

Présures et coagulants de substitution

Comment faire le bon choix ?

Jean-Claude Collin, coord.



Présures et coagulants de substitution

Comment faire le bon choix ?

Jean-Claude Collin, coord.

Éditions Quæ

Collection *Savoir-faire*

Les coques

Biologie et exploitation

L. Dabouineau, A. Ponsero, A. Sturbois, F. Delisle
2015, 88 p.

La métagénomique

Développements et futures applications

M.-C. Champomier-Vergès, M. Zagorec, coord.
2015, 120 p.

Faut-il travailler le sol ?

Acquis et innovations pour une agriculture durable

F. Laurent, J. Roger-Estrade, J. Labreuche
2014, 192 p.

Les clémentiniers et autres petits agrumes

C. Jacquemond, F. Curk, M. Heuzet
2013, 368 p.

Torrents et rivières de montagne

Dynamique et aménagement

A. Recking, D. Richard, G. Degoutte, coord.
2013, 352 p.

Qualité du cacao

L'impact du traitement post-récolte

M. Barel
2013, 104 p.

Éditions Quæ

RD 10

78026 Versailles Cedex, France

© Éditions Quæ, 2015

ISBN 978-2-7592-2374-9

ISSN 1952-1251

Le Code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6°.

Sommaire

Introduction	7
Chapitre 1. Les préparations coagulantes utilisées en fromagerie	11
Une longue histoire... de la présure aux fromages.....	11
Les différentes préparations enzymatiques coagulantes (procédés d'obtention et formes d'utilisation).....	17
La présure, définition et caractéristiques	17
Les procédés d'obtention de la présure.....	20
Évolution d'une profession.....	31
Choix et traitements des caillettes.....	34
Généralités	34
Mode de préparation des caillettes.....	36
Conclusion.....	37
Composition des présures.....	40
Teneur en protéases coagulantes	40
Composition des « supports ».....	43
Flores associées aux présures traditionnelles et présures en pâte.....	48
Incidence de la présure sur les rendements : aide aux calculs	49
Les substituts de la présure	54
Chapitre 2. Les protéases abomasales	61
Introduction.....	61
Généralités sur les protéases abomasales.....	62
Les protéases abomasales bovines : synthèse et sécrétion.....	64
Structure, organisation et expression des gènes spécifiant les aspartyle protéases abomasales bovines.....	67
Comparaison interspécifiques	69

Activation et hétérogénéité	70
Caractéristiques fonctionnelles : spécificité et efficacité catalytique	71
Conclusions	76
Chapitre 3. La chymosine produite par fermentation	77
Introduction.....	77
Les différents types de chymosines produites par fermentation	78
Construction d'un hôte microbien pour la production de chymosine.....	80
Construction d'un clone de production.....	80
Recherche d'un hôte de production.....	80
Mise en place des systèmes d'expression	81
Fabrication des produits à base de FPC présents sur le marché	83
Une chymosine de nouvelle génération	83
La FPC produite à partir d' <i>Escherichia coli</i>	84
La FPC produite à partir de levure <i>Kluyveromyces lactis</i>	86
La FPC produite à partir du champignon <i>Aspergillus niger</i>	87
La FPC produite à partir d'autres hôtes.....	89
Formation, contrôle qualité, sécurité sanitaire et approbation.....	89
Propriétés de la FPC.....	90
Des propriétés fonctionnelles	90
Des propriétés fromagères exceptionnelles	91
Un coagulant de grande pureté.....	92
Un lactosérum valorisable.....	93
Des fromages répondant aux attentes de certains consommateurs.....	95
Une nouvelle génération de FPC : CHY-MAX [®] M.....	96
Le marché mondial des coagulants	97
Développement de la demande de chymosine produite par fermentation	97
Les tendances de 1998 à 2008	100
L'avenir de la chymosine produite par fermentation.....	101
Chapitre 4. Description, choix des préparations enzymatiques coagulantes et éléments de maîtrise	103
Introduction.....	103
La coagulation enzymatique du lait	103
Physicochimie de la coagulation	103

La coagulation enzymatique des laits : dynamique et formation du gel présure.....	107
Éléments pour le contrôle et la qualification de la coagulation « présure » des laits	110
Facteurs agissant sur la coagulation enzymatique des laits	113
Analyse fonctionnelle comparée des différentes préparations enzymatiques coagulantes.....	126
Fonctionnalités dans un <i>process</i> fromager des différentes composantes d'une préparation enzymatique coagulante.....	126
Égouttage-acidification et préparations enzymatiques coagulantes	126
Rendements et préparations coagulantes.....	127
Affinage et préparations coagulantes	128
Optimisation pratique de la coagulation des laits de fromagerie.....	132
Choix d'une préparation coagulante	132
Préparation du lait et correctifs à utiliser pour obtenir une coagulation convenable et régulière dans le temps.....	136
Modalités pratiques à respecter lors d'un changement de coagulant	141
Chapitre 5. Analyse, contrôle et traçabilité des présures.....	143
Analyse de l'activité enzymatique des présures	143
La force d'une présure (l'unité Soxhlet)	143
Variation de l'aptitude des laits frais à coaguler en fonction de leur lieu de production	144
Variation de l'aptitude des laits frais à coaguler en fonction des saisons	145
Utilisation et préparation du substrat de Berridge.....	145
Relation entre la force Soxhlet et le temps de coagulation avec le substrat de Berridge.....	146
Détermination de la force moyenne des présures vendues sur la marché européen.....	148
La séparation chromatographique des présures	148
Expressions de l'activité enzymatique des présures	150
Détermination du pourcentage d'activité chymosine/pepsine bovine d'une présure.....	151
Analyse quantitative des présures.....	153
Analyse qualitative des préparations coagulantes.....	156
Identification des chymosines produites par génie génétique	159
Principe de l'analyse	159
Préparations des antigènes	160
Production d'anticorps polyclonaux	160

Techniques Elisa d'identification	161
Conclusion.....	164
Analyse des enzymes coagulantes résiduelles dans les fromages.....	165
Principales difficultés techniques	165
Extraction des enzymes coagulantes.....	166
Détermination de l'activité résiduelle des enzymes coagulantes.....	167
Discussion et conclusion	170
Conclusion générale	170
Bilan et perspectives	173
Liste des sigles et abréviations	177
Bibliographie	178
Liste des auteurs	192

Introduction

Jean-Claude COLLIN

La présure, produit ancestral, était déjà utilisée il y a plusieurs milliers d'années pour coaguler le lait. Elle sert encore aujourd'hui pour toutes les fabrications des meilleurs fromages français et étrangers, et en particulier ceux portant le label AOP (appellation d'origine protégée). Mais au cours des 40 dernières années, les travaux de recherche et le développement très important de la production de fromage dans le monde ont induit de profonds changements dans le domaine des enzymes utilisées en fromagerie. Cet ouvrage synthétise les travaux les plus significatifs réalisés au cours de ces trois dernières décennies dans le domaine et s'efforce de montrer l'impact de la nature de la préparation enzymatique coagulante utilisée en technologie fromagère sur la qualité du produit final, et d'appréhender les enjeux commerciaux qui en découlent.

Le lait a toujours été primordial dans l'alimentation des jeunes mammifères et particulièrement des nouveau-nés. Il reste aujourd'hui encore un élément central dans la nourriture des êtres humains. Son rôle premier est l'apport de nutriments et notamment de protéines tout au long de la vie à travers l'ensemble des produits laitiers. Or, la production de lait chez le mammifère est irrégulière. Elle est directement liée à la naissance d'un petit. La découverte de la coagulation du lait a ainsi permis de transformer les excédents de diverses traites et de pouvoir conserver cet aliment pour une consommation différée, lorsque la production de lait se faisait plus rare. Cette nouvelle pratique a clairement contribué au bien-être alimentaire de l'homme. Elle correspond aussi aux débuts de l'industrie laitière en permettant de conserver ce liquide hautement périssable.

Au début de la fabrication fromagère, les parois de la caillette de veaux étaient directement mises en contact avec le lait, afin d'assurer cette coagulation. Puis au fil des siècles, les caillettes séchées sont apparues, ce qui permettait une meilleure conservation de cette poche gastrique, évitait sa détérioration et l'apparition de mauvaises odeurs. Au milieu du XIX^e siècle, des industriels ont commencé à préparer et vendre les premières présures, solutions liquides contenant les enzymes extraites de la paroi de la caillette de veaux. Mais l'activité d'une enzyme étant facilement altérée à la température ambiante, et ce d'autant plus que sa concentration est élevée, la production de présure se faisait, avant l'apparition de l'industrie du froid, en petite quantité et relativement proche de la fromagerie. Au milieu du XX^e siècle, une quinzaine de producteurs de présure étaient présents

sur le territoire français, localisés dans des régions fromagères. Avec l'arrivée de la réfrigération et une meilleure connaissance des conditions de conservation des présures, il devint possible de les transporter sur de longues distances et de créer des stocks. Les quantités produites et achetées par les fromageries furent de plus en plus importantes, la concurrence entre présuriers de plus en plus âpre, ce qui entraîna la disparition des entreprises les plus faibles ou leur regroupement. En 2014, il ne reste plus que trois entreprises qui fabriquent encore de la présure en France.

Avec l'apparition de nouvelles techniques analytiques comme la chromatographie en phase liquide, des chercheurs ont analysé le contenu des présures et montré, au début des années 1970, que cet extrait enzymatique contenait en fait plusieurs enzymes. En réalisant des prélèvements de jus gastriques dans la caillette du veau, les chercheurs ont aussi montré que la chymosine était l'enzyme prépondérante chez un jeune veau non sevré, accompagnée d'une faible quantité de pepsine, et que ces deux enzymes avaient des propriétés différentes. Puis avec le changement d'alimentation, les quantités respectives de ces enzymes évoluent jusqu'à s'inverser. De ce fait, il est apparu nécessaire de définir précisément la notion de présure et de mieux la caractériser.

En outre, depuis le milieu du XX^e siècle, la consommation de fromages dans le monde n'a cessé d'augmenter, ce qui a fait craindre un moment une pénurie de présure. De nombreux substituts ont alors été testés et quelques-uns seulement ont été autorisés pour certaines fabrications fromagères. Les recherches ont également montré que les enzymes de la coagulation ont une action protéolytique sur les protéines du lait coagulé et contribuent ainsi aux caractéristiques gustatives finales du fromage. Cette évolution dans le marché des enzymes de la coagulation a nécessité d'adapter les réglementations en vigueur afin de protéger la qualité et la spécificité de nombreuses spécialités.

Les progrès réalisés dans le domaine de la biochimie des protéines, de leur composition en acides aminés et le développement du génie génétique ont permis de produire de la chymosine, enzyme principale de la présure, en introduisant artificiellement son gène dans des champignons ou des bactéries. Au cours des années 1990, sont ainsi apparues les premières chymosines fermentaires produites à l'aide de micro-organismes génétiquement modifiés (MGM). Ce saut technologique a posé de nombreuses questions : sur le devenir de la présure, sur la qualité des fromages (notamment ceux sous AOP régis par des cahiers des charges précis), sur le suivi de la qualité alimentaire, l'innocuité de ces fabrications d'enzymes coagulantes issues de MGM et sur l'information à livrer aux consommateurs.

Aujourd'hui, le débat continue entre les partisans de la présure traditionnelle avec son environnement protéique important (quand il existe, car lié au procédé d'extraction) et ceux qui défendent l'utilisation de chymosine produite par génie génétique. La concentration des unités de fabrication en grandes fromageries, la mécanisation à outrance, la banalisation des fromages et les contraintes budgétaires, incitent en effet fréquemment le fromager à utiliser un coagulant à moindre coût, comme cette nouvelle chymosine produite par fermentation.

Cet ouvrage comporte cinq chapitres écrits sous la responsabilité de chaque auteur. Le rédacteur du premier chapitre, relatif à la présure, est le dernier producteur français de présures traditionnelles selon un procédé unique, par macération lente des caillettes. Le troisième chapitre, portant sur les chymosines fermentaires, a quant à lui été écrit par des scientifiques d'une firme étrangère qui produit et commercialise cette enzyme. Cette option a été prise pour permettre au lecteur, qui prendra ainsi connaissance de points de vue différents sur les qualités respectives des enzymes coagulantes, de se forger sa propre opinion.

Malgré les coûts très différents des divers coagulants commerciaux, ceux-ci restent négligeables dans le prix de revient du fromage. Pour autant, leur nature n'est pas sans conséquence sur la qualité finale du produit et les fromagers doivent pouvoir connaître avec certitude la composition et l'activité des agents coagulants qu'ils achètent. La quantité d'enzyme nécessaire pour coaguler un volume de lait connu dépend de la composition du lait et de son pH, qui varient avec la saison et le stade de lactation de l'animal. Le fromager n'a pas le moyen de vérifier facilement l'activité absolue d'une présure ; ce handicap s'estompe énormément avec l'utilisation de laits de grands mélanges.

La possibilité de choisir l'enzyme pour la fabrication d'un fromage a fait apparaître de nouvelles contraintes pour satisfaire aux exigences de certaines catégories de consommateurs, notamment en fonction de leurs confessions religieuses.

Cet ouvrage, destiné en particulier aux professionnels, aux étudiants et aux enseignants, fait ainsi le point sur un secteur qui, avec les diverses enzymes autorisées, ajoutées à un substrat aussi complexe que le lait, dans le cadre d'une si grande diversité de fabrications fromagères aux conditions de pH et de températures variables, conduisait à beaucoup de confusions, de contestations et de contradictions. Il a plus largement pour but d'apporter aussi les connaissances utiles à une bonne compréhension de la coagulation du lait, de permettre une meilleure maîtrise de la technologie fromagère et d'aider les fromagers à choisir le coagulant le mieux adapté à leur type de fabrication.

1

Les préparations coagulantes utilisées en fromagerie

Patrick GRANDAY

Les préparations enzymatiques coagulantes sont plus qu'une « commodité ». Elles vont grâce aux enzymes qu'elles contiennent, en plus de gélifier le lait, permettre son égouttage après décaillage. Selon leur origine et leur type (tab. 1.1 et 1.2), leur mode de production, elles vont plus ou moins fortement conditionner la qualité finale des fromages en intervenant notamment, directement ou indirectement, sur l'affinage.

Pour un choix judicieux d'une préparation enzymatique coagulante, en plus des activités dues aux enzymes qu'elle contient, il faut prendre en compte la composition de son « support » ou « environnement enzymatique » : notamment sa teneur en sel (NaCl) et en fractions azotées de bas poids moléculaire (peptides et acides aminés). Elle conditionne pour partie la gélification du lait (dynamique, structure du gel formé), les rendements fromagers, et influe certainement sur les équilibres microbiens en cours de fabrication des fromages (notamment lors de l'acidification pendant l'égouttage en moule, et lors de l'affinage). Toutes ces incidences contribuent aux caractéristiques sensorielles finales des fromages.

Une longue histoire... de la présure aux fromages

Plusieurs hypothèses ont été émises en ce qui concerne l'origine de l'utilisation de la présure pour coaguler le lait. Toutes ont des points communs et s'appuient souvent sur des découvertes archéologiques. Quoiqu'il en soit, il est nécessaire de prendre en considération différents types d'agents coagulants pour comprendre comment les hommes en sont arrivés à la fabrication du fromage.

Pour les uns, la présure aurait été découverte pour la première fois dans l'Antiquité par les Égyptiens, il y a 4 000 à 5 000 ans. Ceux-ci utilisaient des boyaux séchés et surtout des estomacs comme récipients pour conserver les liquides. Pour les autres, l'apparition du premier fromage remonterait à la domestication des mammifères et on la circonscrit à l'Eurasie, avec les grandes peuplades bergères et nomades. Si l'on s'en tient à l'histoire, un jour, un berger berbère en transhumance se trouva dépourvu en eau. Dans l'obligation de se désaltérer, pour ne pas mourir de soif, il sacrifia un chevreau et but son sang.

Tableau 1.1. Les différentes enzymes présentes dans les préparations coagulantes.

	Code international	Origine	Remarques
Chymosine	A	EC 3.4.23.4 - Protéinase néonatale rencontrée chez les mammifères ayant une prise postnatale d'immunoglobines. - Principalement présente dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait. - Peuvent être obtenues par fermentation de micro-organismes génétiquement modifiés.	- Les variants A et B représentent chacun presque la moitié de la chymosine totale. - La chymosine A est 25 % plus active que la B, mais est plus instable, et se dégrade par auto-protéolyse en chymosine C dont l'activité est réduite de 75 %.
	B		
	C		
Pepsine	A ou II	EC 3.4.23.2 Protéinase gastrique prédominante des mammifères adultes.	Activité protéolytique générale 3 à 10 fois supérieure à celle de la chymosine.
	B	Essentiellement dans l'estomac de porc et peu dans celui des bovins adultes.	Protéinase mineure de faible activité coagulante, mais avec une activité protéolytique générale importante.
Pepsine de poulet			
Gastricines	EC 3.4.23.3		
Protéase de <i>Rhizopus</i>	EC 3.4.23.23	Cultures de <i>R. miehei</i> et <i>R. pusillus</i>	Activité protéolytique sensiblement supérieure à celle de la chymosine.
Protéase de <i>C. parasitica</i>	EC 3.4.23.22	Cultures de <i>C. parasitica</i>	Très forte activité protéolytique générale. Doit être détruite après coagulation (enzyme très thermosensible).
Protéase végétale de <i>C. cardunculus</i>		Panicule de chardon (<i>Cyanara cardunculus</i>)	Activité protéolytique modérée qui permet leur emploi en fromages affinés.
Baies de <i>Withania coagulans</i>			
Ficine	EC 3.4.4.12	Latex de figuier	Très forte activité protéolytique générale.
Papaïne	EC 3.4.4.10	Feuilles de papaye	Emploi très limité.
Bromélaïne	EC 3.4.4.4.24	Tige d'ananas	
Lipases	EC 3.1.1.3		
Estérases			

Tableau 1.2. Les différentes préparations enzymatiques.

Origines		Enzymes		Remarques
Animale	Polygastriques (ruminants)	Veau	« Présures » :	Liquide, poudre, caillette sèche
		Chevreau	chymosine +	Liquide, pâte, caillette sèche
	Agneau	pepsine	Liquide, pâte, caillette sèche	
	Bovin adulte	Pepsine + chymosine	Liquide	
	Monogastriques	Porc	Pepsine porcine	En Israël
	Poulet	Pepsine de poulet		
	Poissons			Testé en laboratoire
Végétale	Panicules de cardon-artichaut-chardon (<i>Cynara cardunculus</i>)	Cardosine A et B		Fromage Serra et Portugal
	Baies de <i>Withania coagulans</i>	Présure indienne		fromage frais
	Figuier : latex de <i>Ficus carica</i>	Ficine		Cottage
	Papaye : feuilles de <i>Carica papaya</i>	Papaïne		Baléares Mahon
	Gaillet caille-lait : <i>Galium verum</i>			
	Serpolet : fleurs de <i>Thymus serpyllus</i>			Toutes donnent
	Courges : feuilles de <i>Cucurbita pepo</i>			une très forte
	Ananas : tige d' <i>Ananas comosus</i>	Bromélaïne		activité protéasique
	Feuilles de <i>Streblus asper</i>			Malaisie en cours d'affinage :
	<i>Benincasa certifera</i>			Inde → amertume
Laitue : feuilles de <i>Lactuca sativa</i>	Lettucine			
Feuilles fraîches de Korourou			Tchad	
Microbienne	Moisissures	<i>R. miehei</i>	Protéinase acide	Moisissure thermophile du sol
		<i>R. pusillus</i>	Protéinase acide	Moisissure mésophile du sol
		<i>C. parasitica</i>	Protéinase acide	Parasite du châtaignier
		<i>A. awamori</i>	Chymosine B bovine	
	Levures	<i>K. lactis</i>	Chymosine B bovine	Chymosines fermentaires, obtenues par fermentation de micro-organismes génétiquement modifiés
	Bactéries	<i>E. coli</i> K12	Chymosine A bovine	
		<i>Bacillus</i> dont <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i>	Diverses protéases	Très fortes activités qui les font rejeter pour un emploi en fromagerie

Il eut alors l'idée de remplir l'un des estomacs de l'animal avec du lait afin de se confectionner une outre et par la même une réserve de liquide. Plusieurs heures plus tard, devant la nécessité de s'hydrater à nouveau, il entreprit de boire le lait contenu dans cet estomac. Quelle ne fut pas sa surprise de constater que le contenu était pris en masse. Au premier abord, il n'apprécia pas ce breuvage à l'odeur, à la consistance et au goût particuliers. Mais, face à l'obligation de boire, il consomma cette matière caillée à son insu ainsi que le petit lait qui en exsudait. Finalement, il prit goût à ce breuvage et renouvela son initiative jusqu'à la découverte d'un

point d'eau. C'est ainsi que par hasard le principe de la coagulation du lait par la caillette (quatrième estomac des ruminants) venait d'être mis en évidence, et que l'on découvrit que le lait pouvait donner un produit qui serait par la suite appelé fromage... De retour à son village, le berger fit part de sa découverte à son voisinage et à ses amis qui essayèrent à leur tour, lesquels trouvèrent que le produit issu de cette pratique était plaisant à consommer...

Les premiers vases perforés retrouvés permettant l'égouttage du caillé (palafittes) sont du VI^e siècle av. J.-C. En fait, les premiers fromages devaient être semblables au « koumys » (boisson fermentée) des Tartares, produit avec du lait de jument. Comme pour tous les caillés en usage alors chez les Hébreux, on aidait à la fermentation avec des herbes fraîches et du jus de figue. Plus tard, les Grecs découvrirent aussi la coagulation, puis le fromage, base de la cuisine spartiate. Selon Aristote, des feuilles de figuier incisées, des fleurs de caille-lait (*Galium verum*) étaient alors utilisées pour l'obtention du *coagulum*. À cette époque, seules les chèvres et les brebis fournissaient le lait.

À l'époque romaine, le légionnaire avait droit à 27 g de fromages par jour !... Pline aimait les fromages des Alpes. C'est par les Alpes du Valais que le fromage fut introduit en Suisse au III^e siècle. Il est probable qu'à cette époque, la coagulation du lait ait été réalisée en utilisant des morceaux de caillettes de veaux préalablement séchées et introduites directement dans le lait. Il s'agissait d'une première utilisation empirique des caillettes en tant qu'agent coagulant du lait en fromage. Horace exigeait de la sobriété, mais du fromage bien fait. C'est ainsi que d'un simple caillé, on était arrivé en six ou sept siècles à des fromages beaucoup plus élaborés. Il est vraisemblable que ce soit les Romains au cours de leurs campagnes en Gaule qui aient fait découvrir le fromage à nos ancêtres. Tout d'abord au lait de chèvre et de brebis, puis au lait de vache au fur et à mesure que l'on remontait vers des régions plus humides et plus fraîches.

Au Moyen Âge, à la fois défricheurs, bâtisseurs et paysans, les moines innovèrent en matière de fabrications fromagères comme en témoignent les innombrables fromages à noms de monastères et qui subsistent encore de nos jours : Munster, Cîteaux, Trappes, etc. Depuis, les technologies fromagères propres à chacun de ces fromages se sont perpétuées, en subissant pour certaines d'entre elles, des modifications liées aux progrès technologiques industriels et ce principalement à compter du début du XIX^e siècle. Depuis déjà plusieurs décennies en France, comme dans d'autres pays européens à forte culture fromagère (Italie, Grèce, Suisse...), certains fromages font l'objet de cahiers des charges précis notamment dans le cadre d'appellations d'origine contrôlées ou protégées.

Il paraît par ailleurs intéressant de faire état dans ce chapitre du point de vue d'un ancien présurier aujourd'hui disparu ; lequel était situé dans les années 1930 à Aubervilliers (Seine). Les éléments ci-dessous sont issus d'un fascicule destiné à l'époque aux fromagers (cf. encadré). Ce document à caractère commercial présentait les différentes formes de présures vendues par cette entreprise, les garanties qu'elle apportait aux utilisateurs ainsi qu'une théorie sur la fabrication du fromage. Déjà à cette époque, sans grandes connaissances scientifiques sur la présure, cette note présentait de façon claire et explicite son action sur le lait, les divers coagulants utilisés ainsi que la nécessité du choix d'une bonne présure.

Note sur la présure

Généralités sur la présure

La présure est la base de tous les fromages. On peut dire que sans présure, il n'y a pas de fromage possible, car, s'il est vrai, qu'abandonné à lui-même le lait se coagule spontanément sous l'influence des ferments dont il s'infecte par le simple contact de l'air et des agrès de la fromagerie, qui transforment le sucre qu'il renferme en acide lactique, un tel caillé ne peut se travailler suivant la volonté du fromager en une sorte de fromage déterminée ; ce caillé restera sec, pulvéulent ; la pâte en sera cassante et ne se liera pas de façon à former la masse homogène demandée. C'est, comme nous le verrons plus loin, dans la théorie de la fabrication des fromages que nous allons exposer, par l'action combinée de la quantité de présure, de la température de la coagulation, et par le choix du moment où il devra arrêter ce phénomène, que le fromager sera maître de sa fabrication en dirigeant à sa volonté l'opération initiale, la plus importante de la fabrication des fromages.

Des divers coagulants du lait

On comprend donc toute l'importance de la qualité de la présure puisque d'elle dépend la réussite de la fabrication. Il existe dans la nature, plusieurs sortes de présures, produits auxquels on a donné ce nom parce qu'ils ont la propriété de coaguler, de cailler le lait. Les uns sont d'origine animale, les autres d'origine végétale et minérale. Les premiers seuls ont une valeur réelle en laiterie, parce que la nature les a placés dans l'organisme des jeunes animaux pour leur permettre d'assimiler le lait qui est leur unique aliment pendant la première période de leur existence, alors qu'ils sont les plus délicats et les plus fragiles.

Or, qu'est-ce que le fromage si ce n'est une préparation lactée destinée à la nourriture de l'homme ?

Il a été prouvé que le fromage, quel qu'il soit, était l'aliment le plus riche en principes nutritifs, puisque, à poids égal, il est environ dix fois plus nourrissant que la meilleure viande de bœuf. À la condition, toutefois, qu'il soit obtenu avec une présure animale, car la nature qui a prévu la création de la présure dans l'organisme des animaux supérieurs, n'a pas eu à la prévoir dans la vie végétale.

Il n'y a donc rien d'étonnant à ce que la plante dont le suc a la propriété de coaguler le lait, ne réponde pas aux mêmes besoins, ce que les savants les plus éminents qui ont étudié la question ont établi pertinemment.

Quant aux produits d'origine minérale qui jouissent de la même propriété de coaguler le lait, ils sont légion, mais ne sauraient être employés sans danger pour la santé publique. Alors qu'un caillé obtenu par la présure animale est d'une digestion et d'une assimilation très facile, celui obtenu par la présure d'origine végétale est lourd et difficilement digestible. Quant au produit minéral, il ne donne qu'un caillé indigeste qui ne s'assimile plus du tout et peut devenir un danger pour la santé du consommateur.

Nécessité du choix d'une bonne présure

Nous venons de voir la nécessité de n'employer en fromagerie que de la présure d'origine animale, mais l'emploi de cette présure est encore sujet à caution pour le fromager qui doit, en même temps que la qualité du produit, tirer de sa matière première, c'est-à-dire de son lait, le plus grand rendement possible.

D'où vient la supériorité de nos produits ?

C'est là que vient la question délicate de la fabrication du produit, au sommet de laquelle se place immédiatement celle de l'approvisionnement en matière première, en estomac de veau ou caillette. Tandis que la généralité des fabricants de présures sont obligés de ne travailler que des caillettes qu'ils reçoivent à l'état sec, notre maison, de par sa position toute spéciale dans les abattoirs mêmes de Paris et dans ses succursales en province peut mettre en œuvre les viscères producteurs de présure au fur et à mesure qu'ils sortent de l'animal, c'est-à-dire dans le plus grand état de fraîcheur et avant qu'ils aient subi le moindre commencement de fermentation.

Étant donc producteurs de notre matière première et ayant une expérience de plus d'un siècle dans sa préparation, nous n'utilisons pas les caillettes qui arrivent à l'état sec des pays de l'Est de l'Europe, caillettes qui ont subi les fermentations les plus diverses, car, entassées parmi les déchets

les plus divers et les plus malodorants de la boucherie, en attendant que le ramasseur vienne les en retirer, elles sont déjà vertes quand on les met en œuvre pour le séchage, opération qui dure plusieurs jours, pendant lesquels, exposées à l'air ou à la chaleur, elles achèvent de se corrompre sous l'influence des nombreux ferments qui viennent les contaminer.

Importance de l'approvisionnement en matière première

Or, de la matière première mise en œuvre dépend la qualité finale du produit. Dans notre fabrication, la préparation commence dans l'abattoir même ; à peine sorti de l'animal, l'estomac (caillette) est pris lavé et conservé dans le liquide stérilisé où il doit macérer à l'abri de l'air. Il n'y a donc aucune possibilité de contamination. C'est le premier point qui nous permet de mettre dans le commerce un produit inimitable sur le rapport de la pureté.

De la pureté de nos présures

Nos présures diffèrent des autres en ceci qu'elles sont fabriquées avec des caillettes préparées par nos ouvriers spécialistes dans ce genre de préparation, qu'elles sont raffinées et ne contiennent que la présure pure, sécrétée par l'estomac de jeunes veaux de lait, à l'exclusion de la pepsine sécrétée en même temps que la présure par le même organe.

L'eau dans laquelle on fait macérer des caillettes de veaux est, en effet, une présure qui, convenablement dosée, constitue un produit quelconque, capable de cailler le lait.

Mais que renferme un semblable produit ?

D'abord la présure, ce qui est indéniable, mais aussi de la pepsine que la nature a placée dans l'estomac du veau pour, précisément, en achever l'action de la présure dans le travail de la digestion du lait, en dissolvant le caillé formé par elle dans l'estomac et rendre ainsi assimilable le lait absorbé par l'animal.

L'ennemi du fromage

La pepsine a donc la propriété, absolument contraire à celle de la présure, de dissoudre le lait coagulé par la présure au fur et à mesure que cette coagulation se produit.

Dans ces conditions, que se passera-t-il dans la préparation du fromage, pendant le temps de la coagulation, assez long dans la fabrication de certains fromages ?

Que la présure qui contient de la pepsine donnera un rendement en caillé beaucoup moins élevé qu'une présure qui en est exempte, puisque la pepsine, entrant en action en même temps que la présure liquéfie une partie du *coagulum* au fur et à mesure qu'il se forme et qui passe dans le petit lait, au détriment du fromager qui perd ainsi une assez forte proportion de son fromage. En effet, la caséine liquéfiée ne reste pas dans le fromage dont le rendement se trouve ainsi diminué.

Une semblable présure est donc un produit de qualité tout à fait inférieure, dangereux pour la fromagerie tout entière, car en outre de la pepsine, elle renferme également toutes sortes de mycodermes qui peuvent altérer le fromage et provoquer de mauvaises fermentations.

Pourquoi nos présures donnent-elles des rendements meilleurs ?

Par un procédé spécial, breveté, nous préparons une présure absolument exempte de pepsine et ne renfermant que le ferment présure, isolé à l'état de pureté absolue, dissous dans un liquide imputrescible et stérilisé qui assure le plus grand rendement possible en fromage, puisque la totalité de la caséine du lait est coagulée et qu'aucune parcelle ne se redissout, ni pendant l'opération, ni après.

Il y a donc entre ces produits et les présures brutes d'importation allemande ou danoise, la même différence qu'entre la mélasse noire et le sucre raffiné le plus blanc. Les deux produits ne sont pas comparables.

Autres avantages

Un autre avantage des présures raffinées est de donner un caillé beaucoup plus moelleux, plus onctueux et plus homogène, facilitant énormément la maturation normale et régulière du fromage, nos présures affinées étant aseptiques sans être antiseptiques et ne gênant pas les ferments du fromage dans leur évolution normale.

D'autre part, un procédé qui nous est spécial aussi, nous permet de titrer rigoureusement la force de nos présures avant chaque envoi, suivant les puissances que nous avons établies pour les coagulations rapides ou lentes d'après le désir de notre clientèle et les nécessités de l'industrie fromagère...

On notera à cette lecture les efforts déployés à cette époque par les présuriers pour sensibiliser les fromagers sur l'importance de la qualité d'une bonne présure pour obtenir des fromages de qualité.

Mais, au fil des années, la présure a été banalisée par les différents fournisseurs au point d'en faire un produit d'appel, une commodité, dont le seul rôle mis en avant est la coagulation du lait. Aujourd'hui, il n'y a plus en France qu'un seul producteur en mesure de proposer des présures aux performances identiques à celles des siècles passés grâce à son procédé d'extraction des enzymes inchangé depuis 1872.

Les différentes préparations enzymatiques coagulantes (procédés d'obtention et formes d'utilisation)

La présure, définition et caractéristiques

En France, le vocable « présure » est réservé exclusivement à l'extrait liquide ou pâteux, soit pulvérisé ou comprimé après dessiccation, provenant de la macération des caillettes de jeunes bovidés tenus au régime du lait (décret n° 69-475 du 14 mai 1969, *JO* du 29 mai 1969).

Quant au terme « bovidé », le *Petit Larousse* (édition 2004) en donne la définition suivante :

bovidé n.m. (du lat. *bos*, *bovis*, bœuf). Mammifère ongulé ruminant, muni généralement de cornes persistantes, tel que l'antilope, le bison et la gazelle, et dont certaines espèces sont domestiquées (bovins, ovins, caprins). [Les bovidés forment une famille].

Chez les jeunes bovidés, la présure (qui contient essentiellement de la chymosine) a pour fonctionnalité conjointe de coaguler le lait maternel ingéré — ce qui ralentit le transit du bol alimentaire — et d'hydrolyser les caséines, le tout permettant une meilleure assimilation des protéines du lait au niveau de l'intestin grêle des animaux. On notera entre autres que la production stomacale d'acide chlorhydrique, dans un premier temps active la prochymosine et le pepsinogène (sécrétés par les glandes stomacales) en chymosine et pepsine, et favorise dans un deuxième temps l'activité de ces enzymes qui sont des protéases acides.

La présure est commercialisée, depuis la fin du XIX^e siècle, sous différentes formes (caillettes sèches, présures liquide, en pâte ou en poudre) et sous différentes concentrations, allant de moins de 50 mg à plus de 800 mg de chymosine active par litre de solution liquide, concentration qui dépasse 4 000 mg/kg pour les présures en poudre. Dans toutes ces préparations, la chymosine y est majoritaire, avec une quantité variable de pepsine. Ce ratio chymosine/pepsine doit être, selon la réglementation française, égal ou supérieur à 1,38 (cf. p. 153).

Les caillettes les plus utilisées proviennent des espèces animales les plus communément rencontrées : veaux, chevreaux, agneaux. La principale matière première est la caquette de jeunes veaux, suivie des caillettes de chevreaux et enfin des caillettes d'agneaux. Celles de veaux sont les plus utilisées sur le plan mondial du fait d'une plus grande disponibilité liée à la présence de cette espèce animale dans de

nombreux pays à travers le monde (Europe, USA, Amérique du Sud, Nouvelle-Zélande...). Mais dans certains pays tels que les pays du pourtour méditerranéen, ce sont les caillettes de chevreaux qui prédominent du fait de la présence en grand nombre de chèvres, et il en est de même pour les brebis. Cet état de fait est lié aux conditions climatiques plutôt chaudes et propices à ce type d'élevage.

Si l'on se réfère à la définition française de la présure (« macération de caillettes de jeunes bovidés »), chacune des sources de caillettes précédemment indiquées peuvent être utilisées indifféremment soit par espèce animale soit en mélange. En effet, la législation n'impose pas au producteur de présure de préciser s'il s'agit de présure issue de caillettes d'une même espèce animale ou de présure issue de caillettes de différentes espèces animales en mélange. Dans ces conditions, selon les exigences du fromager et des objectifs technologiques recherchés, il convient à l'utilisateur et/ou à l'acheteur de demander à son fournisseur si la présure qui lui est fournie provient de diverses espèces animales ou d'une seule espèce.

En France, les principales présures commercialisées sont des présures uniquement à base de caillettes de veaux. On peut cependant trouver des fournisseurs qui proposent des présures 100 % à base de caillettes de chevreaux, ainsi que des présures 100 % à base de caillettes d'agneaux. Selon leurs pratiques, certains producteurs peuvent mélanger au moment de l'extraction les différentes caillettes animales entre elles en proportions variables et/ou des présures issues de caillettes de chevreaux ou d'agneaux. Ce choix, le plus souvent dicté par des raisons économiques, est tout à fait légal. Il doit surtout s'établir une relation de confiance entre le client fromager et son fournisseur, d'autant plus qu'à ce jour, la méthode analytique qui pourrait distinguer les chymosines des différentes espèces animales reste compliquée.

En pratique, les présures aux caillettes de veaux sont utilisées dans toutes les technologies fromagères quel que soit le type de lait. En revanche, les présures à base de caillettes de chevreaux ou d'agneaux sont généralement réservées aux technologies basées sur les laits des espèces animales concernées.

Il semble y avoir une plus grande réactivité-affinité lorsqu'il y a concordance entre les éléments d'une même espèce animale (présure/lait). Les fromages obtenus sont plus typés. Il existerait un équilibre naturel ; cet équilibre peut être relié à la nature des protéines, ainsi qu'à celle des autres constituants présents dans l'environnement enzymatique de la présure, issue de la macération de la caillette, en conjugaison avec les enzymes coagulantes et la nature du lait à emprésurer. Ce principe est d'autant plus avéré que les présures concernées proviennent d'un procédé d'extraction par macération lente des caillettes.

Comme le soulignait Alais dans son ouvrage intitulé *Science du lait : Principes des techniques laitières* (1961) au paragraphe F, « La présure d'agneau », en posant la question de savoir si la caillette des différents ruminants produit la même présure, il semble qu'il n'en soit pas ainsi :

« On a mis en évidence des différences de comportement entre la présure d'agneau et la présure de veau, agissant sur les laits de brebis et sur les laits de vache. Par comparaison à une présure de veau, la présure d'agneau a une activité coagulante plus grande sur le lait de brebis que sur le lait de vache... ».