

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEM

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire : Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et activités biologiques

MÉMOIRE

Présenté par

KADRI Amane Allah

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Sciences Biologiques

Spécialité: Biochimie

Sujet

**Contribution à la valorisation de l'activité
biologique d'un fromage à pate dure**

Soutenu le 20/06/2023, devant le jury composé de :

Présidente M^{me} BOUCHERIT Z.	Professeur	Université Tlemcen
Encadrant M^{me} MEDJDOUB H.	MCB	Université Tlemcen
Examinatrice M^{me}BOUALI W.	MCA	Université Tlemcen

Année universitaire : 2022 – 2023

ملخص

يوفر الجبن العديد من الفيتامينات لأجسامنا. إنه مصدر للكالسيوم، الفوسفور، له خصائص مناعية وتأثيرات بيولوجية أخرى.

مع وضع ذلك في الاعتبار، تركز هذه الدراسة على تقييم الخصائص المضادة لمرض السكري لنوعين من الجبن الصلب، **Edam** و **Gouda**. كنا مهتمين بشكل خاص بقدرتهم على تثبيط إنزيم α -أميلاز.

تم تحضير مستخلصين من هذه الأجبان باستخدام محلول عازل للفوسفات (0.02 M ، pH 6.9). يتم اختبارها وتوصيفها. تظهر النتائج درجة حموضة قدرها 5.49 و 5.95 لـ **Edam** و **Gouda** على التوالي. البروتينات حوالي 9.14 0.38% لـ **Edam** و 4.56 0.02% لـ **Gouda**.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها تأثيراً مثبطاً لـ α -أميلاز، حيث تبلغ قيم **IC50** 70.66 ملغم/مل لـ **Edam** و 49.29 ملغم/مل لـ **Gouda**. يعتبر هذا التأثير المثبط معتدلاً مقارنة بالعديد من المثبطات الأخرى، بما في ذلك أكاربوز، وهو جزيء مرجعي في هذه الدراسة مع **IC50** قدرها 16.0 ملجم/مل، والذي له تأثير أكبر بكثير من المستخلصات.

في الختام، تكشف نتائج هذه الدراسة عن تأثير مثبط معتدل لـ α -أميلاز عن طريق مستخلصات محضرة من أجبان إيدام وجودة.

الكلمات الرئيسية: **α -amylase**، السكري، ارتفاع سكر الدم بعد الأكل، الجبن الصلب،

Gouda ،Edam

Résumé

Le fromage apporte de nombreuses vitamines à notre organisme. Il est source de calcium, de phosphore, détient des propriétés immunostimulantes et possède d'autres effets biologiques.

Dans cette optique, cette étude porte sur l'évaluation des propriétés antidiabétiques de deux types de fromages à pâte dure, l'Edam et le Gouda. Nous nous sommes particulièrement intéressés à leur capacité à inhiber l'enzyme α -amylase.

Deux extraits ont été préparés à partir de ces fromages en utilisant une solution tampon phosphate (0,02 M, pH 6,9). Ils sont testés et caractérisés. Les résultats montrent un pH de 5,49 et 5,95 pour l'Edam et le Gouda respectivement. Les protéines sont de l'ordre de $9,14 \pm 0,38$ % pour l'Edam et $4,56 \pm 0,02$ % pour le Gouda.

Les résultats obtenus démontrent un effet inhibiteur de l' α -amylase, avec des valeurs d'IC₅₀ de 70,66 mg/ml pour l'Edam et de 49,29 mg/ml pour le Gouda. Cet effet inhibiteur est considéré comme modéré par rapport à plusieurs autres inhibiteurs, y compris l'Acarbose, une molécule de référence de cette étude ayant une IC₅₀ de 0,16 mg/ml, qui a un effet significativement supérieur par rapport aux extraits.

En conclusion, les résultats de cette étude révèlent un effet inhibiteur modéré de l' α -amylase par les extraits préparés à partir des fromages Edam et Gouda.

Mots clés : α -amylase, diabète, hyperglycémie postprandiale, fromage à pâte dure, Edam, Gouda

Abstract

Cheese provides many vitamins to our body. It is a source of calcium, phosphorus, has immunostimulant properties and has other biological effects.

With this in mind, this study focuses on the evaluation of the antidiabetic properties of two types of hard cheese, Edam and Gouda. We were particularly interested in their ability to inhibit the α -amylase enzyme.

Two extracts were prepared from these cheeses using a phosphate buffer solution (0.02 M, pH 6.9). They are tested and characterized. The results show a pH of 5.49 and 5.95 for Edam and Gouda respectively. The proteins are around $9.14\pm 0.38\%$ for Edam and $4.56\pm 0.02\%$ for Gouda.

The results obtained demonstrate an inhibitory effect on α -amylase, with IC₅₀ values of 70.66 mg/ml for Edam and 49.29 mg/ml for Gouda. This inhibitory effect is considered moderate compared to several other inhibitors, including Acarbose, a reference molecule in this study with an IC₅₀ of 0.16 mg/ml, which has a significantly greater effect compared to extracts.

In conclusion, the results of this study reveal a moderate inhibitory effect of α -amylase by the extracts prepared from Edam and Gouda cheeses.

Key words: α -amylase, diabetes, postprandial hyperglycemia, hard cheese, Edam, Gouda

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Allah pour m'avoir accordé la force et la détermination nécessaires pour atteindre mes objectifs.

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à mon encadrante, **M^{me} MEDJDOUB H.** Maître de conférences B au département de Biologie de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, qui a été bien plus qu'une guide professionnelle pour moi. Votre expertise, votre mentorat, votre soutien et votre patience ont été d'une valeur inestimable. Votre passion et votre dévouement ont été une source d'inspiration constante. Je vous suis profondément reconnaissant de m'avoir guidé et je vous remercie du fond du cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*Je tiens également à remercier chaleureusement **M^{me} BOUCHERIT OTMANI Zahia.** Responsable du Master Biochimie, professeur à l'université de Tlemcen, faculté SNV-STU, présidente de ce jury ; mes remerciements vont également à **M^{me} BOUALI W.** Maître de conférences A au département de Biologie de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. L'examinatrice, qui ont consacré leur temps, leur expertise et leur attention à évaluer ma soutenance, je tiens à exprimer ma profonde gratitude. Votre présence et vos commentaires sont essentiels pour enrichir mon travail et me permettre de progresser. Votre engagement envers l'excellence académique et votre contribution à mon parcours universitaire sont inestimables. Je vous remercie sincèrement pour cette précieuse opportunité et pour avoir fait de cette expérience un moment significatif de ma vie.*

Enfin, je souhaite exprimer ma reconnaissance à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen et à la faculté SNV-STU pour offrir un environnement propice à l'apprentissage et à la recherche, ainsi que pour leur engagement envers l'excellence académique.

AmaneAllah Kadri

Dédicaces

À ma chère mère, mon pilier de force et source inépuisable d'amour. Merci d'avoir été là à chaque étape de ma vie, pour ton soutien inconditionnel et tes encouragements sans faille. Tu es le cœur qui guide mes pas, et je suis profondément reconnaissant de t'avoir comme mère. Je t'aime plus que les mots ne peuvent l'exprimer.

À mon cher père, mon modèle de force et de sagesse. Tes valeurs, ta persévérance et ta bienveillance ont été une inspiration constante pour moi. Grâce à toi, j'ai appris à affronter les défis avec détermination et à toujours poursuivre mes rêves. Je suis fier d'être ton fils et je te remercie pour tout l'amour que tu as toujours donné. Je t'aime du plus profond de mon cœur.

À ma sœur bien-aimée, ma confidente et ma complice de tous les instants. Nos liens sont indestructibles, et chaque moment partagé avec toi est une source de joie et de bonheur. Tu es une source d'inspiration pour moi, et je suis reconnaissant d'avoir une sœur aussi extraordinaire. Je t'aime énormément.

Liste des tableaux

Tableau 1: Quelques propriétés de différents types d' α -amylase.....	19
Tableau 2: Divers inhibiteurs et activateurs (organique et ions métalliques) de l' α -amylase..	22
Tableau 3: Quelques exemples d'inhibiteurs naturels de l' α -amylase.....	23
Tableau 4: Quelques exemples d'inhibiteurs synthétiques.....	24
Tableau 5 : les quatre autres classes du diabète.....	27
Tableau 6: Quelque antidiabétiques oraux ou injectables non insuliniques.....	33
Tableau 7: Valeurs nutritionnelles dans 100g d'Edam.....	42
Tableau 8: Valeurs nutritionnelles du Gouda par portion de 100g.....	44
Tableau 9 : La gamme de tubes et leurs contenus ce qui nous avons utilisé.....	55
Tableau 10 : composition physico-chimique des extraits, d'Edam et de Gouda.....	57
Tableau 11 : Les différentes valeurs d'IC ₅₀ qui ont rapporté par plusieurs études (Dans la fourchette mentionnée selon Kim et al. (2018) et Zhang et al. (2018)).....	62
Tableau 12 : Les différentes valeurs d'IC ₅₀ qui ont rapporté par plusieurs études (Dans la fourchette mentionnée selon Wijngaard et al. (2015)).....	63
Tableau 13 : Evaluation des valeurs des IC ₅₀ de différents extraits et de l'Acarbose.....	64

Liste des figures

Figure 1: Structure tridimensionnelle de l' α -amylase.....	16
Figure 2: Six structures d' α -amylases en fonction de leurs origins.....	17
Figure 3: Les complications du diabète.....	31
Figure 4: Classification et caractéristique des fromages.....	38
Figure 5 : Les fromages qui ont été étudiés.....	49
Figure 6: les valeurs obtenues lors de l'utilisation du pH-mètre.....	55
Figure 7 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine.....	58
Figure 8 : La coloration des tubes après l'ajout du DNSA.....	56
Figure 9 : Effet inhibiteur de l'extrait d'Edam sur α -amylase.....	60
Figure 10 : Effet inhibiteur de l'extrait du Gouda sur α -amylase.....	61
Figure 11 : Effet inhibiteur de l'Acarbose sur l' α -amylase.....	64

Table des matières

I. Introduction.....	14
II. synthèse bibliographique	
Chapitre I : α-amylase et diabète	
I. α-amylase	
1. Définition et fonctions de l'α-amylase.....	15
2. Structure et classification de l'α-amylase.....	15
2.1. Structure moléculaire générale et composition de l'α-amylase.....	15
2.2. Classification et types d'enzymes alpha-amylases.....	16
2.2.1. α-amylases microbiennes.....	17
2.2.1.1. α-amylases bactériennes.....	17
2.2.1.2. α-amylases fongiques.....	18
2.2.2. α-amylases végétales.....	18
2.2.3. α-amylases animales.....	18
2.2.3.1. α-amylase salivaire.....	18
2.2.3.2. α-amylase pancréatique.....	18
2.2.3.3. α-amylase lysosomale.....	19
3. Mécanisme d'action de l'α-amylase.....	20
3.1. Attaque aléatoire.....	20
3.2. Attaque multiple ou répétitive.....	20
3.3. Mécanisme uni-chaine.....	20
3.4. Mécanisme multi-chaine.....	20
4. Caractéristiques générales.....	20
4.1. Température.....	21
4.2. pH.....	21
4.3. Concentration du substrat.....	21
4.4. Concentration enzymatique.....	21
4.5. Molécules organique et ions métalliques.....	21
5. Inhibition de l'α-amylase.....	22
5.1. Inhibiteurs naturels.....	22
5.2. Inhibiteurs synthétiques.....	23
6. Implications thérapeutiques de l'inhibition de l'α-amylase.....	24
6.1. Contrôle de la glycémie et traitement du diabète.....	24
6.2. Gestion du poids et prévention de l'obésité.....	24

6.3. Prévention des caries dentaires.....	25
6.4. Prévention des maladies cardiovasculaires.....	25
6.5. Amélioration de la fonction pancréatique.....	25
6.6. Contrôle de la maladie parodontale.....	25
II. diabète sucré	
1. Définition du diabète.....	26
2. Symptômes.....	26
3. Classification.....	26
3.1. Diabète de type 1.....	26
3.2. Diabète de type 2.....	27
4. Facteurs de risque du diabète.....	29
5. Critère de diagnostic du diabète.....	29
5.1. Un taux d'hémoglobine glyquée ou glycosylée (HbA1c) de 6,5 % u plus.....	29
5.2. Glycémie à jeun (GPA) de 126 mg/dL ou plus.....	29
5.3. L'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO).....	29
5.4. Glycémie aléatoire (GPA) de 200 mg/dL ou plus avec les symptômes classiques de l'hyperglycémie.....	30
6. Complications.....	30
6.1. Complications microvasculaires.....	31
6.1.1. Rétinopathie diabétique.....	31
6.1.2. Néphropathie diabétique.....	31
6.1.3. Neuropathie diabétique.....	32
6.2. Complications macrovasculaires.....	32
6.2.1. Maladies cardiovasculaires (CVD).....	32
6.2.2. Maladies artérielles périphériques (PAD).....	32
6.2.3. Accidents vasculaires cérébraux (AVC).....	32
7. Traitement.....	33

Chapitre II : De l'histoire ancienne à la science moderne : Le monde du fromage

1. Histoire du fromage et de son évolution.....	35
2. Production de fromage et procédés de fabrication.....	36
2.1. Transformation du lait.....	36
2.1.1. Traitement du lait.....	36

2.1.2. La standardisation du lait.....	36
2.1.3. Pasteurisation.....	36
2.1.4. Ensemencement.....	36
2.2. Coagulation.....	37
2.3. Manipulation du caillé.....	37
2.3.1. Découpage du caillé.....	37
2.3.2. Égouttage du lactosérum.....	37
2.3.3. Pressage du caillé.....	37
2.3.4. Cuisson du caillé.....	37
2.3.5. Salage.....	37
2.3.6. Façonnage.....	38
2.4. Affinage.....	38
3. Classification du fromage (Types de fromages et leurs caractéristiques).....	38
3.1. Fromage frais.....	39
3.2. Fromage à pâte molle.....	39
3.3. Fromages à pâte pressée.....	39
3.3.1. Fromages à pâte pressée cuite.....	39
3.3.2. Fromages à pâte pressée non cuite.....	40
3.3.3. Autre classification.....	40
3.3.3.1. Fromage à pâte dure.....	40
3.3.3.2. Fromage à pâte demi-dure.....	40
3.4. Fromage bleu.....	41
4. Valeur nutritionnelle du fromage.....	41
4.1. La valeur nutritionnelle d'Edam.....	42
4.1.1. Protéines.....	42
4.1.2. Matières grasses.....	43
4.1.3. Vitamines.....	43
4.1.4. Minéraux.....	43
4.1.5. Autres composants.....	44
4.2. Valeur nutritionnel du Gouba.....	44
4.2.1. Protéines.....	45
4.2.2. Matières grasses.....	45
4.2.3. Vitamines.....	45
4.2.4. Minéraux.....	45
4.2.5. Autres composants.....	45

5. Microbiologie du fromage.....	46
5.1. Rôle des micro-organismes dans la production de fromage.....	46
5.1.1. Bactéries lactiques (LAB).....	46
5.1.2. Champignons.....	46
5.1.2.1. Les levures.....	46
5.1.2.2. Les moisissures.....	47
5.1.3. Autres micro-organismes.....	47
5.2. Microbiologie des deux fromages sélectionnés : Edam et Gouda.....	47
5.2.1. Edam.....	47
5.2.2. Gouda.....	48
6. Biochimie du fromage.....	48
6.1. Protéines et matières grasses.....	48
6.2. Les enzymes et les micro-organismes.....	48

III. Partie expérimentale

A. Matériels et méthodes

1. Objectif.....	49
2. Fromage.....	49
3. Préparation des extraits des fromages (Edam et Gouda).....	49
4. Caractérisation des fromages.....	50
4.1. Mise en évidence des acides aminés par l'utilisation de la ninhydrine.....	50
4.2. Mesure de pH.....	50
4.3. Détermination de la concentration massique.....	51
5. Dosage des protéines.....	51
5.1. Principe.....	51
5.2. Dosage.....	51
5.3. Expression des résultats.....	52
6. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits fromagère sur l'α-amylase.....	53
6.1. Préparation des solutions.....	53
6.1.1. Solution tampon phosphate (0,02M ; pH=6,9).....	53
6.1.2. Solution d'α-amylase.....	53
6.1.3. Solution de substrat.....	54
6.1.4. Réactif de DNSA (Acide 3,5-dinitrosalicylique).....	54
6.1.5. Solution de l'acarbose.....	54
6.2. Mode opératoire.....	55

B. Résultats et discussion

1. Caractéristiques des extraits (Edam et Gouda).....	57
1.1. Interprétation.....	57
1.2. Discussion	58
1.2.1.La teneur en protéines.....	58
1.2.2. Le pH.....	58
1.2.3. La concentration massique.....	59
1.2.4. Les acides aminés.....	59
2. Effet inhibiteur sur α-amylase.....	60
2.1. Extrait de fromages	60
2.2. l'Acarbose.....	64
IV. Conclusion.....	66
V. Références.....	67

I. INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le diabète est une maladie chronique qui touche un nombre croissant de personnes dans le monde entier. Le contrôle de la glycémie est essentiel pour prévenir les complications associées à cette pathologie (**Zimmet et Alberti, 2001**). L' α -amylase, une enzyme impliquée dans la digestion des glucides complexes, joue un rôle crucial dans la régulation des niveaux de glucose dans le sang. Par conséquent, la recherche de nouvelles approches thérapeutiques visant à inhiber l'activité de l' α -amylase est un domaine d'étude important (**Agarwal et Gupta, 2016**).

Dans ce contexte, l'utilisation de produits alimentaires tels que le fromage à pâte dure en tant qu'inhibiteurs de l' α -amylase pourrait être une option plus abordable et accessible pour les personnes atteintes du diabète (**Zepeda-Hernández, 2021**).

Plusieurs variétés de fromages à pâte dure existent dont nous nous intéressons à l'Edam et le Gouda. Ces fromages sont reconnus pour leur composition nutritionnelle riche en protéines et en matières grasses (**Slamani et al., 2021**), mais peu d'informations sont disponibles sur leur potentiel inhibiteur d' α -amylase (**Mitri, 2019**). Ces études revêtent une grande importance clinique, car la découverte d'inhibiteurs naturels d' α -amylase dans les aliments pourrait offrir une alternative aux traitements médicamenteux traditionnels pour le contrôle de la glycémie (**Alvarez-Bueno, 2019**).

Du fait, l'objectif de notre recherche est d'évaluer si le fromage à pâte dure, spécifiquement l'Edam et le Gouda, présente des propriétés inhibitrices sur l' α -amylase et ce par la réalisation d'une série de manipulations commençant par la préparation des extraits, leur caractérisation et en dernier lieu les tester en présence de l' α -amylase. Le présent travail est réalisé au sein du laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, physico-chimie, activités biologiques et synthèse de la faculté SNV-STU, université de Tlemcen.

Au cours des prochaines sections, nous présenterons une revue de la littérature sur le diabète, l' α -amylase et les inhibiteurs naturels de cette enzyme et enfin les fromages. Nous décrirons ensuite notre méthodologie expérimentale pour évaluer l'effet inhibiteur de l'Edam et du Gouda sur l'activité de l' α -amylase. Enfin, nous discuterons les résultats obtenus.

II. SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
 α -amylase et diabète

I. α -amylase

1. Définition et fonctions de l' α -amylase

L' α -amylase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glycosidiques dans les polysaccharides (glucides complexes), tels que l'amidon pour produire des molécules de sucre plus simples et plus absorbables, principalement le glucose, le maltose et d'autres petits oligosaccharides, qui peuvent être utilisés par l'organisme comme source d'énergie. Cette enzyme est largement répandue dans la nature, où elle est produite par divers organismes, dont les animaux, les plantes et les micro-organismes (**Chandra et al., 2021 ; Rahman et al., 2020**).

L' α -amylase est une enzyme digestive majeure qui joue un rôle crucial dans la digestion et le métabolisme des glucides dans le corps humain et chez les animaux (**Kumar et al., 2018 ; Rajendran et al., 2018**). Cette enzyme est produite par le pancréas et les glandes salivaires en réponse à l'ingestion d'aliments, et est essentielle à la digestion des glucides dans l'intestin grêle (**Mandey et al., 2021**).

Pendant la germination des graines, l' α -amylase est également synthétisée et sécrétée par la couche d'aleurone, qui décompose l'amidon stocké en glucose, fournissant ainsi de l'énergie à la plantule en développement (**Rao et al., 2022**).

2. Structure et classification de l' α -amylase

2.1. Structure moléculaire générale et composition de l' α -amylase

L' α -amylase est une protéine globulaire de forme sphérique, d'un diamètre d'environ 50 Å et un poids moléculaire d'environ 50 kDa. L'enzyme est composée d'une seule chaîne polypeptidique constituée de 496 résidus d'acides aminés, pliée en une structure tridimensionnelle compacte (**Wang et al., 2022 ; Qamar et al., 2021**).

L'enzyme est composée de trois domaines principaux (figure 1), un grand domaine central catalytique "A", qui est responsable de la décomposition des substrats, entouré de deux domaines plus petits de chaque côté. Le domaine "B" de liaison au substrat, qui les positionne pour la catalyse, est situé à la partie N-terminal avec le domaine "A". Le domaine "C" d'autre part, qui est impliqué dans la stabilisation de la structure enzymatique et la régulation de son activité, est situé à la partie C-terminal (**Banerjee et al., 2021 ; Dijkstra et Dijk, 2014**).

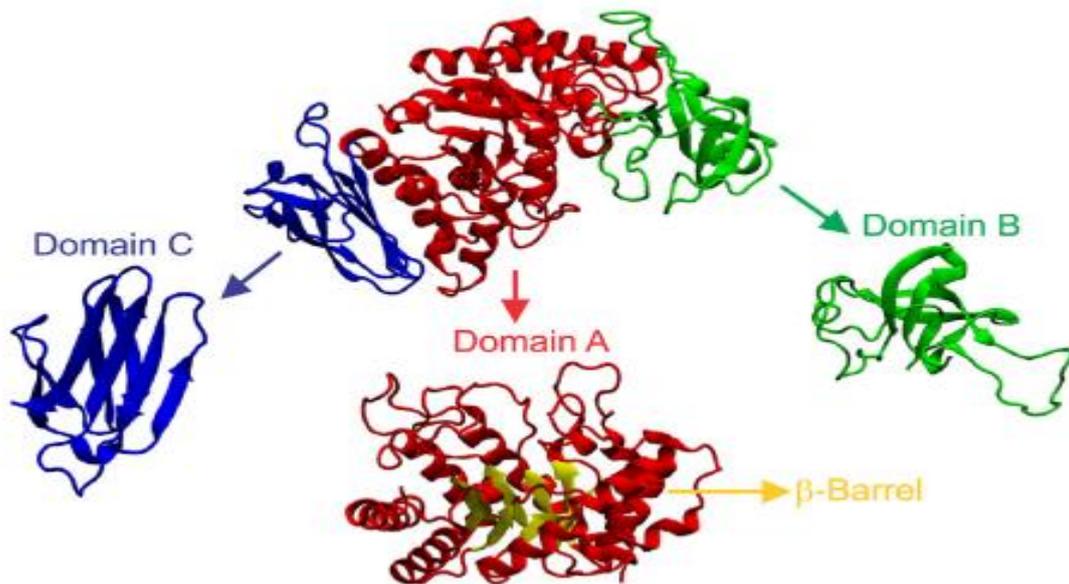


Figure 1: Structure tridimensionnelle de l' α -amylase (Moreira *et al.*, 2020).

Le domaine central "A" a un pli alpha/bêta hydrolase typique, constitué d'une feuille bêta centrale à sept brins entourée de huit hélices alpha. Le site actif de l' α -amylase est situé dans une crevasse profonde formée de deux boucles, connues sous le nom de "triade catalytique" composée des résidus Asp197, Glu233 et Asp300, qui jouent un rôle essentiel dans l'hydrolyse des liaisons glycosidiques (Qiao *et al.*, 2020 ; Vanderberghe *et al.*, 2015).

L' α -amylase peut exister sous diverses formes moléculaires telles que des monomères, des dimères et des trimères, avec divers degrés de stabilité et d'activité (Kurasin et Vind, 2018).

2.2. Classification et types d'enzymes α -amylases

Les α -amylases peuvent être classées en fonction de leurs origines en trois catégories. La figure 2 illustre six structures d' α -amylases en fonction de leurs origines montrant leur repliement conservé. On observe celles de α -amylase de *B. subtilis* (Fujimoto *et al.*, 1998), de *B. licheniformis* (Machius *et al.*, 1998), d'*Aspergillus*, *A. niger* et *A. oryzae* (Vujcic-Zagar et Dijkstra, 2006), de *Sus scrofa* (porc) (Maurus *et al.*, 2008) et de *Homo sapiens* (pancréatique) (Machius *et al.*, 1996).

Les propriétés selon l'origine sont détaillées dans la suite et sont résumées sur le tableau 1.

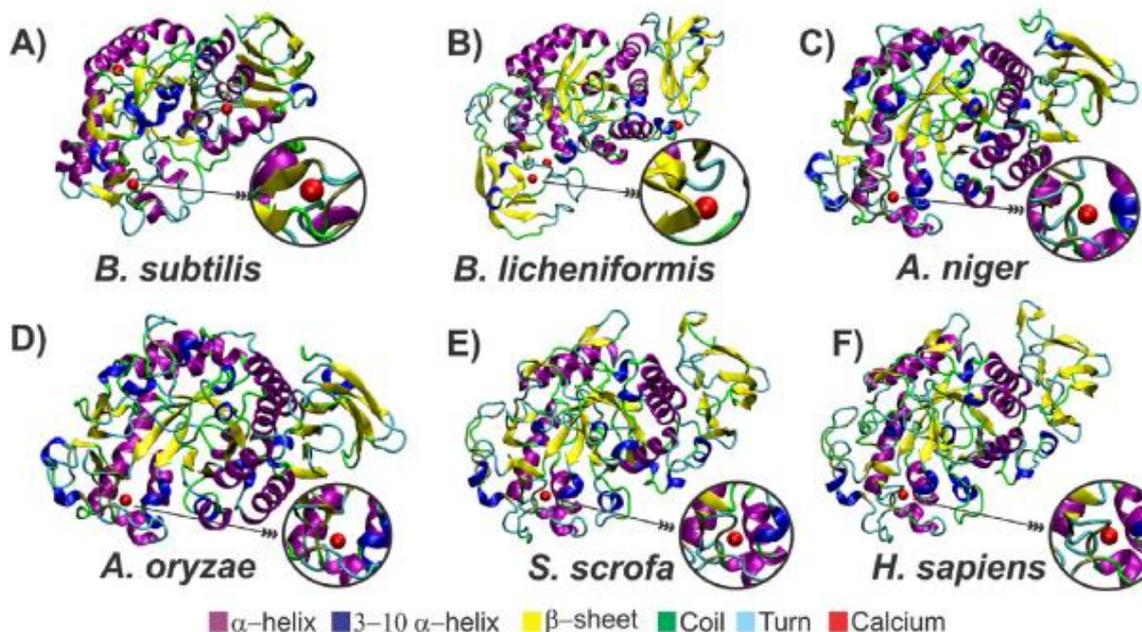


Figure 2: Six structures d' α -amylases en fonction de leurs origines

2.2.1. α -amylases microbiennes

Les microorganismes tels que les bactéries et les champignons sont une source courante d' α -amylases microbiennes, qui ont une large plage du pH, peuvent fonctionner dans des conditions acides et alcalines. De plus, elles sont également thermiquement stables et peuvent fonctionner à des températures élevées (Ali et al., 2020). En raison de ces propriétés, ces enzymes microbiennes sont utilisées dans diverses applications industrielles alimentaires et biotechnologique (Gupta et al., 2019).

Les α -amylases microbiennes sont classées en deux types, en fonction de leur source: l' α -amylase bactérienne, l' α -amylase fongique.

2.2.1.1. α -amylases bactériennes

Les α -amylases bactériennes sont produites par des bactéries telles que *Bacillus*, *Streptomyces* et *Thermus* et sont principalement localisées à la fois de manière intra et extracellulaire (Kumar, et al., 2020). Ces enzymes présentent une large gamme de valeurs optimales de pH et de température, ce qui les rendait adaptées à diverses applications industrielles, tels que la production du sirop de glucose, de maltodextrines et d'éthanol (Gupta et al., 2019).

2.2.1.2. α -amylases fongiques

Les α -amylases fongiques sont produites par des champignons tels qu'*Aspergillus*, *Rhizopus* et *Penicillium* et sont généralement situées dans l'espace extracellulaire (Dotsenko et al., 2020). Ces enzymes sont largement utilisées dans l'industrie de la boulangerie pour améliorer la texture et la durée de conservation du pain. Les α -amylases fongiques sont caractérisées par leur haute spécificité de substrat et elles ont une gamme plus large d'optimums de pH et de température (Vihinen et al., 2019 ; Pandey et al., 2000).

2.2.2 α -amylases végétales

Les plantes produisent également des enzymes α -amylases, qui se trouvent dans divers tissus végétaux tels que les graines et les feuilles. Ces enzymes sont impliquées dans divers processus physiologiques tels que la germination des graines, le métabolisme de l'amidon et les mécanismes de défense des plantes (Kim et al., 2015).

Les α -amylases végétales ont des profils du pH et de température différents selon les espèces et les tissus où elles sont exprimées, mais généralement elles sont plus actives dans des conditions du pH neutres à légèrement acides, et elles sont également sensibles aux températures élevées (Farias et al., 2021).

2.2.3. α -amylases animales

Les α -amylases animales sont également présentes chez divers animaux et les humains. Ces enzymes participent principalement à la digestion des glucides et sont classées en trois types, en fonction de leur localisation: la salive, le pancréas et les lysosomes (Islam et Parvin, 2018).

2.2.3.1. L' α -amylase salivaire

L' α -amylase salivaire, est produite dans les glandes salivaires des mammifères et est impliquée dans les étapes initiales de la digestion et la régulation du métabolisme des glucides dans la cavité buccale (Granger et al., 2012).

2.2.3.2. L' α -amylase pancréatique

L' α -amylase pancréatique, est produite dans le pancréas et est responsable de la majorité de la digestion de l'amidon et la régulation de l'homéostasie du glucose dans l'intestin

grêle et dont l'inhibition est considéré comme cible potentielle pour le traitement du diabète (Carriere et al., 1997).

2.2.3.3. L' α -amylase lysosomale

L' α -amylase lysosomale, qui est une enzyme clé impliquée dans la dégradation du glycogène et d'autres α -glucanes dans les lysosomes (Kishimoto et al., 2001).

Les α -amylases animales présentent des profils de pH similaires, avec une activité optimale à un pH neutre à légèrement acide et une activité réduite à des valeurs de pH hautement acides ou alcalines. En outre, elles sont sensibles aux températures élevées (Lu et al., 2021 ; Meléndez et al., 2020).

Tableau 1: Quelques propriétés de différents types d' α -amylase

Type α -amylase	Exemples d'espèces	Poids moléculaire (kDa)	Température Optimale (°C)	pH optimal	Références
Microbienne (Bactérienne)	<i>Bacillus subtilis</i>	45-68	50-60	6,0-7,0	(Chauhan et al., 2016)
Microbienne (Fongique)	<i>Aspergillus oryzae</i>	25-80	55-65	4,5-5,5	(Zhang et al., 2020)
Végétale	<i>Oryza sativa</i> (Riz asiatique)	40-70	30-40	4,5-6,0	(Pandey et al., 2015)
	<i>Zea mays</i> (maïs)	40-60	25-35	4,5-5,5	(Park et al., 2003)
Humaine (Salivaire)	<i>Homo sapiens</i> (Humain)	55-65	37	6,7 -7,0	(Jang et al., 2018)
Animale (pancréatique)	<i>Bos taurus</i> (vache)	54	37	6,7-7,5	(Gao et al., 2017)
	<i>Sus scrofa</i> (porc)	50-70	37	6,0-7,0	(de la Hera et al., 2019)
Humaine (lysosomale)	<i>Homo sapiens</i> (Humain)	72-76	37	4,0-5,0	(Liu et al., 2021)

3. Mécanisme d'action de l' α -amylase

En général, on pense que les α -amylases sont des amylases à action endogène qui hydrolysent les liaisons glycosidiques α -(1-4) des polymères du glucose en interne. Plusieurs modèles d'action de l'amylase ont été proposés, tels que l'action aléatoire et l'action d'attaque multiple. Ces deux modèles ont été qualifiée d'attaque unique ou d'attaque multi-chaînes (Paul et al., 2021).

3.2. Attaque aléatoire

L' α -amylase peut couper de manière aléatoire n'importe quelle liaison α -(1-4) à partir de l'extrémité non réductrice du substrat. Cela entraîne principalement la formation de glucose, de maltose et d' α -dextrines (Scriban, 1999).

3.3. Attaque multiple ou répétitive

Lorsque l'enzyme est fixée le long de la chaîne de substrat, elle peut effectuer plusieurs hydrolyses avant de se dissocier du complexe enzyme-substrat. Cela implique un déplacement continu de l'enzyme le long de la chaîne pour cliver plusieurs liaisons glycosidiques successivement (Kandra et al., 1997).

3.4. Mécanisme uni-chaîne

Dans ce mécanisme, l' α -amylase dégrade une chaîne de substrat avant de passer à une autre chaîne. L'enzyme forme un complexe actif avec le premier substrat, catalyse la réaction et ne forme pas de nouveaux complexes actifs tant que la première chaîne n'est pas dégradée (Berry et Paterson, 1990).

3.5. Mécanisme multi-chaîne

Les chaînes de substrat sont dégradées simultanément. L' α -amylase clive les liaisons glycosidiques de plusieurs chaînes en parallèle (Kandra et al., 1997).

4. Caractéristiques générales

L'activité enzymatique de l' α -amylase peut être influencée par divers facteurs, la température, le pH (voir tableau 1), Concentration du substrat, Concentration Enzymatique et Molécules organique et ions métalliques.

4.1. Température

Des températures plus basses peuvent ralentir l'activité de l'enzyme. À mesure que la température augmente, l'activité et la vitesse enzymatique augmente généralement jusqu'à ce qu'elle atteigne une plage de température optimale, après quoi l'activité commence à décliner en raison de la dénaturation de l'enzyme (**Gulzar et al., 2018 ; Rizk et al., 2015**).

4.2. pH

Chaque enzyme a une plage du pH optimal selon sa source, auquel elle présente une activité maximale. Un écart par rapport à cette plage de pH peut entraîner une diminution de l'activité enzymatique. La dépendance au pH de l' α -amylase est attribuée aux états d'ionisation de résidus d'acides aminés spécifiques dans le site actif de l'enzyme (**Dhawan et Kaur, 2017, Patel et al., 2017 ; Sivaramakrishnan et al., 2006**).

4.3. Concentration du substrat

La concentration du substrat (amidon ou glycogène) affecte l'activité enzymatique de l' α -amylase. Initialement, à de faibles concentrations de substrat, l'activité enzymatique peut être limitée en raison d'une disponibilité insuffisante du substrat (**Abdel-Fattah et Soliman, 2019**). L'augmentation de la concentration en substrat entraîne une augmentation de l'activité enzymatique. Cependant, à des concentrations élevées de substrat, l'activité enzymatique peut plafonner, indiquant que tous les sites enzymatiques actifs sont saturés de molécules de substrat (point de saturation soit atteint) (**Han et al., 2019 ; Hussain et al., 2016**).

4.4. Concentration enzymatique

La concentration d' α -amylase dans le mélange réactionnel a un impact sur son activité enzymatique. Des concentrations enzymatiques plus élevées entraînent généralement une augmentation des vitesses de réaction, en supposant que la concentration en substrat n'est pas limitative (**Prakash et al., 2018**).

4.5. . Molécules organique et ions métalliques

L'activité de l' α -amylase peut être affectée ou modulée par divers inhibiteurs et activateurs spécifiques tels que des ions métalliques ou des molécules organiques. Ces molécules peuvent se lier à l'enzyme, altérant sa conformation et affectant son activité (tableau 2) (**Shahid et al., 2020 ; Singhania et al., 2009**).

Tableau 2: Divers inhibiteurs et activateurs (organique et ions métalliques) de l'alpha-amylase

Composé	Type	Effet	Références
Acide chlorogénique	Organique	Inhibiteur	(Johnson et al., 2019)
Acétyl choline	Organique	Activateur	(Mercier, 1985 ; Whelan et al., 1964)
Plomb (Pb ²⁺)	Ion métallique	Inhibiteur	(Althumiri et al., 2018)
Cuivre (Cu ²⁺)	Ion métallique	Inhibiteur	(Prakash et Bharti, 2011)
calcium (Ca ²⁺)	Ion métallique	Activateur	(Lee et al., 2018)
Magnésium (mg ²⁺)	Ion métallique	Activateur	(Brown et al., 2019)

5. Inhibition de l' α -amylase

Les inhibiteurs de l' α -amylase sont des composés qui ont la capacité d'interagir avec l'enzyme α -amylase et de ralentir ou bloquer son activité. Les inhibiteurs de l' α -amylase peuvent être d'origine naturelle telles que les plantes et les microorganismes ou synthétique, et agir de manière compétitive ou non compétitive (Sheng et al., 2017).

a) Les inhibiteurs compétitifs de la α -amylase ont une structure similaire à celle de polysaccharide, qui est le substrat naturel de l' α -amylase. Ils se lient donc au site actif de l'enzyme réversiblement, empêchant ainsi l'amidon de s'y lier et bloquent l'activité enzymatique. Les inhibiteurs compétitifs de l' α -amylase sont l'acarbose et le miglitol.

b) Les inhibiteurs non compétitifs de l' α -amylase se lient à un site différent de l'enzyme par rapport au substrat. Ils modifient ainsi la structure de l'enzyme et la rendent inactive (provoquant un changement conformationnel). Les polyphénols sont des inhibiteurs non compétitifs de l' α -amylase (Siddiqui et al., 2012 ; Hanefeld et Schaper, 2011).

5.1. Inhibiteurs naturels

Les inhibiteurs naturels de l' α -amylase peuvent inhiber l'enzyme par différents mécanismes tels que l'inhibition compétitive, non compétitive, tout dépend de la nature de

l'inhibiteur et du complexe enzyme-substrat (Kulkarni et Gamanagatti, 2015 ; Bischoff, 1997).

Tableau 3: Quelques exemples d'inhibiteurs naturels de l' α -amylase.

Famille	Exemple/Type d'inhibition	Source	IC50	Références
Polyphénols	Gallate d'épigallocatechine (EGCG) - Inhibition compétitive	Le thé vert	50 μ M - 68,28 μ M	(Sharma et Gupta, 2020 ; Lo Piparo et al., 2008)
Flavonoïdes	Quercétine - Inhibition compétitive	Les oignons, les pommes et le thé.	2,1 μ M - 5,6 μ M	(Martins et al., 2018 ; Gupta et Gigras, 2011)
	Épicatéchine - Inhibition compétitive	Le cacao et le thé vert	93 μ M	(Furman et al., 2010)
	Kaempférol - Inhibition compétitive	les fraises, les brocolis, les poireaux, et les épinards.	76 μ M	(Deka et al., 2017)
Alcaloïdes	Berbérine - Inhibition compétitive	L'hydraste et l'épine-vinette.	88 μ M	(Grover et al., 2011)

Remarque : Les valeurs IC50 fournies peuvent varier en fonction des conditions expérimentales.

5.2. Inhibiteurs synthétiques

Ces inhibiteurs sont fabriqués en laboratoire et ne se trouvent pas dans la nature. Des exemples d'inhibiteurs synthétiques de l' α -amylase comprennent l'Acarbose, le Miglitol et le Voglibose. Ils agissent par inhibition compétitive (Bhattacharya et al., 2017).

Tableau 4: Quelques exemples d'inhibiteurs synthétiques.

Composée	Type d'inhibition	IC50	Références
Acarbose	Compétitive	0,8 mM	(Ding et Song, 2012)
Miglitol	Compétitive	6,4 mM	(Verspohl, 2009)
Voglibose	Compétitive	29 nM	(Nakano et al., 2002)

Remarque : Les valeurs IC50 fournies peuvent varier en fonction des conditions expérimentales.

6. Implications thérapeutiques de l'inhibition de l' α -amylase

L'inhibition de l' α -amylase présente un potentiel thérapeutique dans le traitement de diverses affections dans différents domaines de la santé.

6.1. Contrôle de la glycémie et traitement du diabète

L'inhibition de l' α -amylase peut ralentir la digestion des glucides, réduisant ainsi la vitesse d'absorption des sucres simples dans l'intestin, ce qui entraîne une diminution de la réponse glycémique postprandiale. Cela peut être bénéfique pour le contrôle de la glycémie chez les patients diabétiques (Gaille et al., 2019 ; Haber et al., 2008).

Une étude publiée dans la revue "Diabetes Care" a montré que l'inhibition de l' α -amylase avec un médicament (Acarbose) a entraîné une réduction significative de la glycémie postprandiale chez les patients diabétiques de type 2 (Hanefeld et al., 2004).

6.2. Gestion du poids et prévention de l'obésité

En inhibant l' α -amylase, la digestion des glucides complexes et l'absorption des sucres simples peuvent être réduites, ce qui peut entraîner une réduction de l'apport calorique total provenant des aliments (l'amidon), et donc, une perte de poids. Cela peut être utile dans la gestion du poids et la prévention de l'obésité (Bischoff, 2008 ; Udani et al., 2004).

Des études ont montré que l'utilisation d'inhibiteurs de l' α -amylase, tels que la phaseolamine (une protéine présente dans les haricots blancs), peut réduire l'apport alimentaire, augmenter la satiété et favoriser la perte de poids et diminuer l'indice de masse

corporelle chez les personnes en surpoids ou obèses (Celleno et al., 2007; Udani et al., 2004).

6.3. Prévention des caries dentaires

L'inhibition de l'activité α -amylasique peut ralentir la dégradation de l'amidon en sucres simples fermentescibles pour les bactéries cariogènes dans la bouche, cela peut contribuer à réduire la production d'acides responsables de la formation de caries dentaires (Takahashi, 2018 ; Fisher et al., 2007).

6.4. Prévention des maladies cardiovasculaires

L'inhibition de l' α -amylase peut contribuer à la prévention des troubles cardiovasculaires en réduisant la réponse postprandiale en glucose et en améliorant les profils lipidiques. Une étude a révélé que l'inhibition de l' α -amylase par l'Acarbose chez les patients atteints de diabète de type 2 avait des effets bénéfiques sur les facteurs de risque cardiovasculaire, notamment une réduction significative des niveaux de lipides sanguins, tels que le cholestérol total et les triglycérides (Grundy et al., 2012 ; Hanefeld et al., 2004).

6.5. Amélioration de la fonction pancréatique

Chez les patients atteints de pancréatite chronique, une maladie caractérisée par une inflammation du pancréas, l' α -amylase peut être libérée en grande quantité dans le sang. L'inhibition de l' α -amylase peut aider à réduire les niveaux sanguins de cette enzyme et ainsi améliorer la fonction pancréatique (Layer et al., 2002).

6.6. Contrôle de la maladie parodontale

L'inhibition de l' α -amylase peut être utilisée dans la gestion de la maladie parodontale, une condition inflammatoire affectant les tissus de soutien des dents. Des études *in vitro* ont montré que l'inhibition de l' α -amylase réduisait la formation de biofilm par les bactéries associées à la maladie parodontale (Pippi et al., 2010 ; Rosalen et al., 2005).

II. Le diabète sucré

1. Définition du diabète

Le diabète est un ensemble de maladies qui perturbent le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines dans le corps. L'un des signes les plus caractéristiques de cette maladie est l'augmentation du taux de glucose sanguin, appelée hyperglycémie. Cette hyperglycémie chronique est due soit à une sécrétion insuffisante d'insuline (perte de la masse des cellules β), soit à une action inadéquate de cette hormone (perte de la fonction des cellules β), soit aux deux facteurs combinés (Petersmann *et al.*, 2019; Roden, 2016 ; Care, 2018).

2. Symptômes

Les signes typiques d'hyperglycémie incluent une augmentation de la miction (polyurie), une augmentation de la soif (polydipsie), des problèmes de vision, une fatigue et une baisse de la performance, une perte de poids inexplicée souvent accompagnée d'une augmentation de l'appétit (polyphagie). En plus de cela, une altération de la croissance et une sensibilité accrue aux infections peuvent accompagner l'hyperglycémie chronique (Roden, 2016; ADA, 2011).

3. Classification

Le diabète est classé en six catégories cliniques (voir tableau 5) distinctes selon une nouvelle classification de WHO (2019), parmi lesquelles les deux types les plus courants sont le type 1 (également appelé auto-immun, juvénile ou insulino-dépendant) et le type 2 (également appelé non auto-immun, non insulino-dépendant).

3.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 est une maladie caractérisée par la destruction auto-immune des cellules bêta du pancréas, responsables de la production d'insuline (ADA, 2013). Cette destruction est généralement causée par des autoanticorps dirigés contre les cellules bêta [le diabète positif aux anticorps (type 1a)], ce qui conduit à une carence en insuline et finalement à l'arrêt de sa production. Bien que l'origine auto-immune soit fréquente, d'autres facteurs, tels que des prédispositions génétiques et des déclencheurs environnementaux, peuvent contribuer au développement du diabète de type 1 [le diabète négatif aux anticorps (type 1b)] (Thomas et Philipson, 2015).

3.2. Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est une maladie complexe dont la définition n'est pas encore clairement établie. Elle est souvent appelée hyperglycémie idiopathique car elle présente des caractéristiques physiopathologiques très variables et des degrés divers de dysfonctionnement des cellules β d'une population à l'autre (Gale, 2013). Cependant, dans la plupart des cas, la carence (insulinopénie) et la résistance (insulinorésistance) en insuline sont au cœur de la physiopathologie du DT2 (Skyler et al., 2016). La carence en insuline résulte d'une diminution du volume relatif des cellules Bêta dans le tissu pancréatique, ce qui les rend incapables de compenser adéquatement la résistance à l'insuline. Le DT2 est souvent associé à l'obésité et au syndrome métabolique (Del Prato, 2009; Butler, 2003).

Tableau 5 : les quatre autres classes du diabète.

Type de diabète	Brève description	Changement par rapport à la classification précédente
3.3. Formes hybrides de diabète		Nouveau type de diabète
Diabète de l'adulte à médiation immunitaire et à évolution lente	Semblable au type 1 à évolution lente chez l'adulte, mais présente plus souvent des caractéristiques du syndrome métabolique, un seul auto-anticorps GAD et conserve une plus grande fonction des cellules β .	Changement de nomenclature - auparavant diabète auto-immun latent de l'adulte auto-immune latent de l'adulte (LADA)
L'acidocétose diabétique		Pas de changement
3.4. Autres types spécifiques		
Diabète monogénique - Défauts monogéniques de la fonction des cellules β	Causée par des mutations génétiques spécifiques, elle présente plusieurs manifestations cliniques nécessitant des traitements différents, certaines survenant dans la période néonatale, d'autres au début de l'âge	Nomenclature actualisée pour les anomalies génétiques spécifiques

- Défauts monogéniques de l'action de l'insuline	adulte. Causé par des mutations génétiques spécifiques ; présente des caractéristiques de résistance sévère à l'insuline sans obésité ; le diabète se développe lorsque les cellules β ne compensent pas la résistance à l'insuline.	
Maladies du pancréas exocrine	Diverses affections du pancréas peuvent entraîner une hyperglycémie (traumatisme, tumeur, inflammation, etc.).	Pas de changement
Troubles endocriniens	Apparaît dans les maladies caractérisées par une sécrétion excessive d'hormones antagonistes de l'insuline.	Pas de changement
Induites par des médicaments ou des produits chimiques	Certains médicaments et produits chimiques altèrent la sécrétion ou l'action de l'insuline, d'autres peuvent détruire les cellules β .	Pas de changement
Infections	Certains virus ont été associés à la destruction directe des cellules β .	Pas de changement
Formes spécifiques peu courantes de diabète à médiation immunitaire	Associé à des maladies rares à médiation immunitaire.	Pas de changement
Autres syndromes génétiques parfois associés au diabète	De nombreuses maladies génétiques et anomalies chromosomiques augmentent le risque de diabète.	Pas de changement
3.5. Diabète non classé	Utilisé pour décrire le diabète qui n'entre pas clairement dans d'autres catégories.	Nouveau type de diabète
3.6. Hyperglycémie détectée pour la première fois pendant la grossesse		

Diabète sucré pendant la grossesse	Diabète de type 1 ou de type 2 diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse.	Pas de changement
Diabète sucré gestationnel	Hyperglycémie inférieure aux seuils de diagnostic du diabète pendant la grossesse.	Defined by 2013 diagnostic criteria

4. Facteurs de risque du diabète

Plusieurs facteurs peuvent accroître le risque de développer du diabète, notamment l'obésité, le manque d'activité physique (Flegal et al., 2012 ; Ekelund et al., 2015), les antécédents familiaux de diabète (Florez, 2008), l'origine ethnique (Zimmet et al., 2001 ; Narayan et Boyle, 2014), l'âge avancé (Klein et al., 2015) et le diabète gestationnel (ACOG, 2018), entre autres (ADA, 2018).

5. Critère de diagnostic du diabète

Les critères de diagnostic du diabète ont été mis à jour au fil du temps par diverses organisations. L'ADA et L'OMS recommandent les critères diagnostiques suivants pour le diabète (ADA, 2021 ; OMS, 2006) :

5.1. Un taux d'hémoglobine glyquée ou glycosylée (HbA1c) de 6,5 % ou plus

Ce test mesure la glycémie moyenne sur les 2 ou 3 derniers mois. Un taux d'HbA1c de 6,5 % ou plus indique la présence d'un diabète.

5.2. Glycémie à jeun (GPA) de 126 mg/dL ou plus

Ce test mesure la glycémie après un jeûne d'au moins 8 heures. Un taux de glycémie à jeun égal ou supérieur à 126 mg/dl indique la présence d'un diabète.

5.3. L'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Ce test mesure la glycémie deux heures après la consommation d'une boisson sucrée. Un taux de glucose plasmatique de 200 mg/dl ou plus au cours des deux heures suivant la consommation d'une boisson sucrée est un signe de diabète.

5.4. Glycémie aléatoire (GPA) de 200 mg/dL ou plus avec les symptômes classiques de l'hyperglycémie

Ce test mesure la glycémie à tout moment de la journée, sans tenir compte du dernier repas. Une glycémie de 200 mg/dL ou plus accompagnée des symptômes classiques de l'hyperglycémie (tels que polyurie, polydipsie et perte de poids inexpliquée) est révélatrice d'un diabète.

6. Complications

L'hyperglycémie, qui se caractérise par des niveaux élevés de glucose dans le sang, peut provoquer des lésions graves au niveau des petits et grands vaisseaux sanguins, connus respectivement sous le nom de système microvasculaire et système macrovasculaire au fil du temps (**Cole et Florez, 2020**). Cette détérioration peut entraîner des troubles dans plusieurs organes et tissus vitaux, notamment le système nerveux (neuropathie), le système rénal (néphropathie), le système oculaire (rétinopathie) et le système cardiovasculaire. Les conséquences à long terme de ces dommages peuvent être très graves (figure 4) (**Harreiter et Roden, 2019**).

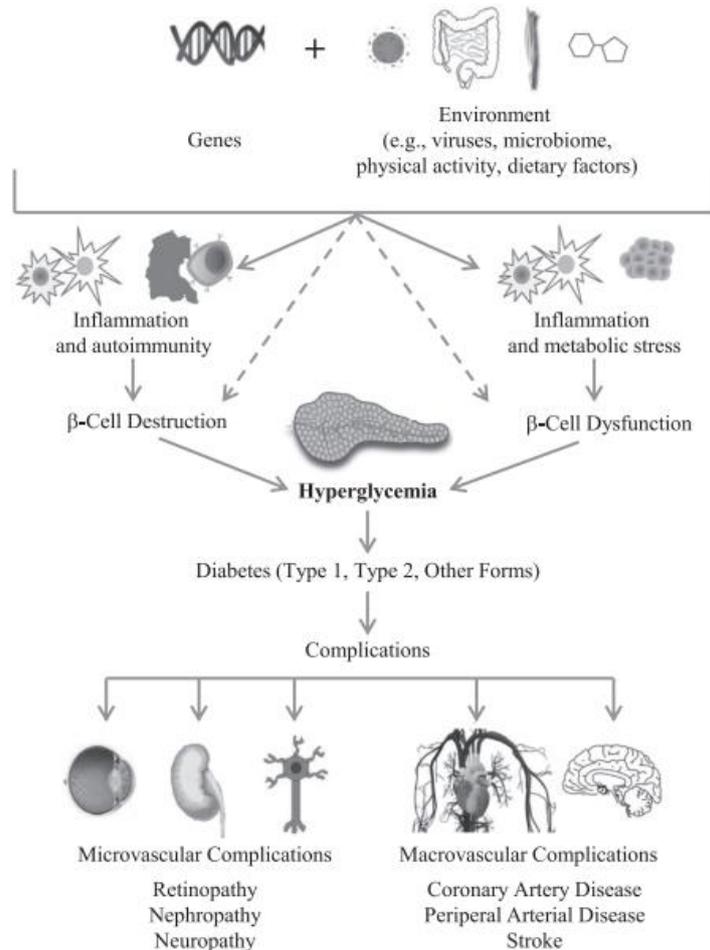


Figure 3: Les complications du diabète (Skyler et al., 2016).

6.1. Complications microvasculaire

Les complications microvasculaires du diabète se réfèrent à une série de lésions qui se produisent dans les petits vaisseaux sanguins de divers organes du corps. Ces complications ont tendance à se manifester principalement dans les yeux, les reins et les nerfs.

6.1.1. Rétinopathie diabétique

La rétinopathie diabétique survient lorsque l'hyperglycémie endommage les vaisseaux sanguins de la rétine de l'œil. Dans les cas les plus graves, la rétinopathie diabétique peut mener à la cécité (Klein et al., 2014 ; Yau et al., 2012).

6.1.2. Néphropathie diabétique

La néphropathie diabétique est une maladie caractérisée par une détérioration des petits vaisseaux sanguins des reins, ce qui entraîne une accumulation de déchets dans le sang (ADA, 2021). Cette affection est considérée comme l'une des complications microvasculaires

majeures et les plus sévères du diabète, car elle peut causer des dommages irréversibles aux reins et est l'une des principales causes d'insuffisance rénale (Singh et Kumar, 2014).

6.1.3. Neuropathie diabétique

La neuropathie diabétique est une maladie qui se produit lorsque les vaisseaux sanguins qui alimentent les nerfs du corps en oxygène et en nutriments sont endommagés en raison d'une hyperglycémie (Dyck *et al.*, 2017 ; Callaghan *et al.*, 2012 ; Tesfaye *et al.*, 2005).

6.2. Complications macrovasculaire

Le diabète est associé à un risque accru à long terme de complications macrovasculaires, qui affectent les gros vaisseaux sanguins de l'organisme (Mao *et al.*, 2020).

6.2.1. Maladies cardiovasculaires (CVD)

Les affections cardiovasculaires liées au diabète se caractérisent par une sténose ou une obstruction des vaisseaux sanguins, qui peuvent causer des crises cardiaques, des douleurs thoraciques (angine de poitrine). En effet, les personnes atteintes de diabète ont un risque deux à quatre fois plus élevé de développer une maladie cardiovasculaire (CVD) que les non-diabétiques (Gregg *et al.*, 2014).

6.2.2. Maladies artérielles périphériques (PAD)

La maladie artérielle périphérique (PAD) est une pathologie qui affecte les vaisseaux sanguins situés en dehors du cœur et du cerveau, principalement dans les membres inférieurs, entraînant souvent des douleurs et des difficultés à la marche. La PAD est une complication vasculaire fréquente chez les personnes atteintes de diabète, entraînant une augmentation significative de la morbidité et de la mortalité (Bunte *et al.*, 2019).

6.2.3. Accidents vasculaires cérébraux (AVC)

Un accident vasculaire cérébrale se produit lorsque l'irrigation sanguine du cerveau est obstruée ou réduite, ce qui peut endommager le cerveau ou entraîner la mort. Les personnes atteintes de diabète présentent un risque d'AVC de 1,5 à 2 fois supérieures à celui des personnes non-diabétiques (Liu *et al.*, 2021).

7. Traitement

Le traitement du diabète sucré vise à contrôler la glycémie et à prévenir les complications à long terme. Plusieurs options de pharmacothérapie sont disponibles, notamment les médicaments oraux, les injections d'insuline. L'insuline est généralement utilisée pour les patients atteints de diabète de type 1, tandis que, les hypoglycémisants oraux sont souvent le premier choix de traitement pour la plupart des patients atteints de diabète de type 2 (ADA, 2020). Le tableau 6 résume le traitement prescrit pour un diabétique.

Des interventions non pharmacologiques telles que la perte de poids, l'exercice physique régulier et l'adoption d'un régime alimentaire sain peuvent également contribuer à contrôler la glycémie chez les personnes atteintes de diabète (Inzucchi *et al.*, 2012).

Tableau 6: Quelques antidiabétiques oraux ou injectables non insuliniques.

Classe	Molécule	Cible moléculaire	Mécanisme d'action	Références
Biguanides	Metformine	Protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) (le foie)	L'activation de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK), qui inhibe les enzymes impliquées dans la production hépatique du glucose (la gluconéogenèse) et améliore l'absorption du glucose par les tissus périphériques (dans les cellules musculaires squelettiques) et augmente la sensibilité à l'insuline.	(Bailey, 2017 ; Inzucchi, 2012)
Sulfonylurées	Glipizide, Gliclazide, Glyburide, Glimépiride.	Canaux potassiques sensibles à l'ATP (KATP) des cellules bêta du pancréas	Les sulfonylurées stimulent la sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas en se liant aux canaux potassiques sensibles à l'ATP de la membrane cellulaire et en les inhibant. Il en résulte une dépolarisation de la cellule et une libération ultérieure d'insuline.	(Scherthaner et Mogensen, 2009)

<p>Inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)</p>	<p>Sitagliptine, Saxagliptine, Linagliptine, Alogliptine.</p>	<p>Enzyme DPP-4, qui dégrade les hormones incrétines.</p>	<p>Ces médicaments augmentent la sécrétion d'insuline et diminuent la sécrétion de glucagon en augmentant les niveaux d'hormones incrétines telles que le GLP-1 et le GIP en inhibant la DPP-4, une enzyme qui décompose les hormones incrétines telles que le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et le glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP). Le GLP-1 et le GIP augmentent la sécrétion d'insuline dépendante du glucose et ont d'autres effets anti-hyperglycémiques.</p>	<p>(Drucker et Nauck, 2006 ; Drucker, 2006)</p>
<p>Agonistes du récepteur du peptide-1 de type glucagon (GLP-1)</p>	<p>Exenatide, Liraglutide, Dulaglutide, Semaglutide.</p>	<p>Récepteur du GLP-1</p>	<p>Augmente la sécrétion d'insuline et diminue la sécrétion de glucagon par l'activation des récepteurs GLP-1 sur les cellules bêta du pancréas.</p>	<p>(Nielsen et al., 2004)</p>
<p>Inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose 2 (SGLT2)</p>	<p>Canagliflozine, Dapagliflozine, Empagliflozine.</p>	<p>SGLT2 dans le tubule proximal du rein</p>	<p>Inhibant le SGLT2, réduisant la réabsorption rénale du glucose, ce qui entraîne une augmentation de l'excrétion urinaire du glucose et une amélioration de la glycémie.</p>	<p>(Inzucchi et al., 2018 ; Bonner et al., 2016)</p>
<p>Inhibiteurs des α-glucosidases (α-amylase)</p>	<p>Acarbose, Miglitol, Voglibose.</p>	<p>L'enzyme α-glucosidases (L'intestin)</p>	<p>Inhibant l'enzyme, peut ralentir la digestion des glucides, réduisant ainsi la vitesse d'absorption des sucres simples dans l'intestin.</p>	<p>(Scheen, 2005)</p>

**CHAPITRE II : L'histoire
ancienne à la science
moderne**

Le monde du fromage

1. Histoire du fromage et de son évolution

Le fromage est un aliment qui a une riche histoire, remontant à des milliers d'années. Son origine remonte à la domestication d'animaux producteurs de lait tels que les chèvres, les brebis et les vaches (**Salque et al., 2013**). Il est probable que le fromage ait été l'un des premiers produits laitiers que l'Homme ait fabriqués et il est resté un élément crucial de l'alimentation humaine jusqu'à nos jours (**Smit et al., 2005**).

Les origines exactes du fromage sont inconnues, mais on pense qu'il a été découvert par accident lorsque le lait a été stocké dans des récipients fabriqués à partir des peaux ou d'estomacs d'animaux. Les enzymes naturellement présentes dans les parois des récipients ont fait cailler le lait, créant ainsi une première forme de fromage (**Kindstedt, 2012**).

Au fil du temps, les êtres humains ont appris à coaguler le lait intentionnellement pour produire du fromage, les techniques de fabrication du fromage se sont améliorées, permettant la création d'une grande variété de fromages dans différentes régions du monde. Cette amélioration continue des techniques de fabrication a permis de rendre le processus plus sophistiqué, favorisant ainsi la production de fromage (**Holland et al., 2019**).

Au XIXe et au XXe siècle, les progrès technologiques et les améliorations dans les transports ont favorisé la production et la distribution à grande échelle de fromage. L'aspect technologique a permis un contrôle précis du processus de fabrication du fromage, tandis que la recherche a approfondi notre compréhension du rôle des microbes dans le développement de la saveur (**Loureiro et Gomes da Costa, 2015 ; Leroy et al., 2011**).

Par simple définition, le fromage est une forme concentrée de lait, dont l'eau et les solides non gras ont été retirés, pour obtenir un produit riche en protéines, matières grasses, minéraux et vitamines (**Lawrence et Cheese, 2016**).

Les études ont mis en évidence que certains types de fromages contiennent des peptides bioactifs aux propriétés anti-inflammatoires (**Priyadarshani et al., 2019**). Par ailleurs, d'autres études ont suggéré que la consommation de fromage pourrait être liée à une réduction des risques de maladies et à d'autres effets sur la santé (**Brouwer-Brolsma et al., 2019**).

2. Production de fromage et procédés de fabrication

La production de fromage est un processus complexe qui implique la coagulation et la fermentation du lait avec l'aide de micro-organismes tels que des bactéries et des champignons ainsi que des enzymes qui transforment le lait en fromage. Ce processus comprend plusieurs étapes, depuis la collecte et la pasteurisation du lait jusqu'au caillage, à l'affinage et au développement de la saveur (Fox et McSweeney, 2017).

La méthode de production et le type de lait utilisé, ainsi que les conditions d'affinage et de maturation, sont des facteurs déterminants pour le type de fromage produit, permettant ainsi une large gamme de textures et de saveurs (ADSA, 2018 ; IDF, 2011).

2.1. Transformation du lait

La transformation du lait comprend le traitement, la standardisation, la pasteurisation et l'inoculation (Walstra et al., 2006).

2.1.1. Traitement du lait

Le traitement du lait est la première et la plus importante étape de la production fromagère, car la qualité du fromage dépend largement de la qualité du lait utilisé (Rashidinejad et al., 2018).

2.1.2. La standardisation du lait

La standardisation du lait consiste à ajuster la teneur en matières grasses et en protéines du lait pour garantir une qualité constante du fromage (Fox et al., 2017).

2.1.3. Pasteurisation

Le lait est pasteurisé pour éliminer les bactéries nocives et garantir la sécurité du produit fromager (McMahon et al., 2021).

2.1.4. Ensemencement

L'inoculation consiste à ajouter des cultures de bactéries ou de moisissures au lait pour lancer le processus de fermentation (Buchin et al., 2019).

2.2. Coagulation

La coagulation est une étape cruciale de la production fromagère, car elle transforme le lait liquide en caillé solide. Ce résultat est obtenu grâce à l'utilisation d'enzymes telles que la présure, ou l'acide, qui clivent la caséine (Chandan et al., 2017).

2.3. Manipulation du caillé

Après la coagulation du lait, le caillé subit plusieurs étapes. Tout d'abord, il est découpé, puis égoutté. Ensuite, le caillé est chauffé et pressé. Le fromage est ensuite salé et façonné selon les besoins pour obtenir la texture et la saveur souhaitées (Walstra et al., 2006).

2.3.1. Découpage du caillé

Le découpage du caillé est le processus qui consiste à couper le lait coagulé (le caillé) en petits morceaux pour faciliter l'expulsion du lactosérum et le raffermissement de la masse de caillé (Buchin et al., 2019).

2.3.2. Égouttage du lactosérum

L'égouttage du lactosérum consiste à séparer l'excès de lactosérum liquide du caillé solide (Sharma et al., 2017).

2.3.3. Pressage du caillé

Le pressage est une étape essentielle de la production de fromage, car il permet d'éliminer l'excès de lactosérum et de comprimer le caillé de fromage pour lui donner une forme solide (Pappa et al., 2017).

2.3.4. Cuisson du caillé

L'étape de la cuisson du caillé consiste à chauffer le caillé à une température et une durée spécifiques, ce qui contribue à déterminer la texture et la saveur du produit fromager final (Mansour et al., 2018).

2.3.5. Salage

Le salage est une étape importante de la production fromagère, car il est utilisé pour améliorer la saveur, la formation d'une croûte et inhiber la croissance bactérienne pour garantir la sécurité microbiologique du fromage (McMahon et al., 2021). Le sel peut être

directement ajouté au caillé, ou bien le fromage peut être saumuré après le façonnage (McSweeney *et al.*, 2017).

2.3.6. Façonnage

Le caillé est façonné en utilisant des formes ou des moules spécifiques, ce qui peut influencer la texture et l'aspect du fromage (Buchin *et al.*, 2019).

2.4. Affinage

Pendant la période d'affinage, le fromage est conservé dans des conditions particulières de température et d'humidité. Ce processus complexe implique une série de changements biochimiques et microbiologiques qui surviennent au fil du temps, ce qui permet d'obtenir des saveurs, des arômes et des textures uniques pour chaque type de fromage. La durée de l'affinage peut varier considérablement, allant de quelques jours à plusieurs années, en fonction des caractéristiques propres à chaque type de fromage (Fox *et al.*, 2017 ; Walstra *et al.*, 2006).

3. Classification du fromage (Types de fromages et leurs caractéristiques)

Les fromages peuvent être classés en plusieurs grandes familles en fonction de leurs caractéristiques, notamment la teneur en eau, la texture, la saveur, la méthode de production, l'aspect.

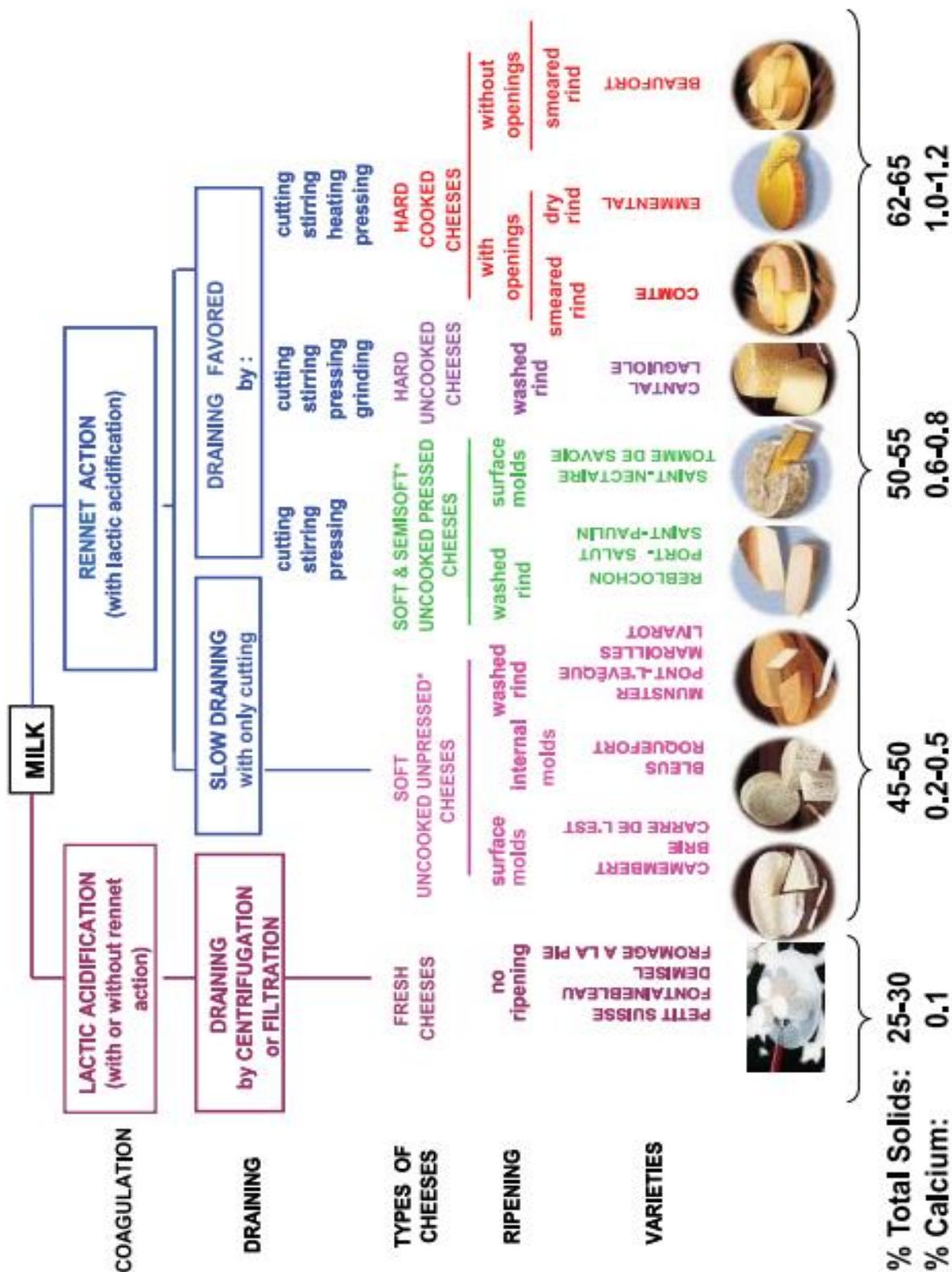


Figure 4 : Classification et caractéristique des fromages (Lenoir et al., 1985).

3.1. Fromage frais

Les fromages frais sont généralement non affinés et sont consommés dans les jours qui suivent leur production, fabriqués à partir de lait pasteurisé à forte teneur en eau, ce qui se traduit par une texture molle et tartinable, crémeux et une saveur douce et acidulée (Sodini et al., 2017). Les exemples incluent le fromage cottage, la ricotta et le fromage à la crème (Ozturkoglu-Budak et al., 2018).

3.2. Fromage à pâte molle

Les fromages à pâte molle sont affinés pendant une courte période, se caractérisent par un intérieur doux et crémeux, avec des notes de champignon ou de levure, entouré d'une croûte blanche et fleurie, fine et comestible. Leur saveur varie de douce et beurrée à riche et terreuse. Le brie et le camembert en sont des exemples (Kouassi et al., 2021; Ma et al., 2016).

3.3. Fromages à pâte pressée

Le fromage pressé est un fromage fabriqué en pressant le caillé après l'avoir égoutté, pour expulser le lactosérum supplémentaire, ce qui permet d'enlever l'excès d'humidité et d'obtenir une texture plus ferme. La durée de l'affinage de ces fromages peut varier de quelques mois à plusieurs années selon le profil de saveur souhaité (Chakraborty et al., 2021).

Les fromages à pâte pressée sont classés en fromages à pâte pressée cuite et fromages à pâte pressée non cuite, chacun ayant ses propres caractéristiques.

3.3.1. Fromages à pâte pressée cuite

Les fromages à pâte pressée cuite sont produits en chauffant et en pressant le caillé pour éliminer l'excès de lactosérum et réduire l'humidité, ce qui crée une texture plus dense et ferme. Ils sont ensuite affinés pendant plusieurs mois, voire des années. Les fromages à pâte pressée cuite sont connus pour leur gamme de saveurs, allant d'une douceur subtile à un goût piquant. Parmi les exemples de fromages à pâte pressée cuite, on peut citer le suisse, l'emmental, le gruyère et le comté (Wendorff et al., 2021 ; Schmidt et al., 2020).

3.3.2. Fromages à pâte pressée non cuite

Les fromages à pâte pressée non cuite sont produits en laissant le caillé fermenter naturellement, sans être chauffé. Ils sont ensuite pressés pour éliminer l'excès d'humidité, ce qui donne une texture semi-ferme avec des petits trous ou des yeux. Ces fromages peuvent être affinés pendant des périodes variables, allant de quelques semaines à plusieurs années. Le cheddar et l'edam sont des exemples de fromages à pâte pressée non cuite. Ils sont connus pour leur saveur plus vive et plus acidulée que les fromages à pâte pressée cuite (**Mundt et al., 2021 ; Tong et al., 2020**).

3.3.3. Autre classification

Les fromages à pâte pressée cuite et à pâte pressée non cuite sont deux grandes catégories de fromages souvent associées respectivement aux fromages à pâte dure et aux fromages à pâte demi-ferme en relation avec la méthode de préparation du caillé (**Fox et al., 2020 ; Durland et al., 2019**).

3.3.3.1. Fromage à pâte dure

Les fromages à pâte dure sont caractérisés par leur longue période d'affinage, généralement d'un an ou plus, ce qui leur confère une texture dense, granuleuse, sèche et friable, ainsi qu'une saveur intense et piquante souvent décrite comme noisette, fruitée ou salée. Le cheddar, le parmesan et le gruyère sont quelques exemples de fromages à pâte dure (**Pinto et al., 2019 ; Lopetcharat et al., 2017**).

3.3.3.2. Fromage à pâte demi-dure

Les fromages à pâte semi-dure (également appelés pâte demi-ferme) se caractérisent par une texture légèrement plus ferme que les fromages à pâte molle, mais tout de même assez souple grâce à un taux d'humidité modéré. Ils peuvent présenter une croûte naturelle ou lavée et leur saveur varie généralement de douce à forte selon le type de fromage. Parmi les exemples de fromages à pâte semi-dure, on peut citer le Havarti, le Gouda, l'edam et le Colby (**O'Mahony et al., 2020 ; Sorrentino et al., 2018**).

3.4. Fromage bleu

Les fromages bleus se caractérisent par les veines bleues qui les traversent, résultent de l'inoculation avec des spores de moisissures bleu-vert au cours du processus de production du fromage. Ils présentent une texture crémeuse et une saveur à la fois acidulée et piquante, accompagnée d'un arôme prononcé et caractéristique. Parmi les fromages bleus les plus connus, on peut citer le Roquefort, le Gorgonzola et le Stilton (**Gobbetti et al., 2018 ; Wolfe et al., 2018**).

4. Valeur nutritionnelle du fromage

Le fromage est un aliment hautement nutritif, offrant une source importante de protéines de qualité supérieure contenant tous les acides aminés essentiels, y compris d'acides aminés à chaîne ramifiée, nécessaires à la synthèse des protéines essentielles à la croissance, à l'entretien et à la réparation des tissus de dans le corps (**Gunn et al., 2018 ; Haug et al., 2007**). Il contient également un éventail de vitamines, notamment A, D, B12 et riboflavine, ainsi que des minéraux comme le calcium et le phosphore, tous étant cruciaux pour la santé osseuse et dentaires (**Weaver et al., 2018 ; Thorning et al., 2016**).

De plus, le fromage est une source de probiotiques bénéfiques, améliorant la santé intestinale et renforçant le système immunitaire, et les peptides bioactifs (**Pimentel et al., 2018**), ainsi que d'acides gras bénéfiques tels que l'acide linoléique conjugué (CLA) avec des propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses, anti-obésité, de plus une amélioration des taux de lipides sanguins (**Hjerpsted et al., 2018 ; Delgado-Andrade et al., 2007**).

Toutefois, le fromage est également riche en graisses saturées et en sodium, ce qui peut avoir des effets néfastes sur la santé s'il est consommé en excès (**Praagman et al., 2012**). Une consommation excessive de fromage, en particulier de fromage gras, a été liée à un risque accru de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2 et d'autres problèmes de santé (**Thorning et al., 2017**).

Dans l'ensemble, le contenu nutritionnel du fromage dépend du type et de la méthode de production, mais il peut être un ajout sain et nutritif à un régime alimentaire équilibré lorsqu'il est consommé de manière modérée et dans le cadre d'un mode de vie sain (**Huth et Park, 2012**).

4.1. La valeur nutritionnelle d'Edam

L'Edam est un type de fromage hollandais à pâte semi-dure connu pour sa couleur jaune pâle, sa saveur douce et noisettée et sa texture onctueuse. Il constitue une bonne source de nutriments, notamment de protéines, de graisses, de vitamines, de minéraux et de probiotiques.

Tableau 7: Valeurs nutritionnelles dans 100g d'Edam.

Nutriment/composé	Quantité par 100g	Références
Protéines	24,0g-28,0g	(Verruck et al., 2021 ; Mensink et al., 2003)
Graisses	27,0g-29,0g	(Le et al., 2021 ; Cirillo et al., 2019)
Vitamines		
Vitamine A	370,0-470,0 µg	(Hartman et al., 2019)
Vitamine B12	1,84 µg	(Hartman et al., 2019)
Minéraux		
Calcium	721,0mg	(Pimentel et al., 2021)
Phosphore	420,0mg	(Pimentel et al., 2021)
Sodium	516,0mg	(Hernandez et al., 2020)
Autres composants		
Probiotiques	<i>Lactobacillus paracasei</i> : 2,7 x 10 ⁶ CFU/g <i>Lactobacillus rhamnosus</i> : 6,9 x 10 ⁴ CFU/g	(Ozturkoglu-Budak et al., 2021 ; Sánchez-Muros et al., 2020)
Acide linoléique conjugué (CLA)	6,78mg-0,47g	(Choi et al., 2019)
Sel	1,8g	(Cirillo et al., 2019)

Note : Les valeurs présentées dans le tableau sont approximatives et peuvent varier en fonction de facteurs tels que la méthode de production et la période d'affinage

4.1.1. Protéines

Le fromage Edam est une bonne source de protéines de haute qualité, qui contiennent tous les acides aminés essentiels en quantités adéquates dont l'homme a besoin (El-Abbassy et al., 2017). La teneur en protéines du fromage d'Edam est d'environ 22 à 28% du poids total selon le type et l'âge du fromage (Kunachowicz et al., 2019 ; Shori et Baba, 2015).

4.1.2. Matières grasses

Le fromage Edam est une bonne source de graisses de haute qualité, cependant relativement pauvre par rapport à d'autres variétés, avec une teneur en graisses variant de 20 à 40% du poids total en fonction de l'âge et du type de fromage, Il n'en reste pas moins un aliment riche en calories en raison de sa teneur élevée en matières grasses (**Shori et Baba, 2015**). La composition en acides gras du fromage Edam est dominée par les acides gras saturés, qui représentent environ 70% des acides gras totaux (**Ribeiro et al., 2018**) avec des graisses insaturées saines, notamment des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés (**Osorio-Díaz et al., 2014**).

4.1.3. Vitamines

Le fromage d'Edam est une bonne source de diverses vitamines, dont la vitamine A, la vitamine B2 (riboflavine), la vitamine D, la vitamine B12 et La vitamine K2 (**Chauhan et al., 2015**). La vitamine A est importante pour la vision, la santé de la peau et la fonction immunitaire, tandis que la vitamine B12 est essentielle pour la fonction nerveuse et la synthèse de l'ADN. La vitamine K2 joue un rôle clé dans la santé des os et peut également jouer un rôle dans la santé cardiovasculaire (**Tapsell et al., 2019**). Une portion de 100 grammes de fromage d'Edam fournit environ 33% de l'apport quotidien recommandé en vitamine A, 11% de vitamine D et 45% de vitamine B12 (**USDA, 2021**).

4.1.4. Minéraux

Le fromage Edam est une bonne source de plusieurs minéraux, en particulier de calcium et de phosphore. Il contient également des quantités importantes du potassium, du magnésium, du zinc et du sodium (**Shori et Baba, 2015**). Le calcium est essentiel pour la santé des os et des dents, tandis que le phosphore est important pour le métabolisme énergétique et la fonction cellulaire, tandis que le zinc est important pour la fonction immunitaire et la cicatrisation des plaies (**Gostner et Fuchs, 2013**). Une portion (1 oz ou 28 g) de fromage d'Edam fournit environ 20 % de l'apport quotidien recommandé en calcium, 15 % de phosphore et 6 % de sodium (**USDA, 2023**).

4.1.5. Autres composants

Le fromage Edam contient plusieurs composants bioactifs bénéfiques, dont les probiotiques. Il contient, comme d'autres produits laitiers fermentés, diverses souches de bactéries lactiques, dont *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* et *Streptococcus thermophilus* (Binod et al., 2015). Il contient également de l'acide linoléique conjugué (CLA) (Parvez et al., 2006).

4.2. Valeur nutritionnel du Gouba

Le gouba est un fromage néerlandais populaire, largement consommé dans le monde entier. Il s'agit d'un fromage à pâte semi-dure qui peut être affiné pendant différentes périodes, ce qui entraîne des variations de saveur et de contenu nutritionnel. Le fromage de Gouda est riche en plusieurs nutriments, notamment en protéines, en graisses, en vitamines et en minéraux, ainsi qu'en probiotiques et autres composés.

Tableau 8: Valeurs nutritionnelles du Gouda par portion de 100g.

Nutriment/composé	Quantité par 100g	Références
Protéines	25,0g	(Fardet et al., 2016)
Graisses	33,0g	(Foegeding et al., 2004)
Vitamines		
Vitamine A	337,0IU	(Trumbo et al., 2001)
Vitamine B12	1,4µg	(Rizzo et al., 2019)
Minéraux		
Calcium	800,0mg	(Fardet et al., 2016)
Phosphore	600,0mg	(Foegeding et al., 2004)
Sodium	620,0mg	(Fardet et al., 2016)
Autres composants		
Probiotiques	Varie en fonction du fabricant et des méthodes de production	(Katsanos et al., 2019)
Acide linoléique conjugué (CLA)	Varie en fonction du processus de fabrication	(Decker et al., 2011)
Sel	1,8-1,92g	(Van der Sterre et al., 2018 ; De Vries et al., 2015)

Note : Les valeurs présentées dans le tableau 8 sont approximatives et peuvent varier en fonction de facteurs tels que la méthode de production et la période d'affinage

4.2.1. Protéines

Le fromage Gouda est une bonne source de protéines de haute qualité et contiennent tous les acides aminés essentiels nécessaires à la santé humaine (Addeo et al., 2016), avec une teneur moyenne varie de 22,1 % à 30% de la matière sèche (Singh et al., 2016 ; Van der Poel, 2002).

4.2.2. Matières grasses

Le fromage Gouda est un fromage riche en matières grasses, représentant environ 20 % à 40 % de son poids. Cependant, les graisses du Gouda sont principalement saturées, mais elles contiennent également des acides gras insaturés (monoinsaturés), tels que l'acide oléique, qui sont considérés comme plus sains que les acides gras trans et les acides gras polyinsaturés (Kim et al., 2017 ; Thorning et al., 2016).

4.2.3. Vitamines

Le fromage Gouda constitue une source importante de plusieurs vitamines, notamment la vitamine A, la vitamine B12, la vitamine D, ainsi que des quantités limitées de vitamine E, de vitamine B2 (riboflavine), de vitamine K et de vitamine K2. En effet, une portion de 100 g de fromage Gouda peut fournir environ 33 % de l'apport journalier recommandé en vitamine B12, 11 % en vitamine A et 9 % en vitamine D (Pereira et al., 2018 ; Van Hulst et al., 2018).

4.2.4. Minéraux

Le fromage Gouda est une excellente source de plusieurs minéraux importants, tels que le calcium, le phosphore et le sodium. De plus, il contient également de faibles quantités de zinc et de magnésium (Pereira et al., 2018).

4.2.5. Autres composants

Le fromage gouda contient également plusieurs composés bioactifs, tels que plusieurs souches bactériennes bénéfiques (probiotiques), notamment *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* (Duar et al., 2017), l'acide linoléique conjugué (CLA) et des sphingolipides, qui ont été associés à l'amélioration des fonctions cérébrales et à la réduction du risque de maladie cardiaque (Oliveira et al., 2019 ; Addeo et al., 2016).

Le fromage Gouda contient de petites quantités d'autres nutriments, notamment du lactose, ce qui peut poser problème aux personnes souffrant d'intolérance au lactose, des acides aminés, du cholestérol. Toutefois, la composition spécifique du fromage Gouda peut varier en fonction de facteurs tels que le type de lait utilisé, la méthode de production et l'âge du fromage (Singh *et al.*, 2016).

5. Microbiologie du fromage

La production de fromage est un processus complexe qui repose en grande partie sur les micro-organismes, qui jouent un rôle essentiel, en contribuant au développement de la saveur, de la texture et de l'arôme du fromage, en intervenant à chaque étape de la production de fromage, depuis la coagulation du lait jusqu'à l'affinage final (Elizaquível *et al.*, 2020).

5.1. Rôle des micro-organismes dans la production de fromage

5.1.1. Bactéries lactiques (LAB)

Ce sont les bactéries les plus répandues dans la production de fromage. Elles sont responsables de la fermentation du lactose en acide lactique, qui abaisse le pH du lait et favorise la coagulation des protéines et des graisses grâce à leurs enzymes. Parmi les LAB couramment utilisées dans la production de fromage, on peut citer *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus helveticus* (Pogačić *et al.*, 2021 ; Salama *et al.*, 2019 ; Hugenholtz et Smid, 2011).

5.1.2. Champignons

Les champignons ont un rôle clé dans l'affinage et le développement des saveurs de certains fromages, en particulier ceux dotés d'une croûte naturelle (Duboc et Molimard, 2019).

5.1.2.1. Les levures

Les levures sont également impliquées dans la production de fromage, mais dans une moindre mesure que les bactéries. Elles sont responsables de créer un environnement favorable à la croissance des bactéries (Corsetti *et al.*, 2001), et de la production de composés aromatiques comme agent de fermentation secondaire, tels que les esters et les alcools, par la fermentation du lactose en acide lactique et en éthanol, qui contribuent au goût et à l'arôme du fromage (Mounir *et al.*, 2018).

Des espèces de levures telles que *Kluyveromyces lactis*, *Candida zeylanoides* et *Debaryomyces hansenii* sont couramment présentes dans les fromages artisanaux et jouent un rôle important dans le développement de l'arôme du fromage (Fernández et al., 2016).

5.1.2.2. Les moisissures

Les moisissures jouent un rôle important dans la production de certains types de fromage, tels que le fromage bleu et le camembert (Kurosawa et al., 2018). *Penicillium roqueforti* est utilisé dans la production de fromages bleus, comme le Roquefort, elle est responsable des veines bleu-verts, tandis que *Penicillium camemberti* est responsable de la croûte blanche caractéristique du camembert et du brie (Addis et al., 2016 ; Leclercq-Perlat et al., 2004).

5.1.3. Autres micro-organismes

D'autres micro-organismes, tels que les propionibactéries, sont également utilisés dans la production de fromage. Un exemple de propionibactérie utilisée dans la production de fromage est *Propionibacterium freudenreichii*, qui est responsable de la formation des trous dans le fromage suisse (Cattaneo et al., 2017).

5.2. Microbiologie des deux fromages sélectionnés : Edam et Gouda

5.2.1. Edam

La production d'Edam, comme celle de tous les fromages, implique un processus complexe de fermentation microbienne, qui conduit à la formation d'une communauté microbienne diversifiée composée de bactéries, de levures et de moisissures.

La composition microbienne du fromage Edam est hautement variable en fonction des différents stades d'affinage. La population bactérienne du fromage Edam est composée des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Staphylococcus* tout au long du processus d'affinage (Hultman et al., 2018 ; Wolfe et al., 2014), avec une domination de *Lactococcus lactis* au début de l'affinage, suivie de *Leuconostoc mesenteroides*, puis de *Lactobacillus casei* à des stades ultérieurs (de Jong et al., 2018). En outre, les communautés fongiques se divisent en deux catégories : les levures, telles que *Debaryomyces hansenii* et *Kluyveromyces marxianus*, qui sont présentes en grand nombre pendant les premiers stades de la maturation, et les moisissures, telles que *Penicillium roqueforti* et *Geotrichum candidum*, qui prédominent pendant les derniers stades de la maturation (Pérez et al., 2020 ; Smid et al., 2013).

5.2.2. Gouda

Des études ont été menées pour analyser les communautés microbiennes présentes dans le fromage Gouda à différents stades de maturation ont montré que les phyla les plus prédominants étaient les Firmicutes, les Actinobacteria et les Proteobacteria. Les genres les plus abondants étaient les bactéries lactiques (LAB) fermentaires, en particulier les *Lactococcus*, les *Enterococcus*, les *Lactobacillus*, les *Streptococcus* et les *Staphylococcus* (**Bokulich et al., 2016 ; Quigley et al., 2013**), tandis que les genres fongiques les plus courants étaient les levures, tels que *Debaryomyces* et *Kluyveromyces*, ainsi que les moisissures telles que *Penicillium* (**Taminiau et al., 2016 ; Smid et al., 2005**).

6. Biochimie du fromage

La biochimie maturation du fromage implique de nombreuses réactions biochimiques, dont la protéolyse, la lipolyse et la glycolyse. La protéolyse génère des peptides et des acides aminés, la lipolyse produit des acides gras libres, et la glycolyse, le métabolisme du lactose par les bactéries lactiques, génère de l'acide lactique (**Bintsis et al., 2004**), la biochimie de maturation implique également la formation de divers composés volatils, tels que les esters, les aldéhydes et les cétones (**Belloque et al., 2004**).

6.1. Protéines et matières grasses

La caséine, une protéine présente dans le lait, est cruciale pour la formation du caillé. L'ajout de présure ou d'acide perturbe les micelles de caséine, ce qui provoque leur coagulation et la séparation du caillé et du lactosérum. Les propriétés des micelles de caséine, telles que leur taille, leur forme et leur stabilité, déterminent la texture finale du fromage (**Lucey et Singh, 2004**), outre les caséines, la fraction grasse du lait joue également un rôle important dans la biochimie du fromage (**Walstra et al., 2006**).

6.2. Les enzymes et les micro-organismes

Les enzymes, principalement d'origine microbienne, ont un rôle important dans la biochimie du fromage. Elles dégradent les protéines et les graisses du lait en molécules plus petites, ce qui favorise la maturation du fromage et le développement de textures et d'arômes spécifiques (**Fox et al., 2017**).

III. PARTIE

EXPERIMENTALE

A. Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Objectif

Notre étude expérimentale est effectuée au niveau du laboratoire de recherche antibiotique, antifongique : physico-chimie, synthèse et activité biologique LAPSAB de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Abou Bekr-Bekaid-Tlemcen. Le but de ce travail pratique est de rechercher d'éventuel effet inhibiteur de deux fromages artisanaux, l'Edam et le Gouda sur l' α -amylase pancréatique. Cette dernière est une enzyme clé dans le traitement du diabète sucré.

2. Fromage

Nous avons utilisés dans notre étude un fromage à pate dure à base du lait de vache de type Edam et Gouda (Figure 5). Ces deux produits sont des préparations artisanales et ils ont été achetés auprès du magasin « Les délices de Grand-Mère) situé à Tlemcen en Mars 2023. Le magasin est spécialisé dans la préparation artisanale d'une grande variété de fromages.



Figure 5 : Les fromages qui ont été étudiés (à gauche : Gouda ; à droite : Edam)

3. Préparation des extraits des fromages (Edam et Gouda)

Pour les extraits, nous avons pris 2g du fromage Edam ou Gouda. Ils ont été découpés en petits morceaux et mis chacun dans un tube et mélangés avec 10 ml de solution tampon

Matériel et méthodes

phosphate (0,02M, pH 6,9). L'ensemble est bien agiter afin d'extraire le maximum des molécules.

Le tube a été recouvert avec du papier aluminium et laissé pendant 24H à température ambiante. Après, le mélange a été centrifugé pendant 10 mn à 4000 rpm. Le surnageant dans le tube contient la majorité des molécules solubles et donc, nous l'avons utilisé pour évaluer l'effet inhibiteur du fromage (Edam et Gouda) sur l' α -amylase.

4. Caractérisation des fromages

4.1. Mise en évidence des acides aminés par l'utilisation de la ninhydrine

La ninhydrine (2,2-dihydroxyindan-1,3-dione), est un réactif chimique couramment utilisé pour détecter et visualiser la présence d'acides aminés, de peptides et de protéines. Nous avons mis 1 ml de l'extrait (Edam et Gouda) dans un tube à essai, puis y ajouter 1 ml de la solution de ninhydrine (1% dans l'acétone). Nous l'exposons à la chaleur en utilisant le bain-Marie. Si la coloration obtenue est violette-bleue, cela indique un résultat positif, ce qui confirme la présence d'acides aminés.

4.2. Mesure de pH

Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre de type "Inolab", en introduisant directement la sonde dans l'échantillon à analyser à une température de 20°C.



Figure 6 : les valeurs obtenues lors de l'utilisation du pH-mètre.

4.3. Détermination de la concentration massique

1ml d'extrait du fromage (1 et 2) est mis séparément dans un tube de poids initial connu (P_0). Le contenu du tube est séché à l'étuve. Après séchage complet le tube est de nouveau pesé afin de déterminer P_1 . Cette opération est répétée trois fois.

La concentration massique des extraits est calculée en suivant l'équation ci-dessous ;

$$C = (P_1 - P_0) / V$$

C : concentration massique en g/l.

V : volume de l'extrait à sécher en l.

P_0 : poids initial du tube (vide) en g.

P_1 : poids du tube contenant l'extrait sec en g.

5. Dosage des protéines

5.1. Principe

La méthode de Biuret, développée par **Henry et al. en 1974**, est utilisée pour doser les protéines. Lorsqu'elles sont en solution alcaline, les protéines réagissent avec les ions cuivriques pour former un complexe coloré dont l'absorbance peut être mesurée à 540 nm. Afin de déterminer les différentes concentrations de protéines, on se réfère à une courbe d'étalonnage établie avec du sérum albumine bovine (SAB).

5.2. Dosage

Étape 1 : Préparation du réactif de Biuret pour 250 ml d'eau distillée

- Dissoudre 11,5 g de NaOH dans 150 ml d'eau distillée.
- Ajouter ensuite, dans l'ordre, 0,28 g de $CuSO_4$, 0,25 g de KI et 1,48 g de tartrate double sodium/potassium (Na;K), au mélange précédent.
- Compléter le volume jusqu'à 250 ml en ajoutant de l'eau distillée.

Étape 2 : Préparation de la SAB

- Dissoudre 0,2 g de SAB dans 20 ml d'eau distillée.

Matériel et méthodes

- Réaliser des dilutions en cascade.

Étape 3 : Préparation des extraits

Étape 4 : Dosage

- Préparer une série de tubes comprenant les extraits, le blanc et la SAB.

Prévoir 3 tubes (essais) pour chaque extrait ou pour la SAB.

Ajouter 100 µl de la solution à doser (extrait ou SAB) et 1 ml du réactif de Biuret dans chaque tube.

Utiliser le réactif de Biuret comme blanc de référence pour calibrer le spectrophotomètre.

Incuber les tubes dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis mesurer l'absorbance à 540 nm.

5.3. Expression des résultats

$$\text{Pourcentage (\%)} = [(C \times V)/P] \times 100$$

Dans les équations ci-dessus :

C représente la concentration en protéines de l'extrait, exprimée en g/l (grammes par litre) et déterminée graphiquement.

V représente le volume de l'eau distillée utilisée, exprimé en litres.

P représente la prise d'essais, c'est-à-dire la quantité d'échantillon prélevée, exprimée en grammes.

Le pourcentage indique le taux de protéine.

La **Figure 7** représente la relation linéaire entre l'absorbance à 540 nm et la concentration de BSA en mg/ml, obtenue à l'aide de la méthode de Biuret. Cette courbe de corrélation démontre une proportionnalité directe entre l'absorbance et la concentration de BSA utilisée.

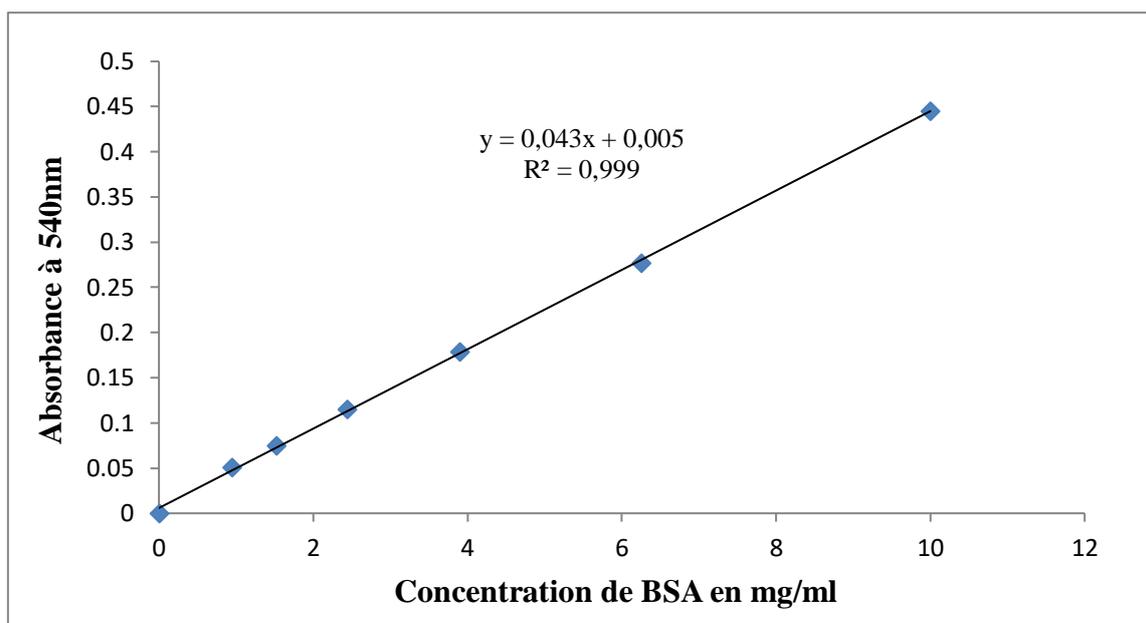


Figure 7 : Courbe d'étalonnage du sérum albumine bovine.

6. Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits fromagère sur l' α -amylase

6.1. Préparation des solutions

6.1.1. Solution tampon phosphate (0,02M ; pH=6,9)

La solution tampon se prépare en mélangeant deux solutions, acide (A) et base (B), La solution A est monobasique (NaH_2PO_4) ($M=119,98\text{g/mol}$) et B dibasique (Na_2HPO_4) ($M=141,96\text{g/mol}$) à 0,02 M et pH final de 6,9.

2,40g du composé A ajuster à l'eau distillée jusqu'à 1 litre.

2,84g du composé B ajuster avec à l'eau distillée jusqu'à 1 litre.

6.1.2. Solution d' α -amylase

Nous utilisons l'enzyme α -amylase pancréatique du porc (PPA), qui est disponible sous forme lyophilisée de la marque Fluka. Cette enzyme a un poids moléculaire de 13 kDa et une activité spécifique de 13 UI/mg. Elle doit être conservée à une température de $+4^\circ\text{C}$.

Pour préparer la solution enzymatique, nous solubilisons 6 mg de PPA dans 20 ml d'une solution tampon phosphate ayant une concentration de 0,02 M et un pH de 6,9. La solution obtenue présente une activité α -amylasique de 3,9 UI/ml.

Matériel et méthodes

Il est important de noter que l'activité α -amylasique d'origine porcine atteint son optimum à un pH de 6,9 et à une température de 37°C.

6.1.3. Solution de substrat

Le substrat utilisé pour cette réaction catalytique est l'amidon soluble. Pour préparer la solution de substrat, nous solubilisons 1 g d'amidon dans 100 ml d'une solution tampon phosphate contenant également 6 mM de NaCl. Ensuite, nous chauffons la solution à ébullition sur une plaque chauffante agitatrice pendant 10 minutes. Après cette étape, la solution est refroidie et le volume est ajusté à nouveau à 100 ml.

6.1.4. Réactif de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique)

Pour préparer le réactif, nous dissolvons 1 g de DNSA (acide 3,5-dinitrosalicylique) dans 40 ml d'eau distillée en agitant la solution. Ensuite, nous ajoutons 30 g de tartrate double sodium/potassium à la solution et continuons d'agiter. À ce stade, la solution prend une couleur jaune. Nous ajoutons ensuite 20 ml de NaOH (2N) à la solution tout en continuant l'agitation. La solution change alors de couleur pour devenir orange. Enfin, nous complétons le volume total à 100 ml en ajoutant de l'eau distillée.

Le réactif ainsi obtenu est conservé à une température de 4°C et à l'abri de la lumière pour assurer sa stabilité.

6.1.5. Solution de l'Acarbose

Dans cette expérience, nous avons utilisé l'Acarbose, commercialisée sous le nom de «Glucobay[®]50», en tant que molécule de référence pour évaluer son effet par rapport aux extraits en ce qui concerne l'activité de l' α -amylase. Pour cela, un comprimé de 50 mg est dissous dans un tampon phosphate afin d'obtenir une concentration de 1 mg/ml d'Acarbose.

Matériel et méthodes

6.2. Mode opératoire

Cette méthode est réalisée selon le protocole de **Thalapaneni et al., 2008** avec modification :

On prépare une gamme des concentrations (dilution en cascade), et on teste l'effet de chaque concentration de l'extrait sur l'activité d' α -amylase.

Tableau 9 : La gamme de tubes et leurs contenus ce qui nous avons utilisé.

Tube du blanc (pour le contrôle)	Tube du contrôle	Tube du blanc (pour les extraits)	Tube d'extrait
1 ml solution tampon + 0,5 ml solution d'amidon	0,5 ml solution tampon + 0,5 ml d'amidon + 0,5 ml de solution	0,5 ml solution tampon + 0,5 ml solution d'extrait + 0,5 ml solution d'amidon.	0,5 ml solution d'amidon + 0,5 ml solution d'extrait + 0,5 solution enzymatique.

1. Nous agitons les tubes et les incubons pendant 15 minutes à une température de 37°C.
2. Après l'incubation, nous ajoutons 1 ml de DNSA aux tubes.
3. Nous plongeons les tubes dans un bain-marie bouillant maintenu à une température de 100°C pendant 8 minutes.
4. Nous dégazons les tubes pour éliminer les bulles d'air.
5. Nous plaçons le portoir de tubes dans un bain glacé afin de stopper la réaction chimique.
6. Nous mesurons les densités optiques des échantillons au spectrophotomètre, en utilisant une longueur d'onde de 540 nm.

$$\%d'inhibition\ d'\alpha\text{-amylase} = [(A\ \text{contrôle} - A\ \text{échantillon}) / A\ \text{contrôle}] \times 100$$

A contrôle : absorbance contrôle ; **A échantillon** : absorbance échantillon

Remarque : la variation des pourcentages en fonction des concentrations est représentée graphiquement par une droite dont l'équation permet de déduire la valeur d'IC₅₀. Cette valeur est la concentration de l'extrait qui induit une inhibition de l'activité enzymatique de 50%.

Matériel et méthodes



Figure 8 : La coloration des tubes après l'ajout du DNSA.

B. Résultats et discussion

Resultats et discussion

1. Caractéristiques des extraits (Edam et Gouda)

Tableau 10 : composition physico-chimique des extraits, d'Edam et de Gouda.

	Edam	Gouda
Teneur protéine (%)	9,14±0,38	4,56±0,02
pH	5,49	5,92
Concentration massique (mg/ml)	77,66±48,38	50,66±28,02
Acides aminés	Présent	Présent

1.1. Interprétation

Le **tableau 10** présente quelques caractéristiques des extraits de fromages différents, l'Edam et le Gouda, en fonction de leur teneur en protéines, de leur pH, de leur concentration massique et de la présence d'acides aminés.

Il existe plusieurs différences entre le fromage 1 (Edam) et le fromage 2 (Gouda) dont il est évident que le fromage Edam a une teneur moyenne en protéines significativement plus élevée que le fromage Gouda ($p=0,002$) ($9,14\pm 0,38\%$ contre $4,56\pm 0,02\%$). Cela implique que le fromage Edam peut être une meilleure source de protéines alimentaires que le fromage Gouda. Cependant, le pH du fromage Gouda est plus élevé, et ce qui est légèrement neutre que celui du fromage Edam, à 5,92 contre 5,49.

La concentration massique du fromage Edam ($77,66\pm 48,38$ mg/ml) est supérieure à celle du fromage Gouda ($50,66\pm 28,02$ mg/ml), ce qui signifie que le fromage Edam peut être plus dense et plus concentré en termes de composition globale. La concentration massique peut nous renseigner sur la solubilité des constituants du fromage dans l'eau. Nous constatons donc que l'Edam est plus soluble dans l'eau que le Gouda.

Enfin, le tableau mentionne que l'Edam et le Gouda contiennent tous deux des acides aminés dans leur composition. Cependant, les acides aminés spécifiques et leurs concentrations peuvent différer entre les deux types de fromages, ce qui peut avoir un impact sur leur valeur nutritionnelle et leur profil gustatif.

Resultats et discussion

1.2. Discussion

1.2.1. La teneur en protéines

La teneur moyenne en protéines du fromage Edam ($9,14 \pm 0,38\%$) s'est avérée plus faible que les valeurs rapportées dans certaines études. Par exemple, une étude menée par **Kondyli et al. (2016)** a indiqué que la teneur moyenne en protéines d'Edam était de $16,73 \pm 0,61\%$. Il existe également d'autres études qui ont rapporté des valeurs plus élevées pour la teneur en protéines du fromage Edam. Par exemple, Selon une étude publiée dans le Journal of Food Science and Technology en 2021 par **Kaya et al., (2021)**, indique que la teneur moyenne en protéines du fromage Edam est de $23,35 \pm 0,15\%$,

D'autre part, la teneur moyenne en protéines du fromage Gouda dans le tableau ($4,56 \pm 0,02\%$) aussi faible par rapport aux valeurs rapportées dans certaines études. Par exemple, une étude menée par **Kalantzopoulos et al. (2004)** a indiqué que la teneur moyenne en protéines du Gouda était de $10,4 \pm 0,3\%$. Également d'autres études ont rapporté des valeurs élevées différentes pour la teneur en protéines du fromage Gouda. Par exemple, Selon une étude publiée dans le Journal of Dairy Science en 2011 (**Wijesinha-Bettoni et al., 2011**), la teneur moyenne en protéines du fromage Gouda est de $27,0 \pm 0,5 \%$.

Les valeurs de la littérature sont plus élevées que celles obtenues avec nos échantillons. Cela pourrait être expliqué par la qualité du lait utilisé pour la préparation du fromage et qui pourrait être moins riche en protéines ; ou par le fait que le dosage que nous avons effectué concerne seulement la partie soluble des échantillons de fromages et non pas la totalité.

1.2.2. Le pH

Les valeurs de pH pour les fromages Edam et Gouda dans le tableau se situent dans la fourchette rapportée par différentes études. Une étude menée par **Lucey et al. (2003)** a indiqué que le pH du fromage Edam était compris entre 5,1 et 5,9, alors qu'une autre étude réalisée par **Tavaf et al. (2019)** indique que le pH du fromage Edam est varié entre 5,5 et 5,8.

Pour le fromage Gouda, une étude de **Karp et al. (2005)** a indiqué que le pH était compris entre 5,2 et 6,3. Cependant une autre étude réalisée par **Gao et al. (2020)** indique un pH inférieur à celle du tableau est compris entre 5,2 et 5,7.

Resultats et discussion

1.2.3. La concentration massique

La concentration massique du fromage Edam ($77,66 \pm 48,38$ mg/ml) dans le tableau est beaucoup plus élevée que les valeurs rapportées par différentes études. Une étude de **Tavaf et al. (2019)** a rapporté que la concentration en masse du fromage Edam était de 33 ± 2 mg/ml. Une autre étude de **Kim et Lee (2015)** a indiqué que la concentration massique du fromage Edam était de $40,43 \pm 6,77$ mg/ml. Cependant, peu d'études ont rapporté la concentration massique du fromage Edam.

De même, la concentration massique du fromage Gouda ($50,66 \pm 28,02$ mg/ml) dans le tableau est plus élevée que les valeurs rapportées par certaines études. Par exemple, une étude de **Kandemir et al. (2012)** a rapporté une concentration massique de $19,0 \pm 0,8$ mg/ml pour le fromage Gouda. Une autre étude de **Kim et Lee (2015)** a indiqué que la concentration en masse était de $35,64 \pm 5,97$ mg/ml. Cependant, certaines études ont également rapporté des valeurs plus élevées pour la concentration massique dans le fromage Gouda. Par exemple, une étude réalisée par **Ozturkoglu-Budak et al. (2018)** a indiqué que la concentration massique du fromage Gouda était de $87,67 \pm 1,49$ mg/ml.

1.2.4. Les acides aminés

Une étude de **Guzel-Seydim et al. (2018)** a rapporté la présence d'acides aminés essentiels dans le fromage Edam, notamment l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine. Une étude réalisée par **Adesulu-Dahunsi et al. (2021)** a révélé la présence d'acides aminés essentiels et non essentiels dans le fromage Gouda, notamment l'alanine, l'arginine, l'acide aspartique, la cystéine, l'acide glutamique, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, la sérine, la thréonine, la tyrosine et la valine.

Les auteurs attribuent les variations de teneur en protéine, de concentration massique et des acides aminés aux types des laits utilisés [le lait provenant de différentes races de vaches, la saisonnalité et la situation géographique peuvent affecter la teneur en protéines et la concentration massique du fromage (**O'Sullivan et O'Cuinn, 1998**)], aux conditions de transformation ou les techniques d'analyse. La différence du pH peut être due à la composition de culture de départ, à la composition du lait et les facteurs environnementaux tels que la température et l'humidité ou aux techniques d'analyse (**Cakmakci et Kocabey, 2010**).

Resultats et discussion

Dans l'ensemble, à partir de cette analyse comparative, nous pouvons conclure que le fromage Edam pourrait être un fromage plus riche en protéines, acide et concentré que le fromage Gouda. Cependant, une analyse plus approfondie est nécessaire pour comprendre les avantages spécifiques de chaque type de fromage. Les différences entre les deux types de fromage peuvent varier en fonction des méthodes de production, des processus de vieillissement et d'autres facteurs.

2. Effet inhibiteur sur l' α -amylase

2.1. Extraits de fromages

Les graphes (**Figure 9 et 10**), montrent les pourcentages d'inhibition de l' α -amylase en fonction des concentrations des extrait d'Edam et du Gouda, on peut constater une linéarité entre les deux paramètres

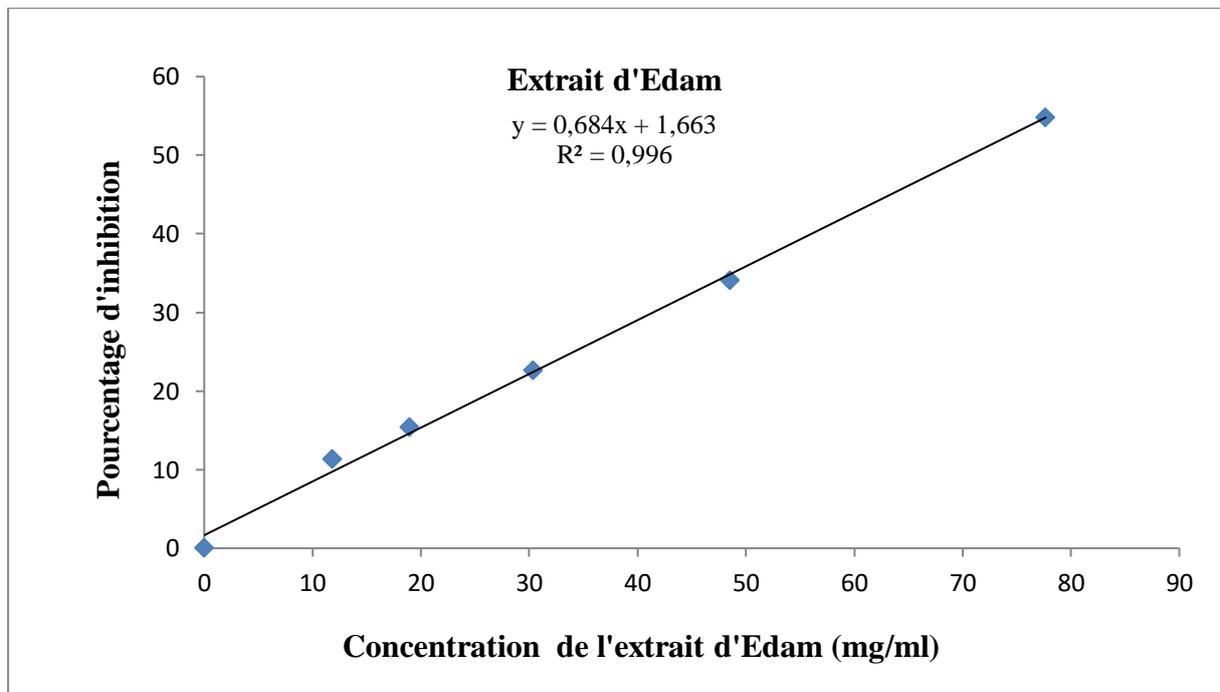


Figure 9 : Effet inhibiteur de l'extrait d'Edam sur l' α -amylase

Dans cette étude, les valeurs d' IC_{50} des fromages Edam et Gouda contre l' α -amylase ont été déterminées à partir des graphes ci-dessus (figure 9 et 10). La valeur d' IC_{50} pour le fromage Edam était de 70,66 mg/ml, et pour le fromage Gouda, elle était de 49,29 mg/ml. Ces valeurs suggèrent que les deux types de fromage présentent un niveau modéré d'inhibition de l' α -amylase.

Resultats et discussion

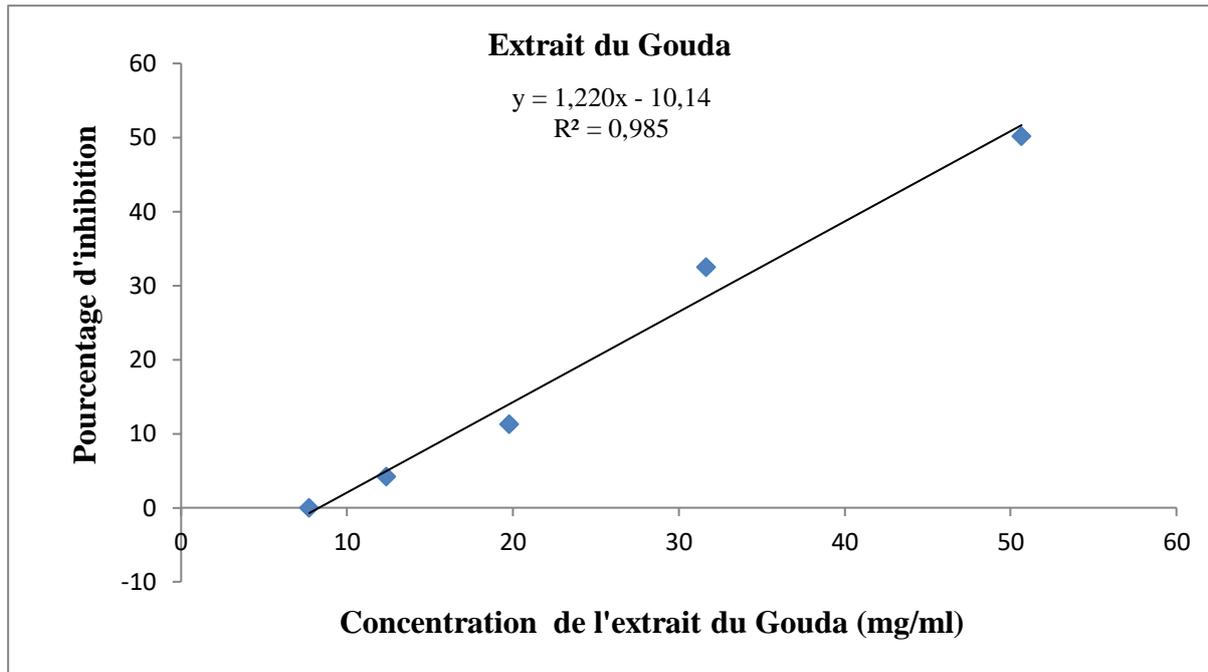


Figure 10 : Effet inhibiteur de l'extrait du Gouda sur l' α -amylase

L' α -amylase est une enzyme digestive clé qui joue un rôle important dans la digestion des glucides complexes et à l'absorption des monosaccharides qui en découlent (**Rajendran et al., 2018 ; Kumar et al., 2018**). L'inhibition de l'activité de l' α -amylase peut donc contribuer au contrôle de l'hyperglycémie postprandiale. Chez les sujets sains, les concentrations de glucose commencent à augmenter environ 10 minutes après le début d'un repas, avec un pic atteint après 60 minutes (généralement <140 mg/dl), puis reviennent aux niveaux préprandiaux dans les 2 à 3 heures. Les patients diabétiques, cependant, ont des niveaux supérieurs à 200 mg/dl après 60 minutes (**Gross, Ferreira et Oliveira, 2003**), ce qui fait des inhibiteurs de l' α -amylase une approche thérapeutique prometteuse pour la gestion du diabète sucré et des troubles métaboliques (**Haber et al., 2008 ; Gaille et al., 2019**).

L'inhibition de l'activité de l' α -amylase peut être évaluée par l' IC_{50} , un paramètre important pour estimer la puissance des produits laitiers en tant qu'inhibiteurs potentiels de l' α -amylase. La concentration d'inhibition (IC_{50}) de l' α -amylase dans les produits laitiers a été largement étudiée par divers chercheurs et plusieurs études ont été menées. Des études ont évalué l'efficacité de différents produits laitiers en tant qu'inhibiteurs de l' α -amylase et ont rapporté des valeurs IC_{50} . Les valeurs de la bibliographie sont représentées sous forme de tableau (11 et 12).

Resultats et discussion

Une étude menée par **Zhang et al. (2018)** a examiné les effets inhibiteurs de 33 produits laitiers différents, y compris les fromages, sur l'activité de l' α -amylase. Les valeurs d'IC₅₀ rapportées dans cette étude allaient de 1,61 à 122,9 mg/ml. Les valeurs d'IC₅₀ rapportées dans cette étude pour l'Edam et le Gouda étaient respectivement de 102,8 mg/ml et 6,86 mg/ml. Ces valeurs sont significativement différentes des résultats de notre étude.

Par ailleurs, une étude de **Kim et al. (2018)** a rapporté les effets inhibiteurs de divers produits naturels, dont le fromage, sur l'activité de l' α -amylase. Les valeurs d'IC₅₀ rapportées dans cette étude allaient de 10,78 à 126,49 mg/ml. La valeur IC₅₀ rapportée pour l'Edam dans cette étude était de 126,49 mg/ml, ce qui est beaucoup plus élevé que les résultats de notre étude.

Il existe plusieurs études qui ont rapporté des résultats variés au sein de la fourchette des valeurs mentionnée dans chacune des deux études précédente.

Tableau 11 : Les différentes valeurs d'IC₅₀ qui ont été rapportées par plusieurs études (Dans la fourchette mentionnée selon **Kim et al. (2018)** et **Zhang et al. (2018)**.)

Produit laitier	IC ₅₀ (mg/ml)	Références
Protéines de lactosérum	30,00	(Gupta et al., 2018)
	40,28	(Rizzo et al., 2015)
La caséine (lait de vache)	70,10	(Guo et al., 2010)
La caséine (lait de chèvre)	51,70	
La caséine (lait de brebis)	57,60	
Monterey Jack	61,70	(Dhanapal et al., 2017)
Provolone	40,60	
Cheddar	63,30	(Corrigan et al., 2006)
	32,00	
	77,48	
Parmesan	39,00	(Corrigan et al., 2006)
	58,60	(Huma et al., 2015)
mozzarella	68,03	
Yaourt	39,70	(Donkor et shah, 2008)
	84,00	(McDougall et al., 2005)
Lait de chèvre	10,24	(Yalcin et al., 2015)

Une autre étude de **Wijngaard et al. (2015)** a évalué les effets inhibiteurs des extraits de fromage sur l'activité de l' α -amylase. Les valeurs d'IC₅₀ rapportées dans cette étude étaient

Resultats et discussion

comprises entre 0,89 et 8,31 mg/ml. La valeur d'IC₅₀ rapportée pour l'Edam dans cette étude était de 5,02 mg/ml, ce qui est inférieur au résultat de notre étude.

Différentes études ont révélé des valeurs variables qui se situent dans la fourchette mentionnée dans l'étude de **Wijngaard et al. (2015)**. Ces résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 12 : Les différentes valeurs d'IC₅₀ qui ont rapporté par plusieurs études (Dans la fourchette mentionnée selon **Wijngaard et al. (2015)**.)

Produit laitier	IC ₅₀ (mg/ml)	Références
Cheddar	1,33	(Ali et al., 2018)
	4,20	
Suisse	2,80	(Soong et al., 2017)
Feta	3,70	
Lait écrémé	1,80	(Kim et Cho, 2015)
Lait entier	2,10	
La crème	3,30	
Roquefort	3,82	(Silva et al., 2018)
Protéines de lactosérum (lait de chèvre)	2,70	(Elamrani et al., 2020)
Protéines de lactosérum (lait de brebis)	3,00	

Les valeurs IC₅₀ rapportées dans les études précédentes indiquent que les produits laitiers, y compris le fromage et les protéines de lactosérum, sont des inhibiteurs potentiels de l'activité de l' α -amylase. Toutefois, l'effet inhibiteur peut varier en fonction des différences dans les conditions d'essai (le pH, la température, la concentration du substrat et la concentration de l'enzyme), des variations dans la préparation des échantillons (la filtration ou la centrifugation), des différences dans le type et la source des produits laitiers, des variations de l'enzyme α -amylase utilisée et des différences dans l'analyse statistique utilisée (**Mokni et al., 2019 ; Bhattarai et al., 2017**).

Les valeurs d'IC₅₀ obtenues dans notre étude suggèrent que les fromages Edam et Gouda peuvent avoir un effet inhibiteur relativement modéré sur l'activité de l' α -amylase par rapport à d'autres produits laitiers, qui ont des effets variables sur l'activité de l' α -amylase.

Resultats et discussion

2.2. L'acarbose

L'acarbose est utilisé comme molécule de référence pour contrôler l'inhibition de l' α -amylase. Les pourcentages obtenus sont schématisés sur la **Figure 11**. Cette molécule est efficace et elle présente des pourcentages élevés pour de très faibles concentrations.

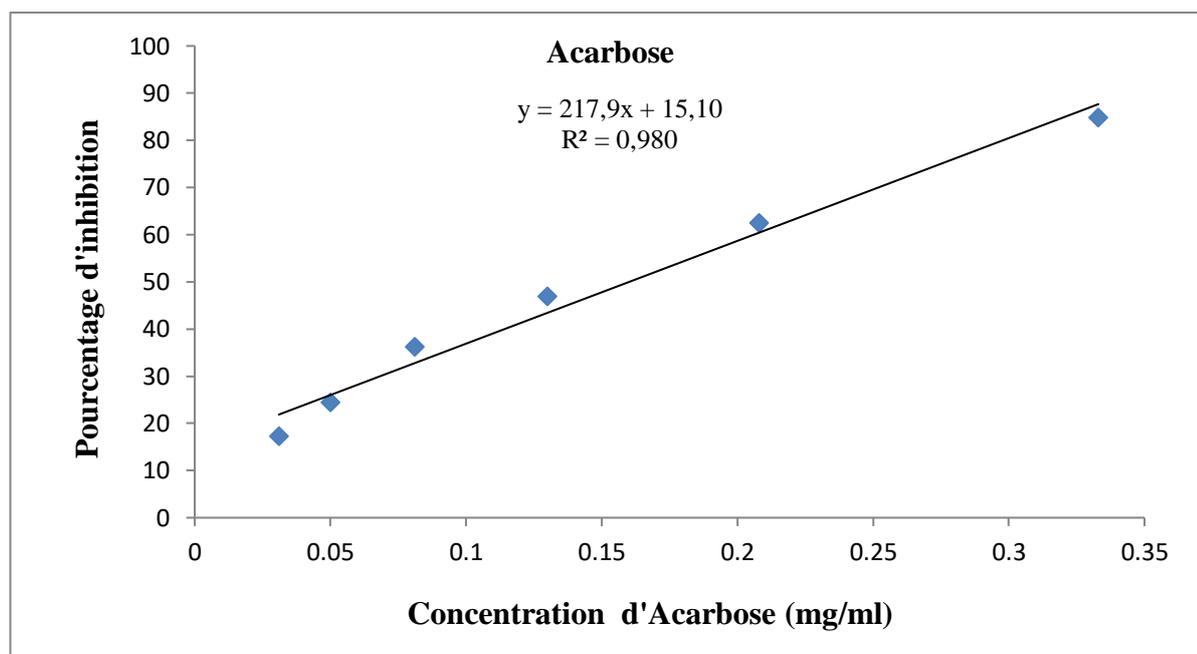


Figure 11 : Effet inhibiteur de l'Acarbose sur l' α -amylase.

2.3. Résumé des résultats obtenus

Le tableau 13 représente un résumé des valeurs d'IC₅₀ obtenues pour les deux extraits, l'extrait d'Edam et l'extrait du Gouda, ainsi que pour l'Acarbose, en termes d'inhibition de l' α -amylase.

Tableau 13 : Evaluation des valeurs des IC₅₀ de différents extraits et de l'Acarbose.

Extraits	Extrait d'Edam	Extrait du Gouda	Acarbose
IC ₅₀ (mg/ml)	70,66	49,29	0,16

Les données du tableau démontrent que l'extrait du Gouda possède une capacité modérée à inhiber l'activité de l' α -amylase, qui est supérieure à celle de l'extrait

Resultats et discussion

d'Edam. Toutefois, il est important de noter que cet effet inhibiteur reste significativement inférieur à celui de l'acarbose, qui est utilisée comme molécule de référence dans ce contexte.

Le fromage passe par plusieurs étapes pour être raffiné en sa forme finale. Durant ces processus, il y a l'intervention du pH et des microorganismes (**Walstra et al., 2006**).

Il a été confirmé et expliqué par **Osman et al., (2010)** et **Bengoumi et Faye, (2015)** que le processus de fermentation est assuré par la croissance des bactéries lactiques qui dégradent le lactose en glucose et galactose comme source d'énergie. Cette fermentation est à l'origine de l'activation de peptides bioactifs par l'action de ces bactéries lactiques, composante essentielle de l'action thérapeutique du lait (**Agrawal, 2004**).

Aussi, **Alu'datt et al., (2021)** montrent que le lait de vache fermenté est une source de peptides actifs, isolés et testés, avec un puissant effet inhibiteur sur l' α -amylase.

La présente étude reste préliminaire et mérite d'être reconduite pour confirmer l'effet trouvé et pour se rapprocher des molécules bioactives.

IV. CONCLUSION

CONCLUSION

Le présent travail avait pour but de rechercher l'effet inhibiteur de deux fromages, Edam et Gouda, sur l' α -amylase. Les extraits préparés sont testés et caractérisés. Les résultats montrent un pH de 5,49 et 5,95 pour l'Edam et le Gouda respectivement. Les protéines sont de l'ordre de $9,14 \pm 0,38$ % pour l'Edam et $4,56 \pm 0,02$ % pour le Gouda.

Notre étude démontre que les fromages Edam et Gouda ont montré une activité inhibitrice modérée de l' α -amylase par rapport à d'autres produits laitiers, avec des valeurs d' IC_{50} de 70,66 mg/ml et 49,29 mg/ml respectivement. Ces résultats suggèrent que ces fromages pourraient être considérés comme des agents prometteurs dans l'approche thérapeutique de la gestion du diabète sucré et des troubles métaboliques.

Ces résultats ouvrent la voie à de nouvelles recherches sur l'utilisation des fromages dans le développement de produits alimentaires fonctionnels pour le contrôle de la glycémie. Des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action spécifiques des fromages, ainsi que leur efficacité et leur sécurité à long terme chez l'Homme.

Pour cela, nous proposons les champs d'intérêt suivants :

- Tester d'autres types de fromages artisanaux sur l' α -amylase ;
- Rechercher d'autres activités biologiques comme l'effet antimicrobien
- Fractionner les extraits afin de cibler une fraction active
- Identifier la ou les molécules actives

IV. REFERENCES

REFERENCES

A

1. Abdel-Fattah, A. F., & Soliman, N. A. (2016). Optimization of culture conditions for α -amylase production from newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens* under solid-state fermentation using agro-industrial waste. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 115-123.
2. Addeo, F., Chianese, L., Sacchi, R., & Paolino, R. (2016). Gouda cheese: A review of composition, ripening, microbiology, and factors influencing flavor and quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 824-839.
3. Addis, M., Pisano, M. B., Bacciu, D., Scintu, M. F., & Cossu, A. (2016). The role of molds in cheese ripening: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(10), 4064-4078.
4. Adesulu-Dahunsi, A. T., Omemu, A. M., & Oyeyiola, G. P. (2021). Évaluation de la production à petite échelle de fromage Gouda à partir de lait de vache en utilisant l'extrait de déchets d'ananas comme coagulant. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 140-150.
5. Ali, I., Li, C., Li, H., & Hussain, S. (2020). Microbial alpha-amylases and their industrial applications: A review. *Protein Expression and Purification*, 173, 105685.
6. Ali, S. A., Ahmed, S. D. et Bashir, S. (2018). Activité antidiabétique in vitro des produits laitiers. *Journal of Food Science and Technology*, 55(12), 4872-4879.
7. Althumiri, N. A., et al. (2018). Inhibition of porcine pancreatic alpha-amylase by heavy metal ions. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 132-137.
8. Alvarez-Bueno, C., Cavero-Redondo, I., Martinez-Vizcaino, V., Sotos-Prieto, M., Ruiz, J. R., & Gil, A. (2019). Effects of milk and dairy product consumption on type 2 diabetes: overview of systematic reviews and meta-analyses. *Advances in Nutrition*, 10(suppl_2), S154-S163.
9. American Dairy Science Association. (2018). Cheese. In *Dairy Processing & Quality Assurance* (pp. 249-292).
10. American Diabetes Association. (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 34 Suppl 1(Suppl 1), S62-S69.
11. American Diabetes Association. (2012). Standards of medical care in diabetes—2013. *Diabetes Care*, 36(Suppl 1), S11-66.
12. American Diabetes Association. (2018). Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*, 41(Supplement 1), S13-S27.

REFERENCES

13. American Diabetes Association. (2020). Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment. Sec. 8. In Standards of Medical Care in Diabetes-2020. *Diabetes Care*, 43(Supplement 1), S98-S110.

14. American Diabetes Association. (2021). Microvascular complications and foot care. *Diabetes Care*, 44(Supplement 1), S139-S153.

15. American Diabetes Association. (2021). Standards of medical care in diabetes-2021. *Diabetes care*, 44(Supplement 1), S1-S232.

B

16. Bailey, C. J. (2017). Metformin: historical overview. *Diabetologia*, 60(9), 1566-1576.

17. Banerjee, A., Ghosh, B., & Chakraborty, S. (2021). Insights into the structural and functional aspects of α -amylase. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 100932.

18. Bellamy, L., Casas, J. P., Hingorani, A. D., & Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 373(9677), 1773-1779.

19. Belloque, J., Domínguez, R., & Sánchez, S. (2004). Volatile compounds in cheese. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (pp. 439-460). Springer US.

20. Berry, D. R., & Paterson, A. (1990). Enzymes in the food industry. In D. R. Berry & A. Paterson (Eds.), *Enzyme Chemistry* (pp. 306-351).

21. Bhattacharya, S., Ghosh, S., Das, A., Ghosh, S., Datta, S., Das, D., ...& Chattopadhyay, S. (2017). Mechanistic insight of α -amylase inhibition by plant flavonoids: A computational exploration. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35(2), 257-270.

22. Bhattarai, R. R., Dhital, S., Wu, P., Chen, X., & Gidley, M. J. (2017). Structural and functional analyses of dairy products with inhibition activity against human alpha-amylase. *Food Chemistry*, 225, 105-112.

23. Binod, P., Sukumaran, R. K., Shirke, S. V., Rajput, J. C., & Pandey, A. (2007). Evaluation of fungal culture filtrate containing chitinase as a biocontrol agent against *Helicoverpa armigera*. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1845-1852.

24. Bintsis, T., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Robinson, R. K. (2004). Existing and potential applications of proteolytic enzymes in cheese. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney,

REFERENCES

T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (pp. 209-228). Springer US.

25. Bischoff, F. (2008). α -Glucosidase inhibitors: Current usage and perspectives. *Expert opinion on pharmacotherapy*.

26. Bischoff, H. (1997). *Pharmacol Res*, 36(6), 409-14.

27. Bockelmann, W., Willems, P., Neve, H., & Heller, K. J. (2018). Cultures for cheese making. In *Cheese* (pp. 235-282). Springer.

28. Bokulich, N. A., Mills, D. A., & Underwood, M. A. (2016). Surface microbes in the neonatal intensive care unit: Changes with routine cleaning and over time. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(4), 2837-2845.

29. Bonner, C., et al. (2016). Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors for type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 164(11), 752-762.

30. Brouwer-Brolsma, E. M., Sluik, D., Singh-Povel, C. M., Feskens, E. J., & de Vries, J. H. (2019). Dairy product consumption and risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Human Nutrition and Metabolism*, 10(2), 125-137.

31. Brown, K., et al. (2019). Activation of alpha-amylase by magnesium ions: Mechanistic studies using spectroscopic techniques. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 39(3), 167-174.

32. Buchin, S., Beuvier, E., & Duboz, G. (2019). The microbiology of cheese. In *J.E. Bergey's manual of systematic bacteriology and archaea* (pp. 384-408). Springer.

33. Bunte, M. C., Hermanns, M., Zeymer, U., & Lindemann, G. (2019). Peripheral artery disease in diabetes mellitus: prevalence, diagnosis and therapy. *Diabetes und Stoffwechsel*, 14(2), 107–112.

34. Butler, A. E., Janson, J., Bonner-Weir, S., et al. (2003). β -cell deficit and increased β -Cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, 52(1), 102–10.

C

35. Cakmakci, M. L., & Kocabay, N. (2010). The effect of starter culture types on pH and textural properties of Turkish Beyaz cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34(3), 388-400.

36. Callaghan, B. C., Cheng, H. T., Stables, C. L., & Smith, A. L. (2012). Neuropathie diabétique: manifestations cliniques et traitements actuels. *The Lancet Neurology*, 11(6), 521-534.

REFERENCES

37. Cano, E. L., Soto, L. P., & Sánchez-Macías, D. (2019). Goat milk, cheese, yogurt, and kefir: a source of anti-diabetic molecules. *Molecules*, 24(17), 2997.
38. Cantoni, C., Cattaneo, T. M. P., Beretta, G., & Gatti, M. (2019). The microbiology of traditional hard and semihard cheeses. In *Handbook of cheese in health* (pp. 31-49). Academic Press.
39. Care, D. (2018). Care in Diabetesd2018. *Diabetes Care*, 41(1), S137-S143.
40. Carriere, V., Colonna, P., & Boudrant, J. (1997). Determination of the primary structure of pancreatic alpha-amylase and of its inhibition mechanism by acarbose and isosteric derivatives. *European Journal of Biochemistry*, 244(2), 406-414.
41. Cattaneo, C., Santagiuliana, M., Bernardi, C., & Trevisan, M. (2017). The Microbial Ecology of Propionibacterium in Swiss Cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 45-51.
42. Celleno, L., Tolaini, M. V., D'Amore, A., Perricone, N. V., & Preuss, H. G. (2007). A dietary supplement containing standardized Phaseolus vulgaris extract influences body composition of overweight men and women. *International Journal of Medical Sciences*, 4(1), 45-52.
43. Chakraborty, D., Paul, D., & Bhattacharjee, S. (2021). Cheese production and its nutritional aspects: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 37-50.
44. Chandan, R. C., Kilara, A., & Shahani, K. M. (2017). *Dairy ingredients for food processing*. John Wiley & Sons.
45. Chandra, T., Sharma, R., Singh, S., & Arora, S. (2021). Alpha-amylase: A marker enzyme for diabetes management. *Journal of diabetes and its complications*, 35(11), 107978.
46. Chauhan, G., Lal, A. K., & Saxena, A. K. (2015). A Review on Nutritional Value and Health Benefits of Cheese. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 2(3), 1-6.
47. Chauhan, P.S., Gupta, R., & Verma, J.P. (2016). Microbial alpha-amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 51(10), 1837-1845.
48. Choi, Y., Lee, J., & Chun, J. (2019). Characterization of the chemical composition and microbial diversity of Edam cheese. *Food Science and Biotechnology*, 28(2), 445-453.
49. Cirillo, F., Capasso, R., & Savarese, M. (2019). Nutritional value and quality of cheese from buffalo milk: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1865-1874.

REFERENCES

50. Cole, J. B., & Florez, J. C. (2020). Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nature reviews nephrology*, 16(7), 377-390.

51. Collège américain des obstétriciens et gynécologues. (2018). ACOG practice bulletin no. 190: Gestational diabetes mellitus. *Obstetrics & Gynecology*, 131(2), e49-e64.

52. Coppola, S., Mauriello, G., Aponte, M., & Moschetti, G. (2020). Microbial biodiversity of traditional cheeses: Starter cultures, non-starter lactic acid bacteria, and yeasts for unique quality. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1150.

53. Corrigan, A., Wong, I., Murray, B., et al. (2006). Effects of cheese containing different white cheese powder concentrations on postprandial blood glucose levels and appetite in healthy adults. *Appetite*, 47(1), 1–6. **2.**

54. Corsetti, A., Settanni, L., & van Sinderen, D. (2001). The role of yeasts in cheese ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1-2), 69-80.

D

55. De Jong, A., Hansen, E. B., Grosu-Tudor, S. S., Buzzini, P., Khakimov, B., Schoustra, S. E., & Jespersen, L. (2018). Metagenomic analysis of microbial communities in artisanal and industrially produced Gouda-type cheeses. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2703.

56. De la Hera, E., Prieto, A., Ramos, M., & Lebrón-Aguilar, R. (2019). Purification and characterization of porcine pancreatic α -amylase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 961-967.

57. De Vries, J. H., Bokkers, B. G., van de Kamp, M. E., & Dijkstra, J. (2015). Salt reduction in Dutch semi-hard cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, 129-137.

58. Decker, E. A., et al. (2011). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Academic Press, 193-200.

59. Del Prato, S. (2009). Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of Type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diabetic Medicine*, 26(12), 1185–92.

60. Delgado-Andrade, C., Seiquer, I., Navarro, M. P., & Morales, F. J. (2007). Contribution of conjugated linoleic acid to the overall antioxidant effect of cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 8944-8951.

REFERENCES

61. Dhanapal, C. K., Gopal, A., & Fathima, G. (2017). Alpha-amylase inhibitory potential in different Indian cheeses and correlation with antioxidant activity. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(4), 2238-2246.
62. Dhawan, S., & Kaur, J. (2017). Microbial alpha-amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 53, 88-101.
63. Dijkstra, B. W., & Dijk, H. (2014). Alpha-amylase: structure and function. In *Industrial Enzymes* (pp. 85-102).
64. Ding, L., Li, J., & Song, Z. (2012). Carbohydrate degradation by combined supplementation of α -amylase and glucoamylase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(13), 2761-2766.
65. Donkor, O. N., & Shah, N. P. (2008). Alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibition by milk proteins and their hydrolysates. *Journal of Food Science*, 73(3), H53-H61.
66. Dotsenko, G., Kudryavtseva, E., Rozhkova, A., & Sinitsyna, O. (2020). Fungal α -amylases: Production, characteristics and potential applications. *Catalysts*, 10(4), 453.
67. Drucker, D. J. (2006). Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 29(4), 1570-1586.
68. Drucker, D. J., & Nauck, M. A. (2006). The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet*, 368(9548), 1696-1705.
69. Duar, R. M., et al. (2017). Identification of probiotic strains from human milk and probiotic supplement using multiplex PCR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 3005-3011.
70. Duboc, P., & Molimard, P. (2019). Cheese flavor: The role of fungi. *Current Opinion in Food Science*, 29, 21-28.
71. Dugat-Bony, E., Jany, J. L., & Zagorec, M. (2021). Dynamique microbienne et biodiversité dans le fromage : une revue. *Food Microbiology*, 95, 103704.
72. Durland, E. A., Tatini, S. R., & Broadbent, J. R. (2019). Cheeses of the world: Science, technology, and practice. In *Handbook of Cheese in Health* (pp. 3-16).
73. Dyck, P. J., Albers, J. W., Andersen, H., Arezzo, J. C., Biessels, G. J., Bril, V., ... & Tesfaye, S. (2017). Diabetic polyneuropathies: update on research definition, diagnostic criteria and estimation of severity. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 33(2), e neuropathies.

REFERENCES

E

74. Ekelund, U., et al. (2015). Physical activity and all-cause mortality across levels of overall and abdominal adiposity in European men and women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study (EPIC). *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(3), 613-621.

75. El-Abbassy, H., & El-Shafei, H. A. (2017). Nutritional and functional properties of Edam cheese fortified with whey protein concentrate. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), 3201-3209.

76. Elamrani, A., Ouatmane, A., Sterpone, F., Ahmat, N., and Tchiakpe, L. S. (2020). α -Amylase activity inhibition by goat and sheep milk whey proteins. *Food Chemistry*, 314, 126138.

77. Elizaquível, P., Sánchez, L., Aznar, R., & Álvarez, I. (2020). The microbiology of cheese. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd Edition) (pp. 68-74). Academic Press.

F

78. Fardet, A., et al. (2016). Cheese and Healthy Diet. In Gobbetti, M., et al. (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 156-160). Academic Press.

79. Farias, A. R. A., de Oliveira, D. M., Costa, T. F., de Souza, E. M., & de Araujo, E. F. (2021). Plant alpha-amylases: Insights into their structure, function, and biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(4), 459-475.

80. Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2016). Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. *Biomed Research International*, 2016.

81. Fisher, G.M., Rosenberg, M., & Barasch, A. (2007). Inhibition of salivary amylase activity by Acarbose and its potential for caries prevention: An in vitro study. *Journal of Dental Research*, 86(4), 350-354.

82. Flegal, K. M., Carroll, M. D., Kit, B. K., & Ogden, C. L. (2012). Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. *JAMA*, 307(5), 491-497.

83. Florez, J. C. (2008). Genetics of Type 2 Diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 37(1), 25-50.

84. Foegeding, E. A., et al. (2004). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier Science, 401-417.

REFERENCES

85. Fox, E. M., Wall, P. G., & Fanning, S. (2020). Cheese: An overview. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 173-177). Elsevier.
86. Fox, P. F. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology* (4th ed.). Springer.
87. Fox, P. F., & McSweeney, P. L. (2017). Cheese: An overview. In P. F. Fox & P. L. McSweeney (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics, and Microbiology* (4th ed., Vol. 1, pp. 1-23). Elsevier.
88. Fox, P. F., et al. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Vol. 1: General aspects (4th ed.). Elsevier.
89. Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of Cheese Science*. Springer US.
90. Fujimoto, Z., Takase, K., Doui, N., Momma, M., Matsumoto, T., & Mizuno, H. (1998). Crystal structure of a catalytic-site mutant α -amylase from *Bacillus subtilis* complexed with maltopentaose. *Journal of Molecular Biology*, 277(2), 393-407.
91. Furman, B. L., Wahi, A. K., & Bhattacharya, A. (2010). Epicatechin gallate inhibits α -amylase activity: A possible mechanism of cocoa flavanols' glycemic control. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 26(11-12), 1153-1159.

G

92. Gaille, M., Lafontan, M., & Montastruc, J. L. (2019). Inhibitors of alpha-amylase as potential drugs for the treatment of diabetes. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 28(3), 197-204.
93. Gale, E. (2013). Is type 2 diabetes a category error? *Lancet*, 381(9881), 1956–7.
94. Gao, J., Zhang, X., Sun, X., Zhang, H., & Zhao, L. (2020). Changes in the microbiota of Chinese small-leaf Kuding tea during fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 2189-2201.
95. Gao, Y., Zhou, H., & Xu, H. (2017). Purification and characterization of pancreatic alpha-amylase from *Bos taurus*. *Journal of food science and technology*, 54(4), 1001-1008.
96. Gobbetti, M., De Angelis, M., & Di Cagno, R. (2022). Proteolysis during cheese ripening. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(1), 661-679.

REFERENCES

97. Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Calasso, M. (2018). Functions of starter microorganisms in traditional fermented dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 19, 154-161.
98. Gostner, A., & Fuchs, D. (2013). Minireview: modulation of human immunity by edible mushrooms. *Toxins*, 5(4), 737-752.
99. Granger, D. A., Kivlighan, K. T., El-Sheikh, M., Gordis, E. B., & Stroud, L. R. (2012). Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1266(1), 1-7.
100. Gregg, E. W., Li, Y., Wang, J., Rios Burrows, N., Ali, M. K., Rolka, D., ... Imperatore, G. (2014). Changes in diabetes-related complications in the United States, 1990–2010. *The New England Journal of Medicine*, 370(16), 1514–1523.
101. Gross, J. L., Ferreira, S. R., & Oliveira, J. E. D. (2003). Glicemia pósprandial. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica*, 47, 728-738.
102. Grover, J. K., Yadav, S., & Vats, V. (2011). Medicinal Plants of India with Anti-Diabetic Potential. *Journal of Ethnopharmacology*, 81-100.
103. Grundy, S. M., Vega, G. L., & Yuan, Z. (2012). Influence of acarbose on the metabolic abnormalities associated with glucose intolerance. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 10(6), 477-483.
104. Gulzar, S., Ali, S., Naz, S., Anwar, S., & Iqbal, M. (2018). Purification and characterization of alpha-amylase from *Bacillus subtilis* KIBGE-HAS. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(5), 1909-1916.
105. Gunn, C. A., Weber, J. L., & Kruger, R. (2018). Cheese intake in large amounts lowers LDL-cholesterol concentrations compared with butter intake of equal fat content. *Nutrients*, 10(3), 281.
106. Guo, M., Wu, J., Shan, Y., Sun, W., Chen, X., & Yang, H. (2010). Comparative study on α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of common edible beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(14), 2474-2479.
107. Gupta, R., & Gigras, P. (2011). α -Amylase Inhibitors from Plants: A Comprehensive Review. *International Journal of Food Properties*, 14(6), 1266–1278.
108. Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2019). Microbial alpha-amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 83, 152-167.

REFERENCES

109. Gupta, R., Sharma, R., Beg, Q. K., & Khan, M. I. (2019). Production and properties of bacterial α -amylase: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 677-687.
110. Gupta, V., Garg, R., & Goyal, A. (2018). In vitro α -amylase inhibition and antioxidant activity of milk-derived products. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 141-148.
111. Guzel-Seydim, Z. B., Seydim, A. C., & Greene, A. K. (2018). Composition en acides aminés et qualité des protéines de différents types de fromage. *Journal of Food Science and Technology*, 55(4), 1442-1448.
- H**
112. Haber, S. L., Amin, K. A., & Grimshaw, C. E. (2008). Therapeutic potential of inhibitors of α -amylase activity for management of diabetes mellitus and obesity. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 10(8), 647-657.
113. Han, J., Gao, Y., Zhang, J., Li, L., Li, F., & Bao, J. (2019). Effects of various reaction parameters on the enzymatic degradation of starches with different amylose contents by alpha-amylase. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3194-3203.
114. Hanefeld, M., & Schaper, F. (2011). Alpha-glucosidase inhibitors in diabetes mellitus. In *Handbook of experimental pharmacology* (Vol. 203, pp. 357-380). Springer.
115. Hanefeld, M., Cagatay, M., Petrowitsch, T., Neuser, D., Petzinna, D., & Rupp, M. (2004). Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *European Heart Journal*, 25(1), 10-16.
116. Hannon, J. A., Kilcawley, K. N., & Wilkinson, M. G. (2018). *Microbiology and technology of cheese and fermented milk*. Springer International Publishing.
117. Harreiter, J., & Roden, M. (2019). Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2019). *Wiener Klinische Wochenschrift*.
118. Hartman, J. W., Tonzetich, J., & Bovell-Benjamin, A. C. (2019). Variation in carotenoid and vitamin A, E, and K concentrations in retail cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 77, 56-64.
119. Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in Health and Disease*, 6(1), 25.

REFERENCES

120. Hernandez, M., Guerrero, A., & Garcia-Gonzalez, R. (2020). Edam Cheese: A Review of the Chemical Composition, Microbiota, and Metabolites. *Foods*, 9(2), 229.
121. Hjerpsted, J., Leedo, E., Tholstrup, T., & Astrup, A. (2018). Cheese intake in large amounts lowers LDL-cholesterol concentrations compared with butter intake of equal fat content. *European Journal of Nutrition*, 57(3), 837-843.
122. Holland, B., Lucey, J., & McNamara, J. (2019). Origins and evolution of cheese. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4774-4791.
123. Hugenholtz, J. and Smid, E.J. (2011). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 4th ed., CRC Press.
124. Hultman, T., Johansson, D., Wallbrandt, P., & Sundh, J. (2018). The microbial community of semi-hard cheese: Seasonal variation and association with the maturation process. *International Journal of Food Microbiology*, 278, 57-67.
125. Hussain, A., Riaz, M., Aman, A., Qader, S. A. U., & Anwar, Z. (2016). Screening of Substrates for α -Amylase Production by *Bacillus subtilis* in Solid State Fermentation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, e16160166.
126. Huth PJ, Park KM. (2012). Influence of dairy product and milk fat consumption on cardiovascular disease risk: a review of the evidence. *Advances in Nutrition*, 3(3), 266-285.
- I**
127. International Dairy Federation. (2011). Milk and Milk Products – Cheese – General Guidance for the Preparation of Analytical Samples. Standard 176.
128. Inzucchi, S. E. (2012). Metformin: clinical considerations in the management of glucose homeostasis. *Diabetes Care*, 35(1), 136-143.
129. Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., ... & Matthews, D. R. (2012). Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes care*, 35(6), 1364-1379.
130. Inzucchi, S. E., Zinman, B., Fitchett, D., Wanner, C., Ferrannini, E., Schumacher, M., ...& George, J. T. (2018). How does empagliflozin reduce cardiovascular mortality? Insights from a mediation analysis of the EMPA-REG OUTCOME trial. *Diabetes Care*, 41(2), 356-363.

REFERENCES

131. Islam, S., & Parvin, M. R. (2018). Classification of animal alpha-amylases based on their localization: A review. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 5(1), 1-10.

J

132. Jang, K. T., Yoo, C. K., Lee, C. H., & Lee, J. H. (2018). Salivary α -amylase activity predicts the risk of perioperative hyperglycemia in non-diabetic patients undergoing non-cardiac surgery. *Diabetes research and clinical practice*, 143, 185-192.

133. Jayaram, S., Bhaskar, N., & Gowda, L. R. (2017). Inhibitors of alpha-amylase: A review. *Starch/Stärke*, 69(3-4), 1600220.

134. Johnson, M., et al. (2019). Chlorogenic acid as an inhibitor of alpha-amylase: In vitro and in vivo studies. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 35(4), 256-264.

K

135. Kaewnopparat, S., Kaewnopparat, N., Jangwang, A., & Kongyingyoes, B. (2017). Alpha-amylase inhibitor from edible plants: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(10), 206-215.

136. Kalantzopoulos, G., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2004). Technological and probiotic advances in cheese manufacture for functional foods. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(2), 105-110.

137. Kandemir, N., Yıldız, F., Yeşil, Ö., & Öncel, E. K. (2012). Changes in chemical composition, proteolysis and volatile compounds of Gouda cheese during ripening. *Journal of Food Science and Technology*, 49(6), 764-772.

138. Kandra, L., Kosenko, T., & Puchkov, E. (1997). Mechanism of multichain substrate degradation by alpha-amylases from *Bacillus licheniformis*. *The FEBS Journal*, 246(2), 352-357.

139. Karp, M., Piknova, L., Pöllumaa, L. et al. (2005). Characterization of Gouda cheese: A collaborative study. *Food Chem*, 91(3), 373-382.

140. Kasuga, M. (2022). Role of insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes Investigation*, 13(1), 1-7.

141. Katsanos, C.S., et al. (2019). *Bioactive Molecules in Food*. Elsevier Science, 247-272.

142. Kaya, S., Kahraman, T., & Ertugay, M. F. (2021). Production and characterization of Edam cheese made from sheep milk. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 1470-1478.

REFERENCES

143. Kim, H. J., Kim, Y. W., Kim, K. H., & Lee, Y. H. (2015). Characterization of a plant α -amylase inhibitor protein from *Amaranthus hypochondriacus* seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 192-197.
144. Kim, J. et al. (2017). Profiling of fatty acids and volatiles in Gouda cheese during ripening using SPME-GC-MS and GC-FID. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(43), 9479-9488.
145. Kim, J. H., & Cho, S. H. (2015). Inhibitory activities of milk and its products on α -amylase: Screening of potential inhibitors. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 44(6), 792-797.
146. Kim, S. H., Park, H. S., & Lee, M. K. (2018). Inhibitory effect of natural products on alpha-amylase activity: A possible therapy for diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 12(2), 97-101.
147. Kim, S. T., & Lee, W. J. (2015). Changes in physicochemical and sensory characteristics of Edam cheese during storage at different temperatures. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(1), 41-47.
148. Kindstedt, P. (2012). *Cheese and culture: A history of cheese and its place in Western civilization*. Chelsea Green Publishing.
149. Kishimoto, Y., Hiraiwa, M., O'Brien, J. S., & Kornfeld, S. (2001). Dysfunction of lysosomal alpha-glucosidase caused by a single base mutation in Japanese patients with glycogen storage disease type II. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(3), 941-948.
150. Klein, R., et al. (2015). Age-Related Incidence of Diabetes in a Large Cohort of Adults From a Contemporary General Population. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 3(1), e000058.
151. Klein, R., Klein, B. E., Moss, S. E., & Davis, M. D. (2014). The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type 1 diabetes. *JAMA Ophthalmology*, 132(8), 810-819.
152. Kondyli, E., Stamatis, A., Devery, R., & Katsiari, M. C. (2016). Nutritional quality, texture and sensory properties of low fat Edam cheese containing inulin instead of fat. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 561-569.
153. Kouassi, N. K., Ma, Y., Lee, H., Lee, S., Lee, J., & Cho, S. (2021). Characteristics and functional properties of *Brevibacterium linens* for the soft-ripened cheese manufacturing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 232-245.

REFERENCES

154. Kulkarni, M. J., & Gamanagatti, S. R. (2015). Alpha-amylase inhibitors: A review of raw material and isolated compounds from plant source. *Journal of Pharmacy Research*, 9(10), 544-548.
155. Kumar, S., Gupta, R., & Kumari, P. (2020). Bacterial Alpha-Amylases: A Review on Production, Gene Regulation, and Industrial Applications. *Frontiers in microbiology*, 11, 1976.
156. Kumar, V., Satyanarayana, T., & Gupta, R. (2018). Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(11), 1861-1877.
157. Kunachowicz, H., Nadolna, I., & Przygoda, B. (2019). Tables de composition des aliments. Varsovie, Pologne: Institut national de l'alimentation et de la nutrition.
158. Kurasin, M., & Vind, J. (2018). Enzyme engineering of alpha-amylases. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(4), 1649-1661.
159. Kurosawa, T., Asahina, Y., & Kurihara, H. (2018). Diversity of molds in cheese and role of molds in cheese flavor. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 64(1), 5-10.
160. Kwon, Y. I., & Apostolidis, E. (2007). Natural Products as α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitors. In *Functional Foods and Nutraceuticals* (pp. 239–252). CRC Press.

L

161. Lawrence, J., & Cheese, O. C. (2016). *The Oxford Companion to Cheese*. Oxford University Press.
162. Layer, P., Yamamoto, H., Kalthoff, L., Clain, J. E., Bakken, L. J., DiMagno, E. P., Theodoropoulos, T. A., Shaker, R., Kress, M., & Layer, P. (2002). Pancreatic enzyme therapy improves severe abdominal pain in patients with chronic pancreatitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 97(10), 2483-2488.
163. Le TT, Van Camp J, Nguyen HT, Smagghe G, Raes K. (2021). Comparison of Nutritional Composition, Lipid Quality, and Health Benefit Between Pasteurized and Raw Milk Cheese: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(6), 1006-1018.
164. Leclercq-Perlat, M. N., Oumer, A., Bergere, J. L., & Montel, M. C. (2004). Characterization of microbial flora in ewe's milk and prevalence of Roquefort-

REFERENCES

type cheese moulds in relation to different cheese-making processes. *International Journal of Food Microbiology*, 91(1), 67-78.

165. Lee, S., et al. (2018). Calcium ions as modulators of alpha-amylase activity: Insights from biochemical and computational studies. *Biochimica et Biophysica Acta*, 62(1), 57-65.

166. Lenoir J, Lambert G, Schmidt JL, Tourneur C. 1985. La maîtrise du bioréacteur fromage. *Biofutur* 41:23–50.

167. Leroy, F., & De Vuyst, L. (2011). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 18(1), 15-25.

168. Liu, L., Wang, D., Wong, K. S., Wang, Y., & Johnston, S. C. (2021). Stroke and stroke prevention in diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, 45(1), 37–44.

169. Liu, Y., Zhu, L., Wang, Y., Li, L., & Wang, G. (2021). Human lysosomal alpha-amylase: Structure, function, and potential as a therapeutic target. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 632073.

170. Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., & Williamson, G. (2008). Interaction of Flavonoids with α -Amylase and α -Glucosidase: Inhibition Kinetics and Mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10587–10593.

171. Lopetcharat, K., Drake, M. A., & Cadwallader, K. R. (2017). Flavor of cheese products: Metabolic and biochemical mechanisms. In *Flavor Chemistry of Animal Foods* (pp. 3-30). Springer.

172. Loureiro, V., & Gomes da Costa, M. (2015). Cheese: An overview of its chemistry, biology, and evolution. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 234-254.

173. Lu, Z., Zheng, Y., Li, L., Li, X., Li, X., & Li, W. (2021). Comparative study of the physicochemical properties of animal alpha-amylases from different sources. *Biotechnology Letters*, 43, 1021-1032.

174. Lucey, J. A., & Singh, H. (2004). Formation and structure of cheese. In P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan, & T. P. Guinee (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology* (pp. 1-36). Springer US.

175. Lucey, J.A., Lin, T., Horne, D.S. et al. (2003). Effect of pH and calcium concentration on the renneting properties of milk: a study of cheddar, Gouda, and Colby cheeses. *J Dairy Sci*, 86(7), 2195-2209.

REFERENCES

M

176. Ma, Y., Ryan, L., & Barbano, D. M. (2016). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology: Volume 1: General aspects*. Elsevier.
177. Machius, M., Declerck, N., Huber, R., & Wiegand, G. (1998). Activation of *Bacillus licheniformis* α -amylase through a disorder-order transition of the substrate-binding site mediated by a calcium-sodium-calcium metal triad. *Structure*, 6(3), 281-292.
178. Machius, M., Vertesy, L., Huber, R., & Wiegand, G. (1996). Carbohydrate and protein-based inhibitors of porcine pancreatic α -amylase: structure analysis and comparison of their binding characteristics. *Journal of Molecular Biology*, 260(3), 409-421.
179. Mandey, R., Runtuwene, J., & Patellongi, I. (2021). Alpha-amylase: An overview of its structure, functions, and applications. *Journal of Medical and Allied Sciences*, 11(1), 43-50.
180. Mansour, E. H., Attia, H. Y., & Ahmed, R. A. (2018). *Cheese production technology*. Boca Raton, FL: CRC Press.
181. Mao, Y., Ding, M., Liu, X., Xu, Y., & Ding, X. (2020). The pathogenesis of macrovascular complications in diabetes mellitus: Endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 1-17.
182. Martins, F. da S., Noso, T. M., Porto, B. N., Souza, R. O. M. A., Ribeiro, M. L., & Wosiacki, G. (2018). Identification of Flavonoids Inhibiting Alpha-Amylase from *Malus pumila* Using Ultrafiltration LC-DAD-MS/MS and Molecular Docking. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(12), 3319.
183. Maurus, R., Begum, A., Williams, L. K., Fredriksen, J. R., Zhang, R., Withers, S. G., & Brayer, G. D. (2008). Alternative catalytic anions differentially modulate human α -amylase activity and specificity. *Biochemistry*, 47(11), 3332-3344.
184. McDougall, G. J., Shpiro, F., Dobson, P., et al. (2005). Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2760-2766.
185. McMahan, D.J., et al. (2021). Cheese and fermented dairy foods. In M.P. Doyle, R.L. Buchanan, & A.C. Erickson (Eds.), *Food microbiology: Fundamentals and frontiers* (5th ed., pp. 149-182). Washington, DC: ASM Press.
186. McSweeney, P.L.H. (2013). *Biochemistry of Cheese Ripening*. Springer Science & Business Media.

REFERENCES

187. McSweeney, P.L.H., et al. (2017). Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Vol. 2: Major cheese groups (4th ed.). Boston, MA: Elsevier.
188. Meléndez, M., Pardo-Saganta, A., Obando, D., Rojas-Anaya, H., & Pérez, E. (2020). Animal α -amylases: physicochemical and enzymatic properties. *Journal of Molecular Structure*, 1211, 128079.
189. Mensink, R. P., Zock, P. L., Kester, A. D., & Katan, M. B. (2003). Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(5), 1146-1155.
190. Mercier C. 1985. Les enzymes amylolytiques. In : Mouranche A. Coste C. hydrolase et dé polymérase. Ed Gauthier- Villars, pp. 110-140.
191. Mitri, J., Yusof, B. N. M., Maryniuk, M., Schragar, C., Hamdy, O., & Salsberg, V. (2019). Dairy intake and type 2 diabetes risk factors: a narrative review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 13(5), 2879-2887.
192. Mokni, H., Hassouna, M., El-Ayeb, A., & Bejar, S. (2019). In vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activities of Tunisian artisanal cheese. *Journal of Food Biochemistry*, 43(2), e12720.
193. Montel, M.-C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., & Desmasures, N. (2014). Traditional cheeses: Rich and diverse microbiota with associated benefits. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136–154.
194. Moreira Pinto, É. S., Dorn, M., & Feltes, B. C. (2020). The tale of a versatile enzyme: Alpha-amylase evolution, structure, and potential biotechnological applications for the bioremediation of n-alkanes. *Chemosphere*, 126202.
195. Mounir, M., Coton, M., Jany, J.-L., Coton, E., & Zagorec, M. (2018). Microbial interactions within the cheese microbiota. *Current Opinion in Food Science*, 22, 1-7.
196. Mundt, K., Schwab, C., & Arendt, E. K. (2021). Uncooked cheese varieties: A review of sensory, technological and safety aspects. *Food Control*, 123, 107800.

N

197. Nakano, M., Komatsu, Y., Yokota, Y., & Yamada, E. (2002). Mechanism of action of voglibose, a potent alpha-glucosidase inhibitor, investigated in vitro. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 4(4), 286-293.

REFERENCES

198. Narayan, K. M. et Boyle, J. P. (2014). Geographical variation and disparities in diabetes prevalence in the United States, a multilevel analysis. *Diabetes Care*, 37(4), 955-963.

199. Nielsen, L. L., Young, A. A., & Parkes, D. G. (2004). Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4): a potential therapeutic for improved glycemic control of type 2 diabetes. *Regulatory Peptides*, 117(2), 77-88.

O

200. Oliveira, M. N., Siqueira, M. C., Prudêncio, E. S., & Silva, M. C. (2019). Health benefits of cheese: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3239-3251.

201. O'Mahony, J.A., et al. (2020). The cheese matrix: the influence of cheese type on the sensory properties of cheese. *Journal of Sensory Studies*, 35(2), e12560.

202. Onakpoya, I., Aldaas, S., Terry, R., Ernst, E., & Posadzki, P. (2014). The efficacy of phaseolus vulgaris as a weight-loss supplement: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *British Journal of Nutrition*, 111(1), 7-16.

203. Organisation mondiale de la santé. (2006). Définition et diagnostic du diabète sucré et de l'hyperglycémie intermédiaire : rapport d'une consultation OMS/IDF. Organisation mondiale de la santé.

204. Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L. A., & Gutiérrez-Méndez, N. (2014). Edam cheese: chemical composition, health benefits, and impact on the environment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), 384-406.

205. O'Sullivan, M. G., & O'Cuinn, G. (1998). The relationship between the composition of Irish Cheddar cheese and its proteolysis during ripening. *International Dairy Journal*, 8(1), 57-63.

206. Ozturkoglu-Budak, S., Akalin, A. S., & Kislá, D. (2018). Characterization of Turkish fresh white cheese: A review. *Journal of Food Quality*, 2018, 8081602.

207. Ozturkoglu-Budak, S., Akalin, A. S., & Nikerel, E. (2018). Effect of salt reduction on physicochemical, textural and sensory properties of Gouda cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 584-592.

208. Ozturkoglu-Budak, S., Ermis, E., Cokmus, C., & Arici, M. (2021). Evaluation of the probiotic potential of commercial cheese samples. *Journal of Food Science and Technology*, 58(2), 688-698.

REFERENCES

P

209. Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R. (2000). Progrès des amylases microbiennes. *Biotechnologie et biochimie appliquée*, 31(2), 135-152.
210. Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C.R., Soccol, V.T., Singh, D., & Mohan, R. (2015). Advances in microbial amylases. *Biotechnology Research International*, 2015, 1-14.
211. Pappa, E.C., et al. (2017). Cheese technology: Milk coagulation and cheese ripening. In A.K. Haghi & G.E. Zaikov (Eds.), *Dairy science and technology handbook* (pp. 165-182). Boca Raton, FL: CRC Press.
212. Park, S. W., Park, H. J., Lee, S. H., Kim, I. H., & Lee, H. G. (2003). Purification and characterization of a novel alpha-amylase from *Zea mays*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 67(6), 1309-1316.
213. Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1171-1185.
214. Patel, A. K., Patel, K. C., & Patel, R. H. (2017). Purification and characterization of alpha-amylase from *Bacillus subtilis* GR-1. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 115-122.
215. Paul, J. S., Gupta, N., Beliya, E., Tiwari, S., & Jadhav, S. K. (2021). Aspects and Recent Trends in Microbial α -Amylase: a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193(8), 2649–2698.
216. Pereira, P. C., Vicente, F., & Rodrigues, E. (2018). Cheese: An overview of composition, types and health benefits. In M. E. Embaby (Ed.), *Dairy Products-Advanced Research in Chemistry and Health Benefits* (pp. 1-22).
217. Pérez, D., Magalhães, R., Tomazi, T., & Bicalho, R. C. (2020). Microbial diversity and dynamics of Edam cheese during ripening as revealed by high-throughput sequencing. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
218. Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., ... Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 127(S 01), S1–S7.

REFERENCES

219. Pimentel, T. C., dos Santos, B. A., Alvim, I. D., Silva, H. L. A., & Esmerino, E. A. (2018). Nutritional and functional properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3747-3761.
220. Pimentel, T. C., dos Santos, B. A., Rocha, R. S., da Silva, A. G., Tavares, M. C., Cruz, A. G., ...& Sant'Ana, A. S. (2021). Cheese as a functional food: the example of Brazilian artisanal cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 58(1), 13-28.
221. Pinto, S. S., Rafael, R. R., & Alves, J. M. (2019). Hard cheeses: An overview on ripening parameters and cheese-making technology. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4009-4016.
222. Pippi, B., Güida, A., Pizzorno, R., Lain, O., Griffiths, G. S., & Ortolani, E. (2010). Anti-adherence effect of *Casearia sylvestris* on in vitro biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *Journal of Applied Oral Science*, 18(5), 494-499.
223. Pogačić, T., Šušković, J., Kos, B., & Sattin, E. (2021). The role of lactic acid bacteria in cheese flavor development. *Foods*, 10(4), 875.
224. Praagman, J., Franco, O. H., Ikram, M. A., Soedamah-Muthu, S. S., Engberink, M. F., van Rooij, F. J., ... & Geleijnse, J. M. (2012). Cheese consumption and risk of cardiovascular disease: results from the Rotterdam Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(6), 1454-1461.
225. Prakash, D., & Bharti, N. (2011). A comparative study on the alpha-amylase inhibitory activities of common polyphenolic compounds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62(7), 844-849.
226. Prakash, O., Jaiswal, N., & Rao, M. (2018). Alpha-amylase: An ideal representative of thermostable enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 184(2), 497-520.
227. Priyadarshani, A. M., Chandrasekharan, S., & Vijayagopal, P. (2019). Bioactive peptides in cheese: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(21), 11849-11860.

Q

228. Qamar, S., Hussain, S., Khan, S. A., & Ahmed, B. (2021). A review on the structural and functional properties of alpha-amylase. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 100936.
229. Qiao, J., Zhang, S., Sun, Y., Huang, H., & Liu, F. (2020). Structure of alpha-Amylase. *Molecules*, 25(11), 2652.

REFERENCES

230. Quigley, L., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., & Fitzgerald, G. F. (2013). The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *Journal of dairy science*, 96(8), 4928-4937.

R

231. Rahman, M. A., Paul, A. K., Hossain, M. A., & Hasan, M. F. (2020). Production and partial purification of alpha-amylase from *Bacillus* sp. using submerged fermentation. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 1-9.

232. Rajendran, S., Radha, S., Kumar, S., Muralidharan, C., & Shanmugam, V. (2018). Isolation and characterization of α -amylase producing *Bacillus* sp. from soil samples. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 691-697.

233. Rao, S. S., Rajeshwari, R., & Muralikrishna, G. (2022). Alpha-amylase in germinating cereals: role and regulation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(2), 216-226.

234. Rashidinejad, A., et al. (2018). Cheese: Production and sensory properties. In A.K. Haghi & G.E. Zaikov (Eds.), *Dairy science and technology handbook* (pp. 253-276). Boca Raton, FL: CRC Press.

235. Rea, M. C., Alemayehu, D., Casey, P. G., O'Connor, P. M., & Hill, C. (2011). Cheese microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1), 64-70.

236. Ribeiro, C. A. O., et al. (2018). Fatty acid composition and cholesterol content of Edam cheese manufactured with different milk fat levels. *Food Science and Technology International*, 24(3), 223-230.

237. Riera, F. A., Sánchez, S., & Álvarez, M. A. (2021). Progrès dans la compréhension du processus de coagulation du lait pour la production de fromage. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(2), 408-417.

238. Rizk, M., Ibrahim, D., Hamouda, R., & Hassan, H. M. (2015). Optimization of Alpha Amylase Production by *Aspergillus oryzae* Using Corn Starch as a Carbon Source. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(1), 13-19.

239. Rizzo, G., Baggio, C., Banderali, G., et al. (2015). Whey protein hydrolysate: a potential antidiabetic agent. *Journal of Medicinal Food*, 18(6), 726-732.

240. Rizzo, G., et al. (2019). Nutritional and Clinical Management of Chronic Conditions and Diseases. IGI Global: Hershey, PA, 101-118.

241. Roden, M. (2016). Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation und Diagnose. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128(S2), 37–40.

REFERENCES

242. Rosalen, P. L., Pessini, G. L., & Sanches, P. P. (2005). Inhibitory effect of a fraction from *Casearia sylvestris* on *Streptococcus mutans* adherence. *Journal of Ethnopharmacology*, 98(3), 375-378.

S

243. Salama, M. S., Abd El-Razek, A. G., & El-Shafei, H. A. (2019). The role of lactic acid bacteria in cheese production. *Food Microbiology*, 84, 103-116.

244. Salque, M., Bogucki, P. I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., ... Evershed, R. P. (2013). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. *Nature*, 493(7433), 522-525.

245. Sánchez-Muros, M. J., Barroso, F. G., & Sánchez-Zapata, E. (2020). Health benefits of edible insects with reference to the microbiota-gut-brain axis. *Nutrients*, 12(7), 2026.

246. Scheen, A. J. (2005). Antidiabétique oraux dans le traitement du diabète de type 2 : perspectives historique et médico-économique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 9(2), 186-197.

247. Scherthaner, G., & Mogensen, C. E. (2009). Sulfonylureas in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a reappraisal. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 25(8), 709-720.

248. Schmidt, J. M., Spinnler, H. E., & Kulozik, U. (2020). Characterization of texture and sensory properties of cooked cheese using a new analytical approach. *Foods*, 9(11), 1614.

249. Schmitz, J. E., van Hooijdonk, T. C., & Haan, B. J. (2011). Microbial community dynamics of Dutch Gouda cheese from a single production batch determined by molecular methods. *Journal of dairy science*, 94(7), 3672-3682.

250. Shahid, F., ul Qader, S. A., Ashraf, H., Haq, I., Ashraf, A., Khan, M. S., & Ali, A. (2020). Alpha-amylase production by a newly isolated *Aspergillus oryzae* F18 in solid-state fermentation using agro-industrial residues: optimization and characterization. *3 Biotech*, 10(8), 1-13.

251. Sharma, N., & Gupta, D. (2020). Natural α -amylase inhibitors: A comprehensive review. *Journal of Food Biochemistry*, 44(5), e13204.

252. Sharma, R., et al. (2017). Cheese: Microbiology, safety and quality. In A.K. Haghi & G.E. Zaikov (Eds.), *Dairy science and technology handbook* (pp. 119-148). Boca Raton, FL: CRC Press.

REFERENCES

253. Sheng, H., Xu, J., Tang, Q., Shen, Y., & Xia, Y. (2017). Inhibitory effects of natural plant extracts on α -amylase activity: A possibility of food ingredients in managing hyperglycemia. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3528-3537.
254. Shori, A. B., and Baba, A. S. (2015). Cheese as Functional Food: The Example of Edam Cheese. *Food Science and Technology Research*, 21(4), 487-497.
255. Siddiqui, M. R., Siddiqui, M. J., & Iqbal, A. (2012). Alpha-Amylase Inhibitors: A Review of the Recent Literature. *Current Diabetes Reviews*, 8(4), 244-252.
256. Silva, T. B., de Carvalho, L. M., Ferreira, R. L., de Paula, N. A., & Borges, L. L. (2018). Alpha-amylase inhibition by different cheese types. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 14, 76-80.
257. Singh, H. et al. (2016). Composition and functional properties of commercial Gouda cheeses: A review. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 861-876.
258. Singh, S., Kaul, A., & Misra, R. (2022). Diagnostic criteria in autoimmune diseases: A review. *Indian Journal of Rheumatology*, 17(1), 1-6.
259. Singhania, R. R., Patel, A. K., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2009). Recent Advances in Solid-State Fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 13-18.
260. Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). α -Amylases from Microbial Sources—An Overview on Recent Developments. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 173-184.
261. Skyler, J. S., Bakris, G. L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R. H., Groop, L., ... Ratner, R. E. (2016). Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, 66(2), 241–255.
262. Smid, E. J., Erkus, O., Spus, M., Wolkers-Rooijackers, J. C. M., Alexeeva, S., Kleerebezem, M., & Van Hylckama Vlieg, J. E. T. (2013). Multi-omics analysis of cheese ripening reveals 144 small molecules involved in niche control. *The ISME Journal*, 7(2), 264–276.
263. Smid, E. J., Hugenholtz, J., & de Vos, W. M. (2005). Diversity and activity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Dutch Gouda cheese. *Applied and environmental microbiology*, 71(1), 5913-5922.
264. Smit, G., Smit, B. A., & Engels, W. J. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS microbiology reviews*, 29(3), 591-610.

REFERENCES

265. Smit, G., Smit, B. A., Engels, W. J., & Wouters, J. T. (2005). Diversity of lactic acid bacteria in a Gouda-type cheese determined by amplified rRNA gene restriction analysis (ARDRA) and pulse-field gel electrophoresis (PFGE). *International Journal of Food Microbiology*, 102(2), 189-200.
266. Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., & Corrieu, G. (2017). The microbiology of cheese ripening and its impacts on cheese quality. *Dairy Science and Technology*, 95(2), 183-208.
267. Soong, Y. Y., Barlow, P. J., & Stuart, D. L. (2017). Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Milk, Cheese, and Their Dairy Nonprotein Nitrogen Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(11), 2384-2390.
268. Sorrentino, E., Maiuro, L., Succi, M., Tremonte, P., & Coppola, R. (2018). Microbial quality and biochemical characteristics of traditional and industrial mozzarella cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 42-49.
269. Sousa, M. J., Leitão, A., & Gomes, A. M. (2021). Redox reactions in cheese: An overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3297-3314.

T

270. Takahashi, N. (2018). The role of alpha-amylase in dental plaque formation. *Molecular oral microbiology*.
271. Taminiau, B., Korsak, N., Nezer, C., Burteau, S., Crevecoeur, S., & Ferauche, C. (2016). Exploring the core microbiota of symbiotic relationships in cheese through microbial indicator species analysis. *Frontiers in microbiology*, 7, 1326.
272. Tapsell, L. C., Neale, E. P., Satija, A., Hu, F. B., & Dietary fats and cardiometabolic disease: mechanisms and effects on risk factors and outcomes. *Nature Reviews Cardiology*, 16(10), 581-601. (2019).
273. Tavaf, R., Rezaee, M., Aghbashlo, M., Farahmandfar, R., & Pakdel, A. S. (2019). Comprehensive chemical, rheological, and microstructural characteristics of hard-type Iranian white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 72(4), 601-611.
274. Tesfaye, S., Chaturvedi, N., Eaton, S. E., Ward, J. D., Manes, C., Ionescu-Tirgoviste, C., ...& Boulton, A. J. (2005). Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *New England Journal of Medicine*, 352(4), 341-350.
275. Thalapaneni, N. R., Chidambaram, K. A., Ellappan, T., Sabapathi, M. L., & Mandal, S. C. (2008). Inhibition of carbohydrate digestive enzymes by Talinum

REFERENCES

portulacifolium (Forssk) leaf extract. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).

276. Thomas, C. C., & Philipson, L. H. (2015). Update on Diabetes Classification. *Medical Clinics of North America*, 99(1), 1–16.

277. Thorning TK, Bertram HC, Bonjour JP, et al. Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: current evidence and knowledge gaps. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(5):1033-1045.

278. Thorning TK, Raben A, Tholstrup T, Soedamah-Muthu SS, Givens I, Astrup A. Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. *Food Nutr Res*. 2016;60:32527.

279. Thorning, T. K., et al. (2016). Fermented dairy products and health. *Food & Nutrition Research*, 60(1), 1-15.

280. Tong, P. S., Palombo, E. A., & Vandenberg, A. H. (2020). Microbial ecology and quality of surface ripened cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 1-12.

281. Trumbo PR, et al. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. National Academies Press; 2001.

U

282. Udani, J., Hardy, M., & Madsen, D. C. (2004). Blocking carbohydrate absorption and weight loss: a clinical trial using a proprietary fractionated white bean extract. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 10(4), 42-45.

283. USDA FoodData Central. (Accessed April 11, 2023).

284. USDA. (2021). Basic Report: 01071, Cheese, Edam. Retrieved from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/173055/nutrients>

V

285. Van der Poel, A. F. B. (2002). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Volume 1: General Aspects, 3rd edition.

286. Van der Sterre, H., Huppertz, T., van der Burg, S. W., & Luyten, H. (2018). Cheese reformulation: Low salt cheese compared to regular Dutch Gouda cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(29), 7688-7697.

287. Van Hulst, M., et al. (2018). Vitamin K in Dutch cheese: Effect of cheese type, ripening, and storage. *International Dairy Journal*, 85, 103-110.

REFERENCES

288. Vanderberghe, I., Cambier, P., Beaucamp, N., & Devreese, B. (2015). Alpha-amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cellular and molecular life sciences*, 72(23), 4355-4368.
289. Verruck, S., Linares, D. M., & De Oliveira, C. A. F. (2021).
290. Verspohl, E. J. (2009). Novel pharmacological approaches to the treatment of type 2 diabetes. *Pharmacology & Therapeutics*, 124(1), 113-120.
291. Viera, A. J., & Garrett, J. M. (2005). Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Family medicine*, 37(5), 360-363.
292. Vihinen, M., Mäntsälä, P., & Annala, A. (2019). Fungal α -Amylases: Sequence and Structural Similarities. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 87(9), 739-753.
293. Vujicic-Zagar, A., & Dijkstra, B. (2006). Monoclinic crystal form of *Aspergillus Niger* α -amylase in complex with maltose at 1.8 Å resolution. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 62(8), 716-721.
- W**
294. Walstra, P., et al. (2006). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Vol. 1: General aspects (3rd ed.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
295. Walstra, P., Wouters, J. T. M., & Geurts, T. J. (2006). *Dairy science and technology*. CRC Press.
296. Wang, X., Liu, L., & Zhang, L. (2022). Structural and functional analysis of alpha-amylase. *Enzyme and Microbial Technology*, 157, 109957.
297. Weaver, C. M., Plawecki, K. L., & Harris, R. B. (2018). Milk, cheese, and their effects on osteoporosis. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10630-10640.
298. Wendorff, W. L., Duncan, S. E., & Kelly, A. L. (2021). Cheese: An overview. In *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 250-258).
299. Whelan, Col., 1964. Cité par : Wlieland W. J. (1964). Hydrolysis with alpha-amylase (section V: starch degradation); in: starsh, volume IV. *Methods in carbohydrates chemistry*.
300. Wijesinha-Bettoni, R., Brennan, M. A., & Guinee, T. P. (2011). Relationships between milk compositional parameters, coagulation properties, and the yield and composition of Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1599-1610.

REFERENCES

301. Wijngaard, H. H., Bruning, O., & Bruininx, E. (2015). In vitro digestion properties of cheese extracts and their potential as modulators of postprandial glycemia. *Journal of Functional Foods*, 15, 378-385.
302. Willi, C., Bodenmann, P., Ghali, W. A., Faris, P. D., & Cornuz, J. (2007). Active smoking and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 298(22), 2654-2664.
303. Wolfe, B. E., & Dutton, R. J. (2015). Fermented Foods as Experimentally Tractable Microbial Ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-13.
304. Wolfe, B. E., Button, J. E., Santarelli, M., & Dutton, R. J. (2014). Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity. *Cell*, 158(2), 422-433.
305. Wolfe, B. E., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2021). Ecology of Lactobacilli in cheese and the evolution of fermentation ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*, 19(12), 745-758.
306. Wolfe, B.E., et al. (2018). Microbial succession and flavor production in the making of blue cheeses, revealed using metagenomic and sensory analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(5), e02642-17.
307. World Health Organization. (2019). Classification of diabetes mellitus.

Y

308. Yalçın, H., Okur, H., Özdemir, H., Çakır, A., & Kilinc, M. (2015). Investigating the inhibitory effect of goat milk on alpha-amylase activity. *Journal of food biochemistry*, 39(4), 384-390.
309. Yates, T., Wilmot, E. G., Davies, M. J., & Khunti, K. (2013). Sedentary Behavior and the Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 36(11), 3625-3631.
310. Yau, J. W. Y., Rogers, S. L., Kawasaki, R., Lamoureux, E. L., Kowalski, J. W., Bek, T., ... & Wang, J. J. (2012). Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, 35(3), 556-564.

Z

311. Zepeda-Hernández, A., Garcia-Amezquita, L. E., Requena, T., & García-Cayuela, T. (2021). Probiotics, prebiotics, and synbiotics added to dairy products:

REFERENCES

Uses and applications to manage type 2 diabetes. *Food Research International*, 142, 110208.

312. Zhang, M., Wu, W., Li, Y., Sun, J., Wang, W., Xu, X., & Chen, H. (2018). Inhibition of alpha-amylase activity by dairy products and anticariogenic potential of fermented milk against *Streptococcus mutans*. *Food & Function*, 9(6), 3498-3505.

313. Zhang, Y., Mu, W., & Jiang, B. (2020). Recent advances in the production and application of fungal α -amylase. *Food Chemistry*, 332, 127384.

314. Zimmet, P., Alberti, K. G. M. M., & Shaw, J. (2001). Race, Ethnicity, and the Risk of Type 2 Diabetes. *Practical Diabetes*, 18(5), 175-177.