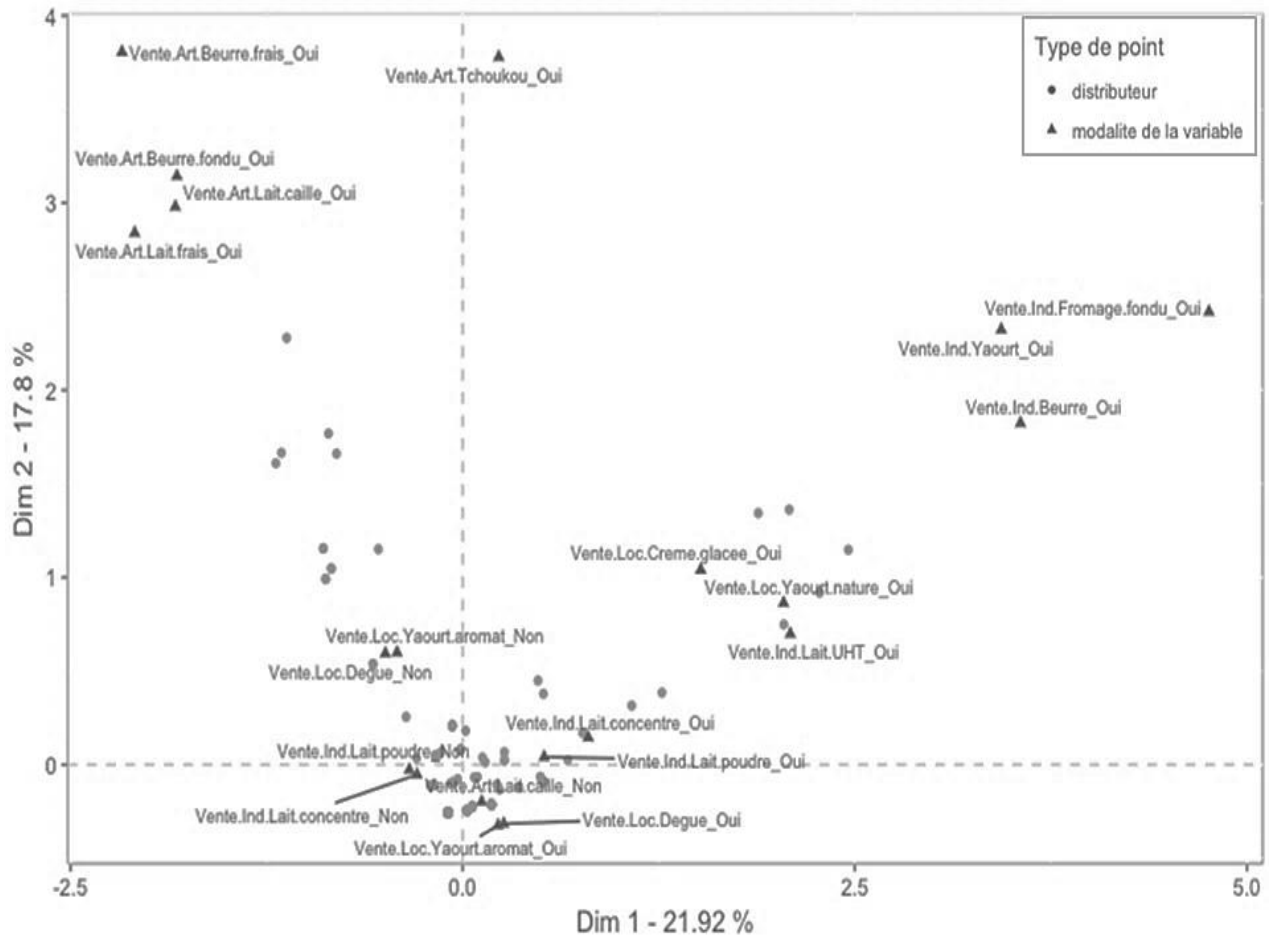


expliquaient environ 40 % de la variabilité à l'intérieur de l'échantillon. La description des variables utilisées pour la réalisation de l'ACM est présentée dans l'**Annexe 6c**.

L'analyse des projections des individus et des modalités des variables sur les deux premières dimensions de l'ACM (**Figure 57**) permettait de mieux comprendre les oppositions observées entre les distributeurs. Les 2 dimensions discriminaient les distributeurs en fonction des types de produits commercialisés.

La 1<sup>ère</sup> dimension opposait les distributeurs qui commercialisaient les produits industriels importés (lait en poudre, lait UHT, Beurre, lait concentré...), les produits frais locaux (yaourt aromatisé, dégué, crème glacée) et du fromage Tchoukou (à droite) aux distributeurs qui vendaient essentiellement des produits laitiers artisanaux (lait caillé, beurre frais, beurre fondu, lait frais de vache) et jamais de produits importés ou issus des mini-laiteries (à gauche). Cette première dimension discriminait vraisemblablement les commerces de type boutiques et supermarchés et les marchés.

La 2<sup>ème</sup> dimension opposait les distributeurs qui commercialisaient à la fois des produits laitiers importés et des produits issus de la transformation artisanale (en haut) aux distributeurs qui vendaient exclusivement les produits laitiers frais locaux (dégué, yaourt aromatisé) et jamais de lait concentré ou de lait caillé (en bas). Cette dimension distingue probablement l'activité des boutiques, super marchés et marchés d'une part et celle des dépôts-vente d'autre part.



**Figure 57.** Représentation factorielle de la superposition des individus (distributeurs) et des modalités.

La CAH réalisée à partir des résultats de l'ACM avait conduit à répartir les 225 distributeurs en trois clusters homogènes (**Figure 58**). Les modalités des variables caractérisant chacun de ces clusters pour une valeur de  $p$  inférieure à 0,05 sont rapportées dans l'**Annexe 13**.

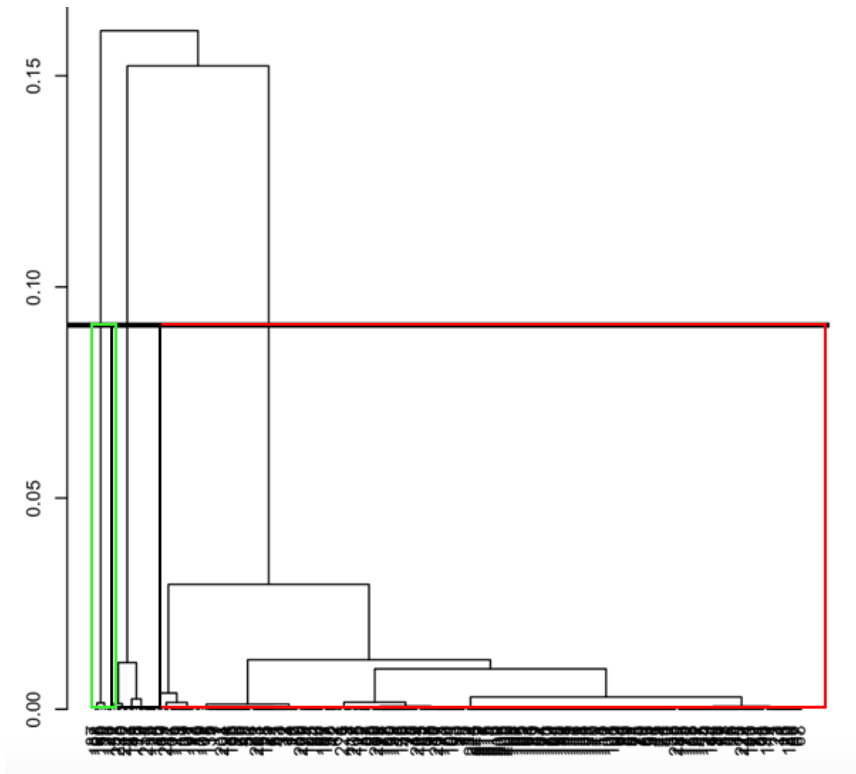


Figure 58. Dendrogramme des groupes de distributeurs.

La Figure 59 présente la projection sur un plan factoriel, des groupes de distributeurs formés par la CAH.

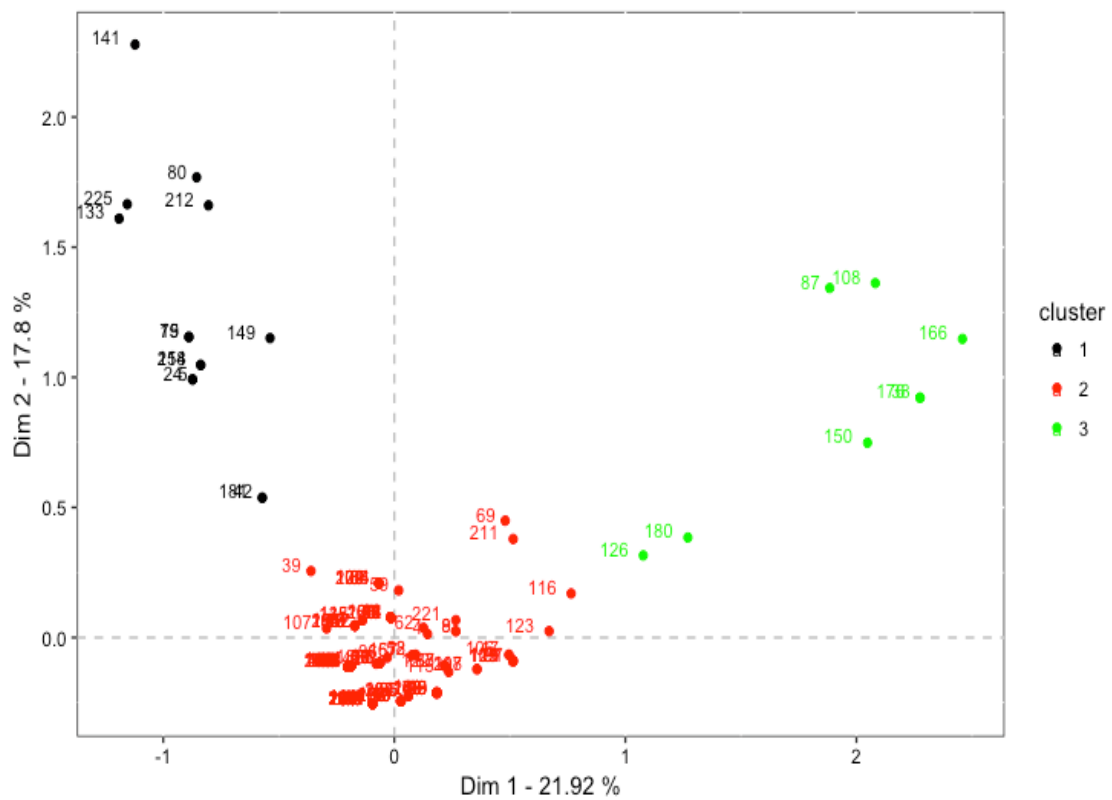


Figure 59. Projection des distributeurs en fonction de leurs clusters.

### **Cluster 1 (n = 14)**

Le 1<sup>er</sup> cluster, constitué de 14 individus, était caractérisé par une surreprésentation de la vente des produits laitiers artisanaux (lait frais, lait caillé, beurre frais, beurre fondu, fromage Tchoukou) et de l'approvisionnement par production personnelle. Les produits vendus étaient essentiellement conservés à température ambiante. Les distributeurs de ce cluster appartenaient majoritairement à l'ethnie Peulh, étaient de sexe féminin et citaient majoritairement la culture comme raison du choix de l'activité de distribution des produits laitiers. Dans ce cluster, l'activité de vente était essentiellement réalisée dans les marchés.

### **Cluster 2 (n = 203)**

Dans ce groupe constitué de 203 distributeurs, les ventes étaient réalisées dans des boutiques de quartier ou en ambulatoire. Les produits vendus étaient essentiellement des produits frais locaux (dégué, yaourt aromatisé et crème glacée) et des produits industriels importés (lait UHT, yaourt nature). Les produits laitiers artisanaux n'étaient pas vendus dans ce cluster. Les ventes se faisaient essentiellement en détails. Ce groupe de distributeurs était caractérisé par une surreprésentation du genre masculin, de l'ethnie Haoussa et de la tranche d'âge (30-40ans].

### **Cluster 3 (n = 8)**

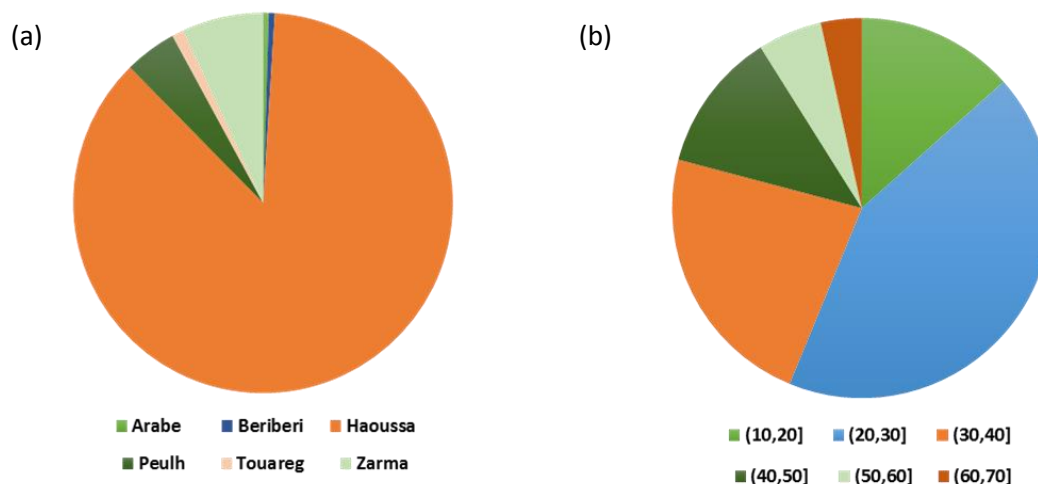
Ce cluster, constitué de 8 distributeurs, était caractérisé par une surreprésentation de la vente en supermarché et de la distribution en gros. Les produits commercialisés étaient des produits importés et des produits frais locaux. L'activité de distribution dans ce cluster était caractérisée par une utilisation du froid pour la conservation des produits frais (congélateur, réfrigérateur) et de la gestion des produits industriels en fonction des dates de péremption.

## **III. Consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi**

### **1. Caractéristiques socio-économiques des consommateurs**

#### **1.1. Genre et appartenance ethnique**

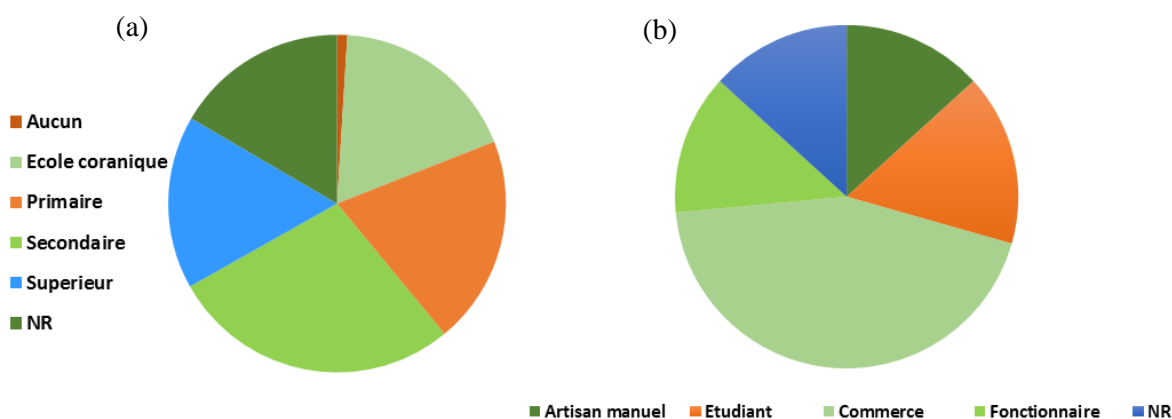
L'échantillon de consommateurs impliqués dans cette étude était constitué de 205 individus (34 femmes et 171 hommes). Les individus appartenaient à 6 groupes ethniques dont le plus représenté était celui des Haoussas (85 %) (**Figure 60a**). Ils étaient âgés en moyenne de  $32 \pm 12$  ans. Les tranches d'âge les plus représentées étaient celles de 20-30 ans et de 30-40 ans (**Figure 60b**).



**Figure 60.** Répartition des consommateurs en fonction de leur appartenance ethnique (a) et de leurs tranches d'âge (b).

## 1.2. Niveaux d'instruction et activités professionnelles des consommateurs

Les consommateurs avaient divers niveaux d'instruction (**Figure 61a**) et exerçaient diverses activités génératrices de revenus (**Figure 61b**). 40 % étaient mariés et à la tête de ménages comportant des enfants dont 50 % avaient moins de 5 ans.



**Figure 61.** Niveaux d'instruction (a) et activités professionnelles (b) des consommateurs interrogés. Le terme « artisans manuel » est utilisé pour regrouper les activités de coiffure, couture, menuiserie, maçonnerie et ménage domestique. NR=Non Renseigné

## 2. Produits consommés et fréquences de consommation

Parmi les individus impliqués dans l'étude, 16 (soit 7 % de notre échantillon) ont affirmé ne jamais consommer de lait ou de produits laitiers pour des raisons d'intolérance (56 %), de faible revenu (19 %) ou de goût (25 %).

Cette étude met en évidence la diversité des produits laitiers consommés dans la ville de Maradi. Les produits les plus consommés étaient le dégué (57 %) et le yaourt (45 %) et les

moins consommés étaient les beurres traditionnel ou industriel, le lait UHT et la crème glacée (**Tableau 17**).

**Tableau 17.** *Fréquences de consommation des produits laitiers.*

	Fréquence hebdomadaire de consommation (n)			
	3 à 4 fois	1 à 2 fois	1 fois	0 fois
<i>Produits artisanaux</i>				
Lait frais	8	28	129	40
Lait caillé de chèvre	6	8	55	136
Lait caillé de vache	55	32	93	25
Beurre frais	1	4	49	151
Beurre fondu	25	9	136	35
Fromage Tchoukou	9	24	123	49
Fromage Wagashi	-	-	6	199
<i>Produits frais locaux</i>				
Yaourt aromatisé	96	32	59	18
Yaourt nature	-	3	152	50
Dégué	33	108	50	14
Crème glacée	-	2	4	199
<i>Produits industriels importés</i>				
Lait en poudre	33	82	6	84
Lait concentré	30	44	4	127
Lait pasteurisé ou UHT	6	7	-	192
Beurre	1	15	-	189
Yaourt	-	10	-	195
Fromage fondu	-	-	3	202
Fromage affiné	-	-	-	205

### 3. Habitudes de consommation

Les produits laitiers étaient consommés principalement au cours des 3 repas de la journée avec une nette prédominance de la consommation de lait en poudre, de lait concentré, de beurre et de fromage fondu au petit déjeuner. Le diner était le 2<sup>nd</sup> moment privilégié de la consommation des produits laitiers. Le beurre fondu et le lait UHT y étaient fréquemment consommés. Le déjeuner était marqué par la consommation du lait caillé. Des produits tels que le yaourt, le dégué, le fromage Tchoukou et la crème glacée étaient consommés à tout moment de la journée (**Tableau 18**).

Les produits laitiers étaient habituellement consommés en association avec d'autres produits alimentaires, en particulier ceux à base de céréales. La grande majorité des consommateurs (97 %) avaient affirmé consommer le lait caillé avec de la bouillie de mil ou de sorgho et 97 % ajoutaient également à leurs repas, du beurre fondu. Le lait frais, en raison des vertus qui lui sont traditionnellement attribuées était essentiellement consommé seul ou avec des médicaments de la médecine traditionnelle, pour soigner diverses affections. Des produits tels que le yaourt et le dégué étaient cependant consommés tels quels, sans accompagnement (**Tableau 18**).

**Tableau 18.** Fréquence de consommation des produits laitiers.

	Nombre de consommateurs	Nombre d'individus consommant le produit au			Accompagnements fréquents
		Petit déjeuner	Déjeuner	Diner	
<i>Produits artisanaux</i>					
Lait frais	36	22	6	22	Médicaments
Lait caillé de vache	91	11	77	41	Boule de mil
Beurre fondu	42	17	18	37	Repas
Fromage Tchoukou	52	23	21	30	Bouillie de mil
Fromage wagashi	6	-	6	-	Aucun
<i>Produits frais locaux</i>					
Yaourt aromatisé	130	60	88	91	Aucun
Dégué	140	62	74	88	Aucun
<i>Produits industriels importés</i>					
Lait en poudre	121	104	12	46	Pain
Lait concentré	76	58	9	22	Pain
Lait pasteurisé ou UHT	10	5	2	8	Aucun
Beurre	5	5	-	-	Pain
Fromage fondu	3	3	-	-	Pain

#### 4. Facteurs influençant les décisions d'achat et de consommation

Plusieurs attributs ont été identifiés par les consommateurs comme facteurs qui influençaient leurs décisions d'achat et de consommation des produits laitiers :

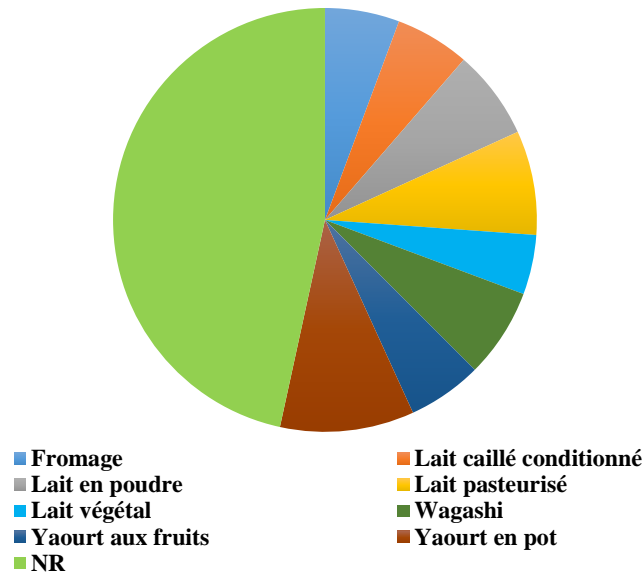
- L'apport nutritionnel était la 1<sup>ère</sup> raison pour laquelle les individus ont déclaré consommer des produits laitiers. L'apport nutritionnel des produits laitiers

consommés à Maradi était considéré comme bon par 52 % des consommateurs, assez bon par 21 % et excellent par 25 %.

- Les caractéristiques organoleptiques des produits étaient le 2<sup>ème</sup> facteur influençant la décision d'achat et de consommation des produits laitiers. Pour 51 % des consommateurs, la qualité organoleptique des produits laitiers commercialisés dans la ville de Maradi était bonne et 22 % la trouvaient excellente.
- Pour 42 % des consommateurs, la consommation des produits laitiers était motivée par le plaisir de consommation. Le critère de choix le plus fréquemment cité (72 %) dans ce groupe de consommateurs était l'influence des spots publicitaires mettant en valeur les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits.
- La culture était également un critère de décision de consommation. Elle était liée à l'appartenance ethnique des consommateurs car 100 % des consommateurs ayant évoqué cette raison comme facteur influençant la décision de consommation appartenait à l'ethnie Peulh.
- Les prix des produits influençaient également les décisions d'achat et de consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi. Les produits étaient en général considérés abordables par les consommateurs. Les prix étaient acceptables par 75 % des consommateurs et très accessibles par 17 %. Seuls 5 % des consommateurs les considéraient comme très élevés.

Ces données montrent la bonne acceptabilité des produits laitiers dans la ville de Maradi et illustrent la dynamique des unités de transformation dans la région. Cependant, si les consommateurs ont affirmé être en général satisfaits des produits laitiers disponibles dans les points de vente urbains, ils demeuraient intéressés par la découverte de nouveaux produits laitiers. En effet, 43 % des consommateurs ont répondu « oui » à la question « Désirez-vous consommer de nouveaux produits laitiers? ». La **Figure 62** présente la diversité des nouveaux produits désirés par les consommateurs. La diversité des réponses obtenues constitue autant de piste de diversification de production pour les unités de transformation locales.





*Figure 62. Nouveaux produits laitiers désirés par les consommateurs. NR=Non Renseigné.*

## 5. Déterminants de la consommation

### 5.1. Activité professionnelle (pouvoir d'achat)

Les analyses univariées effectuées pour étudier les corrélations entre la variable « activité pratiquée » avec 4 modalités (artisan manuel, commerçant, élève-étudiant et fonctionnaire) et les autres variables du jeu de données montraient que le type de produits consommés, le mode d'acquisition et de consommation des produits et les habitudes de consommation des produits (fréquence, moment, accompagnent) dépendaient du type d'activité professionnelle du consommateur et par conséquent de son pouvoir d'achat (**Annexe 14**).

L'activité professionnelle d'artisan manuel (menuiserie, maçonnerie, coiffure, couture) était caractérisée par une consommation régulière de produits frais locaux (yaourt aromatisé, dégué) et une faible consommation de produits industriels importés (lait en poudre). Les produits frais achetés étaient habituellement conservés dans des glacières ou à température ambiante après achat. Le niveau d'instruction « primaire » était surreprésenté dans ce groupe et le faible coût des produits était un facteur déterminant pour l'achat et la consommation par ces individus.

L'activité « commerce » était caractérisée par une consommation régulière des produits frais locaux (dégué) et des produits artisanaux (fromage Tchoukou). Les produits industriels n'étaient jamais consommés. L'instruction coranique était surreprésentée dans ce groupe de consommateurs de même que les quartiers de résidence Gao et Soura Bildi. L'achat des produits laitiers en super marché était sous représentée.

Le groupe des élèves-étudiants était caractérisé par une consommation régulière (1 à 2 fois par semaine) de produits industriels importés et une absence de consommation des produits laitiers artisanaux. L'achat familial était sous représenté dans ce groupe de consommateurs. Les niveaux d'instruction secondaire et supérieure étaient surreprésentés de même que le quartier de résidence Ali Dan Sofo. Le désir de nouveaux produits type « lait végétal » ou « produits artisanaux conditionnés » était surreprésenté.

Le groupe des fonctionnaires était caractérisé par une consommation régulière (1 à 2 fois par semaine) des produits industriels importés (habituellement au petit déjeuner) et des produits frais locaux. Les produits artisanaux étaient rarement consommés. L'achat familial et l'acquisition des produits en super marché étaient surreprésentés dans ce groupe de consommateur. La conservation des produits au réfrigérateur était également surreprésentée de même que le critère de choix « valeur nutritionnelle ». L'ethnie Djerma et le désir de consommer de nouveaux produits laitiers type « wagashi » était aussi surreprésentés.

## **5.2. Statut matrimonial**

Un autre facteur influençant la décision d'achat et de consommation des produits laitiers dans notre échantillon était le statut matrimonial des consommateurs et par conséquent la destination des produits achetés. Les tests du  $\chi^2$  et de Fisher réalisés sur notre jeu de données en prenant comme variable explicative le type d'achat avec 2 modalités « achat familial » et « achat individuel » ont révélé que les habitudes de consommation (fréquence, moment), le choix des produits laitiers consommés, le type de point de vente où étaient achetés les produits et le mode de conservation de ces produits étaient liés au type d'achat (**Annexe 15**).

« Achat familial »

Ce groupe de consommateurs était caractérisé par une consommation régulière (fréquence de 1 à 2 fois par semaine) de produits industriels importés (lait en poudre, lait concentré et beurre) habituellement le matin, de produits laitiers artisanaux (fromage Tchoukou) et de produits frais locaux (yaourt). Le critère de choix « valeur nutritionnelle » était surreprésenté dans ce groupe de même que la tranche d'âge 35-70 ans et l'achat des produits en super marché. Les fréquences de 1 enfant de 0 à 2 ans, 1 enfant de 3 à 5 ans et 1 enfant de 6 à 12 ans étaient surreprésentées dans les familles de ces consommateurs.

« Achat individuel »

Dans ce groupe de consommateurs, il n'y avait ni type de produits laitiers particulièrement consommés, ni d'habitude de consommation particulière. La consommation du fromage Tchoukou, du lait en poudre et du beurre industriel étaient par contre sous-représentée de même que l'achat des produits en super marché. La tranche d'âge 13-35 ans était surreprésentée dans ce groupe de même que l'activité élève-étudiant.

### 5.3. Age

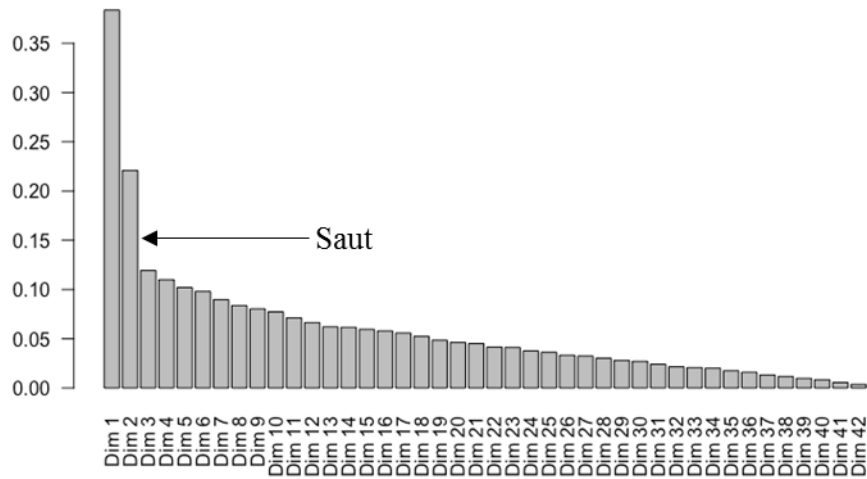
L'âge des consommateurs était également un facteur de variabilité des habitudes de consommation des produits laitiers (fréquence, moment, accompagnent), du choix des produits consommés et des modes d'acquisition et de conservation des produits (**Annexe 16**).

La tranche d'âge 13-35 ans était caractérisée par une consommation régulière (fréquence de 3 à 4 fois par semaine) de produits frais locaux (dégué) principalement le matin ou la soir et une sous-représentation de la consommation des produits laitiers artisanaux (lait caillé). La conservation des produits frais dans des glacières était surreprésentée de même que l'achat des produits en boutique. L'achat familial était par contre sous représenté. Les enfants de 6 à 12 ans et de plus de 15 ans étaient également sous-représentés dans les familles de ces consommateurs.

Dans la tranche d'âge 35-70 ans, le lait caillé était régulièrement consommé (fréquence de 1 à 2 fois par semaine) habituellement à midi en accompagnement de la boule de mil. Le beurre fondu était également souvent consommé le matin. Les produits frais locaux (yaourt, dégué) étaient par contre rarement consommés (moins d'une fois par semaine). Cette tranche d'âge était aussi caractérisée par une surreprésentation de l'achat familial, de l'achat des produits laitiers au marché et de l'activité « fonctionnaire ». L'achat des produits laitiers en boutique était sous représenté.

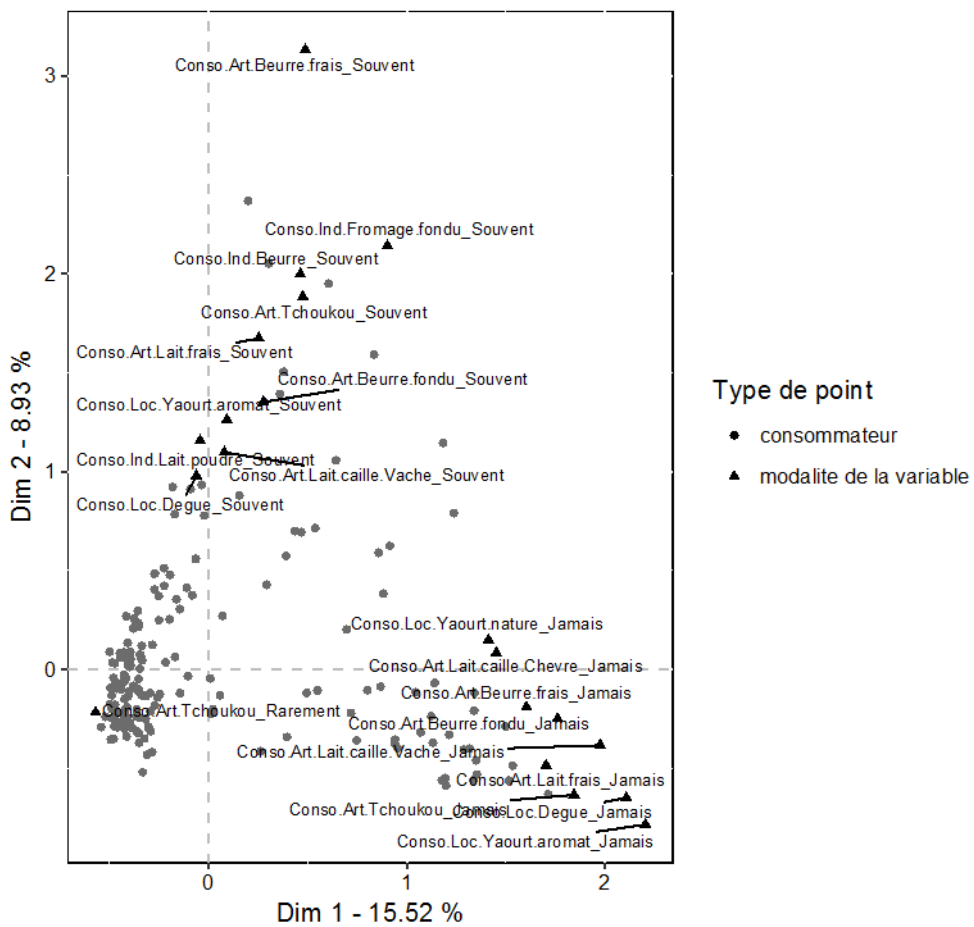
## 6. Typologies de consommateurs

Le diagramme de décroissance des valeurs propres de l'ACM indiquait un 1<sup>er</sup> saut après la 2<sup>ème</sup> dimension suivi d'une décroissance constante (**Figure 63**). L'interprétation des données s'est donc faite uniquement sur le premier plan factoriel composé de ces 2 dimensions. Ces 2 dimensions expliquaient 24 % de la variabilité totale de l'échantillon de consommateurs. Le jeu de données était constitué de 205 individus et 154 variables (**Annexe 6d**).



**Figure 63.** Décroissance des valeurs propres de l'ACM.

L'analyse des projections des individus et des modalités des variables sur les 2 premières dimensions de l'ACM (**Figure 64**) permettaient de mieux comprendre les oppositions observées entre les consommateurs.

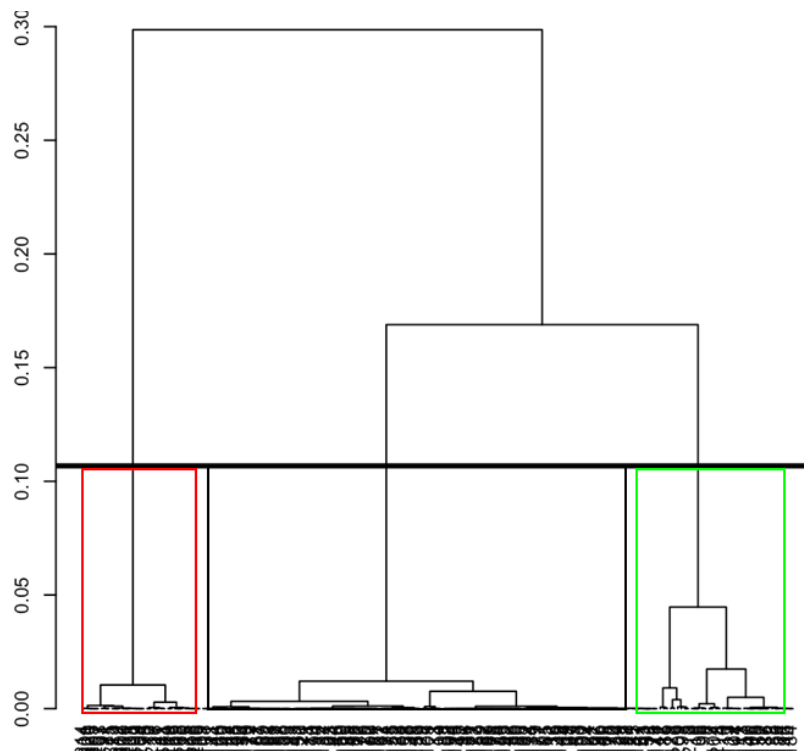


**Figure 64.** Projection des individus (consommateurs) et des modalités des variables sur le 1<sup>er</sup> plan factoriel de l'ACM.

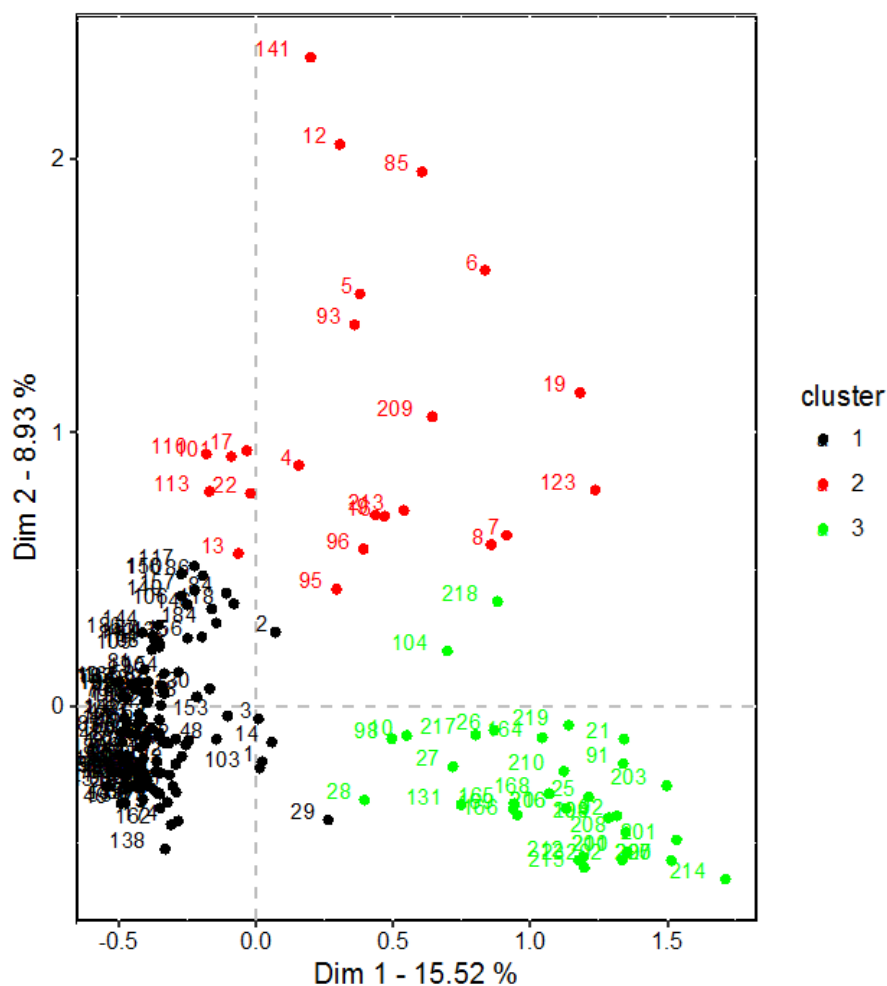
La 1<sup>ère</sup> dimension de l'ACM discriminait les individus en fonction de la catégorie des produits laitiers qu'ils consommaient. Elle distinguait les individus qui consommaient peu (moins de 2 fois par semaine) les produits laitiers artisanaux (beurre frais, lait caillé de vache, beurre fondu, fromage Tchoukou) et les produits industriels importés (lait en poudre, fromage fondu, beurre) mais jamais de produits frais locaux (yaourt nature, yaourt aromatisé, dégué) à droite et à gauche, ceux qui consommaient souvent des produits frais locaux (dégué), du lait en poudre et rarement des produits laitiers artisanaux (fromage Tchoukou).

La 2<sup>ème</sup> dimension de l'ACM distinguait les individus en fonction de la fréquence de leur consommation de produits laitiers. Elle discriminait en haut les individus qui consommaient souvent les produits laitiers toutes catégories confondues et en bas ceux qui ne consommaient jamais ou rarement ces produits.

Les individus et variables du jeu de données « consommation » étaient utilisés pour réaliser une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) après l'ACM. La CAH a conduit à regrouper les consommateurs en 3 clusters distincts de par les 154 variables du jeu de données (**Figures 65 et 66**). Les caractéristiques de ces clusters sont résumées dans l'**Annexe 13**.



**Figure 65.** Dendrogramme des groupes de consommateurs formés par la CAH.



**Figure 66.** Représentation des clusters de la CAH sur le plan factoriel de l'ACM.

### Cluster 1 (n = 145)

Les consommateurs de ce cluster se distinguaient par une faible fréquence (0 à 1 fois par semaine) de consommation des produits laitiers artisanaux et une consommation régulière (3 à 4 fois par semaine) de lait en poudre associé habituellement aux boissons chaudes (café, thé) au petit déjeuner. Ce groupe de consommateurs était caractérisé par une conservation des produits laitiers achetés dans des glacières ou une consommation directe après achat. Ces consommateurs habitaient généralement les anciens quartiers de la ville de Maradi (Soura Bildi, Yan Daka, Limantchi) et achetaient leurs produits habituellement dans des marchés. La consommation des produits laitiers dans ce groupe reposait essentiellement sur les habitudes de consommation et les produits n'étaient choisis ni pour leurs caractéristiques organoleptiques, ni pour leurs bienfaits santé.

### **Cluster 2 (n = 23)**

Ce groupe de consommateurs était caractérisé par une consommation régulière (fréquence de 1 à 2 fois par semaine) de produits frais locaux, de produits industriels importés et de produits laitiers artisanaux à l'exception du beurre fondu. Ces consommateurs se distinguaient par des habitudes de consommation des produits industriels importés (lait en poudre, beurre, fromage fondu, lait concentré) le matin et des produits frais locaux (yaourt, crème glacée) à midi. L'ethnie Djerma étaient surreprésentée de même que le quartier résidentiel Zaria. Les enfants âgés de 3 à 5 ans étaient surreprésentés dans les familles de ces consommateurs. Les produits laitiers achetés étaient habituellement conservés au froid (réfrigérateur, congélateur) et étaient choisis sur des critères de caractéristiques organoleptiques et de valeurs nutritionnelles mais aussi sous l'influence de spots publicitaires. L'achat familial et le niveau d'instruction supérieur étaient surreprésentés dans ce cluster.

### **Cluster 3 (n = 37)**

Ce cluster était caractérisé par une absence de consommation des produits laitiers en général à l'exception des produits frais locaux. L'ethnie Haoussa était surreprésentée dans ce cluster de même que le quartier Bagalam, l'un des plus anciens quartiers de la ville de Maradi. Les rares produits frais locaux (yaourt et dégué) consommés dans ce cluster étaient conservés à température ambiante ou directement consommés après achat et étaient achetés en raison de leurs bienfaits santé. La qualité organoleptique des produits était considérée comme bonne dans ce cluster. Les enfants âgés de 0 à 2 ans étaient sous représentés dans les familles de ces consommateurs.

## **IV. Conclusion du Chapitre II**

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que l'offre en produits laitiers était diversifiée dans la ville de Maradi et se composait à la fois de produits laitiers de fabrication artisanale (lait caillé, beurre frais et fondu, fromage Tchoukou), de produits laitiers frais locaux (yaourt, dégué, crème glacé, lait pasteurisé) et de produits industriels importés (lait en poudre, lait concentré, yaourt, beurre, fromage fondu). La distribution de ces produits était réalisée à partir des dépôts-vente, des boutiques de quartier et des marchés. L'activité de distribution était influencée par le genre du distributeur et le type de point de vente. Les prix de vente des produits frais locaux et des produits importés variaient peu mais ceux des produits artisanaux variaient considérablement probablement en raison de l'hétérogénéité du conditionnement des produits (mesures en poids et volumes des produits très variables) et de leur qualité : les produits

artisanaux issus de la transformation du lait de vache sont vendus à des prix plus élevés que ceux issus de la transformation du lait en poudre.

La qualité organoleptique des produits laitiers, leur apport santé et leur coût étaient les principaux attributs qui influençaient les décisions d'achat et de consommation. La consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi était influencée par des facteurs socioculturels et économiques (appartenance ethnique, âge, activité professionnelle). Le statut matrimonial du consommateur influençait également leurs habitudes de consommation: les célibataires n'avaient pas d'habitudes de consommation particulière alors que les individus réalisant les achats familiaux étaient caractérisés par une consommation diversifiée de produits laitiers et des habitudes de consommation régulières (consommation de produits industriels le matin).

L'âge des consommateurs était également un facteur influençant le type de produits consommés et les habitudes de consommation des individus. Les individus âgés de moins de 35 ans étaient caractérisés par une consommation régulière de produits frais locaux tandis que les consommateurs de plus de 35 ans présentaient une préférence pour les produits laitiers artisanaux. L'activité pratiquée par les consommateurs, et par conséquent leur revenu jouait aussi un rôle prépondérant dans le choix des produits laitiers consommés et dans les fréquences de consommation des produits. Les artisans manuels et les commerçants (faible revenu) étaient caractérisés par une consommation régulière de produits frais locaux tandis que les individus à revenu plus élevés consommaient plus les produits importés.

Malgré la bonne appréciation de l'offre en produits laitiers dans la ville de Maradi, 40 % des consommateurs ont affirmé vouloir consommer de nouveaux produits parmi lesquels le fromage wagashi (7 %). Ces consommateurs étaient majoritairement des fonctionnaires (98 %) et en avaient déjà consommé. Le wagashi, fromage artisanal fabriqué en Afrique de l'Ouest (Bénin, Nigéria, Togo, Ghana), entre dans les pratiques alimentaires et culinaires de la sous-région et peut se consommer nature ou associé à des plats traditionnels où il remplace la viande ou le poisson.



**En raison de l'intérêt manifesté par les consommateurs de notre échantillon pour le wagashi et de la portée que peuvent avoir les résultats des travaux réalisés sur ce fromage (tous les pays producteurs en Afrique de l'Ouest), la suite de nos travaux de recherche se focaliseront sur l'étude de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, étape clé de la fabrication du fromage wagashi.**



## **2<sup>ème</sup> Partie**

Etude de la coagulation du lait par l'extrait de  
feuilles séchées de *Calotropis procera*



# Chapitre I. Optimisation des conditions physico-chimiques de coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*

## I. Introduction

Les méthodes classiques de transformation et de conservation du lait (écrémage, traitement UHT, coagulation présure, séchage par atomisation) sont souvent inaccessibles et trop onéreuses pour les éleveurs en Afrique de l'Ouest. L'utilisation des méthodes traditionnelles de transformation du lait y sont encore largement répandues et sont utilisées pour conserver les constituants les plus importants du lait (protéines et matière grasse). En Afrique de l'Ouest, la plupart des produits laitiers sont fabriqués à l'échelle de la ferme, selon des procédés empiriques basés sur l'observation et la pratique. Le processus de fabrication du fromage ouest-africain wagashi, utilisé par les nomades Peulhs en est un exemple. Il repose sur les propriétés coagulantes des feuilles de l'arbuste *Calotropis procera*. Bien que produit en petites quantités, le fromage wagashi est une précieuse source de nutriments et de revenus pour beaucoup de foyers en Afrique de l'Ouest. Il entre dans la composition de beaucoup de plats traditionnels où il remplace la viande ou le poisson. Grâce à la fabrication et au commerce de ce fromage, l'élevage pratiqué par les populations des zones de fabrication est devenu plus rentable que l'élevage sahélien (Sow, 2010).

La qualité du wagashi est très variable car influencée par la qualité du lait (qualité microbiologique, variabilité physico-chimique) et les techniques de fabrication. Comme évoqué dans la synthèse bibliographique de ce manuscrit, le wagashi a fait l'objet de travaux qui ont permis d'acquérir des données sur ses caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelles (Belewu, 2001 ; Alalade & Adeneye, 2006 ; Lawal & Adedeji, 2013) et l'activité des protéases coagulantes du *Calotropis procera* (Aworh et al., 1994 ; Dubey & Jagannadham, 2003 ; Singh et al., 2010 ; Singh & Dubey, 2011 ; Singh et al., 2013 ; Oseni & Ekperegin, 2013<sup>(a)</sup> ; Ramos et al., 2013 ; Freitas et al., 2007). La conservation du fromage et sa qualité microbiologique ont également fait l'objet de plusieurs travaux (Belewu et al., 2005 ; Ashaye et al., 2006 ; Adetunji & Babalobi, 2011 ; Mazou et al., 2012 ; Oladipo & Jadesemi, 2013 ; Dossou et al., 2016). Très peu de données existent cependant sur la standardisation du procédé de fabrication et l'optimisation du rendement et des coefficients de récupération des constituants laitiers. La plupart des travaux utilisent les procédés traditionnels de fabrication du fromage ou analysent

directement les fromages commercialisés. A partir de ces constats, nous nous sommes posés les questions suivantes :

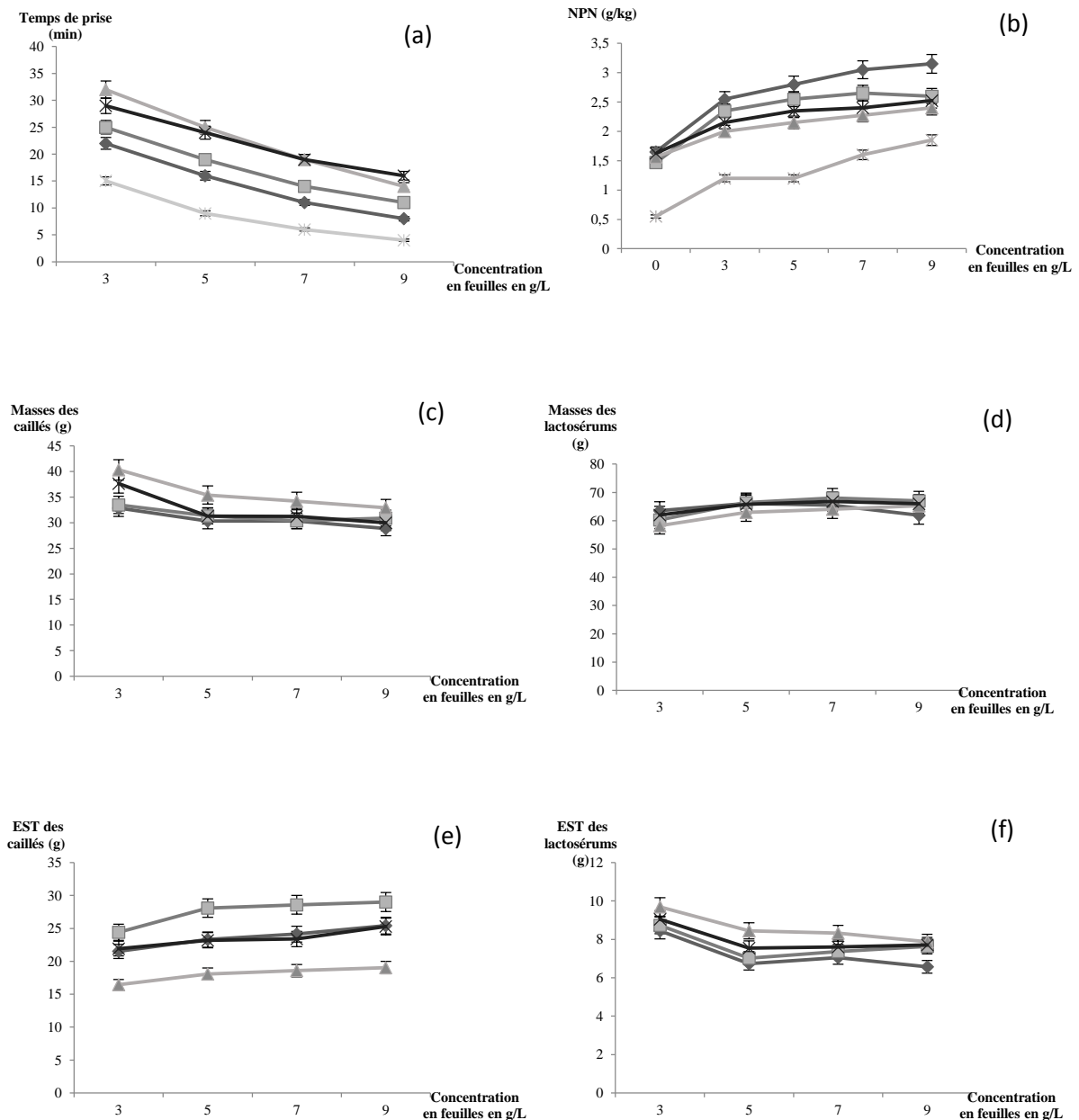
- ✓ Quelles sont les conditions physico-chimiques (pH, concentration en calcium, dose de coagulant, température, type de lait) qui permettraient d'obtenir une activité optimale de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* ?
- ✓ Comment mettre en place un itinéraire technologique de fabrication reproductible et maîtrisé d'un caillé en utilisant l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* comme coagulant tout en optimisant les rendements de fabrication ?

Afin de répondre à ces interrogations, notre démarche a consisté à tester différents paramètres physico-chimiques (pH, température, concentration en calcium) et biologiques (lait et dose de coagulant) sur l'aptitude à la coagulation du lait par l'extrait végétal. Différents types de laits, différentes concentrations en calcium, en glucono-delta-lactone (substance acidogène permettant d'abaisser rapidement le pH du lait), de feuilles de *Calotropis procera* et différentes températures étaient utilisés pour coaguler le lait en utilisant l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. Les temps de prise, les fractions NPN, les masses des caillés et lactosérums filtrés pendant 12 h après la coagulation et leurs extraits secs respectifs étaient mesurés. Une fois les conditions optimales de la coagulation déterminées, les résultats obtenus étaient utilisés pour réaliser une série de 3 fabrications avec des volumes de 10 L de lait pour mettre au point le procédé de fabrication et réaliser des bilans matière.

## **II. Détermination des conditions optimales de coagulation**

### **1. Détermination du type de lait et de la dose de coagulant**

Afin de déterminer le type de lait sur lequel l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* avait une activité optimale, 5 types de laits (lait cru de vache, lait pasteurisé, lait UHT, lait reconstitué à partir de poudre de lait écrémé low heat) et une suspension micellaire (PPCN) étaient coagulés avec différentes concentrations de l'extrait végétal. Les essais étaient réalisés à 95 °C conformément au procédé traditionnel de fabrication du fromage wagashi.



**Figure 67.** Temps de prise (a) et teneurs en NPN (b) des gels en fonction du type de lait et de la dose de coagulant. Masses des caillés (c), des lactosérums (d) et EST des caillés (e) et des lactosérums (f) après filtration des gels. Les résultats présentés sont des moyennes normalisées  $\pm$  écart type standard de 3 essais pour chaque type de substrat.

Lait UHT —◆—, lait reconstitué —■—, lait cru —▲—, lait pasteurisé —×—, PPCN —✕—

Les temps de prise variaient en fonction des types de lait et des concentrations en feuilles de *Calotropis procera* (**Figure 67a**). Les temps de prise étaient plus courts pour les laits ayant préalablement subi un traitement thermique. Plus le traitement thermique était important, plus les temps de prise étaient courts. A une concentration de feuilles de *Calotropis procera* de 3 g/L, les temps de prise étaient de 22, 25, 29 et 32 minutes respectivement pour le lait écrémé

UHT, le lait écrémé low heat reconstitué, le lait pasteurisé et le lait cru. Le temps de prise le plus court était observé avec le PPCN probablement en raison de la pureté de la suspension qui facilite la diffusion et l'activité des enzymes coagulantes. On peut conclure de ce premier résultat, que le traitement thermique du lait pourrait être un facteur influençant l'activité coagulante de l'extrait végétal. Pour tous les substrats, les temps de prise diminuaient avec l'augmentation de la dose du coagulant.

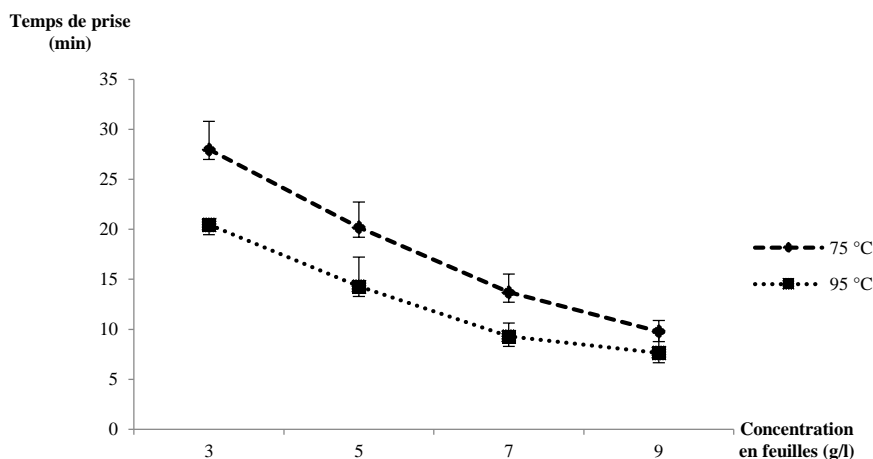
Le dosage des fractions NPN (**Figure 67b**) montrait une augmentation significative de l'azote non protéique entre les laits témoins (0 g/L de coagulant) et les premières doses de coagulant de 3 g/L et par la suite les différentes doses de coagulant. Cette augmentation de la teneur en NPN était en accord avec l'hypothèse de la protéolyse conduisant à la déstabilisation des micelles de caséine et leur réticulation tels que décrits dans la coagulation par la chymosine (**Cf. Synthèse bibliographique II. 2.2.**). La protéolyse était plus importante avec la suspension PPCN, puis le lait UHT, le lait reconstitué à partir de poudre de lait écrémé low heat, le lait pasteurisé et enfin le lait cru.

L'aptitude à l'égouttage des gels était évaluée par détermination des masses de lactosérums et de caillés recueillis après coagulation des différents laits aux différentes doses de coagulant (**Figure 67c, 67d, 67e, 67f**). Pour tous les types de laits, la concentration de 3 g/L de coagulant présentait un faible niveau d'égouttage en comparaison avec les autres doses de coagulant. Les extraits secs des caillés étaient plus importants pour les caillés fabriqués avec le lait reconstitué, puis les laits pasteurisé et UHT et le lait cru. Les lactosérums des caillés fabriqués avec le lait cru présentaient une teneur en extrait sec plus importante que celles des autres laits.

## 2. Détermination de la température optimale

La **Figure 68** présente l'impact des températures de coagulation sur les temps de prise à différentes doses de coagulant. Pour éviter toute variabilité liée à la composition du lait, les essais étaient réalisés uniquement avec du lait reconstitué à 10 % d'extrait sec à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillé.





**Figure 68.** Impact de la température de coagulation sur les temps de prise. Les résultats présentés sont des moyennes de 3 répétitions  $\pm$  écart type standard.

Aucune coagulation n'était observée pour des températures inférieures à 65 °C quelle que soit la dose de coagulant utilisée. Nos résultats étaient en contradiction avec ceux rapportés par Chikpah et al. (2014) qui, en utilisant une température de 50 °C et une dose 9 g de feuilles séchées de *Calotropis procera* pour coaguler 1 l de lait de vache pasteurisé, avaient obtenu un temps de prise de 27 min. Ces différences sont probablement dues à la qualité des feuilles et aux différences de temps de séchage des feuilles de *Calotropis procera* (7 jours dans notre étude et 4 pour l'auteur) et au temps écoulé entre le séchage et l'utilisation de notre matériel végétal. On peut supposer que la force du coagulant a été diminuée par le séchage des feuilles et le stockage avant utilisation (2 à 3 mois à 20 °C). Nos temps de prise à 75 et 95 °C étaient par contre en accord avec ceux rapportés par Aworh & Muller (1987), Adetunji & Babalobi (2011) et Oseni & Ekperigin (2013). Les temps de prise étaient plus courts à 95 °C qu'à 75 °C pour toutes les doses de coagulant.

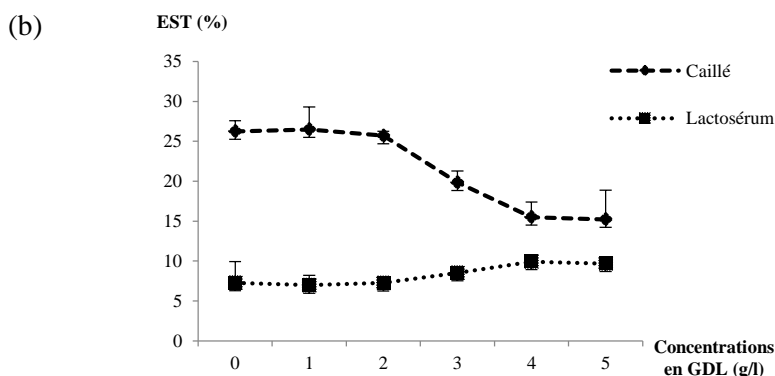
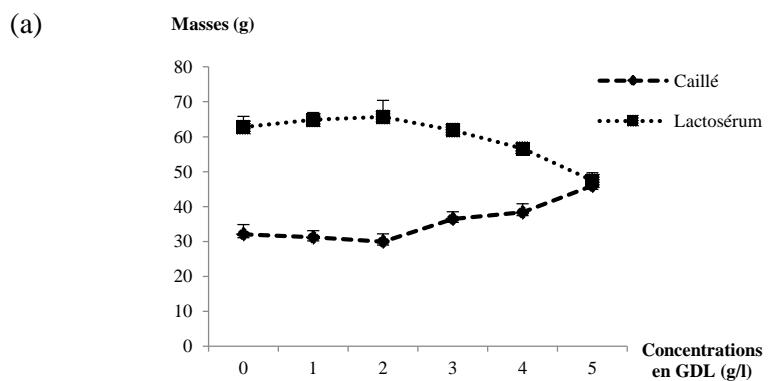
### 3. Détermination du pH optimal

Les essais étaient réalisés sur du lait reconstitué à 10 % de teneur en EST à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillée. Le pH du lait était modifié par utilisation de GDL à différentes concentrations (0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L) (**Tableau 19**).

**Tableau 19.** Caractéristiques des laits acidifiés et comportements au cours de la coagulation à 75 °C. Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type de 3 répétitions indépendantes. Le signe + indique l'intensité de la floculation observée au cours du chauffage des laits et de la coagulation.

	Concentrations en GDL (g/L)					
	0	1	2	3	4	5
pH des laits	6,67 $\pm$ 0,03	6,36 $\pm$ 0,02	6,11 $\pm$ 0,01	5,94 $\pm$ 0,12	5,78 $\pm$ 0,34	5,64 $\pm$ 0,04
Temps de prise (min)	20	21	20	18	9	4
Floculation	-	-	-	+	++	+++

Les valeurs de pH entre 6 et 6,7 ne semblaient pas affecter les temps de prise. Pour les valeurs en dessous de 6, une rapide floculation du lait était observée au cours du chauffage, indiquant une dénaturation des protéines et une déstabilisation des micelles de caséine sous l'action combinée du pH et de la température (75 °C). Les « matrices » obtenues après coagulation étaient hétérogènes (contrairement aux gels lisses et homogènes obtenus avec les concentrations de 0, 1 et 2 g/L de GDL) et étaient constituées de flocons de protéines et de sérum dissociés.



**Figure 69.** Masses et teneurs en EST des caillés et lactosérums récupérés après coagulation des laits acidifiés par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. Les résultats sont les moyennes de 3 séries de coagulations  $\pm$  écart type.

Les pH en dessous de 6 étaient en faveur d'une rétention de lactosérum dans les caillés. A partir d'une concentration de GDL de 3 g/L (pH 5,94), les masses des caillés augmentaient significativement (**Figure 69a**) alors que leurs extraits secs diminuaient (**Figure 69b**). D'autre part, les masses des lactosérums respectifs diminuaient (**Figure 69a**) alors que leurs extraits secs augmentaient (**Figure 69b**). Ainsi, l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* avait une activité optimale au pH du lait ( $6,70 \pm 0,05$ ). Cette conclusion est en accord avec celles des auteurs qui ont rapporté que les enzymes responsables de l'activité coagulante de l'extrait végétal étaient des enzymes actives à pH neutres voire légèrement basiques (Aworh et al. (1994), Farid et al. (2007), Singh et al. (2010)). Cette caractéristique du coagulant végétal le différencie de la chymosine pour qui le lait est légèrement acidifié en fromagerie (pH entre 5,8 et 6,4 selon le type de fromage fabriqué) afin d'en optimiser l'activité. La diminution du pH joue un rôle important sur l'activité de la chymosine mais aussi sur les micelles dont il diminue les répulsions électrostatiques et l'organisation interne des caséines (Cf. **Synthèse bibliographique 2. 2.2.**).

#### **4. Détermination de la concentration optimale en calcium**

Le chlorure de calcium est habituellement utilisé en fromagerie pour diminuer le temps de prise et augmenter la fermeté des gels présure (Cayot & Lorient, 1998 ; Walstra et al., 2006 ; Sandra et al., 2012). Dans notre cas, le calcium ne semblait pas avoir un effet facilitateur sur la protéolyse effectuée par les enzymes contenues dans l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* (**Tableau 20**). Les temps de prise n'étaient pas significativement différents entre le lait témoin (0 g/Kg de  $\text{CaCl}_2$ ) et les laits contenant différentes concentrations de calcium. Les gels avaient le même comportement à l'égouttage. Les masses de caillés et lactosérums récupérées après filtration des gels n'étaient pas significativement différentes entre les 4 concentrations de calcium.

**Tableau 20.** Effet du calcium sur les temps de prise et l'aptitude à l'égouttage des gels coagulés par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera*.

	Concentrations en calcium (g/Kg)			
	0,000	0,035	0,050	0,100
pH	6,67 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,64 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,63 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,63 ± 0,09 <sup>a</sup>
Temps de prise (min)	32 ± 4 <sup>b</sup>	32 ± 3 <sup>b</sup>	32 ± 3 <sup>b</sup>	31 ± 3 <sup>b</sup>
Masse de caillé (g)	32,62 ± 3,38 <sup>c</sup>	34,55 ± 3,45 <sup>c</sup>	35,85 ± 1,31 <sup>c</sup>	35,67 ± 1,31 <sup>c</sup>
Masse de lactosérum (g)	62,77 ± 4,22 <sup>d</sup>	63,53 ± 3,45 <sup>d</sup>	66,37 ± 0,53 <sup>d</sup>	64,77 ± 3,50 <sup>d</sup>

Les valeurs de la même ligne portant des indices différents sont significativement différentes pour une valeur de  $P < 0,05$ .

## 5. Evaluation sensorielle

Les gels coagulés avec les doses de 3, 5, 7 et 9 g/L de feuilles séchées de *Calotropis procera* étaient soumis à l'appréciation d'un échantillon de 10 dégustateurs. Les doses de 3 et 5 g/L présentaient les meilleures odeur et acceptabilité et la plus faible amertume tandis que les doses 7 et 9 g/L avaient des valeurs élevées d'amertume et d'odeur avec une très faible acceptabilité (**Tableau 21**).

**Tableau 21.** Evaluation sensorielle des gels coagulés aux doses de 3, 5, 7 et 9 g/L de feuilles séchées de *Calotropis procera*. Les notes proches de 0 indiquent une odeur, une amertume et une acceptabilité faibles et celles proches de 10 indiquent une odeur, une amertume et une acceptabilité élevées.

	Doses de coagulant (g/L)			
	3	5	7	9
Odeur	2 ± 1 <sup>a</sup>	3 ± 1 <sup>a</sup>	8 ± 1 <sup>b</sup>	8 ± 1 <sup>b</sup>
Amertume	1 ± 0 <sup>a</sup>	1 ± 0 <sup>a</sup>	6 ± 1 <sup>b</sup>	9 ± 1 <sup>c</sup>
Acceptabilité	8 ± 0 <sup>a</sup>	8 ± 1 <sup>a</sup>	5 ± 1 <sup>b</sup>	2 ± 1 <sup>c</sup>

Les valeurs de la même ligne portant des indices différents sont significativement différentes pour une valeur de  $P < 0,05$ .

## 6. Fabrications et bilans matière

Pour rappel, les fabrications de caillés (réalisées en triple de façon indépendante) étaient effectuées sur des volumes de 10 L de lait reconstitué à 10 % de teneur en EST à partir de

poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillée. Des mini cuves automatisées d'une capacité de 10 L étaient utilisées à cet effet. Au cours de chaque fabrication, les laits, caillés et lactosérums étaient pesés puis des échantillons étaient prélevés en vue d'effectuer des analyses physico-chimiques (pH, EST, cendres, MAT, NPN et NCN). Les temps de prise étaient respectivement de 22, 26 et 25 min dans les 3 essais réalisés et n'étaient pas significativement différents.

### 6.1. Caractérisation physico-chimique des caillés et lactosérums

Les masses, pH et teneurs en EST, MAT et cendres des laits, caillés et lactosérums étaient déterminés (**Tableau 22**) en vue de réaliser des bilans matière et calculer les coefficients de récupération de matière au cours des fabrications.

**Tableau 22.** Caractéristiques physico-chimiques des laits, caillés et lactosérums. Les données correspondent à la moyenne de 3 expérimentations indépendantes  $\pm$  écart type.

	Masse (Kg)	pH (à 20 °C)	EST (%)	Cendres (%)	MAT (g/Kg)	NCN (g/Kg)	NPN (g/Kg)
Lait	10,4 $\pm$ 0,01	6,72 $\pm$ 0,03	10,15 $\pm$ 0,15	0,81 $\pm$ 0,02	34,90 $\pm$ 0,22	4,96 $\pm$ 0,30	2,35 $\pm$ 0,15
Caillé	1,08 $\pm$ 0,01	6,54 $\pm$ 0,05	32,04 $\pm$ 1,61	2,88 $\pm$ 0,55	37,79 $\pm$ 0,43	11,06 $\pm$ 0,94	3,02 $\pm$ 0,36
Sérum	8,37 $\pm$ 0,23	6,25 $\pm$ 0,07	7,63 $\pm$ 0,06	0,64 $\pm$ 0,03	1,16 $\pm$ 0,04	6,86 $\pm$ 0,50	2,48 $\pm$ 0,13

La teneur en EST des caillés était comparable à l'extrait sec dégraissé (ESD) des fromages de type pâte pressée comme le Cheddar (Mietton, 1991). Les teneurs en EST de nos caillés étaient similaires à ceux rapportés par Adetunji & Babalobi (2011) (37,11 %), Oladipo & Jadesemi (2013) (30,77 %) et Lawal & Adedeji (2013) (34 %) en dépit des différences dans les procédés de fabrication utilisés mais probablement en raison d'un long égouttage des caillés utilisés par les auteurs contrairement au pressage de 3 h utilisé dans nos fabrications. Adetunji & Ekperigin (2011) et Lawal & Adedeji (2013) avaient par contre obtenu des teneurs en protéines plus faibles de 20,61 et 25,60 % respectivement. Cette faible teneur en protéines pourrait être attribuée à une protéolyse plus importante par l'extrait de feuilles fraîches de *Calotropis procera* utilisé par ces auteurs contrairement à notre étude où nous avons utilisé des feuilles séchées.

## 6.2. Bilan matière

Un bilan des masses et teneurs en EST, MAT et cendres engagés et récupérés au cours de la fabrication des caillés était réalisé à l'issue des 3 fabrications (**Tableau 23**). Pour rappel, le bilan matière total d'un constituant laitier X correspondant à la masse de X en g retrouvée dans le caillé et le lactosérum sur la masse de X engagée dans le lait de fabrication. Il permet d'estimer les quantités des constituants laitiers entrés en fabrication qu'on ne retrouvera ni dans les caillés, ni dans les lactosérums.

Les valeurs des bilans obtenus dans les 3 répétitions n'étaient pas significativement différentes et toutes les moyennes étaient supérieures à 95 %. Ces résultats démontrent la bonne répétabilité du protocole de fabrication. La répartition des constituants laitiers entre les caillés et lactosérums indiquait une bonne récupération des EST, protéines et cendres dans les caillés.

**Tableau 23.** Bilans et répartition des constituants laitiers à l'issue des 3 fabrications indépendantes.

Numéro de Fabrication	Répartition	Bilan matière (%)				
		Masses	EST	MAT	Cendres	Calcium
1	Caillé	11	37	72	39	60
	Lactosérum	84	58	25	60	27
	Total	95	95	97	99	87
2	Caillé	11	32	73	38	60
	Lactosérum	85	65	22	60	29
	Total	96	97	95	98	89
3	Caillé	11	35	77	38	63
	Lactosérum	84	65	19	62	26
	Total	95	100	96	100	89

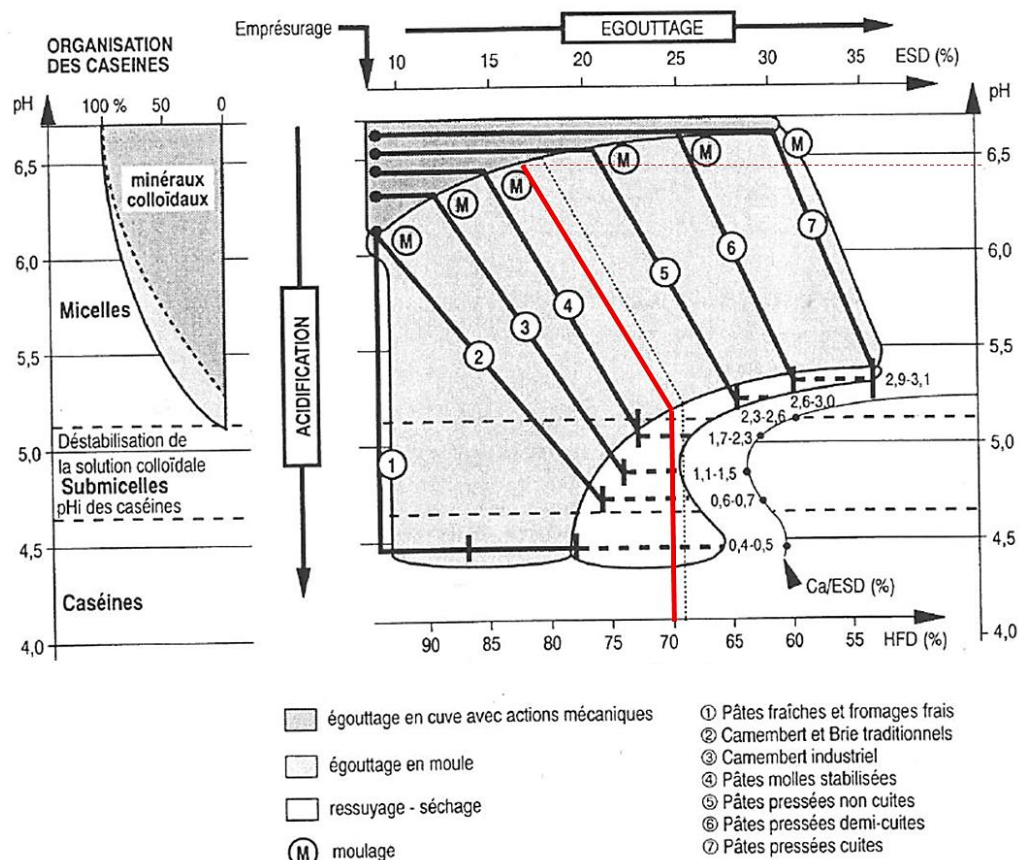
## 6.3. Rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants

Les rendements de fabrication et coefficients de récupération des EST, MAT et cendres étaient similaires pour les 3 fabrications (**Tableau 24**). Les valeurs des Rb et des coefficients de récupération des EST et de la MAT étaient comparables à celles d'une fabrication présure de pâte pressée uite (Maubois et al., 1970 ; Mietton, 1991).

**Tableau 24.** Rendements de fabrication, coefficients de récupération des constituants laitiers, HFD et Ca/ESD. Les données sont présentées indépendamment pour chaque fabrication.

Numéro de Fabrication	Rb (%)	Rc (%)	HFD (%)	Ca/ESD (%)	Coefficients de récupération (%)		
					EST	MAT	Cendres
1	11	13	67	2,4	37	72	39
2	11	13	72	2,3	32	73	38
3	11	11	70	2,2	35	77	38

D'un point de vue technologique, l'HFD et les ratios Ca/ESD obtenus pour ces 3 fabrications placent les caillés obtenus entre des fabrications de pâte molle stabilisée et de pâte pressée non cuite dans la classification technologique de Mietton (**Figure 70**).



**Figure 70.** Emplacement du caillé fabriqué par coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* dans la classification technologique de Mietton (1991).

### III. Conclusion du Chapitre I

Ces travaux avaient pour objectif de déterminer les conditions physico-chimique (température, pH, concentration en calcium) et biologique (lait, dose de coagulant) optimales de l'activité de l'extrait coagulant de feuilles séchées de *Calotropis procera*. Avant de procéder à la fabrication des caillés et aux différentes analyses envisagées dans cette thèse, il paraissait nécessaire de mener ces travaux préliminaires afin d'améliorer les connaissances sur l'activité du coagulant végétal.

L'activité protéolytique de l'extrait végétal a été mise en évidence à travers l'augmentation de la fraction NPN après la coagulation de la suspension de PPCN. La coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* était donc liée à l'hydrolyse de la micelle de caséine par des protéases contenues dans l'extrait végétal. L'étude de la coagulation à travers la détermination des temps de prise et le dosage des fractions d'azote NPN a montré une affinité du coagulant pour le lait UHT et le lait reconstitué à partir de poudre de lait écrémé low heat. Les temps de prise étaient plus faibles pour ces laits et les fractions d'azote NPN plus élevées que pour les laits pasteurisés et crus. Pour tous les laits, la dose de coagulant de 3 g/L présentait un faible niveau d'égouttage, une grande rétention d'eau dans les caillés et une teneur en EST faible.

Les temps de prise obtenus à la température de 95 °C étaient plus courts que ceux obtenus à 75 °C pour toutes les doses de coagulant. Le traitement thermique et les modifications induites au sein des micelles de caséine accélèrent l'activité du coagulant végétal. La diminution du pH ne semblait pas affecter les temps de prise et, en dessous d'un pH de 6, le chauffage induit une floculation des protéines. L'ajout d'ions calcium n'avait pas d'influence sur les temps de prise.

Au vu des résultats obtenus dans ces travaux, le lait reconstitué à 10 % d'EST à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillée était retenu comme matière première dans la suite des travaux. Ce choix était fait au vue de la bonne activité du coagulant végétal et pour éviter l'influence de la variabilité de la matière première sur les résultats des analyses physico-chimiques. Le coagulant sera utilisé à une dose de 5 g/L car elle permettait d'avoir un bon temps de prise, un bon égouttage du caillé et d'éviter le goût d'amertume des doses plus élevées. Dans un souci d'économie d'énergie et de préservation de l'environnement, la température de 75 °C était retenue. Le pH et la concentration en calcium du lait ne seront pas modifiés.



Le bilan matière effectué sur les 3 fabrications, réalisées avec un volume de 10 L de lait était similaire et a ainsi montré la reproductibilité du protocole de fabrication mis en place. Les caractéristiques physico-chimiques des caillés et lactosérums ainsi que les rendements et coefficients de récupération de matière s'apparentent à ceux d'une fabrication présure de pâte pressée cuite.

Nous pouvons conclure sur la base de ces résultats que la coagulation du lait par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* est influencée par le type de lait, le traitement thermique et la dose de coagulant. Le pH et la concentration en calcium n'ont pas d'effet significatif sur l'activité du coagulant. Le mécanisme impliqué dans la coagulation est une protéolyse au vu de l'augmentation des teneurs en NPN dans les gels après coagulation des laits. Le protocole de fabrication mis en place était reproductible et permettait de fabriquer des caillés dont les caractéristiques étaient comparables à ceux d'une pâte pressée cuite.

# **Chapitre II : Etude de la protéolyse, des rendements de fabrication et des caractéristiques biochimiques et microstructurales des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en comparaison avec une coagulation par la chymosine**

## **I. Introduction**

Comme nous l'avons vu dans la synthèse bibliographique, la coagulation du lait est une étape importante dans la fabrication d'un fromage car elle détermine la réussite du procédé de fabrication, l'aptitude du gel à subir les différentes opérations de technologie fromagère et la qualité finale du fromage (Fox et al., 2004). Aujourd'hui, la coagulation présure du lait est relativement bien comprise : hydrolyse de la caséine  $\kappa$  avec libération du caséino-macropéptide (CMP) plus ou moins glycosylé, suivie d'une déstabilisation des micelles de caséine conduisant à la formation d'un gel. Du point de vue technologique, les facteurs qui l'influencent tels que le pH, la température, la concentration en calcium, etc. sont également bien décrits dans la littérature. Si la coagulation présure a longuement été étudiée, il n'en est pas de même pour la coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera*. Il a seulement été démontré que le latex de la plante contenait des enzymes protéolytiques capables de provoquer une gélification du lait à haute température ( $> 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) (Farid et al., 2007 ; Oseni & Ekperigin, 2013). Freitas et al. (2007) ont identifié un peptide de 16 KDa provenant de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$ , correspondant au CMP libéré au cours d'une hydrolyse par la chymosine. Au vu de ces données, nous avons voulu connaître et mieux comprendre:

- ✓ les mécanismes qui sont à l'origine de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en le comparant avec les mécanismes bien connus de la coagulation du lait par la chymosine.
- ✓ les caractéristiques physico-chimiques et microstructurales des caillés obtenus en comparaison avec les caillés présure fabriqués dans des conditions expérimentales similaires.

Les laits de fabrication et caillés/lactosérums obtenus après coagulation étaient caractérisés du point de vu physico-chimique. Les rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers ont été calculés dans les 2 fabrications.

Pour étudier la protéolyse de l'extrait végétal, le lactosérum provenant de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et le témoin correspondant (surnageant d'ultracentrifugation du lait chauffé à 75 °C) étaient analysés par nano RP-HPLC couplée à la spectrométrie de masse en tandem MS/MS. La même analyse était réalisée sur le lactosérum provenant de la coagulation du lait par la chymosine et le témoin correspondant (surnageant d'ultracentrifugation de lait chauffé à 30 °C). Les profils chromatographiques et les peptides identifiés dans les 2 cas étaient comparés. Les 2 caillés étaient également préparés et observés au microscope électronique à balayage pour en étudier la microstructure.

## **II. Comparaison des caractéristiques physico-chimiques et des rendements de fabrication**

### **1. Caractéristiques physico-chimiques des caillés et lactosérums**

Dans les conditions expérimentales de fabrication des caillés *Calotropis procera*, les temps de prise obtenus avec la présure étaient de  $20 \pm 3$  min (moyenne de 4 fabrications indépendantes  $\pm$  écart type) et étaient similaires à ceux obtenus avec l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* ( $23 \pm 2$  min). Les caractéristiques physico-chimiques des laits reconstitués, utilisés pour la fabrication des 2 types de caillés étaient similaires mais celles des 2 caillés et lactosérums correspondants étaient différentes (**Tableau 25**).

Les teneurs en EST, cendres, protéines et fraction azotées (NCN et NPN) étaient plus élevées dans le caillé obtenu par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. Ces teneurs élevées pourraient provenir d'une « récupération » de protéines solubles dénaturées au cours de la coagulation. Il est en effet décrit qu'au cours du traitement thermique du lait, les protéines solubles se dénaturent, s'agrègent et peuvent aussi se lier aux micelles de caséines par des ponts disulfure à la caséine  $\kappa$  (**Cf. Synthèse bibliographique II. 1. 1.3.1.1.**). En dépit des différences de composition observées des 2 caillés, leurs caractéristiques correspondaient à celles décrites pour des caillés présure fortement minéralisés (Mietton et al., 2008). Les pH des 2 caillés étaient similaires et proches de la neutralité car les laits de fabrication n'étaient pas acidifiés avant leur coagulation.

Des différences dans la composition des lactosérums étaient également observées dans les 2 fabrications. La teneur en EST des lactosérums était plus importante lorsque le coagulant végétal était utilisé. Les quantités d'azote total et de NPN étaient plus élevées dans le lactosérum

obtenu après la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, suggérant une protéolyse plus importante.

Les teneurs en cendres des 2 lactosérums n'était pas significativement différentes. La composition en minéraux des laits reconstitués utilisés pour la fabrication des 2 types de caillés était similaire et en accord avec celle décrite dans la littérature (Gaucheron, 2005).

Pour les caillés, les écarts-types des résultats étaient plus élevés que pour les laits ou les lactosérums en raison des difficultés liées à l'obtention d'échantillons homogènes pour les analyses. En dépit ces difficultés, les résultats pouvaient être interprétés. La comparaison de la minéralisation des 2 caillés montrait des teneurs similaires pour tous les cations évalués. Des teneurs élevées en calcium (6694 et 7541 mg/Kg respectivement pour les caillés *Calotropis procera* et présure) étaient observées pour les 2 caillés. En comparaison avec les fromages du commerce, ces teneurs élevées étaient caractéristiques des fromages à pâte pressée comme le Cheddar (<https://pro.anses.fr/tableciquial/>). Sans tenir compte de la teneur en EST des caillés, le calcium a été concentré 16,5 et 19 fois (6694/404 et 7541/395) dans les caillés *Calotropis procera* et présure, respectivement par rapport aux lactosérums correspondants. Le calcium était donc dans les 2 types de caillés, associé aux micelles de caséine grâce aux nanoclusters de phosphate de calcium décrits dans la littérature (Holt & Horne, 1996 ; de Kruif & Holt, 2003 ; Dalgleish & Corredigh, 2012). Ces teneurs élevées en calcium dans les caillés s'expliquent par l'absence d'acidification car les caillés étaient obtenus uniquement grâce à l'activité enzymatique de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et de la chymosine. Il est en effet bien connu que les caillés obtenus après coagulation de laits acidifiés ont de faibles teneurs en calcium en raison de la migration du calcium micellaire vers la phase aqueuse du lait (Le Graët & Brulé, 1993 ; Metzger et al., 2000 ; Guinee et al., 2002). Le magnésium était également plus concentré dans les caillés par rapport aux lactosérums correspondants.

Les rapports entre les concentrations de magnésium dans les caillés et les lactosérums correspondants étaient d'environ 5 pour les 2 types de coagulants. Cela s'explique également par une association partielle du magnésium aux micelles de caséine dans le lait (Gaucheron, 2005 ; de Kruif et al., 2012 ; Bijl et al., 2013) et cet ion n'a pas été transféré dans le lactosérum après la coagulation du lait. Pour le sodium et le potassium, les rapports étaient proches de 1 parce que les concentrations déterminées dans les caillés étaient similaires à celles trouvées dans les lactosérums correspondants.

Ces résultats étaient en accord avec les données rapportées dans la littérature et s'expliquaient par le fait que ces ions se trouvaient principalement dans la phase aqueuse du lait (Holt, 1997 ; Gaucheron, 2005 ; Mekmene et al., 2009). Ainsi, au cours de l'égouttage, le sodium et le potassium étaient peu concentrés dans les caillés et se retrouvaient dans les lactosérums.

**Tableau 25. Caractéristiques physico-chimiques des laits et caillés/lactosérums obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et la présure.**

	pH (at 20°C)	EST (g/Kg)	Cendres (g/Kg)	Protéines (g/Kg)	NCN (g/Kg)	NPN (g/Kg)	Calcium (mg/Kg)	Magnésium (mg/Kg)	Potassium (mg/Kg)	Sodium (mg/Kg)
Extrait de <i>Calotropis procera</i>										
Lait	6,76 ± 0,02 <sup>#</sup>	100,60 ± 2,62 <sup>#</sup>	8,10 ± 0,10 <sup>#</sup>	32,07 ± 1,28 <sup>#</sup>	5,34 ± 0,30 <sup>#</sup>	2,39 ± 0,09 <sup>#</sup>	1206 ± 109 <sup>#</sup>	113 ± 4 <sup>#</sup>	1650 ± 289 <sup>#</sup>	357 ± 34 <sup>#</sup>
Caillé	6,52 ± 0,06 <sup>*</sup>	310,91 ± 16,14 <sup>*</sup>	31,10 ± 0,30 <sup>*</sup>	231,91 ± 2,59 <sup>*</sup>	10,94 ± 1,19 <sup>*</sup>	3,10 ± 0,49 <sup>*</sup>	6694 ± 634 <sup>*</sup>	427 ± 60 <sup>*</sup>	1783 ± 28 <sup>*</sup>	498 ± 129 <sup>*</sup>
Sérum	6,34 ± 0,15 <sup>st</sup>	76,33 ± 0,70 <sup>st</sup>	6,17 ± 0,05 <sup>st</sup>	7,51 ± 0,29 <sup>st</sup>	9,94 ± 0,50 <sup>st</sup>	4,14 ± 0,30 <sup>st</sup>	404 ± 6 <sup>st</sup>	86 ± 1 <sup>st</sup>	1854 ± 151 <sup>st</sup>	398 ± 49 <sup>st</sup>
Chymosine (présure)										
Lait	6,73 ± 0,04 <sup>#</sup>	100,97 ± 0,20 <sup>#</sup>	8,15 ± 0,20 <sup>#</sup>	33,50 ± 0,89 <sup>#</sup>	6,12 ± 1,02 <sup>#</sup>	2,16 ± 0,06 <sup>#</sup>	1224 ± 33 <sup>#</sup>	115 ± 9 <sup>#</sup>	1723 ± 172 <sup>#</sup>	421 ± 77 <sup>#</sup>
Caillé	6,69 ± 0,04 <sup>*</sup>	305,75 ± 9,31 <sup>**</sup>	25,52 ± 1,25 <sup>**</sup>	207,84 ± 16,81 <sup>**</sup>	7,84 ± 1,70 <sup>**</sup>	1,83 ± 0,28 <sup>**</sup>	7541 ± 1140 <sup>**</sup>	365 ± 35 <sup>*</sup>	1649 ± 49 <sup>*</sup>	671 ± 108 <sup>**</sup>
Sérum	6,59 ± 0,06 <sup>st</sup>	72,40 ± 1,79 <sup>st</sup>	6,20 ± 0,10 <sup>st</sup>	9,37 ± 0,37 <sup>st</sup>	15,93 ± 0,93 <sup>st</sup>	2,72 ± 0,24 <sup>st</sup>	395 ± 8 <sup>st</sup>	77 ± 10 <sup>st</sup>	1653 ± 165 <sup>st</sup>	636 ± 33 <sup>st</sup>

**Les données de la même colonne n'ayant pas le même nombre de symboles (#, \*, st) en exposant sont significativement différentes au seuil de confiance de 95 %.**

## 2. Rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers

Les rendements de fabrication (Rb et Rc) ainsi que les taux de récupération de matière sèche, cendres et protéines (**Tableau 26**) étaient calculés à partir des données rapportées dans le **Tableau 25**. Les Rb, Rc et taux de récupération des constituants laitiers n'étaient pas significativement différents dans les 2 types de fabrications et étaient similaires à ceux rapportés dans la littérature pour une fabrication de pâte pressée type Cheddar (Mietton, 1991 ; Mietton et al., 2008). Des différences entre les valeurs des rendements de fabrication trouvées dans les fabrications où l'extrait de *Calotropis procera* était utilisé, et celles rapportées par d'autres auteurs utilisant le même coagulant sont à noter. Aworh & Muller (1987), Omotosho et al. (2011) et Akinloye & Adewumi (2014) ont rapporté des rendements bruts de 14, 32 et 25 %, respectivement. Une comparaison de notre procédé de fabrication avec ceux utilisés par ces chercheurs a mis en évidence plusieurs différences, notamment dans le traitement des laits de fabrication (utilisation de lait entier, addition de chlorure de calcium) et les procédés de fabrication des caillés (températures de coagulation, décaillage et pressage des caillés). Ces différences pourraient expliquer la discordance dans les valeurs obtenues.

**Tableau 26.** Comparaison des rendements de fabrication et coefficients de récupération de constituants laitiers au cours des fabrications par le *Calotropis procera* et la présure. Les résultats sont les moyennes de 4 fabrications indépendantes pour chaque les 2 coagulants  $\pm$  écart type.

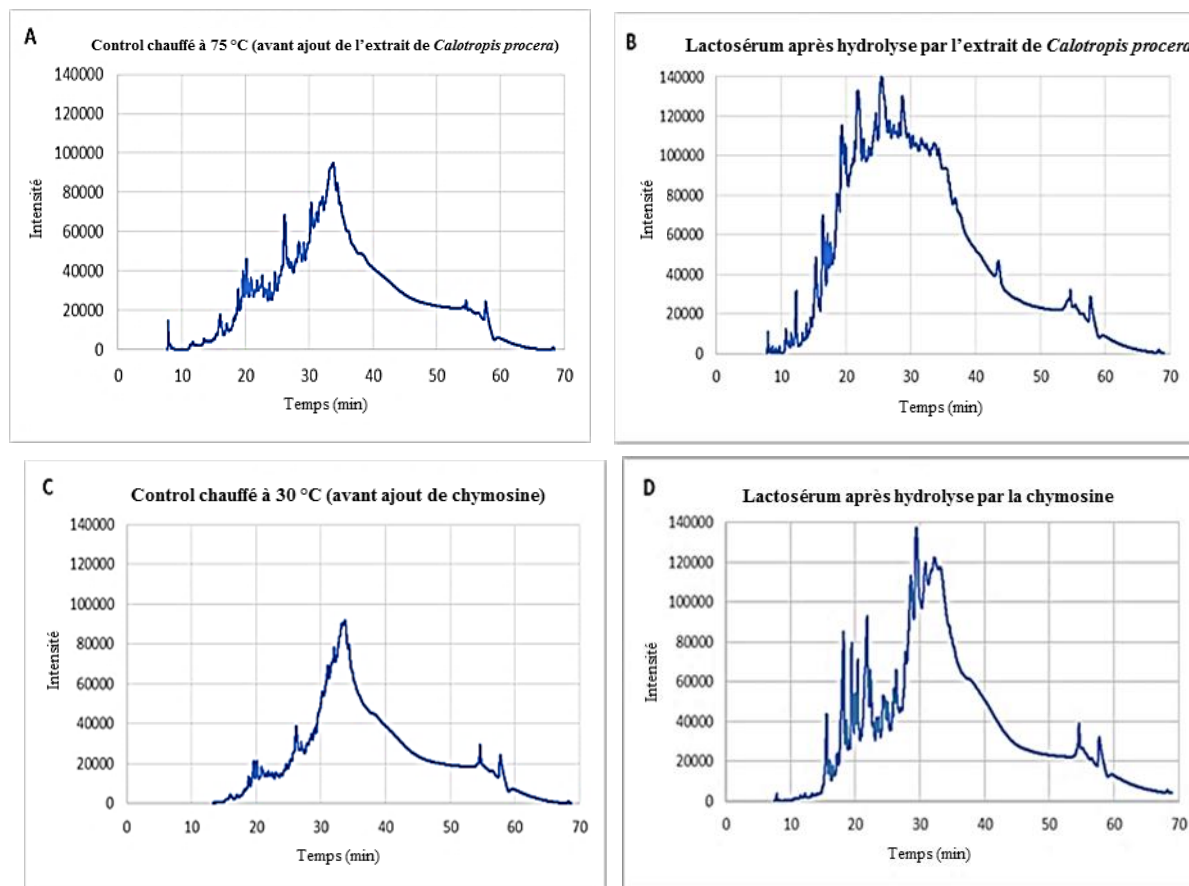
	Rb (%)	Rc (%)	Coefficients de récupération des constituants (%)		
			EST	MAT	Cendres
<i>Calotropis procera</i>	11 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	12 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	32 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	73 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	39 $\pm$ 3 <sup>a</sup>
Présure	11 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	12 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	36 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	76 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	36 $\pm$ 1 <sup>a</sup>

Les données de la même colonne n'ayant pas le même indice en exposant sont significativement différentes pour une valeur de P<0,05.

### III. Activité protéolytique de l'extrait de *Calotropis procera* en comparaison avec celle de la chymosine

Afin d'étudier la protéolyse conduisant à la coagulation du lait par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera*, une comparaison des profils nano-RP-HPLC couplée à la spectrométrie de masse en tandem MS/MS des lactosérums issus des fabrications à l'extrait de *Calotropis procera* et présure était effectuée. Les profils chromatographiques des lactosérums

obtenus après coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et la présure ainsi que leurs témoins respectifs sont présentés dans la **Figure 71**.



**Figure 71.** Profils chromatographiques des peptides présents dans les lactosérums après coagulation du lait par l'extrait de *Calotropis procera* (B) et la chymosine (D). Les lactosérums étaient récupérés 30 minutes après la coagulation et immédiatement filtrés puis congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  avant analyse. Les témoins correspondent aux surnageants d'ultracentrifugation (1 h à 100 000 g) des laits traités à  $75^{\circ}\text{C}$  (A) et  $30^{\circ}\text{C}$  (C) analysés dans les mêmes conditions que les lactosérums. Les peptides étaient détectés à 214 nm.

Les 4 profils chromatographiques étaient différents (**Figure 71**). Les échantillons témoins correspondant aux surnageants d'ultracentrifugation des laits chauffés à  $75^{\circ}\text{C}$  (A) et  $30^{\circ}\text{C}$  (C) avant ajout de préparations coagulantes révélèrent la présence de matériels peptidiques avant l'ajout des coagulants. Cette présence de peptides était probablement due à l'utilisation de poudre de lait écrémé. En effet, au cours stockage du lait liquide, des traitements thermiques et du séchage par atomisation, les protéines du lait peuvent être dégradées et produire des peptides (Shuck et al., 1994). Cependant, cette protéolyse était faible car les valeurs des teneurs en NCN et NPN des laits de fabrication (**Tableau 25**) étaient correctes et conformes à celles rapportées dans la littérature (Schuck et al., 1994). Une autre explication majeure de cette présence



importante est la sensibilité élevée de la détection des peptides par le système d'analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse en tandem MS/MS.

Les profils chromatographiques des témoins étaient différents avec la présence de pics chromatographiques supplémentaires (**Figure 71A** par rapport à la **Figure 71C**) probablement à cause du chauffage (75 °C pendant 1h) du lait dans le cas du témoin (**Figure 71A**). Les profils chromatographiques des lactosérums obtenus après la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* (**Figure 71B**) ou la chymosine (**Figure 71D**) étaient plus complexes que leurs témoins respectifs. La présence de pics chromatographiques supplémentaires indiquait une protéolyse du lait par les 2 coagulants. Le profil chromatographique du lactosérum *Calotropis procera* (**Figure 71B**) présentait un nombre de pics plus important que celui du lactosérum présure (**Figure 71D**), suggérant une protéolyse plus importante avec le coagulant végétal.

Dans chaque pic des 4 profils chromatographiques, différentes masses étaient déterminées par spectrométrie de masse. De chaque masse, le nombre et la séquence des peptides provenant des différentes molécules de caséine étaient identifiés (**Tableau 27**).

**Tableau 27.** Nombre de peptides issus de l'hydrolyse des caséines identifiés dans les lactosérums et leurs témoins respectifs.

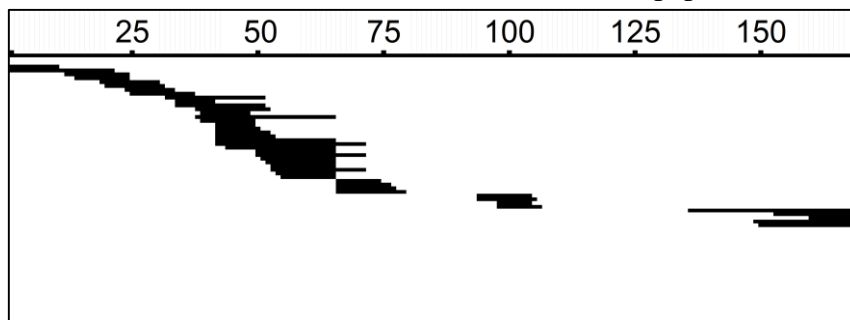
	Témoin chauffé à 75 °C	Après coagulation par l'extrait de <i>Calotropis procera</i> (à 75 °C)	Témoin chauffé à 30 °C	Après coagulation par la chymosine (30 °C)
<b>Caséine <math>\alpha_1</math></b> <b>(Variants A, C et E)</b>	256	253	213	205
<b>Caséine <math>\alpha_2</math></b> <b>(Variant A)</b>	134	81	99	90
<b>Caséine <math>\beta</math></b> <b>(Variants A et B)</b>	237	365	202	190
<b>Caséine <math>\kappa</math></b> <b>(Variants A et B)</b>	43	96	13	47
<b>Nombre total de peptides</b>	<b>670</b>	<b>795</b>	<b>527</b>	<b>532</b>

Après protéolyse par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, le nombre de peptides provenant des différentes molécules de caséines était plus élevé (795) que dans l'échantillon témoin n'ayant pas subi de protéolyse (670). Un autre résultat intéressant était le nombre élevé

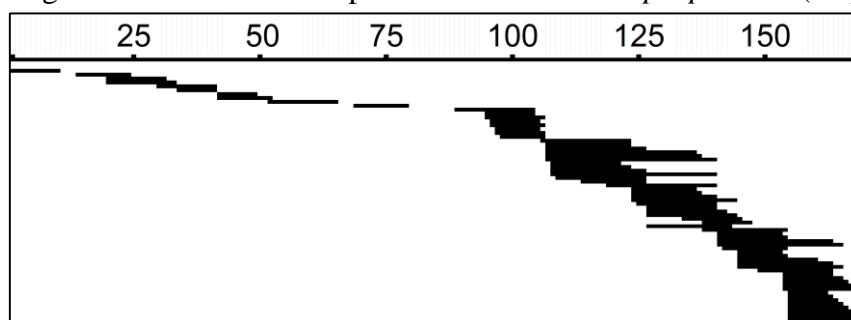
de peptides provenant de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  (96 contre 43 pour les échantillons provenant de la protéolyse par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* et le témoin, respectivement). Pour la chymosine, le nombre de peptides était légèrement plus élevé pour l'échantillon hydrolysé (532) par rapport au témoin correspondant (527). Il est admis que l'action de la chymosine implique une hydrolyse préférentielle de la liaison Phe105-Met106 de la caséine  $\kappa$  conduisant à la libération du CMP (séquence 106-169 de la caséine  $\kappa$ ) glycosylé (Mollé & Léonil, 1995 ; Daviau et al., 2000). Dans nos conditions expérimentales, les peptides glycosylés n'étaient pas détectés mais étaient certainement présents dans le lactosérum après la coagulation du lait avec la chymosine.

Comme la caséine  $\kappa$  est la caséine majoritairement responsable de la stabilité des micelles de caséine, il était intéressant de porter une attention particulière à cette protéine. Si cette caséine est hydrolysée avec la libération de CMP ou de peptides similaires, le système micellaire est déstabilisé et coagule en quelques minutes. C'est le cas dans les 2 systèmes étudiés et la comparaison de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  avec la chymosine et l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* était utile pour comprendre la coagulation du lait par le coagulant végétal. Les peptides identifiés, provenant de cette caséine sont présentés **Figure 72**.

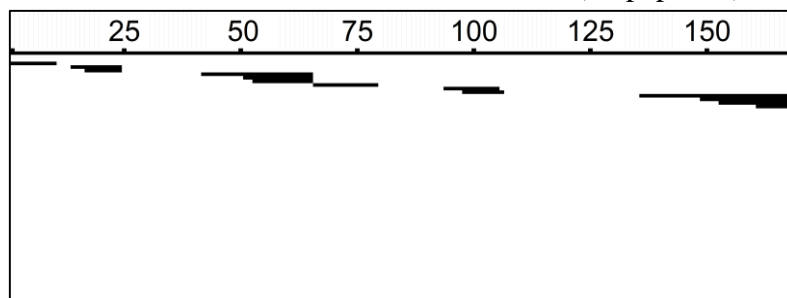
**A.** Peptides provenant de la caséine  $\kappa$  A dans le lait témoin chauffé à 75 °C (43 peptides)



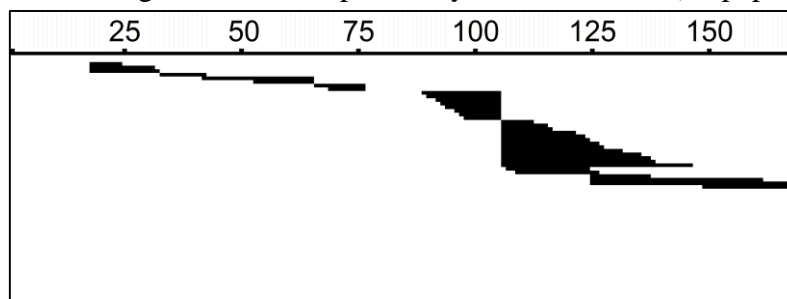
**B.** Peptides provenant de l'hydrolyse la caséine  $\kappa$  A dans le lactosérum récupéré après coagulation du lait à 75 °C par l'extrait de *Calotropis procera* (69 peptides)



**C.** Peptides provenant de la caséine  $\kappa$  A dans le lait témoin chauffé à 30 °C (13 peptides)



**D.** Peptides provenant l'hydrolyse la caséine  $\kappa$  A dans le lactosérum récupéré après coagulation du lait par la chymosine à 30 °C (69 peptides)



**Figure 72.** Identification des peptides issus de l'hydrolyse de la CN- $\kappa$ A par MS / MS dans les lactosérums *Calotropis procera* (B) et chymosine (D). Les peptides présents dans les témoins ont également été rapportés respectivement dans les Figures A (témoin *Calotropis procera*) et C (témoin chymosine).

Les profils peptidiques obtenus dans les témoins (surnageants d'ultracentrifugation des laits traités thermiquement) (**Figures 72 A et C**) ont mis en évidence, 43 peptides provenant de la caséine  $\kappa$  A dans le témoin *Calotropis procera*, chauffé à 75 °C et 13 peptides dans le témoin chymosine chauffé à 30 °C. Ces différences dans le nombre de peptides pourraient être dues au chauffage qui entraîne une protéolyse thermo-induite à haute température. Ce phénomène a été signalé pour des températures supérieures à 90 °C (Gaucheron et al., 2001) mais pourraient également se produire dans nos échantillons chauffés pendant 1 h à 75 °C.

Le nombre de peptides provenant de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  A dans les lactosérums après coagulation du lait par l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* était plus élevé (69 peptides sur la **Figure 72B**) que celui du témoin correspondant (**Figure 72A** avec 43 peptides). Il convient cependant de noter que les échantillons injectés dans la nano RP-HPLC et analysés ensuite par MS/MS n'étaient pas préparés de manière identique: l'ultracentrifugation (100 000 g pendant 1 h à 30 °C) était utilisée pour la préparation des témoins alors que les

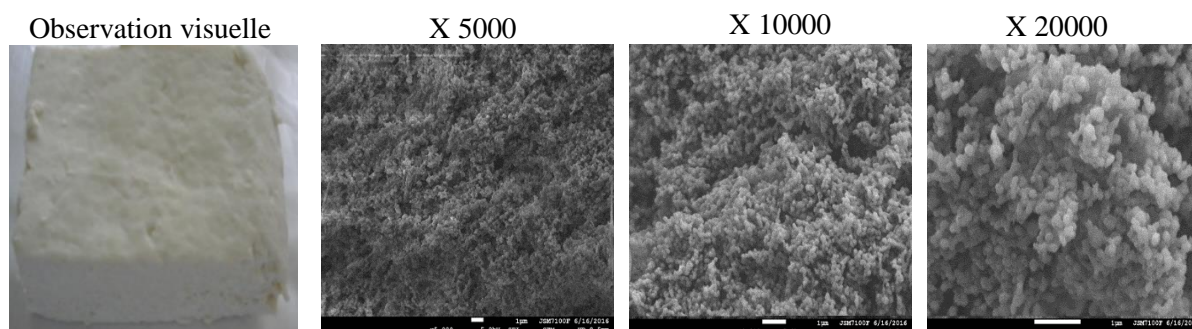
lactosérums étaient filtrés sur du papier à 0,45  $\mu\text{m}$  de pores. De nombreux sites d'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  A par l'extrait de *Calotropis procera* étaient identifiés (**Figure 72B**), avec une présence importante de peptides provenant de la partie C-terminale de la protéine. Cette partie de la caséine  $\kappa$  A portant la charge négative *via* les résidus glycosylés est en partie responsable de la stabilité des micelles de caséine (Holt & Horne, 1996). Ainsi, l'hydrolyse importante de cette partie de la caséine  $\kappa$  A pourrait induire une déstabilisation micellaire et la coagulation du lait. L'enzyme (s) responsable (s) de cette protéolyse n'a pas été isolée dans cette étude. Comme l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* était utilisé dans son intégralité, on pourrait attribuer cette protéolyse à l'action d'un mélange d'enzymes contenant les différentes formes de calotropaine et d'autres enzymes décrites par beaucoup d'auteurs (Ogundiwin & Oke, 1983; Aworth et al., 1994; Dubey & Jagannadham, 2003; Freitas et al., 2007; Farid et al., 2007; Singh et al., 2010 ; Singh et al., 2013; Singh & Dubey, 2011; Oseni & Ekperigin, 2013). Il est à noter que les autres molécules de caséine ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 et  $\beta$ ) étaient également hydrolysées (**Tableau 27**), mais cette hydrolyse n'était probablement pas la principale cause de la coagulation du lait.

Le nombre de peptides issus de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  A dans le lactosérum après coagulation du lait à 30 °C par la chymosine était également plus élevé (35 peptides sur la **Figure 72D**) que celui du contrôle correspondant (**Figure 72C** avec 13 peptides). L'analyse du profil peptidique (**Figure 72D**) a révélé que la liaison Phe105-Met106 était la principale liaison peptidique hydrolysée par la chymosine. Ces résultats étaient en accord avec la littérature (Walstra et al., 2006). Les autres sites de clivage détectés pourraient correspondre aux activités résiduelles de protéases dans la présure commerciale utilisée.

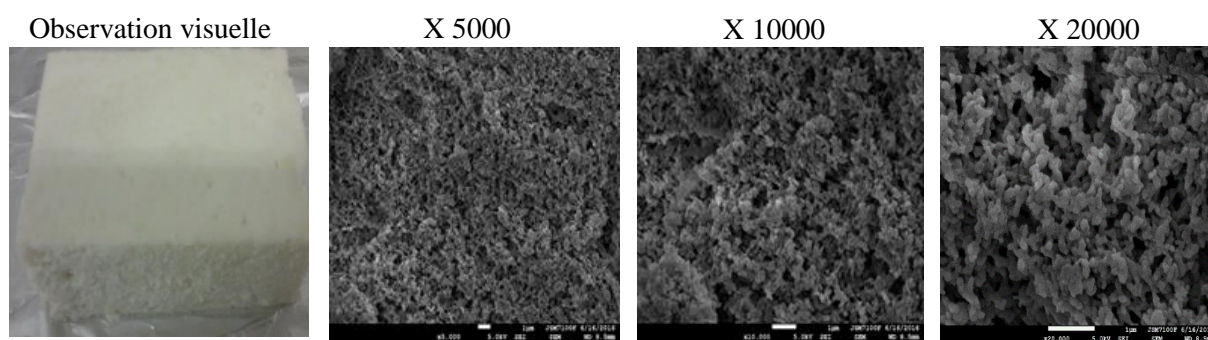
Les lactosérums et témoins correspondants contenaient également de la caséine  $\kappa$  B qui était hydrolysée de manière identique à celle de la caséine- $\kappa$  A avec des profils similaires de peptides libérés.

## IV. Analyse de la microstructure des caillés

### A. Caillé *Calotropis procera*



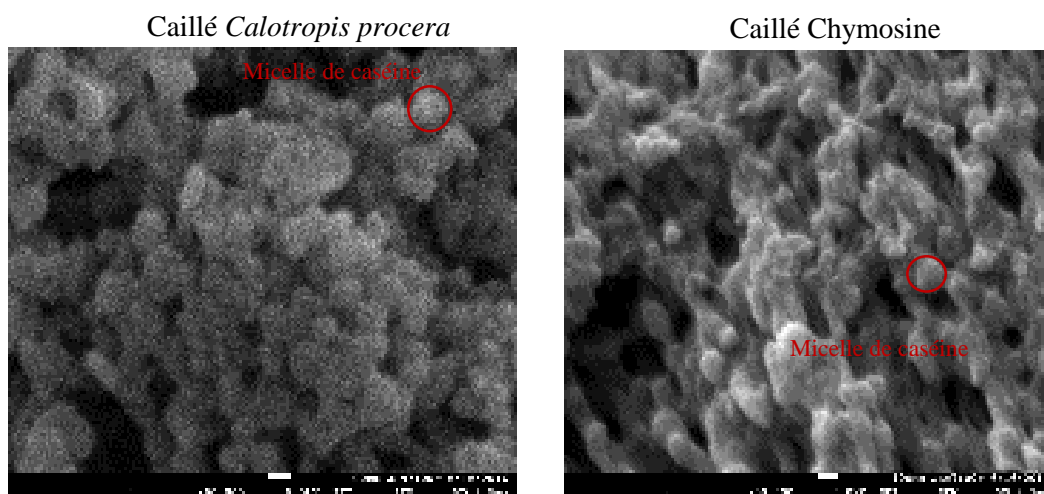
### B. Caillé chymosine (présure)



**Figure 73.** Observations visuelles et images de MEB de caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera* (A) et la chymosine (B).

Visuellement, la couleur des 2 caillés était blanche, avec une légère teinte verte pour le caillé *Calotropis procera*. La consistance des caillés était légèrement différente: le caillé *Calotropis procera* était dense et compact, tandis que le caillé présure était mou et laissait facilement exsuder du lactosérum après le pressage. Dans le caillé obtenu après coagulation du lait par l'extrait végétal, le réseau de protéines était constitué d'amas de micelles de caséine (**Figure 73A**). Le caillé présure (**Figure 73B**) était plus structuré et aéré, avec des poches de lactosérum (en noir sur les images de microscopie) plus nombreuses que dans le caillé *Calotropis procera* qui était plus dense.

Dans les 2 caillés et à fort grossissement (**Figure 74**), des particules sphériques étaient observables. Leurs tailles étaient évaluées à environ 200 nm, ce qui correspond à la taille moyenne d'une micelle de caséine (Horne, 2008).



**Figure 74.** Observation par MEB de micelles de caséines dans les caillés à fort grossissement ( $\times 50000$ ). Les cercles en rouge entourent les micelles de caséines.

Ainsi, malgré la protéolyse non spécifique précédemment décrite, les micelles de caséine n'étaient pas entièrement « détruites » au cours de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, mais plutôt agrégées avec la formation d'un réseau. Le réseau semblait plus compact dans le caillé obtenu avec l'extrait de *Calotropis procera* par rapport au caillé présure, confirmant ainsi l'observation visuelle. Dans le caillé présure, des zones noires correspondant au lactosérum étaient nombreuses, mais le caillé était plus organisé et régulier que celui obtenu avec l'extrait de *Calotropis procera*.

## V. Conclusion du Chapitre II

L'activité protéolytique de la chymosine conduisant à la coagulation du lait a été bien étudiée et est bien décrite dans la littérature (Fox & McSweeney, 1998 ; Najera et al., 2003 ; Lagaude et al., 2004 ; Walstra et al., 2006). L'objectif de ce travail consistait à étudier l'activité protéolytique de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* en comparaison avec celle de la chymosine et de comparer les caractéristiques physico-chimiques et microstructurales des caillés obtenus ainsi que les rendements de fabrication et coefficient de récupération des constituants laitiers dans les 2 types de fabrication.

Les résultats présentés dans ce chapitre montraient que l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* permettait de fabriquer des caillés dont les caractéristiques physico-chimiques et les bilans matière après fabrication correspondaient à ceux d'un fromage à pâte pressée de type Cheddar (Jeantet et al., 2004). L'hydrolyse des micelles de caséine était le principal mécanisme induisant la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. La protéolyse

n'était pas aussi spécifique que celle décrite pour la chymosine probablement à cause de la présence de plusieurs protéases dans l'extrait végétal. L'hydrolyse par la chymosine était spécifiquement orientée sur la caséine  $\kappa$  tandis qu'avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, toutes les molécules de caséine étaient hydrolysées. Malgré ces différences dans la protéolyse micellaire, les rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers dans les caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* étaient similaires à ceux d'une fabrication effectuée dans des conditions similaires en utilisant la chymosine. L'analyse de la microstructure des caillés a révélé de légères différences dans l'organisation des réseaux protéiques : le caillé *Calotropis procera* était plus dense et constitué d'amas de micelles de caséine tandis que le caillé présure était plus structuré.

Ces résultats constituent une 1<sup>ère</sup> approche dans l'analyse de l'activité coagulante des feuilles de *Calotropis procera* et de ses conséquences. Ils ont permis de mettre en évidence le mécanisme induisant la coagulation du lait par le coagulant végétal en le comparant au mécanisme d'action bien connu de la chymosine. La suite de ce travail a été d'étudier le comportement du coagulant végétal en présence de matière grasse car le lait entier de vache est habituellement utilisé dans la fabrication traditionnelle du fromage wagashi. Un intérêt était également accordé à la compréhension du comportement rhéologique des caillés (fermeté, cohésion, adhésivité, ...) en lien avec leur microstructure.

# Chapitre III. Impact de la structure de la matière grasse sur les rendements de fabrication, la microstructure et la texture des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*

## I. Introduction

En fabrication fromagère, le lait est souvent soumis à des traitements technologiques qui ont des répercussions sur la structure de ses constituants et les caractéristiques des produits. L'homogénéisation du lait est utilisée pour améliorer les rendements de fabrication et les coefficients de récupération de la matière grasse mais aussi, pour influencer la texture ou le degré de lipolyse de la matière grasse au cours de l'affinage des fromages. L'homogénéisation diminue la taille des globules gras, augmente leur nombre et modifie la composition et l'organisation de leur membrane (Cf. Synthèse bibliographique II. 1.2.3.). Les nouvelles interactions créées entre les protéines et la matière grasse par ce procédé confèrent de nouvelles fonctionnalités aux laits et aux fromages.

Dans la fabrication artisanale du fromage wagashi, les pertes de matières sont importantes en raison de l'utilisation d'équipements traditionnels et de procédés non standardisés. Par exemple, la couche de crème formée à la surface du lait pendant le chauffage est souvent éliminée pour obtenir une bonne ébullition du caillé. Cela réduit la teneur en matière grasse et en protéines du fromage.

L'objectif de notre travail était d'étudier le rôle de la structure et de la nature de la matière grasse sur les caractéristiques des caillés fabriqués en utilisant un extrait de *Calotropis procera*. Pour répondre à cet objectif, les laits destinés à la coagulation étaient reconstitués avec de la MGLA ou de la crème et étaient homogénéisés ou non avant de procéder à la fabrication des caillés telle que décrit au III. 3. Trois types de lait ont été reconstitués : (i) du lait contenant de la MGLA homogénéisée, (ii) du lait reconstitué avec de la crème homogénéisée et (iii) du lait reconstitué avec de la crème non homogénéisée. Les laits étaient reconstitués de manière à avoir les mêmes teneurs en protéines (35 g/L) et matière grasse (35 g/L). Après reconstitution, les laits étaient contrôlés pour leurs caractéristiques physico-chimiques et analysés par granulométrie laser pour évaluer la taille des globules gras et vérifier l'efficacité de



l'homogénéisation. Les fabrications étaient réalisées en double pour chaque type de lait reconstitué.

Après chaque fabrication, les rendements de fabrication et coefficients de récupération des constituants laitiers étaient calculés. Des analyses de texture étaient effectuées sur les caillés afin d'étudier l'impact de la nature et de la structure de la matière grasse sur les paramètres de texture tels que la dureté, l'adhésivité et la cohésion des matrices. Les laits, caillés et lactosérums étaient également préparés et observés par microscopie confocale pour en étudier la microstructure.

## II. Caractérisation des laits de fabrication

### 1. Caractérisation physico-chimique

Les 3 types de laits reconstitués ont été caractérisés du point de vue physico-chimique (Tableau 28).

*Tableau 28. Caractéristiques physico-chimiques des laits de fabrication. Les résultats sont des moyennes de 2 déterminations indépendantes  $\pm$  écart type.*

	Lait-MGLA	Lait-CH	Lait-CNH
<b>pH</b>	6,70 $\pm$ 0,00*	6,71 $\pm$ 0,02*	6,71 $\pm$ 0,01*
<b>Extrait sec total (g/Kg)</b>	133,32 $\pm$ 3,11*	134,87 $\pm$ 4,03*	133,75 $\pm$ 1,41*
<b>Matière grasse (g/Kg)</b>	35,50 $\pm$ 0,70*	35,25 $\pm$ 0,35*	35,00 $\pm$ 0,00*
<b>Protéines (g/Kg)</b>	34,85 $\pm$ 1,13*	34,87 $\pm$ 0,40*	35,28 $\pm$ 0,08*
<b>Cendres (g/Kg)</b>	8,30 $\pm$ 0,42*	8,37 $\pm$ 0,26*	8,55 $\pm$ 0,35*
<b>NCN (g d'azote/Kg)</b>	6,13 $\pm$ 0,06*	6,53 $\pm$ 0,31*	6,21 $\pm$ 0,25*
<b>NCN – NPN (g d'azote/Kg)</b>	4,66 $\pm$ 0,04*	4,88 $\pm$ 0,18*	4,64 $\pm$ 0,22*

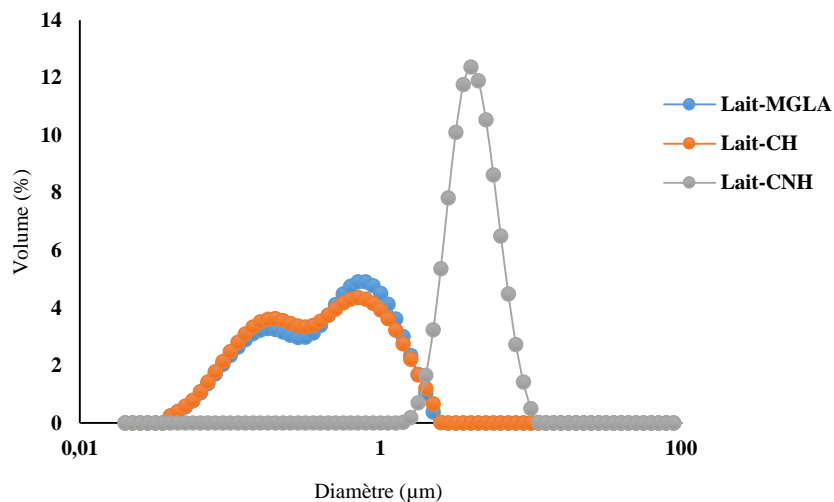
Les données de la même ligne qui n'ont pas la même lettre en exposant sont significativement différentes pour une valeur de  $P < 0,05$ .

Les teneurs en EST, matière grasse, cendres, protéines, NCN et protéines solubles (NCN-NPN) étaient identiques pour les 3 types de laits. Les valeurs de NCN étaient faibles pour les 3 laits en raison de l'utilisation de la même poudre de lait pour la reconstitution des laits de fabrication et probablement du chauffage qu'ils ont subi au cours du processus de fabrication (75 °C pendant 1 h). En effet, au cours du chauffage du lait, les protéines du lactosérum se

dénaturent et se lient en partie aux micelles de caséines (Cf. Synthèse bibliographique II. 1.1.3.1.1.).

## 2. Distribution de taille des globules gras

Les 3 laits reconstitués ont été contrôlés pour la distribution de taille de leurs globules gras par granulométrie laser. La **Figure 75** montre la répartition de la taille des globules gras présents dans les 3 types de laits.



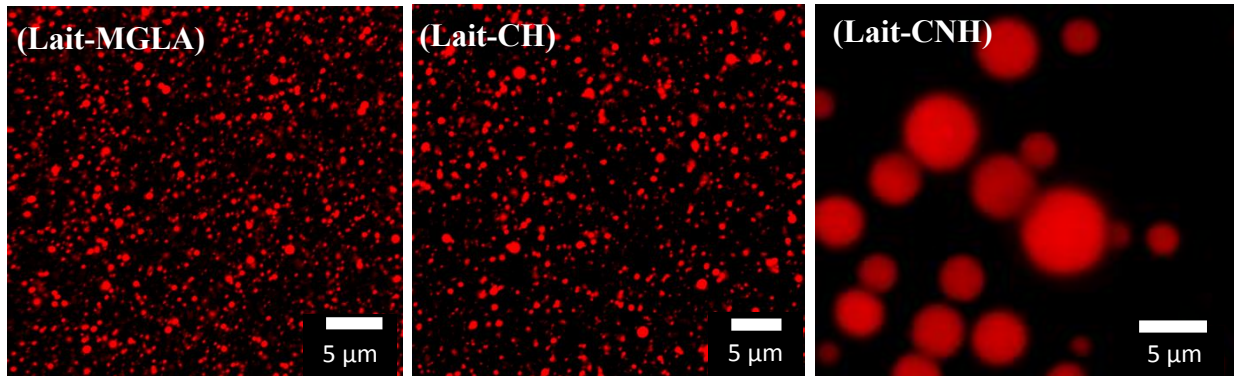
**Figure 75.** Distribution de taille des globules gras dans les laits reconstitués

Comme attendu, des différences dans la distribution de la taille des globules gras étaient observées entre le lait non homogénéisé (lait-CNH) et les laits homogénéisés (laits MGLA et CH). Pour le lait-CNH, la distribution de taille des globules gras variait entre 1,5 et 12,6 μm avec un diamètre moyen de 4,4 μm. Ce résultat était en accord avec la distribution de la taille des globules natifs entourés de leur membrane biologique (Rudan et al., 1998; Kelly et al., 2008; Zamora et al., 2007; Lopez et al., 2015). Dans le lait-CH, la distribution de taille des globules gras variait entre 0,3 à 2,8 μm avec un diamètre moyen de 1,2 μm, montrant ainsi que l'homogénéisation a considérablement diminué la taille des globules gras. La distribution de la taille des globules gras dans le lait-MGLA était similaire à celle du lait-CH. L'homogénéisation de la crème ou de la MGLA, à la même pression, affecte de manière similaire la taille des globules gras. Dans tous les cas, les globules gras étaient répartis de façon homogène. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Rudan et al. (1998) qui ont utilisé des pressions d'homogénéisation de 13,8 et 3,4 MPa sur du lait reconstitué avec de la crème et avaient obtenu

des diamètres moyens de globules gras de 5,5  $\mu\text{m}$  et 1,6  $\mu\text{m}$  respectivement avant et après homogénéisation.

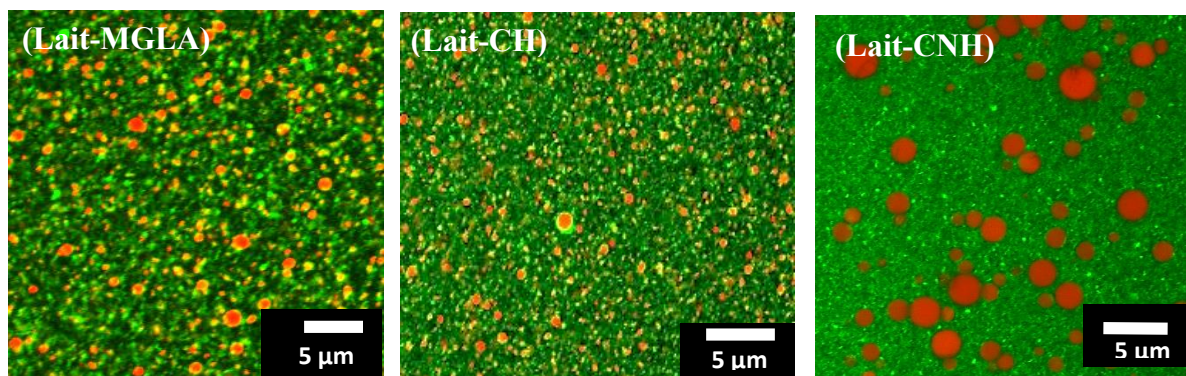
### 3. Observation microscopique des laits

Les observations microscopiques par CLSM ont confirmé les résultats de l'analyse par granulométrie laser (**Figure 75**) à savoir une diminution de la taille globules gras et une augmentation de leur nombre dans les laits homogénéisés (lait-MGLA et lait-CH) (**Figure 76**).



*Figure 76. Distribution de la taille des globules gras dans les laits MGLA, CH et CNH.*

Outre cette différence de taille, les images obtenues par CLSM ont mis en évidence la présence d'une couche de protéines adsorbées à la surface des globules gras homogénéisés dans les laits MGLA et CH (**Figure 77**). Darling & Butcher (1978), Cano-Ruiz & Richter (1997), Walstra et al., (2006), Zamora et al. (2012) ont également observé ces interactions et ont montré que ces protéines étaient des protéines du lactosérum et des micelles de caséine. En effet, lors de l'homogénéisation de la MGLA dans le lait, les protéines du lait, de par leurs propriétés tensio-actives, s'adsorbent à la surface des gouttelettes lipidiques formées. Ces protéines vont former la membrane qui assurera la stabilité et la dispersion de la matière grasse dans la phase aqueuse du lait. Le même phénomène est observé au cours de l'homogénéisation de la crème. La fragmentation des globules gras de la crème crée une nouvelle interface plus importante entre la matière grasse et le lait qui ne peut pas être entièrement recouverte par la membrane biologique du globule gras. Les micelles de caséine et les protéines du lactosérum s'adsorbent alors à la surface des globules gras homogénéisés tel que décrit pour la MGLA. Keenan et al. (1983) ont rapporté que les globules gras de crème homogénéisée conservaient cependant une partie de leur membrane native riche en lipides polaires.



**Figure 77.** Interactions protéines-matière grasse dans les laits MGLA, CH et CNH.

En conclusion, les 3 laits reconstitués dans cette étude étaient différents au niveau de la distribution de taille de leurs globules gras et probablement de la composition de leurs membranes. Dans le lait-CNH, la matière grasse était constituée de globules gras natifs de 4,4  $\mu\text{m}$  de diamètre recouverts de leurs membranes biologiques. La matière grasse du lait-MGLA est sous forme de globules gras de petite taille (1,2  $\mu\text{m}$  de diamètre) dont la surface était recouverte de micelle de caséine et de protéines du lactosérum. Dans le lait-CH, les globules gras étaient de même diamètre que dans le lait-MGLA mais leur membrane était constituée d'une partie de leur membrane biologique et de protéines de lait adsorbées à leurs surfaces. Ces différents laits étaient utilisés pour fabriquer des caillés en utilisant l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* comme coagulant en suivant le protocole décrit au III. 3 de Matériel et méthodes.

### III. Fabrication des caillés

#### 1. Temps de prise

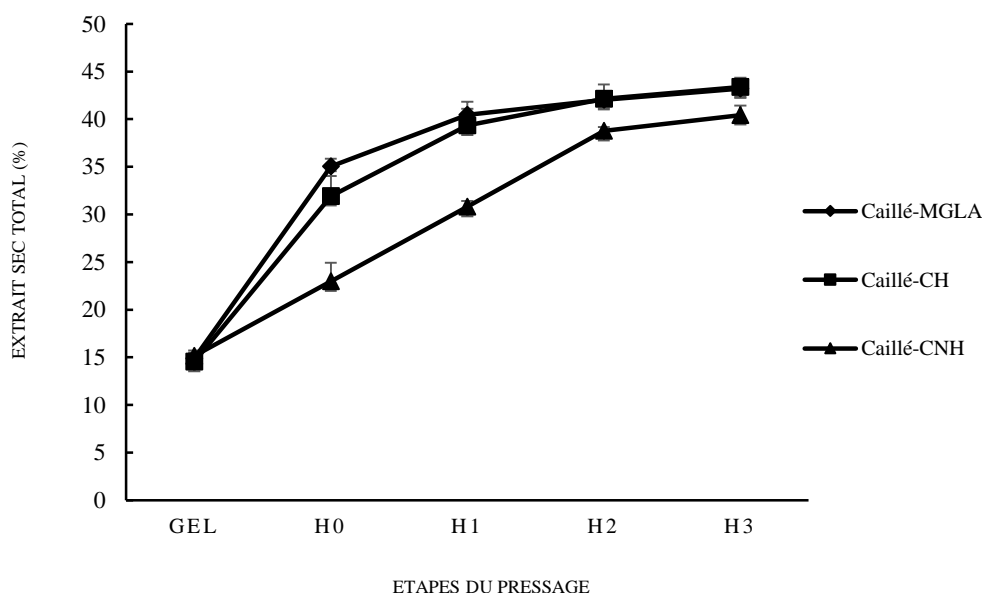
Les temps de prise pour les différents laits reconstitués étaient de  $23 \pm 1$ ,  $23 \pm 1$  et  $22 \pm 0$  min respectivement pour le lait-MGLA, le lait-CH et le lait-CNH. Cette absence de différence dans les temps de prise des 3 laits indique que la nature de la matière grasse, sa structure et la différence de composition de la membrane des globules gras n'avaient pas d'impact sur les temps de prise des laits coagulés par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*.

Des divergences existent dans la littérature quant à l'impact de l'homogénéisation sur la valeur du temps de prise d'un gel présure. Humbert et al. (1980), Ghosh et al. (1994) et Kelly et al. (2008) ont rapporté que le temps de prise des gels présure diminuaient lorsque les laits étaient préalablement homogénéisés. Ces auteurs ont expliqué qu'après homogénéisation, la

dispersion des micelles de caséine autour des globules gras facilitait la diffusion et l'activité de la chymosine; d'où la diminution du temps de prise. Zamora et al. (2007) ont cependant montré que la diminution du temps de prise d'un gel présure dépendait de l'intensité de l'homogénéisation appliquée aux laits de fabrication. Ils ont montré qu'une homogénéisation à 15 + 3 MPa, à 72 ° C n'affectait pas significativement le temps de prise des gels présure. Ce barème d'homogénéisation est plus intense que celui que nous avons appliqué à nos laits homogénéisés (100 + 10 Bars, à 60 °C) ce qui pourrait expliquer l'absence de différence de temps de prise entre les laits homogénéisés ou non.

## 2. Evolution des teneurs en extrait sec des caillés au cours du pressage

Des échantillons de gels et de caillés étaient prélevés au cours du pressage pour déterminer leurs teneurs en EST.



**Figure 78.** Evolution des teneurs en EST des caillés MGLA, CH et CNH au cours du pressage. Les échantillons étaient prélevés après le durcissement du gel et avant découpage (Gel) puis après soutirage et avant le début du pressage (H0) puis chaque heure après le début du pressage (H1, H2 et H3). Les résultats présentés sont des moyennes  $\pm$  écart type de 2 fabrications indépendantes pour chaque type de lait.

Les teneurs en EST des caillés MGLA et CH augmentaient rapidement pendant les premières heures de pressage (H0, H1 et H2), en relation avec l'élimination du lactosérum. Pour les 3 types de caillés, la cinétique de l'élimination du lactosérum était différente : la teneur en EST du caillé-CNH augmentait plus lentement que ceux des caillés MGLA et CH et, à la fin du pressage, la teneur en extrait sec du caillé-CNH était inférieure à celles des caillés MGLA et

CH (**Figure 78**). Ces résultats étaient différents de ceux rapportés dans la littérature sur les caillés présure. Zamora et al. (2007) ont montré que la rétention du lactosérum était plus importante dans les caillés présure fabriqués avec des laits homogénéisés. Plusieurs auteurs ont montré que l'humidité des caillés augmentait avec les niveaux de pression utilisés pour l'homogénéisation des laits : plus la pression d'homogénéisation était élevée, plus les caillés étaient humides (Maxcy et al., 1955 ; Humbert et al., 1980 ; Green et al., 1983 ; Zamora et al., 2007).

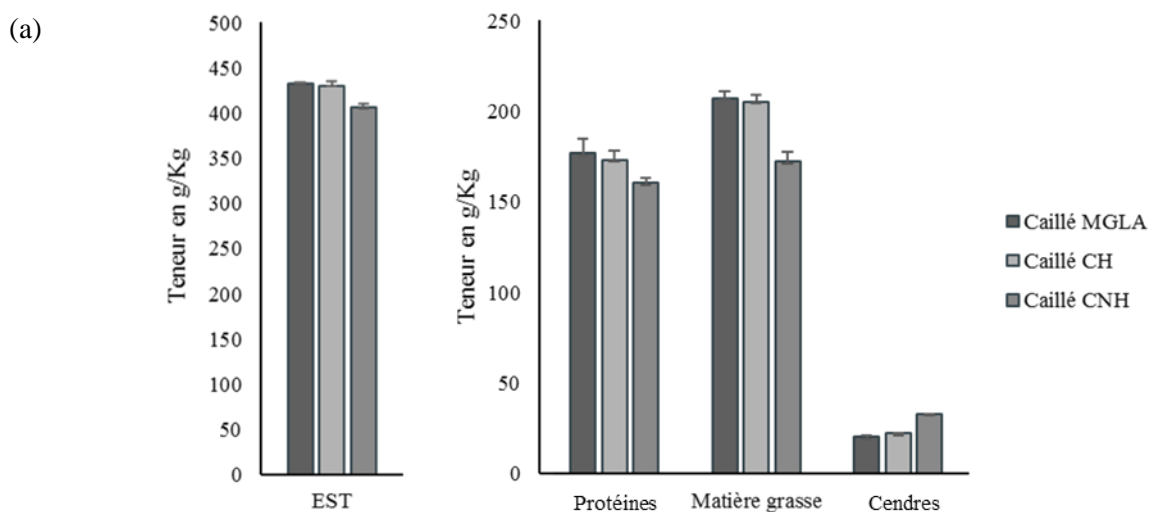
Ces différences entre nos résultats et ceux rapportés dans la littérature pourraient être attribuées aux faibles niveaux de pression (100 + 10 Bars) que nous avons utilisés lors de l'homogénéisation des laits et aussi aux différences de paramètres de fabrication (utilisation du coagulant végétal, chauffage à 75 °C, opérations de décaillage et brassage). Patel et al. (1972) et Everard et al. (2008) ont montré que la température de coagulation, le brassage et le chauffage des gels présure augmentaient l'élimination du lactosérum. Dans le caillé-CNH, les faibles interactions entre les globules gras et les protéines du lait ont probablement contribué à la rétention du lactosérum dans les caillés. Cette caractéristique du caillé-CNH pourrait expliquer le faible drainage du lactosérum et la faible teneur en EST du caillé.

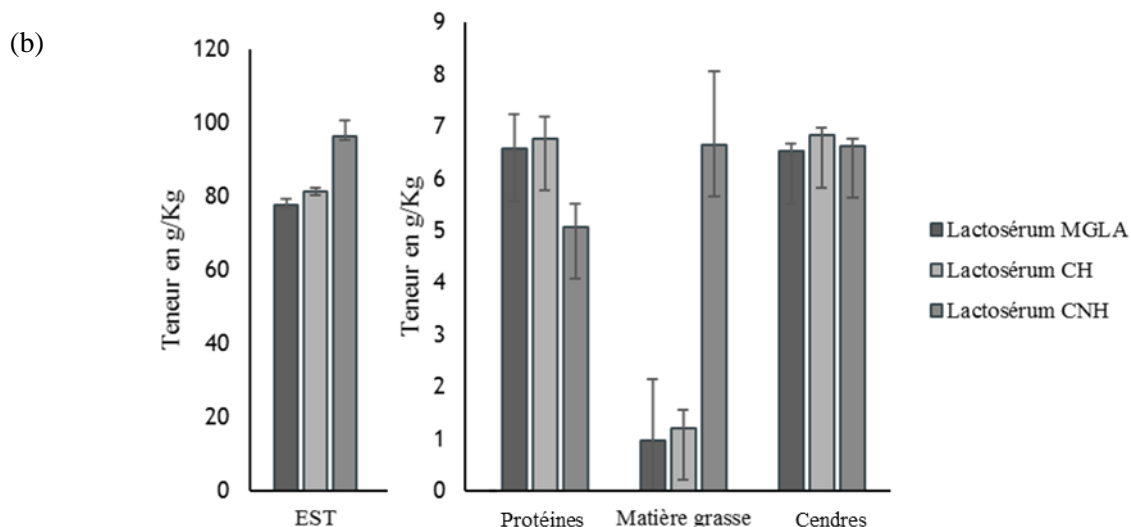
### **3. Caractérisation physico-chimique des caillés et lactosérums**

Les caractéristiques physico-chimiques (teneurs en EST, matière grasse, protéines et cendres) des caillés et lactosérums sont présentées dans les **Figures 79 a et b**.

Les teneurs en EST, protéines et matière grasse des caillés MGLA et CH étaient similaires avec une tendance à la baisse observée pour le caillé-CNH. Ces résultats étaient en accord avec ceux rapportés dans la littérature qui montrent que l'homogénéisation conduit à une meilleure récupération des protéines et de la matière grasse dans les caillés (Humbert et al., 1980 ; Green et al., 1983 ; Jana & Upadhyay, 1992 ; Rudan et al., 1998 ; Zamora et al., 2007). Cette meilleure récupération était certainement due aux interactions développées entre les protéines et la matière grasse au cours de l'homogénéisation limitant les pertes de matière grasse dans le lactosérum au cours de l'égouttage (Green et al., 1983 ; Rudan et al., 1998 ; Abd El-Gawad & Ahmed, 2011). La teneur en cendres du caillé-MGLA était inférieure à celles des caillés CH et CNH. Cette différence pourrait être attribuée à l'utilisation de la MGLA pour la préparation du lait-MGLA et de la crème pour les laits CH et CNH. La crème a apporté un supplément de calcium dans les laits CH et CNH qui a été récupéré dans les caillés correspondants.

Les teneurs en EST et matière grasse du lactosérum-CNH étaient plus élevées que celles des lactosérums CH et MGLA qui étaient similaires. La quantité de matière grasse récupérée dans le lactosérum-CNH était 6 fois plus importante que celle récupérée dans les lactosérums CH et MGLA. La perte de matière grasse dans le lactosérum-CNH peut être liée à la faible interaction entre la matière grasse et les protéines observée dans le lait non homogénéisé correspondant. Au cours des opérations de décaillage, brassage et pressage, la matière grasse « libérée » du caillé est récupérée dans le lactosérum correspondant. D'autre part, la teneur en protéines du lactosérum CNH était inférieure à celle des lactosérums CH et MGLA. Au contraire, Zamora et al. (2007) ont rapporté que la teneur en azote diminuait dans les caillés présure lorsque les laits étaient homogénéisés. L'utilisation de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* dans notre étude pourrait expliquer cette différence. Les gels obtenus après coagulation des laits CH et MGLA par l'extrait végétal étaient plus durs et plus friables que ceux fabriqués avec le lait CNH. Par conséquent, les pertes de matière dans le lactosérum au cours du décaillage et du brassage étaient plus importantes, expliquant la teneur en protéines élevée dans les lactosérums CH et MGLA (**Figure 79a**). Aucune différence n'a été observée dans la teneur en cendres des 3 lactosérums.





**Figure 79.** Caractéristiques physico-chimiques des caillés (a) et lactosérums (b) obtenus après coagulation des laits MGLA, CH et CNH.

#### 4. Bilan matière

Pour vérifier l'efficacité du procédé de fabrication mis en place, un bilan matière était réalisé à la fin de chaque fabrication (**Tableau 29**).

**Tableau 29.** Bilan matière pour les 3 types de laits mis en œuvre dans la fabrication des caillés. Les valeurs sont les moyennes de 2 déterminations indépendantes pour chaque type de lait.

	EST (%)	MAT (%)	MG (%)	Cendres (%)
Lait-MGLA	98	100	97	98
Lait-CH	100	101	97	99
Lait-CNH	101	101	95	98

Aucune différence significative dans le bilan matière des fabrications n'était observée quel que soit le type de lait mis en œuvre.

#### 5. Rendements de fabrication et coefficients de récupération de constituants laitiers

Le **Tableau 30** présente les valeurs des rendements de fabrication (bruts et corrigés) et les pourcentages de récupération de matière (EST, protéines, matière grasse et cendres). Les résultats présentés dans ce tableau sont les moyennes de 2 fabrications indépendantes de 10 L chacune par type de lait.



**Tableau 30.** Rendements de fabrication (Rb et Rc) et coefficients de récupération des constituants laitiers au cours de la fabrication des caillés. Les données sont présentées sous forme de moyenne  $\pm$  écart type.

	Rb (%)	Rc (%)	Coefficients de récupération (%)			
			EST	MG	MAT	Cendres
<b>Caillé-MGLA</b>	17 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	54 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	96 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	89 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	40 $\pm$ 1 <sup>a</sup>
<b>Caillé-CH</b>	18 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	15 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	55 $\pm$ 2 <sup>a</sup>	96 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	90 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	45 $\pm$ 2 <sup>b</sup>
<b>Caillé-CNH</b>	17 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	13 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	50 $\pm$ 0 <sup>b</sup>	87 $\pm$ 5 <sup>b</sup>	81 $\pm$ 2 <sup>b</sup>	45 $\pm$ 0 <sup>b</sup>

Les valeurs de la même colonne qui n'ont pas la même lettre en exposant sont significativement différentes pour une valeur de  $P < 0,05$ .

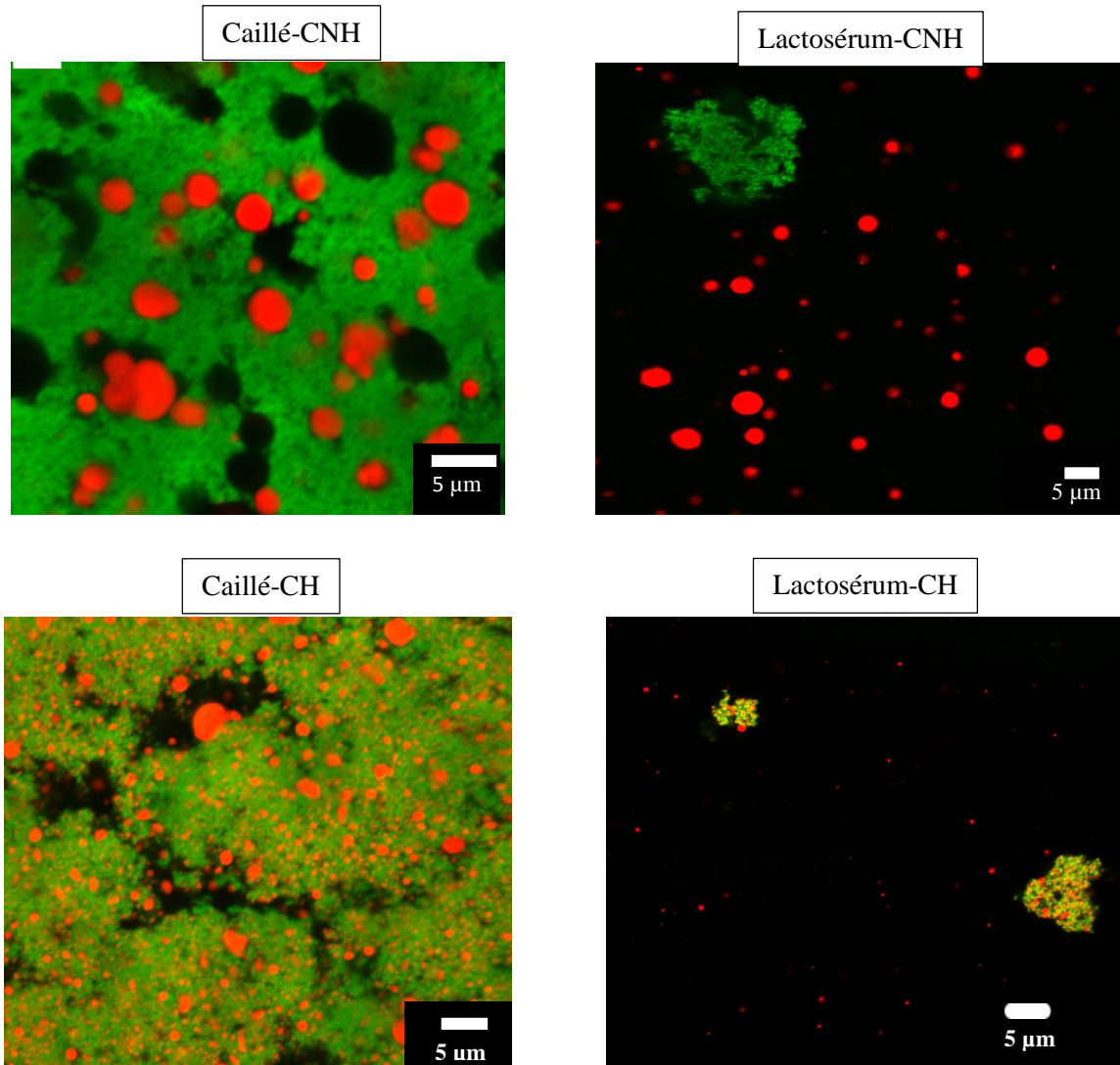
Les Rb des 3 fabrications n'étaient pas significativement différents alors qu'une diminution du Rc était observée pour la fabrication utilisant le lait-CNH. Le Rc, dont le calcul prend en compte les extraits secs des laits, caillés et lactosérums (Cf. Matériel et Méthode III. 5.8.), permet une meilleure appréciation de la répartition des matières à l'issue de la fabrication. Ainsi, bien que les bilans matières sont positifs et similaires dans les 3 types de fabrications, le Rc de la fabrication utilisant le lait-CNH indiquait une plus faible récupération de l'EST dans les caillés.

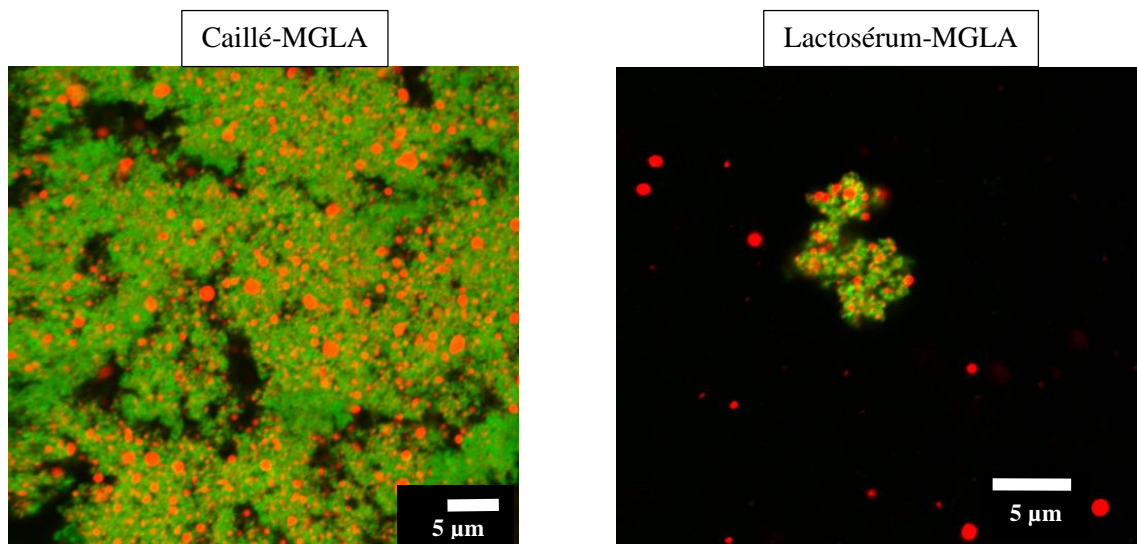
Nos résultats étaient similaires à ceux rapportés par Zamora et al. (2007) qui ont trouvé des Rc de 26 % pour le lait homogénéisé et de 22 % pour le lait non homogénéisé. Jana & Upadhyay (1992) ont également rapporté que l'homogénéisation du lait ou de la crème ajoutée au lait augmentait les rendements de fabrication des fromages comme le Cheddar (3 à 6 %), la mozzarella (6 à 17 %) et le roquefort (3 à 4 %).

Un autre effet de l'homogénéisation était observé sur les coefficients de récupération des constituants laitiers. Les pourcentages de récupération de l'EST, de la matière grasse et des protéines étaient plus élevés lorsque les laits homogénéisés (MGLA et CH) étaient utilisés. L'homogénéisation des laits améliorait la récupération des constituants laitiers dans les caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. Le pourcentage de récupération des cendres était par contre plus élevé avec les laits reconstitués avec de la crème (CH et CNH). Cette différence pourrait être attribuée à l'utilisation de la crème (contenant également des minéraux) dans la préparation des laits.

## 6. Observation microscopique des caillés et lactosérums

Les caillés et lactosérums étaient préparés et observés par CSLM 12 h après les fabrications. Les images de microscopie ont révélé des différences de structure entre les caillés obtenus avec les laits MGLA et CH d'une part, et le lait CNH d'autre part. Aucune différence n'était observée entre les caillés MGLA et CH (**Figure 80**).





*Figure 80. Images de microscopie confocale des caillés (à gauche) et des lactosérums correspondants (à droite). Les protéines apparaissent en vert, la matière grasse en rouge et la phase aqueuse (lactosérum) en noir. Trois échantillons de caillés et lactosérums étaient observés pour chaque fabrication afin de s'assurer de l'homogénéité des matrices observées.*

Dans les caillés CNH, le réseau de protéines était caractérisé par la présence de plusieurs poches de lactosérum. Les globules gras étaient répartis entre les pores de la matrice protéique et les poches de lactosérum. Comme attendu, ils étaient de grande taille (4,4 µm de diamètre) tel qu'observé dans les laits correspondants. Autour des globules gras, de petits volumes de lactosérum (zones noires) étaient souvent observés, suggérant une faible interaction entre le réseau de protéine et les globules gras. Ces caractéristiques de distribution de matière grasse et des faibles interactions protéine-matière grasse étaient en accord avec des études réalisées sur des caillés présure préparés à partir de laits non homogénéisés (Rudan et al., 1998 ; Zamora et al., 2007).

Dans les caillés MGLA et CH, le réseau de protéines était plus dense en comparaison avec le caillé CNH. Ces caillés étaient caractérisés par une répartition dans le réseau protéique homogène de petits globules gras d'environ 1 µm de diamètre. Des globules gras de taille plus grande (2,5 µm) étaient observés dans les poches de lactosérum. Étant donné que ces derniers n'existaient pas dans les laits de fabrication (**Figures 76 et 77**), ils pourraient provenir de la coalescence des petits globules gras lors de la fabrication du caillé.

Des différences étaient également observées dans les lactosérums. Dans les lactosérums MGLA et CH, de petites particules de caillé étaient fréquemment observées en plus des petits globules gras. Dans le lactosérum CNH, des globules gras de grande taille (5 µm de diamètre)

étaient observés. Les fines n'étaient pas aussi fréquemment observées que dans les lactosérums MGLA et CH. Les images CSLM du lactosérum-CNH ont montré que les globules gras n'étaient pas reliés aux fines contrairement aux fines observées dans les lactosérums MGLA et CH. Ces observations sont en accord avec la perte de matière grasse observée dans le lactosérum CNH pendant l'égouttage, et soutiennent les résultats obtenus sur les caractéristiques biochimiques, les rendements de fabrication et les coefficients de récupération de constituants laitiers rapportés ci-dessus (**Tableau 30**).

## 7. Caractéristiques texturales des caillés

Les analyses de textures (tests TPA et de rupture) des caillés ont permis de déterminer des valeurs de dureté, cohésion, adhésivité, masticabilité, force à la rupture et élasticité (**Tableau 31**).

**Tableau 31.** Paramètres de texture des caillés CNH, CH et MGLA. Les résultats sont les moyennes de 4 déterminations indépendantes pour chaque type de caillés et pour 2 fabrications (soit 8 déterminations par type de caillé).

	Dureté (N)	Cohésion	Adhésivité (J)	Masticabilité (N)	Force à la rupture (N)	Elasticité (%)
<b>Caillé-MGLA</b>	8,74 ± 0,43 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,85 ± 0,48 <sup>a</sup>	10,31 ± 0,00 <sup>a</sup>	25,71 ± 2,65 <sup>a</sup>	43,41 ± 0,74 <sup>a</sup>
<b>Caillé-CH</b>	8,59 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,19 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,88 <sup>a</sup>	10,22 ± 0,00 <sup>a</sup>	26,60 ± 0,79 <sup>a</sup>	44,14 ± 0,13 <sup>a</sup>
<b>Caillé-CNH</b>	5,62 ± 0,40 <sup>b</sup>	1,20 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,35 ± 1,11 <sup>b</sup>	6,74 ± 0,00 <sup>b</sup>	31,94 ± 1,35 <sup>b</sup>	66,04 ± 2,99 <sup>b</sup>

Les valeurs de la même colonne qui n'ont pas la même lettre en exposant sont significativement différentes pour une valeur de  $P < 0,05$ .

Les caillés MGLA et CH ont montré des profils de texture similaires. Les caillés CNH étaient différents, sauf pour les valeurs de cohésion qui étaient similaires pour les 3 caillés. Les caillés CNH étaient moins durs, mais plus élastiques, mous et adhésifs que les caillés MGLA et CH. Ces différences de caractéristiques texturales pourraient être expliquées par les différences dans la composition biochimique des caillés et l'organisation des protéines et de la matière grasse (microstructure) dans les caillés. Les différentes caractéristiques de texture déterminées pour le caillé de CNH, par rapport aux caillés obtenus à partir de laits homogénéisés, pourraient ainsi être liées :

-i) des teneurs en matière sèche et matière grasse significativement plus faibles pouvant expliquer la faible dureté du caillé CNH

-ii) à une plus grande taille des globules gras et un nombre plus faible de globules gras par unité de volume de caillé pouvant être également liée aux faibles valeurs de dureté et de masticabilité du caillé CNH

-iii) aux faibles interactions (ou absence de connectivité) entre les globules gras couverts par leurs membranes biologiques et le réseau de protéines. La présence de nombreuses poches de lactosérum pourrait ainsi expliquer les valeurs élevées d'élasticité et de force à la rupture telle une structure aérée pouvant subir une forte compression avant de se rompre.

Le caillé CNH était une matrice plus molle, aérée et très humide en comparaison aux caillés MGLA et CH. Les valeurs de dureté et d'adhésivité des caillés CNH étaient les mêmes que celles rapportées par Belewu (2001) sur du fromage wagashi traditionnel commercialisé à Ilorin (Nigeria).

Jana & Upadhyay (1992) ont rapporté par contre que les caillés présure fabriqués avec du lait homogénéisé avaient des valeurs de dureté, cohésion et masticabilité plus faibles que les caillés fabriqués avec du lait non homogénéisé. Ces résultats qui n'étaient pas en accord avec les nôtres pourraient être attribués aux différences dans les coagulants et les procédés de fabrication, en particulier les différences de barèmes d'homogénéisation utilisés. Zamora et al. (2007) ont effectivement rapporté que plus l'intensité de l'homogénéisation était élevée, moins les caillés étaient cohérents et durs en raison de leur grande rétention d'eau pendant l'égouttage. Rudan et al. (1998), en utilisant un barème d'homogénéisation plus faible, avaient montré que les interactions entre la matière grasse et les protéines créées au cours de l'homogénéisation conduisaient à la formation de caillés de grande dureté, même lorsque la présure était utilisée.

Un autre facteur influençant les caractéristiques texturales des caillés étaient les paramètres de fabrication tels que le chauffage et l'intensité du découpage, du brassage et du pressage.

#### **IV. Conclusion du Chapitre III**

Dans cette étude, l'utilisation de 2 sources de matière grasse et de l'homogénéisation (ou non) des laits de fabrication a permis de fabriquer 3 matrices différentes. Après coagulation par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, les caillés obtenus ont montré des caractéristiques physico-chimiques, microstructurales et texturales différentes, ainsi que des comportements à l'égouttage différents. Les caractéristiques physico-chimiques, microstructurales et texturales

des caillés fabriqués avec les laits homogénéisés (MGLA et CH) étaient similaires malgré les différences de matière grasse utilisée dans la reconstitution des laits et par conséquent dans la composition des membranes de leurs globules gras. Dans ces 2 caillés, les interactions protéines-matière grasse induites par l'homogénéisation étaient probablement similaires et assuraient le maintien de la matière grasse dans le réseau protéique, ce qui limitait la perte de matière grasse dans les lactosérums au cours de l'égouttage. Ces interactions ont amélioré les rendements de fabrication et les coefficients de récupération des constituants laitiers dans les caillés, en particulier ceux de la matière grasse et des protéines tandis que dans le caillé CNH, les teneurs en protéines et matière grasse étaient faibles. Les quantités de matière grasse dans le lactosérum correspondant étaient 6 fois plus importantes que celles quantifiées dans les lactosérums MGLA et CH.

Les caillés CNH avaient des caractéristiques texturales différentes de celles des caillés MGLA et CH. Les caillés CNH étaient plus mous, élastiques et collants, mais moins durs que les caillés MGLA et CH. Les différences des caractéristiques texturales des caillés ainsi déterminées étaient probablement dues à la différence d'organisation du réseau de protéines et des globules de matière grasse dans les caillés correspondants.

Les résultats de cette étude ont montré que l'homogénéisation des laits de fabrication pouvait être utilisée pour améliorer les rendements de fabrication du fromage wagashi dans lequel le lait entier de vache est coagulé avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. L'homogénéisation pourrait également être utilisée pour modifier les caractéristiques texturales du fromage ce qui laisse envisager la fabrication de nouveaux produits avec des caractéristiques organoleptiques différentes.

---

## Conclusion générale et perspectives

---

L'élevage occupe près de 87 % de la population au Niger, et constitue la 2<sup>nd</sup>e ressource exportée par le pays après l'uranium. La filière laitière s'organise autour des troupeaux de bovins avec une prédominance de la transformation artisanale du lait en produits de consommation courante tels que le lait caillé, le beurre fondu et le fromage Tchoukou. A côté de ces produits locaux, on retrouve sur les marchés des grandes villes du pays, le fromage wagashi habituellement en provenance du Bénin qui est très prisé par les consommateurs. Il est habituellement consommé frit ou associé à diverses préparations culinaires où il remplace la viande et le poisson.

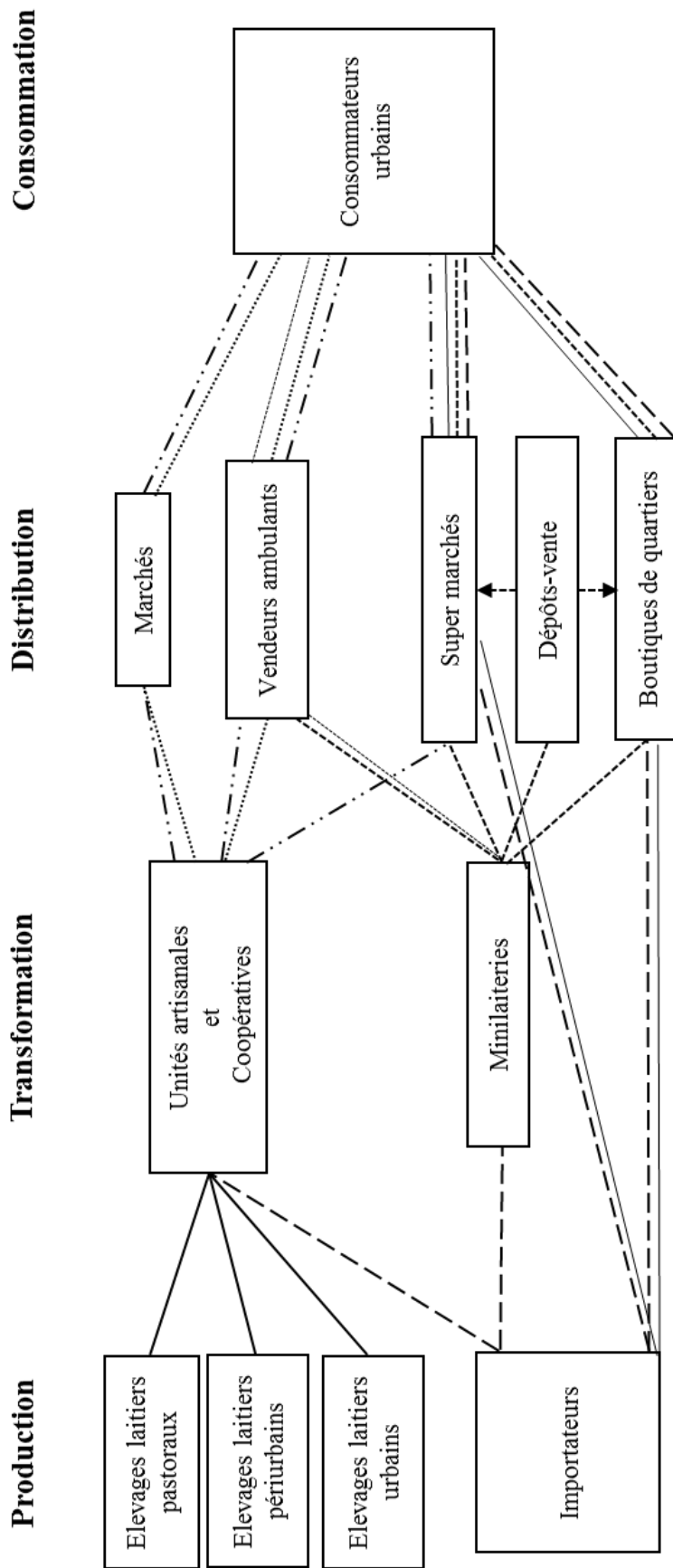
Cette thèse a été réalisée dans le but de :

- ❖ d'apporter des éléments de compréhension sur la dynamique de la filière laitière dans la région de Maradi, au Niger,
- ❖ d'étudier l'activité coagulante de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et déterminer les caractéristiques physico-chimiques, texturales et microstructurales des caillés obtenus.

La 1<sup>ère</sup> partie des travaux, réalisée au Niger, a consisté à collecter des informations auprès des acteurs de la production, de la transformation, de la distribution et de la consommation du lait et des produits laitiers dans la région de Maradi. Les données étaient collectées à travers des enquêtes par questionnaires, élaborés dans le but de répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les caractéristiques des systèmes de production laitière de la région de Maradi ?
- Quels sont les acteurs de la transformation du lait dans la région de Maradi et comment mènent-ils leur activité ?
- Quelles sont les structures impliquées dans la distribution du lait et des produits laitiers dans la ville de Maradi ?
- Quels sont les déterminants et les habitudes de consommation du lait et des produits laitiers dans la ville de Maradi ?

L'analyse statistique des données recueillies à travers ces enquêtes a permis d'apporter des éléments de réponse à ces interrogations (**Figure 81**).



*Figure 81. Circuit des produits laitiers dans la région de Maradi. Lait frais ———, lait en poudre - - - - , lait caillé et beurres artisanaux ..... , fromage Tchoukou - ······, yaourt et dégué - - - - - , crème glacée - - - - - , lait concentré et beurre industriels ———.*



### **Caractérisation des systèmes de production**

Nous avons montré dans cette étude, que la filière laitière dans la région de Maradi s'organisait majoritairement autour des troupeaux de bovins. Malgré l'hétérogénéité des troupeaux, les laits de chèvre et de chamelle étaient faiblement valorisés. Le choix des espèces animales, la taille des troupeaux, la conduite des élevages et la gestion de la ressource lait étaient influencés par les sites d'implantation des élevages. Les Peulhs représentaient 100 % des éleveurs rencontrés dans les élevages urbains et périurbains mais en zone pastorale, d'autres ethnies pratiquent également l'élevage. Une variabilité du prix de vente du litre de lait en fonction des saisons était observée (370 FCFA en saison pluvieuse contre 470 en saison sèche) probablement en raison de la variabilité de la productivité des vaches laitières influencée par la disponibilité du pâturage. Les pourcentages de lait autoconsommé en zone pastorale (51 à 75 %) étaient plus importants qu'en zones urbaine et périurbaine (0 à 25 %) alors que les parts de lait transformées étaient plus importantes en zones urbaine et périurbaine qu'en zone pastorale.

### **Caractérisation des unités de transformation et de l'activité de transformation**

Nous avons montré à travers l'analyse des données recueillies sur la transformation du lait, que les femmes constituaient 94 % des acteurs de la transformation du lait dans la région de Maradi et transformaient habituellement du lait frais grâce à des procédés artisanaux. A côté de ce type de transformation, exerçaient également les coopératives essentiellement en zone pastorale et les mini-laiteries en zone urbaine. Comme dans beaucoup de pays d'Afrique subsaharienne, la transformation de la poudre de lait est omniprésente dans la région de Maradi, aussi bien en milieu urbain qu'en milieu pastorale. La faible productivité des animaux contraint les unités de transformation à recourir à la poudre de lait. Elle permet aux mini-laiteries de répondre à la demande croissante en produits frais en zone urbaine et aux unités artisanales d'assurer un approvisionnement régulier en lait caillé.

### **Organisation de la distribution**

L'analyse des données recueillies sur la distribution des produits laitiers dans la ville de Maradi a montré que l'offre en produits laitiers était diversifiée et se composait à la fois de produits laitiers de fabrication artisanale (lait caillé, beurres frais et fondu, fromage Tchoukou), de produits frais locaux (yaourt, dégué, crème glacé, lait pasteurisé) et de produits industriels importés (lait en poudre, lait concentré, yaourt, beurre, fromage fondu). La distribution de ces

produits était réalisée au niveau de 3 principaux points de vente que sont les dépôts-vente, les boutiques de quartier et les marchés. L'activité de distribution était influencée par le genre du distributeur et le type de point de vente. Les prix de vente des produits frais locaux (100 à 150 FCFA pour le sachet de 200 mL de lait) et des produits importés (1000 à 1200 FCFA pour le Kg de lait en poudre) variaient peu, mais ceux des produits artisanaux variaient considérablement (150 à 2000 FCFA pour la Tiya de lait caillé) probablement en raison de l'hétérogénéité du conditionnement des produits (mesures en poids et volumes des produits très variables) et de leur qualité : les produits artisanaux issus de la transformation du lait de vache sont vendus à des prix plus élevés que ceux issus de la transformation du lait en poudre.

### **Déterminants et habitudes de consommation des produits laitiers**

La qualité organoleptique des produits laitiers, leur apport santé et leur coût étaient les principaux attributs qui influençaient les décisions d'achat et de consommation. Par ailleurs, la consommation des produits laitiers dans la ville de Maradi était influencée par des facteurs tant socio-culturels qu'économiques :

**-statut matrimonial** : les célibataires n'avaient pas d'habitudes de consommation particulière alors que les individus réalisant les achats familiaux étaient caractérisés par une consommation diversifiée de produits laitiers et des habitudes de consommation régulières (consommation de produits industriels le matin).

**-âge** : les individus âgés de moins de 35 ans étaient caractérisés par une consommation régulière de produits frais locaux alors que les consommateurs de plus de 35 ans avaient une préférence pour les produits laitiers artisanaux.

**-activité professionnelle (pouvoir d'achat)** : les artisans et les commerçants (faible revenu) étaient caractérisés par une consommation régulière de produits frais locaux alors que les personnes à revenu plus élevé consommaient plus les produits importés.

L'analyse des données recueillies sur la consommation urbaine des produits laitiers à Maradi a révélé un intérêt des consommateurs pour de nouveaux produits laitiers (40 %), parmi lesquels le wagashi (7 %). Le wagashi est le fromage ouest africain par excellence. Il est fabriqué de façon artisanale par les femmes Peulhs à partir de lait de vache et d'extrait de feuilles de *Calotropis procera*. En raison de l'intérêt manifesté par les consommateurs pour le wagashi et de la portée que peuvent avoir les résultats des travaux réalisés sur ce fromage (tous les pays producteurs de l'Afrique de l'Ouest), la suite de nos travaux s'est intéressée à la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*.

Ainsi, la 2<sup>ème</sup> partie des travaux, réalisée au laboratoire Science et Technologie du Lait et de l'Œuf (INRA-Agrocampus Ouest, Rennes), a consisté à étudier l'activité coagulante de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et à caractériser les caillés obtenus du point de vue physico-chimique, texturale et microstructurale. Ces aspects ont été abordés dans 3 études interdépendantes entreprises pour répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les conditions physico-chimiques (pH, température, concentration en calcium, type de lait) optimales d'utilisation de l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* pour une fabrication reproductible et maîtrisée de caillés fromagers tout en optimisant les rendements de fabrication ?
- Quelles sont les mécanismes à l'origine de la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et les caractéristiques physico-chimiques et microstructurales des caillés en comparaison à une coagulation par la chymosine ?
- Quels sont les impacts de différentes structures de matière grasse (crème homogénéisée, MGLA homogénéisée et crème non homogénéisée) sur les rendements de fabrication et les caractéristiques physico-chimiques, texturales et microstructurales des caillés obtenus par coagulation du lait avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* ?

Les 3 études réalisées ont permis d'apporter des réponses à ces questions.

### **Optimisation des conditions physico-chimiques d'utilisation de l'extrait végétal**

Nous avons montré dans cette étude que la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* était liée à une activité protéolytique à travers la mise en évidence de l'augmentation de la teneur en NPN dans les gels obtenus après ajout de l'extrait végétal à différents liquides laitiers. A une même dose de coagulant, les temps de prise étaient plus courts pour les laits UHT et les laits reconstitués à partir de poudre de lait écrémé low heat. Pour tous les laits testés dans l'étude, la dose de coagulant de 3 g/L présentait un faible niveau d'égouttage, une grande rétention d'eau et une teneur en EST faible dans les caillés. L'étude de l'influence de la température a montré que les temps de prise étaient plus courts à 95 °C qu'à 75 °C pour toutes les doses de coagulant utilisées. Le traitement thermique et les modifications induites au sein de la micelle de caséine semblaient faciliter l'activité du coagulant végétal. La diminution du pH ne semblait pas affecter les temps de prise, et en dessous du pH 6, le chauffage provoquait une floculation des protéines du lait. L'ajout d'ions calcium ne semblait pas avoir d'influence sur les temps de prise des gels. « L'analyse sensorielle » avait mis en évidence une meilleure acceptabilité des gels obtenus aux doses de 3 et 5 g/L de coagulant.

Le bilan matière réalisé sur 3 fabrications de 10 L, en utilisant les conditions optimales définies au cours de l'étude (*i.e.* lait reconstitué à 10 % de teneur en EST à partir de poudre de lait écrémé low heat et d'eau distillée, température de 75 °C, dose de coagulant de 5 g/L, pH 6,7, sans ajout d'ions calcium) a montré la reproductibilité du protocole de fabrication mis au point avec les valeurs de 11 et 12 % respectivement pour les rendements bruts et corrigés et des coefficients de récupération d'EST, de protéines et de cendres de 32, 73 et 39 respectivement.

### **Etude de la protéolyse et des caractéristiques physico-chimiques des caillés**

Nous avons montré par l'analyse RP-HPLC couplée à la spectrométrie de masse en tandem des lactosérums récupérés après coagulation par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* et la chymosine, que l'hydrolyse des micelles de caséine par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, induisant la coagulation du lait, n'était pas aussi spécifique que celle décrite pour la chymosine probablement à cause de la présence de plusieurs protéases dans l'extrait végétal tel que rapporté dans la littérature. L'hydrolyse par la chymosine était spécifiquement orientée sur la caséine  $\kappa$  tandis qu'avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*, toutes les molécules de caséine étaient hydrolysées. Malgré ces différences dans la protéolyse micellaire, les rendements de fabrication étaient similaires à ceux d'une fabrication présure effectuée dans les mêmes conditions (à l'exception de la température de coagulation). L'analyse de la microstructure des caillés observés par microscopie électronique à balayage a révélé de légères différences dans l'organisation des réseaux protéiques : le caillé *Calotropis procera* était plus dense et constitué d'amas de protéines tandis que le caillé présure était plus structuré. A fort grossissement, des structures sphériques dont les diamètres correspondaient à ceux d'une micelle de caséine étaient observées dans les 2 caillés. L'hydrolyse des micelles de caséine par les 2 coagulants conduisait donc à une déstabilisation des micelles, nécessaire à leur réorganisation et à la réticulation des gels sans les déstructurer.

### **Impact de la structure de la matière grasse**

Nous avons montré dans cette étude que les caractéristiques physico-chimiques des caillés fabriqués par coagulation des laits homogénéisés (restitués avec de la crème ou de la MGLA) avec l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* étaient similaires malgré les différences de composition des membranes de leurs globules gras après homogénéisation. L'analyse de la microstructure de ces caillés par microscopie confocale permettant de colorer distinctement la matière grasse et les protéines, a mis en évidence des interactions protéines-matière grasse

induities identiques, qui assuraient le maintien de la matière grasse dans le réseau protéique, ce qui limitait la perte de matière grasse dans les lactosérums au cours de l'égouttage. Ces interactions ont amélioré les rendements de fabrication et les coefficients de récupération de matière grasse et de protéines. Dans les fabrications utilisant le lait non homogénéisé, en raison des faibles interactions entre les globules gras et le réseau de protéine observées dans les laits et les caillés correspondants, les pertes de matière grasse dans les lactosérums étaient 6 fois plus importantes que celles quantifiées dans les lactosérums des fabrications réalisées avec les laits homogénéisés. L'homogénéisation peut donc être utilisée pour améliorer les rendements de fabrication du fromage wagashi.

L'analyse du profil de texture et les tests de rupture réalisés sur les caillés, 12 h après leur fabrication ont montré que les caillés préparés avec le lait non homogénéisé étaient plus mous, élastiques et collants, mais moins durs que les caillés préparés avec les laits homogénéisés. Ces différences étaient probablement dues à la différence d'organisation du réseau de protéines et des globules de matière grasse dans les laits et caillés correspondants.

En résumé, ce travail a permis :

- **de décrire la filière laitière dans la région de Maradi à travers l'analyse des systèmes de production, de transformation et de distribution du lait et des produits laitiers, et l'étude des déterminants et habitudes de consommation de ces produits. Ce travail reste cependant à être approfondi.**
- **d'optimiser les conditions physico-chimiques et technologiques d'utilisation de l'extrait coagulant de feuilles de *Calotropis procera* en fabrication fromagère,**
- **d'améliorer les connaissances sur la protéolyse induisant la coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera*,**
- **de caractériser les caillés obtenus par coagulation du lait par l'extrait de feuilles de *Calotropis procera* du point de vue physico-chimique, texturale et microstructurale.**

En plus de l'acquisition de résultats scientifiques originaux, les résultats obtenus dans ce travail pourraient être utilisés pour proposer des solutions de diversification de production aux mini-laiteries locales (transformation du lait local, valorisation des laits de chèvre et de chamelle) et des mesures d'accompagnement en optimisation du procédé de fabrication du fromage wagashi au sein des laiteries et mini-laiteries désirant produire ce fromage au Niger.

## Critiques du travail

Dans la 1<sup>ère</sup> partie de ce travail, nous avons réalisé un échantillonnage aléatoire des individus interrogés dans les 4 enquêtes. Il aurait été intéressant d'équilibrer les échantillons en fonction des sites dans les enquêtes production et transformation, en fonction du genre ou des types de points de vente dans l'enquête distribution ou de l'activité professionnelle dans l'enquête consommation afin de permettre une meilleure exclusion des individus et des modalités dans les analyses uni et multi-variées. La reformulation des questions, en définissant les modalités aurait également permis d'éviter la grande variabilité des réponses et le nombre de réponses manquantes importantes notamment dans les jeux de données distribution et consommation.

Dans la partie technologie fromagère de ce travail, nous avons utilisé des feuilles séchées de *Calotropis procera* pour extraire le coagulant utilisé dans la fabrication des caillés alors que la plupart des auteurs auxquels nous comparions nos résultats utilisaient des parties fraîches de la plante ou le latex pour la fabrication des caillés. L'utilisation du séchage comme moyen de conservation du matériel végétal a pu altérer l'activité de certaines protéases ou diminuer la force du coagulant. Il serait intéressant de comparer l'activité protéolytique du coagulant extrait des feuilles séchées de la plante à celle du coagulant extrait des feuilles fraîches.

Nous avons recherché les facteurs influençant l'activité coagulante de l'extrait végétal en nous basant sur les facteurs influençant l'activité de la chymosine afin de pouvoir comparer nos résultats à ceux rapportés dans la littérature pour l'activité de la chymosine. Il serait toutefois intéressant d'étudier l'influence d'autres facteurs liés à la nature du coagulant tels que l'âge de la plante et des feuilles, l'origine géographique de la plante, la saisonnalité...qui pourraient aussi avoir un impact sur l'activité coagulante de la plante.

Dans ce travail, nous avons majoritairement utilisé une poudre de lait low heat dans la fabrication des caillés. Il serait intéressant de réaliser ces travaux au Niger en utilisant des laits locaux dont les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques sont probablement différentes de celles des laits que nous avons utilisés, et auront certainement des impacts sur la qualité des caillés.

## **Perspectives du travail**

Dans la 1<sup>ère</sup> partie des Résultats et discussion du manuscrit, nous avons présenté une analyse préliminaire des données recueillies au cours des 4 enquêtes réalisées pour étudier la filière laitière dans la région de Maradi. Ce travail mérite d'être poursuivi car une meilleure analyse de la filière permettrait de proposer des mesures d'accompagnement plus adaptées à la dynamique de la filière laitière dans la région. Il serait également intéressant de croiser les données de ces 4 études avec des données sociologiques et ethnolinguistiques afin de mieux comprendre les différences de pratiques d'élevage ou des habitudes de consommation observées en fonction de l'appartenance ethnique des individus.

Une autre perspective de ce travail serait d'isoler les protéases responsables de l'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  au cours de la coagulation du lait par l'extrait végétal et d'étudier l'activité protéolytique de chaque enzyme, les facteurs physico-chimiques influençant cette activité, l'aptitude à l'égouttage des gels et leurs comportements rhéologiques. Il serait alors possible d'utiliser d'autres méthodes rhéologiques ou des appareils plus sensibles tels que le chymographe pour étudier la formation des gels et leurs fermetés.

L'aspect technologie fromagère de ce travail demande à être approfondi à travers : i) l'optimisation de la fermeté du gel et la variation des étapes de découpage, brassage, égouttage et pressage des caillés qui sont des étapes clés dans l'élaboration d'une matrice fromagère et qui en déterminent les caractéristiques texturales et les teneurs en constituants laitiers des caillés, ii) l'ajout de ferments lactiques pour aboutir à une coagulation mixte qui permettrait d'avoir une garantie sanitaire des produits grâce au pH acide généré par les ferments et iii) étudier la conservabilité des caillés en testant différentes températures de stockage, différentes saumures et évaluer l'impact de tels procédés sur les caractéristiques physico-chimiques (lipolyse, protéolyse, pH), texturales et organoleptiques des matrices fromagères.

Ce travail mérite d'être poursuivi au Niger à travers des discussions avec les laiteries locales telles que « Niger lait » ou la Société Laitière du Niger « SOLANI » pour envisager la fabrication d'un produit commercial en commençant par réaliser des essais de fabrication dans une laiterie locale. Cela permettrait d'apprécier la faisabilité logistique (approvisionnement en lait), matérielle (salle de fabrication, cuve, matériel de moulage, etc.), technologique (répétabilité des procédés de fabrications, constance des caractéristiques physico-chimiques des caillés) et économique (rentabilité) d'une telle fabrication. Une dimension d'analyse sensorielle pourrait également être envisagée à travers l'ajout d'étapes dans l'élaboration du produit

(ferments lactiques, salage, arômes) et l'organisation de tests d'évaluation sensorielle du produit à grande échelle pour en évaluer l'acceptabilité par les consommateurs nigériens. Le wagashi est rarement consommé tel quel mais plutôt comme ingrédient dans des préparations culinaires ; il serait donc judicieux d'étudier les propriétés d'usage de la matrice fromagère pour en évaluer le fondant, le filant, le coulant du fromage, etc.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### A

---

Abd El-Gawad, M. A. M., & Ahmed, N. S. (2011). Cheese yield as affected by some parameters: review. *Acta Science Polonarium Technologia Alimentaria*, *10*, 131-153.

Abdulmoniem, M. A., Saadabi, N. M., Ali, H. I., Mohammed, F. N. A., & H. B. M. (2012). An in vitro antimicrobial activity of *Calotropis procera* (Ait). R. Br. extracts on certain groups of pathogenic microorganisms. *Research Journal of Medical Sciences*, *6*, 13-17.

Adegoke, G. O., Nse, E. N., & Akanni, A. O. (1992). Effects of heat, processing time and pH on the microflora, aflatoxin content and storability of "wara", a soft, white cheese. *Die, Nahrung*, *36*, 259-264.

Adetunji, V. O., Alonge, D. O., Singh, R. K., & Chen, J. (2008). Production of wara, a West African soft cheese using lemon juice as a coagulant. *Food Science and Technology*, *41*, 331-336.

Adetunji, V. O., & Babalobi, O. O. (2011). A comparative assessment of the nutritional contents of "wara" a west african soft cheese using *Calotropis procera* and *Cymbopogon citratus* as coagulants, *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, *11*, 5573-5585.

Adetunji, V. O., & Arigbede, M. I. (2011). Occurrence of *E. coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* and identification of hazard analysis critical control points (HACCPs) in production operations of a typical tropic cheese "Wara" and yoghurt. *Pakistan Journal of Nutrition*, *10*, 796-804.

Adetunji, V. O., & Salawu, O. T. (2008). West African soft cheese "wara" processed with *Calotropis procera* and *Carica papaya*: A comparative assessment of nutritional values. *African Journal of Biotechnology*, *7*, 3660-3662.

Adetunji, V. O., & Salawu, O. T. (2010). Efficacy of ethanolic leaf extracts of *Carica papaya* and *Terminalia catappa* as molluscicides against the snail intermediate hosts of schistosomiasis. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*, 2348-2352.

AFNOR, 1971. Lait –Détermination de la teneur en azote – Méthode de Kjeldahl. Norme NF-V 04-211.

AFNOR, 1989. Fromages – Détermination de la teneur en matière grasse – Méthode acido-butyrique de Van Gulik. Méthode de référence. Norme NF V-04-287.<sup>(a)</sup>

AFNOR, 1989. Lait - Détermination des cendres - Méthode de référence. Norme NF V-04-208.<sup>(b)</sup>

Ahmad, N., Anwar, F., Hameed, S., & Boyce, M. C. (2011). Antioxydant and antimicrobial attributes of different solvent extracts from leaves and flowers of *Calotropis procera* (Ait) Ait. F.]. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5, 4879-4887.

Ahmed, I. A. M., Morishima, I., Babiker, A. E., & Mori, N. (2009). Dubiumin, a chymotrypsin-like serine protease from the seeds of *Solanum dubium* fresen. *Phytochemistry*, 70, 483-491.

Akinloye, A M., & Adewumi, O. O. (2014). Effects of local coagulants on the yield of cheese using cow and sheep milk. *International Journal of Development and Sustainability*, 3, 150-161.

Akinyosoye, V. O. (2006). Demand for dairy products in Nigeria: evidence from the Nigerian living standards survey. *Journal of Economics and Rural Development*, 16, 13-26.

Alalade, O. A., & Adeneye, J. A., (2006). The effect of storage period on the chemical composition and coliform microflora of Wara cheese. *International Journal of Dairy Science*, 1, 126-130.

Amri, E., & Mamboya, F. (2012). Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8, 99-104.

Antão, C. M., & Malcata, F. X. (2005). Plant serine proteases: biochemical, physiological and molecular features. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 637-650.

Anywar, G., Oryem-origa, H., & Kamatenesi-mugisha, M. (2014). Antibacterial and antifungal properties of some wild nutraceutical plant species from Nebbi district, Uganda. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 1753-1761.

Arm, M. (2013). Antibacterial activities of different solvent extracts of *Carica papaya* fruit parts on some Gram Positive and Gram Negative organisms. *International Journal of Herbs and Pharmacological Research IJHPR*, 2, 42-47.

Aruljothi, S., Uma, C., Sivagurunathan, P., & Bhuvaneswari, M. (2014). Investigation on antibacterial activity of *Carica papaya* leaf extracts against wound infection-causing bacteria. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 2, 8-12.

Aravind, G., Debjit, B., Duraivel, S., & Harish, G. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1, 007-015.

Arya, S., & Kumar, V. L. (2005). Antiinflammatory efficacy of extracts of latex of *Calotropis procera* against different mediators of inflammation. *Mediators of Inflammation*, 4, 228-232.

Ashaye, O. A., Taiwo, O. O., & Adegoke, G. O. (2006). Effect of local preservative (*Aframomum danielli*) on the chemical and sensory properties of stored warakanshi, 1, 10-16.

Aiton, W. T. (1789). *Calotropis procera* Aiton. Edition Kew, Porto Novo.

Aworh, O. C. (2008). The role of traditional food processing technologies in national development: the West African experience. Dans Robertson, G. L. & Lupien, J. R. (Eds.), *International Union of Food Science & Technology*, Ibadan, Nigeria.

Aworh, O. C., Kasche V., & Apampa O. O. (1994). Purification and some properties of Sodom apple latex proteinases. *Food Chemistry*, 50, 359-362.

Aworh, O. C., & Muller, H. G. (1987). Cheese-making properties of vegetable rennet from sodom apple (*Calotropis procera*). *Food Chemistry*, 26, 71-79.

Aworh, O. C., & Nakai, S. (1988). Extraction of milk clotting enzyme from sodom apple (*Calotropis procera*). *Journal of food science*, 51, 1569-1570.

Aworh, O. C., & Nakai, S. (2007). Technical note: separation of sodom apple proteinases by gel filtration. *International Journal of Food Science & Technology*, 23, 419-423.

Ayeni, A.O., Adeeyo, O. A., & Oresegun, O. M. (2014). The production of Wara from locally sourced coagulants and its nutritional evaluation. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8, 55-57.

## B

---

Babu, A. R. S., & Karki, S. S. (2011). Anti-inflammatory activity of various extracts of roots of *Calotropis procera* against different inflammation models. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 191-194.

Badgujar, B. S., & Mahajan, R. T. (2012). Comparison of cystein proteases of four lactoferous plants and characterization of Euphorbia nivulia Buch. Ham. latex glycosylated cystein peptidase. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3, 152-160.

Badgujar, B. S., & Mahajan, R. T. (2014). Nivulian-II a new milk clotting cystein protease of Euphorbia nivulia. *International Journal of Biological Molecules*, 70, 391-398.

Badmos, A. H. A., Ahmed El Imam, A. M., & Ajiboye, D. J. (2014). The effect of crude leaf extracts of *Moringa oleifera* on the bacterial, nutritional and sensory properties of West African soft cheese. *Wayamba Journal of Animal Science*, 578, 939-946.

Banks, J. M., & Horne, D. S. (2003). Cheeses, chemistry of gel formation. Dans *Encyclopedia of food science and nutrition*, 2<sup>nd</sup> Edition, Academic Press, Massachusetts, USA.

Belewu, M. A. (2001). Nutritional and rheological evaluation of West African soft cheese made from plant coagulant (*Calotropis procera*) during storage. *Journal of Food Technology in Africa*, 6, 93-95.

Belewu, M. A., Belewu, K. Y., & Nkwunonwo, C. C. (2005). Effect of biological and chemical preservatives on the shelf life of West African soft cheese. *African Journal of Biotechnology*, 4, 1076-1079.

Belewu, M. A., Ahmed El Imam, A. M., Adeyeni, K. D., & Oladunjoye, S. A. (2012). Eucalyptus oil and lemon grass oil effect on chemical composition and shelf life of soft cheese. *Environnemental and Natural Resources Research*, 2, 114-118.

Beka, R. G., Krier, F., Botquin, M., Guiama, V. D., Donn, P., Libouga, D. G., & Vercaigne-Marko, D. (2014). Characterisation of a milk-clotting extract from *Balanites aegyptiaca* fruit pulp. *International Dairy Journal*, 34, 25-31.

Bennett, R. J. (2004). General aspects of cheese technology. In *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 2<sup>nd</sup> Edition*, 23-50.

Bidawat, S., Nag, R., & Nag, T. N. (2011). Antimicrobial principles from tissue cultures of *Balanites aegyptiaca*. *Romanian Biotechnological Letters*, 16, 6120-6124.

Bijl, E., van Valenberg, H. J. F., Huppertz, T., & van Hooijdonk, A. C. M. (2013). Protein, casein, and micellar salts in milk : current content and historical perspectives. *Journal of Dairy Science*, 96, 5455-5464.

Bouchoux, A., Gésan-Guiziou, G., Perez, J., & Cabane, B. (2010). How to squeeze a sponge: casein micelles under osmotic stress, a SAXS study. *Biophysical Journal*, 99, 3754–3762.

Boshra, V., & Tajul, A. (2013). Papaya - An innovative raw material for food and pharmaceutical processing industry. *Health and the Environment Journal*, 4, 68-75.

Brulé, G., Lenoir, J., & Remeuf, F. (1997). La micelle de caséine et la coagulation du lait, Dans *Le Fromage*, (Eck A., Gillis J.C. (Eds.), Lavoisier Tec & Doc, Paris.

Brulé, G., Maubois, J. L., & Fauquant, J. (1974). Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait*, 539, 600-615.

Budslawski, J., & Pogorzelski, K. (1964). Fermentation du lactose dans les différentes variétés de fromages. *Le Lait*, 44, 496-505.

## C

---

Cano-Ruiz, M. E., & Richter, R. L. (1997). Effect of homogenization pressure on the milk fat globule membrane proteins. *Journal of Dairy Science*, 80, 2732-2739.

Cayot, P., & Lorient, D. (1998). Structures et technofonctions des protéines du lait. *Lavoisier TEC & DOC*, Paris, France.

Chapagain, B. P., & Wiesman, Z. (2005). Larvicidal activity of the fruit mesocarp extract of *Balanites aegyptiaca* and its saponin fractions against *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin*, 29, 203-207.

Chikpah, S. K, Teye, G. A, Teye, M., & Mawuli, F. F. (2014). Effects of different concentrations of fresh and dried *Calotropis procera* (Sodom Apple) extract on cow milk

coagulating time, cheese yield and organoleptic properties of West African soft cheese (Wagashie). *European Scientific Journal*, 10, 317-326.

Christen, C., & Virasora, E. (1935). Présures végétales, extraction et propriétés. *Le Lait*, 15, 345-363.

Col, S. W. & Brig, V. K. S. (2015). *Calotropis procera* induced ocular toxicity. *Medical Journal armed forces India*, 71, 92-94.

Corniaux, C., Bonfoh, B., Diallo, A., Pocard-Chapuis, R., & Vias, G. (2007). Réseaux de collecte et de distribution du lait dans les villes d'Afriques soudano-sahélienne. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 60, 21-28.

Corredig, M. & Dalgleish, D. G. (1996). Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk. *Food Research International*, 29, 49-55.

Corredig, M. & Dalgleish, D. G. (1999). The mechanisms of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk. *International Dairy Journal*, 9, 233-236.

## D

---

Dalgleish, D. G. (1980). A mechanism for the chymosin-induced flocculation of casein micelles. *Biophysical Chemistry*, 11, 147-155.

Dalgleish, D. G., & Corredig, M. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 449-467.

Dalgleish, D. G., & Law, A. J. R. (1989). pH induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *Journal of Dairy Research*, 56, 727-735.

Dalgleish, D. F., Spagnuolo, P. A., & Goff, H. D. (2004). A possible structure of the casein micelle based on high-resolution field-emission scanning electron microscopy. *International Dairy Journal*, 14, 1025-1031.

Danthine, S., Blecker, C., Paquot, M., Innocente, N., & Deroanne, C. (2000). Evolution des connaissances sur la membrane des globules gras du lait: synthèse bibliographique. *Lait*, 80, 209-222.

Darling, D. F., & Butcher, D. W. (1978). Milk-fat globule membrane in homogenized cream. *Journal of Dairy Ressource*, 45, 197-208.

Daviau, C., Famelart, M-H., Pierre, A., & Goudédranche, J-L. M. (2000). Rennet coagulation of skim milk and curd drainage: effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. *Le Lait*, 80, 397-415.

de Kruif, C. G. (1998). Supra-aggregates of casein micelles as a prelude to coagulation. *Journal of Dairy Science*, 81, 3019-3028.

de Kruif, C. G., & Holt, C. (2003). Casein micelle structure functions and interactions. Dans *Advanced Dairy Chemistry, 3<sup>rd</sup> Edition*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.

de Sardan, J-P. O., & Alou, M. T. (2009). Les pouvoirs locaux au Niger. *Conseil pour le développement de la recherche en sciences sociales en Afrique*, Dakar, Sénégal.

Devaraj, K. B., Kumar, P. R., & Prakash, V. (2008). Purification, characterization, and solvent-induced thermal stabilization of ficin from *Ficus carica*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56, 11417-11423.

Diouf, L., Mallaye, N., Mbengue, M., Kane, A., & Diop, A. (2012). *Carica papaya* leaves: a substitute for animal rennet in cheese-making tradition. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, 2, 517-523.

Donato, L., Guyomarc'h, F. (2009). Formation and properties of the whey protein/ $\kappa$ -casein complexes in heated skim milk-a review. *Dairy Science and Technology*, 39, 3-29.

Donato, L., Guyomarc'h, F., Amiot, S., & Dalgleish, D. G. (2007). Formation of whey protein/ $\kappa$ -casein complexes in heated milk: preferential reaction of whey protein with  $\kappa$ -casein in the casein micelles. *International Dairy Journal*, 17, 1161-1167.

Dossou, J., Karel, M. J., Serge, L., Laurent, A. G. D., & Sylvanus, O. (2016). Procédé amélioré de conservation et de stabilisation du fromage Peulh par l'effet combiné du traitement thermique et du conditionnement sous-vide. *European Scientific Journal*, 12, 189-209.

Dubey, V. K., & Jagannadham, M. V. (2003). Procerain, a stable cysteine protease from the latex of *Calotropis procera*. *Phytochemistry*, 62, 1057-1071.

## E

---

Eck, A., & Gillis., J-C. (1997). *Le Fromage. 3<sup>ème</sup> Edition, Lavoisier TEC & DOC*, Paris, France.

El Kholy, A. M. (2015). The use of artichoke (*Cynara scolymus*, L.) extracts for the production of Tallaga cheese. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 4, 34-41.

Ettelaie, R., Khandelwal, N., & Wilkinson, R. (2014). Interactions between casein layers adsorbed on hydrophobic surfaces from self consistent field theory:  $\kappa$ -casein *versus* para-casein. *Food Hydrocolloids*, 34, 236-246.

Everard, C. D., O'Callaghan, D. J., Mateo, M. J., O'Donnell, C. P., Castillo, M., & Payne, F. A. (2008). Effects of cutting intensity and stirring speed on syneresis and curd losses during cheese manufacture. *Journal of Dairy Science*, 91, 2575-2582.

## F

---

Faccia, M., Picariello, G., Trani, A., loizzo, P., Gambacorta, G., Lamacchia, C., & Di Luccia A. (2012). Proteolysis of Cacioricotta cheese made from goat milk coagulated with capfig (*Ficus carica* Sylvestris) or calf rennet. *European Food Research and Technology*, 234, 527-533.

Farid, B. M., F., Lamine, B. M., Hyacinthe, A., Bokosso, I., Capo, C. B., Toukourou, F., & Sanni, A. (2007). Propriétés coagulantes de *Calotropis procera* et ses possibilités d'utilisation en industrie agro-alimentaire. *Sciences et Medecine*, 5, 007-012.

Fellow, I. (2004). Word cloud. *R package version 2.5*.

Fleming, A., Schenkel, F. S., Chen, J., Malchiodi, F., Ali, R. A., Mallard, B., Sargolzaei, M., Corredig, M., & Miglior, F. (2017). Variation of fat globule size in bovine milk and its production using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 100, 1640-1649.

Fox, P. F., & Brodkorb, A. (2008). The caseinmicelle: historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18, 677-684.



Fox, P. F., & McSweeney, P. L. H. (1998). Dairy chemistry and biochemistry. *1<sup>st</sup> Edition*, Cork, Ireland.

Fox, P. F. & McSweeney, P. L. H. (2004). Cheese chemistry, physics and microbiology, *2<sup>nd</sup> Edition*, Academic Press, London, UK.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2004). Cheese: chemistry, physics and microbiology. *1<sup>st</sup> Edition*. Academic Press, London, UK.

Freitas, C. D., Oliveira, J. S., Miranda, M. R., Macedo, N. M., Sales, M. P., Villas-Boas, L. A., & Ramos, M. V. (2007). Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*, 781-789.

Freitas, C. D. T., Oliveira, J. S., Miranda, M. R. A., Macedo, N. M. R., Sales, M. P., Villas-Boas, L. A., & Ramos, M. V. (2007). Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*, 781-789.

## G

---

Gagaoua, M., Ziane, F., Rabah, N. S., Boucherba, N., El-Okki, A. A-K. E-H., Bouanane-Darenfed, A., & Hafid, K. (2017). Three phase partitioning, a scable method for the purification and recovery of cucumisin, a milk-clotting enzyme from the juice of *Cucumis melo* var. *reticulatus*. *International Journal of Biological Molecules*, *102*, 515-525.

Garba, M. M., Marichatou, H., Issa, M., Abdoul Aziz, M. L., & Hanzen, C. (2013.) Tractus génital des vaches zébu (*Bos indicus*) au Niger. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, *66*, 136-142.

Garnier, J., & Ribadeau-Dumas, B. (1970). Structure of the casein micelle. A proposed model. *Journal of Dairy Research*, *37*, 493-504.

Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. *Reproduction Nutrition Development*, *45*, 473-483.

Gaucheron, F., Mollé, D. & Pannetier, R. (2001). Influence of pH on the heat-induced proteolysis of casein molecules. *Journal of Dairy Research*, *68*, 71-80.

Ghosh, B. C., Steff, A., Hinrichs, J., & Kessler, H. G. (1994). Rennet-ability of whole milk homogenized before or after homogenization. *Milchwissenschaft*, *49*, 363-367.

Giroux, H. J., Lanouette, G., & Britten, M. (2015). Effect of whey proteins aggregates of various sizes on the formation and properties of rennet-induced gels. *Food Hydrocolloids*, 45, 272-278.

Gonzalez-Jordan, A., Thomar, P., Nocolai, T., & Dittmer, J. (2015). The effect of pH on the structure and phosphate mobility of casein micelles in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 51, 88-94.

Green, M. L., Marshall, R. J., & Glover, F. A. (2009). Influence of homogenization of concentrated milks on the structure and properties of rennet curds. *Journal of Dairy Research*, 50, 341-348.

Guinee, T. P., Feeney, E. P., Auty, M. A. E., & Fox, P. F. (2002). Effect of pH and calcium concentration on some functional and textural properties of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 85, 1655-1669.

Gupta, S., Gupta, B., Kapoor, K., 1 Sharma, P. (2012). Ethnopharmacological potential of *Calotropis Procera*: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 3, 19-22.

Gour, V. S., & Kant, T. (2012). *Balanites aegyptiaca* Del.: a multipurpose and potential, *International Journal of Science and Nature*, 3, 472-475.

Grimaneza, T., Ana, R. A., M. Salomé, P., & Alda, C. (2000). Enzymes of *Opuntia ficus indica* (L.) Miller with potential industrial applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 88, 299-310.

## H

---

Heimgartner, U., Pietrzak, M., Geertsen, R., Brodelius, P., Da Silva, A. C., & Pais M. S. S. (1990). Purification and partial characterization of milk-clotting proteases from flowers of *Cynara cardunculus*. *Phytochemistry*, 29, 1405-1410.

Henstra, S., & Schmidt, D. G. (1970). On the structure of the fat-protein complex in homogenized cow's milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 24, 45-51.

Hashim, M. M, Mingsheng, M., Iqbal, M. F., & Xiaohong, C. (2011). Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cystein protease. *Phytochemistry*, 72, 458-464.<sup>(a)</sup>

Hashim, M. M, Iqbal, M. F., & Chen, Li. (2011). Ginger protease used as coagulant enhances

the proteolysis and sensory quality of Peshawari cheese compared to calf rennet. *Dairy Science and Technology*, 91, 431-440. <sup>(b)</sup>

Holt, C. (1997). The milk salts and their interaction with casein. Advanced dairy chemistry - Lactose, water, salts and vitamins. 3<sup>rd</sup> Edition, Chapman & Hall, Londres, 233-256.

Holt, C., & Horne, D. S. (1996). The hairy casein micelle: Evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 50, 85-111.

Horne, D. S. (2008). Casein micelle structure and stability. In Milk proteins: from expression to food. Academic Press, New York, 133-162.

Huang, X. W., Chen, L. J., Luo, H. Y., & Ren, F. Z. (2010). Purification characterization, and milk clotting coagulating properties of ginger proteases. *Journal of Dairy Science*, 94, 2259-2269.

Humbert, G., Driou, A., Guerin, J., & Alais, C. (1980). Effets de l'homogénéisation à haute pression sur les propriétés du lait et son aptitude à la coagulation enzymatique. *Le Lait*, 60, 574-594.

Husson, F., Lê, S., & Pagès, J. (2011). Exploratory multivariate analysis by example using R. CRC. Boca Raton Press, Florida, USA.

## I

---

Ibama, E., & Griffiths, M. W. (1987). Studies on milk coagulating enzymes calotropain, obtained from Sodom apple (*Calotropis procera*). *Journal of Food and Agriculture*, 1, 157-162.

IDF. (1964). Détermination de la teneur en cendres des fromages fondus. Norme internationale FIL-IDF, 27A.

IDF. (1982). Fromages et fromages fondus – Détermination de l'extrait sec total – Méthode de référence. Norme internationale FIL-IDF 4A.

IDF. (1987). Lait, crème et lait concentré non sucré – Détermination de la matière sèche – Méthode de référence FIL-IDF 21B.

IDF. (1993). Lait – Détermination de la teneur en azote – Détermination de la teneur en azote non protéique. Norme internationale FIL-IDF, 20B.

IDF. (1997). Lait et produits laitiers – Détermination de la teneur en matière grasse – Guide de directives générales appliquées aux méthodes butyrométriques. Norme Internationale FIL-IDF 152A.

INS. (2012). Enquête démographique et de santé à indicateurs multiples. Niamey, Niger.

Isam, A. M. A., Elfadil E. B., & Nobuhiro, M. (2010). pH stability and influence of salts on activity of a milk-clotting enzyme from *Solanum dubium* seeds and its enzymatic action on bovine caseins. *Food Science and Technology*, 43, 759-764.

Isam, A. M. A., Elfadil E. B., & Nobuhiro M. (2014). Purification and characterization of milk-clotting enzyme from *Solanum dubium* seeds. Agricultural and Veterinary Research, 5<sup>th</sup> Conference.

Isaura, S. & Carlos, F. (2004). Structure and function of plant aspartic proteases. *European Journal of Biochemistry*, 271, 2067-2075.

Issa, A. R., Gounga, E. M., Garric, G., Harel-Oger, M., Leduc, A., Jardin, J., Briard-Bion, V., Cauty, C., Adakal, H., Grongnet. J-F., & Gaucheron, F. (2017). Physico-chemical characterization of dairy gel obtained by a proteolytic extract from *Calotropis procera* – A comparison with chymosin. *Food Chemistry*, 232, 405-412.

## J

---

Jana, A. H. & Upadhyay, K. G. (1992). Homogenization of milk for cheesemaking-a review. *Australian Journal of Dairy Technology*, 47, 72-79.

Jeanetet, R., Croguennec, T., Garric, G., & Brulé, G. (2014). Initiation à la technologie fromagère. 2<sup>ème</sup> édition, *Lavoisier TEC & DOC*, 33-34.

Joseph, J. K., & Akinyosoye, F. A. (1997). Comparative studies on red sorghum extracts and other chemicals as preservatives for west african soft cheese. *International Dairy Journal*, 7, 193-198.

Jovanovic, S., Macej, O., & Djurdjevic, J. D. (2002). The influence of various factors on milk clotting time. *Journal of Agricultural Sciences*, 47, 57-73.

## K

---

- Kahsay, T., Mulugeta, A., & Unnithan, C. R. (2014). Antioxidant and Antibacterial Activities of *Balanites aegyptiaca* delil from Northern Ethiopia, *American Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 416-422.
- Kala, C. P. (2012). Leaf juice of *Carica papaya L.*: A remedy of dengue fever. *Medicinal & Aromatic Plants*, 1, 1-2.
- Kamsagara, B. D., Parigi, R. K., & Vishweshwaraiah P. (2008). Purification, characterization and solvent-induced thermal stabilization of ficin from *Ficus carica*. *Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11417-114233.
- Kaneda, M., & Tominaga, N. (1975). Isolation and characterization of a proteinase from the sarcocarp of melon fruit. *Journal of Biochemistry*, 78, 1287-1296.
- Kareem, S. O., Akpan, I., & Ojo, O. P. (2008). Antimicrobial activities of *Calotropis procera* on selected pathogenic microorganisms. *African Journal Biomedical Research*, 11, 105-110.
- Kawo, A. H., Mustapha, A., Abdullahi, B. A., Rogo, L. D., Gaiya, Z. A., & Kumurya, A. S. (2009). Phytochemical properties and antibacterial activities of the leaf and latex extracts of *Calotropis procera* (Ait.F.). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2, 34-40.
- Keenan, T. W., Moon, T. W., & Dylewski, D. P. (1983). Lipid globules retain globule membrane material after homogenization. *Journal of Dairy Science*, 66, 196-203.
- Kelly, A. L., Huppertz, T., & Sheehan, J. J. (2008). Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Science and Technology*, 88, 549-572.
- Kheir, S. E. O., El Owni, O. A. O., & Abdalla, M. O. M. (2011). Comparison of quality of sudanese white cheese (Gibna Bayda) manufactured with *Solanum dubium* fruit extract and rennet. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10, 106-111.
- Khetireddipalli, P., Hill, A. R., & Dalgleish, D. G. (2010). Protein interactions in heat-treated milk and effect on rennet coagulation. *International Dairy Journal*, 20, 838-843.
- Kra, K. A. S., Megnanou, R. M., Saki, S. J., Ackpa, E. E., & Assidjo, N. E. (2009). Amélioration du rendement de la technique traditionnelle de production fromagère peulh par l'utilisation

appropriée d'extraits foliaires de *Calotropis procera*. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 13, 213-223.

Krishna, K. L., Paridhavi, M., & Patel, J. A. (2008). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* linn.). *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 7, 364-373.

Kumar Dubey, V., & Jagannadham, M. V. (2003). Procerain, a stable cysteine protease from the latex of *Calotropis procera*. *Phytochemistry*, 62, 1057-1071.

Kumar, V. L., & Shivkar, Y. M. (2004). Involvement of prostaglandins in inflammation induced by latex of *Calotropis procera*. *Mediators of Inflammation*, 13, 151-155.

Kumari, M., Sharma, A., & Jagannadham, M. V. (2012). Decolorization of crude latex by activated charcoal, purification and physico-chemical characterization of religiosin, a milk-clotting serine protease from the latex of *Ficu religiosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 8027-8034.

Kumari, M., Sharma, A., & Jagannadham, M. V. (2010). Religiosin B, a milk clotting serine protease from *Ficus religiosa*. *Food chemistry*, 131, 1295-1303.

Kumawat, B. K., Gupta, M., Chand, T., & Singh, Y. (2012). Preliminary phytochemical investigation on leaves of *Balanites aegyptiaca* (L.) Delile. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3, 762-768.

## L

---

Lagaude, A., Fernandez, L., Cuq, J-L., & Marchesseau, S. (2004). Characterization of curd formation during the rennet coagulation of milk by an optical microscopic method. *International Dairy Journal*, 14, 1033-1039.

Law, A., & Tamime, A. Y. (2010). Technology of cheesemaking. 2<sup>nd</sup> Edition. Wiley-Blackwell. New Jersey, United States.

Lawal, A. K., & Adedeji, O. M. (2013). Nutritional and elemental analysis of warakansi (fermented milk product) sold in Lago metropolis. *International Research Journal of Biotechnology*, 4, 112-116.

Lakshmi, K. K., Prasenjit, M., Somnath, D., Soma J., S., & Aneela, K. S. (2012). Evaluation of anthelmintic activity of *Carica papaya* latex using *Pheritima Posthuma*. *International Journal of Life Science and Pharma Research*, 2, 010-012.

Le Graet, Y., & Brûlé, G. (1993). Les équilibres minéraux du lait: influence du pH et de la force ionique. *Lait*, 73, 51-60.

Lê, S., & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*, 25, 1-18.

Libouga, D. G., Vercaigne-Marko, D., Longa Djangal, S., Choukambou, I., Ebangi Messine Ombionyo, A. L., Beka, R. G., & Guillochon, D. (2006). Mise en évidence d'un agent coagulant utilisable en fromagerie dans les fruits de *Balanites aegyptiaca*. *Tropicultura*, 24, 229-238.

Llorente, B. E., Christiana B. B., & Caffini N. O. (2004). Purification and characterisation of a milk-clotting proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 8182-8189.

Lopez, C., Cauty, C., & Guyomarc'h, F. (2015). Organization of lipids in milks, infant milk formulas and various dairy products: role of technological processes and potential impacts. *Dairy Science and Technology*, 95, 863-893.

Lopez, C., & Dufour, E. (2001). The composition of the milk fat globule surface alters the structural characteristics of the coagulum, *Journal of Colloid and Interface Science*, 249, 241-249.

Lopez, C., Madec, M. N., & Jimenez-Flores, R. (2010). Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. *Food Chemistry*, 120, 22-33.

Lucey, J. A., & Singh, H. (1998). Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, 30, 529-542.

## M

---

MacCarthy, O. J., & Singh, H. (2009). Physico-chemical properties of milk. *In Advanced Dairy Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Edition, New Zealand.

Mahajan, R. T., & Badgajar, S. B. (2010). Biological aspects of proteolytic enzymes : a review. *Journal of Pharmacy Research*, 3, 2048-2068.

Mahajan, R. T., & Chaudhari, G. M. (2014). Plant latex as vegetable source for milk clotting enzymes and their use in cheese preparation, *International Journal of Advanced Research*, 2, 1173-1181.

Mahami, T., Ocloo, F., & Odonkor, S. (2012). Preliminary study on the influence of moringa seed extracts supplementation on the yield and quality of cottage cheese. *International Journal of Recent Trends in Science And Technology*, 2, 4-8.

Mainassara, M. M., Aliero, B. L., Aliero, A. A., & Yakubu, M. (2012). Phytochemical and antibacterial properties of root and leaf extracts of *Calotropis procera*. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 20, 001-006.

Maisarah, A., Nurul Amira, B., Asmah, R., & Fauziah, O. (2013). Antioxidant analysis of different parts of *Carica papaya*. *International Food Research Journal*, 20, 1043-1048.

Malgorzata G., & Barbara Z., (2004). Multifunctional role of plant cystein proteinases. *Acta Biochimica Polinica*, 51, 609-624.

Malik, H., Dong, M., Muhammad, I., & Chen, L. (2011). Ginger protease used as coagulant enhances the proteolysis and sensory quality of Peshawari cheese compared to calf rennet. *Dairy Science and Technology*, 91, 431-440. <sup>(a)</sup>

Malik, M. H., Dong, M., Muhammad, F. I., & Chen, X. (2011). Ginger rhizome as a potential source of milk coagulating cysteine protease. *Phytochemistry*, 72, 458-464. <sup>(b)</sup>

Marchin, S., Putaux, J-L., Pignon, F., & Léonil, J. (2007). Effects of the environmental factors on the casein micelle structure studied by cryo transmission electron microscopy and small angle x-ray scattering/ultrasmall angle x-ray scattering. *The Journal of Chemical Physics*, 126, 045-101.

Maria, J. S., & Malcata, F. X. (2002). Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several species. *Lait*, 82, 151-170.



- Marichatou, H., Mamane, L., Banoin, M., & Baril, G. (2002). Performances zootechniques de caprins au Niger: cas de la chèvre rousse de Maradi et de la chèvre à robe noire dans la zone de Maradi. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 55, 79-84.
- Marichatou, H., Kore, H., Motcho, H. K., & Vias, G. (2005). Synthèse bibliographique sur les filières laitières au Niger. *Réseau de recherche et d'échanges sur les politiques laitières*, Niamey, Niger.
- Martins, S. I. F. S., Jongen, W. M. F., & van Boekel, M. A. J. S. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 364-373
- Maubois, J-L., Lenoir, J., Remeuf, F., & Schneid, N. (1997). Dans *Le Fromage*, Eck, A., & Gillis, J-C. 3<sup>ème</sup> Edition, Lavoisier TEC & DOC, Paris, France.
- Maxcy, R. B., Pirce, W. V., & Irvine, D. M. (1955). Improving curd-forming properties of homogenized milk. *Journal of Dairy Science*, 38, 80-86.
- Mayba, G. S., Parthipan, B., Kingston, C., & Mohan, V. R. (2011). Anti-inflammatory activity of aerial part of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del against carrageenan induced paw oedema. *International Journal of PharmTech Research*, 3, 639-643.
- Mazou, M., Tchobo, F. P., Degnon, R. G., Mensah, G. A., & Mohamed, M. (2012). Effect of temperature and salt on the quality of waragashi cheese during storage in Benin Republic. *African Journal of Food Science*, 6, 494-499.
- McMahon, D. J., & Oommen, B. S. (2008). Supramolecular structure of casein micelle. *Journal of Dairy Science*, 91, 1709-1721.
- Mekmene, O., Le Graët, Y., & Gaucheron, F. (2009). A model for predicting salt equilibria in milk and mineral-enriched milks. *Food Chemistry*, 116, 233-239.
- Metzger, L. E., & Barbano, D. M. (2000). Effect of milk preacidification on low fat Mozzarella cheese. I. Composition and yield. *Journal of Dairy Science*, 83, 648-658.
- Michalski, M-C., Gassi, J-Y., Famelart, M-H., Leconte, N., Camier, B., Michel, F., & Briard, V. (2003). The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties

of Camembert cheese. *Lait*, 83, 131-143.

Michalski, M-C., & Januel, C. (2006). Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? *Trends in Food Science & Technology*, 17, 423-437.

Mietton, B. (1991). Transformation du lait en fromage. Dans de Roissart, H. & Luquet, F. M. *Les bactéries lactiques, Edition Lorica, Volume 2, Uriage, France.*

Mietton, B., Gaucheron, F., & Salaun-Michel, F. (2008). Minéraux et transformations fromagères. Dans Minéraux et produits laitiers. *Tec & Doc, Paris.*

Milind, P. (2011). Basketful benefits of papaya. *International Journal of Pharmacy*, 2, 06-12.

Ministère de l'élevage. (2014). Atlas sur l'élevage au Niger. *Tome 1. Niamey, Niger.*

Ministère de l'élevage. (2013). Stratégie de développement durable de l'élevage (SDDEL 2013-2035). Niamey, Niger.

Mollé, D., & Léonil, J. (1995). Heterogeneity of the bovine kappa-caseinomacropptide resolved by liquid chromatography on-line with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 708, 223-230.

Moni, K., Anurag ,S., & Jagannadham, M. V. (2012). Religiosin B, a milk-clotting serineprotease from *Ficus religiosa*. *Food Chemistry*, 131, 1259-1303.

Monti, R., Basilio, C. A., Trevisan, H. C., & Contiero, J. (2000). Purification of papain from fresh latex of *Carica papaya*. *Brazilian Archives of Biology and Biotechnology*, 43, 501-507.

Moro, L. P., Cabral, H., Okamoto, D. N., Hirata, I., Juliano, M. A., Juliano, L., & Bonilla, G. O. R. (2013). Characterization, subsite mapping and N-terminal sequence of miliin, a serine-protease from the latex of *Euphorbia milii*. *Process Biochemistry*, 48, 633-637.

Mossa, J. S., Tariq, M. A., Mohsin A. M., Ageel, M. A., Al-Yahya, M. S., Al-Said, S., & Rafatullah, S. (1991). Pharmacological studies on aerial parts of *Calotropis procera*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 19, 223-231.

Mouaimine, M., Fidèle, P. T., René, G. D., Guy, A. M., & Mohamed, M. S. (2012). Effect of temperature and salt on the quality of waragashi cheese during storage in Benin Republic. *African Journal of Food Science*, 6, 494-499.

Murti, Y., Singh, A. P., & Pathak, D. (2013). In vitro anthelmintic & cytotoxic potential of different extracts of *Calotropis procera* leaves. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6, 14-16.

## N

---

Najera, I. A., de Renobales, M., & Barron, L. J. R. (2003). Effects of pH, temperature, CaCl<sub>2</sub> and enzyme concentrations, on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chemistry*, 80, 345-352.

Naveed, A., Farooq, A., Sohail, A., & Mary, C. B. (2011). Antioxidant and antimicrobial attributes of different solvent extracts from leaves and flowers of akk [*Calotropis procera* (Ait.) Ait. F.]. *Journal of Medicinal plants*, 5, 4879-4887.

Nouani, A., Dako, E., Morsil, A., Belhamiche, N., Belbraout, S., Bellal, M. M. & Dadi, A., (2009). Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the Fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *Journal of Food Technology*, 7, 020-029.

## O

---

O'Connor, C. B. (1993). Traditional Cheesemaking Manual. *International Livestock Center for Africa*, Addis Abeba, Ethiopia.

Ogundiwin, J. O., & Oke, O. L. (1983). Factors affecting the processing of wara - a Nigerian white cheese. *Food Chemistry*, 11, 1-13.

Ojedapo, L. O., Tona, G. O., Amao, S. R. & Adeneye, J. A. (2014). Yield composition and coagulation time of unsalted and salted soft cheese prepared from the milk of white Fulani cows. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3, 378-388.

Okeniyi, J. A. O., Ogunlesi, T. A., Oyelami, O. A., & Adeyemi, L. A. (2007). Effectiveness of dried *Carica papaya* seeds against human intestinal parasitosis: a pilot study. *Journal of Medicinal Food*, *10*, 194-196.

Okia, C. A., Kwetegyeka, J., Okiror, P., Kimondo, J. M., Teklehaimanot, Z., & Obua, J. (2013). Physico-chemical characteristics and fatty acid profile of desert date kernel oil. *African Crop Science Journal*, *21*, 723-734.

Oladipo, I. C., & Jadesimi, P. D. (2013). Microbiological analysis and nutritional evaluation of West African soft cheese ( wara ) produced with different preservatives. *American Journal of Food and Nutrition*, *10*, 13-21.

Omotosho, O. E., Oboh, G., & Iwaela, E. E. J. (2011). Comparative effects of local coagulants on the nutritive value, *in vitro* multienzyme protein digestibility and sensory properties of Wara cheese. *International Journal of Dairy Science*, *6*, 058-065.

Ono, T., & Obata, T. (1989). A model for the assembly of bovine casein micelles from F2 to F3 subunits. *Journal of Dairy Research*, *56*, 453-461.

Otsuki, N., Dang, N. H., Kumagai, E., Kondo, A., Iwata, S., & Morimoto, C. (2010). Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *Journal of Ethnopharmacology*, *127*, 760-767.

Oseni, O. A. & Ekperegin, M. M. (2013). Partial characterization of proteolytic and milk clotting enzymes in the plant of Sodom apple *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Asclepiadaceae plant. *International Journal of Biotchnology research*, *1*, 024-027. <sup>(a)</sup>

Oseni, O. A. & Ekperegin, M. M. (2013). Distribution of proteolytic and milk clotting enzymes on Sodom apple *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. Asclepiadaceae plant. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, *3*, 256-263. <sup>(b)</sup>

## P

---

Pandey, P. K., Ramaswamy, H. S., & St-Gelais, D. (2003). Evaluation of pH change kinetics during various stages of Cheddar cheese-making from raw, pasteurized, micro-filtered and high-pressure-treated milk. *Swiss Society of Food Science and Technology*, *36*, 497-506.

Parry, R. M., & Carroll, R. J. (1969). Location of  $\kappa$  casein in milk micelles. *Biochimica et Biophysica Acta*, 194, 138-150.

Patel, M. C., Lund, D. B., & Olson, N. F. (1972). Factors affecting syneresis of renneted milk gels. *Journal of Dairy Science*, 55, 913-918.

Patil, S. D., Ahale, S. V., & Surana, S. J. (2011). Evaluation of antiasthmatic and antianaphylactic activity of *Balanites aegyptiaca* (delile). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4, 52-55.

Payens, T. A. J. (1966). Association of caseins and their possible relation to structure of the casein micelle. *Journal of Dairy Science*, 49, 594-600.

Peter, J. K., Kumar, Y., Pandey, P., & Masih, H. (2014). Antibacterial activity of seed and leaf extract of *Carica Papaya* var. Pusa dwarf Linn. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9, 29-37.

Pezeshki, A., Hesari, J., Ahmadi, A. Z., & Ghambarzadeh, B. (2011). Purification and biochemical characterization of a novel protease streblin. *Food Chemistry*, 125, 1005-1012.

Phadungath, C. (2005). Casein micelle structure: a concise review. *Journal of Science and Technology*, 27, 202-2012.

Pinky, T. Ritu T., & Jagannadham, M. V., Zeshki, A., Hesari, J., Ahmadi, A. Z. & Ghambarzadeh, B. (2011), Influence of *Withania coagulans* protease as a vegetable rennet on proteolysis of Iranian UF white cheese. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13, 567-576.

Pons, M., & Fiszman, S. M. (1996). Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture studies*, 27, 597-624.

Post, A. E., Arnold, B., Weiss, J., & Hinrichs, J. (2012). Effect of temperature and pH on the solubility of caseins: environmental influences on the dissociation of  $\alpha_s$  and  $\beta$ -casein. *Journal of Dairy Science*, 95, 1603-1616.

---

## R

Raginee, V., Satsangi, G. P., & Shrivastava, J. N. (2010). Ethno-medicinal profile of different plant parts of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. *Ethnobotanical leaflets*, 14, 721-42.

Ramet, J. P., & Scher, J. (1997). Propriétés physiques du coagulum. Dans *Le fromage. Lavoisier TEC & DOC*, (3<sup>ème</sup> édition), Paris, France.

Ramos, M. V., Araujo, E. S., Jucu, T. L., Monteiro-Moreira, A. C. O., Vasconcelos, I. M., Moreira, R. A., Viana, C. A., Beltramini, L. M., Pereira, D. A. & Moreno, F. B. (2013). New insights into the complex mixture of latex cysteine peptidases in *Calotropis procera*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, 211-219.

Rashmi, Singh, K. P., & Arya, S. (2011). Phytochemical profile and evaluation of insecticidal efficacy of *Calotropis procera* against defoliators. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5(31), 6738-6743.

Reyhaneh, S., Javad, M., & Mohammad, A. J. (2014). The effect of *Withania coagulans* as a coagulant on the quality and sensorial properties of tofu. *African Journal of Food Science*, 8, 112-115.

Robert, G. B., François, K., Magil, B., Valentin, D. G., Pauline, D., David, G. L., Carl, M. M., Krasimir, D., Marie-Christine, S., Didier, G., & Dominique, V.M. (2014). Characterization of a milk clotting extract from *Balanites aegyptiaca* fruit pulp. *International Dairy Journal* 34, 025-031.

Rohit S., Gulab S. T., Bhagwan S. S., Sanodiya A. S., Ashish S., Mukeshwar P., Anjana S. & Prakash S. B. (2012). Therapeutic potential of *Calotropis procera*: a giant milkweed. *Journal of Pharmacy and Biological Science*, 4, 042-057.

Rolle, L., Siret, R., Segade, S. R., Maury, C., Gerbi, V., & Jourjon, F. (2012). Instrumental texture analysis parameters as markers of table-grape and winegrape quality: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63, 11-28.

Roseiro, L. B., Barbosa, M., Ames, J. M., & Wilbey, R. A. (2003). Cheesemaking with vegetable coagulants - The use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 56, 76-85.

Rudan, M. A., Barbano, D. M., Guo, M. R., & Kindstedt, P. S. (1998). Effect of the modification

of fat particle size by homogenization on composition, proteolysis, functionality, and appearance of reduced fat Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 2065-2076.

## S

---

Saboo, S. S., Chavan, R. W., & Tapadiya, G. G. (2014). An important ethnomedicinal plant *Balanite aegyptiaca* Del. *American Journal of Ethnomedicine*, 1, 122-128.

Sagna, M. B., Diallo, A., Sarr, P. S., Ndiaye, O., Goffner, D., & Guisse, A. (2014). composition and nutritional value of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del fruit pulps from Northern Ferlo in Senegal, *African Journal of Biotechnology Biochemical*, 13, 336-342.

Sana, E. O. K., El Owni, O. A. O., & Abdalla, M. O. M. (2011). Comparison of quality of Sudanese white cheese (Gibna bayda) manufactured with *Solanum dubium* fruit extract and rennet. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10, 106-111.

Sandra, S., Alexander, M., & Dalglish, D. G. (2012). Effect of soluble calcium on the renneting properties of casein micelles as measured by rheology and diffusing wave spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 95, 75-82.

Sandra, S., Alexander, M., & Dalglish, D. G. (2007). The rennet mechanism coagulation of skim milk as observed by transmission diffusing wave spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 308, 364-373.

Shah, M. A., Mir, S. A., & Paray, M. A. (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: a review. *Dairy Science and Technology*, 94, 5-16.

Shahid, M., Jahan, N., Shahzad, A., Sahai, A., Sharma, S., & Parveen, S. (2012). Antimicrobial potential of *Balanites Aegyptiaca* (L.) Del , *Stevia Rebaudiana* (Bert.) Bertonii, *Tylophora Indica* (Burm. f.), and *Cassia Sophera*. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2, 63-69.

Sharma, A., Kumari, M., & Jagannadham, M. V. (2012). Religiosin C, a cucumisin-like serine protease from *Ficus religiosa*. *Process Biochemistry*, 47, 914-921.

Sharma, A. K., Kharb, R., & Kaur, R. (2011). Pharmacognostical aspects of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 480-488.

- Sharma, R., Thakur, G. S., Sanodiya, B. S., Savita, A., Pandey, M., Sharma, A., & Bisen, P. S. (2012). Therapeutic potential of *Calotropis procera* : A giant milkweed. *Journal of Pharmacy and Biological Science*, 4, 42-57.
- Shamkaant, B.B., & Raghunat T.M. (2012). Comparison of cysteine proteases of four lactiferous plants and characterization of *Euphorbia nivulia* Buch.-Ham latex glycosylated cysteine peptidase. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 3, 152-160.
- Schmidt, D. (1982). Association of caseins and casein micelle structure. In *Developments in Dairy Chemistry, 1<sup>st</sup> Edition*, Applied Science Publishers Ltd, New York, USA.
- Shreiber, R. (2001). Heat-induced modifications in casein dispersions affecting their rennetability. *International Dairy Journal*, 11, 553-558.
- Shuck, P., Piot, M., Méjean, S., Fauquant, J., Brulé, G., & Maubois, J. L. (1994). Déshydratation des laits enrichis en caséines micellaire par microfiltration ; comparaison des propriétés des poudres obtenues avec celles d'une poudre de lait ultra-propre. *Lait*, 74, 47-63.
- Simões, I., & Faro, C. (2004). Structure and function of plant aspartic proteinases. *European Journal of Biochemistry*, 271, 2067-2075.
- Singh, A. N., & Dubey, V. B. (2011). Exploring applications of procerain B, a novel protease from *Calotropis procera*, and characterization by N-terminal sequencing as well as peptide mass fingerprinting. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164, 573-580.
- Singh, H., & Gallier, S. (2017). Nature's complex emulsion: the fat globules of milk. *Food Hydrocolloids*, 68, 81-89.
- Singh, A. N., Jagannadham, M. V., & Dubey, V. K. (2010). Purification of a novel cysteine protease, procerain B, from *Calotropis procera* with distinct characteristics compared to Procerain. *Process Biochemistry*, 45, 399-406.
- Singh, A. N., Yadav, P., & Dubey, V. K. (2013). C DNA cloning and molecular modeling of procerain B, a novel cysteine endopeptidase isolated from *Calotropis procera*. *PLOS ONE*, 8, 59-80.



Silva, S. V., & Malcata, F. X. (1998). Proteolysis of ovine caseins by Cardosin A, an aspartic acid proteinase from *Cynara cardunculus* L. *Le Lait*, 78, 513-519.

Sousa, M. J., & Malcata, F. X. (2002). Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Lait*, 82, 151-170.

Sow, S. (2010). Wagashi : dynamique linguistique et socio-culturelle de l'invention d'un fromage peul dans la savane et la forêt ouest-africaine. *Culture des laits du monde dans Cahier de l'OCHA N°15*, Paris, France.

Sudesh, G., Bhawana, G., Karishma, K., & Pooja, S. (2012). Ethnopharmacological potential of *Calotropis procera*: an overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 3, 19-22.

Suresh, A. R. B., & Karki, S. S. (2011). Anti-inflammatory activity of various extracts of roots of *Calotropis procera* against different inflammation models. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3, 191-194.

## T

---

Tatsayeb, P., Snehal, P., Anuprita, P., & Shreedevi, P. (2014). *Carica papaya* leaf extract-an ethno medicinal boon. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6, 260-265.

Team, R. C. (2017). R a language and environmental for statistical computing. Vienna, Austria.

Teixeira, G., Santana, A. R., Pais, M. S., & Clemente, A. (2000). Enzyme of *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller with potential industrial applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 88, 299-312.

Trejo, R., Dokland, T., Jurat-Fuentes, J., & Harte, F. (2011). Cryo-transmission electron tomography of native casein micelles from bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 94, 5770-5775.

Tripathi, P., Tomar, R., & Jagannadham, V. (2011). Purification and biochemical characterization of a novel cystein protease streblin. *Food Chemistry*, 125, 1005-1012.

Tula, M. Y., Danchal, T. B., Iruolaje, F. O., & Onyeje, G. A. (2014). Studies on phytochemical constituents and antibacterial potentials of extracts of *Balanites aegyptiaca* (Del.) parts on antibiotic resistant bacterial isolates. *European Journal of Medicinal Plants*, 4, 854-864.

Tunick, M. H. (2000). Rheology of dairy foods and gel, stretch, and fracture. *Journal of dairy science*, 83, 1892-1898.

## U

---

Udabage, P., McKinnon, I. R., & Augustin, M. A. (2001). Effects of mineral salts and calcium chelating agents on the gelation of renneted skim milk. *Journal of Dairy Science*, 84, 1569-1575.

Umar, K. J., Abubakar, L., Alhassan, B., Yahaya, S. D., Hassan, L. G., Sani, N. A., & Muhammad, M. U. (2014). Nutritional profile of *Balanites aegyptiaca* flower. *Studia Universitatis*, 24, 169-173.

## V

---

van Boekel, M. A. J. S. (1998). Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry*, 4, 403-414.

Van der Hoorn, R. A. L. (2008). Plant proteases: from phenotypes to molecular mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 191-223.

Verissimo, P., Faro, C., Moir, A. J., Lin, Y., Tang, J., Pires, E. (1996). Purification, characterization and partial amino acid sequencing of two new aspartic proteinases from fresh flowers of *Cynara cardunculus* L. *European Journal of Biochemistry*, 235, 762-768.

Vias, G., & Banzhaf, M. (2008). Etude de l'impact de la hausse des cours du lait et des produits laitiers sur les producteurs consommateurs-Etude de cas du Niger. *Aliment terre*, Luxembourg, Belgique.

## W

---

Waikar, S., & Srivastava, V. K. (2015). *Calotropis procera* induced ocular toxicity. *Medical Journal Armed Forces India*, 71, 92-94.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. (2006). Dairy Science and Technology. *Taylor and Francis Group*, Boca Ranton, USA.

Walstra, P., & Jenness, R. (1984). Dairy chemistry and physics. 1<sup>st</sup> Edition, New York, USA.

Wickham, H. (2009). ggplot2: Elegant graphic for data analysis. Springer-Verlag, New York, USA.

## Y

---

Yang, L., Yang, Q., Yi, M., Pang, Z. H., & Xiong B. H. (2013). Effects of seasonal change and parity on raw milk composition and related indices in Chinese Holstein cows in Northern China. *Journal of Dairy Science*, 96, 6863-6869.

Yazid, A. M., Fong, H. M., Sipat, A. B., Shuhaimi, M. & Idris, Y. M. A. (1999). Proteolysis of milk and casein fractions by *Streblus asper* (Kesinai) extract. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2, 654-659.

Yogiraj, V., Goyal, P. K., Chauhan, C. S., Goyal, A., & Vyas, B. (2014). *Carica papaya* Linn: an overview. *International Journal of Herbal Medicine*, 2, 1-8.

## Z

---

Zamora, A., Ferragut, V., Guamis, B. & Trujillo, A. J. (2012). Changes in the surface protein of the fat globules during ultra-high pressure homogenisation and conventional treatments of milk. *Food Hydrocolloids*, 29, 135-143.

Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P. D., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2007). Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 90, 13-23.

Zobrist, M. R., Huppertz, T., Uniacke, T., Fox, P. F., & Kelly, A. L. (2004). High-pressure-induced changes in the rennet coagulation properties of bovine milk. *International Dairy Journal*, 15, 655-662.



---

## Annexes

---

### *Annexe 1. Questionnaire d'enquête adressé aux producteurs*

#### GUIDE D'ENTRETIEN PRODUCTEURS (ELEVEURS)

1-Site :

2-Sexe :

3-Appartenance ethnique :

4-Appartenance à une association d'éleveurs :

5-Niveau d'instruction : Primaire                      Secondaire                      Lycée                      Aucun

          Cours d'alphabétisation                      Ecole coranique                      Autre :

6-Mode d'acquisition du troupeau : Achat                      Héritage                      Don                      Entretien

7-Type d'élevage pratiqué : Transhumant                      Semi-intensif                      Intensif

8-Effectif du troupeau :

    Bovins (préciser les races) :

    Ovins :

    Caprins (préciser les races) :

    Camelins :

9-Nombre de femelles laitières bovines (préciser les races):

10-Alimentation des femelles laitières (préciser les produits et les espèces végétales utilisées)

11-Gestion de la ressource lait (précisez les proportions exemple 1, 1/2, 1/3, 1/4)

Consommation      Vente      Don      Transformation      Alimentation animale

Autre (préciser) :

12-Prix de vente du litre de lait frais:

Saison Froide :

Saison Chaude :

Saison Pluvieuse :

13-Raisons du choix du site :

Pâturage

Source d'eau

Marché

Autres :

14-Activités pratiquées en dehors de l'élevage (préciser l'activité):

15-Problèmes rencontrés :

*Annexe 2. Questionnaire d'enquête adressé aux transformateurs*

**GUIDE D'ENTRETIEN TRANSFORMATEURS**

1-Site :

2-Sexe/Age :

3-Région d'origine : Maradi                      Autre (préciser) :

4-Niveau d'instruction : Primaire              Secondaire              Lycée              Aucun

Cours d'alphabétisation              Ecole coranique              Autre :

5- Nature du capital : Fonds propres              Prêt              Crédit bancaire

6-Nombre de personnes employées :

Hommes :

Femmes :

7-Année du début des activités (ou période):

8-Caractérisation de l'unité de transformation : Laiterie              Minilaiterie              « Individuelle »

9-Raisons du choix de la filière :

10-Matière première transformée :

Lait en poudre                      Lait frais                      Lait en poudre + Lait frais

11-Quantité de matière transformée par jour :

-Lait en poudre :

-Lait frais :

12-Nature des produits obtenus après transformation :

13-Prix de vente des produits laitiers :

Lait caillé à base de lait frais de vache (1/2 tiya):

Lait caillé à base de poudre de lait (1/2 tiya):

Motte de beurre frais de vache (unité):

Feuille de « tchoukou » (unité):

Yaourt liquide :

Lait frais pasteurisé :

14-Type de coagulant utilisé en fromagerie (si production de fromage):

Présure (extrait de caillette de cabris)

Extrait végétal (préciser le végétal utilisé et prendre un échantillon)

15-Produits utilisés pour le caillage du lait :

-Lait en poudre :

-Lait frais de vache :

16-Problèmes rencontrés :

17-Autres activités pratiquées (préciser la nature de l'activité):

18-Perspectives d'amélioration :

-Diversification des produits (préciser le produit)

-Extension

-Recrutement de personnel

-Formations

19-Besoin de formation :



*Annexe 3. Questionnaire d'enquête adressé aux distributeurs*

## GUIDE D'ENTRETIEN DISTRIBUTEUR

1-Etes-vous :

Distributeur Transformateur et Distributeur

2-Type de distribution :

En gros En détails

3-Type de dépôt :

Magasin Boutique Marché  
 Entreprise

4-Autre activité pratiquée :

5-Mode d'acquisition des produits

Livraison Achat auprès des grossistes Emprunt auprès des grossistes

6-Nature des produits laitiers distribués :

Produits artisanaux

-Lait caillé
-Beurre frais
-Beurre fondu
-Fromage
-Lait frais

Produits frais locaux

-Yaourt nature
-Yaourt aromatisé
-Dégué
-Crème glacé
-Lait pasteurisé

Produits importés

-Lait en poudre
.Conditionné .En vrac
-Lait concentré
-Beurre
-Yaourt en pot
-Lait UHT
-Fromage fondu
-Fromage affiné
-Lait aux fruits

7-Prix des produits :

Types de produits	Produits	Prix d'achat en FCFA	Prix de vente en FCFA
Artisanaux	Lait frais de vache (1l)		
	Lait caillé (tiya)		
	Beurre frais (motte)		
	Beurre fondu		
	Fromage tchoukou		
Industriels importés	Lait UHT (1l)		
	Lait en poudre (kg)		
	Lait en poudre conditionné (500g)		
	Lait concentré sucré (1 kg)		

	Lait concentré non sucré (200g)		
	Beurre doux (300g)		
	Beurre salé (300g)		
Industriels locaux	Lait pasteurisé (300ml)		
	Yaourt aromatisé (sachet 200ml)		
	Yaourt aromatisé (bidon 500ml)		
	Dégué (500ml)		
	Crème glacée (500g)		

8-Mesures de conservation des produits :

Types de produits	Produits	Moyen de conservation	Température	Durée de conservation
Artisanaux	Lait frais (1 l)			
	Lait caillé (tiya)			
	Beurre frais (motte)			
	Beurre fondu			
	Fromage Tchoukou			
Industriels importés	Lait UHT (1l)			
	Lait en poudre (kg)			
	Lait en poudre conditionné (500g)			
	Lait concentré sucré (1 kg)			
	Lait concentré non sucré (200g)			
	Beurre doux (300g)			
	Beurre salé (300g)			
Industriels locaux	Lait pasteurisé (300ml)			
	Yaourt aromatisé (sachet 200ml)			
	Yaourt aromatisé (bidon 500ml)			
	Dégué (500ml)			
	Crème glacée (500g)			

9-En cas de péremption, que faites-vous des produits ?

Destruction  
familiale

Commercialisation

Consommation

Liquidation avant date limite

Don

10-A combien peut s'élever la vente de produits laitiers par jour? (Montant en FCFA)

11-Pouvez-vous estimer les quantités vendues ?

Types de produits	Produits	Unités	Quantités vendues par jour
Artisanaux	Lait frais	Litre	
	Lait caillé	Tiya	
	Beurre frais	Motte	
	Beurre fondu	Litre	
	Fromage Tchoukou	Feuille	
Industriels importés	Lait UHT	Litre	
	Lait en poudre	Kilogramme	
	Lait en poudre conditionné	Paquet	
	Lait concentré sucré	Boite	
	Lait concentré non sucré	Boite	
	Beurre doux	Rectangle	
Beurre salé	Rectangle		

Industriels locaux	Lait pasteurisé	Sachet	
	Yaourt aromatisé	Sachet	
	Yaourt aromatisé	Bidon	
	Dégué	Bidon	
	Crème glacée	Pot	

12-Pourquoi avez-vous choisis de vendre des produits laitiers ?

Forte demande          Grande rentabilité          Accessibilité de la marchandise Culture

13- Quels problèmes rencontrez-vous sur la commercialisation des produits laitiers ?

Mévente          Conservation          Approvisionnement          Faible rentabilité

14-Identité du répondant :

Age (en années) :

Sexe :

Masculin

Féminin

Appartenance ethnique :

Quartier de résidence :

Formation :

Numéro de téléphone :

15-Packaging des produits (Renseigner à l'aide des informations figurants sur les emballages):

Produits artisanaux	Produits	Contenant	Conditionnement à la vente	Conditionnement à l'achat
	Lait frais			
Lait caillé				
Beurre frais				
Beurre fondu				
Fromage Tchoukou				

Types de produits	Produits	Nature du contenant	Contenant recyclable ?	Composition du produit	Apport nutritionnel	Conditions de conservation	Date de péremption
Industriels importés	Lait UHT						
	Lait en poudre						
	Lait en poudre conditionné						
	Lait concentré sucré						
	Lait concentré non sucré						
	Beurre doux						
	Beurre salé						
Industriels locaux	Lait pasteurisé						
	Yaourt aromatisé						
	Dégué						
	Crème glacée						

*Annexe 4. Questionnaire d'enquête adressé aux consommateurs*

**GUIDE D'ENTRETIEN CONSOMMATEUR**

1-Consommez-vous du lait ou des produits laitiers ?

Oui

Non

Si NON, pourquoi ?

Intolérance

Allergie

Aime pas

Culture

Faible pouvoir d'achat

Autre

2-Quel type de produits laitiers consommez-vous ?

Produits	Fréquences et quantités		
	Régulièrement (3 à 4 fois par semaine)	Souvent (1 à 2 fois par semaine)	Jamais
Lait frais de vache			
Lait frais de chèvre			
Lait caillé de vache			
Lait caillé de chèvre			
Lait pasteurisé ou UHT			
Beurre frais			
Beurre fondu			
Fromage Tchoukou			
Fromage fondu			
Autre fromage*			
Lait en poudre			
Lait concentré sucré			
Lait concentré non sucré			
Yaourt liquide			
Dégué			
Crème glacée			
Autres			

3-Pourquoi consommez-vous ces produits ?

Bienfaits Santé

Culture

Plaisir

Autre :

4-Comment vous les procurez-vous ?

Achat

Don

Production personnelle

5-Où vous procurez vous ces produits ?

En boutique

En super marché

A domicile

Au marché

6-Vous vous approvisionnez pour vous ou votre famille ?

Pour moi

Pour ma famille :

Nombre d'enfants dans la famille :

-Moins de 2 ans :

-Moins de 5 ans :

-Moins de 12 ans :

-Plus de 15 ans :

7-Quels sont vos critères de choix ?

Caractéristiques organoleptiques

Faible coût

Valeur nutritionnelle

Publicité

Autres :

8-Comment et quand consommez-vous ces produits ?

	Matin	Midi	Soir	Seul	Accompagnement (Préciser accompagnement)
Lait frais (de vache)					
Lait frais (de chèvre)					
Lait caillé (de vache)					
Lait caillé (de chèvre)					
Lait pasteurisé					
Lait UHT					
Beurre frais					
Beurre fondu					
Fromage Tchoukou					

Fromage fondu					
Autre fromage*					
Lait en poudre					
Lait concentré sucré					
Lait concentré non sucré					
Yaourt liquide					
Dégué					
Autre :					

9-Comment conservez-vous ces produits ?

	Glacière	Réfrigérateur	Congélateur	Humidité canari	Milieu ambiant
Lait frais					
Lait caillé					
Lait pasteurisé					
Lait UHT					
Beurre frais					
Beurre fondu					
Fromage Tchoukou					
Fromage fondu					
Autre fromage*					
Lait en poudre					
Lait concentré sucré					
Lait concentré non sucré					
Yaourt liquide					
Dégué					
Autre :					

\* : Précisez le type de fromage

11-Que pensez-vous de la qualité des produits que vous consommez ?

-Qualité organoleptique : Excellente                      Bonne                      Assez bonne  
Médiocre

-Apport santé : Excellent                      Bon                      Assez bon                      Médiocre

-Cout : Acceptable                      Elevé                      Très accessible

-Disponibilité : Tout le temps                      Périodique                      Inexistant

12-Désirez-vous consommer un produit laitier non encore disponible sur le marché ?

Oui

Non

Lequel ?

14-Identité du consommateur :

-Age :

-Sexe :

-Appartenance ethnique :

-Niveau d'instruction :

-Métier :

Fonctionnaire contractuelle

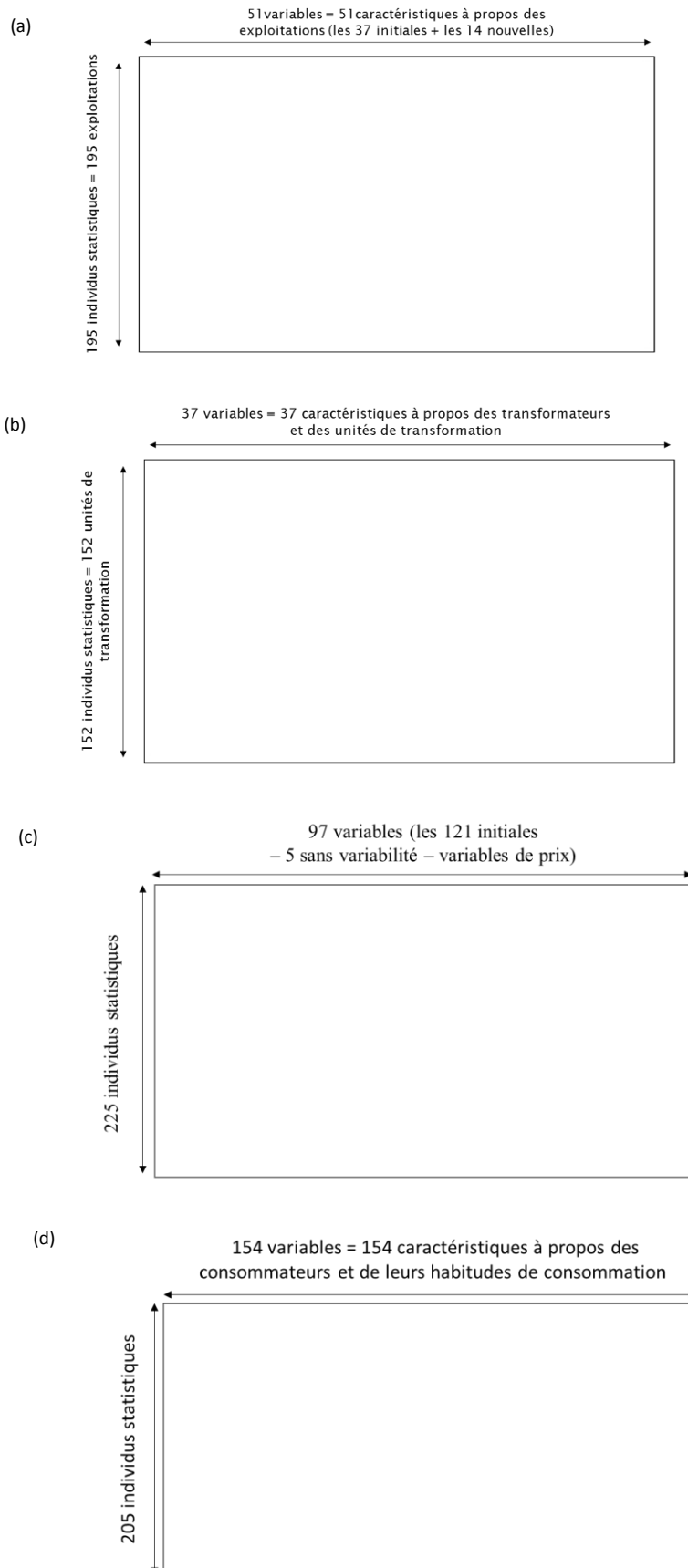
Fonctionnaire catégorie    A            B            C

Autre :

-Quartier de résidence :

-Numéro de téléphone :

**Annexe 5. Format des jeux de données producteurs (a), transformateurs (b), distributeurs (c) et consommateurs (d) utilisés pour l'ACM.**





**Annexe 6. Modes de traitement des différentes variables pour l'ACM dans les jeux de données producteurs (a), transformateurs (b), distributeurs (c) et consommateurs (d).**

(a).

Variable	Type		
Choix.site.Source.eau	active	Autre.activite	active
Choix.site.Paturage	active	Alim.Vaches	active
Choix.site.Agriculture	active	Problemes	active
Choix.site.Residence	active	Type.site	illustrative-quali
Choix.site.Service	active	Nom.groupement	illustrative-quali
Choix.site.Marche	active	Genre	illustrative-quali
Tranche.Taille.Troupeau	active	Niveau.Instruction	illustrative-quali
Tranche.Pourcentage.Bovins	active	Assoc.Eleveurs	illustrative-quali
Race.Bovins	active	Ethnie	illustrative-quali
Tranche.Pourcentage.Ovins	active	Tranche.Prix.Lait.Saison.chaude	illustrative-quali
Race.Ovins	active	Tranche.Prix.Lait.Saison.froide	illustrative-quali
Tranche.Pourcentage.Caprins	active	Tranche.Prix.Lait.Saison.pluvieuse	illustrative-quali
Race.Caprins	active	Taille.Troupeau	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Camelins	active	Pourcentage.Bovins	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.VachesLaitieres	active	Pourcentage.Ovins	illustrative-quant
Acquisition.Heritage	active	Pourcentage.Caprins	illustrative-quant
Acquisition.Entretien	active	Pourcentage.Camelins	illustrative-quant
Acquisition.Don	active	Pourcentage.VachesLaitieres	illustrative-quant
Acquisition.Achat	active	Pourcentage.Lait.Auto.conso	illustrative-quant
Pratique.Elevage	active	Pourcentage.Lait.Vente	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Lait.Auto.conso	active	Pourcentage.Lait.Don	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Lait.Vente	active	Pourcentage.Lait.Transformation	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Lait.Don	active	Pourcentage.Lait.Alim.animale	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Lait.Transformation	active	Prix.Lait.Saison.chaude	illustrative-quant
Tranche.Pourcentage.Lait.Alim.animale	active	Prix.Lait.Saison.froide	illustrative-quant
		Prix.Lait.Saison.pluvieuse	illustrative-quant

(b).

variable	type		
Transfo.Lait.poudre	active	Raison.choix	illustrative-quali
Transfo.Lait.frais	active	Autre.activite	illustrative-quali
Quant.Lait.poudre	active	Persp.amelioration	illustrative-quali
Quant.Lait.frais.Sseche	active	Nouveau.prod	illustrative-quali
Quant.Lait.frais.Spluie	active	Besoin.formation	illustrative-quali
Fab.Lait.caille.nature	active	Problemes	illustrative-quali
Fab.Lait.cailleLP	active	Nb.employes	illustrative-quant
Fab.Beurre	active	Duree.activite	illustrative-quant
Fab.Fromage	active	Quant.Lait.poudre_quant	illustrative-quant
Fab.Yaourt.liquide	active	Quant.Lait.frais.Sseche_quant	illustrative-quant
Fab.Lait.frais	active	Quant.Lait.frais.Spluie_quant	illustrative-quant
Fab.Degue	active	Prix.Lait.caille.nat	illustrative-quant
Coagulant.Presure	active	Prix.Lait.caille	illustrative-quant
Coagulant.Vegetal	active	Prix.Beurre.frais	illustrative-quant
Type.site	illustrative-quali	Prix.Beurre.fondu	illustrative-quant
Sexe	illustrative-quali	Prix.Fromage	illustrative-quant
Age	illustrative-quali	Prix.Creme.glacee	illustrative-quant
Niveau.instruction	illustrative-quali	Prix.Yaourt.liquide	illustrative-quant
Capital	illustrative-quali	Prix.Lait.frais	illustrative-quant
Type.transfo	illustrative-quali	Prix.Degue	illustrative-quant

(c).

Variable	Type		
Vente.Art.Lait.frais	active	TConserv.Art.Tchoukou	illustrative-quali
Vente.Art.Lait.caille	active	TConserv.Loc.Yaourt.aromat	illustrative-quali
Vente.Art.Beurre.frais	active	TConserv.Loc.Yaourt.nature	illustrative-quali
Vente.Art.Beurre.fondu	active	TConserv.Loc.Degue	illustrative-quali
Vente.Art.Tchoukou	active	TConserv.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali
Vente.Loc.Yaourt.aromat	active	TConserv.Ind.Lait.poudre	illustrative-quali
Vente.Loc.Yaourt.nature	active	TConserv.Ind.Lait.concentre	illustrative-quali
Vente.Loc.Degue	active	TConserv.Ind.Beurre	illustrative-quali
Vente.Loc.Creme.glacee	active	TConserv.Ind.Yaourt	illustrative-quali
Vente.Ind.Lait.poudre	active	TConserv.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali
Vente.Ind.Lait.concentre	active	TConserv.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali
Vente.Ind.Beurre	active	DConserv.Art.Lait.frais	illustrative-quali
Vente.Ind.Yaourt	active	DConserv.Art.Lait.caille	illustrative-quali
Vente.Ind.Lait.UHT	active	DConserv.Art.Beurre.frais	illustrative-quali
Vente.Ind.Fromage.fondu	active	DConserv.Art.Tchoukou	illustrative-quali
Nom.quartier	illustrative-quali	DConserv.Loc.Yaourt.aromat	illustrative-quali
Age	illustrative-quali	DConserv.Loc.Yaourt.nature	illustrative-quali
Sexe	illustrative-quali	DConserv.Loc.Degue	illustrative-quali
Niveau.instruction	illustrative-quali	DConserv.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali
Ethnie	illustrative-quali	DConserv.Ind.Lait.poudre	illustrative-quali
Type.depot	illustrative-quali	DConserv.Ind.Lait.concentre	illustrative-quali
Type.distribution_en.gros	illustrative-quali	DConserv.Ind.Beurre	illustrative-quali
Type.distribution_en.details	illustrative-quali	DConserv.Ind.Yaourt	illustrative-quali
Mode.acquisition_grossistes	illustrative-quali	DConserv.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali
Mode.acquisition_prod.perso	illustrative-quali	DConserv.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali
Mode.acquisition_livraison	illustrative-quali	Mesure.peremption	illustrative-quali
Conserv.Art.Lait.frais	illustrative-quali	Raison.choix.activite_fte.demande	illustrative-quali
Conserv.Art.Lait.caille	illustrative-quali	Raison.choix.activite_gde.rentabilite	illustrative-quali
Conserv.Art.Beurre.frais	illustrative-quali	Raison.choix.activite_access.marchandise	illustrative-quali
Conserv.Art.Beurre.fondu	illustrative-quali	Raison.choix.activite_culture	illustrative-quali
Conserv.Art.Tchoukou	illustrative-quali	Probleme_mevente	illustrative-quali
Conserv.Loc.Yaourt.aromat	illustrative-quali	Probleme_conserv	illustrative-quali
Conserv.Loc.Degue	illustrative-quali	Probleme_appro	illustrative-quali
Conserv.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali	Probleme_fble.rentabilite	illustrative-quali
Conserv.Ind.Lait.poudre	illustrative-quali	Estim.Vente.jour	illustrative-quali
Conserv.Ind.Lait.concentre	illustrative-quali	Quantite.Vente.Art.Lait.frais	illustrative-quali
Conserv.Ind.Beurre	illustrative-quali	Quantite.Vente.Art.Lait.caille	illustrative-quali
Conserv.Ind.Yaourt	illustrative-quali	Quantite.Vente.Art.Beurre.frais	illustrative-quali
Conserv.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali	Quantite.Vente.Art.Beurre.fondu	illustrative-quali
Conserv.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali	Quantite.Vente.Art.Tchoukou	illustrative-quali
TConserv.Art.Lait.frais	illustrative-quali	Quantite.Vente.Loc.Yaourt.aromat.sachet	illustrative-quali
TConserv.Art.Lait.caille	illustrative-quali	Quantite.Vente.Loc.Yaourt.aromat.bidon	illustrative-quali
TConserv.Art.Beurre.frais	illustrative-quali	Quantite.Vente.Loc.Yaourt.nature	illustrative-quali
TConserv.Art.Beurre.fondu	illustrative-quali	Quantite.Vente.Loc.Degue	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.carton	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.vrac	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Lait.concentre	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Beurre	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Yaourt	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali
		Quantite.Vente.Ind.Fromage.affine	illustrative-quali

(d).

Variable	Type		
Conso.Art.Lait.frais	active	Moment.Ind.Lait.poudre.Midi	illustrative-quali
Conso.Art.Lait.caille.Chevre	active	Moment.Ind.Lait.poudre.Soir	illustrative-quali
Conso.Art.Lait.caille.Vache	active	Moment.Ind.Lait.poudre.Jamais	illustrative-quali
Conso.Art.Beurre.frais	active	Moment.Ind.Lait.concentre.Matin	illustrative-quali
Conso.Art.Beurre.fondu	active	Moment.Ind.Lait.concentre.Midi	illustrative-quali
Conso.Art.Tchoukou	active	Moment.Ind.Lait.concentre.Soir	illustrative-quali
Conso.Art.Wagashi	active	Moment.Ind.Lait.concentre.Jamais	illustrative-quali
Conso.Loc.Yaourt.aromat	active	Moment.Ind.Beurre.Matin	illustrative-quali
Conso.Loc.Yaourt.nature	active	Moment.Ind.Beurre.Jamais	illustrative-quali
Conso.Loc.Degue	active	Moment.Ind.Yaourt.Matin	illustrative-quali
Conso.Loc.Creme.glacee	active	Moment.Ind.Yaourt.Jamais	illustrative-quali
Conso.Ind.Lait.poudre	active	Moment.Ind.Lait.UHT.Matin	illustrative-quali
Conso.Ind.Lait.concentre	active	Moment.Ind.Lait.UHT.Midi	illustrative-quali
Conso.Ind.Beurre	active	Moment.Ind.Lait.UHT.Soir	illustrative-quali
Conso.Ind.Yaourt	active	Moment.Ind.Lait.UHT.Jamais	illustrative-quali
Conso.Ind.Lait.UHT	active	Moment.Ind.Fromage.fondu.Matin	illustrative-quali
Conso.Ind.Fromage.fondu	active	Moment.Ind.Fromage.fondu.Jamais	illustrative-quali
Nom.quartier	illustrative-quali	Accomp.Art.Lait.frais	illustrative-quali
Age	illustrative-quali	Accomp.Art.Lait.caille	illustrative-quali
Sexe	illustrative-quali	Accomp.Art.Beurre.frais	illustrative-quali
Niveau.Instruction	illustrative-quali	Accomp.Art.Beurre.fondu	illustrative-quali
Activite	illustrative-quali	Accomp.Art.Tchoukou	illustrative-quali
Ethnie	illustrative-quali	Accomp.Loc.Yaourt.aromat	illustrative-quali
Raison.Conso.Bienfaits.sante	illustrative-quali	Accomp.Loc.Yaourt.nature	illustrative-quali
Raison.Conso.Culture	illustrative-quali	Accomp.Loc.Degue	illustrative-quali
Raison.Conso.Plaisir	illustrative-quali	Accomp.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali
Raison.Conso.Autre	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Pain	illustrative-quali
Acquisition.Achat	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Riz	illustrative-quali
Acquisition.Don	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Gari	illustrative-quali
Acquisition.Prod.perso	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Tapioka	illustrative-quali
Acquisition.Marche	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Lipton	illustrative-quali
Acquisition.Boutique	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Cafe	illustrative-quali
Acquisition.Super.marche	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Seul	illustrative-quali
Acquisition.Domicile	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.The	illustrative-quali
Choix.organo	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Bouillie	illustrative-quali
Choix.Faible.cout	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Biscuit	illustrative-quali
Choix.Valeur.nut	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Mil	illustrative-quali
Choix.Publicite	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Couscous	illustrative-quali
Choix.Autre	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.poudre.Pate.mais	illustrative-quali
Achat.Ind	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Pain	illustrative-quali
Achat.Famille	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Tapioka	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.frais.Matin	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Aucun	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.frais.Midi	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.The	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.frais.Soir	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Boisson	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.frais.Jamais	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Cafe	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.caille.Matin	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Lipton	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.caille.Midi	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Pate.mais	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.caille.Soir	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Seul	illustrative-quali
Moment.Art.Lait.caille.Jamais	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.concentre.Gari	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.frais.Matin	illustrative-quali	Accomp.Ind.Beurre	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.frais.Midi	illustrative-quali	Accomp.Ind.Yaourt	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.frais.Soir	illustrative-quali	Accomp.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.frais.Jamais	illustrative-quali	Accomp.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.fondu.Matin	illustrative-quali	Conserv.Art.Lait.frais	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.fondu.Midi	illustrative-quali	Conserv.Art.Lait.caille	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.fondu.Soir	illustrative-quali	Conserv.Art.Beurre.frais	illustrative-quali
Moment.Art.Beurre.fondu.Jamais	illustrative-quali	Conserv.Art.Beurre.fondu	illustrative-quali
Moment.Art.Tchoukou.Matin	illustrative-quali	Conserv.Art.Tchoukou	illustrative-quali
Moment.Art.Tchoukou.Midi	illustrative-quali	Conserv.Loc.Yaourt.aromat	illustrative-quali
Moment.Art.Tchoukou.Soir	illustrative-quali	Conserv.Loc.Yaourt.nature	illustrative-quali
Moment.Art.Tchoukou.Jamais	illustrative-quali	Conserv.Loc.Degue	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.aromat.Matin	illustrative-quali	Conserv.Loc.Creme.glacee	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.aromat.Midi	illustrative-quali	Conserv.Ind.Lait.poudre	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.aromat.Soir	illustrative-quali	Conserv.Ind.Lait.concentre	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.aromat.Jamais	illustrative-quali	Conserv.Ind.Beurre	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.nature.Matin	illustrative-quali	Conserv.Ind.Lait.UHT	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.nature.Midi	illustrative-quali	Conserv.Ind.Fromage.fondu	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.nature.Soir	illustrative-quali	Perception.qualite.organo	illustrative-quali
Moment.Loc.Yaourt.nature.Jamais	illustrative-quali	Perception.Apport.sante	illustrative-quali
Moment.Loc.Degue.Matin	illustrative-quali	Perception.Cout	illustrative-quali
Moment.Loc.Degue.Midi	illustrative-quali	Perception.Dispo	illustrative-quali
Moment.Loc.Degue.Soir	illustrative-quali	Desir.Nouveau.prod	illustrative-quali
Moment.Loc.Degue.Jamais	illustrative-quali	Type.Nouveau.prod	illustrative-quali
Moment.Loc.Creme.glacee.Midi	illustrative-quali	Nb.Enf.0a2	illustrative-quali
Moment.Loc.Creme.glacee.Soir	illustrative-quali	Nb.Enf.3a5	illustrative-quali
Moment.Loc.Creme.glacee.Jamais	illustrative-quali	Nb.Enf.6a12	illustrative-quali
Moment.Ind.Lait.poudre.Matin	illustrative-quali	Nb.Enf.plus15	illustrative-quali

**Annexe 7. Résultats des tests univariés sur la caractérisation de la variable « type de site » des producteurs. Seules les caractéristiques associées à une p value < 0,05 sont présentées.**

*Les modalités des variables en bleu sont surreprésentées dans les groupes et celles des variables en rouge sont sous-représentées par rapport aux observations faites sur la globalité de échantillons.*

\$test.chi2	p.value	df
Nom.groupement	5.870471e-60	38
Race.Caprins	1.131504e-22	8
Problemes	1.347120e-13	22
Assoc.Eleveurs	7.772023e-13	2
Race.Bovins	1.571543e-10	8
Alim.Vaches	1.943013e-09	16
Autre.activite	2.686637e-05	16
Race.Ovins	1.018251e-03	8
Ethnie	1.064053e-03	6
Acquisition.Heritage	3.874553e-03	2
Acquisition.Achat	8.303914e-03	2
Choix.site.Residence	3.477055e-02	2

\$quanti.var	Eta2	P-value
Prix.Lait.Saison.froide	0.52504890	3.098055e-11
Prix.Lait.Saison.chaude	0.51342103	6.799602e-11
Pourcentage.Lait.Vente	0.19337186	1.098103e-09
Pourcentage.Lait.Transformation	0.17657591	7.940771e-09
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	0.41202433	2.448267e-08
Pourcentage.Lait.Alim.animale	0.11784458	5.920118e-06
Pourcentage.Lait.Auto.conso	0.09730354	5.395191e-05
Pourcentage.Ovins	0.05061719	6.829215e-03

### Caractéristiques des producteurs (et des élevages) du site pastoral

Quali				
	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Assoc.Eleveurs=Non	55	37	2.862e-17	8.452
Race.Caprins=Sahelienne	80	62	2.296e-14	7.632
Alim.Vaches=Paille	27	18	9.323e-08	5.339
Race.Bovins=Azawak	22	15	3.060e-06	4.666
Race.Bovins=Delleji	52	42	2.017e-05	4.262
Ethnie=Touareg	18	12	5.266e-05	4.043
Problemes=Sante.animale	16	11	0.000	3.822
Acquisition.Achat=Oui	22	16	0.001	3.250
Autre.activite=Petit.commerce	9	6	0.007	2.692
Race.Ovins=Non.deter	23	18	0.008	2.647
...				
Autre.activite=Aucune	36	43	0.007	-2.665
Acquisition.Achat=Non	78	84	0.001	-3.250
Problemes=Couloir.passage	0	4	9.872e-05	-3.893
Race.Ovins=Oudah	15	256	4.447e-06	-4.589
Ethnie=Peulh	72	81	5.570e-08	-5.432
Problemes=Aire.paturage	0	9	3.116e-10	-6.293
Alim.Vaches=Residu.culture	6	19	2.743e-10	-6.312
Race.Bovins=Bororo	21	40	2.696e-14	-7.612
Assoc.Eleveurs=Oui	45	63	2.862e-17	-8.452
Race.Caprins=Rousse	1	22	2.107e-24	-10.194

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Lait.Auto.conso	4.344	47	41	31	28	1.396e-05
Pourcentage.Ovins	-2.462	28	30	18	18	0.013
Pourcentage.Lait.Transformation	-4.150	29	35	28	29	3.315e-05
Pourcentage.Lait.Alim.animale	-4.593	0	1	1	4	4.355e-06
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	-8.335	305	370	130	150	7.694e-17
Prix.Lait.Saison.froide	-9.469	315	405	135	190	2.803e-21
Prix.Lait.Saison.chaude	-9.542	350	460	150	240	1.397e-21

### Caractéristiques des producteurs (et élevages) du site périurbain

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Race.Caprins=Rousse	73	22	5.535e-21	9.398
Assoc.Eleveurs=Oui	100	63	3.262e-12	6.965
Race.Bovins=Bororo	77	40	2.197e-09	5.982
Alim.Vaches=Residu.culture	44	19	2.867e-06	4.680
Ethnie=Peulh	100	81	7.776e-06	4.471
Race.Ovins=Oudah	46	26	0.000	3.513
Acquisition.Heritage=Oui	96	81	0.001	3.152
Problemes=Abreuvement	8	2	0.003	2.935
Autre.activite=Aviculture	1	2	0.003	2.935
Problemes=Aire.paturage	201	9	0.003	2.903
...				
Acquisition.Achat=Oui	4	16	0.005	-2.802
Alim.Vaches=Graine.coton	0	10	0.002	-3.024
Problemes=Sante.animale	0	11	0.002	-3.120
Acquisition.Heritage=Non	4	18	0.002	-3.152
Ethnie=Touareg	0	12	0.000	-3.306
Race.Bovins=Delleji	21	42	0.000	-3.397
Race.Bovins=Azawak	0	15	0.000	-3.830
Alim.Vaches=Paille	0	18	1.113e-05	-4.393
Race.Caprins=Sahelienne	18.75	62	3.263e-12	-6.965
Assoc.Eleveurs=Non	0	37	3.262e-12	-6.965

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Prix.Lait.Saison.chaude	8.151	710	465	140	240.	3.600e-16
Pourcentage.Lait.Transformation	5.769	57	35	25	29	7.943e-09
Prix.Lait.Saison.froide	4.877	520	405	160	190	1.075e-06
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	4.776	460	370	50	150	1.781e-06
Pourcentage.Ovins	3.129	37	30	17	18	0.001
Pourcentage.Lait.Alim.animale	2.991	3	1	7	4	0.002
Pourcentage.Lait.Auto.conso	-3.580	28	41	19	29	0.000
Pourcentage.Lait.Vente	-4.002	4	16	12	24	6.266e-05

## Caractéristiques des producteurs (et élevages) du site urbain

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Problemes=Aire.paturage	50	9	8.893e-06	4.442
Autre.activite=Aucune	87	43	0.000	3.754
Assoc.Eleveurs=Oui	100	63	0.000	3.523
Race.Bovins=Bororo	81	40	0.000	3.409
Alim.Vaches=Residu.culture	50	19	0.003	2.886
Problemes=Couloir.passage	18	4	0.021	2.296
Ethnie=Peulh	100	81	0.029	2.175
Choix.site.Residence=Oui	31	12	0.031	2.150
Race.Ovins=Oudah	50	26	0.032	2.141
Race.Caprins=0.caprins	25	8	0.035	2.105
Race.Caprins=Sahelienne	37	62	0.048	-1.971
Alim.Vaches=Paille	0	18	0.033	-2.133
Choix.site.Residence=Non	68	88	0.031	-2.150
Problemes=Alim.animale	18	57	0.001	-3.150
Assoc.Eleveurs=Non	0	37	0.000	-3.523
Autre.activite=Agriculture	0	44	6.289e-05	-4.002

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Lait.Vente	5.251	46	16	19	24	1.506e-07
Prix.Lait.Saison.froide	5.015	630	405	101	188	5.285e-07
Prix.Lait.Saison.chaude	4.524	725	465	216	240	6.044e-06
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	4.444	530	370	77	152	8.794e-06
Pourcentage.Lait.Alim.animale	3.164	4	1	5	4	0.001

*Annexe 8. Résultats des tests univariés sur la caractérisation de la variable « ethnie » des producteurs. Seules les caractéristiques associées à une p value < 0,05 sont présentées.*

#### test.chi2

	p.value	df
Nom.groupement	3.663e-21	57
Genre	1.533e-12	3
Race.Bovins	2.545e-07	12
Acquisition.Achat	1.853e-05	3
Assoc.Eleveurs	8.105e-05	3
Race.Ovins	8.366e-05	12
Pratique.Elevage	8.495e-05	6
Choix.site.Residence	0.000	3
Type.site	0.001	6
Autre.activite	0.003	24
Acquisition.Heritage	0.024	3
Race.Caprins	0.030	12
Choix.site.Paturage	0.030	3

#### quanti.var

	Eta2	P-value
Pourcentage.Caprins	0.136	3.595e-06
Taille.Troupeau	0.095	0.000
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	0.195	0.002
Prix.Lait.Saison.froide	0.186	0.004
Pourcentage.Ovins	0.066	0.004
Prix.Lait.Saison.chaude	0.162	0.009
Pourcentage.Lait.Vente	0.043	0.037

Caractéristiques des producteurs et des élevages de l'ethnie Touareg

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Lait.Vente	2.864	29	16	24	24	0.004
Pourcentage.Camelins	2.556	2	1	7	3	0.010
Pourcentage.Ovins	-1.960	22	30	24	18	0.050
Prix.Lait.Saison.chaude	-2.795	330	465	140	240	0.005
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	-3.010	280	370	130	155	0.002
Prix.Lait.Saison.froide	-3.128	290	405	130	190	0.000

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Type.site=Pastoral	100	67	5.267e-05	4.043
Race.Bovins=Azawak	43	15	0.000	3.534
Race.Ovins=0.ovins	39	14	0.001	3.126
Problemes=Sante.animale	30	11	0.005	2.760
Race.Bovins=0.bovins	13	3	0.013	2.481
Niveau.Instruction=Secondaire	13	3	0.013	2.481
Genre=F	17	5	0.014	2.457
Assoc.Eleveurs=Non	61	37	0.015	2.433
Autre.activite=Transformation.lait	9	2	0.038	2.067
Autre.activite=Petit.commerce	17	6	0.045	2.001
...				
Acquisition.Heritage=Oui	65	82	0.048	-1.973
Race.Caprins=Rousse	4	22	0.023	-2.257
Assoc.Eleveurs=Oui	39	63	0.015	-2.433
Genre=M	82	95	0.014	-2.457
Autre.activite=Aucune	17	43	0.008	-2.631
Type.site=Periurbain	0	25	0.000	-3.306
Race.Bovins=Bororo	4	40	6.279e-05	-4.002

#### Caractéristiques des producteurs et des élevages de l'ethnie Peulh

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Race.Bovins=Bororo	48	40	2.679e-07	5.144
Type.site=Periurbain	30	25	7.776e-06	4.471
Assoc.Eleveurs=Oui	70	63	3.158e-05	4.161
Genre=M	99	95	0.000	3.790
Autre.activite=Aucune	49	42	0.000	3.690
Race.Caprins=Rousse	26	22	0.000	3.411
Race.Ovins=Oudah	30	26	0.004	2.853
Problemes=Aire.paturage	11	9	0.018	2.353
Type.site=Urbain	10	8	0.029	2.173
...				
Autre.activite=Petit.commerce	4	6	0.014	-2.451
Pratique.Elevage=Intensif	0	1	0.035	-2.106
Race.Bovins=Azawak	11	15	0.009	-2.588
Race.Caprins=Sahelienne	57	61	0.005	-2.756
Race.Bovins=0.bovins	1	3	0.005	-2.802
Niveau.Instruction=Secondaire	1	3	0.005	-2.802
Race.Ovins=0.ovins	9	14	0.000	-3.592
Genre=F	1	5	0.000	-3.790
Problemes=Sante.animale	6	11	3.942e-05	-4.110
Assoc.Eleveurs=Non	30	37	3.158e-05	-4.161
Type.site=Pastoral	60	67	5.570e-08	-5.432



Quanti	Mean in		Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
	v.test	category				
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	7.459	408	370	145	150	8.684e-14
Prix.Lait.Saison.froide	7.228	452	405	185	185	4.888e-13
Prix.Lait.Saison.chaude	6.713	520	465	245	240	1.905e-11
Pourcentage.Ovins	3.072	32	30	17	18	0.002
Pourcentage.Lait.Vente	-2.286	14	16	23	24	0.022
Pourcentage.Caprins	-3.155	25	27	15	17	0.001

### Caractéristiques des producteurs et des élevages de l'ethnie Haoussa

Quanti	Mean in		Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
	v.test	category				
Pourcentage.Caprins	4.638	66	27	24	10	3.503e-06
Pourcentage.Lait.Auto.conso	-2.002	12	41	12	28	0.045
Prix.Lait.Saison.chaude	-2.634	150	465	0	240	0.008
Pourcentage.Ovins	-2.683	6	30	10	18	0.007
Prix.Lait.Saison.froide	-2.999	125	405	0	188	0.002
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	-3.548	100	370	0	152	0.000

Quali	Global		p.value	v.test
	Mod/Cla			
Genre=F	75	5	0.000	3.640
Acquisition.Achat=Oui	100	16	0.000	3.424
Choix.site.Residence=Oui	75	12	0.005	2.775
Race.Ovins=0.ovins	75	14	0.010	2.573
Autre.activite=Petit.commerce	50	6	0.020	2.322
Pratique.Elevage=Intensif	25	1	0.041	2.043
Choix.site.Paturage=Non	75	24	0.047	1.984
Choix.site.Paturage=Oui	25	76	0.047	-1.984
Choix.site.Residence=Non	25	88	0.005	-2.775
Acquisition.Achat=Non	0	84	0.000	-3.424
Genre=M	25	95	0.000	-3.641

## Caractéristiques des producteurs et des élevages de l'ethnie Katsinawa peulh

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Assoc.Eleveurs=Non	90	37	0.000	3.403
Autre.activite=Agriculture	90	44	0.002	2.970
Problemes=Sante.animale	40	11	0.015	2.422
Race.Bovins=Delleji	80	41	0.015	2.417
Type.site=Pastoral	100	67	0.016	2.394
Race.Ovins=Non.deter	50	18	0.020	2.310
Race.Ovins=Oudah	0	26	0.047	-1.981
Race.Bovins=Bororo	10	40	0.047	-1.982
Autre.activite=Aucune	10	42	0.032	-2.133
Assoc.Eleveurs=Oui	10	63	0.000	-3.403

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Taille.Troupeau	4.110	184	77	190	85	3.950e-05
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	-2.516	250	370	0	150	0.011
Prix.Lait.Saison.froide	-2.665	250	405	0	190	0.007
Prix.Lait.Saison.chaude	-2.884	250	465	0	240	0.004

## Annexe 9. Description des clusters de producteurs formés par la CAH.

### Cluster 1 = 129 producteurs

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Choix.site.Paturage=Choix.site.Paturage_Oui	91	76	9.721e-11	6.471
Acquisition.Heritage=Acquisition.Heritage_Oui	94	82	3.638e-10	6.268
Tranche.Pourcentage.Ovins=26-50	66	53	1.439e-07	5.260
Tranche.Pourcentage.Lait.Auto.conso=26-50	56	43	1.655e-07	5.234
Race.Bovins=Race.Bovins_Bororo	52	40	6.526e-07	4.974
Choix.site.Residence=Choix.site.Residence_Non	96	88	6.460e-06	4.510
Acquisition.Entretien=Acquisition.Entretien_Non	97	90	1.525e-05	4.325
Tranche.Pourcentage.VachesLaitieres=0-25	98	92	9.318e-05	3.907
Acquisition.Achat=Acquisition.Achat_Non	91	84	9.403e-05	3.905
Type.site=Periurbain	33	25	0.000	3.815
Ethnie=Peulh	88	81	0.000	3.438
Tranche.Taille.Troupeau=(56.6,109]	27	21	0.000	3.391
Nom.groupement=Danjan.Peulhs	16	11	0.000	3.368
Genre=M	99	95	0.001	3.293
Pratique.Elevage=Semi.intensif	97	94	0.023	2.272
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Ovins	5.166	35	30	14	18	2.387e-07
Pourcentage.Lait.Transformation	4.907	43	35	28	29	9.230e-07
Taille.Troupeau	2.418	8	76	86	85	0.015
Pourcentage.Lait.Vente	-2.458	13	16	20	24	0.014
Pourcentage.VachesLaitieres	-2.831	12	14	6	11	0.004
Pourcentage.Bovins	-4.1456	37	42	13	22	3.383e-05

### Cluster 2 = 22 producteurs

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Choix.site.Residence=Choix.site.Residence_Oui	64	12	2.232e-10	6.344
Choix.site.Paturage=Choix.site.Paturage_Non	82	24	1.525e-09	6.041
Alim.Vaches=0.vaches	18	2	0.000	3.835
Autre.activite=Aviculture	18	2	0.000	3.835
Tranche.Pourcentage.Caprins=76-100	18	2	0.000	3.835
Ethnie=Haoussa	18	2	0.000	3.835
Tranche.Taille.Troupeau=(3.26,56.6]	91	57	0.000	3.564
Tranche.Pourcentage.Lait.Auto.conso=0-25	73	37	0.000	3.494
Nom.groupement=Dakoro	18	3	0.000	3.435
Acquisition.Achat=Acquisition.Achat_Oui	45	16	0.000	3.397
Genre=F	23	5	0.001	3.248
Tranche.Prix.Lait.Saison.froide= (700,800]	18	4	0.003	2.904
Race.Bovins=Race.Bovins_0.bovins	14	3	0.011	2.529
Problemes=Problemes_Vol	9	1	0.012	2.506
Pratique.Elevage=Intensif	9	1	0.012	2.506

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Caprins	4.971	44	27	23	17	6.642e-07
Pourcentage.Lait.Auto.conso	-2.285	23	41	25	29	0.022
Taille.Troupeau	-2.313	37	76	42	85	0.020
Pourcentage.Bovins	-2.749	30	42	17	22	0.006

### Cluster 3 = 45 producteurs

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Tranche.Pourcentage.Bovins=76-100	42	19	2.264e-14	7.634
Race.Bovins=Race.Bovins_Azawak	48	15	4.094e-11	6.600
Race.Ovins=Race.Ovins_0.ovins	42	14	4.208e-08	5.481
Acquisition.Heritage=Acquisition.Heritage_Non	47	18	3.285e-07	5.106
Acquisition.Entretien=Acquisition.Entretien_Oui	31	10	2.977e-06	4.672
Tranche.Pourcentage.Ovins=Ovins_0-25	69	39	4.307e-06	4.595
Race.Caprins=Race.Caprins_0.caprins	27	8	6.009e-06	4.526
Tranche.Pourcentage.Lait.Transformation=0-25	73	45	1.635e-05	4.309
Type.site=Pastoral	91	67	3.743e-05	4.122
Nom.groupement=Rouwada	22	7	9.355e-05	3.906
Tranche.Pourcentage.Caprins=0-25	71	48	0.000	3.489
Tranche.Pourcentage.Lait.Auto.conso=76-100	31	14	0.000	3.353
Tranche.Pourcentage.Lait.Auto.conso=51-75	15	5	0.001	3.131
Tranche.Pourcentage.Caprins=51-75	13	4	0.002	3.042
Nom.groupement=Zourare	18	7	0.002	3.004
Choix.site.Agriculture=Oui	11	3	0.002	2.986
Ethnie=Touareg	25	12	0.005	2.748
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Pourcentage.Bovins	6.737	61	42	30	22	1.601e-11
Pourcentage.Lait.Auto.conso	3.328	53	40	36	29	0.000
Pourcentage.VachesLaitieres	3.018	18	13	16	11	0.002
Prix.Lait.Saison.froide	-1.970	376	405	102	111	0.048
Prix.Lait.Saison.pluvieuse	-2.045	344	368	86	91	0.040
Prix.Lait.Saison.chaude	-2.169	423	465	132	142	0.030
Pourcentage.Caprins	-3.046	20	27	21	17	0.002
Pourcentage.Lait.Transformation	-4.361	18	35	26	29	1.293e-05
Pourcentage.Ovins	-4.654	19	30	22	18	3.243e-06

**Annexe 10. Résultats des analyses uni variées sur la caractérisation de la variable « type de site » dans le jeu de données des transformateurs. Seules les caractéristiques associées à une  $p$  value < 0,05 sont présentées.**

\$test.chi2

Variable qualitative	p.value
Fab.Lait.caillageLP	7.2 e-16
Coagulant.Presure	2.5 e-14
Autre.activite	7.1 e-13
Problemes	2.9 e-12
Transfo.Lait.poudre	6.4 e-11
Fab.Fromage	1.0 e-10
Raison.choix	1.0 e-09
Type.transfo	4.5 e-08
Niveau.instruction	5.5 e-07
Besoin.formation	8.5 e-07
Nouveau.prod	7.7 e-06
Sexe	1.1 e-05
Persp.amelioration	1.3 e-05
Fab.Yaourt.liquide	1.3 e-03
Fab.Lait.caillage.nature	1.8 e-03
Transfo.Lait.frais	2.2 e-03
Fab.Lait.frais	3.0 e-03
Fab.Beurre	5.2 e-03
Capital	2.1 e-02

\$quanti.var

	p.value
Prix.Yaourt.liquide	1.0 e-15
Quant.Lait.frais.Spluie	1.5 e-07
Prix.Lait.caillage.nat	3.4 e-04
Nb.employes	6.7 e-04
Prix.Lait.frais	1.8 e-03
Prix.Beurre.frais	2.4 e-03
Prix.Beurre.fondu	1.0 e-02
Duree.activite	1.0 e-02
Prix.Fromage	3.6 e-02

**Caractéristiques des transformateurs et des unités de transformation en milieu pastoral**

Quanti						
	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Prix.Yaourt.liquide	7.566	930	605	96	414	3.834e-14
Quant.Lait.frais.Sseche	5.338	15	6	17	12	9.384e-08
Quant.Lait.frais.Spluie	4.352	30	19	27	24	1.347e-05
Nb.employes	3.546	4	2	7	5	0.000
Duree.activite	-2.955	11	15	10	12	0.003
Prix.Degue	-5.254	95	97	9	7	1.487e-07
Prix.Lait.caillage.nat	-5.444	336	405	155	123	5.183e-08
Prix.Lait.frais	-5.686	475	610	8	223	1.300e-08

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Coagulant.Presure=Oui	79	39	1.338e-15	7.990
Fab.Lait.cailleLP=Non	95	61	1.184e-12	7.107
Fab.Fromage=Oui	76	41	1.063e-11	6.797
Problemes=Faible.productivite	36	14	1.103e-10	6.452
Transfo.Lait.poudre=Non	84	53	2.819e-10	6.308
Raison.choix=Rentabilite	55	32	3.003e-06	4.670
Type.transfo=Cooperative	21	8	4.385e-06	4.592
Autre.activite=Artisanat	17	7	3.891e-05	4.113
Persp.amelioration=Renfo.capacites	34	18	3.912e-05	4.112
Besoin.formation=Transfo	41	24	8.664e-05	3.925
...				
Persp.amelioration=Diversi.prod	21	41	6.584e-05	-3.990
Nouveau.prod=Beurre.fondu	0	13	2.803e-05	-4.188
Besoin.formation=Aucun	21	43	1.314e-05	-4.357
Problemes=Faible.prod.lait	0	18	4.280e-07	-5.056
Autre.activite=Transfo.mil	0	18	4.280e-07	-5.056
Raison.choix=Culture	31	63	3.654e-10	-6.268
Transfo.Lait.poudre=Oui	16	47	2.819e-10	-6.308
Fab.Fromage=Non	24	59	1.063e-11	-6.797
Fab.Lait.cailleLP=Oui	5	39	1.184e-12	-7.107
Coagulant.Presure=Non	21	61	1.338e-15	-7.990

#### Caractéristiques des transformateurs et des unités de transformation du site périurbain

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Fab.Lait.cailleLP=Oui	84	39	3.278e-15	7.879
Transfo.Lait.poudre=Oui	82	47	3.682e-09	5.898
Autre.activite=Transfo.mil	45	18	7.644e-09	5.776
Raison.choix=Culture	92	62	6.030e-08	5.418
Coagulant.Presure=Non	88	60	9.868e-07	4.894
Fab.Yaourt.liquide=Non	100	85	5.248e-05	4.044
Niveau.instruction=Aucun	82	58	5.296e-05	4.042
Fab.Lait.frais=Non	100	86	0.000	3.8178
Type.transfo=Individuelle	100	87	0.000	3.702
Besoin.formation=Aucun	63	43	0.000	3.473
...				
Fab.Fromage=Oui	22	41	0.000	-3.297
Besoin.formation=Transfo	6	24	0.000	-3.698
Autre.activite=Petit.commerce	0	13	0.000	-3.702
Problemes=Faible.productivite	0	14	0.000	-3.818
Fab.Lait.frais=Oui	0	14	0.000	-3.818
Fab.Yaourt.liquide=Oui	0	15	5.248e-05	-4.044
Raison.choix=Rentabilite	8	32	4.240e-06	-4.599
Coagulant.Presure=Oui	12	39	9.868e-07	-4.894
Transfo.Lait.poudre=Non	18	53	3.682e-09	-5.897
Fab.Lait.cailleLP=Non	16	61	3.278e-15	-7.879

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
	Duree.activite	1.985	17	15	12	12
Prix.Beurre.frais	-2.942	71	123	29	150	0.003
Nb.employes	-2.965	0	2	0	5	0.003
Quant.Lait.frais.Sseche	-3.241	2	6	2	15	0.001
Quant.Lait.frais.Spluie	-5.099	4	19	5	24	3.407e-07
Prix.Fromage	-5.685	205	250	105	68	1.306e-08

### Caractéristiques des transformateurs et des unités de transformation du site urbain

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
	Sexe=M	20	6	9.451e-06
Niveau.instruction=Ecole.coranique	47	23	1.974e-05	4.268
Type.transfo=Minilaiterie	18	5	3.678e-05	4.127
Problemes=Alim.animale	47	24	7.284e-05	3.967
Fab.Fromage=Non	82	58	9.425e-05	3.905
Autre.activite=Commerce	16	5	0.000	3.807
Coagulant.Presure=Non	82	60	0.000	3.605
Transfo.Lait.frais=Non	20	9	0.006	2.745
Problemes=Faible.prod.lait	31	18	0.008	2.645
Nouveau.prod=Lait.frais	13	5	0.009	2.589
...				
Type.transfo=Cooperative	0	8	0.012	-2.506
Transfo.Lait.frais=Oui	80	91	0.006	-2.745
Niveau.instruction=Alphabetisation	0	9	0.005	-2.770
Problemes=Faible.capital	0	10	0.003	-2.896
Nouveau.prod=Fromage	9	25	0.001	-3.186
Problemes=Faible.productivite	0	14	0.000	-3.592
Coagulant.Presure=Oui	18	39	0.000	-3.605
Niveau.instruction=Aucun	36	59	0.000	-3.667
Fab.Fromage=Oui	18	41	9.425e-05	-3.904
Sexe=F	80	94	9.451e-06	-4.429

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
	Prix.Beurre.fondu	19.917	3500	2150	0	540
Prix.Lait.frais	5.121	750	605	240	220	3.037e-07
Quant.Lait.poudre	3.721	115	41	275	160	0.000
Prix.Beurre.frais	3.706	1930	120	215	150	0.000
Prix.Lait.caille.nat	3.347	455	405	95	120	0.000
Prix.Fromage	3.284	280	250	90	70	0.001
Prix.Degue	3.253	100	100	0	7	0.001
Quant.Lait.frais.Sseche	-2.361	3	6	4	12	0.018
Quant.Lait.frais.Spluie	-4.887	4	19	4	24	1.019e-06
Prix.Yaourt.liquide	-9.717	100	605	70	410	2.544e-22

## Annexe 11. Description des clusters de transformateurs formés par la CAH.

### Cluster 1. (n = 84)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Quant.Lait.frais.Spluie=Quant.Lait.frais.Spluie.NA	61	34	2.743e-18	8.721
Fab.Beurre=Fab.Beurre_Oui	96	69	3.176e-17	8.439
Fab.Lait.caille.nature=Fab.Lait.caille.nature_Oui	98	71	4.217e-17	8.406
Raison.choix=Culture	89	62	1.062e-14	7.731
Coagulant.Presure=Coagulant.Presure_Non	86	60	8.364e-13	7.155
Fab.Yaourt.liquide=Fab.Yaourt.liquide_Non	100	85	7.864e-10	6.147
Fab.Lait.cailleLP=Fab.Lait.cailleLP_Oui	60	39	2.709e-09	5.948
Fab.Fromage=Fab.Fromage_Non	80	59	3.221e-09	5.919
Type.site=Periurbain	51	32	9.815e-09	5.733
Besoin.formation=Besoin.formation_Aucun	63	43	1.155e-08	5.706
Type.transfo=Individuelle	100	87	1.703e-08	5.639
Problemes=Problemes_Alim.animale	40	24	6.447e-08	5.405
Autre.activite=Autre.activite_Transfo.mil	31	18	3.951e-07	5.071
Nouveau.prod=Beurre.fondu	24	13	2.227e-06	4.731
Transfo.Lait.frais=Transfo.Lait.frais_Oui	100	91	5.667e-06	4.538
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Duree.activite	3.432	18	15	12	12	0.000
Prix.Lait.frais	2.816	624	606	87	87	0.004
Quant.Lait.frais.Sseche_quanti	-2.785	4	6	9	12	0.005
Quant.Lait.poudre_quanti	-3.027	6	41	6	159	0.002
Nb.employes	-4.746	0	12	0	5	2.074e-06

### Cluster 2. (n = 53)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Type.site=Pastoral	91	38	8.913e-24	10.052
Coagulant.Presure=Coagulant.Presure_Oui	91	39	2.152e-22	9.734
Fab.Fromage=Fab.Fromage_Oui	87	41	2.256e-17	8.479
Fab.Lait.cailleLP=Fab.Lait.cailleLP_Non	92	61	1.120e-09	6.091
Transfo.Lait.poudre=Transfo.Lait.poudre_Non	81	53	1.825e-07	5.216
Quant.Lait.frais.Spluie=QLFSp=(31.2,62.5]	28	11	3.785e-07	5.079
Raison.choix=Rentabilite	58	32	7.191e-07	4.956
Type.transfo=Cooperative	23	8	1.311e-06	4.837
Problemes=Problemes_Faible.productivite	32	14	4.722e-06	4.576
Fab.Beurre=Fab.Beurre_Non	55	31	5.902e-06	4.529
Autre.activite=Autre.activite_Artisanat	19	7	1.454e-05	4.335
Fab.Lait.caille.nature=Fab.Lait.caille.nature_Non	51	29	2.096e-05	4.254
Persp.amelioration=Persp.amelioration_Renfo.capacites	36	18	4.250e-05	4.093
Fab.Lait.frais=Fab.Lait.frais_Oui	30	14	4.378e-05	4.086
Besoin.formation=Besoin.formation_Transfo	43	24	5.350e-05	4.039
...				



Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Prix.Yaourt.liquide	4.368	682	604	145	161	1.248e-05
Quant.Lait.frais.Spluie_quanti	4.181	28	19	25	20	2.895e-05
Quant.Lait.frais.Sseche_quanti	4.045	12	6	15	18	5.220e-05
Nb.employes	3.844	4	2	8	5	0.000
Duree.activite	-2.076	12	15	12	12	0.037
Prix.Lait.frais	-2.938	578	606	91	87	0.003

### Cluster 3. (n = 15)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Transfo.Lait.frais=Transfo.Lait.frais_Non	93	9	6.898e-19	8.876
Sexe=M	60	6	5.338e-11	6.561
Type.transfo=Minilaiterie	53	5	1.098e-09	6.094
Fab.Lait.caille.nature=Fab.Lait.caille.nature_Non	100	29	1.149e-09	6.087
Fab.Beurre=Fab.Beurre_Non	100	31	3.757e-09	5.894
Autre.activite=Autre.activite_Commerce	47	5	1.990e-08	5.612
Fab.Yaourt.liquide=Fab.Yaourt.liquide_Oui	67	15	1.727e-06	4.782
Quant.Lait.frais.Spluie=QLFSp=[0,31.2]	100	53	4.071e-05	4.103
Fab.Degue=Fab.Degue_Oui	33	4	9.081e-05	3.913
Transfo.Lait.poudre=Transfo.Lait.poudre_Oui	93	47	0.000	3.824
Fab.Fromage=Fab.Fromage_Non	100	59	0.000	3.730
Coagulant.Presure=Coagulant.Presure_Non	100	61	0.000	3.592
Quant.Lait.poudre=QLP=(312,625]	20	2	0.000	3.355
Niveau.instruction=Niveau.instruction_Primaire	33	7	0.000	3.306
Problemes=Problemes_Accid.fab	27	6	0.006	2.727
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Quant.Lait.poudre_quanti	7.649	340	41	388	159	2.022e-14
Duree.activite	-2.404	8	15	10	12	0.016
Quant.Lait.frais.Spluie_quanti	-3.652	1	19	4	20	0.000
Prix.Yaourt.liquide	-6.981	327	604	300	161	2.927e-12

**Annexe 12.** Résultats des tests du  $\chi^2$  et de Fisher sur la caractérisation de la variable « genre » des distributeurs. Seules les caractéristiques associées à une valeur de  $p < 0,05$  sont présentées.

### Test.chi2

	p.value	df
Vente.Ind.Fromage.affine	3.860e-37	1
Vente.Art.Lait.caille	3.0786e-30	1
Type.depot	1.926e-28	6
Vente.Art.Beurre.frais	3.799e-18	1
Mode.acquisition_prod.perso	9.925e-14	2
Vente.Art.Beurre.fondu	1.087e-12	1
Ethnie	3.706e-11	4
Vente.Art.Lait.frais	1.065e-09	1
Vente.Art.Tchoukou	2.805e-08	1
Age	4.421e-05	6
Vente.Loc.Degue	0.000	1
Vente.Loc.Yaourt.aromat	0.000	1
Mode.acquisition_grossistes	0.006	2
Vente.Ind.Lait.poudre	0.014	1
Mode.acquisition_livraison	0.037	2
Vente.Ind.Lait.concentre	0.043	1

### Caractéristiques des distributeurs (et de l'activité de distribution) du genre féminin

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Vente.Art.Lait.caille=Oui	71	6	2.074e-14	7.645
Type.depot=Marche	71	9	2.540e-11	6.671
Mode.acquisition_prod.perso=Oui	71	12	3.026e-09	5.930
Vente.Art.Beurre.frais=Oui	35	3	7.345e-08	5.382
Ethnie=Peulh	53	8	1.336e-07	5.273
Vente.Art.Beurre.fondu=Oui	29	3	7.786e-06	4.470
Type.depot=Restaurant	24	2	2.289e-05	4.234
Vente.Art.Tchoukou=Oui	24	3	0.000	3.598
Vente.Loc.Degue=Non	76	35	0.000	3.568
Vente.Art.Lait.frais=Oui	18	1	0.000	3.565
...				
Ethnie=Haoussa	47	83	0.000	-3.506
Vente.Loc.Yaourt.aromat=Oui	24	65	0.000	-3.526
Vente.Art.Lait.frais=Non	82	99	0.000	-3.565
Vente.Loc.Degue=Oui	24	65	0.000	-3.568
Vente.Art.Tchoukou=Non	76	97	0.000	-3.598
Vente.Art.Beurre.fondu=Non	71	97	7.786e-06	-4.470
Mode.acquisition_prod.perso=Non	29	83	3.7073e-07	-5.083
Vente.Art.Beurre.frais=Non	65	97	7.345e-08	-5.382
Type.depot=Boutique	0	68	7.053e-10	-6.164
Vente.Art.Lait.caille=Non	29	94	2.074e-14	-7.645

## Caractéristiques des distributeurs (et de l'activité de distribution) du genre masculin

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Vente.Art.Lait.caille=Non	99	94	2.074e-14	7.645
Type.depot=Boutique	74	68	7.053e-10	6.164
Vente.Art.Beurre.frais=Non	100	97	7.345e-08	5.382
Mode.acquisition_prod.perso=Non	87	83	3.7073e-07	5.083
Vente.Art.Beurre.fondu=Non	100	97	7.786e-06	4.470
Vente.Art.Tchoukou=Non	99	97	0.000	3.598
Vente.Loc.Degue=Oui	69	65	0.000	3.568
Vente.Art.Lait.frais=Non	100	99	0.000	3.565
Vente.Loc.Yaourt.aromat=Oui	68	65	0.000	3.526
Ethnie=Haoussa	86	83	0.000	3.506
...				
Vente.Art.Lait.frais=Oui	0	1	0.000	-3.565
Vente.Loc.Degue=Non	31	35	0.000	-3.568
Vente.Art.Tchoukou=Oui	1	3	0.000	-3.598
Type.depot=Restaurant	0	2	2.289e-05	-4.234
Vente.Art.Beurre.fondu=Oui	0	3	7.786e-06	-4.470
Ethnie=Peulh	4	7	1.336e-07	-5.273
Vente.Art.Beurre.frais=Oui	0	3	7.345e-08	-5.382
Mode.acquisition_prod.perso=Oui	7	12	3.026e-09	-5.930
Type.depot=Marche	4	9	2.540e-11	-6.671
Vente.Art.Lait.caille=Oui	1	6	2.074e-14	-7.645

### Annexe 13. Modalités des variables caractérisant les clusters de transformateurs.

#### Cluster 1. (n = 14)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Vente.Art.Lait.caille=Oui	100	6	1.545-22	9.767
Type.depot=Marche	93	9	2.468e-15	7.915
Conserv.Art.Lait.caille=T-ambiante	71	4	1.338e-14	7.702
Sexe=F	86	8	2.074e-14	7.645
Ethnie=Peulh	79	8	2.869e-12	6.983
TConserv.Art.Lait.caille=T-ambiante	57	4	2.090e-11	6.699
Conserv.Art.Beurre.fondu=T-ambiante	57	4	1.841e-10	6.374
Conserv.Art.Beurre.frais=T-ambiante	50	3	6.510e-10	6.177
Mode.acquisition_prod.perso=Oui	79	12	2.673e-09	5.950
Raison.choix.activite_culture=Oui	43	3	1.782e-08	5.631
Vente.Art.Beurre.frais=Oui	43	3	1.782e-08	5.631
Vente.Loc.Degree=Non	100	35	1.582e-07	5.242
Vente.Loc.Yaourt.aromat=Non	100	35	1.923e-07	5.206
DConserv.Loc.Degree=Nv	100	36	2.818e-07	5.135
Conserv.Loc.Yaourt.aromat=Nv	100	36	2.818e-07	5.135
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Quantite.Vente.Art.Lait.caille	10.834	6	0	5.	2	2.353e-27
Quantite.Vente.Art.Beurre.frais	9.197	8	0	10	3	3.666e-20
Quantite.Vente.Art.Beurre.fondu	6.494	1	0	1	0	8.335e-11
Quantite.Vente.Art.Tchoukou	5.248	10	1	26	7	1.535e-07
Quantite.Vente.Art.Lait.frais	5.120	1	0	3	1	3.049e-07

#### Cluster 2. (n = 203)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Vente.Art.Lait.caille=Non	100	94	4.942e-17	8.388
DConserv.Art.Lait.caille=Nv	99	94	1.570e-14	7.681
TConserv.Art.Lait.caille=Nv	100	95	2.479e-14	7.622
Sexe=M	98	92	2.386e-12	7.009
Conserv.Art.Lait.caille=Nv	100	96	8.643e-12	6.827
Type.depot=Boutique	75	68	5.034e-11	6.569
Conserv.Art.Beurre.fondu=Nv	99	96	1.902e-08	5.620
DConserv.Art.Beurre.frais=Nv	100	97	3.235e-08	5.528
TConserv.Art.Beurre.frais=Nv	100	97	3.235e-08	5.528
Conserv.Art.Beurre.frais=Nv	100	97	3.235e-08	5.528
Vente.Ind.Beurre=Non	99	96	9.035e-08	5.345
DConserv.Ind.Fromage.fondu=Nv	100	97	4.428e-07	5.049
DConserv.Art.Tchoukou=Nv	100	97	4.428e-07	5.049
TConserv.Ind.Fromage.fondu=Nv	100	97	4.428e-07	5.049
TConserv.Art.Tchoukou=Nv	100	97	4.428e-07	5.049
...				

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.carton	-2.986	0.8	1.1	3.8	4.1	0.002
Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.vrac	-3.917	1.3	1.7	3.6	4.7	8.944e-05
Quantite.Vente.Art.Lait.frais	-3.959	0.0	0.1	0.3	0.9	7.531e-05
Estim.Vente.jour	-3.998	19510	26435	42985	78790	6.392e-05
Quantite.Vente.Art.Tchoukou	-4.576	0	0.7	0	6.9	4.747e-06
Quantite.Vente.Art.Beurre.fondu	-5.080	0.0	0.0	0.0	0.4	3.761e-07
Quantite.Vente.Ind.Yaourt	-5.082	0	0.0	0	0.2	3.716e-07
Quantite.Vente.Ind.Lait.concentre	-5.268	1.2	1.8	3.4	5.7	1.373e-07
Quantite.Vente.Ind.Lait.UHT	-5.879	0.3	0.7	1.8	2.9	4.104e-09
Quantite.Vente.Ind.Fromage.fondu	-6.116	0	0.0	0	0.4	9.572e-10
Quantite.Vente.Art.Beurre.frais	-7.196	0	0.4	0	3.1	6.175e-13
Quantite.Vente.Ind.Beurre	-7.411	0.0	0.2	0.0	1.2	1.249e-13
Quantite.Vente.Art.Lait.caille	-8.469	0.0	0.4	0.1	1.9	2.472e-17

### Cluster 3. (n = 8)

Quali	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Vente.Ind.Beurre=Oui	100	4	3.132e-13	7.288
Conserv.Ind.Beurre=Refrigerateur	87	4	1.209e-11	6.779
DConserv.Ind.Beurre=Dte.peremption	87	4	5.425e-11	6.558
DConserv.Ind.Fromage.fondu=Dte.peremption	75	3	1.661e-10	6.389
Type.depot=Supermarche	87	4	1.802e-10	6.377
Vente.Ind.Lait.UHT=Oui	100	10	2.226e-09	5.980
TConserv.Ind.Beurre=4	62	2	1.218e-08	5.697
Conserv.Ind.Fromage.fondu=Refrigerateur	62	2	1.218e-08	5.697
Vente.Ind.Fromage.fondu=Oui	62	2	1.218e-08	5.697
DConserv.Ind.Lait.UHT=Dte.peremption	87	8	2.849e-08	5.550
Conserv.Loc.Degue=Congelateur	100	15	1.638e-07	5.236
Type.distribution_en.gros=Oui	87	9	1.679e-07	5.231
Conserv.Loc.Yaourt.aromat=Congelateur	100	16	2.687e-07	5.144
TConserv.Loc.Degue=2	62	3	6.639e-07	4.971
TConserv.Loc.Yaourt.aromat=2	62	3	6.639e-07	4.971

...

Quanti	v.test	Mean in category	Overall mean	sd in category	Overall sd	p.value
Quantite.Vente.Ind.Beurre	12.732	5.4	0.2	3.2	1.2	3.894e-37
Quantite.Vente.Ind.Lait.UHT	10.663	11.6	0.7	6.2	2.9	1.516e-26
Quantite.Vente.Ind.Fromage.fondu	10.486	1.5	0.0	1.5	0.4	9.934e-26
Quantite.Vente.Ind.Lait.concentre	10.090	21.8	1.2	14.1	5.7	6.063e-24
Quantite.Vente.Ind.Yaourt	8.714	0.6	0.0	0.8	0.2	2.909e-18
Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.vrac	8.167	15.2	1.7	10.2	4.7	3.136e-16
Estim.Vente.jour	6.945	216875	26435	299220	78795	3.778e-12
Quantite.Vente.Ind.Lait.poudre.carton	6.164	10	1.1	5	4.1	7.083e-10
Quantite.Vente.Loc.Yaourt.nature	2.119	2.5	0.4	4	2.8	0.034

**Annexe 14.** Résultats des analyses univariées sur la caractérisation de la variable « Activité pratiquée » dans le jeu de données consommateurs. Seules les caractéristiques associées à une valeur de  $p < 0,05$  sont présentées.

Test.chi2					
	p.value	df			
Niveau.Instruction	6.091e-19	24	Conso.Ind.Beurre	6.588e-06	8
Conso.Ind.Fromage.affine	9.531e-15	4	Nom.quartier	4.045e-05	36
Moment.Loc.Creme.glacee.Matin	9.531e-15	4	Age	0.000	8
Moment.Ind.Beurre.Midi	9.531e-15	4	Achat.Famille	0.000	4
Moment.Ind.Yaourt.Soir	9.531e-15	4	Type.Nouveau.prod	0.000	36
Moment.Ind.Yaourt.Midi	9.531e-15	4	Conso.Ind.Yaourt	0.000	4
Moment.Ind.Yaourt.Soir	9.531e-15	4	Conso.Ind.Fromage.fondu	0.000	4
Moment.Ind.Fromage.fondu.Midi	9.531e-15	4	Conserv.Ind.Lait.poudre	0.002	8
Moment.Ind.Fromage.fondu.Soir	9.531e-15	4	Conso.Art.Wagashi	0.003	4
Moment.Ind.Fromage.affine.Matin	9.531e-15	4	Nb.Enf.plus15	0.005	24
Moment.Ind.Fromage.affine.Midi	9.531e-15	4	Conserv.Ind.Beurre	0.005	4
Moment.Ind.Fromage.affine.Soir	9.531e-15	4	Desir.Nouveau.prod	0.008	4
Moment.Ind.Fromage.affine.Jamais	9.531e-15	4	Accomp.Ind.Beurre	0.009	8
Accomp.Ind.Fromage.affine	9.531e-15	4	Moment.Loc.Degue.Midi	0.011	4
Conserv.Ind.Yaourt	9.531e-15	4	Moment.Ind.Beurre.Matin	0.020	4
Conserv.Ind.Fromage.affine	9.531e-15	4	Moment.Ind.Beurre.Jamais	0.020	4
Acquisition.Super.marche	7.016e-08	4	Accomp.Loc.Degue	0.021	12
Ethnie	5.761e-06	24	Accomp.Ind.Lait.UHT	0.027	8
			Nb.Enf.3a5	0.032	16

#### Habitudes de consommation en produits laitiers des « Elèves-Etudiants »

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Age=(13,35]	97	67	1.050e-05	4.406
Achat.Famille=Non	91	59	2.077e-05	4.256
Niveau.Instruction=Superieur	42	15	2.780e-05	4.190
Nb.Enf.6a12=0	97	78	0.001	3.157
Nb.Enf.3a5=0	94	74	0.002	3.048
Niveau.Instruction=Etudiant	9	1	0.003	2.885
Conso.Ind.Beurre=Souvent	21	7	0.004	2.842
Niveau.Instruction=Secondaire	48	28	0.006	2.720
Conso.Ind.Fromage.fondu=Souvent	15	5	0.013	2.484
Nom.quartier=Ali.Dan.Sofa	27	13	0.014	2.464
Type.Nouveau.prod=Lait.vegetal	9	2	0.014	2.445
Nb.Enf.0a2=0	94	79	0.015	2.435
Type.Nouveau.prod=Lait.caille.conditionne	9	2	0.033	2.126
Moment.Art.Beurre.fondu.Matin=Non	100	92	0.043	2.019
Accomp.Ind.Lait.UHT=Seul	12	4	0.046	1.992
Nb.Enf.0a2=1	6	18	0.048	-1.973
Moment.Art.Beurre.fondu.Matin=Oui	0	8	0.043	-2.019
Nb.Enf.3a5=2	0	10	0.024	-2.254
Perception.Apport.sante=Bonne	33	52	0.020	-2.308
Conserv.Loc.Degue=Refrigerateur	9	24	0.019	-2.335
Conso.Ind.Fromage.fondu=Jamais	85	95	0.013	-2.485
Niveau.Instruction=NA	0	16	0.002	-3.142
Conso.Ind.Beurre=Jamais	76	92	0.001	-3.244
Niveau.Instruction=E.coranique	0	18	0.000	-3.387
Niveau.Instruction=Primaire	0	20	0.000	-3.624
Achat.Famille=Oui	9	401	2.077e-05	-4.256
Age=(35,70]	0	30	1.747e-06	-4.780

### Habitudes de consommation en produits laitiers des « **Artisans manuels** »

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Niveau.Instruction=Primaire	41	20	0.008	2.631
Conserv.Loc.Yaourt.aromat=Glaciere	26	10	0.009	2.608
Choix.Autre=Moyens	7	1	0.016	2.387
Conserv.Loc.Degue=Tambiante	30	15	0.032	2.133
Nb.Enf.plus15=1	15	5	0.033	2.120
Conso.Ind.Lait.poudre=Rarement	11	3	0.034	2.110

### Habitudes de consommation en produits laitiers des « **Commerçants** »

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Niveau.Instruction=E.coranique	33	18	2.768e-06	4.687
Acquisition.Super.marche=Non	99	88	8.265e-06	4.458
Conso.Ind.Beurre=Jamais	100	92	6.371e-05	3.998
Moment.Loc.Degue.Midi=Oui	49	36	0.000	3.406
Accomp.Loc.Degue=Seul	46	34	0.002	3.076
Conso.Ind.Fromage.fondu=Jamais	100	95	0.003	2.998
Nom.quartier=Soura.Bildi	16	10	0.014	2.438
Nom.quartier=Gao	15	9	0.026	2.223
Accomp.Art.Tchoukou=Seul	7	3	0.030	2.161
Raison.Conso.Plaisir=Oui	51	43	0.046	1.990
Raison.Conso.Plaisir=Non	49	57	0.046	-1.990
Conserv.Loc.Degue=Tambiante	9	15	0.043	-2.019
Niveau.Instruction=Secondaire	20	28	0.031	-2.151
Conserv.Ind.Lait.poudre=NA	0	3	0.030	-2.166
Nom.quartier=Ali.Dan.Sofa	7	13	0.023	-2.262
Conso.Ind.Fromage.fondu=Souvent	0	5	0.002	-2.998
Accomp.Loc.Degue=Aucun	17	28	0.001	-3.116
Conserv.Ind.Lait.concentre=Refrigerateur	0	6	0.000	-3.356
Moment.Loc.Degue.Midi=Non	51	64	0.000	-3.406
Conso.Ind.Beurre=Souvent	0	7	0.000	-3.845
Nom.quartier=Limantchi	1	11	2.881e-05	-4.183
Acquisition.Super.marche=Oui	1	12	8.265e-06	-4.458
Niveau.Instruction=Superieur	0	15	2.457e-09	-5.964

### Habitudes de consommation en produits laitiers des « **Fonctionnaires** »

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Ethnie=Zarma	37	7	2.284e-07	5.175
Niveau.Instruction=Superieur	52	15	1.153e-06	4.864
Acquisition.Super.marche=Oui	44	12	2.596e-06	4.700
Desir.Nouveau.prod=Oui	74	43	0.000	3.425
Conso.Ind.Beurre=Souvent	26	7	0.001	3.253
Conso.Loc.Yaourt.nature=Rarement	96	74	0.002	3.085
Conso.Ind.Yaourt=Souvent	11	1	0.002	3.076
Type.Nouveau.prod=Wagashi	15	3	0.003	2.942
Conso.Art.Wagashi=Rarement	15	3	0.003	2.942
Achat.Famille=Oui	67	41	0.004	2.869
Conserv.Ind.Beurre=Refrigerateur	11	2	0.008	2.656
Conserv.Ind.Lait.concentre=Refrigerateur	19	6	0.013	2.477
Age=(35,70]	52	30	0.013	2.469
Accomp.Ind.Beurre=Pain	11	2	0.008	2.656
Moment.Ind.Beurre.Matin=Oui	11	2	0.018	2.355
Accomp.Ind.Lait.poudre.Pain=Oui	52	31	0.019	2.345
Conserv.Loc.Yaourt.aromat=Refrigerateur	48	29	0.029	2.179
Conso.Ind.Fromage.fondu=Souvent	15	5	0.034	2.120

**Annexe 15.** Résultats des analyses univariées sur la caractérisation de la variable « type d'achat » dans le jeu de données consommateurs. Seules les caractéristiques associées à une p value < 0,05 sont présentées.

Test.chi2	p.value	df			
Nb.Enf.3a5	2.649e-20	4	Moment.Ind.Fromage.affine.Matin	0.008	1
Nb.Enf.0a2	4.068e-17	3	Moment.Ind.Fromage.affine.Midi	0.008	1
Nb.Enf.6a12	4.906e-16	6	Moment.Ind.Fromage.affine.Soir	0.008	1
Nb.Enf.plus15	5.329e-07	6	Moment.Ind.Fromage.affine.Jamais	0.008	1
Age	2.400e-06	2	Accomp.Ind.Fromage.affine	0.008	1
Activite	0.000	4	Conserv.Ind.Yaourt	0.008	1
Achat.Ind	0.001	1	Conserv.Ind.Fromage.affine	0.008	1
Acquisition.Super.marche	0.006	1	Conserv.Ind.Lait.poudre	0.012	2
Moment.Ind.Beurre.Matin	0.006	1	Choix.Valeur.nut	0.012	2
Moment.Ind.Beurre.Jamais	0.006	1	Conserv.Ind.Beurre	0.015	1
Conso.Ind.Fromage.affine	0.008	1	Conserv.Ind.Lait.concentre	0.020	4
Moment.Loc.Creme.glacée.Matin	0.008	1	Accomp.Ind.Lait.poudre.Pain	0.022	2
Moment.Ind.Beurre.Midi	0.008	1	Accomp.Ind.Beurre	0.024	2
Moment.Ind.Beurre.Soir	0.008	1	Moment.Ind.Lait.poudre.Matin	0.028	1
Moment.Ind.Yaourt.Midi	0.008	1	Accomp.Ind.Lait.concentre.Cafe	0.033	2
Moment.Ind.Yaourt.Soir	0.008	1	Conso.Ind.Yaourt	0.035	1
Moment.Ind.Fromage.fondu.Midi	0.008	1	Moment.Ind.Lait.concentre.Matin	0.043	1
Moment.Ind.Fromage.fondu.Soir	0.008	1	Conserv.Loc.Yaourt.aromat	0.047	7

### Habitudes de consommation des individus célibataires

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Age=(13,35]	81	67	4.964e-07	5.027
Activite=Eleve-Etudiant	25	16	2.077e-05	4.256
Achat.Ind=Oui	99	95	0.001	3.151
Acquisition.Super.marche=Non	93	88	0.007	2.676
Choix.Valeur.nut=Non	55	49	0.029	2.174
Conso.Art.Tchoukou=Souvent	8	12	0.040	-2.037
Conso.Ind.Beurre=Souvent	4	7	0.041	-2.040
Conso.Ind.Lait.poudre=Souvent	12	16	0.035	-2.104

### Habitudes de consommation des familles

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Age=(35,70]	49	30	1.375e-06	4.828
Activite=Fonctionnaire	22	13	0.004	2.869
Accomp.Ind.Lait.poudre.Pain=Oui	42	31	0.007	2.711
Acquisition.Super.marche=Oui	19	12	0.007	2.676
Choix.Valeur.nut=Oui	60	49	0.008	2.635
Moment.Ind.Beurre.Matin=Oui	6	2	0.010	2.563
Accomp.Ind.Lait.concentre.Pain=Oui	26	19	0.019	2.340
Conserv.Loc.Yaourt.aromat=Refrigerateur	39	29	0.019	2.336
Ethnie=Zarma	12	7	0.020	2.325
Conserv.Ind.Beurre=Refrigerateur	5	2	0.026	2.222
Accomp.Ind.Beurre=Pain	5	2	0.026	2.222
Moment.Ind.Lait.concentre.Matin=Oui	36	28	0.046	1.990
Moment.Ind.Lait.poudre.Matin=Oui	60	51	0.029	2.174
Conso.Ind.Beurre=Souvent	12	7	0.041	2.041
Conso.Art.Tchoukou=Souvent	18	12	0.042	2.036
Moment.Ind.Lait.poudre.Matin=Non	40	49	0.030	-2.173



**Annexe 16. Résultats des analyses univariées sur la caractérisation de la variable « Age » dans le jeu de données consommateurs. Seules les caractéristiques associées à une p value < 0,05 sont présentées.**

Test.chi2	p.value	df
Conso.Ind.Fromage.affine	1.016e-28	2
Moment.Loc.Creme.glacee.Matin	1.016e-28	2
Moment.Ind.Beurre.Midi	1.016e-28	2
Moment.Ind.Beurre.Soir	1.016e-28	2
Moment.Ind.Yaourt.Midi	1.016e-28	2
Moment.Ind.Yaourt.Soir	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.fondu.Midi	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.fondu.Soir	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.affine.Matin	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.affine.Midi	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.affine.Soir	1.016e-28	2
Moment.Ind.Fromage.affine.Jamais	1.016e-28	2
Accomp.Ind.Fromage.affine	1.016e-28	2
Conserv.Ind.Yaourt	1.016e-28	2
Conserv.Ind.Fromage.affine	1.016e-28	2
Moment.Art.Beurre.frais.Midi	2.065e-09	2
Accomp.Art.Beurre.frais	2.352e-07	6
Achat.Famille	2.400e-06	2
Moment.Loc.Degue.Jamais	7.362e-06	2
Moment.Loc.Degue.Soir	3.318e-05	2
Conso.Loc.Degue	5.375e-05	6
Accomp.Art.Lait.frais	5.556e-05	18
Moment.Art.Beurre.frais.Soir	6.333e-05	2
Nb.Enf.6a12	8.861e-05	12
Activite	0.000	8
Nb.Enf.plus15	0.000	12
Perception.Dispo	0.002	4
Conserv.Art.Lait.frais	0.004	10
Acquisition.Marche	0.004	2
Accomp.Loc.Degue	0.009	6
Moment.Art.Beurre.frais.Jamais	0.013	2
Nb.Enf.3a5	0.013	8
Accomp.Ind.Lait.concentre.Pain	0.014	4
Moment.Art.Lait.caille.Midi	0.022	2
Conserv.Loc.Degue	0.024	14
Nb.Enf.0a2	0.025	6
Moment.Ind.Lait.concentre.Matin	0.031	2
Moment.Loc.Yaourt.aromat.Matin	0.048	2
Acquisition.Boutique	0.048	2

### Habitudes de consommation des individus âgés de 13 à 35 ans

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Achat.Famille=Non	72	59	4.964e-07	5.027
Activite=Eleve-Etudiant	23	16	1.050e-05	4.406
Conso.Loc.Degue=Regulierement	63	53	1.661e-05	4.306
Conserv.Loc.Degue=Glaciere	15	11	0.001	3.225
Accomp.Loc.Degue=Seul	41	34	0.004	2.845
Acquisition.Marche=Non	67	60	0.004	2.819
Acquisition.Boutique=Oui	83	78	0.021	2.301
Moment.Art.Lait.caille.Jamais=Oui	61	55	0.035	2.108
Moment.Loc.Degue.Matin=Oui	35	30	0.038	2.065
Activite=Fonctionnaire	9	13	0.030	-2.161
Nb.Enf.6a12=2	1	7	4.010e-05	-4.107
Nb.Enf.plus15=1	2	5	0.018	-2.363

### Habitudes de consommation des individus âgés de 35 à 70 ans

	Mod/Cla	Global	p.value	v.test
Achat.Famille=Oui	66	41	1.375e-06	4.828
Moment.Loc.Degue.Jamais=Oui	55	31	3.527e-06	4.637
Nb.Enf.6a12=2	18	7	0.000	3.745
Nb.Enf.0a2=1	32	18	0.000	3.440
Acquisition.Marche=Oui	56	40	0.001	3.176
Accomp.Ind.Lait.concentre.Pain=Oui	32	19	0.001	3.154
Conso.Loc.Degue=Rarement	39	24	0.001	3.127
Accomp.Art.Lait.caille=Boule.mil	60	45	0.004	2.827
Moment.Art.Lait.caille.Midi=Oui	52	38	0.008	2.650
Activite=Fonctionnaire	23	13	0.013	2.469
Conso.Art.Lait.caille.Vache=Regulierement	39	27	0.015	2.427
Moment.Ind.Lait.concentre.Matin=Oui	40	28	0.015	2.421
Acquisition.Boutique=Non	32	22	0.018	2.367



## Physico-chemical characterization of dairy gel obtained by a proteolytic extract from *Calotropis procera* – A comparison with chymosin



Issa Ado Rayanatuou<sup>a,b,c</sup>, ElHadji Gounga Mahamadou<sup>c</sup>, Gilles Garric<sup>a,b</sup>, Marielle Harel-Oger<sup>a,b</sup>, Arlette Leduc<sup>a,b</sup>, Julien Jardin<sup>a,b</sup>, Valérie Briard-Bion<sup>a,b</sup>, Chantal Cauty<sup>a,b</sup>, Hassane Adakal<sup>c</sup>, Jean François Grongnet<sup>b</sup>, Frédéric Gaucheron<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> STLO, UMR 1253, INRA, Agrocampus Ouest, 35000 Rennes, France

<sup>b</sup> Agrocampus Ouest, 65 rue de St-Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France

<sup>c</sup> Faculté d'Agronomie et des Sciences de l'Environnement, Université Dandiko Dankoulodo de Maradi, BP 465 ADS Maradi, Niger

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 2 November 2016

Received in revised form 9 March 2017

Accepted 4 April 2017

Available online 6 April 2017

#### Keywords:

Cheese

Peptides

Whey

Curd

Coagulation

*Calotropis*

Chymosin

Dairy gel

### ABSTRACT

Chymosin is the major enzyme used in cheesemaking but latex enzymes are also used. The aim of this work was to characterize the composition and the structure of dairy gel obtained by an extract of *Calotropis procera* leaves in comparison with those obtained by chymosin. The biochemical and mineral compositions of the curds and the cheese yields obtained by using *Calotropis procera* extract or chymosin were relatively similar. Quantitative and qualitative evaluations of proteolysis after milk coagulation, determined by the non-protein nitrogen content and chromatography coupled to mass spectrometry, indicated that *Calotropis procera* extract was more proteolytic than chymosin and that  $\kappa$ -casein was proteolyzed. The main consequence of proteolysis by *Calotropis procera* extract or chymosin was the formation of a similar and regular network with the presence of aggregates of casein micelles. These results support that *Calotropis procera* extract can be used as effective coagulant in cheesemaking.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Coagulation of milk is an important step in cheesemaking and its success is an important parameter to have a cheese of high quality (Fox, McSweeney, Cogan, & Guinee, 2004). Different coagulant agents are used in cheesemaking but the most commonly used in the world is the chymosin. Today, the action of chymosin is relatively well described and understood. It corresponds to the hydrolysis of  $\kappa$ -casein with a release of caseinomacropptide, followed by a destabilization of the paracasein micelles leading to the milk coagulation.

Other enzymes from vegetable origin also possess the property to clot milk and different results focusing on their potentiality to be used in cheese technology are reported (Mahajan & Badgujar, 2010; Mahajan & Chaudhari, 2014; Shah, Mir, & Paray, 2014). Among these enzymes, those present in the extract of *Calotropis procera* are especially used in West Africa to make a traditional soft cheese. The traditional name of this cheese depends on the country

of the production: «Warankasi» or «Wara» in Nigeria, «Wagassirous», «Waragachi» or «Waoagachi» in the Republic of Benin, or «Wagachi» in Ghana. This West African soft cheese is usually manufactured at artisanal scale by women belonging to Fulani or Yoruba communities (Akinyosoye, 2006). From practical point of view, *Calotropis procera* extract is incorporated into a heated milk until formation of the curd. Then, curd is drained and molded (O'Connor, 1993). For traditional processing, fresh whole cow milk is directly heated on wood fire after milking without any standardization. For other groups, the fresh leaves of *Calotropis procera* are crushed, mixed with a small quantity of water or fresh milk and the mixture is used as coagulant. Sometimes, a whole branch including leaves, flowers and stems of the plant is directly immersed in the heated milk. Then the mixture is heated until a visible milk coagulation. The whey is clear, yellowish or greenish and the curd crumbly with a slight vegetal taste. The curd is not pressed but rather left to drip during many hours in traditional molds made with raffia. The operation is ended when the manufacturer judges that the consistence and moisture content of the cheese are correct. Sometimes, the fresh cheese is boiled and colored with red sorghum (*Sorghum vulgare*) extract. In general way, the manufacture of this type of cheese is empirical and not

\* Corresponding author at: STLO, UMR 1253, INRA, Agrocampus Ouest, 35000 Rennes, France.

E-mail address: [frederic.gaucheron@inra.fr](mailto:frederic.gaucheron@inra.fr) (F. Gaucheron).

well standardized (Adetunji & Babalobi, 2011; Olapido & Jadesimi, 2013; O'Connor, 1993). This cheese is locally appreciated and directly consumed or incorporated into traditional food recipes in substitution to meat or fish especially in rural areas. It is consumed fresh, without ripening, as a sandwich filling or fried cake (Omotosho, Oboh, & Iweala, 2011). The application of leaves extract in excess lead to a bitter taste making the cheese inappropriate for consumption. The presence of several proteases with proteolytic activities and release of peptides are responsible for this bitter taste.

Some researches focused on the proteolytic activity in *Calotropis procera* and revealed the presence of several proteases. Thus, Freitas et al. (2007) characterized the laticifer proteins of *Calotropis procera* by mass spectrometry and reported the presence of cysteine proteases, aspartic proteinases and chitinase. Among these enzymes, procerain is the most described and exists in two different forms. Both of these forms were extracted and characterized from the latex of *Calotropis procera*. The first, named procerain, is a cysteine protease of 28.8 KDa with optimal pH of 8 and temperature of 60 °C. The second, a cysteine protease, was also purified and named procerain B (Singh, Shukla, Jagannadham, & Dubey, 2010). The molecular weight, isoelectric point and cleavage recognition site, are different from those of the first procerain (Aworh, Kasche, & Apampa, 1994; Dubey & Jagannadham, 2003; Singh & Dubey, 2011). Singh, Yadav, and Dubey (2013) have cloned, characterized this protein from a structural point of view and determined a high sequence homology with other papain's like plant cysteine proteases of peptidase C1A superfamily. In 2013, Ramos et al. reported new insights into the complex mixture of latex cysteine peptidases in *Calotropis procera*. These authors indicated the presence, in the latex of *Calotropis procera*, of three distinct cysteine proteases from procerain and procerainB. These new described enzymes have minor differences in their molecular weights, ordered structures and activities. Authors suggested that they came from the same initial protein which is differently modified during post-translational processes. The activity of procerain was relatively stable over a wide range of pH and temperature higher than 65 °C (Baba-Moussa et al., 2007; Ogundiwin & Oke, 1983; Oseni & Ekperigin, 2013a, 2013b; Singh et al., 2010). Oseni and Ekperigin (2013a) demonstrated that addition of cysteine and calcium enhanced the proteolytic activity of the enzymes. Procerain B was also stable in presence of 35% acetonitrile, 30% methanol, 8 M urea and different detergents (Singh et al., 2010). It was reported that the proteolytic activity was effective on a variety of denatured proteins such as azoalbumine and azocasein but also on native intact caseins (Singh et al., 2010). However, the peptide bonds hydrolyzed by procerain are not precisely known. Recently, Freitas et al. (2016) reported that fractions of *Calotropis procera* proteolyzed  $\kappa$ -casein with the production of peptides of 16 KDa.

The aim of this study was to describe the physico-chemical compositions of curds obtained by *Calotropis procera* extract. Microstructures of curds were examined by scanning electron microscopy. In the same time, the released peptides from casein micelles especially those coming from  $\kappa$ -casein after milk coagulation were identified.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

#### 2.1.1. Milk

Low heat skimmed milk powder (Lactalis, Retiers, France) was used as raw material. Milk was reconstituted at 10% (w/w) in distilled water. Reconstituted milk was stored at 4 °C overnight to have a good dissolution of the milk powder.

#### 2.1.2. *Calotropis procera* extract and chymosin

Fresh *Calotropis procera* leaves were collected from Niger, washed with water and dried in the shade at ambient temperature (25–35 °C) for 7 days. The leaves were frequently turned to avoid mold development. Before use, the leaves were milled in an electric crusher to obtain a rough powder. Before milk coagulation, 50 g of powder of *Calotropis procera* were added to 1 L of reconstituted milk and stored 1 h at 25 °C to facilitate the extraction of enzymes. Then the liter of milk was filtered and added to 9 kg of milk.

The chymosin used (CHY-MAX 200) was purchased from Chr. Hansen (Saint-Germain-lès-Arpajon, France). Just before addition to milk, the chymosin stock solution was diluted 10-fold in distilled water. The amount added to the reconstituted milk was 40 mL kg<sup>-1</sup> of milk.

### 2.2. Manufacture of curds with *Calotropis procera* extract or chymosin

The flow charts with *Calotropis procera* extract and chymosin are presented in Fig. 1A and B, respectively. The cheesemaking was repeated 4 times independently. Milk coagulation by chymosin was conducted in similar conditions (pH 6.7 and without addition of calcium) to those used for *Calotropis procera* extract except for the temperature. It was not possible to coagulate milk with chymosin at 75 °C due to its loss of activity. So, a classical temperature of 30 °C was used for this enzyme. After coagulation, cutting, draining and pressing (Fig. 1), the curds were recovered for physico-chemical analyses and scanning electron microscopy observation. Whey liquids were collected for physico-chemical and reversed phase liquid chromatography coupled to mass spectrometry analyses.

### 2.3. Composition of milk, curds and wheys. Cheese yield and rates of recovery of constituents

Dry matter (DM) was determined according to IDF (1982,1987). Ash content was determined according to the protocols described by IDF (1964) and AFNOR (1989). Contents in calcium, magnesium, sodium and potassium were determined by atomic absorption spectrometry as described by Brulé, Maubois, and Fauquant (1974).

Total nitrogen content of milk, whey liquids and curds was determined after their mineralization (destruction of organic matter in nitrogen) by Kjeldahl method. A converting factor of 6.38 was used to convert nitrogen content into protein content. The content in Non Protein Nitrogen (NPN), corresponding to soluble nitrogen in 12% trichloroacetic solution, was determined according to IDF (1993). The NPN content was converted into equivalent protein contents (g kg<sup>-1</sup>) using 6.19 as converting factor. The experimental error was  $\pm 0.1$  g of nitrogen expressed in g of protein per kg (IDF, 1993).

Normal and corrected cheese yields and the coefficients of recovery for DM, ash and total nitrogen were calculated. The normal cheese yield was expressed as the percentage of the weight of the curd per liter of milk used for cheesemaking. The formula used was as follows: Yield = (mass of the curd (kg))/(mass of milk (kg))  $\times$  100. The corrected cheese yield was calculated by taking into account DM as the following formula: (Milk DM (g kg<sup>-1</sup>) – Whey liquid DM (g kg<sup>-1</sup>))/(Curd DM (g kg<sup>-1</sup>) – Whey liquid DM (g kg<sup>-1</sup>))  $\times$  100. The rates of recovery of dairy components (DM, ash or protein) corresponded to the ratios of their amounts (in g) in curd and milk.

### 2.4. Reversed-phase high performance nano liquid chromatography (RP-nano HPLC) coupled to tandem mass spectrometry (MS/MS) analysis

Whey liquids were recovered to qualitatively analyze their compositions in peptides. These liquids were sampled 1 h after

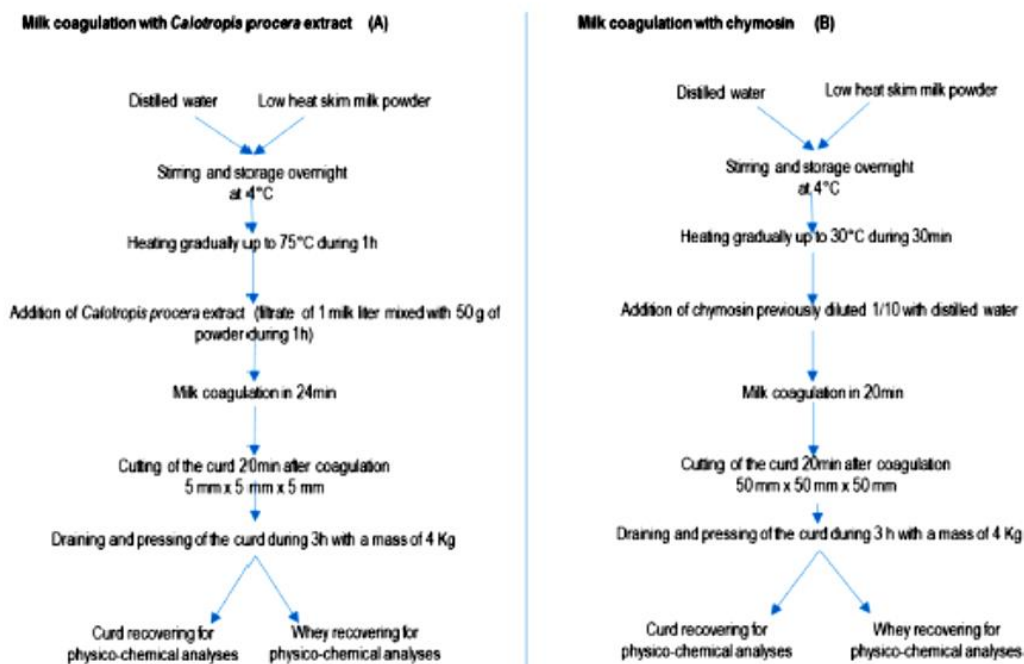


Fig. 1. Flow charts used for the manufacture of curds with *Calotropis procera* extract (A) and chymosin (B).

coagulation, filtered on 0.45  $\mu\text{m}$  filters to eliminate pieces of curds and frozen at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  before analysis. In the same time, control samples were prepared. They corresponded to the supernatant of milks (100 000 g during 1 h) previously heated up to 75 and 30  $^{\circ}\text{C}$  (temperature conditions for milk coagulation with *Calotropis procera* extract and chymosin, respectively) but without addition of coagulant enzymes. After thawing, the 4 samples were analyzed by RP nanoLC fitted to a mass spectrometer. For chromatographic analyses, samples were injected on NanoLC Dionex U3000 RSLC system (Dionex, Amsterdam, Netherlands) with a preliminary step of sample concentration using a PepMap100 reversed phase column (C18, 5  $\mu\text{m}$  particle size, 100  $\text{\AA}$  pore size, 300  $\mu\text{m}$  of inner diameter and 5 mm of length) (Dionex, Amsterdam, Netherlands) followed by a phase of separation on a PepMapRSLC C18 column (3  $\mu\text{m}$  particle size, 100  $\text{\AA}$  pore size, 75  $\mu\text{m}$  of inner diameter and 150 mm of length) (Dionex, Amsterdam, Netherlands) at 35  $^{\circ}\text{C}$  with a debit of 300  $\text{nL min}^{-1}$ . Two buffers were used to separate the peptides (buffer A containing deionized water + 2% acetonitrile + 0.08% formic acid + 0.01% trifluoroacetic acid and buffer B containing deionized water + 95% acetonitrile + 0.08% formic acid + 0.01% trifluoroacetic acid). The elution gradient expressed in buffer B% was as follows: 0 min: 5% – 5 min: 5% – 50 min: 60% – 52 min: 85% – 55 min: 85% – 56 min: 3% – 65 min: % B and 70 min: 5%. The injected volumes for *Calotropis procera* extract and chymosin samples were 8 and 4  $\mu\text{L}$ , respectively. Peptides were detected at 214 nm.

After their chromatographic separation and UV detection, the peptides were electrosprayed into the mass spectrometer (quadrupole orbitrap Q Exactive system, ThermoScientific, San Jose, USA) operating in positive mode with a voltage of 2.2 kV. The mass spectra (MS) were recorded with a resolution of 70 000 with  $m/z$  between 250 and 2000. The tandem mass fragmentations of peptides were carried out on the 10 most intense ions. After ion fragmentation, the MS/MS spectra were recorded at a resolution of 17,500. With these parameters, the number of amino acids present in the identified peptides were higher than 6.

X!Tandem pipeline software (Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud-Ouest (PAPPSO), INRA, Jouy en Josas, France, <http://pappso.inra.fr>) was used to identify the peptides from their fragmentation spectra. The search was performed using the following parameters: 1. Homemade data bank containing 116 major milk proteins; 2. No specific enzyme cleavage; 3. Serine phosphorylation and methionine oxidation were taken into account as variable modifications; 4. The mass tolerance were 10 ppm for MS and 0.05 Da for MS and MS/MS, respectively. The identification of peptides was validated with a minimum score corresponding to an e-value inferior to 0.05.

### 2.5. Observation of the gel structures by scanning electron microscopy

Curds obtained with *Calotropis procera* extract and chymosin were collected from one fabrication. A piece of about 3 mm thickness was fixed in a glutaraldehyde solution 2.5% (v/v) cacodylate Na buffer (0.1 M at pH 7.3–7.4) overnight at 4  $^{\circ}\text{C}$  under gentle stirring. Then, samples were rinsed 4 times in cacodylate Na buffer (0.1 M at pH 7.3–7.4) and dehydrated using ethanol gradient (60, 70, 80, 90, 95 and 100% (v/v)) during 15 min in each bath. The osmium tetroxide stain was added to improve the contrast of observation. The samples were finally dried using the  $\text{CO}_2$  critical point, metalized and observed by using scanning electron microscope JSM-7100F to Field emission (Jeol LTd, Tokyo, Japan). The magnifications were  $\times 5000$ , 10,000 and 20,000.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Composition of milk, curds and whey liquids – cheese yield and rates of recovery of constituents

The biochemical and mineral characteristics of the reconstituted milk, whey liquids and curds obtained by using *Calotropis procera* extract and chymosin are reported in Table 1.

The compositions of milk used for both types of cheesemaking were as expected.

In terms of composition, the curds were slightly different. The contents in DM, ash, NPN and total nitrogen were more important for the curd manufactured using *Calotropis procera* compared to those made using chymosin. The curds pH were relatively neutral because no lactic bacteria were added during cheesemaking. Different publications reported the manufacture of curds with *Calotropis procera* and it is interesting to compare the different published values with our results. Thus, our values of composition were different than those reported by Aworh and Muller (1987). These authors indicated moisture and protein contents of 49.7 and 20.0% compared to 31.1 and 23.2% in our study. In another study, Omotosho et al. (2011) reported a protein content of 25.56% against 23.2% in this study. A comparison of our methodology to those used by these researchers for cheesemaking showed several differences in the protocols of cheesemaking and analyses. Thus, the quality of milk (fresh whole milk or reconstituted milk), addition of calcium chloride or not, degree of enzyme purity, processing temperatures, methods to cut and press the curds depended on the authors. Freitas et al. (2016) indicated similarities of yield, dry mass, and soluble proteins values and appearances of cheeses made with latex peptidases and commercial chymosin. This last comparative result was in accordance with our results.

Slight differences in composition of wheys were observed (Table 1). DM was more important when *Calotropis procera* extract was used. The ash contents were similar whereas the total nitrogen contents were slightly higher in the whey obtained after milk coagulation with chymosin than those obtained with *Calotropis procera* extract. The NPN content was higher when *Calotropis procera* extract was used suggesting a more important proteolysis with this extract compared to chymosin.

The mineral composition of reconstituted milks used for the manufacture of curds were similar and in agreement with those described in the literature (Gaucheron, 2005). For the curds, the standard deviations were higher than for milk or whey liquids. This was due to the difficulty to have representative and homogeneous sample for analyses but results were interpretable. The comparison of the curds mineralization showed similar contents for all evaluated cations. High contents in calcium (6694 and 7541 mg kg<sup>-1</sup>) were determined for both curds. In comparison with commercial cheese, such high contents are found in semi hard cheese such as Edam (<https://pro.anses.fr/tableciquail/>). In spite of these composition differences considered as small, both types of curds can be classified as rennet curds strongly mineralized (Mietton, Gaucheron, & Salaun-Michel, 2008). Without taking into account the DM, calcium was concentrated 16.5 and 19 folds (6694/404 and 7541/395) in the curds obtained by milk coagulation with *Calotropis procera* extract and chymosin, respectively. Calcium in the curds is associated to casein micelles via the phosphoserine resi-

dues present on casein micelles by forming nanoclusters of calcium phosphate (Holt, 1997). These curds were obtained exclusively thanks to enzymatic actions. It is well known that the calcium content in curds depend on their pH values (Dalglish & Law, 1989). In this study, the pH was not modified. Consequently, the calcium contents in curds were considered as high. Magnesium was also more concentrated in the curds compared to their corresponding wheys. The ratios of magnesium concentrations between the curds and corresponding wheys were about 5 for both types of coagulation. This was also explained by a partial association of magnesium to casein micelles in milk (Gaucheron, 2005) and this ion was not transferred in the whey after milk coagulation. For sodium and potassium, the ratios were close to 1 because the concentrations determined in the curds were similar to those found in their corresponding whey liquids. These results were in total agreement with results reported in the literature (Gaucheron, 2005) and are explained by the fact that these ions are mainly in the aqueous phase of milk. So, during milk coagulation and whey removal, sodium and potassium were not concentrated in the curds.

The cheese yields (normal and corrected) and rates of recovery for DM, ashes and total protein were calculated from the contents reported in Table 1. Concerning the curd manufactured with *Calotropis procera* extract, the normal (10.8%) and corrected (12.7%) cheese yields were not the same as those obtained by other authors. Aworh and Muller (1987), Omotosho et al. (2011) and Akinloye and Adewumi (2014) reported cheese yields of 14.47, 31.5–32.5 and 25.6%, respectively. The recovery rates for dry matter (32%), ash (39.2) and protein (72.3%) were considered as similar as those found for the cheese manufactured using chymosin. Some differences between our results on recovery of protein and those reported in the literature were also observed. Our protein recovery was 72.3% while Aworh and Muller (1987) reported 85.5%. As previously discussed, these differences were probably due to differences in processing methodologies used by the other researchers and in this study. For the curd obtained with chymosin, the normal (11.4%) and corrected cheese yields (11.9%) values were in accordance with those described in the literature. By considering these characteristics and the rates of recovery of dry matter (36%), ash (36%) and protein (75.7%), the results were considered as correct and similar to those obtained for an Edam cheese (Mietton et al., 2008).

### 3.2. Analysis of peptides by RP-HPLC coupled to tandem mass spectrometry

The chromatographic profiles of wheys recovered after milk coagulation by *Calotropis procera* extract and chymosin are reported in Fig. 2B and D, respectively. Control samples corresponding to the aqueous phases (supernatants of ultracentrifugation obtained at 100,000 g for 1 h) of milk treated in the same

**Table 1**  
Biochemical characteristics and mineral composition of reconstituted milk used, whey and curds obtained after coagulation induced by *Calotropis procera* extract (A) and chymosin (B). Calcium, magnesium, potassium and sodium contents were determined by atomic absorption spectrometry as described by Brulé et al. (1974). The data correspond to the average of 4 independent experiments for the biochemical characteristics and 2 or 3 for the mineral composition.

	pH (at 20 °C)	Dry matter (g kg <sup>-1</sup> )	Ash (g kg <sup>-1</sup> )	Total nitrogen (g kg <sup>-1</sup> )	NPN (g kg <sup>-1</sup> )	Calcium (mg kg <sup>-1</sup> )	Magnesium (mg kg <sup>-1</sup> )	Potassium (mg kg <sup>-1</sup> )	Sodium (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>A</b>									
Milk	6.76 ± 0.02	100.60 ± 2.62	8.10 ± 0.10	32.07 ± 1.28	2.39 ± 0.09	1206 ± 109	113 ± 4	1650 ± 289	357 ± 34
Curd	6.52 ± 0.06	310.91 ± 16.14	31.1 ± 0.3	231.91 ± 2.59	3.10 ± 0.49	6694 ± 634	427 ± 60	1783 ± 28	498 ± 129
Whey	6.34 ± 0.15	76.33 ± 0.70	6.17 ± 0.05	7.51 ± 0.29	4.14 ± 0.30	404 ± 6	86 ± 1	1854 ± 151	398 ± 49
<b>B</b>									
Milk	6.73 ± 0.04	100.97 ± 0.20	8.15 ± 0.20	33.50 ± 0.89	2.16 ± 0.06	1224 ± 33	115 ± 9	1723 ± 172	421 ± 77
Curd	6.69 ± 0.04	305.75 ± 9.31	25.52 ± 1.25	207.84 ± 16.81	1.83 ± 0.28	7541 ± 1140	365 ± 35	1649 ± 49	671 ± 108
Whey	6.59 ± 0.06	72.40 ± 1.79	6.20 ± 0.10	9.37 ± 0.37	2.72 ± 0.24	395 ± 8	77 ± 10	1653 ± 165	636 ± 33

conditions but without addition of enzymes are also showed (Fig. 2A and C, respectively). The control samples (A and C corresponding to the supernatants of ultracentrifugation of reconstituted milk heated at 75 and 30 °C respectively but without enzyme addition) revealed the presence of peptidic materials. This presence of peptides was probably due to the use of skim milk powder instead of fresh milk. It is admitted that during the storage of liquid milk before its spray drying, enzymes can proteolyzed milk proteins. However, this proteolysis was limited because the NPN values of milk were considered as correct (Table 1). The chromatographic profiles of wheys obtained after milk coagulation with *Calotropis procera* extract (Fig. 2B) or chymosin (Fig. 2D) were more complex than their respective controls (without enzyme addition) with the presence of supplementary chromatographic peaks suggesting proteolysis of milk. Both profiles were different suggesting that the proteolysis was different.

By mass spectrometry coupled to the chromatographic system, different molecular masses were determined. From each mass, the number and the sequence of peptides coming from the different casein molecules were identified (Table 2). For *Calotropis procera* extract, the number of peptides coming from the different casein molecules was higher for the proteolyzed sample (795) compared to its corresponding aqueous phase sample resulting from the non proteolyzed sample (670). Another interesting result was the increasing number of peptides coming from  $\kappa$ -caseins (96 against 43 for proteolyzed and control samples, respectively). For chymosin, the peptide number was slightly higher for the proteolyzed sample (532) than for its corresponding control sample (527).

As  $\kappa$ -casein is important in the stability of casein micelles (Holt & Horne, 1996; Horne, 2008), it was interesting to pay special

attention to this protein. Indeed, if this casein is hydrolyzed with release of caseinomacropptides, the casein micelles are destabilized and coagulated in few minutes. So the comparison of the hydrolysis of  $\kappa$ -casein with chymosin against *Calotropis procera* extract was useful to understand the milk coagulation by *Calotropis procera* extract. Fig. 3A and C reported the peptides coming from  $\kappa$ -casein A determined in the supernatants of ultracentrifugation of milk heated at 75 or 30 °C without addition of *Calotropis procera* extract or chymosin, respectively. For the peptidic profiles obtained after heating gradually up to 75 °C during 1 h, 43 peptides coming from  $\kappa$ -casein A were identified and only 13 for the control heated at 30 °C. These differences in number of peptides could be due to the effect of temperature resulting in a heat-induced proteolysis. This phenomena was reported for high temperatures (Gaucheron, Mollé, & Pannetier, 2001) and could also occurred in our samples heated during 1 h at 75 °C. The number of peptides from  $\kappa$ -CNA in wheys after milk coagulation at 75 °C with *Calotropis procera* extract was higher (69 peptides in Fig. 3B) than that of the corresponding control without enzyme (Fig. 3A with 43 peptides). It should be noted that the injected samples in NanoLC MS/MS were not prepared with the same protocol: ultracentrifugation (100,000 g during 1 h at 30 °C) was used for the control and filtration on 0.45  $\mu$ m filters for the wheys. From the Fig. 3 B showing the peptidic profile of  $\kappa$ -casein A proteolyzed by *Calotropis procera* extract, no specific hydrolysis was detected but an important presence of peptides coming from the C-terminal part was detected. This part carrying the negative charge via the glycosylated residues are partly responsible for the stability of casein micelles (Holt & Horne, 1996). So, the important hydrolysis of this part of  $\kappa$ -casein could induce the milk coagulation. Our results on the prote-

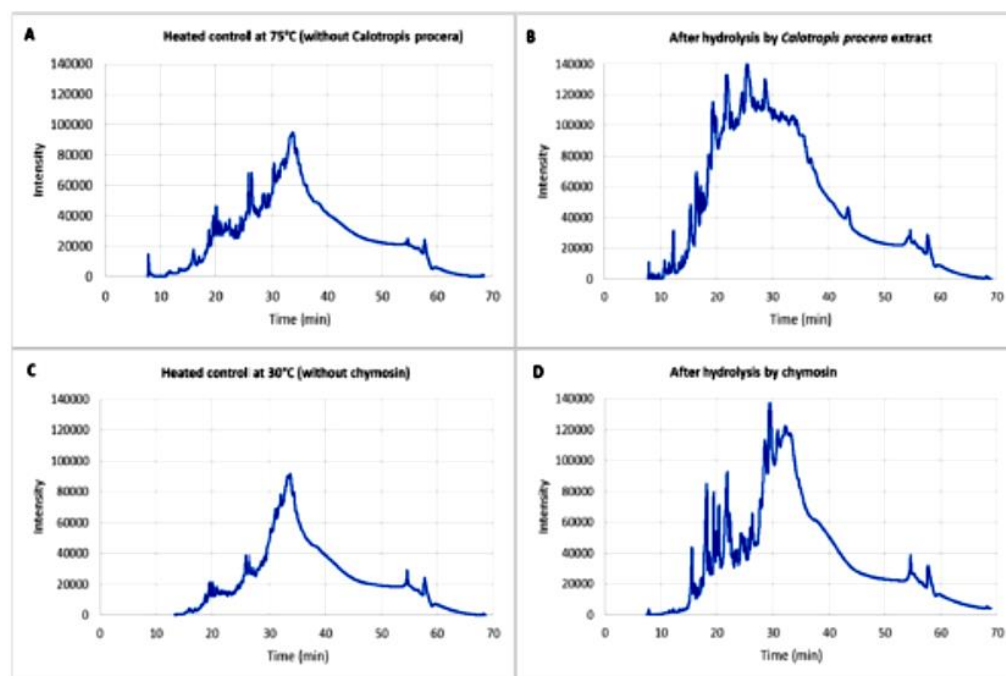


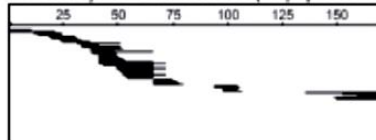
Fig. 2. Chromatographic profiles of peptides present in the whey after milk coagulation by *Calotropis procera* extract (B) and chymosin (D). The whey were recovered 30 min after coagulation and immediately filtered and frozen at -20 °C before analysis. For A and C, sample controls corresponding to the aqueous phases of milk treated at 30 and 75 °C obtained by ultracentrifugation (1 h at 100 000 g) were also analyzed in the same conditions of separation. Peptides were detected at 214 nm. The injected amounts were 8 and 4  $\mu$ l for *Calotropis procera* samples and chymosin samples, respectively. Different molecular masses were determined by mass spectrometry under the area of each chromatographic profiles. From each masses, the number and the sequence of peptides coming from the different casein molecules were identified (Table 2).

**Table 2**

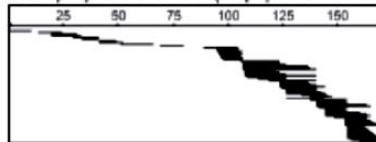
Number of peptides from the different casein molecules identified in the wheys. These peptides were separated by nano LC and identified by tandem mass spectrometry as described in materials and methods. Chromatographic profiles are reported in Fig. 2.

	Milk heated at 75 °C (without <i>Calotropis procera</i> extract)	After hydrolysis at 75 °C by <i>Calotropis procera</i> extract	Milk heated at 30 °C (without chymosin)	After hydrolysis at 30 °C by chymosin
$\alpha_{s1}$ -casein (A, C and E variants)	256	253	213	205
$\alpha_{s2}$ -casein (A variant)	134	81	99	90
$\beta$ -casein (A and B variants)	237	365	202	190
$\kappa$ -casein (A and B variants)	43	96	13	47
Total peptides	670	795	527	532

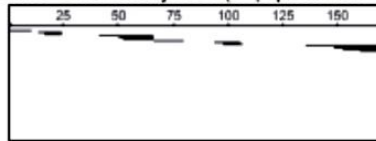
**A.** Peptides in ultracentrifugation supernatant of control milk heated at 75 °C without *Calotropis Procera* extract (43 peptides from  $\kappa$ -CN A)



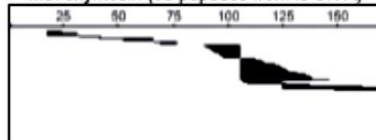
**B.** Peptides in whey after milk coagulation at 75 °C with *Calotropis procera* extract (69 peptides from  $\kappa$ -CN A)



**C.** Peptides in in ultracentrifugation supernatant of control milk heated at 30 °C without chymosin (13 peptides from  $\kappa$ -CN A)



**D.** Peptides in whey after milk coagulation at 30 °C with chymosin (35 peptides from  $\kappa$ -CN A)



**Fig. 3.** Identification of peptides from  $\kappa$ -casein A by MS/MS in the wheys after milk coagulation with *Calotropis procera* extract (B) and chymosin (D). Peptides present in the supernatants of ultracentrifugation of milk heated at 75 or 30 °C were also reported in figures A and C respectively. Milk used in this study contained also  $\kappa$ -casein B which was also hydrolyzed in similar way than  $\kappa$ -casein A with similar profiles of released peptides (data not shown). Glycosylation, phosphorylation and methionine oxidation were not indicated.

olysis of  $\kappa$ -casein are in accordance with results obtained by Freitas et al. (2016) who showed that the incubation of purified  $\kappa$ -casein with *Calotropis procera* peptidases induced proteolysis with production of *para*- $\kappa$ -casein and glycomacropeptide.

The enzyme(s) responsible for this proteolysis was not determined in this study. As an extract of *Calotropis procera* was used (and not purified enzymes), the proteolysis was probably due to the action of an enzymatic mixture containing the different forms of procerain and other enzymes described elsewhere (Aworh et al., 1994; Baba-Moussa et al., 2007; Dubey & Jagannadham, 2003;

Freitas et al., 2007; Oguniwin & Oke, 1983; Oseni & Ekperigin, 2013a, 2013b; Ramos et al., 2013; Singh & Dubey, 2011; Singh et al., 2010, 2013). It is noteworthy that the other casein molecules ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  and  $\beta$ -caseins) were also hydrolyzed (Table 2). This multiple proteolysis was also observed by Freitas et al. (2016) who reported that  $\alpha$  and  $\beta$ -caseins were also degraded in the presence of *Calotropis procera* peptidases.

The profile obtained with chymosin was simpler with a lower number of peptides than those obtained with *Calotropis procera* extract. The number of peptides from  $\kappa$ -CN A in whey liquids after milk coagulation at 30 °C with chymosin was high (35 peptides in Fig. 3 D) than that of the corresponding control without enzyme (Fig. 3 C with 13 peptides). As expected, the analysis of the peptidic profile (Fig. 3D) revealed that the bond Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub> was the main hydrolyzed bond by chymosin. These results were in total agreement with the literature (Walstra, Wouters, & Geurts, 2006). The other detected cleavage sites could correspond to residual activities of proteases in the commercial product.

### 3.3. Visual observation and analysis of curd structures by scanning electron microscopy

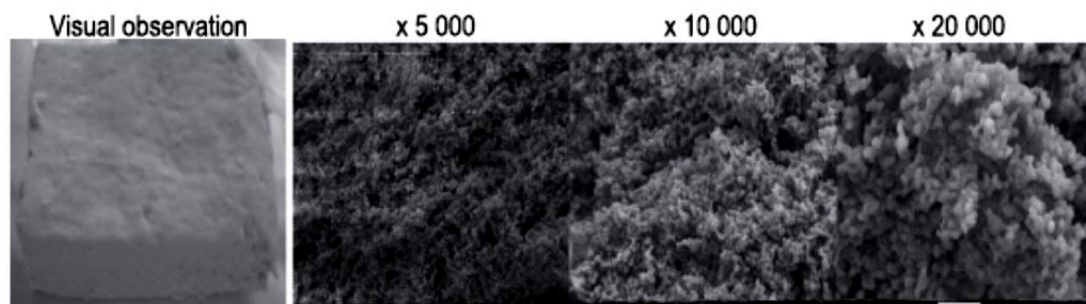
Fig. 4 shows the different structures of curds obtained with *Calotropis procera* extract (A) and chymosin (B). Visually, the color of curds was white when chymosin was used and slightly green with *Calotropis procera* extract. The consistency of both curds was slightly different. Curds obtained with *Calotropis procera* extract were more compact and curd than those obtained with chymosin. To explain these difference, the microstructure of curds were analyzed by scanning electron microscopy. For both curds, spherical particles were observed. Their sizes were evaluated to about 200 nm, which was in accordance with the micellar size (Horne, 2008). In spite of proteolysis previously described (Figs. 2 and 3), casein micelles were not destroyed but aggregated to form a network. The network seemed more compact in the curd obtained with *Calotropis procera* extract than those obtained with chymosin. For the chymosin gel, different black spaces corresponding to the aqueous phase were observed. In addition, the curd was more organized and regular than for that obtained with *Calotropis procera* extract.

## 4. Conclusion

The hydrolysis of casein micelles is the main event inducing milk coagulation by *Calotropis procera* extract. The mechanism was not so specific compared to that described for chymosin. For chymosin, the hydrolysis was specifically oriented on the  $\kappa$ -casein while with *Calotropis procera* extract, all casein molecules were proteolyzed. This unspecific proteolysis was probably due to the presence in the extract of several proteases. In spite of this qualitative difference in the proteolysis, the compositions in proteins and minerals of the whey liquids obtained either by *Calotropis procera* extract or chymosin were relatively similar. From the different contents, calculation of cheese yields and recovery of each



### A. Curd made with *Calotropis procera* extract



### B. Curd made with chymosin

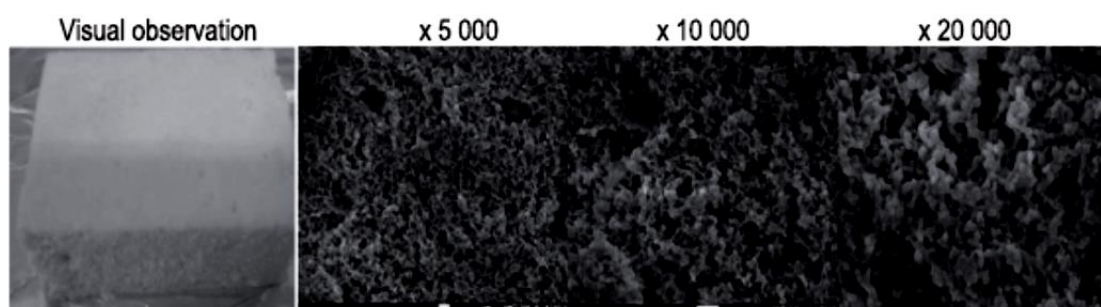


Fig. 4. Visual observation and scanning electron micrographs of the curds obtained with *Calotropis procera* extract and chymosin. Magnifications and scale bars are indicated for each pictures.

component (%) indicated also similar values between both types of curds. The microscopic analyses of the curds revealed small microstructural differences with a protein network more compact with *Calotropis procera* extract compared to those obtained with chymosin.

#### Acknowledgements

The authors thanks the Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest PPAAO-Niger for the financial support.

#### References

- Adetunji, V. O., & Babalobi, O. O. (2011). A comparative assessment of the nutritional contents of "wara" a West African soft cheese using *Calotropis procera* and *Cymbopogon citratus* as coagulants. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 11, 5573–5585.
- AFNOR (1989). Lait-Détermination des cendres-Méthode de référence Norme NF V04-208.
- Akinloye, A. M., & Adewumi, O. O. (2014). Effects of local coagulants on the yield of cheese using cow and sheep milk. *International Journal of Development and Sustainability*, 3, 150–161.
- Akinyosoye, V. O. (2006). Demand for dairy products in Nigeria: Evidence from the Nigerian living standards survey. *Journal of Economics and Rural Development*, 16, 13–26.
- Aworh, O. C., Kasche, V., & Apampa, O. O. (1994). Purification and some properties of Sodom-apple latex proteinases. *Food Chemistry*, 50, 359–362.
- Aworh, O. C., & Müller, H. G. (1987). Cheese-making properties of vegetable chymosin from Sodom Apple (*Calotropis procera*). *Food Chemistry*, 26, 71–79.
- Baba Moussa, F., Baba Moussa, L., Ahissou, H., Bokossa, I., Capo-Chichi, B., Toukourou, F., et al. (2007). Propriétés coagulantes de *calotropis procera* et ses possibilités d'utilisation en industrie agro-alimentaire. *Sciences et Médecine*, 5, 7–12.
- Brulé, G., Maubois, J. L., & Fauquant, J. (1974). Etude de la teneur en éléments minéraux des produits obtenus lors de l'ultrafiltration du lait sur membrane. *Lait*, 539–540, 600–615.
- Daigleish, D. G., & Law, A. J. R. (1989). PH-induced dissociation of bovine casein micelles. II. Mineral solubilization and its relation to casein release. *Journal of Dairy Research*, 56, 727–735.
- Dubey, V. K., & Jagannadham, M. V. (2003). Procerain, a stable cysteine protease from the latex of *Calotropis procera*. *Phytochemistry*, 62, 1057–1071.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. General Aspects* (Vol. 1). London, UK: Academic Press.
- Freitas, C. D. T., Leite, H. B., Oliveira, J. P. B., Amaral, J. L., Egipto, A. S., Vairo-Cavalli, S., et al. (2016). Insights into milk-clotting activity of latex peptidases from *Calotropis procera* and *Cryptostegia grandiflora*. *Food Research International*, 87, 50–59.
- Freitas, C. D., Oliveira, J. S., Miranda, M. R., Macedo, N. M., Sales, M. P., & Villas-Boas, L. A. (2007). Enzymatic activities and protein profile of latex from *Calotropis procera*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 781–789.
- Gaucheron, F. (2005). The minerals of milk. *Reproduction Nutrition Development*, 45, 473–483.
- Gaucheron, F., Mollé, D., & Panmetier, R. (2001). Influence of pH on the heat-induced proteolysis of casein molecules. *Journal of Dairy Research*, 68, 71–80.
- Holt, C. (1997). The milk salts and their interaction with casein. In P. F. Fox (Ed.), *Advanced Dairy Chemistry - Lactose, Water, Salts and Vitamins* (pp. 233–256). Vol. 3, Chapman & Hall, London.
- Holt, C., & Horne, D. S. (1996). The hairy casein micelle: Evolution of the concept and its implications for dairy technology. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 50, 85–111.
- Horne, D. S. (2008). Casein micelle structure and stability. In: Thompson A, Boland M, Singh H. *Milk Proteins: From Expression to Food*. Academic Press, New York, 133–162.
- IDF (1964). Détermination de la teneur en cendre des fromages fondus. Méthode de référence FIL-IDF 27A.
- IDF (1982). Fromages et fromages fondus-Détermination de l'extrait sec total. Méthode de référence FIL-IDF 4A.
- IDF (1987). Lait, Crème et Lait concentré non sucré. Détermination de la matière sèche. Méthode de référence FIL-IDF 21B.
- IDF (1993). Milk. Determination of nitrogen content, Part 1 and 2, International Standard FIL-IDF 20B.

- Mahajan, R. T., & Badgujar, S. B. (2010). Biological aspects of proteolytic enzymes: A review. *Journal of Pharmacy Research*, 3, 2048–2068.
- Mahajan, R. T., & Chaudhari, G. M. (2014). Plant latex as vegetable source for milk clotting enzymes and their use in cheese preparation. *International Journal of Advanced Research*, 2, 1173–1181.
- Mietton, B., Gaucheron, F., & Salaun-Michel, F. (2008). Minéraux et transformations fromagères. In *Gaucheron* (pp. 471–563). Paris: F. Minéraux et produits laitiers. Tec & Doc.
- O'Connor, C. B. (1993). *Traditional cheese making manual*. Addis Abeba, Ethiopia: International Livestock Center for Africa.
- Ogundiwon, J. O., & Oke, O. L. (1983). Factors affecting the processing of wara – A Nigerian white cheese. *Food Chemistry*, 11, 1–13.
- Olapido, I. C., & Jadesimi, P. D. (2013). Microbiological analysis and nutritional evaluation of West African soft cheese (wara) produced with different preservatives. *American Journal of Food and Nutrition*, 3, 13–21.
- Omoloshio, O. E., Obioh, G., & Iweala, E. E. J. (2011). Comparative effects of local coagulants on the nutritive value, in vitro multienzyme protein digestibility and sensory properties of Wara cheese. *International Journal of Dairy Science*, 6, 58–65.
- Oseni, O. A., & Ekperigin, M. M. (2013a). Partial characterization of proteolytic and milk clotting enzymes in Sodom apple *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Asclepiadaceae) plant. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 3, 256–263.
- Oseni, O. A., & Ekperigin, M. M. (2013b). Distribution of proteolytic and milk clotting enzymes in the plant of Sodom apple *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. (Asclepiadaceae). *International Journal of Biotechnology Research*, 1, 24–27.
- Ramos, M. V., Araújo, E. S., Jucá, T. L., Monteiro-Moreira, A. C. O., Vasconcelos, L. M., Moreira, R. A., et al. (2013). New insights into the complex mixture of latex cysteine peptidases in *Calotropis procera*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58, 211–219.
- Shah, M. A., Mir, S. A., & Paray, M. A. (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: A review. *Dairy Science and Technology*, 94, 5–16.
- Singh, A. N., & Dubey, V. B. (2011). Exploring applications of procerain B, a novel protease from *Calotropis procera*, and characterization by N-terminal sequencing as well as peptide mass fingerprinting. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164, 573–580.
- Singh, A. N., Shukla, A. K., Jagannadham, M. V., & Dubey, V. K. (2010). Purification of a novel cysteine protease, procerain B, from *Calotropis procera* with distinct characteristics compared to Procerain. *Process Biochemistry*, 45, 399–406.
- Singh, A. N., Yadav, P., & Dubey, V. K. (2013). cDNA Cloning and molecular modeling of procerain B, a novel cysteine endopeptidase isolated from *Calotropis procera*. *PLoS ONE*, 8, e59806.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. (2006). *Dairy science and technology*. Boca Ranton, USA: Taylor and Francis Group.



## Caractérisation physico-chimique des caillés obtenus en utilisant un extrait de *Calotropis procera* et comparaison avec une coagulation par la chymosine

Issa Ado Royanatorou<sup>1,2</sup>, Elhadji Gounga Mohamedou<sup>1</sup>, Gilles Garric<sup>3</sup>, Manièle Harel-Oger<sup>4</sup>, Ariette Leduc<sup>4</sup>, Julien Jardin<sup>4</sup>, Valérie Briard-Bion<sup>4</sup>, Chantal Cauty<sup>4,5</sup>, Hassane Adeski<sup>1</sup>, Jean François Grongeth<sup>6</sup>, Frédéric Gautheron<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'ÉLaf, Inra-Agrocampus Rennes, 63 rue de St-Brieuc, 33042 Rennes Cedex, France

<sup>2</sup>Agrocampus Ouest, 63 rue de St-Brieuc, 33042, Rennes Cedex, France

<sup>3</sup>Faculté d'Agronomie et des Sciences de l'Environnement, Université Dandioko Dankoulodo de Maradi, BP 465 ADS Maradi, Niger  
royanatorou.IssaAdo.@rennes.inra.fr ; frederic.gautheron@rennes.inra.fr

### Contexte socio-culturel

- En Afrique de l'Ouest, les différentes parties de l'arbuste *Calotropis procera* sont utilisées comme coagulant dans la fabrication d'un fromage local appelé « Wagashi » qui signifie en langue peulh « gâteau de lait ».
- Le wagashi est le fromage Ouest Africain par excellence compte tenu de l'importance de sa production et de l'aire géographique de sa distribution: Bénin, Nigéria, Ghana, Togo et leurs pays voisins.
- Sa fabrication se fait de manière artisanale et utilise un savoir faire empirique transmis de génération en génération.

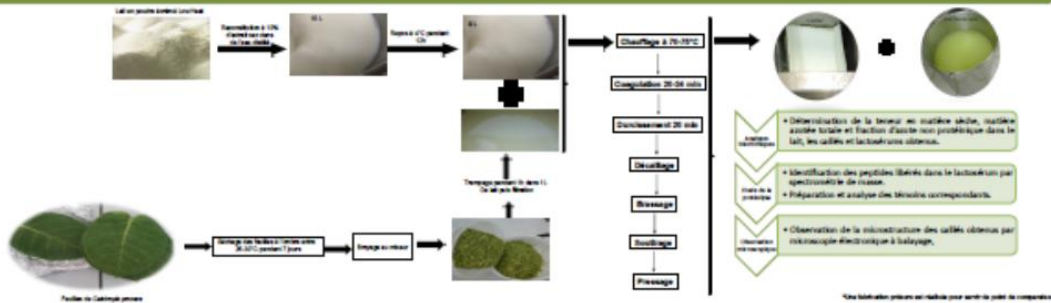
### Contexte scientifique

- La coagulation du lait est une étape importante en fromagerie car elle détermine la qualité du caillé et son aptitude à subir les opérations de soutirage, pressage, démoulage et affinage. (Fox et al., 2004)
- Les extraits végétaux sont connus pour leur pouvoir très protéolytique conduisant à des faibles rendements de fabrication et au développement d'amertume dans les produits. (Manzoor et al., 2002)
- Si beaucoup de travaux se sont intéressés à la purification et la caractérisation des protéases végétales, très peu se sont réellement intéressés à leur utilisation en fromagerie.

### Question de recherche

Quels sont les mécanismes de la coagulation du lait par les enzymes contenues dans l'extrait de feuilles séchées de *Calotropis procera*?  
Quels sont les caractéristiques structurales du caillé obtenu par coagulation du lait avec un extrait de *Calotropis procera*?

### Matériels et méthodes



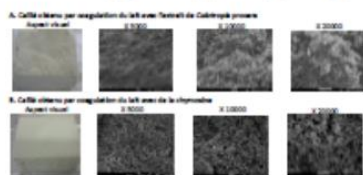
### Résultats et discussion

Analyse biochimique des laits utilisés et caillés/laitones obtenus après coagulation par l'extrait de *Calotropis procera* et de la chymosine. Les résultats présentés dans ce tableau sont les moyennes de 4 fabrications indépendantes pour chaque coagulant.

	pH	Sérum de Calotropis procera			
		Matière Sèche	Cendres	Acide Total	Acide Non Protéique
Lait	6,78	10,65	8,13	12,07	2,38
Caillé	+5,02	+7,42	+5,10	+5,18	+0,39
Mérou	+5,06	+10,14	+11,3	+11,10	+1,40
	+5,13	+11,71	+12,08	+12,13	+1,53
		Chymosine			
Lait	6,75	10,67	8,13	12,03	2,38
Caillé	+5,04	+7,33	+5,10	+5,18	+0,38
Mérou	+5,04	+10,71	+11,21	+11,81	+1,24
	+5,09	+11,40	+12,1	+12,1	+1,25
	+5,16	+11,71	+12,10	+12,17	+1,24

- Le caillé *Calotropis procera* présente des teneurs plus importantes en matière sèche, cendres et acide.

- Au-delà de ces différences, les deux caillés peuvent être considérés comme des caillés fortement calibrés.



- A fort grossissement, des particules de 200nm de diamètre (taille d'une micelle de caséine) sont identifiées dans chaque caillé. Le protéolysé ne correspond donc pas à une destruction complète des micelles mais plutôt à leur réorganisation pour former un réseau.

- Le réseau protéolysé, constitué d'amas de caséines, est plus dense dans le caillé obtenu par coagulation du lait avec l'extrait de *Calotropis procera*. Il est mieux structuré et moins dense dans le caillé présure.

Captures de microscopie électronique à balayage des caillés obtenus par coagulation avec l'extrait de *Calotropis procera* (A) et de la chymosine (B).

A. Peptides identifiés dans le surnageant d'ultrafiltration du lait caillé à 37°C (15 peptides provenant de v-CH 4)



- Les peptides identifiés dans le lactosérum *Calotropis procera* (90) sont plus nombreux que ceux identifiés dans le sérum correspondant (40) ce qui confirme l'hypothèse de la protéolyse des résidues de caséine et spécialement la caséine-κ.

B. Peptides identifiés dans l'ultrafiltrat de lactosérum après une régulation à l'extrait de *Calotropis procera* à 75°C (30 peptides provenant de v-CH 4)



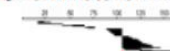
- Les peptides identifiés dans le lactosérum *Calotropis procera* sont aussi plus nombreux que ceux identifiés dans le lactosérum présure (25) ce qui suggère une protéolyse plus importante quand l'extrait de *Calotropis procera* est utilisé comme coagulant.

C. Peptides identifiés dans le surnageant d'ultrafiltration de lait caillé à 37°C (11 peptides provenant de v-CH 4)



- Le site de coupure 105-106 est identifiable dans la protéolysé oligomère mais on le retrouve aussi dans le cas de *Calotropis procera* en plus des autres sites de coupure non spécifiques.

D. Peptides identifiés dans l'ultrafiltrat de lactosérum après une régulation présure à 75°C (30 peptides provenant de v-CH 4)



- Peptides provenant de la caséine-κ identifiés dans le lactosérum et les laits mélangés correspondants.

### Conclusion et perspectives

L'hydrolyse de la caséine-κ est probablement à l'origine de la coagulation. Les extraits de feuilles séchées de *Calotropis procera* fournissent un caillé comparable à un caillé présure. Le but de ces travaux est de proposer à terme des itinéraires technologiques permettant de fabriquer des produits gélifiés à l'extrait de *Calotropis procera* acceptés par le consommateur Africain tout en optimisant les rendements de fabrication.

\*Fox, P. F., McSwiney R. L. H., Copan, T. M., & Galvez, T. R. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology General Aspects* (Volume 1). Academic Press, London, UK.  
 †Manzoor Ahmad Shah, Shamsi Ahmad Mir, Malik Amir Razaq (2014). Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheese making: a review. *Dairy Sci. and Technology* 94:005-016.  
 ‡Issa Ado Royanatorou, Elhadji Gounga Mohamedou, Gilles Garric, Manièle Harel-Oger, Ariette Leduc, Julien Jardin, Valérie Briard-Bion, Chantal Cauty, Hassane Adeski, Jean François Grongeth, Frédéric Gautheron. (2017) Physico-chemical characteristics of dairy gel obtained by a proteolytic extract from *Calotropis procera* - A comparison with chymosin. *Food Chemistry*, 232:505-512.

### Remerciements

Ces travaux ont été réalisés grâce au financement du Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest PPAO – Niger.





## Biochemical composition and mineral profile of dairy curds obtained by a plant extract of *Calotropis procera* in comparison with chymosin



Rayanatou Issa Ado<sup>AB</sup>, Mahamadou ElHadji Gounga<sup>C</sup>, Gilles Garric<sup>AB</sup>, Marielle Harel-Oger<sup>AB</sup>, Arlette Leduc<sup>AB</sup>, Chantal Cauty<sup>AB</sup>, Jean François Grongnet<sup>B</sup>, Frédéric Gaucheron<sup>AB\*</sup>  
<sup>\*UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, Inra-Agrocampus Rennes, 65 rue de St-Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France</sup>  
<sup><sup>B</sup>Agrocampus Ouest, 65 rue de St-Brieuc, 35042, Rennes Cedex, France</sup>  
<sup><sup>C</sup>Faculté d'Agronomie et des Sciences de l'Environnement, Université Dandicko Dankoulodo de Maradi, BP 465 ADS Maradi, Niger</sup>  
 rayan2000latou@yahoo.fr ; frederic.gaucheron@inra.fr

### Introduction

Cheese is used to preserve the essential constituents of milk (protein, fat, vitamin and minerals).<sup>[1]</sup> In West Africa, a traditional cheese named "wagashi" is manufactured using an extract of *Calotropis procera* leaves, a small latex tree growing naturally in tropical and subtropical areas of Africa and Asia.<sup>[2,3]</sup>

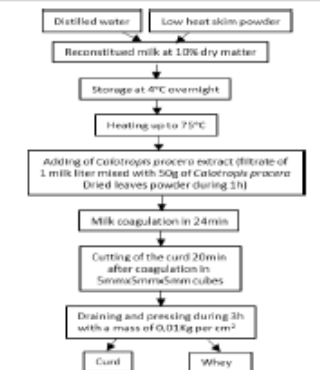


### Objectives

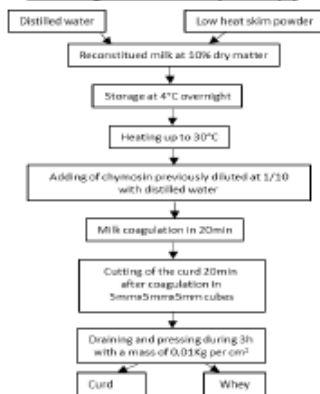
The aim of this work was to investigate the biochemical composition and mineral profile of curds manufactured using an extract of dried leaves of *Calotropis procera* as coagulant. The results obtained have been compared to those of control curds coagulated using chymosin.

### Materials and methods

#### Milk coagulation with *Calotropis procera* extract (A)



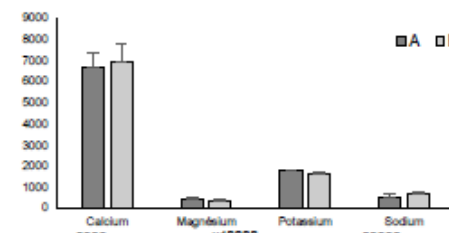
#### Milk coagulation with chymosin (B)



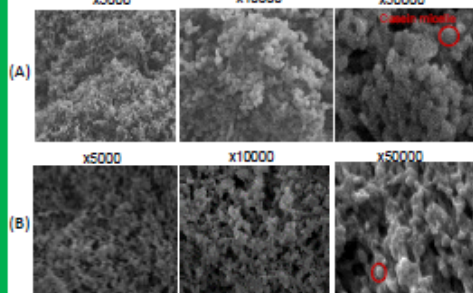
### Results and discussion

	A ( <i>Calotropis procera</i> )					
	pH (at 20°C)	Dry matter (g.Kg <sup>-1</sup> )	Ash (g.Kg <sup>-1</sup> )	Total nitrogen (g.Kg <sup>-1</sup> )	NCN (g.Kg <sup>-1</sup> )	NPN (g.Kg <sup>-1</sup> )
Milk	6.76±0.02 <sup>a</sup>	100.60±2.62 <sup>a</sup>	8.10±0.10 <sup>f</sup>	32.07±1.28 <sup>f</sup>	6.76±0.59 <sup>a</sup>	2.39±0.09 <sup>f</sup>
Curd	6.52±0.06 <sup>b</sup>	320.91±16.14 <sup>d</sup>	31.10±0.30 <sup>a</sup>	231.91±2.59 <sup>f</sup>	9.82±1.19 <sup>f</sup>	3.10±0.49 <sup>f</sup>
	B (Chymosin)					
	pH (at 20°C)	Dry matter (g.Kg <sup>-1</sup> )	Ash (g.Kg <sup>-1</sup> )	Total nitrogen (g.Kg <sup>-1</sup> )	NCN (g.Kg <sup>-1</sup> )	NPN (g.Kg <sup>-1</sup> )
Milk	6.73±0.04 <sup>a</sup>	100.97±0.20 <sup>a</sup>	8.15±0.20 <sup>f</sup>	33.50±0.89 <sup>f</sup>	7.32±1.02 <sup>a</sup>	2.16±0.06 <sup>f</sup>
Curd	6.69±0.04 <sup>b</sup>	305.75±9.31 <sup>a</sup>	25.52±1.25 <sup>a</sup>	207.84±16.81 <sup>f</sup>	7.84±1.70 <sup>a</sup>	1.83±0.28 <sup>f</sup>

The processed milks have similar composition. The contents in dry matter, ash and protein were more important in curd A than curd B.



The two curds exhibited the same contents in minerals.



The protein network seems more organized in the curd B compared to A.

Casein micelles were observed at high magnification in both curds.

### Conclusion

The curds manufactured with *Calotropis procera* extract exhibited a good content in protein and minerals. This conclusion leads to encourage traditional dairy products consumption for a good protein and mineral supplementation in populations whose diet is poor in these elements.

[1] Fox P. F. & McSweeney P. L. H., (2004), Cheese chemistry, physics and microbiology, Vol1, 1-15.

[2] J. O. Ogunlakin & O. L. Oke, (1983), Factors affecting the process of wara-a Nigerian white cheese, Food Chemistry, 11, 1-13.

[3] Lawal A.K. & Adedeji O.M., (2013), Nutritional and elemental analysis of warankasi (fermented product) sold in Lagos metropolis, International Journal of Biotechnology, 4, 112-116.

### Acknowledgments

The authors thanks the Programme de Productivité en Afrique de l'Ouest PPAO-Niger for the financial support.

3<sup>rd</sup> International Symposium on Minerals & Dairy Products  
 September 21-22, 2017, Wuji, China





## Dairy curd coagulated by a plant extract of *Calotropis procera*: role of fat structure on the biochemical and textural characteristics

Rayanatou Issa Ado<sup>1,2,3</sup>, Christelle Lopes<sup>1,2</sup>, Valérie Lechevalier<sup>1,2</sup>, Elhadji Goungou Mahamadou<sup>1</sup>, Marielle Harel-Oger<sup>1,2</sup>, Gilles Garric<sup>1,2</sup>, Jean François Grongnet<sup>2</sup>, Frédéric Gaucheron<sup>1,2,3</sup>  
<sup>1</sup>UMR 1253 Science et Technologie du Lait et de l'Œuf, Inra-Agrocampus Rennes, 63 rue de St-Brieuc, 35042 Rennes Cedex, France  
<sup>2</sup>Agrocampus Ouest, 63 rue de St-Brieuc, 35042, Rennes Cedex, France  
<sup>3</sup>Faculté d'Agronomie et des Sciences de l'Environnement, Université Dandoko Dandoulodo de Maradi, BP 463 ADS Maradi, Niger.  
 rayan2000atou@yahoo.fr ; frederic.gaucheron@inra.fr

### Introduction

- Calotropis procera* is a small latex tree growing in tropical and subtropical areas of Africa and Asia. Its latex from leaves and stems is used as coagulant in the manufacturing a traditional soft cheese named « wara » in West African countries like Nigeria, Benin, Togo and Ghana.
- In conventional cheese manufacturing, homogenization increases fat retention in curds and influences their textural characteristics.



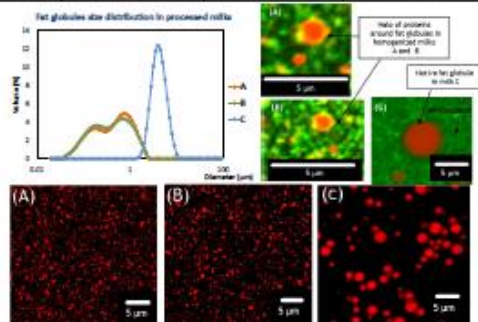
### Scientific questions

How does fat structure impacts on biochemical and textural characteristics of dairy curds coagulated with a plant extract of *Calotropis procera*?

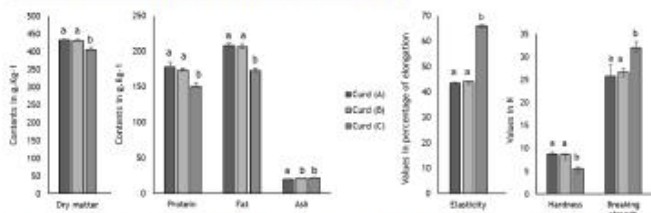
### Results and discussion

#### Processed milks characteristics

	Milk A	Milk B	Milk C
Dry matter (g.Kg <sup>-1</sup> )	133.5 ± 3.1	134.0 ± 4.0	133.3 ± 1.4
Ash (g.Kg <sup>-1</sup> )	8.3 ± 0.4	8.7 ± 0.2	8.3 ± 0.5
Fat (g.Kg <sup>-1</sup> )	35.5 ± 0.0	35.2 ± 0.3	35.0 ± 0.0
Protein (g.Kg <sup>-1</sup> )	21.0 ± 1.1	21.7 ± 0.7	22.1 ± 0.2



#### Biochemical and textural characteristics of curds

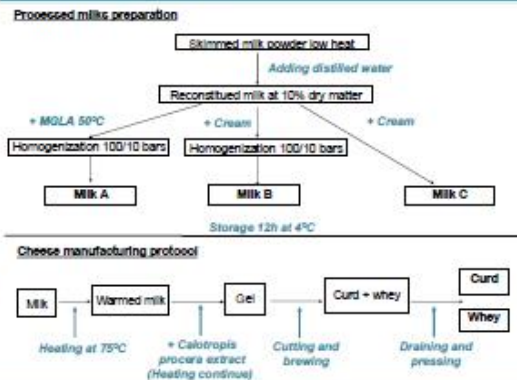


- The curd C have lower dry matter, proteins and fat contents compared to curds A and B. Ash contents of curds B and C are higher than in curd A probably because of use of cream for corresponding milks preparations.
- The curds A and B are more hard and friable but less elastic than curd C.

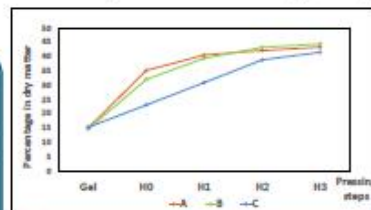
### Conclusion

- Homogenization significantly reduced the loss of fat during cheese manufacturing.
- Fat organization influenced structural and textural characteristics of the curds obtained using *Calotropis procera* extract as coagulant.

### Experimental schemes



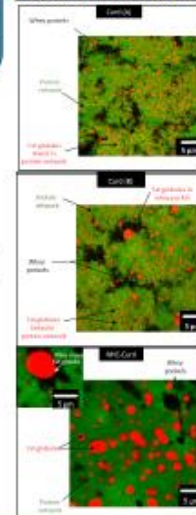
#### Evolution of dry matter in curds during pressing



- The biochemical characteristics of milks A, B and C are similar.
- Homogenization reduces the size of fat globules and creates a new fat globule membrane.

- Whey is released more quickly from A and B curds compared to C.

#### Microstructures of manufactured curds



- The fat globules are homogeneously distributed and well trapped in the protein network of curds A and B.
- The fat globules are located in whey pockets in curd C.



