

## ÉTUDE DE LA SÉCRÉTION D'ENZYME COAGULANT DANS LA CAILLETTE DE L'AGNEAU

C. ALAIS

avec la collaboration technique de C. MULTON

*Station centrale de Recherches laitières et de Technologie des Produits animaux,  
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

---

### SOMMAIRE

L'étude de l'activité coagulante, dans le lait frais, d'extraits de caillettes de fœtus d'agneaux et de caillettes d'agneaux nourris au lait, a montré que l'enzyme coagulant existe en quantité notable dans le fœtus. La production d'enzyme par gramme d'organe est plus élevée, en moyenne, avant la naissance qu'après. On peut conclure qu'il s'agit principalement de présure et non de pepsine, d'après la variation d'activité suivant le pH.

---

Quelques travaux ont été consacrés au développement de la sécrétion des sucs digestifs dans la caillette de jeunes ruminants. BERRIDGE *et al.* (1943) pensent que la sécrétion de la présure, dans la caillette du jeune veau, a lieu durant la période d'alimentation au lait et que cette sécrétion est remplacée par celle de la pepsine lorsque des aliments solides sont incorporés dans la ration. Ces auteurs ont fait leurs expériences avec le jus provenant de la caillette de deux veaux fistulés ; les deux enzymes, présure et pepsine, étaient distingués par leur activité protéolytique sur l'hémoglobine, à différentes valeurs de pH. Récemment, HENSCHEL *et al.* (1961), utilisant les mêmes méthodes, avec trois veaux fistulés, sont arrivés à des conclusions différentes : le jeune veau, alimenté au lait, peut sécréter à la fois la pepsine et la présure. Dans une publication déjà ancienne, ZAYKOWSKY *et al.* (1929) ont conclu à la présence des deux enzymes dans l'extrait de la caillette du veau nourri au lait et également dans celui de la caillette du fœtus. En fait, ces deux auteurs ont mesuré l'activité protéolytique et l'activité coagulante et ont arbitrairement attribué l'une à la pepsine et l'autre à la présure ; de plus, le matériel provenait

d'un abattoir et était prélevé sur des animaux inconnus. GROSSKOPF (1959), en opérant avec cinq veaux portant des estomacs de PAVLOV, constate un parallélisme étroit entre les diagrammes représentant, en fonction de l'âge, l'évolution de l'activité coagulante dans le lait frais et l'activité protéolytique à pH 1,6 ; mais il n'en tire pas de conclusion en ce qui concerne la présence d'un seul ou de deux enzymes.

Au début d'une étude sur la quantité d'enzyme contenue dans les caillottes qu'utilisent les fabricants de présure, nous avons cherché à savoir quand commence la sécrétion et comment elle se développe, en opérant sur des estomacs provenant de fœtus d'agneaux, d'agneaux à la naissance et d'agneaux nourris au lait, âgés de 4 à 60 jours.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Caillottes*

Tous les estomacs ont été prélevés sur des fœtus ou des agneaux provenant du troupeau ovin du Centre national de Recherches zootechniques. Les animaux appartenaient à la race ovine *Préalpes*, ils étaient en bonne santé. Les agneaux étaient nourris exclusivement au lait ; il est à noter qu'ils avaient été sélectionnés d'après leur poids à la naissance ; ceux qui ont fourni les 12 caillottes examinées pesaient 3 500 ( $\pm 100$ ) g.

La caillotte a été ligaturée le plus rapidement possible après l'abattage et détachée avec une partie du feuillet et du duodénum. Dans quelques cas, le reste des estomacs a été prélevé et traité comme la caillotte.

La caillotte a été vidée au laboratoire, puis gonflée et mise à sécher devant un ventilateur (sans chauffage). Après séchage (durée 1 à 2 jours), le pylore et le morceau de feuillet sur lequel le ligament a été fait sont séparés. Les caillottes sèches sont conservées empilées à plat, dans un récipient étanche contenant du paradichlorobenzène, afin d'empêcher le développement des insectes.

Dans quelques cas le mucus a été conservé avec un peu de thymol.

La conservation, depuis le moment du prélèvement, jusqu'à l'extraction de l'enzyme, s'est faite à 4°C, pendant une durée variant de 1 à 10 semaines. Nous avons vérifié que la conservation, dans ces conditions, n'a pas d'influence sur la quantité d'enzyme. Par contre, nous avons constaté que l'extraction de l'enzyme est moins complète à partir du tissu frais, même après broyage, qu'à partir de la caillotte complètement séchée.

### *Extraction de l'enzyme*

La caillotte sèche est découpée en petits fragments ; on ajoute, à raison de 20 ml par gramme de fragments, une solution de NaCl à 8 p. 100 contenant un peu de thymol. Après agitation, le pH du mélange est en général voisin de 5,5 (avec les autres parties de l'estomac le pH est de 6,0) ; il est abaissé à 4,7 par addition d'HCl N. L'extraction est poursuivie à la température du laboratoire, pendant 8 heures, avec maintien du pH à 4,7, ce qui permet l'activation du proenzyme. Ensuite le jus est filtré sur papier. Après 24 heures, le pH est remonté à 5,8 avec NaOH N et l'activité coagulante est mesurée.

Le mucus est conservé 24 heures à pH 4,7 ; ensuite le pH est remonté à 5,8 et le liquide est filtré.

### *Mesure de l'activité coagulante*

Elle a été appréciée avec le lait de vache, frais et écrémé (pH 6,7  $\pm$  0,05). Une prise d'essai de 0,5 ml de solution d'activité inconnue est ajoutée à 10 ml de lait à 35°C ; on note le temps qui s'écoule jusqu'au moment où des flocons visibles se forment sur les parois du tube à essai. La mesure de l'activité coagulante d'un échantillon est faite comparativement avec celle d'un standard, dont l'activité, exprimée en unités-présure (UP) d'après BERRIDGE (1945), est connue. L'activité coagulante, en UP, est calculée soit pour la caillotte entière, ou pour le mucus total, soit pour un gramme de caillotte sèche.

Afin d'apprécier la présence éventuelle de pepsine en quantité notable, des essais de coagulation ont été faits sur le lait à différentes valeurs de pH, entre 6 et 7. Les activités coagulantes des deux enzymes sont additives en-dessous de pH 6,7 (LINKATER, 1961) ; au-dessus de cette valeur, la pepsine ne coagule plus le lait (ERNSTROM, 1961).

TABLEAU I  
*Activité coagulante des caillettes de fœtus et d'agneaux*

Age <sup>(1)</sup> (nombre de jours avant et après la naissance)	Poids en g		Unités-Présure	
	Animal	Caillette sèche	Par caillette	Par gramme de caillette sèche
— 24 .....	2 920	0,95	100	105
— 24 .....	2 470	0,90	75	81
— 10 .....	5 030	2,45	825	338
— 10 .....	3 830	2,30	755	328
— 9 .....	4 000	2,35	1 500	630
— 8 .....	5 000	2,63	2 300	870
— 7 .....	2 800	2,20	980	450
— 6 .....		3,60	1 390	390
— 3 .....	2 290	3,20	4 560	1 430
— 2 .....		3,45	1 655	480
— 2 .....	2 450	2,15	1 100	510
— 2 .....	2 300	2,00	1 040	520
— 1 .....	4 270	4,30	8 050	1 870
— 1 .....	3 725	3,50	2 055	590
— 1 .....	3 050	3,50	1 820	520
		<i>Moyenne :</i>	1 880	607
0 .....	3 660	3,7	1 290	350
0 .....	3 520	3,7	1 410	380
+ 4 .....	4 360	7,3	2 910	400
+ 12 .....	6 580	7,5	3 100	414
+ 14 .....	5 360	5,85	2 870	490
+ 18 .....	7 880	10,2	2 400	235
+ 21 <sup>(2)</sup> .....	10 620	9,2	740	81
+ 24 .....	7 060	7,6	2 860	385
+ 28 .....		27,1	3 550	131
+ 28 .....		20,5	1 520	74
+ 38 .....		16,2	385	24
+ 40 .....		13,8	1 080	78
+ 50 .....		14,4	1 190	75
+ 60 .....	17 120	17,8	900	50
		<i>Moyenne :</i>	1 960	200

<sup>(1)</sup> Age avant la naissance calculé pour une durée de gestation de 146 jours.

<sup>(2)</sup> Caillette mal coupée.

RÉSULTATS

Le tableau I rassemble les résultats concernant l'activité coagulante, dans le lait de vache frais et écrémé, des extraits de 15 caillettes de fœtus d'agneaux et de 14 caillettes d'agneaux. On voit que, bien avant la naissance la caillette contient un

enzyme coagulant. Chez les fœtus, l'activité par gramme d'organe sec est, en moyenne, plus élevée que chez les agneaux. (1)

Il ne semble pas exister de corrélation entre l'âge du fœtus ou de l'agneau et l'activité coagulante de la caillette. Par contre, si l'on exprime l'activité coagulante par gramme de caillette en fonction du poids de celle-ci, on observe une différence nette entre les deux périodes : avant et après la naissance, comme le montre la fig. 1. Avant la naissance, les points sont très dispersés ; après la naissance, pour les agneaux qui ont été nourris au lait, on peut tracer une courbe. Il semble, d'une part, que l'alimentation au lait exerce une influence régulatrice et que, d'autre part, la production d'enzyme par gramme d'organe diminue avec l'accroissement du poids de celui-ci. La quantité totale d'enzyme dans la caillette d'agneau varie d'une

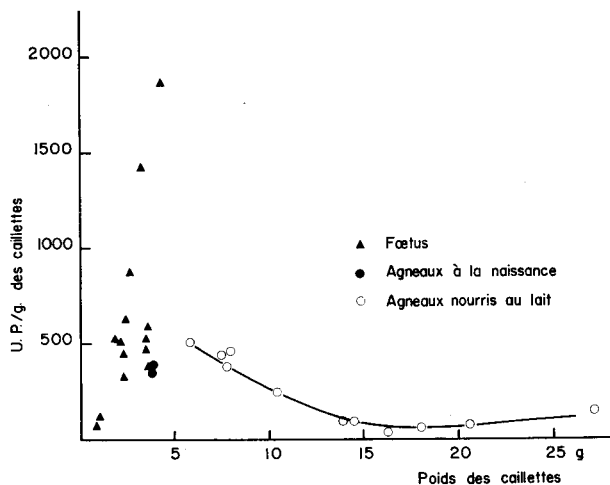


FIG. 1. — *Activité coagulante en fonction du poids des caillettes*

manière moins régulière ; cependant elle tend aussi à diminuer alors que le poids augmente.

Le tableau 1 présente également le poids des animaux. Il n'y a pas une corrélation étroite entre le poids de la caillette et le poids de l'animal ; sur un graphique, les points apparaissent assez dispersés.

Le tableau 2 montre que, chez le fœtus, presque toute l'activité coagulante est concentrée dans la caillette elle-même ; le mucus qu'elle contient a peu d'activité ; les autres parties des estomacs sont inactives. Chez l'agneau nourri au lait, le contenu de la caillette a une activité coagulante faible ; il en est de même chez le veau (BERRIDGE *et al.*, 1943).

Le tableau 3 montre les résultats de la mesure du temps de coagulation à différentes valeurs de pH, pour différentes solutions d'enzyme, la valeur obtenue dans le lait frais à pH 6,7 étant prise égale à 100. On voit que les deux extraits de caillette de fœtus et l'extrait de caillette d'agneau examinés se comportent comme la présure pure. Si la pepsine est présente, elle ne peut l'être qu'en faible quantité.

(1) Une seule expérience avec la caillette d'un fœtus de veau a montré qu'elle renfermait une quantité notable de présure.

TABLEAU 2

*Activité coagulante de différentes parties des estomacs*

Nombre de jours avant la naissance	Unités-Présure			
	Caillette	Mucus (1)	Partie des estomacs sans la caillette	
			Organe sec	Mucus
10 (jumeaux { mâle... { femelle )	595	32 (5)	0	0
	500	80 (15)	0	0
9.....	1 500	100 (6)	0	0
8.....	2 300	150 (6)	0	0

(1) ( ) p. 100 de l'activité totale de la caillette et de son contenu.

TABLEAU 3

*Temps de coagulation à différentes valeurs de pH (par rapport au temps de coagulation à pH 6,7)*

	pH du lait					
	6,00	6,26	6,48	6,7 (1)	6,81	7,00
Présure cristallisée (Hansen)....	31	43	86	100	260	450
Présure en poudre du commerce .	32	52	84	100	280	510
Pepsine cristallisée (Worthington)	12	15		100	infini	infini
<i>Extrait de caillette :</i>						
Fœtus (10 j avant la naissance).	32	50	85	100	280	500
Fœtus (3 jours avant la naissance)	33	40	72	100	275	485
Agneau (4 jours) .....	30	44	78	100	270	470

(1) Lait naturel (lait de vache frais et écrémé).

DISCUSSION

Nous avons montré que la production d'enzyme coagulant, par gramme d'organe, est plus élevée dans la caillette du fœtus que dans celle de l'agneau et que cette production est beaucoup plus variable chez le fœtus que chez l'agneau ; nous avons montré également que l'enzyme se comporte comme la présure. Nos résultats s'oppo-

sent à ceux de ZAYKOWSKY et *al.* (1929), concernant le veau. Ces auteurs ont trouvé que l'activité coagulante par gramme d'organe varie peu chez le fœtus et qu'elle est inférieure à celle observée chez le veau ; ils estiment, d'autre part, que la pepsine est présente, à côté de la présure, dans tous les extraits. Cependant, il faut remarquer que la distinction entre les deux enzymes n'était pas bien établie à l'époque de ces recherches et que les conditions expérimentales ne permettaient pas des mesures précises et n'autorisaient pas une telle conclusion. En particulier, il est difficile d'interpréter les résultats des essais de coagulation faits dans du lait frais dilué par l'acide chlorhydrique à 0,1 p. 100 (2 vol./1 vol.). Rappelons que, dans le cas du veau, HENSCHEL et *al.* (1961) ont trouvé que la pepsine est sécrétée, en même temps que la présure, après la naissance.

Il est généralement admis, depuis les travaux de BERRIDGE et *al.* (1943), que l'arrêt de la sécrétion de la présure est la conséquence du sevrage. En ce qui concerne le déclenchement de cette sécrétion, nous pouvons affirmer qu'il ne dépend pas de l'alimentation. De plus, la sécrétion de la présure, ne paraît pas être stimulée par l'alimentation lactée.

*Reçu pour publication en février 1963.*

## REMERCIEMENTS

Nous remercions M. MOCQUOT, Directeur de la Station centrale de Recherches laitières et de Technologie des Produits animaux, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail, M. BOCCARD, du Laboratoire de Recherches sur la Viande, pour la fourniture des caillettes, M. MATHIEU, de la Station de Recherches sur l'Élevage des Ruminants, pour ses conseils, et les Laboratoires Chr. HANSEN pour la fourniture des échantillons de présure.

Ce travail a bénéficié d'une Subvention du Ministère de l'Agriculture des États-Unis (Grant FG-FR 112; U.S. Public Law 480)

## SUMMARY

### SECRETION OF COAGULATING ENZYME BY THE ABOMASA IN THE LAMB

The study of the clotting activity on fresh milk of extracts from lamb fœtus abomasa and milk fed lamb abomasa showed that fœtuses contain a great quantity of clotting enzyme. The enzyme yield for 1 g of the organ is higher, on an average, before birth than after. Considering the variation of activity with pH, it is possible to conclude that rennin and not pepsin is concerned.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERRIDGE N. J., 1945. The purification and crystallization of Rennin. *Biochem. J.*, **39**, 179-186.  
 BERRIDGE N. J., DAVIS J. G., KON P. M., KON S. K., SPRATLING F. R., 1943. The production of rennet from living calves. *J. Dairy Res.*, **13**, 145.  
 ERNSTROM C. A., 1961. Milk clotting activity of pepsin and renin. *Milk Prod. J.*, **52**, 8-9.  
 GROSSKOPF J. F. W., 1959. Some factors affecting the secretion of abomasal juice. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, **28**, 133-136.  
 HENSCHEL M. J., HILL N. B., PORTER J. W. G., 1961. The development of proteolytic enzymes in the abomasum of the young calf. *Proc. Nutr. Soc.*, **20**, X.  
 LINKLATER P. M., 1961. The significance of Rennin and Pepsin in Rennet. *Thèse, Univ. Wisconsin.*  
 ZAYKOWSKY J., FEDOROVA O., IWANKIN W., 1929. « Die Einfluss des Chymosins auf die Eiweistoffe der Milch ». *Ferment Forsch.*, **10**, 83-87.