

La pénurie mondiale en présure a suscité le développement de la recherche des nouveaux succédanés capables de coaguler le lait, tout en assurant de bons rendements fromagers. Dans cet objectif, la production de la protéase acide extracellulaire par l'espèce fongique *Aspergillus niger* isolée localement, sur un résidu agroalimentaire peu coûteux fermenté par des cultures solides (SSF), a été optimisée de façon à obtenir la meilleure activité coagulante. Un essai de purification et une caractérisation biochimique de l'enzyme ont été également effectués. Les résultats obtenus montrent que la meilleure production de cette enzyme (830 US/g avec un rapport AC/AP de 4,25) a été obtenue sur milieu à base de son de blé (10g), humidifié à un taux de 39,21% par une solution minérale Czapek-Dox à pH 4, incubé à 30°C pendant 72 heures et inoculé par la suspension fongique de 106 spores/ml. L'application du plan factoriel fractionnaire à l'optimisation de la production de la protéase acide d'*A. niger*, a permis de déterminer l'influence significative du taux d'humidité du substrat et de la quantité en CaCl₂ dans le milieu (deux effets contradictoires positif et négatif respectivement) et d'exclure l'importance des autres facteurs du plan d'expérience (la quantité du lait écrémé et celle de la caséine). Une activité coagulante de 582 US/g et un rapport AC/AP de 4,32 ont été obtenus pendant cette étude. La protéase extracellulaire a été purifiée 8 fois avec un rendement d'environ 10%, en utilisant la précipitation au (NH₄)₂SO₄ à 80% de saturation et la chromatographie échangeuse d'ions sur DEAE-A50. La purification était plus efficace dans ces conditions par rapport à l'utilisation de la chromatographie d'exclusion moléculaire sur gel de Sephadex-G100 comme l'étape qui suit la précipitation. L'enzyme a été trouvée sous une forme monomérique, ayant un poids moléculaire de 47,7kDa par SDS-PAGE, résultats confirmés par la zymographie. Les conditions optimales de l'activité coagulante de l'extrait enzymatique partiellement purifié ont été déterminées ; elles correspondent aux paramètres suivants: température de 45°C, pH 5 (protéase acide) et une concentration en CaCl₂ de 0,04M. Il présente une stabilité dans la gamme du pH 3,0-5,0 à 4°C pendant 24 heures dans le tampon citrate de sodium (0,1M) et une stabilité thermique jusqu'à 45°C pendant 1 heure