

SUPPLÉMENT TECHNIQUE

LES SUCCÉDANÉS DE LA PRÉSURE

par

G. GÉNIN

Ingénieur E.P.C.I.

De tout temps, le fabricant de fromage a traité le lait par la présure en vue de préparer la caillebotte, cette présure étant extraite de l'estomac des jeunes veaux. Sous l'action de cette enzyme, la caséine colloïdale du lait est transformée en paracaséinate de calcium insoluble, la caillebotte formée se contracte facilement, provoquant la séparation du sérum, et les opérations ultérieures, telles que découpage de la caillebotte, cuisson, etc., permettent d'expulser les dernières traces de sérum présent.

Depuis le moment où la caillebotte est placée dans une forme et comprimée pour atteindre sa forme définitive, jusqu'au moment où le fromage est prêt à être consommé, ce dernier subit une série de transformations qu'on appelle l'affinage du fromage. C'est cette opération qui permet le développement de la saveur et de l'odeur des fromages et, à côté du rôle du levain, la présure exerce une influence importante sur ce phénomène de maturation. Il en résulte que tous les produits dont on a envisagé l'emploi comme succédanés de la présure doivent exercer le même rôle dans la fabrication du fromage.

Depuis quelques années de nombreux facteurs ont favorisé les recherches de succédanés de la présure en vue de la fabrication du fromage. Parmi ces facteurs, il faut citer le prix relativement élevé des préparations commerciales de présure et certaines difficultés d'approvisionnement, les variations importantes de prix de cette matière première et ses variations de qualité. Il n'est donc pas étonnant que d'importants travaux aient été publiés sur le remplacement de la présure par d'autres produits et le but de cette note est de faire une mise au point des plus importants de ces travaux.

Tout produit de remplacement de la présure doit pouvoir coaguler le lait dans une zone de températures comprises entre 25 et 45° C, et la durée de coagulation doit être inversement proportionnelle à la quantité de succédanés utilisés. Le choix de ces derniers pourra également dépendre de leur influence sur le rendement en caillebotte et sur les pertes de graisse dans le sérum.

Tout procédé de préparation de produits destinés à remplacer la présure comporte généralement l'isolement de l'enzyme intéressante dans les produits de départ, au moyen d'une solution saline, d'alcool dilué, d'eau saturée de chloroforme ou de tout autre réactif approprié. Après centrifugation de la masse, l'extrait obtenu doit être purifié par dialyse, par précipitation au moyen de sel, ou par coagulation par l'alcool ou l'acétone. Lorsqu'on cherche à préparer des succédanés d'origine microbienne, les cultures utilisées comme matière de départ doivent être purifiées par les mêmes méthodes.

Actuellement, les différents succédanés de la présure dont on a envisagé l'emploi peuvent être divisés en quatre groupes : les produits d'origine animale, les produits d'origine végétale et enfin les produits d'origine microbienne provenant de bactéries ou de champignons. Nous examinerons successivement les travaux publiés sur la préparation de ces divers types de succédanés.

Succédanés de la présure d'origine animale

C'est au cours de la première guerre mondiale que des travaux furent entrepris en vue d'utiliser la pepsine, enzyme que l'on extrait de l'estomac de porc, pour fabriquer le fromage. C'est ainsi que Van Dam [1] parvint à obtenir un fromage de bonne qualité en utilisant ce produit, après avoir ajouté 0,0025 p. 100 d'acide chlorhydrique au lait. Graber [2] et Stevenson [3] parvinrent au même résultat en remplaçant l'acide chlorhydrique par 0,185 p. 100 d'acide lactique.

Barr [4] constata que la perte de graisse dans le sérum, lorsqu'on fabriquait le fromage avec emploi de pepsine, était du même ordre que celle constatée lors de l'emploi de présure, à condition que le lait soit coagulé à la température de 30° C, et qu'une quantité suffisante de pepsine soit ajoutée à la caillebotte, pour que celle-ci puisse être découpée dans un délai d'une heure et demie.

Néanmoins, malgré ces résultats encourageants, l'emploi de pepsine ne s'est jamais généralisée et, en juillet 1960, le Comité de recherche de l'Institut national du fromage américain a publié une étude précisant qu'en l'absence de toute nouvelle recherche, la pepsine ne pouvait être utilisée en remplacement complet de la présure. Dans cette étude, le Comité ajoutait en outre que le rem-

placement partiel de la présure par la pepsine ne pouvait être envisagé que pour la fabrication de fromages destinés à une conservation limitée.

Pour compléter les recherches faites sur les produits d'origine animale, signalons également les travaux de Vos [5] qui ont porté sur l'emploi de trypsine, enzyme extraite du pancréas du bétail, et qui se sont révélés sans intérêt, le fromage obtenu ayant un goût amer et de savon et une consistance défectueuse.

Cependant, plus récemment, il nous faut encore citer des recherches entreprises dans l'Europe de l'Est. En Tchécoslovaquie, Cerna et ses coll. [6] ont décrit la fabrication d'une préparation à base de pepsine dénommée *Laktosin* et obtenue à partir d'estomacs de porcs et de bovins. Ces auteurs estiment que ce produit, d'après des essais de laboratoire, permet la fabrication du Quarg, en donnant un rendement satisfaisant et ces recherches ont été confirmées par des fabrications à l'échelle commerciale, au cours desquelles cette préparation était utilisée sur la base de 3 à 5 g pour 1 000 litres de lait contre 30 ml de présure. On opère entre 25 et 28° et le fromage obtenu est comparable à celui préparé avec la présure et à l'époque cette fabrication était envisagée sur un plan industriel.

En Roumanie [7], on a également envisagé la possibilité d'utiliser la pepsine dans la fabrication du fromage Telemea et du fromage de la Trappe. Dans les études publiées sur la question, on trouvera d'intéressants résultats sur le mode opératoire utilisé, sur l'évolution de la composition du fromage et en particulier de la transformation des protéines au cours de l'affinage. D'après les conclusions de ces recherches, les fromages obtenus auraient les mêmes caractéristiques que ceux préparés à la présure et bénéficieraient d'un affinage accéléré.

Enfin, en Bulgarie [8], des recherches ont également été entreprises sur l'emploi de la pepsine pour la fabrication du fromage blanc, à une époque où la présure était d'un approvisionnement difficile. Il est indiqué que la pepsine utilisée doit être dissoute dans du sérum acide, plutôt que dans de l'eau, pour éviter sa perte d'activité et son instabilité. Les solutions ainsi préparées conservent leur activité pendant 15 à 16 jours, à la température de 18 à 21° C.

Succédanés de la présure d'origine végétale

Il existe dans divers pays tropicaux, certaines plantes susceptibles de fournir des enzymes ayant la propriété de coaguler le lait. Dès 1906, Chodat et Rouge [9] avaient signalé l'emploi d'enzymes provenant du figuier et en 1907, Gerber [10] était parvenu à préparer une enzyme extraite du latex de *Ficus carica*.

Vers 1948, la question fut reprise par Krishnamurti et Subrahmanyam [11] qui firent porter leurs recherches sur une ficine isolée du *Ficus carica*. Ces auteurs parvinrent à préparer du Cheddar et obtinrent un produit de qualité comparable à celle du Cheddar fabriqué avec la présure. Ces mêmes auteurs utilisèrent également un produit extrait de *Streblus asper*, arbuste que l'on trouve dans les forêts de l'Etat de Mysore et de la province de Madras, ce produit conduisant cependant à un fromage d'un goût amer et acide.

Il faut citer également les recherches de Kothavalla et de Khubchandani [12], qui parvinrent à préparer du Cheddar avec un extrait de baies fourni par *Withania coagulans*, plante que l'on trouve dans le Punjab dans l'Inde. D'après ces auteurs, les fromages obtenus avaient un goût analogue à celui du fromage fabriqué à la présure, avec cependant une texture plus ouverte. Dastur, utilisant un produit de même origine [13], a également obtenu des résultats assez satisfaisants, en opérant sur le Cheddar et moins satisfaisants avec d'autres types de fromage. Le même auteur a également utilisé un extrait provenant du traitement de feuilles de *Carica papaya* avec cependant moins de succès [14]. Cette dernière constatation a été confirmée par Windlan et ses coll. [15], qui obtinrent un produit ayant une saveur amère, ne convenant pas à la consommation.

La fabrication du Camembert, en utilisant une enzyme isolée des fleurs de *Cynara cardunculus* a été étudiée par Christen et Virasoro [16] avec un certain succès, le fromage obtenu ayant au début de sa maturation un léger goût acide qui disparaît lorsque l'affinage se poursuit. Cette même enzyme a également fait l'objet de recherches de Pereira de Matos [17] en vue de la fabrication d'un fromage de lait de brebis.

Plus récemment, nous signalerons encore des recherches d'origine russe [18], portant sur l'emploi de protéinase extraite du latex du figuier et sur la coagulation du lait et la décomposition de la caséine par ces produits. En Israël [19], on a décrit l'utilisation d'une enzyme extraite de *Cucurbita pepo* et étudié l'influence du pH et de la présence de cations sur l'activité de cette enzyme. Enfin, en Allemagne [20], on a pu isoler, des fèves de cacao, des enzymes ayant la propriété de coaguler le lait et d'exercer une action protéolytique.

Succédanés de la présure d'origine bactérienne

C'est dans un brevet britannique que Shimwell et Evans [21] ont indiqué qu'il était possible de fabriquer du fromage en utilisant des préparations obtenues à partir de micro-organismes du genre *Bacillus*, comme par exemple, *B. subtilis*, *mesentericus*, *brevis* et *fusiformis*. Emanuiloff [22] a également décrit la préparation de fromage de lait de brebis en utilisant un extrait de *B. mesen-*

tericus. Cet auteur signale que la qualité du fromage obtenu est analogue à celle du produit fabriqué en partant de présure, et a procédé, après diverses périodes d'affinage, à une recherche des différents acides aminés libres présents dans les deux types de fromages fabriqués à la présure ou avec ce nouvel extrait. Il a constaté que l'apparition de ces acides est plus rapide et plus marquée dans le fromage fabriqué avec des extraits de *B. mesentericus*.

Par contre, les travaux effectués par Vos sur l'emploi de préparations purifiées provenant de cultures de *Str. liquefaciens* n'ont pas donné de bons résultats, le fromage obtenu présentant un goût amer. Il faut citer parmi les derniers travaux portant sur des produits de même origine ceux de chercheurs russes [23] qui ont utilisé des enzymes extraites de *B. mesentericus*. Ils ont en particulier comparé les qualités de fromage hollandais fabriqué avec cet organisme ou avec un mélange à parties égales de présure bactérienne et de présure ordinaire, ou avec de la présure seule. Les fromages fabriqués avec la présure bactérienne présentent une plus forte humidité, une acidité plus élevée, parfois un goût amer, par contre les fromages fabriqués avec un mélange des deux produits : présure bactérienne et présure ordinaire, sont satisfaisants en ce qui concerne leur saveur et leur consistance.

D'autres chercheurs russes [34] ont également étudié la préparation d'enzymes bactériennes extraites de culture de *B. subtilis* et de *B. mesentericus* et, sur un plan plus pratique, il faut noter les essais entrepris par le New Zealand Dairy Research Institute [25] sur la fabrication expérimentale ou industrielle de Cheddar en utilisant une présure bactérienne d'origine japonaise. Les résultats préliminaires obtenus montrent que les fromages ainsi préparés ont une saveur parfois légèrement supérieure à celle des fromages témoins, à condition qu'une petite proportion de chlorure de calcium soit ajoutée au lait.

Succédanés de la présure préparée à partir de champignons

Nous signalerons tout d'abord des essais entrepris aux Etats-Unis [25] avec une préparation provenant du champignon *Endothia parasitica*. Dans ces essais effectués à l'échelle industrielle, on a comparé les qualités de fromages fabriqués avec le même lait, le même levain, de la présure ordinaire ou cette présure fongique. On n'a observé aucune différence de qualité entre les deux types de fromages et des résultats analogues ont été enregistrés dans la fabrication du gruyère ou d'autres types de fromages.

La préparation de cette levure fongique a fait d'ailleurs l'objet de brevets anglais et américains [27], qui décrivent des modes opératoires permettant d'obtenir un produit ayant des qualités

semblables à celles de la présure. L'enzyme obtenue est soluble dans l'eau et son activité est détruite par un chauffage à environ 60° C pendant 5 mn. Il est indiqué dans les brevets que la préparation obtenue peut être utilisée en totalité ou en partie en remplacement de la présure ordinaire dans la fabrication du Cheddar, le fromage obtenu possédant une saveur douce, et sa maturation étant accélérée.

On a signalé, en différents endroits du monde, des recherches entreprises sur l'isolation d'une enzyme susceptible de faire coaguler le lait et provenant du champignon *Mucor pusillus* Lindt. Signalée pour la première fois au Japon [28], cette enzyme ne possède que 20 à 25 p. 100 de l'activité de la présure, mais son pouvoir coagulant est considérablement augmenté par l'addition de chlorure de calcium. Cette enzyme a pu être utilisée par les auteurs japonais pour la fabrication du Gouda, du Camembert et du fromage blanc, la durée d'action de l'enzyme devant être prolongée si l'on veut obtenir une caillebotte plus ferme.

La préparation de cette enzyme a été décrite dans différents laboratoires [29] et des études entreprises en Allemagne ont également donné des résultats satisfaisants dans la fabrication du fromage Tilsitt, Edam ou Bel Paese [30]. Les résultats trouvés montrent qu'à toutes les étapes de la fabrication du fromage, les caractéristiques du fromage sont les mêmes, que l'on utilise la présure ou le succédané proposé.

En Russie, des recherches ont été entreprises sur l'action coagulante, vis-à-vis du lait, d'enzymes provenant de cultures d'*Aspergillus candidus* [31]. Le produit obtenu en partant de ces microorganismes est plus résistant à la chaleur et moins sensible à une réduction de l'acidité que la présure ordinaire. Aux Etats-Unis, c'est à l'Université de Wisconsin que de nombreuses études ont été entreprises [32] sur 39 espèces de moisissures en vue d'obtenir un succédané de présure utilisable. Les préparations les plus actives sont celles qu'on a obtenues en partant de *Byssochlamys fulva*.

Pour terminer, citons des recherches entreprises dans l'Inde, sur un grand nombre de produits provenant de différentes cultures de bactéries et de moisissures extraites du sol ou des produits laitiers [33]. D'une façon générale, les moisissures d'origine fongique présentent une plus forte activité que celles d'origine bactérienne.

En conclusion, on peut dire que si l'on tient compte des nombreuses recherches qui ont été entreprises sur le remplacement de la présure naturelle par divers succédanés, les résultats déjà atteints sont encourageants. Cependant, la conclusion essentielle que l'on peut tirer de ces travaux est que, si la présure d'estomacs de veaux reste d'un approvisionnement aisé, ce produit continuera à être utilisé de préférence, les succédanés étant surtout employés dans les régions ne disposant pas de présure animale, ou à des périodes où ce produit risque de faire défaut.

RÉFÉRENCES

- [1] VAN DAM (W.). *Verslag. Landbouwk. Onderzoek*, 1915, t. 18, p. 147.
- [2] GRABER (T. H.). *Ind. Eng. Chem.*, 1917, t. 9, p. 1125.
- [3] STEVENSON (C.). *J. Agri. (N. Z.)*, 1917, t. 14, p. 32.
- [4] BARR (G. H.). *Ann. Rept. Dairym. Assoc. Ontario*, 1917, p. 112.
- [5] VOS (E. A.). de la Verslagen Rijkslandbouwproefstation, Hoorn (communication non publiée).
- [6] CERNA (E.) et coll. *Prum. Potravin*, 1966, t. 17, n° 8, p. 385.
- [7] MOTOC (D.) et coll. *Lucr. Stiint. Inst. politeh. Galati*, 1963, t. 1, p. 81.
- [8] GEORGIEV (I.). *Naichni Trud. vissh. selskostop. Inst. Georgi Dimitrov Ser. Zootehkn. Fak.*, 1966, t. 16, p. 411.
- [9] CHODAT (R.) et ROUGE (E.). *Zbl. Bakt., Abt. II*, 1906, t. 16, p. 1.
- [10] GERBER (C.). *C. R. acad. sci. Paris*, 1908, t. 146, p. 1111.
- [11] KRISHNAMURTI (C. R.) et SUBRAHMANYAN (V.). *Indian J. Dairy Science*, 1948, t. 1, p. 27 et 106 et t. 2, p. 19.
- [12] KOTHAVALLA (Z. R.) et KHUCHANDANI (P. G.). *Indian J. Vet. Science*, 1940, t. 10, p. 284.
- [13] DASTUR (N. N.), SASTRY (K. N. S.) et VENKATAPPIAH (D.). *Indian J. Vet. Sci.*, 1948, t. 18, p. 233.
- [14] DASTUR (N. N.). *Indian Fmg.*, 1949, t. 9, p. 451.
- [15] WINDLAN (H.) et KOSIKOWSKI (F. V.). *J. Dairy Sci.*, 1956, t. 39, p. 917.
- [16] CHRISTEN (C.) et VIRASORO (E.). *Le Lait*, 1935, t. 15, p. 354 et 496.
- [17] PEREIRA DE MATOS (A. A.) et VIEIRA DE SA (F.). *Bol. Pecuar.*, 1948, t. 16, p. 6.
- [18] GONASHVILI (S. G.) et coll. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 1965, t. 1, n° 6, p. 640.
- [19] BERKOWITZ-HUNDERT (R.) et coll. *Enzymologia*, 1964, t. 27, n° 5, p. 332.
- [20] KIERMEIER (F.) et coll. *Lebensmitteluntersuch. u. Forsch.*, 1967, t. 133, n° 4, p. 217.
- [21] SHIMWELL (J. L.) et EVANS (J. E.). Brevet anglais 565 788, 1944.
- [22] EMANUILOFF (I.). *Int. Dairy Congr.*, 1956, t. 2, n° 2, p. 200.
- [23] BARKAN (S. M.) et coll. *Izv. Vysshikh Ucheb. Zavedenii, Pishchevaya Tekhn.*, 1964, n° 5, p. 58.
- [24] TIPOGRAF (D. Y.) et coll. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 1966, t. 2, n° 1, p. 45.
- [25] ROBERTSON (P. S.) et coll. *N. Z. J. Dairy Tech.*, 1966, t. 1, n° 3, p. 91.
- [26] *Food Engineering*, 1967, t. 39, n° 5, p. 88.
- [27] SARDINAS (J. L.). Brevet américain 3 275 453 et brevet anglais 1 035 897, 1966.
- [28] TSUGO (T.) et coll. *Jap. J. Zootech. Sci.*, 1964, t. 35, n° 4, p. 221 et 229.
- [29] ARIMA (K.). Brevet américain 3 212 905 de 1965. Brevet japonais 15 268 de 1962. Brevet américain 3 151 039 de 1964.
MEITO SANGYO Ltd. Brevet japonais 18 830 de 1965. Brevet anglais 970 331 de 1964.
- [30] GRIMBERG (M.). *Fette Seifen Anstrichmittel*, 1965, t. 67, n° 4, p. 271.
SCHULZ (M. E.) et coll. *Milchwissenschaft*, 1967, t. 22, n° 3, p. 139.
- [31] VESELOV (I.) et coll. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 1965, t. 1, n° 1, p. 52.
PALEVA (N. S.) et coll. *Ferment. Spirt. Prom.*, 1965, t. 31, n° 4, p. 6.
- [32] KNIGHT (S. G.). *Can. J. Bot.*, 1966, t. 12, n° 2, p. 420.
- [33] SRINIVASAN (R. A.) et coll. *Appl. Microbiol.*, 1964, t. 12, n° 6, p. 475.