

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Elaboration d'un fromage frais à partir d'extraits
végétaux**

Présenté par :

Benchikh Rayan

Soutenu le : **30/11/2025**

Devant le jury composé de :

Mme OUKIL Naima	Professeur	Président
M. BOUKHALFA Farid	MCA	Encadrant
M. TACHERFIOUT Mustapha	MCA	Encadrant
Mme GHAROUT Alima	MCA	Encadrant
Mme MEDOUNI Sonia		Examineur (Partie Théorique)
Mme ALILAT Amel		Examineur (Annexe-BMC)
Mme BOUHEROUR Razika		Partenaire socio-économique

Année universitaire : 2024 / 2025

Remerciements

Je remercie Allah tout puissant de m'avoir donné la volonté et le courage de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Je tiens à remercier mon promoteur monsieur Boukhalfa Farid de m'avoir encadré tout le long de mon travail. Son aide précieux et ses conseils ont été essentiels pour la réussite de ce travail.

Mes sincères remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'examiner mon travail.

Je remercie également l'équipe de l'incubateur de l'université de Bejaia, tout particulièrement les enseignants formateurs et le directeur de l'incubateur pour l'orientation, leurs conseils et aussi d'avoir partagé les connaissances et les expériences professionnelles.

Je tiens aussi à remercier le directeur de Centre de Développement de l'Entreprenariat (CDE) de l'université de Bejaia Dr Mahmoudi Mourad et les enseignants formateurs pour leur guidance, leurs conseils et leur expertise tout au long de la formation qui ont été essentiels afin de réaliser ce projet.

Pour terminer, je remercie tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail :

En premier lieu, à mes parents pour leur patience et leur confiance en moi.

À tous les membres de ma famille pour leur motivation.

À mes amis, pour leur encouragement.

À Tous mes camarades de la promotion QPSA.

À Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Introduction	1
--------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Définition du fromage	3
I.1. Composition du fromage	3
I.2. Valeur nutritionnelle du fromage	4
I.3. Classification des fromages	5
I.4. Technologie de fabrication du fromage	7
I.4.1. Composition du lait	7
I.4.2. Coagulation	7
I.4.3. Egouttage	8
I.4.4. Salage	8
I.4.5. Affinage	8
I.5. Les enzymes coagulants et les succédanés de la présure	8
I.5.1. Les coagulants d'origine animale	9
I.5.2. Les coagulants d'origine microbienne	10
I.5.3. La chymosine fermentaire (FPC)	11
I.5.4. Les coagulants d'origine végétale	12

Références bibliographiques

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AOP : Appellation d'Origine Contrôlée.

FPC : Chymosine Fermentaire.

IGP : Indication Geographies Protégée.

Lys : Lysine.

OGM : Organismes génétiquement modifiés.

ONS : Office National des Statistiques.

PH : Potentiel d'hydrogène.

Liste des tableaux

Tableau I : composition moyenne (g/100g) de quelques types de fromages	4
Tableau II : Type et nom de principales protéases d'origine végétal utilisées dans la production fromagère	12

INTRODUCTION

L'Algérie figure parmi les pays affichant une consommation particulièrement élevée de lait et de produits laitiers à l'échelle mondiale. Face à cette demande importante, le recours à l'importation s'avère indispensable, que ce soit sous forme de poudre de lait, de matières grasses ou de produits dérivés, afin de répondre aux besoins nutritionnels de la population (**Benyahia-Krid et al., 2010**).

Le lait constitue la matière première essentielle à la production de tous les types de fromages. Ainsi, les principes de la fromagerie reposent essentiellement sur la chimie du lait (**Donnelly, 2014**). D'un point de vue nutritionnel, ces produits se distinguent par leur richesse en protéines, lipides, lactose, minéraux et vitamines (**Gaucheron et Boyer, 2025**).

La coagulation du lait représente une étape cruciale dans le processus de fabrication fromagère, permettant la séparation de la majeure partie de la caséine, de la matière grasse ainsi que de certains sels sous forme de caillé, tandis que l'essentiel de l'eau et des solides solubles sont éliminés dans le lactosérum.

Les fromagers utilisent trois méthodes distinctes pour réaliser cette coagulation : par acidification, par l'action d'une enzyme coagulante, ou par une voie mixte combinant les deux procédés (**Donnelly, 2014**).

La présure constitue un élément fondamental dans la fabrication de tous les types de fromages. Sans elle, la production fromagère s'avère pratiquement impossible. Bien que le lait puisse coaguler spontanément sous l'action de ferments se développant au contact de l'air et des équipements, le caillé obtenu reste sec et friable, conduisant à une pâte de qualité médiocre. C'est par le contrôle précis de la quantité de présure, de la température de coagulation et du moment d'interruption du processus que le fromager maîtrise la production et peut influencer cette étape initiale, la plus déterminante dans l'élaboration des fromages (**Collin, 2015**).

Dès le début des années 1960, la production de présure d'origine bovine s'est révélée insuffisante pour répondre à l'expansion de la production fromagère mondiale.

Plusieurs facteurs ont stimulé la recherche d'alternatives à la présure animale : le prix élevé et la disponibilité limitée des estomacs de ruminants, les régimes alimentaires comme le lacto-végétarisme, les restrictions religieuses (Islam, Judaïsme), ainsi que l'interdiction de la présure de veau recombinante (génétiquement modifié) dans de nombreux pays européens (France, Allemagne et Pays-Bas) (**Nicosia et al., 2022**).

Ces raisons ont fait que de nombreuses recherches ont été entreprises afin de trouver des succédanés efficaces et compétitifs utilisables industriellement (**Joubert, 2017**).

L'Algérie, dépendante des laboratoires étrangers pour son approvisionnement en présure, importe ces produits pour la fabrication de fromages (**Slamani et Bellal, 2015**). Cette dépendance alourdit les coûts de production, fragilise la filière fromagère face aux fluctuations des prix internationaux et limite la valorisation des ressources locales.

Selon l'Office National des Statistiques (**ONS, 2012**), les industries fromagères algériennes utilisent environ 1,5 tonne de présure. Cette quantité engendre un coût approximatif de 102 000 dollars, soit l'équivalent de 7,5 millions de dinars algériens.

L'objectif de ce projet est d'explorer le potentiel des coagulants d'origine végétale issus de plantes locales comme alternatives à la présure animale, dans la perspective d'élaborer un fromage frais biologique. Cette recherche vise à évaluer la faisabilité technologique de ces substituts ainsi que leur impact sur les caractéristiques organoleptiques du fromage produit, en vue de sa commercialisation sur le marché algérien.

Ce travail comprend une revue bibliographique consacrée aux généralités sur le fromage et les enzymes coagulantes, suivie d'une phase expérimentale incluant la collecte de plantes à propriétés coagulantes, la présentation du matériel et des méthodes, puis une discussion des résultats obtenus.

À l'issue de cette étude, une conclusion accompagnée de perspectives sera présentée afin de promouvoir une production fromagère durable et de valoriser le travail réalisé.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Dès la Préhistoire, l'homme a commencé à consommer et à tenter de conserver le lait de ses animaux domestiques, ce qui a conduit à la découverte du caillé (**Chast et Voy, 1984**).

Selon les historiens, le fromage serait une invention accidentelle de nomades du Moyen-Orient ou d'Asie Centrale (**Cesbron-Lavau et al., 2017**). En transportant le lait dans des outres faites de panses d'animaux, celui-ci caille au contact de la présure, une enzyme naturelle contenue dans l'estomac. Cette coagulation accidentelle est à l'origine du premier fromage blanc.

L'art de la fabrication fromagère s'est ensuite structuré en Europe, où il s'est développé et perfectionné à partir du XI^e siècle dans les monastères (**Roset, 2019**). C'est à cette époque que sont nés des fromages aujourd'hui mondialement connus comme l'Emmental, le Gouda ou le Roquefort.

I. Définition du fromage

Selon le **Décret n°2007-628 du 27 avril 2007**, le fromage est défini comme un « produit fermenté ou non, affiné ou non » fabriqué exclusivement à partir de matières d'origine laitière (lait, crème, babeurre, etc.). Ces matières sont coagulées en totalité ou en partie avant d'être égouttées. De plus, la teneur minimale en matière sèche doit être d'au moins 23 g pour 100 g de produit fini (**Perrin et al., 2015**).

D'un point de vue structurel, les fromages résultent d'un ensemble de modifications chimiques, biochimiques et microbiologiques interconnectées (**Donnelly, 2014**). Ils constituent ainsi une méthode traditionnelle de conservation du lait, tout en étant reconnus pour leurs qualités nutritionnelles et leurs caractéristiques gustatives uniques (**Jeantet et al., 2007**).

I.1 Composition du fromage

Le fromage constitue une catégorie alimentaire très variée dont la composition change considérablement en fonction de la qualité du lait utilisé ou des méthodes de production appliquées (**Tableau I**), (**Eck, 2006**). Il a été confirmé que les composés liposolubles (acides gras, les caroténoïdes, vitamines A et E) dans un fromage est influencée par les conditions de la production laitière, tandis que les substances hydrosolubles (principalement des minéraux et des vitamines du groupe B) sont affectées par les méthodes de transformation (**Sibra, 2014**). La quantité de glucide, principalement le lactose, est réduite car lors de l'élaboration et la fermentation du fromage, les bactéries transforment le lactose en acide lactique par leur métabolisme (**Khanal, et al., 2019**).

Tableau I : composition moyenne (g/100g) de quelques types de fromages (Eck, 2006).

Constituants	Types de fromages		
	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau	80	50	48
Glucides	4	4	2.5
Protéines	8.5	20	18
Matière grasse	7.5	24	22
Calcium	0.1	0.4	0.68
Sodium	0.04	0.7	1.65

I.2 Valeur nutritionnelle du fromage

Le fromage constitue un aliment d'une grande richesse nutritionnelle, reconnu pour sa densité exceptionnelle en nutriments essentiels tels que les protéines de haute qualité, le calcium, le phosphore, les vitamines et les composés bioactifs. Cette composition en fait un aliment de choix dans une alimentation équilibrée, capable de contribuer significativement aux apports nutritionnels recommandés, particulièrement chez les enfants, les adolescents et les personnes âgées (Guo et al., 2023).

Le fromage est une source de protéines complètes, renfermant tous les acides aminés essentiels. Une portion de 100 g de fromage (à pâte molle ou dure) couvre 30 à 40 % des apports quotidiens recommandés pour un adulte. Sa valeur biologique est élevée, principalement grâce à sa teneur en caséines (Khanal et al., 2019).

La teneur en glucides, et notamment en lactose, est résiduelle. Durant l'affinage, ce sucre est fermenté en acide lactique par les bactéries. Cette transformation rend la plupart des fromages sûrs pour les personnes intolérantes au lactose, qui sont déficientes en enzyme β -galactosidase (Fox et al., 2017).

Les lipides influencent directement la texture (fermeté, onctuosité) et la saveur du fromage. Leur contribution nutritionnelle est substantielle : 50 g de cheddar apportent 17 g de matières grasses (dont 66% d'acides gras saturés). Dans un régime standard, le fromage constitue ainsi une source significative de lipides totaux et saturés (Fox et al., 2017).

Le fromage est une source notable de calcium et de phosphore, contribuant à la prévention de l'ostéoporose et de l'hypertension. Il est également riche en vitamines du groupe B (B6, B12, acide folique), qui réduisent le risque d'athérosclérose, et en vitamines liposolubles (A, D, E, K).

La vitamine K, particulièrement abondante, jouerait un rôle protecteur contre la calcification vasculaire (**Khanal et al., 2019**).

I.3 Classification des fromages

La maîtrise des paramètres de conservation permet d'obtenir des fromages aux compositions physico-chimiques et caractéristiques organoleptiques très variées. Selon **Ramet (1993)**, les fromages peuvent être classés en quatre catégories principales selon leur degré de conservation par acidification (pH) et par déshydratation (teneur en humidité résiduelle).

Parmi les différentes classifications existantes, celle de **Lenoir et al. (1983)** est largement reconnue. Elle distingue les fromages selon leur type de pâte, puis les sous-classes selon leur mode d'affinage et de croûte (**Sibra, 2014**).

➤ Fromage frais

Le fromage frais résulte d'une coagulation principalement acide et lente, obtenue par l'action de bactéries lactiques, avec ou sans ajout de petites quantités de présure. Il se caractérise par :

- Un taux d'humidité élevé (> 67 %) (**Afirah Mohd et al., 2022**).
- Une fabrication simple et rapide, sans phase d'affinage.
- Une durée de conservation limitée due à sa faible déminéralisation (**Sanogo, 1994**).

Sa texture et sa composition varient selon le degré d'égouttage et la teneur en matière grasse du lait utilisé (**Mahaut et al., 2003**). Consommé généralement immédiatement après égouttage, éventuellement additionné d'ingrédients (sel, épices), il ne peut être conservé que s'il est conditionné de manière adéquate et maintenu à une température de 0 à 4 °C (**Ramet, 1993**).

➤ Fromage à pâte molle

La production des fromages à pâte molle requiert un contrôle précis des fermentations et de l'affinage, particulièrement au niveau de la température et de l'humidité ambiante (**Sanogo, 1994**). Les fromages à pâte molle se classent en trois catégories principales selon le type de micro-organismes prédominants : les fromages à pâte molle fleurie (dominés par *Penicillium camemberti*), les fromages à pâte molle lavée (dominés par *Brevibacterium linens*) et les fromages à pâte molle persillée (dominés par *Penicillium roqueforti*) (**Ramet, 1993**).

Les croûtes fleuries, recouvertes de moisissures blanches du type *Penicillium*, présentent un aspect duveteux.

En revanche, les croûtes lavées, nettoyées régulièrement pendant l'affinage par lavage et brossage, acquièrent une apparence lisse, brillante et de couleur jaune (**Perrin et al., 2015**).

➤ Fromage à pâte pressée

Ces fromages se distinguent par une valeur énergétique modérée et une teneur en protéines nettement supérieure à celle des autres types de fromages (Perrin et al., 2015). Ils regroupent deux sous-catégories : les fromages à pâte pressée cuite et non cuite.

a) Fromage à pâte pressée cuite

Des exemples tels que l'emmental, le gruyère, le comté ou le parmesan sont généralement de grande taille (environ 120 kg). La qualité du lait est essentielle pour ces fromages (Sanogo, 1994). Leur procédé de fabrication inclut une cuisson à au moins 50 °C, et leur teneur en matière sèche est d'environ 60 g/100 g (Perrin et al., 2015). Ils sont particulièrement riches en matières grasses, protéines et calcium, mais contiennent moins de vitamines, notamment du groupe B (Sibra, 2014).

b) Fromage à pâte pressée non cuite

Ce type de fromage est caractérisé par un caillé compressé lors du moulage pour éliminer le maximum de lactosérum (Goudedranche et al., 2001). Cette technique permet d'obtenir une texture souple et une humidité propice au développement de saveurs délicates.

Parmi les fromages à pâte pressée non cuite les plus connus figurent *le saint-paulin*, *le cheddar*, *la feta*, *le domiati* et *le white cheese* (Sanogo, 1994). Leur diversité reflète les traditions régionales et le savoir-faire artisanal, enrichissant ainsi le patrimoine fromager.

➤ Fromage fondu

Selon le **Décret n°2007-628 du 27 avril 2007**, l'appellation « fromage fondu » désigne un produit obtenu par fusion et émulsification, sous l'effet de la chaleur (au moins 70 °C pendant 30 secondes ou équivalent), de fromage(s) éventuellement mélangés à d'autres produits laitiers. Il doit contenir au minimum 40 g de matière sèche pour 100 g de produit fini.

Sa pâte homogène, sans croûte, est à la fois élastique et onctueuse. Grâce à une teneur en matière sèche comprise entre 40 % et 50 %, le fromage fondu se conserve facilement plusieurs semaines sans réfrigération (Sanogo, 1994).

I.4 Technologie de fabrication du fromage

La technologie fromagère poursuit deux objectifs essentiels : premièrement, identifier les caractéristiques qui confèrent à un fromage spécifique son attrait (saveur, consistance, texture, propriétés de fusion et d'étirement) ; deuxièmement, établir un processus de fabrication et

d'affinage garantissant la reproductibilité constante de ces caractéristiques à chaque production (Law et Tamime, 2010).

I.4.1 Composition du lait

Le lait constitue la matière première fondamentale de tous les types de fromages. Par conséquent, les principes de la fabrication fromagère reposent sur les connaissances de la chimie du lait (Donnelly, 2014). La composition du lait représente un facteur déterminant qui influence directement le processus de fabrication, le rendement fromager, ainsi que les caractéristiques physico-chimiques et qualitatives du produit fini (Pazzola et al., 2019).

Le lait se compose d'eau, de protéines (caséines et protéines solubles), de matière grasse, de glucides sous forme de lactose, de minéraux, ainsi que d'éléments mineurs (enzymes, acides aminés libres, peptides). La fraction caséique forme avec les minéraux insolubles un complexe phospho-caséinate de calcium (Law et Tamime, 2010). Plusieurs facteurs peuvent modifier la composition du lait et, par conséquent, son aptitude à la transformation fromagère : l'espèce animale, la race, l'état nutritionnel, l'état sanitaire, la saison et le stade de lactation (Fox et al., 2017).

À la réception, le lait de chaque producteur est mesuré, filtré pour éliminer les impuretés, puis analysé pour évaluer sa qualité microbiologique et sa composition. Cette étape préliminaire est essentielle pour garantir la qualité du produit final (Sanogo, 1994 ; Khanal et al., 2019).

I.4.2 Coagulation

La coagulation est une étape cruciale qui consiste en la déstabilisation des micelles de caséine, formant un gel qui piège les composants du lait. Elle peut être réalisée par acidification, action enzymatique (présure), ou une combinaison des deux (Vignola, 2002 ; Bathmanathan et al., 2019).

➤ Coagulation acide

Elle est produite par fermentation lactique, l'acidification abaisse le pH jusqu'au point isoélectrique de la caséine (pH 4,6), neutralisant les charges de surface des micelles et permettant la formation d'un gel. Ce processus influence directement la texture du fromage (Fox et al., 2017 ; Donnelly, 2014).

➤ Coagulation enzymatique

Elle obtenue sous l'action de la présure, la κ -caséine est hydrolysée, entraînant une déstabilisation des micelles en présence d'ions calcium et la formation d'un gel structuré (Fox et al., 2017 ; Joubert, 2017).

➤ Coagulation mixte

Combine acidification modérée (pH 6,5-5,5) et ajout de présure, permettant une grande diversité de textures et de saveurs, notamment pour les fromages à pâte molle ou pressée non cuite (**Goudedranche et al., 2001 ; Mahaut et al., 2003**).

I.4.3 Égouttage

L'égouttage correspond à la séparation du lactosérum du caillé. Sa durée (15 à 36 heures) et son intensité varient selon le type de fromage. Pour les caillés lactiques, l'égouttage est rapide mais souvent incomplet en raison de leur fragilité (**Sanogo, 1994 ; Broutin et Goudiaby, 2021**).

I.4.3 Salage

Le salage, effectué à sec ou en saumure, contribue à la formation de la croûte, à la conservation et à la texture. Il induit des échanges d'eau et de sel entre la surface et le cœur du fromage, modifiant sa structure (**Sibra, 2014 ; Sanogo, 1994**).

I.4.5 Affinage

L'affinage est une phase de transformations biochimiques (protéolyse, lipolyse, dégradation du lactose) sous l'action d'enzymes et de micro-organismes. Ces réactions, qui dépendent des conditions de température et d'humidité, développent la texture et les arômes du fromage. Sa durée varie de quelques semaines à plusieurs années (**Fox et al., 2017 ; Sibra, 2014**).

I.5 Les enzymes coagulants et les succédanés de la présure

Un coagulant est une préparation enzymatique dont la fonction principale est de provoquer la coagulation du lait (**Joubert, 2017**). Les préparations enzymatiques coagulantes se distinguent par leurs origines et par les protéases qu'elles contiennent, lesquelles influencent de manière significative la qualité finale des fromages produits.

Elles ont traditionnellement été obtenues à partir de tissus animaux et végétaux, et plus récemment, à partir de cultures de micro-organismes, incluant des souches génétiquement modifiées, afin de pallier une éventuelle insuffisance en présure (**Collin, 2015**). Un coagulant se caractérise par plusieurs sensibilités et activités enzymatiques qui influencent différemment la qualité de la coagulation, le rendement fromager, la qualité du lactosérum et l'ensemble des propriétés du fromage (**Roset, 2019**).

La variabilité de la qualité de la caillette des ruminants (liée à l'âge, au stockage, à l'alimentation, au transport, etc.), les fluctuations des prix d'achat et la demande croissante des

consommateurs ont conduit les organismes techniques et scientifiques à rechercher des succédanés de la présure (**Roset, 2019**).

Plusieurs alternatives à la présure ont été utilisées et évaluées. Actuellement, seules quelques-unes sont disponibles sur le marché, principalement deux coagulants d'origine fongique, et leur importance pourrait diminuer à l'avenir avec l'essor de la chymosine fermentaire (FPC). Néanmoins, l'utilisation future de cette dernière dépend de l'acceptabilité par les consommateurs des produits issus d'organismes génétiquement modifiés (OGM) (**Andrén, 2011**).

I.5.1 Les coagulants d'origine animale

Les moutons, les chèvres et les porcs peuvent constituer une source de préparations enzymatiques possédant des caractéristiques semblables à celles de la présure, mais qui ne sont pas optimales pour la coagulation du lait de vache (**Law, 2009**).

La pepsine bovine est obtenue à partir des caillottes de bovins adultes, généralement sous forme liquide. Ces préparations contiennent principalement de la pepsine et une faible proportion de chymosine. La pepsine bovine a été largement utilisée dans les technologies de fabrication des fromages à pâtes pressées, soit seule, soit en combinaison avec de la présure ou avec l'enzyme provenant de *Rhizomucor miehei* (**Collin, 2015**).

La pepsine porcine est une protéase présentant un caractère plus acide que celui de la chymosine. Son efficacité est optimale en milieu acide (**Eck, 1990**). En revanche, son activité est fortement réduite à un pH supérieur à 6,6 et elle peut subir une dénaturation significative lors de la fabrication du fromage, ce qui peut avoir un impact négatif sur la protéolyse durant l'affinage (**Fox et al., 2017**).

L'enzyme issue des ovins est utilisée dans la fabrication de certains fromages sous forme de « pâte de présure ». L'extrait enzymatique contient une lipase, spécifiquement l'estérase pré gastrique, en plus de la chymosine. Elle est employée pour les fromages présentant une concentration élevée en acides gras libres (**Law, 2009**). Cette enzyme hydrolyse la matière grasse du lait et libère des acides gras à courte chaîne, contribuant ainsi aux propriétés sensorielles spécifiques des fromages AOP du sud de l'Europe tels que le Canestrato Pugliese, le Fiore Sardo et le Pecorino Romano en Italie, l'Idiazabal et le Roncal en Espagne, ainsi que la Feta en Grèce (**Joubert, 2017**).

1.5.2 Les coagulants d'origine microbienne

Les micro-organismes constituent une source précieuse d'enzymes grâce à leur grande diversité biochimique et à la facilité de leur modification génétique. Les protéases microbiennes représentent environ 40 % du total des ventes mondiales d'enzymes (**Mahajan et Badgujar, 2010**). Ces coagulants proviennent principalement de trois espèces de champignons : *Rhizomucor miehei*, *Rhizomucor pusillus* et *Cryphonectria parasitica* (**Joubert, 2017**). Leur poids moléculaire est supérieur à celui de la chymosine d'origine animale (**Roset, 2019**).

Le coagulant issu de *Cryphonectria parasitica* se caractérise par une activité protéolytique très élevée, une bonne formation du caillé, une faible dépendance au pH et une instabilité thermique importante. En raison de ces propriétés, cette enzyme n'est utilisée que pour les fromages à pâte pressée cuite à haute température comme l'Emmental (**Law et Tamime, 2010**).

Le coagulant de *Rhizomucor pusillus* présente des similitudes avec celui de *R. miehei*. Bien qu'il ait été utilisé par le passé, il n'offre aucun avantage par rapport au coagulant de *R. miehei* et n'est plus produit commercialement (**Law et Tamime, 2010**).

Parmi les coagulants microbiens les plus couramment utilisés dans l'industrie fromagère, deux espèces fongiques se distinguent par la production d'enzymes spécifiques. La première, *Rhizomucor miehei*, est la source d'une préparation commerciale nommée « Coagulant Miehei », qui se décline en plusieurs types (L, TL, XL, XLG/XP). Son composant actif est une aspartique protéinase propre à cette espèce. La seconde, *Cryphonectria parasitica*, produit un « Coagulant Parasitica » dont l'ingrédient actif est également une aspartique protéinase, mais aux propriétés biochimiques distinctes (**Law et Tamime, 2010**).

Les enzymes fongiques sont obtenues par fermentation en batch dans des milieux de cultures liquides.

Les enzymes extracellulaires sont sécrétées dans le milieu de culture puis séparées de la biomasse par filtration et/ou centrifugation. Elles sont ensuite concentrées par ultrafiltration, formulées et stérilisées. Un processus d'oxydation est appliqué à l'enzyme de *R. miehei* afin d'accroître sa thermo-stabilité et de réduire la production simultanée d'enzymes indésirables telles que les lipases et les amylases. Une attention particulière est accordée à la sélection des souches, à la composition du milieu de culture et aux conditions de fermentation pour limiter la synthèse de ces enzymes indésirables (**Joubert, 2017**).

Bien que la spécificité protéolytique des coagulants fongiques couramment utilisés diffère considérablement de celle de la chymosine bovine, ils ont donné des résultats généralement satisfaisants pour la plupart des variétés de fromages (**Fox et al., 2017**). Cependant, malgré un

coût inférieur à celui des coagulants d'origine végétale et animale, les coagulants microbiens présentent un rapport limité entre l'activité coagulante et l'activité protéolytique (**Bathmanathan et al., 2019**).

I.5.3 La chymosine fermentaire (FPC)

L'alternative la plus couramment employée pour remplacer la présure dans l'industrie fromagère mondiale est la chymosine produite par fermentation (FPC), qui représente aujourd'hui 50 % de la production mondiale de fromage obtenue par coagulation enzymatique (**Law, 2009**).

Elle est produite par un processus de fermentation à grande échelle utilisant des souches génétiquement modifiées de *Kluyveromyces lactis* ou *Aspergillus niger*. Par le biais du génie génétique, le gène de la prochymosine bovine est inséré dans l'organisme hôte, accompagné d'un promoteur approprié garantissant sa sécrétion efficace dans le milieu de culture (**Whitehurst et van Oort, 2010**).

Après la fermentation, un traitement acide est appliqué afin d'éliminer les cellules microbiennes et les acides nucléiques résiduels (ADN et ARN). Selon le micro-organisme utilisé, une purification par chromatographie peut être effectuée après séparation physique des cellules. Le procédé se termine par une standardisation suivie d'une filtration stérilisante (**Collin, 2015**).

Récemment, une nouvelle version de FPC similaire à la chymosine de chameau a été développée. La FPC camelus s'est révélée être un coagulant encore plus performant pour le lait de vache comparativement à la FPC bovine. Elle se distingue par sa forte spécificité vis-à-vis des caséines, offrant ainsi un rendement fromager élevé sans génération d'amertume (**Law et Tamime, 2010**). Certains considèrent que la chymosine d'origine recombinante présente des risques potentiels pour la santé et pourrait servir de vecteur pour différentes pathologies (**Bathmanathan et al., 2019**). En France, son utilisation est limitée par son interdiction dans les cahiers des charges des fromages AOP/IGP (**Joubert, 2017**).

I.5.4 Les coagulants d'origine végétale

De nombreuses espèces végétales sont capables de synthétiser des protéinases coagulant le lait. Néanmoins, les coagulants d'origine végétale ne sont pas largement produits au niveau industriel, mais sont plutôt élaborés localement, notamment au Portugal pour des fabrications artisanales de fromages (**Whitehurst et van Oort, 2010**). Ces protéases, extraites de divers tissus végétaux tels que les fruits, les fleurs, les tiges et le latex, présentent des propriétés catalytiques intéressantes avec différentes conditions optimales de pH et de température pour la coagulation du lait.

Le mécanisme enzymatique de coagulation du lait débute de manière similaire à celui de la chymosine, par le clivage de la liaison peptidique Phe105-Met106 de la κ -caséine (κ -CN). Cette réaction enzymatique entraîne la libération d'un fragment hydrophile appelé glycomacropeptide (f106-169), situé à la surface de la micelle de caséine. Cela provoque une diminution des forces de répulsion électrostatique entre les micelles, induisant l'agrégation de la caséine et la formation du caillé (**Guevara et Daleo, 2018**). Certaines protéases végétales peuvent hydrolyser la caséine à différents sites, comme l'actinidine extraite d'*Actinidia chinensis*, qui clive la liaison Ser104-Phe105 de la caséine bovine (**Nicosia et al., 2022**).

Les protéases végétales utilisées comme agents coagulants ont été identifiées (Tableau II) et étudiées dans toutes les parties des plantes, qu'il s'agisse de graines, de fleurs ou de latex. Ces enzymes peuvent être extraites de leur source naturelle ou produites par culture in vitro pour garantir un approvisionnement constant en protéases végétales (**Shah et al., 2014**). Elles sont classées en trois catégories selon leur mécanisme catalytique : les protéases aspartiques, les protéases à cystéine et les protéases à sérine, comme présenté dans le tableau ci-dessous (**Bathmanathan et al., 2019**).

Tableau II : Type et nom de principales protéases d'origine végétal utilisées dans la production fromagère

Types de protéases	Le nom de la protéase	L'origine de l'enzyme
Aspartique	Cardosines et cyprosines	<i>Cyanara cardunculus</i>
	Cyanara	<i>Cyanara scolymus</i>
	Oryzase	<i>Oryza sativa</i>
Cystéine	Bromeline	<i>Ananas comosus</i>
	La ficine	<i>Ficus Racemosa</i>
	La papaïne	<i>Carica papaya</i>
	Zingibérène	<i>Zingiber officinale</i>
Sérine	Cucumisin	<i>Cucumis melo</i>
	Lettucine	<i>Lactuca sativa</i>
	Streblène	<i>Streblus asper</i>

Le principal coagulant végétal utilisé dans la fabrication fromagère provient des fleurs de *Cynara cardunculus* (**Whitehurst et van Oort, 2010**). Les fleurs de cardon (*C. cardunculus*) sont riches en protéases coagulantes, notamment les cardosines et les cynarases, qui possèdent des caractéristiques catalytiques similaires à celles de la chymosine. Elles appartiennent à la même famille enzymatique que la chymosine (protéinases aspartiques, EC 3.4.23) (**Guevara et Daleo, 2018**).

Pour ces raisons, les coagulants extraits de *C. cardunculus* peuvent constituer un substitut approprié à la présure d'origine animale dans la fabrication fromagère. Bien que les protéases de *Cynara cardunculus* soient adaptées à tous les types de lait, les fromages élaborés à partir de lait de vache présentent des saveurs plus amères que ceux produits avec du lait de brebis. En effet, les caséines bovines et caprines subissent une hydrolyse plus intense par l'extrait de *C. cardunculus* que les caséines ovines (Nicosia et al., 2022). Actuellement, il n'existe pas de source commerciale fiable pour la présure de cardon (Guevara et Daleo, 2018).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

~ A ~

- ❖ Afirah Mohd, S., Abdul Karim, A., Kin-Sam, Y., & Lai-Hoong, C. (2022). A Review of Natural Cheese and Imitation Cheese, Food Processing and Preservation.
- ❖ Andrén, A. (2011). Rennets and Coagulants. 574-578.

~ B ~

- ❖ Bathmanathan, R., Yahya, Y.A.C., Yusoff, M.M., & Vejayan, J. (2019). Utilizing Coagulant Plants in the Development of Functional Dairy Foods and Beverages: A Mini Review. Journal of Biological Sciences, 19 (3), 259-271.
- ❖ Benyahia-Krid, F. A., Attia, H., Zidoune, M. N. (2010). Comparative study of milk coagulation with chicken pepsin or rennet: interactions and microstructure. Journal of Agriculture, Biotechnology and Ecology, vol.3, 75-86.

~ C ~

- ❖ Cesbron-Lavau, E., Lubrano-Lavadera, A S., Braesco, V., Deschamps, E. (2017). Fromages blancs, petits-suisses et laits fermentés riches en protéines. Cahiers de Nutrition et de Diététique, vol.52, 33-40.
- ❖ Chast, M., Voy, H. (1984). Le livre de l'amateur de fromages. 22p.
- ❖ Collin, J.-C. (2015). Présures et coagulants de substitution : Comment faire le bon choix ?ed. Quae, 78026 Versailles Cedex, France, 200p.

~ D ~

- ❖ Donnelly, C. W. (2014). Cheese and microbes. Vermont institute for artisan cheese, the University of Vermont, Burlington, Vermont, 309p.

~ E ~

- ❖ Eck, A. (1987). Le fromage, 1^{ère} éd. Lavoisier, Paris, 529p.
- ❖ Eck, A. (1990). Le fromage, 2nd éd technique& documentation. Lavoisier, 539p.
- ❖ Eck, A. et Gillis, J C. (2006). Le fromage, 3^{ème} ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 891p.

~ F ~

- ❖ Fox, P. F., Singh, T. K., McSweeney, P. L.H. (1994). Proteolysis in cheese during ripening, 1-31.
- ❖ Fox, P. F., Guinee, Timothy P., Cogan, Timothy M., McSweeney, Paul L. H. (2017). Fundamentals of Cheese Science 2nd ed. Springer, 771p.

~ G ~

- ❖ Gaucheron, F., Boyer, Constance. (2025). Les opérations technologiques impactent-elles les propriétés nutritionnelles des produits laitiers ? Lait et produits laitiers : Quelques défis pour l'industrie laitière. 191p.
- ❖ Goudedranche, H., Camier-Caudron, Benedicte., Gassi, Jean- Yves., Schuck, Pierre. (2001). Filière de production : produits d'origine animale, 5^{ème} ed.
- ❖ Guevara, M. G. D., Gustavo Raúl. (2018). Biotechnological Applications of Plant Proteolytic Enzymes. Springer.
- ❖ Green, M. L., & Stackpoole, A. (1975). The preparation and assessment of a suitable *Mucor pusillus* Lindt proteinase–swine pepsin mixture for Cheddar cheese - making. *Journal of Dairy Research*, 42(2), 297-312.

~ I ~

- ❖ ILBOUDO, A. J., SAVADOGO, A., SEYDI, M. G., TRAORE, A. S. (2012). Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6 (6), 6075-6087.

~ J ~

- ❖ Jeantet, R., Thomas, C., Michel, M ., Pierre, S et Gerard, B. (2007). Produit laitiers. Tec et Doc, Lavoisier.
- ❖ Joubert, D. (2018). L’AFFINAGE. *Revue des ENIL*, N°348, 35p.
- ❖ Joubert, D. (2017). LES COAGULANTS. *Revue des ENIL*, N°348, 23p.

~ K ~

- ❖ Khanal, S., Pradhan, M., Bansal, N. (2019). Cheese: Importance and Introduction to Basic Technologies. *J. Food Sci. Technol*, vol. 11, 14-24.

~ L ~

- ❖ Law, B. A. (2009). Enzymes in dairy product manufacture. In *Enzymes in food technology*, 88-102.
- ❖ Law, B. A., & Tamime, A. Y. (2010). *Technology of Cheesemaking*. John Wiley & Sons, 2nded.

- ❖ Lapointe-Vignola, C. (2002). *Science et technologie du lait : transformation du lait*. Presses inter Polytechnique.

~ M ~

- ❖ Mahajan, R. T., Badgujar, Shamkant B. (2010). Biological aspects of proteolytic enzymes: A Review. *Journal of Pharmacy Research*, 3(9), 2048-2068.
- ❖ Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P., & Brulé, G. (2000). *Les produits industriels laitiers*. Editions Tec & Doc, 107-180.

~ N ~

- ❖ Nicosia, F. D., Puglisi, I., Pino, A., Caggia, C., Randazzo, C. I. (2022). Plant Milk-Clotting Enzymes for Cheesemaking. *Applied Sciences*, 12(3), 1344.

~ P ~

- ❖ Pazzola, M., Stocco, G., Dettori, M L., Bittante, G., Vacca, G M. (2019). Effect of goat milk composition on cheesemaking traits and daily cheese production. *Jornal Dairy Science*, 109p.
- ❖ Perrin, C., Gauvreau-Béziat, J., Ménard, C., Volatier, J L., Battisti, C. (2015). *Fromages*. Anses – Oqali, 143p.
- ❖ Pimentel, A.M., Nader, R.B., & Cortés, L.T. (2021). *Calcium-induced conformational rigidity and enzymatic inhibition: A mechanistic study*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 185, 112-125.

~ R ~

- ❖ Ramet, J. P. (1993). *La technologie des fromages au lait de dromadaire (Camelus dromedarius)*. Food & Agriculture Org, 125p.
- ❖ Robitaille, G. L., C., Leclerc, D., Britten, M. (2012). *Journal of dairy science*, 1-8.
- ❖ Roset, G. (2019). *Coagulants et coagulation enzymatique en transformation fromagère*. 12p.

~ S ~

- ❖ Sanogo, M. (1994). *Créer une petite fromagerie*. Ed de Gret, Saint-Etienne, 91p.

- ❖ Sibra, C. (2014). Composés d'intérêt nutritionnel du lait et des fromages de terroir. Ed CNAOL.
- ❖ Slamani, R., Bellal, M.M. (2015). Recherche De Succédanés De Présure Dans Un Coproduit D'abattage : Les Caillettes Ovines. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. Recherche agronomique, 17(27), 130-138.
- ❖ Sousa, M. J., & Malcata, F. X. (2002). Advances in the role of a plant coagulant (*Cynara cardunculus*) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. *Le Lait*, 82(2), 151-170.



- ❖ Whitehurst, R.J., Van Oort, M. (2010). Enzymes in Food Technology. Blackwell Publishing, 2nd Ed, 360p.