

L'inactivation thermique de la lactoperoxydase, la phosphatase alcaline et la γ - glutamyltransférase du lait de chamelle

M. ALAOUI ISMAILI¹, M. ZAHAR¹, A. HAMAMA², B. SAIDI¹

(Reçu le 31/06/2017; Accepté le 19/09/2017)

Résumé

L'inactivation thermique de la phosphatase alcaline (PAL), la γ - glutamyltransférase transférase (GGT) et la lactoperoxydase (LP) dans le lait de chamelle a été évaluée après traitement thermique à des températures allant de 60 à 95°C pendant 30 s à 40 min. La PAL a été la plus thermorésistante, son activité dans les échantillons de lait de chamelle a été détectable même après un traitement de 85°C pendant 40 min. La GGT a été plus thermosensible que la PAL, inactivée totalement à 85°C pendant 2,5 min. Cependant, la LP a montré la thermosensibilité la plus élevée parmi les trois enzymes avec une inactivation totale à 80°C en moins d'une minute. L'utilisation d'un test impliquant la lactoperoxydase serait donc la méthode la plus adaptée pour le contrôle de la pasteurisation du lait de chamelle.

Mots-clés: Lactoperoxydase, lait de chamelle, γ - glutamyltransférase, phosphatase alcaline, traitement thermique.

Thermal inactivation of lactoperoxydase, alkaline phosphatase and γ -glutamyltransferase in camel milk

Abstract

Thermal inactivation of alkaline phosphatase (PAL), lactoperoxydase (LP) and γ -glutamyltransferase (GGT) in camel milk was evaluated after heat treatment at the temperature range of 60 to 95°C during 30 s to 40 min. PAL was the most heat resistant, its activity in camel milk samples was still detectable after treatment at 85°C for 40 min. GGT was more heat sensitive than PAL, completely inactivated at 85°C after 2.5 min treatment. Likewise, the LP showed the highest heat sensitivity among the three enzymes studied; its total inactivation was at 80°C in less than 1 min. The use of a test involving lactoperoxydase would be the most suitable control method for the reliability of camel milk pasteurization.

Keywords: Camel milk, γ - glutamyltransférase, heat treatment, lactoperoxydase, alkaline phosphatase.

INTRODUCTION

Le lait cru de chamelle peut contenir des bactéries dont certaines, notamment les salmonelles et les staphylocoques, sont réputées pathogènes pour l'homme (Ismaili *et al.*, 2016). Différents types de traitements thermiques sont mis en œuvre afin de répondre aux exigences réglementaires et d'assurer la salubrité et la sécurité du produit final destiné à la commercialisation et la consommation (Bonfoh *et al.*, 2002; Corniaux, 2005; Vilain, 2010). La pasteurisation du lait est un traitement thermique approprié permettant la destruction totale des germes pathogènes et la presque totalité de la flore banale qu'il contient tout en préservant ses caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques et sa valeur nutritive (Décret n° 2-00-425, 2000).

Au cours de ces traitements thermiques, certaines enzymes sont inactivées (Blél *et al.*, 2002; Zehetner *et al.*, 1996). La destruction de la phosphatase alcaline est utilisée comme marqueur classique d'une pasteurisation réussie du lait de vache (Fox et Mcsweeney, 1998; Lorenzen *et al.*, 2010; Schlimme *et al.*, 1997). Cependant, La PAL du le lait de chamelle est plus thermostable et son inactivation n'était pas totale après une pasteurisation classique, ce qui nous a

amené à juger que cette enzyme ne peut pas être retenue en tant que test pour le contrôle de l'efficacité de la pasteurisation (Male *et al.*, 2003). En revanche, d'autres enzymes citées dans peu d'études faites à l'échelle internationale, notamment la lacto-peroxydase, la γ -glutamyl-transférase et la leucine- arylamidase, ont été proposées pour vérifier l'efficacité de la pasteurisation du lait de chamelle (Lorenzo *et al.*, 2011; Tayefi-Nasrabadi *et al.*, 2011; Werney *et al.*, 2006; Werney *et al.*, 2007 ; Werney *et al.*, 2008). A l'échelle nationale, seule l'étude faite par Male *et al.*, (2003) s'est penchée sur l'aspect du contrôle enzymatique du lait camelin pasteurisé. L'objectif du présent travail est de compléter ces travaux par l'étude de l'inactivation thermique de la phosphatase alcaline, la lactoperoxydase et la γ - glutamyltransférase du lait de chamelle en vue de contrôler l'efficacité de la pasteurisation employée et de confirmer le test de la γ - glutamyltransférase proposé par Male *et al.*, (2003).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillons de lait de chamelle

Une dizaine d'échantillons de lait cru de chamelle, provenant d'élevages de trois régions du Maroc (Ain Aouda,

¹ Department of Food Science and Nutrition, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat-Instituts, Rabat, Morocco. Alaoui_maha@live.fr

² Department of Pathology and Veterinary Public Health (HIDAOA), Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat-Instituts, Rabat, Morocco.

El Jadida, Laayoune) ont été collectés aseptiquement dans des flacons stériles et transportés réfrigérés dans des glacières aux laboratoires de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II à Rabat.

Traitement thermique

Des prélèvements de 10 ml de chaque échantillon de lait de chamelle cru ont été transférés dans des tubes à essai fermés hermétiquement et placés dans un bain marie réglé à la température désirée.

Les couples temps-températures testés dans cette étude sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1: Intervalles des couples temps/température testés

Enzyme	Phosphatase alcaline	γ -glutamyl transférase	Lactoperoxydase
Température en °C	80-95	60-85	65-85
Temps	5-40 min	30 s-60 min	s-5 min

Dans le cas du test de la phosphatase alcaline, un tube est refroidi chaque 5 min pour qu'il soit testé, tandis que pour celui de la lactoperoxydase, un tube est testé chaque minute pour le traitement à 65°C et chaque 30 sec pour les traitements de 70 à 85°C.

Quant aux tests de la γ -glutamyl transférase, chaque 5 min pour les températures de 60 et 65°C, chaque 2 min pour 70°C, chaque minute pour 75°C et chaque 30 s pour les traitements de 80 et 85°C, les tubes sont retirés du bain marie, refroidis immédiatement dans la glace et dosés.

Tests enzymatiques

Test de la phosphatase alcaline

Ce test a été effectué selon la méthode semi-quantitative d'Aschaffenburg et Mullen (1949). Dans un tube à essai, 5 ml du lait thermisé est mélangé à 5 ml de réactif (0,15 g de para-nitrophényl phosphate disodique dans la solution tampon composée de 3,5 g de carbonate de soude anhydre et 1,5 g de bicarbonate de soude dans un litre), ensuite le tube est placé à 37°C pendant 2 min. La lecture des résultats est effectuée respectivement après 2 h et 2 h 30 min. En solution alcaline, le para-nitrophényl-phosphate disodique incolore est rapidement hydrolysé en para-nitrophénol, un composé jaune plus au moins intense selon l'importance de l'activité enzymatique exprimée. La couleur de l'échantillon est comparée aux différents teintes du comparateur de Lovibond et la valeur lue correspond directement à la quantité en microgrammes de nitrophénol libérés par millilitre de lait.

Tableau 2: Activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le lait de chamelle traité à différentes températures

Température en °C	Temps de traitement thermique en min							
	5	10	15	20	25	30	35	40
80	42 ^{+++*}	42 ⁺⁺⁺	42 ⁺⁺⁺	42 ⁺⁺	42 ⁺⁺	42 ⁺	42 ⁺	42
85	42 ⁺	25	25	18	18	10	6	6
90	6	0	0	0	0	0	0	0

(*) Les nombres correspondent à l'indication du voyant de Lovibond (en μ g nitrophénol libérés par ml lait)
Les '+' expriment l'intensité de la couleur de l'échantillon en la comparant avec l'étalon le plus élevé (42).

Test de la γ -glutamyltransférase

Ce test a été effectué selon la méthode rapide proposée par Male *et al.* (2003) et basée sur l'utilisation des bandelettes-substrat pour détecter la quantité de l'enzyme subsistante dans les laits traités. Des bandelettes d'une longueur de 8 cm et d'une largeur de 1 cm, imprégnées d'une solution de L-gammaglutamyl-p-nitroanilide (4,8 mM), ont été plongées dans le lait pendant 15 à 20 min. L'activité de l'enzyme se traduit par l'apparition d'une coloration jaune.

Test de la lactoperoxydase

Dans un tube, un volume de 2 ml du lait chauffé a été mélangé avec 2 ml d'une solution saturée de gaïacol et une goutte d'eau oxygénée. Les tubes ont été maintenus à une température de 20°C pendant 5 min. La formation d'une coloration rose indique que la lactoperoxydase est toujours active (Pien, 1945).

Dans une cuvette est ajouté à 0,05 ml du lait à examiner, 3 ml de la solution tampon (0,1 M citrate phosphate-borate, pH 6,5) et 0,15 ml du pyrogallol (200 mM). La réaction est initiée par l'ajout de 0,03 ml d'une solution d'eau oxygénée (61 mM). L'absorbance de la solution finale obtenue est mesurée à 430 nm par un spectrophotomètre UV-Visible (Jenway 7315, Staffordshire, UK). Une unité d'activité est définie par l'oxydation de 1 mol de pyrogallol par minute (Pruitt *et al.*, 1990).

Analyse statistique

Le tableur Excel a servi pour l'analyse des données concernant l'inactivation thermique de la lactoperoxydase. Des régressions linéaires et semi-logarithmiques ont été utilisées pour déterminer les constantes de vitesse et l'ordre de la réaction. Le temps décimal de réduction, (D_T) égale au temps nécessaire de réduire l'activité enzymatique initiale d'un cycle logarithmique et (Z) qui correspond à l'augmentation de la température nécessaire pour réduire D_T d'un cycle logarithmique ont été déterminés. De même, L'énergie d'activation (E_a) est calculée à partir de l'équation d'Arrhenius (Tayefi-Nasrabadi *et al.*, 2011).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Inactivation thermique des enzymes du lait de chamelle

Phosphatase alcaline

Le tableau 2 présente les résultats de l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans le lait de chamelle thermisé à différentes températures. Cette enzyme n'était pas complètement inactivée, même après un chauffage de 90°C pendant 5 min. Cependant, son inactivation totale

a été observée à 90°C pendant 10 min. Dans un travail précédent, Male *et al.*, (2003) ont observé une inactivation totale de cette enzyme dans le même lait à 82°C pendant 40 min. La phosphatase alcaline s'est montrée plus thermostable dans le lait de chamelle que dans le lait de vache où son inactivation complète est obtenue par une simple pasteurisation conventionnelle.

L'inactivation totale de la phosphatase alcaline a nécessité des barèmes de traitement thermique plus sévères que ceux appliqués dans la pasteurisation usuelle du lait de chamelle. Par conséquent, l'utilisation de l'épreuve de la phosphatase alcaline en tant que test rapide pour le contrôle de la pasteurisation du lait de chamelle et/ou l'ajout du lait cru au lait pasteurisé ne peut être envisagée.

γ -glutamyltransférase

Les données relatives à l'inactivation de la γ -glutamyltransférase dans le lait de chamelle thermiquement traité à différentes températures sont relatées dans le Tableau 3. Plusieurs barèmes ont été testés mais elle n'était totalement inactivée qu'après un chauffage adéquat de 85°C pendant au moins 2,5 min. Dans un travail antérieur, Male *et al.*, (2003) ont obtenu une inactivation de cette enzyme à partir d'une température de 70°C pendant 45 min. De même, dans une autre étude, Loiseau *et al.*, (2001) ont rapporté que La γ -glutamyltransférase est complètement détruite à une température de 79°C dans le lait de vache pendant 16 s et dans le lait de chamelle pendant 3 min. D'après nos résultats, la phosphatase alcaline s'est révélée la plus thermorésistante que les deux autres enzymes testées.

En se basant sur les résultats de l'inactivation thermique de la γ -glutamyltransférase (Tableau 3), on peut avoir recours à l'utilisation de cette épreuve dans le contrôle de l'efficacité de la pasteurisation du lait de chamelle pour les traitements au moins équivalent à 85°C/2,5 min.

Lacto-peroxydase

Les résultats de l'inactivation thermique de la lacto-peroxydase dans le lait de chamelle sont présentés dans le Tableau 4. Ils montrent que cette enzyme s'est montrée la plus thermosensible. Son inactivation complète a été observée après un traitement de 80°C en moins d'une minute. Cependant, Loiseau *et al.*, (2001); Male *et al.*, (2003) ont trouvé que la lacto-peroxydase était plus thermostable dans le lait de chamelle que dans le lait de vache. Dans une autre étude, Werney *et al.*, (2013) ont conclu que la recherche de cette enzyme dans le lait de chamelle thermisé pourrait servir comme test dans l'évaluation de l'efficacité de la pasteurisation.

Cinétique de l'inactivation thermique de la lactoperoxydase

Les résultats des essais de la stabilité des trois enzymes ont montré que la lactoperoxydase était la plus thermosensible. Par conséquent, une étude a été effectuée pour déterminer les paramètres cinétiques et thermodynamiques de son inactivation thermique. L'effet des différents couples de traitement thermique sur l'activité de la lactoperoxydase dans le lait cru de chamelle est présenté dans la Figure 1.

Tableau 4: Activité enzymatique de la lactoperoxydase dans le lait de chamelle traité avec différents couples températures-temps

Température en °C	Temps de traitement thermique en min									
	1	2	3	4	5	6	10	15	20	
60	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
65	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
70	++	+	+	+	+	+	-	-	-	-
75	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+++ Coloration très forte; ++ Coloration forte; + Coloration faible; - Absence de coloration

Tableau 3: Activité enzymatique de la γ -glutamyltransférase dans le lait de chamelle traité avec différents couples températures-temps

Température en °C	Temps de traitement thermique en min															
	0,5	1	1,5	2	2,5	3	4	5	10	15	20	25	30	40	50	60
60	+(*)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
85	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(*) +/- Signifient la présence ou l'absence de l'activité

La courbe $\ln(A\%) = f(t)$ obtenue est linéaire et concorde avec la cinétique d'inactivation du premier ordre. Les valeurs de D et Z obtenues ont confirmé celles rapportées dans des études antérieures (Marin *et al.*, 2003; Trujillo *et al.*, 2007; Tayefi-Nasrabadi et Asadpour, 2008; et Tayefi-Nasrabadi *et al.*, 2011). Ces auteurs ont conclu que la cinétique de l'inactivation thermique de la LP dans le lait de vache, chèvre, bufflonne et chamelle était d'ordre un.

Dans la cinétique de l'inactivation thermique, les paramètres $t_{1/2}$ (La demi-vie d'une réaction du premier ordre) et D sont souvent utilisés pour caractériser la stabilité d'une enzyme (Ünal et Şener, 2006). Le tableau 5 indique que la valeur de $t_{1/2}$ diminue rapidement quand la température augmente, ce qui confère à l'enzyme la caractéristique de la non stabilité thermique de la LP. Les temps nécessaires pour réduire l'activité de la LP à 50 % se rapprochaient et ne dépassaient pas 1 minute à des températures de 75 à 85°C. Ces temps étaient aussi respectivement de 2 et 6 min pour 70°C et 65°C. Des résultats semblables ont été rapportés par Tayefi-Nasrabadi *et al.* (2011) qui ont trouvé une inactivation de 50 % de lactoperoxydase après 8,1 min à 67°C, 5 min à 69°C et moins de 2 min pour 71°C et 73°C. L'inactivation était plus rapide à partir des températures supérieures à 75°C.

Les temps de réduction décimale étaient nettement différents. Nous avons constaté une différence de 15 min en passant de 65°C à 70°C, 3 min, de 70 à 75°C. Cependant, l'écart n'était que de quelques secondes quand le traitement est passé de 75 à 85°C. La valeur z obtenue dans ce cas est 10,9°C contre 6°C rapportée par Tayefi-Nasrabadi *et al.* (2011), ce qui explique la grande sensibilité de la LP vis-à-vis de la température (Barrett *et al.*, 1999).

En plus, les données obtenues ont été autrement exploitées pour générer l'énergie d'activation selon l'équation d'Arrhenius :

$$\ln K = \ln A - E_a / RT \quad (1)$$

Où K est la constante de vitesse d'inactivation $= 2,303/D_T$; A est une constante; E_a est l'énergie d'activation (cal/mol); R est la constante des gaz parfaits et T est la température (°K). D'autres données thermodynamiques ont été calculées selon l'équation de la théorie de la vitesse absolue:

$$k = k_B T h^{-1} e^{-(\Delta H^*/RT)} \cdot e^{(\Delta S^*/R)} \quad (2)$$

Où k_B est la constant de Boltzmann $= 1,30 \times 10^{-16}$ erg/°K, h la constante de Plank $= 6,63 \times 10^{-27}$ erg/s, ΔH^* est l'enthalpie d'activation ((cal/mol), ΔS^* est l'entropie d'activation (cal/mol.°K).

La relation entre ΔH^* et ΔS^* est donnée par

$$\Delta G^* = \Delta H^* - T\Delta S^* \quad (3)$$

Où ΔG^* est l'énergie libre d'activation (cal/mol) et la relation entre ΔG^* et E_a est donnée par

$$\Delta H^* = E_a - RT \quad (4)$$

Les paramètres thermodynamiques de l'inactivation calculés ont permis de fournir plus d'informations sur le comportement de l'enzyme, en particulier l'enthalpie libre ΔG^* qui seule peut déterminer le sens d'évolution du système réactionnel.

L'énergie d'activation E_a déterminée graphiquement par la loi d'Arrhenius était de 212 KJ/mol est relativement faible à celle trouvée par Tayefi-Nasrabadi *et al.*, (2011) qui ont rapporté une valeur de 349 KJ/mol.

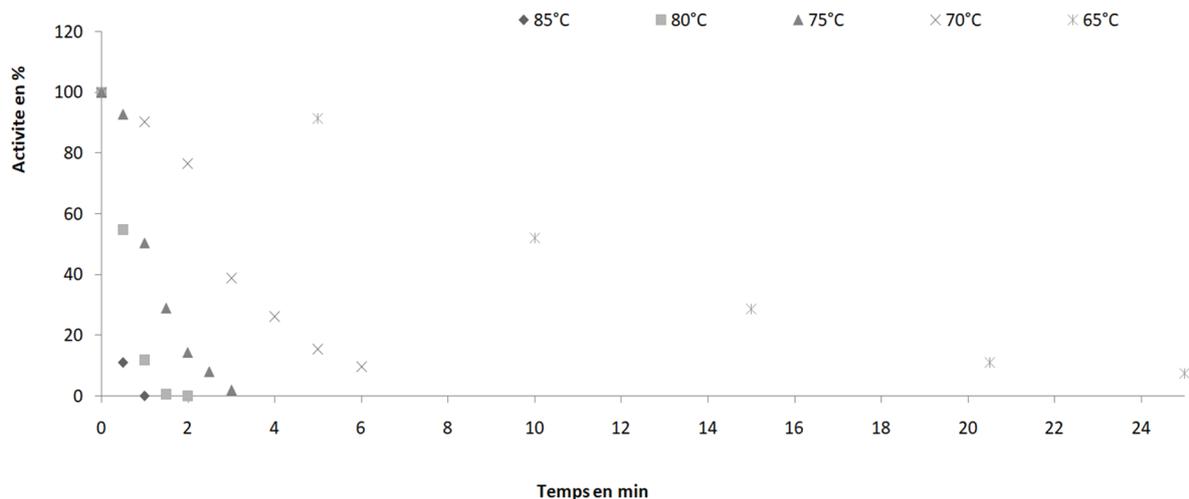


Figure 1: Effet de la température et du temps de traitement thermique du lait de chamelle sur l'activité de la lactoperoxydase

Tableau 5: Paramètres cinétiques estimés de l'inactivation thermique de la lactoperoxydase du lait de chamelle

T (°C)	K (min ⁻¹)	R ²	t _{1/2} (min)	D (min)	E _a (kJ.mol ⁻¹)	Z (°C)
85	6,98	0,96	0,1	0,33	212,7	10,9
80	4,14	0,93	0,17	0,56		
75	1,28	0,95	0,54	1,79		
70	0,41	0,96	1,67	5,56		
65	0,11	0,96	6,14	20,4		

L'énergie libre de Gibbs (ΔG) est considérée comme une fraction de l'énergie totale impliquée dans l'inactivation de l'enzyme. Quant à la variation d'enthalpie (ΔH), elle mesure le nombre de liaisons détruites durant l'inactivation alors que celle d'entropie (ΔS) dévoile le désordre du système enzyme-solvant.

Cependant, les paramètres thermodynamiques obtenus pour des températures comprises entre 65 et 85° montrent que l'enthalpie est indépendante de la température, indiquant qu'il n'y a pas de changement dans la capacité thermique de l'enzyme. La valeur moyenne de ΔH trouvée, 209 kJ.mol⁻¹ est inférieure à la valeur 346 kJ.mol⁻¹ rapportée par Tayefi-Nasrabadi *et al.*, (2011). Gouzi, (2014) a montré que plus ΔH est élevée, plus grand le nombre des liaisons non covalentes stable dans la molécule d'enzyme. De même, la valeur de ΔG est directement liée à la stabilité. En effet, quand ΔG est élevée, l'enzyme se montrait plus stable. Nous avons constaté que l'augmentation de la température de 65 à 85°C a provoqué une diminution des valeurs de ΔG de 893 à 824 kJ.mol⁻¹ indiquant une déstabilisation de la LP dans son système réactionnel (Tableau 6).

CONCLUSION

La phosphatase alcaline du lait de chamelle a montré une grande stabilité aux traitements thermiques étudiés, son inactivation n'a été obtenue qu'à partir de 85°C pendant 40 min. Ce barème de traitement thermique est supérieur à ceux appliqués usuellement dans la pasteurisation du lait de chamelle. Par conséquent, l'utilisation de l'épreuve de la phosphatase alcaline en tant que test rapide pour le contrôle de la pasteurisation de ce type de lait pasteurisé n'est pas faisable.

La γ - glutamyltransférase n'a pas été totalement inactivée après une thermisation de 70°C pendant 40 min ou à 80°C pendant 10 min. En revanche, nous avons obtenu une inactivation complète à 85 °C pour une durée supérieure ou égale à 2,5 min, permettant ainsi de conclure que la γ - glutamyl transférase pourrait être un indicateur d'une pasteurisation appropriée.

L'inactivation totale de la lactoperoxydase (LP) a été observée à partir de traitements thermiques équivalents ou supérieurs à 72°C pendant 2 min. Cette thermo-sensibilité a été confirmée par la détermination des paramètres cinétiques et thermodynamiques de son inactivation thermique. Nous pensons que le dosage de la LP dans le lait de chamelle pasteurisé servirait comme méthode adéquate dans le contrôle de l'efficacité de la pasteurisation.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le Ministère d'Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts, Maroc. Les auteurs tiennent à remercier la Direction Régionale d'Agriculture de Laayoune-Sakia El-Hamra pour sa collaboration.

RÉFÉRENCES

- Aschaffenburg A., Mullen G. (1949). A rapid and simple phosphatase test for milk. *Journal of Dairy Research*, 16: 58-67.
- Barrett N.E., Gryison A.S., Lewis M.J. (1999). Contribution of the lactoperoxidase system to the keeping quality of pasteurized milk. *Journal of Dairy Research*, 66: 73-80.
- Blel M., Guingamp M. F., Gaillard J. L., Humbert G. (2002). Studies on the thermal sensitivity of gamma glutamyl transpeptidase measured with a modified test procedure and compared with that of alkaline phosphatase and lactoperoxidase in milk. *Lait*, 82: 555-566.
- Bonfoh B., Fané A., Steinmann P. (2002). Lait sain pour le Sahel. Atelier de restitution des résultats, Bamako, Mali. LCV/INSAH-STI/ETHZ 44.
- Décret n° 2-00-425 (2000). Décret n° 2-00-425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la production et de la commercialisation du lait et produits laitiers. *Bulletin Officiel* n°4862 du 04/02/2001, 121-126.
- Corniaux C. (2005). Gestion technique et gestion sociale de la production laitière: les champs du possible pour une commercialisation durable du lait, Thèse de Doctorat, Université de Paris.
- Fox, P.F., Mcsweney, P.L.H. (1998). Enzymology of milk and milk products. *Dairy chemistry and biochemistry*, ed. London: Blackie Academic and Professional, 317-346.
- Gouzi H. (2014). Extraction et caractérisation biochimique des polyphénols oxydases de champignons et leur application en biocatalyse supportée. Thèse de Doctorat de L'université Pierre Et Marie Curie. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01158909/document>
- Ismaili A.M., Saidi B., Zahar M., Hamama A., Ezzaier R. (2016). Composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2016.12.001>
- Loiseau G., Faye B., Serikbaeva A., Montet D. (2001). Enzymes ability to serve as markers of pasteurized camel milk. Int. Conf. on new horizons in biotechnology, Trivandrum (Inde).
- Lorenzen P.Ch., Martin D., Clawin-Rädecker I., Barth K., Knapstein K. (2010). Activities of alkaline phosphatase, g-glutamyltransferase and lactoperoxidase in cow, sheep and goat's milk in relation to heat treatment. *Small Ruminant Research*, 89:18-23.

Tableau 6: Paramètres thermodynamiques de l'inactivation thermique de la lactoperoxydase

Températures en °C	H (KJ.mol ⁻¹)	G (KJ.mol ⁻¹)	S (J.mol ⁻¹ K ⁻¹)
85	209,7	824,4	355,5
80	209,8	827,8	359,7
75	209,8	849,5	358,8
70	209,8	869,1	358,4
65	209,9	892,6	356,9

- Lorenzen P. Chr., Wernery R., Johnson B., Jose Sh., Wernery U. (2011). Evaluation of indigenous enzyme activities in raw and pasteurised camel milk. *Small Ruminant Research*, 97: 79–82.
- Male M., Franck S.G.V., Bengoumi M. (2003). Contrôle enzymatique de la pasteurisation du lait de chamelle et mise au point d'un test pratique. In *Lait de chamelle pour l'Afrique*. Rome, 2: 101-111.
- Marin E., Sanches L., Perez M.D., Puyol P., Calvo M. (2003). Effect of heat treatment on bovine lactoperoxidase activity in skim milk: kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Food Science*, 68: 89-93.
- Pien J. (1945). Le contrôle de la pasteurisation du lait et de la crème. *Lait*, 25: 311-320.
- Pruitt K.M., Kamau D.N., Miller K., Mansson-Rahemtulla B., Rahemtulla F. (1990). Quantitative, standardized assays for determining the concentrations of bovine lactoperoxidase, human salivary peroxidase and human myeloperoxidase. *Analytical Biochemistry*, 191: 278-286.
- Schlimme E., Kiesner C., Lorenzen P. C., Martin D. (1997). Chemical process parameters for thermal inactivation of alkaline phosphatase in milk. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 9: 207-219.
- Tayefi-Nasrabadi H., Asadpour R. (2008). Effect of heat treatment on buffalo (*Bubalus bubalis*) lactoperoxidase activity in raw milk. *Journal of Biological Sciences*, 8 :1310-1315.
- Tayefi-Nasrabadi H., Hoseinpour-fayzi M.A., Mohasseli M. (2011). Effect of heat treatment on lactoperoxidase activity in camel milk: a comparison with bovine lactoperoxidase. *Small Ruminant Research*, 99: 187-190.
- Trujillo A.J., Pozo P.I., Guamis B. (2007). Effect of heat treatment on lactoperoxidase activity in caprine milk. *Small Ruminant Research*, 67: 243-246.
- Ünal M.Ü., Şener A. (2006). Determination of some biochemical properties of polyphenol oxidase from Emir grape (*Vitis vinifera* L. cv. Emir). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2374-2379.
- Vilain A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait?. *Revue française d'allergologie*, 50: 124-127.
- Wernery U., Maier U., Johnson B., George R. M., Braun F. (2006). Comparative study on different enzymes evaluating heat treatment of dromedary milk. *Milchwissenschaft*, 61: 281-285.
- Wernery U., Johnson B., George R.M., (2007). Gamma-glutamyl transferase (GGT), a potential marker for the evaluation of heat treatment of dromedary milk. *Journal of Camel Practice and Research*, 14: 9-19.
- Wernery U., Fischbach St., Johnson B. et Jose Sh. (2008). Evaluation of alkaline phosphatase, γ -glutamyl transferase and lactoperoxidase activities for their suitability as markers of camel milk heat inactivation. *Milchwissenschaft*, 63: 265-267.
- Wernery U., Wernery R., Masko O., Johnson B. Gnanaraj B., Jose S., Lorenzen P. C. (2013). Lactoperoxidase: a suitable enzymatic marker of camel milk pasteurisation. *Journal of Camel Practice and Research*, 20: 35-38.
- Zehetner G., Bareuther C., Henle T., Klostermeyer H. (1996). Inactivation of endogenous enzymes during heat treatment of milk. *Nederlands Melk-En Zuiveltijdschrift*, 50: 215-226.