

SUR L'EXTRACTION ET LA PREPARATION DES PROTEINES DU TOURNESOL

J. BAUDET, J. C. HUET, M. ODENT et J. MOSSE (France)

Bien qu'elles soient globalement peu riches en lysine, les protéines du tournesol sont assez bien équilibrées en acides aminés indispensables et leur valeur nutritionnelle est suffisante pour qu'on soit tenté de les extraire afin de réaliser des aliments protéiques ou enrichis en protéines destinés à l'alimentation humaine. En outre, à l'opposé de beaucoup d'autres graines, il n'a jamais été signalé dans le tournesol de produits toxiques qui pourraient être entraînés avec les protéines et en limiter la valeur.

Les réactifs doux (solutions salines tamponnées à pH compris entre 8 et 9) extraient une part importante de ces protéines, composées d'albumines et surtout de globulines ; mais pour mettre en solution les protéines difficilement solubles ou accessibles ("protéines résiduelles" - GIRAULT et al., 1970), l'emploi de réducteurs et de détergents est nécessaire, ce qui est difficilement compatible avec un usage alimentaire.

La solubilisation d'environ 90 % de l'azote de la graine ou du tourteau est aisément réalisable en milieu légèrement alcalin (soude 0,1 N) et la précipitation ultérieure en milieu acide (pH = 4,5) des protéines ainsi solubilisées se fait avec un bon rendement, l'azote non protéique (compris entre 5 et 10 % de l'azote total de la graine ou du tourteau) étant pratiquement le seul perdu.

Malheureusement, la présence dans le tournesol de quantités importantes d'acide chlorogénique - de l'ordre de 2 % du poids sec (SOSULZKI, 1972) - complique la préparation des protéines : d'abord parce que les préparations prennent des colorations foncées difficiles à éviter et ensuite parce que les combinaisons entre l'acide chlorogénique (ou les quinones produites par son oxydation) et les protéines abaissent la solubilité de ces dernières, au préjudice de leur utilisation ultérieure.

Or, en milieu alcalin, si l'on prend la précaution d'ajouter un réducteur (GEYASUDIN, 1970), il n'y a pas d'interactions entre l'acide chlorogénique et les protéines. Après la précipitation de celles-ci en milieu acide, il est possible d'éliminer une grande partie de l'acide chlorogénique par des lavages (eau, alcool), sans pour autant obtenir une préparation complètement incolore. Cet inconvénient est cependant secondaire devant la diminution de teneur en lysine des produits préparés dans ces conditions, par rapport au tourteau.

On peut, en effet, voir dans le tableau 1 que, partant d'un tourteau où la lysine représente 38 % du total des acides aminés (soit 4,1 g de lysine pour 16 g d'azote), les protéines

préparées par extraction alcaline à 50° ne contiennent plus que 26‰ de lysine (à peine 3 g pour 16 g d'azote). Pour tous les autres acides aminés (à l'exception de la cystine), les teneurs sont très voisines de celles du tourteau. La ressemblance est encore plus grande - y compris pour la lysine, cette fois - lorsqu'on compare les compositions des protéines ainsi préparées en milieu alcalin à celles des globulines extraites de graines de tournesol (GIRAULT et al., 1970) et qui figurent à titre de comparaison dans la dernière colonne du tableau. Pour ces globulines, qui représentent plus de la moitié de l'azote total de la graine, la teneur en lysine n'est que de 27‰. Il pourrait donc sembler a priori que la préparation de protéines par extraction alcaline, aboutisse à un produit où la proportion de globulines serait particulièrement élevée. Comme au cours de l'extraction on ne solubilise pas entièrement les protéines de la graine et que les constituants azotés non protéiques (ANP) ne se retrouvent pas dans les protéines préparées, il est évident que la proportion de globulines est plus élevée dans le produit préparé que dans le tourteau de départ. Cependant, cette augmentation de la proportion de globulines ne suffit pas à expliquer la faible teneur en lysine des protéines préparées.

Tableau 1 - Composition en acides aminés
(exprimés en nombre de résidus pour 1 000 résidus totaux)

	Tourteau	Protéines préparées par extraction			Globuline de graine de tournesol
		par NaOH 0,1 N	par NaCl		
			non traitées	traitées à 60° par NaOH 0,1 N	
Gly	106	89	79	81	108
Ala	66	65	61	65	61
Val	61	66	55	59	56
Leu	68	70	65	70	64
Ile	45	47	46	47	43
Ser	56	57	51	51	59
Thr	43	43	36	36	41
Tyr	20	22	22	22	21
Phe	38	43	45	49	46
Pro	49	55	51	49	53
Met	18	20	20	18	11
Cys	17	12	23	8	10
Lys	38	26	22	15	27
X	0	3	0	9	0
His	22	22	21	22	21
Arg	68	66	76	70	68
Asx	95	100	105	111	107
Glx	190	194	222	218	208

En effet, la lysine est pratiquement le seul acide aminé pour lequel l'établissement d'un bilan au cours de l'extraction démontre de façon significative l'intervention de pertes ; d'autre part, on constate dans les analyses d'acides aminés des produits ayant été soumis au traitement alcalin, l'apparition d'un composé basique supplémentaire.

PERTES DE LYSINE AU COURS DE LA PREPARATION

Dans le tableau 2 ont été récapitulés les résultats concernant l'azote et la lysine pour une préparation de protéines effectuée par solubilisation en milieu soude 0,1 N à 50°. Les constituants azotés mis en solution représentent 75 % de l'azote total du tourteau de départ et les protéines précipitées à pH 4,5 représentent 63,5 %, les 11,5 % perdus se répartissant entre l'ANP (9 %) et une petite fraction de protéines précipitables uniquement par l'acide trichloracétique (2,5 %).

Tableau 2 - Bilan d'une préparation de protéines de tourteau par extraction alcaline

	<u>Azote de la fraction</u> Azote du tourteau %	Lysine g./16 g N	<u>Lysine de la fraction</u> Lysine du tourteau %
Tourteau	100	4,1	100
Protéines extraites	63,5*	3,0	46,5)
Résidu non extrait	25	3,0	18,3)
Protéines précipitées du surnageant par TCA	2,5	5,35	3,1)
Azote non protéique	9	2,45	5,4 (
			73,3

* Après purification, les protéines préparées représentent 53 % de l'azote du tourteau .

Alors que le tourteau contenait 4,1 g de lysine pour 16 g d'azote, seule la fraction de protéines précipitables à l'acide trichloracétique a une teneur plus élevée (5,35 g pour 16 g N) les trois autres ayant des teneurs égales ou inférieures à 3 g pour 16 g N.

Au total, la somme des quantités de lysine contenues dans les 4 fractions provenant du tourteau ne représente que 73,3 % de la lysine de ce tourteau : environ 26,7 % de la lysine initiale est donc perdue au cours de la préparation.

APPARITION DE COMPOSES NOUVEAUX

En même temps que l'on est amené à constater des pertes en lysine, les chromatogrammes d'acides aminés des produits ayant été soumis à l'action de la soude, se caractérisent par la présence d'un pic supplémentaire, correspondant à un constituant (X, tableau 1) non encore identifié. Ce constituant n'est présent ni dans les hydrolysats de graines ou de tourteau de tourteau, ni dans les extraits protéiques réalisés en utilisant des solutions salines.

Nous avons vérifié que le traitement à chaud par la soude entraînait bien et cette perte de lysine et l'apparition d'un composé nouveau sur les chromatogrammes : des protéines ont été préparées par extraction douce (chlorure de sodium maintenu à pH 8,5) puis précipitées à pH 4,5, lavées et séchées.

Leur composition est donnée dans le tableau 1 (3ème colonne). Une partie de ces protéines a été mise en solution dans la soude 0,1 N, et soumise ainsi à un séjour de 18 heures à 60° avant d'être à nouveau précipitée, lavée et séchée. La composition de ces protéines traitées à la soude à chaud est donnée dans la 4ème colonne du tableau 1.

Les principales différences qu'elles montrent avec les protéines non traitées portent sur la cystine et la lysine et, à un moindre degré, l'arginine. En outre, en même temps que diminue la teneur en lysine, on voit apparaître un composé supplémentaire qui (si on l'évalue avec les mêmes coefficients que la lysine) représenterait 9 % des acides aminés totaux. Pour les protéines traitées, la somme Lysine + composé X (24 %) est sensiblement égale à la teneur en lysine des protéines non traitées (22 %).

D'après des études sur l'effet de traitements alcalins vis-à-vis de diverses protéines (BOHAK, 1964), il apparaît que la lysine peut être partiellement transformée en lysinoalanine, dérivé auquel correspond probablement le pic X dont l'identification est en cours ; cette caractérisation est d'autant plus importante que la lysinoalanine semble avoir une valeur nutritive très faible (DE GROOT et SLUMP, 1969).

BIBLIOGRAPHIE

BOHAK Z., 1964 - J. Biol. Chem., 239, 2878.

GEYASUDIN S., CATER C. H., MATTIL K.F., 1970 - J. Food Sci., 35, 453.

GIRAULT A., BAUDET J., MOSSE J., 1970 - in "improving plant protein by nuclear techniques", I.A.E.A. Vienne, 275.

DE GROOT A. P., SLUMP P., 1969 - J. of Nutrition, 98, 45.

SOSULZKI F.W., McCLEARY C.W., SOLIMAN F.S., 1972 - J. Food Sci., 37, 253.

Ce travail a été effectué dans le cadre de l'action concertée n° 71 7 2749 sous l'égide de la D.G.R.S.T.