

DOSSIER SCIENTIFIQUE DE L'IFN

N° 9 bis

LES PROTEINES

**Tome 2 : Caractéristiques des différentes sources
de protéines alimentaires**

Mai 1997

AVANT PROPOS

LOUISOT P.

L'Institut Français pour la Nutrition a pris depuis cinq ans l'initiative de Dossiers Scientifiques sur les grands sujets touchant la Nutrition et les principaux domaines de l'Agro-alimentaire. Ce dossier « Protéines » se présente en deux tomes :

Tome 1 : Le métabolisme et les besoins protéiques chez l'homme,

Tome 2 : Caractéristiques des différentes sources de protéines alimentaires.

L'ambition est de faire le point, en fonction des connaissances du moment, sur ce thème intéressant un large public allant des spécialistes de l'alimentation aux professions-relais, tout particulièrement les médecins, les pharmaciens, les scientifiques, les diététiciens, les enseignants, etc... Selon ses compétences et ses intérêts propres, chacun trouvera sous la forme de présentations didactiques, agrémentées de résumés synthétiques, l'essentiel du sujet, envisagé sous l'angle fondamental dans le Tome 1, plus appliqué dans le Tome 2.

Une telle réalisation est difficile, dans la mesure où il n'est pas question de prétendre à l'ambition exhaustive d'un « Traité » ni, à l'inverse, de brosser le tableau superficiel d'un grand thème. C'est la raison pour laquelle l'Institut Français pour la Nutrition a mobilisé des spécialistes internationalement reconnus. Je tiens à remercier très sincèrement chacun d'eux, et tout spécialement Daniel TOME qui a bien voulu accepter la coordination de cet ouvrage. Je leur exprime notre reconnaissance pour leurs efforts en faveur de la diffusion de connaissances sûres et saines dans le domaine souvent controversé de la Nutrition.

Professeur Pierre LOUISOT
Président de l'Institut
Français pour la Nutrition

LISTE DES AUTEURS

Monsieur Philippe CAYOT	ENSBANA Université de Bourgogne 1 Esplanade Erasme 21000 DIJON
Monsieur Paul-André FINOT	NESTLE Département Recherche et Développement Vers-chez-les-Blanc B.P. 44 1000 LAUSANNE Suisse
Madame Dominique FOUQUES	INRA - INA-PG Chimie Biologique 78850 THIVERVAL-GRIGNON
Monsieur Jacques GUEGUEN.....	INRA Biochimie et Technologie des Protéines Rue de la Géraudière B.P. 71 627 44316 NANTES CEDEX 03
Professeur Denis LORIENT	ENSBANA Université de Bourgogne 1 Esplanade Erasme 21000 DIJON
Professeur Jean-Claude MEUNIER.....	INRA - INA-PG Chimie Biologique 78850 THIVERVAL-GRIGNON
Madame Laurence QUILLIEN	INRA Biochimie et Technologie des Protéines Rue de la Géraudière B.P. 71 627 44316 NANTES CEDEX 03
Monsieur Alain RERAT	INRA Domaine de Vilvert 78350 JOUY-EN-JOSAS
Professeur Daniel TOME.....	INA-PG Biologie et Nutrition humaine 16 Rue Claude Bernard 75231 PARIS CEDEX 05
Monsieur Aldo UZZAN.....	GEPV 118 Avenue Achille Peretti 92200 NEUILLY-SUR-SEINE

Tome 1

INTRODUCTION (TOME D.)

PARTIE I : PRINCIPES GENERAUX DU METABOLISME PROTEIQUE ET DES BESOINS EN PROTEINES ET EN ACIDES AMINES CHEZ L'HOMME

Chapitre I : La digestion et l'absorption des protéines dans l'intestin

(HUNEAU J.F., MAHE S., TOME D.)

1. Les flux d'azote dans l'intestin
2. La digestion intra-luminale des protéines
3. L'absorption des peptides et des acides aminés dans la muqueuse intestinale

Chapitre II : Métabolisme et homéostasie des protéines et des acides aminés

(TOME D., GAUSSERES N., MAHE S., HUNEAU J.F.)

1. Les voies du métabolisme des acides aminés et des protéines
2. Les facteurs d'adaptation du métabolisme et des besoins en azote et en acides aminés indispensables chez l'homme
3. Influence de l'apport protéique et des constituants du repas sur le renouvellement protéique

Chapitre III : Réponses et effets physiologiques et physio-pathologiques associés aux protéines alimentaires

(GAUDICHON C., FROMENTIN G., BENAMOUZIG R., TOME D.)

1. La régulation de l'ingestion des protéines
2. Système immunitaire, système cardiovasculaire, cancer
3. Actions de facteurs associés aux protéines

Chapitre IV : Les besoins en azote et en acides aminés et la qualité nutritionnelle des protéines alimentaires (MAHE S., PELLETIER X., TOME D.)

1. La détermination des besoins en acides aminés chez l'homme
2. Evaluation de la qualité des protéines par des méthodes *in vivo*
3. Indice des acides aminés de prévision de la qualité des protéines
4. Méthodes *in vitro* d'évaluation de la qualité des protéines

PARTIE II : LES BESOINS EN PROTEINES SELON LES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES ET PHYSIO-PATHOLOGIQUES

Chapitre I : Métabolisme des protéines et besoins au cours du développement (KREMPF M., DARMAUN D.)

1. Particularités du métabolisme protéique au cours de la croissance
2. Hormones anaboliques et métabolisme protéique au cours de la croissance
3. Besoins en protéines au cours du développement
4. Composition en acides aminés de la ration protéique recommandée

Chapitre II : Conséquences du vieillissement sur le métabolisme protéique et les besoins en protéines (PATUREAU MIRAND P., MOSONI L.,

ARNAL M.A., DARDEVET D., GRIZARD J., MEYNIAL-DENIS D., BOIRIE Y., BEAUFRERE B.)

1. Modifications post-traductionnelles des protéines
2. Conséquences du vieillissement sur la synthèse protéique
3. Vieillesse et catabolisme des protéines
4. Conséquences du vieillissement sur les flux corporels d'acides aminés
5. Régulation du métabolisme protéique au cours du vieillissement
6. Besoins en protéines et acides aminés chez la personne âgée

Chapitre III : Métabolisme et besoins protéiques en situations physio-pathologiques

1. Métabolisme protéique en situation d'agression : bases physiopathologiques et solutions thérapeutiques (CYNOBER L.)
2. Métabolisme protéique et besoins en situation pathologique : conditions et techniques de nutrition (BEAUFRERE B.)

Chapitre IV : Les régimes hyperprotéiques (PERES G.)

1. Le bilan azoté à l'exercice de longue durée
2. Protéines et développement de la masse musculaire
3. Apports protéiques, exercices et perte de poids chez l'obèse

CONCLUSION (RERAT A.)

BIBLIOGRAPHIE

SOMMAIRE

Tome 2

INTRODUCTION (TOME D.)	page 1
 <u>PARTIE III</u> : CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTES SOURCES DE PROTEINES ALIMENTAIRES	
Chapitre I : Les différentes sources de protéines alimentaires	page 5
1. Les protéines végétales (QUILLIEN L., GUEGUEN J.)	
2. Les protéines animales (MEUNIER J.C., FOUQUES D.)	
Chapitre II : Utilisation des protéines et technologies	page 19
1. Propriétés fonctionnelles des protéines du lait (LORIENT D., CAYOT P.)	
2. Utilisation des protéines végétales dans les aliments (UZZAN A.)	
Chapitre III : Modifications des protéines alimentaires	page 45
(MEUNIER J.C., FOUQUES D.)	
1. Modifications au cours des traitements technologiques et de l'entreposage	
2. Modifications dirigées	
Chapitre IV : Perspectives de développement pour les protéines	page 63
alimentaires (FINOT P.A.)	
1. Les sources alternatives de protéines	
2. Les protéines et leurs propriétés fonctionnelles	
3. Les protéines à propriétés nutritionnelles spécifiques	
4. Les protéines à actions physiologiques	
CONCLUSION (RERAT A.)	page 81
BIBLIOGRAPHIE	page 85

INTRODUCTION

TOME D.

On considère que l'homme adulte selon les régions et les conditions physiologiques consomme de 40 à 110 g de protéines par jour. Au niveau mondial les protéines provenant des produits d'origine végétale couvrent une part majoritaire des besoins en azote et en acides aminés de l'homme. Cependant des différences importantes existent entre pays développés et en voie de développement et on constate que l'augmentation du niveau de vie s'accompagne d'une augmentation de la consommation de protéines du fait principalement d'une augmentation de la consommation de protéines animales (figure 1). Ces considérations posent la question de l'apport total et de l'équilibre entre sources alimentaires d'origine animale et végétale en alimentation humaine. Les critères déterminant la qualité nutritionnelle des protéines alimentaires de l'homme sont cependant complexes et leur approche rationnelle nécessite d'intégrer les données du métabolisme de l'azote, des acides aminés et des protéines. Ces données permettent la définition des besoins théoriques en azote et en acides aminés et conduisent à la définition des recommandations d'apport. Des incertitudes concernent en particulier l'aptitude des diverses sources protéiques à satisfaire les besoins en acides aminés indispensables. L'analyse plus fine de la qualité des protéines prend en compte la spécificité métabolique et physiologique des différents types de protéines alimentaires en intégrant notamment les notions de "régulateur métabolique" des protéines alimentaires et de certains acides aminés. Les travaux initiés depuis les années 70 ont mis en évidence la grande adaptabilité de l'organisme humain à une large plage de variation des apports protéiques. Ces travaux ont conduit à fortement reconsidérer la notion de qualité nutritionnelle des protéines chez l'homme et à relativiser les classements de qualité des protéines alimentaires.

Figure 1 : Consommation de protéines animales et végétales dans le monde.
(Source : FAO, 1991)

Partie III

CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTES SOURCES DE PROTEINES ALIMENTAIRES

I - LES DIFFERENTES SOURCES DE PROTEINES ALIMENTAIRES

Azote, oxygène, hydrogène et carbone sont les quatre principaux éléments de la matière vivante. L'air contient environ 79 %, 20 % et 0,03 % respectivement d'azote, d'oxygène et de dioxyde de carbone (CO₂). Les animaux sont incapables d'utiliser directement l'azote et le dioxyde de carbone de l'atmosphère pour synthétiser les acides nucléiques et les protéines. Les acides nucléiques représentent le génotype des espèces alors que les protéines sont l'expression de l'information portée par les acides nucléiques (phénotype). Elles assurent de nombreuses fonctions biologiques (catalyse, communication, défense...) et participent à la mise en forme des organismes : os et muscles. Les protéines sont constituées par l'enchaînement de vingt acides aminés, molécules possédant au moins un atome d'azote. L'homme étant incapable de fixer l'azote atmosphérique pour s'approvisionner en cet élément, ce sont des micro-organismes (bactéries comme *Rhizobium* en symbiose avec des légumineuses) qui vont exécuter cette fonction. Et ce sont les végétaux qui fixent le carbone pour le compte des animaux. Ainsi végétaux et micro-organismes sont les fournisseurs de carbone et d'azote assimilables par les animaux. Ceux-ci se contentent d'être des consommateurs. Alors que glucides, lipides et protéines de l'alimentation apportent à l'homme le carbone dont il a besoin, seules les protéines alimentaires fournissent l'azote. Cet élément est nécessaire à la synthèse des composés azotés : protéines, bases des acides nucléiques, cofacteurs d'enzymes, noyau tétrapyrrolique de la protoporphyrine IX (hémoglobine, cytochromes) etc... Pour l'homme, les végétaux et les animaux sont les deux sources principales de protéines.

1 - LES PROTEINES VEGETALES

QUILLIEN L., GUEGUEN J.

1.1 - Données générales sur les protéines végétales

Les besoins de l'homme en protéines, les capacités de production mondiale et le déficit qui affecte principalement les pays en voie de développement sont connus ; aussi les prévisions portant sur la production de protéines en tenant compte de l'augmentation de la population mondiale montrent le rôle primordial des protéines végétales pour satisfaire la demande en protéines. Les rendements

d'obtention des protéines végétales sont, en effet, bien supérieurs à ceux des protéines animales (tableau 1).

Origine des protéines	Viandes	Lait	Blé	Soja, colza, fève, pois	Luzerne	Micro-organismes
Quantité	400	400	900	700-1200	1800-3000	40 000 (théorique)

Tableau 1 : Production de protéines en kilo par année et par hectare.

Les protéines alimentaires doivent être saines, économiques, nutritives, avoir des qualités organoleptiques acceptables et posséder des propriétés fonctionnelles. La classification selon la valeur protéique permet de distinguer six groupes d'aliments (tableau 2). Les protéines végétales sont supérieures aux protéines animales d'un point de vue coût et rendement mais présentent souvent des déficiences en certains acides aminés essentiels que l'on peut cependant pallier en exploitant la complémentarité de composition des protéines de diverses sources (céréales/légumineuses). Comparés aux fruits et légumes, viandes et lait, les grains et graines sont de fait des produits très peu comestibles en l'état pour l'homme. Leur passage à l'état de produits alimentaires suppose de multiples transformations, broyages et décorticages, mélanges et mise en forme, fermentations et cuisson etc...

Groupes d'aliments	I	II	III	IV	V	VI
Produits	Viande Poissons Oeufs	Lait Produits laitiers	Concentrés et isolés obtenus à partir du groupe IV	Graines de légumineuses	Graines de céréales	Légumes frais Tubercules Fruits
% Protéines	13 à 22	3,5 à 26	65 à 98	16 à 30	6 à 13	0,5 à 5

Tableau 2 : Groupes d'aliments protéiques.

Cependant les protéines de plantes ont une place prépondérante, ainsi les protéines de plantes interviennent pour environ 30 % des protéines de l'alimentation en Europe et aux Etats Unis et pour 80 à 90 % en Asie et en Afrique. Au Japon elles représentent 47 % des protéines avec 57 et 19 % provenant respectivement de céréales et de légumineuses. Les graines de céréales (blé, riz, maïs, orge, millet, sorgho, avoine, seigle), dont la production mondiale dépasse deux milliards de tonnes par an, occupent une place importante dans l'alimentation humaine apportant selon les pays de 18 à 65 % des protéines consommées (35 % en France) contre 23 % pour les tubercules et légumineuses et 20 % pour les produits animaux. Parmi les céréales le blé occupe une place prépondérante, du fait des propriétés uniques des protéines de réserve du grain qui forment après hydratation, une masse cohérente insoluble et viscoélastique : le gluten. Les plantes sont donc une source importante de protéines alimentaires et l'amélioration de leur valeur nutritionnelle et de leurs propriétés fonctionnelles est une des issues au problème de manque de protéines et aux maladies nutritionnelles.

La richesse en protéines équilibrées de certaines farines végétales, la sélection de plantes protéagineuses, les progrès technologiques importants, la demande croissante de produits carnés limitée par les faibles rendements de la machine animale ont ces dernières années stimulé à des degrés divers des recherches qui ont abouti à l'obtention de produits à base de protéines végétales de haute qualité, directement incorporables dans l'alimentation humaine. Pour qu'une technologie des protéines se justifie il faut que le matériel traité présente au moins trois caractéristiques principales : qu'il soit produit en quantité importante, qu'il possède une haute teneur en protéines, que l'équilibre de ses protéines en acides aminés soit convenable et leur valeur biologique élevée. Ces caractéristiques limitent les protéines d'extraction aux protéines issues de graines de céréales (blé uniquement), de légumineuses (soja, arachide, féverole, pois), et aux protéines issues de plantes vertes (luzerne, sorgho).

1.2 - Les protéines des plantes vertes

Les plantes vertes produisent des quantités importantes de protéines généralement bien équilibrées. En effet, les quantités produites par année et à l'hectare (tableau 1), encore très éloignées des potentialités théoriques des micro-organismes, représentent néanmoins une valorisation intéressante des sols. Les plantes vertes ne sauraient à elles seules combler les besoins en protéines de l'homme. En effet, leur haute teneur en cellulose et la présence de nombreuses substances antinutritionnelles limitent leur digestibilité et leur valeur biologique. Des protéines incorporables dans les aliments composés ont été obtenues. Elles sont extraites par des moyens mécaniques (pression) par des solvants ou par voie fermentaire. Ces extraits sont ensuite décolorés par l'éthanol et purifiés en présence d'enzymes afin d'éliminer les polysaccharides et les facteurs nocifs. Les fractions ainsi obtenues contiennent entre 65 et 90 % de protéines qui possèdent une bonne valeur nutritionnelle.

1.3 - Les protéines extraites de graines de céréales, oléagineuses et protéagineuses

a) Caractéristiques physico-chimiques :

Les protéines des graines peuvent être classées sur des différences de solubilité en quatre groupes (Osborne, 1907) : les albumines, solubles dans l'eau, les globulines, solubles dans les solutions salines neutres, les prolamines, solubles dans l'alcool à 70 %, les glutélines, qui constituent le résidu insoluble. Ces fractions restent composées d'un mélange de plusieurs types de protéines. Les graines des monocotylédones, contenant entre 5 et 15 % de protéines sont riches en prolamines et glutélines, localisées dans l'albumen. Les graines des dicotylédones possèdent entre 15 et 35 % de protéines constituées surtout de globulines situées dans l'embryon.

Protéines de réserve des céréales : Les protéines de réserve du blé riches en proline et glutamine sont aussi appelées prolamines. La classification des prolamines fait appel à différents critères : composition en acides aminés, taille, association, qui permettent de séparer les prolamines en deux grands groupes, les gliadines monomériques qui se retrouvent chez d'autres céréales et portent alors des noms spécifiques dérivés du nom latin de l'espèce : sécalines (seigle), hordéines (orge), avénines (avoine), zéines (maïs) et les gluténines polymériques (association de monomères par des ponts disulfures). Les gliadines représentent 45 % des prolamines totales. Elles présentent un grand polymorphisme d'origine génétique. Une variété de blé peut renfermer entre 20 et 40 constituants différents. Les sous unités de gluténines de faible poids moléculaires (SG-FPM) représentent environ les deux tiers de l'ensemble des gluténines. L'autre tiers est constitué par les sous unités de gluténines de haut poids moléculaire (SG-HPM). Le polymorphisme des gluténines est moins important que celui des gliadines, pour une variété on compte de 7 à 16 SG-FPM et 40 SG-HPM.

Protéines de réserve des légumineuses : Les globulines sont les protéines de réserve dominantes dans les graines de légumineuses et constituent de 50 à 90 % des protéines des graines. Les globulines sont classées en fonction de leur coefficient de sédimentation en deux types les 7S et les 11S. Le contenu en acides aminés soufrés des 11S est plus élevé que celui des 7S. Le ratio 11S/7S varie entre les cultivars de 0,5 à 1,7 dans le soja, 0,2 à 1,5 dans le pois, 0,3 à 0,5 dans le haricot. La globuline de type 7S est une glycoprotéine dont le nom varie en fonction des espèces : β conglycinine du soja, viciline du pois, phaséoline du haricot vert. La globuline de type 11S est un hexamère dénommée glycinine chez le soja, légumine chez le pois et la fève et arachine chez l'arachide.

b) Valeur alimentaire :

La tradition alimentaire de nombreuses populations a montré qu'il était possible d'équilibrer un régime végétarien en consommant des graines riches en protéines. Les produits extraits du soja et de l'arachide sont variés et occupent une grande place dans la nutrition azotée des peuples d'Asie et d'Afrique. Dans les pays industrialisés, ces sources de protéines bon marché ont permis le développement de productions animales mais sont maintenant incorporées à de nombreux aliments de l'homme. Les propriétés technologiques des protéines végétales, et l'apparition des aliments diététiques ont contribué à ce développement. D'une façon générale, la teneur en protéines des graines de céréales est faible et celle du blé n'échappe pas à cette règle. Comparées aux céréales, les graines de légumineuses contiennent plus de protéines (tableau 3). Les protéines des graines de céréales sont déficientes en lysine (tableau 4). Les protéines de soja et de féveroles sont limitées en acides aminés soufrés, les protéines d'arachide sont pauvres en acides aminés lysine et thréonine. La digestibilité des graines de céréales varie de 75 à 90 % tandis que celle des graines de légumineuses cuites ou crues varie de 15 à 80 % et 50 à 90 % respectivement.

Graines	Protéines (%)
Céréales	
Riz	7,4
Maïs	8,6
Blé	10,5
Orge	10,6
Avoine	13,0
Riz	12,7
Légumineuses	
Pois	21,7
Haricot	19,9
Soja	35,3
Arachide	25,4

Tableau 3 : Teneur en protéines de graines de céréales et de légumineuses.

Acides aminés (mg/g de protéines)	Céréales			Légumineuses				Farine		Feuille	Muscle
	Riz	Maïs	Blé	Haricot	Pois	Soja	Arachide	Blé	Soja	Luzerne	Boeuf
His	21	27	21	26	26	30	27	19	25	29	44
Ile	40	34	34	41	41	51	40	38	42	35	50
Leu	77	127	69	71	70	82	74	66	66	88	82
Lys	34	25	23	63	71	68	39	24	60	66	89
Met + Cys	49	41	36	21	24	33	32	34	34	29	42
Phe + Tyr	94	85	77	69	76	95	100	80	107	110	91
Thr	34	32	28	33	36	41	29	28	40	50	47
Trp	11	6	10	8	9	14	11	12	12	18	13
Val	54	45	38	46	47	52	48	42	47	46	53

Tableau 4 : Composition en acides aminés de quelques graines et aliments courants (exprimé en mg/g de protéines).

c) Traitements technologiques :

Les graines de légumineuses ne peuvent être consommées en quantité importante sans technologie préalable qui permet d'inactiver ou d'éliminer les nombreuses substances toxiques présentes (quinones résultant de l'oxydation des phénols, antinutritionnels : inhibiteurs d'enzymes, vicine, convicine, facteurs de flatulence). Le fractionnement des matières premières provenant des grandes cultures constitue une étape décisive pour leur valorisation dans le domaine alimentaire. Il met en oeuvre des procédés utilisant la voie sèche (décorticage, mouture, etc..) ou humide (extraction, fractionnement, glutennerie) pour obtenir des fractions végétales (farine) ou des produits à base de protéines végétales (isolés, concentrés, gluten) qui constituent les produits intermédiaires mis en oeuvre par la seconde transformation.

Quatre classes de préparations sont utilisées aujourd'hui dans l'alimentation humaine : les farines titrant entre 40 et 50 % de protéines ; les concentrés titrant entre 60 et 70 % de protéines ; les isolés titrant entre 85 et 98 % de protéines, le gluten contenant de 76 à 80 % de protéines. Les farines et les concentrés sont principalement obtenus à partir de blé et de soja ; les isolés à partir du soja, du pois, de la féverole, du colza par voie aqueuse, chimique ou fermentaire et le gluten à partir du blé. Les farines et les concentrés sont souvent extrudés selon un procédé qui est appliqué aux pâtes alimentaires. Ils peuvent être aromatisés et présentés en cossettes, en farine ou en semoule. Les isolés, après différentes incorporations de sels minéraux, de graisses, de vitamines, d'arômes, de colorants, sont filés. Il est possible ainsi de réaliser des imitations de viandes, de jambon, de fruits, de légumes etc...

Les traitements technologiques destinés à éliminer les substances peu digestibles ou toxiques dénaturent les protéines natives et par conséquent, altèrent leurs propriétés physico-chimiques initiales : on voit apparaître de nouveaux peptides, des hauts polymères. Il importe surtout que les propriétés nutritives soient respectées voire améliorées ; c'est pourquoi certains acides aminés fragiles (cystine, méthionine, lysine) devront être protégés lors des extractions par adjonction d'agents réducteurs, de cations bivalents, etc... Lorsque toutes les précautions sont prises, la composition en acides aminés des protéines végétales obtenues reflète assez fidèlement celle des graines dont elles sont issues.

d) Propriétés fonctionnelles :

Outre leur valeur alimentaire, les protéines végétales possèdent également des propriétés physico-chimiques qui permettent de les employer avantageusement en technologie alimentaire. C'est ainsi qu'elles sont utilisées à des fins d'émulsification, de gélification, d'aération, d'absorption et de rétention des graisses et de l'eau, de formation de film, d'augmentation de la viscosité des aliments, de contrôle de couleur et d'expansion (tableau 5).

Propriétés physico-chimiques	Propriétés fonctionnelles	Mode d'action	Systèmes alimentaires
<u>Hydratation</u>	Solubilité	Solubilité des protéines	Boissons
	Absorption et rétention d'eau	Rétention de l'eau Liaisons hydrogènes	Viandes Saucisses Pain Biscuits
<u>Structure-Rhéologie</u>	Viscosité	Epaississant Fixation d'eau	Soupes Sauces
	Propriétés gélifiantes	Formation d'une matrice protéique	Viandes Caillés Fromages
	Cohésion-adhésion	Protéines agissant comme adhésif	Viandes Saucisses Produits cuits Fromages Pâtes
	Elasticité	Liaisons non covalentes et ponts disulfures dans gluten et gels	Viandes Produits boulangers
<u>Propriété de surface</u>	Propriétés émulsifiantes	Formation et stabilisation des émulsions	Saucisses Soupes Mortadelle Gâteaux
	Adsorption de lipides	Fixation de lipides	Viandes Saucisses Beignets
	Fixation d'arômes	Absorption Rétention Libération	Protéines végétales filées remplaçant la viande Produits boulangers
	Propriétés moussantes	Formation de films stables	Gâteaux de Savoie Crème fouettée Entremets

Tableau 5 : Propriétés conférées par les protéines de graines aux systèmes alimentaires (Utsumi, 1992).

Ces propriétés varient en fonction de la source de protéines, de la concentration, de la fraction protéique, des traitements et des conditions expérimentales (pH, température, force ionique,..). Ces propriétés fonctionnelles déterminent l'utilisation des protéines dans les aliments à base de viande, le pain, la pâtisserie, les produits diététiques, les analogues du lait (tableau 5).

1.4 - Aspect hygiéniques résultant de l'utilisation des protéines végétales d'extraction dans l'alimentation

La législation protège les aliments traditionnels de l'homme et régleme les suppléments. Il apparaît, en effet, logique que les protéines nouvelles qui sont amenées à entrer dans l'alimentation humaine subissent de très nombreux contrôles physico-chimiques dans le but de déceler les polluants naturels ou accidentels : les facteurs anti-enzymatiques, hémagglutinines, glucides indigestes, phénols divers, saponines, aflatoxines, micro-organismes pathogènes. Les protéines végétales destinées à l'alimentation humaine doivent être identifiables dans les aliments. Des méthodes immunologiques, immuno-chimiques et immuno-électrophorétiques sont pratiquées pour permettre un étiquetage correct des aliments contenant des protéines végétales. Les protéines végétales peuvent, en effet, entraîner des réactions d'intolérances. Ainsi la maladie coeliaque, appelée également intolérance au gluten est une maladie gastro-intestinale provoquée, chez les sujets sensibles, par l'ingestion d'aliments contenant des protéines de blé, de seigle et d'orge et probablement d'avoine. Le maïs, le riz ne déclenchent aucune réaction. Les fractions peptidiques responsables de l'intolérance au gluten seraient toutes les fractions gliadines avec une toxicité plus marquée pour les α gliadines. Actuellement le seul traitement est un régime excluant les céréales toxiques. L'arachide et le soja sont les graines de légumineuses majoritairement impliquées dans l'allergie alimentaire de l'homme.

1.5 - Perspectives

Les protéines végétales peuvent permettre, tout en répondant aux attentes des consommateurs, de maintenir et promouvoir la santé humaine. Pour cela , il faudra :

- comprendre et prévoir le comportement de la matière première lors des opérations de fractionnement et d'extraction. La forte variabilité intra et inter-annuelle de la structure et de la composition de la matière première modifie, en effet, ses aptitudes technologiques et donc la valeur d'utilisation des grains.

- établir les lois qui régissent les relations structure-propriétés pour les principales protéines végétales. Les caractéristiques de la structure des protéines concernées, les bases physico-chimiques et

les mécanismes impliqués dans les propriétés fonctionnelles, les relations entre la structure, les propriétés fonctionnelles et la digestibilité des protéines devront être établies.

L'utilisation de la biologie moléculaire pour répondre à ces questions est envisagée (tableau 6). Elle nécessite cependant d'isoler les gènes, de désigner les modifications nécessaires pour augmenter la valeur nutritionnelle et les propriétés fonctionnelles, puis d'exprimer les gènes modifiés dans des micro-organismes pour obtenir des protéines modifiées dont il faudra vérifier la conformation et évaluer les propriétés. Des plantes transgéniques produisant les protéines modifiées pourront alors être produites.

Propriétés fonctionnelles

- Elucider les relations structure/conformation et fonctions
- Amélioration
- Nouvelles fonctions

Valeur nutritionnelle

- Enrichissement de la teneur en acides aminés essentiels
- Augmenter la digestibilité

Fonctions biologiques

- Créer
- Augmenter
- Améliorer
- Diminuer

Nouvelles protéines

- Fusion avec une protéine ayant des fonctions différentes
 - Introduction de sites de modification (glycosylation, phosphorylation, etc...)
-

Tableau 6 : Intérêts de la biologie moléculaire pour modifier les protéines alimentaires (Utsumi, 1992).

2 - LES SOURCES DE PROTEINES ANIMALES
--

MEUNIER J.C., FOUQUES D.

Les végétaux qui fixent azote et carbone, devraient potentiellement être des fournisseurs de premier choix en protéines. Mais il n'en est rien : faible titre en protéines (les végétaux contiennent en grande quantité des molécules indigestes : lignines, pectines, cellulose, hémicelluloses) ; présence de facteurs antinutritionnels (hémagglutinines, phénols, inhibiteurs d'enzymes digestives) ; carence en

certains acides aminés (lysine pour les céréales). En revanche, les animaux sont d'excellents fournisseurs de protéines alimentaires : titre élevé en protéines de bonne qualité et absence de toxines. En particulier, elles contiennent les acides aminés en proportion des apports recommandés de l'homme (tableau 7).

<u>Acides aminés</u>	Lait de vache	Oeuf de poule	Muscle de boeuf de 1ère catégorie
<u>Indispensables</u>			
histidine	2,8	2,3	4,4
isoleucine	6,4	6,9	5,0
leucine	10,4	9,0	8,2
lysine	8,3	7,2	8,9
méthionine + cystéine	3,6	3,6	3,2
phénylalanine + tyrosine	10,5	10,4	9,1
thréonine	5,1	5,0	4,7
tryptophane	1,4	1,6	1,4
valine	6,8	7,4	5,3
<u>Non indispensables</u>			
alanine	3,5	-	6,0
arginine	3,7	6,4	6,0
acide aspartique	7,9	10,7	9,18
acide glutamique	21,8	12,3	14,25
glycine	2,1	3,8	4,4
proline	10,1	4,3	4,3
sérine	5,6	7,7	4,14

Tableau 7 : Composition en acides aminés des protéines de lait de vache, d'œuf de poule et de muscle de bœuf, exprimée en pour-cent pour 16g d'azote (100g de protéines).

Mais le rendement de transformation des végétaux en protéines par les animaux est faible. Les principales protéines animales se situent dans le tissu musculaire (la viande), dans l'œuf et dans le lait. Le tableau 8 donne un résumé de la composition en protéines de la viande, du poisson, des œufs et du lait.

	<u>Viande et poisson</u>	% protéines totales
	Collagène	8
	Myosine	27
	Protéines sarcoplasmiques et mitochondriales	30-35
	Actine	11
	Myoglobine	1,5
	Protéines insolubles	8
	<u>Oeuf de poule</u>	% albumen
<u>Albumen (blanc)</u>	Ovalbumine	54
	Conalbumine, ovomucoïde, ovoglobuline	46
		% vitellus
<u>Vitellus (jaune)</u>	Phosvitine	10
	Lipovitellines α et β	36
	Livétines α , β et γ	30

	Lipovitellines	24
	<u>Lait de vache</u>	% protéines totales
<u>Caséines</u>	Caséine α Caséine β Caséine γ	80
<u>Lactosérum</u>	β -lactoglobuline α -lactalbumine Autres	20

Tableau 8 : La composition des protéines animales

2.1 - Tissus musculaires : la viande et le poisson

La viande correspond aux muscles striés squelettiques des animaux. C'est l'aliment le plus riche en protéines (50 à 90 % de protéines par rapport à la matière sèche). Chaque muscle est constitué par un très grand nombre de fibres regroupées en faisceaux, séparées par des enveloppes de tissu conjonctif (endomysium, perimysium, épimysium). Une fibre musculaire comprend le sarcoplasme (cytoplasme), le réticulum sarcoplasmique et les myofibrilles. Les myofibrilles sont la première source de protéines du muscle (40-45 %) : myosine (27% des protéines du muscle, 50-55 % des protéines des myofibrilles), protéine C, protéine M, actine, tropomyosine, (3, 4, 20 et 5 % des protéines des myofibrilles, respectivement). Les protéines du sarcoplasme (200 environ) représentent entre 30 et 35 % des protéines du muscle. Le tissu conjonctif est le tissu de soutien du muscle et forme une véritable trame. Il est essentiellement constitué de fibres : d'élastine, de réticuline et surtout de collagène. Une molécule de collagène est une triple hélice de 3 chaînes polypeptidiques. Chaque chaîne est une hélice d'environ 1050 acides aminés, avec la présence d'une glycine tous les 3 acides aminés et une forte proportion de proline et d'hydroxyproline. Tryptophane et cystine sont absents. De nombreuses liaisons intra et inter-chaînes assurent la cohésion des fibres de collagène. La myoglobine, localisée dans le sarcoplasme, fournit la couleur rouge du muscle (1,5 % des protéines du muscle).

Certaines des propriétés organoleptiques du muscle, comme la tendreté et la jutosité, sont étroitement liées à la structure des protéines musculaires et aux réactions chimiques dans lesquelles elles sont impliquées. De l'abattage à son utilisation, la viande passe par 3 états : état pantelant, état de rigidité cadavérique (*rigor mortis*) et état mûr. Immédiatement après l'abattage (état pantelant), la viande est tendre, mais sèche et de saveur peu marquée. Elle est rarement consommée à ce stade. La *rigor mortis* s'installe dans les heures qui suivent l'abattage. A la dégustation la viande est dure et coriace. La saveur est peu marquée. La rigidité cadavérique est la conséquence de l'épuisement du muscle en ATP. L'anoxie entraîne une altération des potentiels de membrane et le calcium séquestré dans les membranes du réticulum sarcoplasmique pénètre dans le sarcoplasme où sa concentration est

multipliée par 1000. La libération du Ca^{2+} active la myosine ATPase (hydrolyse de l'ATP), la réaction de Lohman (resynthèse de l'ATP) et la glycogénolyse, et favorise le rapprochement actine-myosine. La réaction de Lohman s'arrête rapidement par manque de phosphocréatine. La glycogénolyse provoque une acidification du sarcoplasme (formation d'acide lactique).

L'hydrolyse de l'ATP par la myosine ATPase entraîne une diminution considérable de la concentration de l'ATP. Or l'hydrolyse de l'ATP provoque la formation du complexe actine-myosine (favorisée par le Ca^{2+} en forte concentration). Mais comme l'ATP n'est plus resynthétisé et qu'il est indispensable à la dissociation du complexe, la liaison actine-myosine est définitive. Le muscle perd alors ses propriétés élastiques.

La maturation, qui conduit à l'état mûr, vise à résoudre la rigidité cadavérique. Elle est caractérisée par l'action des systèmes protéolytiques des fibres musculaires sur les myofibrilles et le cytosquelette des cellules. Les cathepsines libérées par l'éclatement des lysosomes (dû à la baisse du pH) destructurent les stries Z et la bande M, désorganisent l'alignement transversal des sarcomères, coupent les myofibrilles à la jonction des filaments fins. La protéolyse ne donne que peu d'acides aminés, mais fournit des peptides plus ou moins gros. Le collagène est le facteur limitant de la tendreté de la viande. On n'observe pas d'évolution marquée au cours de la maturation. Il existe cependant un potentiel enzymatique (dans les lysosomes) vis-à-vis de cette protéine, peu mobilisé au cours de la maturation au froid, qui peut être mobilisé dans certaines conditions (55-58°C) avec attendrissage significatif de la viande. La température joue un grand rôle dans la vitesse de maturation : de trois à quatre semaines à -1,5°C, un jour à 43°C, deux semaines à 0°C. De plus, les enzymes à l'œuvre dans le muscle provoquent la formation de nombreux produits favorables au goût.

Les muscles de poisson présentent de nombreuses analogies avec ceux de la viande. Parmi les différences, la teneur moins grande en tissu conjonctif confère au poisson une tendreté plus importante, mais la baisse plus faible du pH entraîne un risque de contamination bactérienne plus élevé. La maturation est plus rapide chez le poisson (30 h à 0°C).

2.2 - Les protéines de l'oeuf

Dans l'œuf, les protéines se répartissent dans l'albumen (le blanc) et le vitellus (le jaune). Ce sont d'excellentes protéines quant à leur valeur alimentaire. L'ovalbumine est la protéine majoritaire du blanc (54 %). C'est une phospho-glycoprotéine avec 4 groupes sulfhydryle et 2 ponts disulfure, aux propriétés gélifiantes remarquables. Conalbumine et ovomucoïde (glycoprotéines), et ovoglobuline sont minoritaires. Cette protéine confère au blanc d'œuf ses propriétés moussantes. Pour rendre

digestibles ces protéines, la cuisson est nécessaire. Dans le jaune, on trouve en proportion égale (30 %) lipovitellines (LDL), livétines et lipovitellines (HDL). La phosvitine, très riche en sérine phosphorylée, est une réserve de fer. L'ovomucoïde est l'allergène principal de l'œuf.

2.3 - Les protéines du lait

Les tableaux 9 et 10 donnent la composition en matières azotées des laits de vache et de femme. Les protéines du lait sont représentées principalement par les caséines dans la phase micellaire, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine dans le lactosérum. Les caséines (environ 200 acides aminés) sont classées en caséines α , (α_{S1} et α_{S2}), β et κ . Ce sont des phosphoprotéines. La caséine κ est aussi une glycoprotéine.

Tableau 9 : Répartition des fractions azotées du lait de vache.

Protéines	Lait humain	Lait de vache
Caséine	3,6	24-28
α_1		12-15
α_2		3-14
β		9-11
κ		3-4
γ		1-2
β lactoglobuline	traces	2-4
α lactalbumine	2,8	1-1,5
Sérumalbumine	0,6	0,1-0,4
Lysozyme	0,4	traces
Lactoferrine	2,0	0,1
Immunoglobulines	1,0	0,7

Tableau 10 : Composition en protéines des laits de femme et de vache (g/l).

RESUME

Les sources de protéines végétales

Les protéines végétales couvrent une part importante des apports protéiques mondiaux. Elles sont constituées par les protéines de graines de céréales, des plantes vertes, des oléagineux, des protéagineux et des tubercules. Ces protéines sont consommées dans les aliments en l'état ou sous forme d'extrait protéiques pour certaines matières premières. Les graines de légumineuses ne peuvent être consommées en quantité importante sans technologie préalable qui permet d'inactiver ou d'éliminer les nombreuses substances indésirables (quinones résultant de l'oxydation des phénols, inhibiteurs d'enzymes, vicine, convicine, facteurs de flatulence par exemple). Le fractionnement des matières premières provenant des grandes cultures constitue une étape décisive pour leur valorisation dans le domaine alimentaire. Il met en oeuvre des procédés utilisant la voie sèche (décortilage, mouture, etc..) ou humide (extraction, fractionnement, glutennerie) pour obtenir des fractions végétales (farine) ou des produits à base de protéines végétales (isolés, concentrés, gluten) qui constituent les produits intermédiaires mis en oeuvre par la seconde transformation. Outre leur valeur alimentaire, les protéines végétales possèdent également des propriétés physico-chimiques qui permettent de les employer avantageusement en technologie alimentaire. C'est ainsi qu'elles sont utilisées à des fins d'émulsification, de gélification, d'aération, d'absorption et de rétention des graisses et de l'eau, de formation de film, d'augmentation de la viscosité des aliments, de contrôle de couleur et d'expansion.

Les sources de protéines animales

Les principales sources de protéines animales sont la viande, le poisson, le lait et les œufs. Ces aliments sont caractérisés par un titre élevé en protéines de bonne qualité (composition en acides aminés en proportion voisine des apports recommandés de l'homme) et par l'absence de toxines.

La viande, qui correspond aux muscles striés squelettiques des animaux, est l'aliment le plus riche en protéines. La myosine et l'actine sont les protéines les plus abondantes dans les fibres musculaires. Le collagène, principal constituant du tissu conjonctif de soutien du muscle, est le principal responsable de la dureté de la viande. Il augmente avec l'âge de l'animal. Seule une cuisson à la vapeur permet de le solubiliser.

Une viande est rarement consommée immédiatement après l'abattage car elle est sèche et de saveur peu marquée. Plus la température est élevée, plus la maturation est rapide. Biochimiquement, la maturation consiste en l'hydrolyse de certaines protéines du muscle par des enzymes (les cathepsines) avec suppression de la rigidité cadavérique. La maturation conduit à une viande tendre et savoureuse.

Le poisson réalise sa maturation très rapidement (30 h à 0°C). Il est beaucoup plus sensible aux contaminations bactériennes que la viande, car la baisse de pH après la mort est plus faible.

Les protéines de l'œuf sont excellentes quant à leur valeur alimentaire. De plus, ovalbumine et ovoglobuline ont des propriétés fonctionnelles largement utilisées en cuisine : propriétés gélifiantes et moussantes, respectivement. La phosvitine est une réserve de fer et de phosphore.

Caséines, β -lactoglobuline et α -lactalbumine sont les principales protéines du lait des mammifères. Le lait humain est moins riche en caséines et β -lactoglobuline que le lait de vache, mais plus riche en lactoferrine. Les caséines, phosphorylées, sont associées en micelles.

II - UTILISATION DES PROTEINES ET TECHNOLOGIES

1 - PROPRIETES FONCTIONNELLES DES PROTEINES DU LAIT

LORIENT D., CAYOT P.

Les protéines du lait jouent un rôle essentiel dans notre régime alimentaire journalier car elles sont consommées en grande quantité sous des formes très diversifiées telles que lait de consommation, produits laitiers (fromages, yaourts, desserts lactés), nombreuses préparations alimentaires (conserves, plats cuisinés, sauces, potages, pâtisseries, confiseries). Leur composition équilibrée en résidus d'acides aminés essentiels et leur bonne digestibilité sont leur premier atout aux yeux des nutritionnistes. A cela, il convient d'ajouter que ces protéines ayant des structures moléculaires variées confèrent aux aliments dans lesquelles elles sont incorporées, une excellente acceptabilité sensorielle grâce à un grand nombre de propriétés physico-chimiques et techno-fonctionnelles. Les protéines du lait, au même titre que celles de l'oeuf, constituent des ingrédients polyfonctionnels d'excellente valeur ajoutée que les nouvelles techniques de fractionnement sont capables de fournir à l'industrie alimentaire sous des formes adaptées aux différentes utilisations.

Après un rappel sommaire de la structure des protéines du lait, seront passées en revue leurs principales caractéristiques fonctionnelles et leurs diverses utilisations en alimentation humaine ou en cosmétique.

1.1 - Les différentes protéines de lait (tableau 1)

a) Caractéristiques structurales

Le lait contient 30 à 35 g de protéines par litre, ce qui représente 95 % de l'azote total présent. Environ 80 % des protéines se trouvent sous forme d'une structure supramoléculaire sphéroïdale contenant une partie minérale sous le nom de micelles de caséine. Celles-ci sont facilement isolables par ultracentrifugation sous leur forme native, par précipitation isoélectrique à pH 4,6 sous une forme dénaturée, la caséine, ou par gélification du lait par la chymosine (enzyme coagulant de la présure) sous forme de complexe phosphocalcique, le caillé de fromagerie.

La fraction non sédimentable (ou filtrable) appelée lactosérum contient environ 18 % des protéines totales ; ce sont les "protéines solubles" ou encore "protéines de lactosérum" qui contiennent deux protéines majeures globulaires, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine et d'autres protéines en quantités plus faibles (immunoglobuline, séralbumine..). Les quatre caséines (α_{s1} , α_{s2} , β et κ) et les deux protéines majeures du lactosérum (β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine) sont synthétisées par la glande mammaire, les autres étant pour la plupart d'origine sanguine ; leur séquence primaire est connue et leur structure spatiale également.

Fraction	Concentration en g/l (% protéines)	Partie prosthétique P (phosphore) G (glucides)	Ponts disulfure (ou groupes SH)	Poids moléculaire	Structure
<u>Caséines</u>	24-28 (82)				
α_{s1}	12-15 (39-46)	8 P	0	23612	micellaire bipolaire
α_{s2}	3-4 (8-11)	10-13 P	2 cys SH	25228	déplissée
β	9-11 (25-35)	P	0	23980	bipolaire
κ	3-4 (8-15)	1 P + 1 G	2 cys SH	19000	bipolaire
γ	1-2 (3-7)				fragments de caséine β
<u>Protéines solubles</u>	5-7 (18)				globulaire compacte
β -lactoglobuline	2-4 (7-12)	Calcium	2 SS - 1 SH	18362	oligomères
α -lactalbumine	1-1,5 (2-5)		4 S-S	14174	globulaire
sérum albumine	0,1-0,4 (0,7-1,3)		17 S-S-1 SH	69000	globulaire
immunoglobulines	0,6-1 (1,9-3,3)			15000 à 1.000.000	oligomères
protéose-peptones	2-5 (0,6-1,8)				globulaire ou déplissée

Tableau 1 : Caractéristiques structurales des principales protéines du lait.

Les quatre caséines sont des phosphoprotéines, la caséine κ possédant en plus dans sa partie C terminale une partie glucidique très hydrophile. Bien qu'assez bien équilibrées en résidus d'acides aminés, elles sont pauvres en résidus d'acides aminés soufrés (pas de résidu cystéyle dans les caséines α_{s1} , et β ce qui exclut la présence de ponts disulfure). Certaines, comme la caséine β , contiennent une proportion importante de résidus prolyle régulièrement répartis, ce qui freine l'établissement de structures secondaires (hélices α , par exemple). Ces quelques éléments de composition suffisent pour conclure que les caséines sont des molécules à structure peu ordonnée, très déplissées, avec des chaînes latérales polaires (phosphoséryle surtout et carboxylique) groupées du côté N terminal (α_{s1} et β) ou apolaires du côté C terminal (α_{s1} et β), cette répartition étant inversée pour la caséine κ (polaire du côté C terminal). Il faut noter toutefois que la caséine α_{s2} existe en partie sous forme de dimère (ponts

disulfure intermoléculaires) et que la caséine κ peut se présenter sous forme de monomères ou sous forme de polymères (degré de polymérisation pouvant s'étendre au-delà de 10 unités).

Dans la micelle, les derniers modèles de Schmidt ou de Ono et Obata, montrent une structuration des caséines en submicelles reliées par du phosphate de Ca, les plus riches en caséine κ étant plus localisées en surface, ce qui explique la très bonne dispersion des micelles dans l'eau (fortes répulsions électrostatiques dues à un potentiel de surface fortement négatif) malgré leur très grande taille (20 à 300 nm). Sur les 34 mmol/l de calcium contenues dans le lait, 24 mmol/l entrent dans la composition de la micelle soit environ 21 moles de calcium par mole de caséine. Si les caséines n'étaient pas structurées en micelle, il est probable qu'un tel taux de calcium rendrait les caséines totalement insolubles ; on sait aussi que la caséine κ joue un rôle protecteur vis-à-vis de la précipitation par le calcium. La micelle semble être un remarquable transporteur de calcium.

Si la micelle est très stable aux hautes températures supérieures à 100°C et aux traitements mécaniques, elle est en revanche très sensible aux modifications du milieu : l'acidification jusqu'à pH 4,6 déstabilise la phase minérale et provoque la précipitation de la caséine déminéralisée, alors que la complexation du calcium par un agent chimique tel que l'ion citrate ou phosphate, ou l'EDTA provoque une transparation du milieu. Les basses températures provoquent aussi une déstabilisation partielle de la micelle qui perd une partie de la caséine β . Enfin, les protéases coagulantes telles que la chymosine, en libérant de la surface micellaire, le glyco macropeptide C terminal très hydrophile de la caséine κ , la rend très hydrophobe et provoque aux températures supérieures à 15-20°C une coagulation du lait par interactions hydrophobes entre les micelles.

Quant aux protéines solubles, elles ont une structure globulaire compacte, stabilisée par des ponts disulfure ; très solubles, elles sont facilement dénaturées par la chaleur, ce qui provoque, selon le pH et la concentration protéique et en sels minéraux, des pertes de solubilité ou une gélification. Par leur structure compacte, et contrairement aux micelles, elles résistent bien à l'état natif à certaines protéolyses. La dénaturation permet de modifier très facilement leurs propriétés physico-chimiques.

b) Extraction des protéines : principaux ingrédients

L'extraction et la purification des protéines du lait s'effectue soit à l'occasion d'opérations technologiques classiques (cas de la séparation de la fraction caséinique de la phase soluble en fromagerie par action acidifiante des bactéries lactiques et coagulante de la chymosine), soit lorsqu'on veut isoler industriellement des protéines plus ou moins purifiées (préparation de la caséine par

acidification par l'acide chlorhydrique, fractionnement et purification des protéines solubles par ultrafiltration, précipitation fractionnée, chromatographie par échange d'ions).

Figure 1 : Schéma de fractionnement des protéines du lait. (Source : CIDIL)

- Poudres de produits laitiers bruts

Ce sont des poudres de lait (écrémé de préférence, en raison de problème de conservation) dont la qualité (maintien optimal des structures protéiques natives) dépend de la sévérité des traitements de séchage. Les poudres de lactosérum ont des propriétés différentes selon le traitement et surtout l'origine : lactosérum doux (pH 6) ou acide (pH 4,6) ; certains sont déminéralisés ou délactosés pour l'usage diététique.

- Caséines et caséinates

On distingue la caséine acide obtenue par précipitation à pH 4,6 et pauvre en minéraux (protonation des groupes phosphate), de la caséine présure, obtenue par coagulation enzymatique et très minéralisée. Par neutralisation de la caséine par une base (NaOH, Ca(OH)₂, KOH) on obtient des

caséinates très solubles et doués de propriétés viscosantes. Ces caséines sont souvent accompagnées de protéines "solubles" dénaturées (coprécipités).

- Protéines "solubles"

Sous forme de concentrés protéiques (CPL) ou d'isolats de protéines (IPL) du lactosérum elles sont plus ou moins dénaturées selon le mode d'extraction et sont associées souvent à des sels minéraux et du lactose résiduel.

1.2 - Propriétés fonctionnelles des protéines de lait

Une protéine ne présente de valeur nutritionnelle que si elle est ingérée. C'est pourquoi les propriétés fonctionnelles sont aussi importantes en nutrition.

a) Définition des propriétés fonctionnelles

Ce sont des propriétés physico-chimiques d'un ingrédient qui ont une incidence sur le comportement sensoriel de celui-ci dans les systèmes alimentaires.

On classe celles-ci en trois groupes :

- les propriétés d'hydratation qui sont dues aux interactions protéine-eau : absorption, rétention d'eau, gonflement, solubilité, viscosité, ... ;

- les propriétés de texture dues aux interactions protéine-protéine : précipitation, coagulation, gélification ;

- les propriétés de surface qui s'expliquent par des interactions protéine-molécule peu polaire ou protéine-molécule gazeuse : propriétés émulsifiantes et moussantes. Ces propriétés sont très fortement influencées par l'état de dénaturation, le pH et les sels présents ainsi que par les traitements servant à la préparation des ingrédients ou intervenant après incorporation dans les aliments (cuisson par exemple).

b) Propriétés d'hydratation

La solubilité aussi bien que la capacité d'hydratation dépendent surtout du pH (en toute rigueur, on devrait parler de suspension stable) ; minimales au point isoélectrique (pH 4,6 pour la caséine), ces propriétés d'hydratation le sont surtout après dénaturation (cas des protéines solubles qui précipitent à pH 5).

La viscosité des solutions suit les mêmes évolutions (minimale au pI) en raison de la prédominance d'interactions électrostatiques (attractives au pI et répulsives aux pH acide ou alcalin) ; c'est principalement le cas pour les caséinates qui sont d'excellents ingrédients viscosants à une valeur de pH très éloignée de celle du pI ; la présence de sels atténue ces évolutions. A noter que la viscosité

des solutions s'accroît brutalement au-delà d'une concentration protéique déterminée pour laquelle les sphères d'hydratation entrent en contact.

c) Propriétés de texture

- Coagulation enzymatique :

A la suite de l'action de la chymosine sur la micelle de caséine, il se forme un réseau de micelles associées par des interactions hydrophobes, théoriquement thermiquement réversibles. Il s'en suit une séparation de phase appelée synérèse, au cours de laquelle le lactosérum exsude. Ce gel (caillé de fromagerie) se forme à pH 6-6,5 et nécessite la présence d'ions calcium (Ca^{++}). Le temps de formation et la texture des gels dépendent de la température, du pH initial, des sels présents et des traitements subis par le lait. Un chauffage trop sévère (stérilisation, par exemple) rend le lait incoagulable pour au moins deux raisons : ions calcium transformés en calcium colloïdal, caséine κ associée à la β -lactoglobuline par chauffage et devenue "insensible" à la chymosine.

- La gélification de la micelle de caséine se produit également lors d'un abaissement lent et progressif du pH obtenu soit par acidification lactique (fermentation lactique des yaourts) ou par l'hydrolyse lente de la gluconolactone en acide gluconique. A partir de pH 5,5, les micelles commencent à fusionner entre elles par interactions hydrophobes essentiellement ; une déminéralisation partielle avec une modification du phosphate de Ca colloïdal est responsable de l'association des monomères de caséines dans la micelle ; la perte de charges de surface due à l'abaissement du pH réduit les répulsions électrostatiques entre les micelles. En dessous de pH 5,2 le lait gélifie. Le gel obtenu est fragile et est très facilement déstabilisé avec exsudation de sérum. L'acidification brutale par un acide minéral provoque au contraire une floculation de la caséine par déminéralisation complète sans qu'il y ait gélification du lait.

- Un autre type de gel obtenu par formation d'un réseau stabilisé par liaisons covalentes (pour pH > 6,5) et/ou des interactions physicochimiques est obtenu par traitement thermique des protéines sériques. Si la concentration est suffisante (5 % minimum) pour un pH donné (faible concentration au pI sinon floculation, plus forte concentration aux pH éloignés du pI), le chauffage au-delà de 70°C dénature la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine et facilite l'échange intermoléculaire de ponts disulfure (pH > 6,5). Ce réseau a un aspect variable selon le pH :

- au pI (pH 5), les gels sont compacts, opaques, granuleux, en raison d'interactions électrostatiques attractives.
- à pH neutre ou alcalin, les gels sont fermes, élastiques, translucides (sauf en présence d'ions Ca^{++}). Les ponts ioniques formés par les ions Ca^{++} rendent plus compacts les gels.

- à pH acide les gels sont fermes et élastiques.

- dans le cas de systèmes mixtes comme le lait, le chauffage permet non seulement une thermo-précipitation des protéines sériques, mais aussi une association d'une partie de celles-ci avec les groupes sulfhydryle de la caséine κ en surface de micelle. Cette association permet aux micelles de résister à la déstabilisation par la chymosine et à leur fusion totale dans les gels acides (synérèse freinée) ; l'ajout de lait écrémé aux yaourts est une application de ces modifications.

d) Propriétés de surface

Les interfaces eau/huile des émulsions ou eau/gaz des mousses sont stabilisées par des molécules amphipolaires comme des monoglycérides, des lécithines ou des protéines. La formation de ces systèmes dispersés est favorisée par l'adsorption de protéines par exemple, qui étant de nature bipolarisée par l'alternance de tronçons peptidiques hydrophobe ou hydrophile, se comportent comme de véritables agents tensioactifs : abaissement de la tension interfaciale, formation d'un film interfacial rigide cohérent entourant les gouttelettes d'huile ou les bulles de gaz, stabilisation du système dispersé par différents mécanismes tels que répulsions électrostatiques ou empêchements stériques.

- Aptitude des protéines du lait à l'adsorption aux interfaces :

Les protéines du lait se comportent différemment en raison de leur structure :

- les caséines sont toutes des molécules dépliées flexibles et bipolarisées donc douées d'excellentes propriétés tensioactives ; cependant, le film protéique interfacial est peu épais donc stabilise peu l'interface. L'ordre décroissant de tensioactivité est le suivant :

caséine β > caséine α_{S1} > caséine κ

- les protéines sériques sont des molécules compactes qui subissent une dénaturation de surface partielle lorsqu'elles s'adsorbent à une interface. Aussi la vitesse d'absorption est faible mais le film interfacial rigide et épais qu'elles forment est plus stable que celui constitué par les caséines.

Dans le lait, les micelles de caséines, beaucoup plus nombreuses et encombrantes que les protéines sériques s'adsorbent préférentiellement. De même, si l'on mélange protéines sériques et caséines (non micellaires sous forme de monomères) en quantités équivalentes, ce sont les caséines (moins encombrantes mais plus tensioactives) qui s'adsorbent préférentiellement.

- Propriétés émulsifiantes :

Les protéines sont d'excellents émulsifiants pour trois raisons : abaissement de la tension interfaciale eau/huile, formation d'un film rigide interfacial, et stabilisation électrostatique, stérique ou osmotique.

L'abaissement de tension interfaciale permet d'abaisser l'apport d'énergie mécanique nécessaire à la confection d'émulsions (dispersion d'une phase dans l'autre) et d'accroître l'aire interfaciale ; cela nécessite une bonne solubilisation (dispersion pseudocolloïdale) de la protéine, c'est-à-dire que le milieu soit à un pH différent du pI (des caséines surtout).

La formation d'un film épais n'est possible qu'avec des protéines globulaires telles que la β -lactoglobuline ; la stabilisation d'une émulsion par des forces électrostatiques répulsives est facilitée par des pH extrêmes, quelles que soient les protéines du lait. Lorsque les protéines du lait en dispersion aqueuse sont en mélange, une adsorption compétitive se produit entre elles ; par exemple, l'émulsification avec un mélange de caséine α_{s1} et β provoque l'adsorption préférentielle de caséine β ; celle-ci déplace la caséine α_{s1} de l'interface. Inversement, si une émulsion est préparée à partir d'une solution de β -lactoglobuline, celle-ci ne peut être que très légèrement déplacée de l'interface par d'autres protéines laitières ; une polymérisation en surface de la β -lactoglobuline serait responsable de cette résistance à la désorption.

En présence d'émulsifiants ioniques (lécithine) et non ioniques (monoglycérides, tweens,...), les protéines sont partiellement ou totalement désorbées de l'interface (exceptée la β -lactoglobuline pour les raisons précédemment évoquées) : un rapport pondéral optimal entre émulsifiants et protéines doit permettre d'abaisser fortement la tension interfaciale par les émulsifiants tout en favorisant la stabilisation de la dispersion des globules gras par les protéines. Les opérations d'émulsification sont réalisées de façon discontinue (cutter de charcuterie) ou continue (homogénéisateur, microfluidiseur).

- « Propriétés moussantes » :

Les « propriétés moussantes » impliquent une capacité à former une mousse fine, dont les bulles sphériques seraient de petit diamètre et de faible densité ($< 0,2$), et l'aptitude à stabiliser la mousse en empêchant le drainage de la phase aqueuse située entre les bulles par la formation d'un film protéique épais hydraté et d'une phase continue visqueuse. Généralement cela nécessite une structure protéique compacte assez concentrée, soluble. Des particules sont cependant parfois capables de stabiliser les mousses. Le pH optimal se situe souvent à proximité du pI (pH 5-5,5) sans l'atteindre pour des raisons de solubilité.

Pour toutes ces raisons, les caséines forment des mousses fines, légères, peu stables, avec une montée en mousse rapide. Au contraire, les protéines sériques forment des mousses fermes, compactes (cas principalement de la β -lactoglobuline) et très stables.... avec une montée de la mousse plus lente en

raison d'une dénaturation de surface préalable. Un traitement thermique modéré (70°C, 15 min) peut favoriser les propriétés moussantes des protéines sériques en provoquant une dénaturation partielle. On notera que la purification d'une protéine accroît le pouvoir moussant en raison des effets antagonistes que deux protéines exercent à l'interface lorsqu'elles sont en mélange.

L'ajout de protéines à pI élevé (lysozyme par exemple) à des protéines laitières (pI < 7) a un effet synergique sur le foisonnement : un film protéique rigide s'établirait autour des bulles grâce aux associations entre protéines chargées négativement (protéines laitières) et protéines chargées positivement (lysozyme). Les opérations industrielles mécaniques de foisonnement sont réalisées dans deux types de foisonneurs : foisonneurs planétaires discontinus et foisonneurs continus (Mondomix) ou à surface raclée (Duprat).

La stabilisation des mousses et émulsions peut être effectuée par l'incorporation d'ingrédients qui accroissent la rigidité et la fermeté du film interfacial, et la viscosité de la phase aqueuse continue ; ce rôle est facilement rempli par les polysaccharides (alginates, carraghénanes...) ou à partir de la gélatine.

Le tableau 2 résume les principales propriétés fonctionnelles des protéines du lait ; parmi elles, la rétention d'arômes non détaillée dans ce texte, retient l'attention des spécialistes de la formulation des aliments qui doivent maîtriser ce facteur pour confectionner des produits aux textures et saveurs nouvelles.

PROPRIETES	CASEINES	PROTEINES DU LACTOSERUM
SOLUBILITE	Insolubles à pH 4,6.	Très solubles à tous les pH. Insolubles à pH 5 si thermodénaturées.
VISCOSITE	Solutions très visqueuses à pH neutre et alcalin. Viscosité minimale au pHi (4,6).	Solutions peu visqueuses sauf si thermodénaturées.
HYDRATATION	Rétention d'eau élevée avec formation de colle à forte concentration. Minimum au pHi.	Rétention d'eau s'accroissant avec la dénaturation.
GELIFICATION	Pas de gélification thermique sauf en présence de calcium ou de polyosides. Gélification de la micelle par la chymosine.	Thermogélification à partir de 70°C : influence du pH et des sels.
PROPRIETES EMULSIFIANTES	Excellentes propriétés émulsifiantes surtout à pH neutre et alcalin.	Bonnes propriétés émulsifiantes sauf à pH 4 et 5 si thermodénaturation.

PROPRIETES MOUSSANTES	Bon foisonnement mais faible stabilité des mousses $\kappa > \beta > \alpha_{s1}$.	Bon foisonnement et excellente stabilité des mousses $\beta Lg > \alpha La$.
RETENTION D'AROMES	Bonne rétention d'arômes.	Rétention très variable avec l'état de dénaturation.

Tableau 2 : Principales propriétés fonctionnelles des protéines du lait.

1.3 - Utilisation des protéines laitières comme ingrédients fonctionnels

Le tableau 3 établi à partir de documents du CIDIL résume de façon très sommaire les principales utilisations alimentaires des ingrédients laitiers en fonction de leurs propriétés organoleptiques. En dehors de ces utilisations, les protéines laitières peuvent avoir des fonctions nutritionnelles et thérapeutiques. Sous forme d'hydrolysats de concentrés de protéines de lait (CPL), ces préparations servent d'apport protéique pour les sujets dénutris ou atteints d'insuffisance digestive ; elles peuvent être administrées par voie orale ou entérale. En diététique infantile, sous forme hydrolysée, les protéines du lait constituent un apport azoté adapté à l'alimentation des nourrissons. Enfin, les protéines du lait ont d'importantes potentialités en cosmétique et hygiène bucco-dentaire (propriétés hydratantes, bactériostatiques) et en thérapeutique (propriétés antibactériennes des immunoglobulines et de la lactoferrine, propriétés régulatrices de la faim, du sommeil, de la tension artérielle... grâce à des peptides issus des caséines). En revanche, les propriétés non alimentaires et non thérapeutiques sont devenues très peu utilisées (papeterie, colles...).

Produits	Ingrédients utilisés	Fonctions organoleptiques recherchées
<u>Confiserie</u> Nougats Caramels Bonbons	Caséinates, CPL* Protéines totales Lactosérum hydrolysé Caséinates	Foisonnement (F) Couleur, goût Rétention d'eau (RE)
<u>Crèmes glacées</u> Glaces, sorbets Garniture	Caséinates + CPL Lait écrémé (LE) Caséinates + CPL	Foisonnement (F), Emulsion (E) Gélification (G) Retard à la fonte Foisonnement (F)
<u>Pâtisserie</u> Meringues, génoises Viennoiserie Quatre-Quarts	CPL+Caséinates+IPL** CPL Protéines totales Caséinates+CPL	Foisonnement Couleur - Gélification (G) Rétention d'eau - Emulsion (E)
<u>Charcuterie</u> Saucisses, mousses de foie Quenelles, plats cuisinés	Caséinates - CPL, protéines totales Caséinates, CPL, lait	Emulsions (E) - rétention d'eau et de lipides - Adhésion - Gélification Emulsion, adhésion, goût
<u>Sauces et potages</u>	Caséinates+CPL Protéines totales	Emulsion, liant, rétention d'eau, viscosité
<u>Produits laitiers</u>		

Fromages fondus	Caséinates, IPL	Emulsion
Fromages	Protéines totales	Amélioration du rendement
Beurre allégé	Caséinates +CPL, lait	Emulsion, rétention d'eau, liant
Desserts mousse	Caséinates +CPL hydrolysé	Foisonnement
Desserts allégés	Protéines totales	Goût
Yaourts	CPL, IPL	Tenue du gel
Crèmes à café	Caséinates +CPL	Emulsion, couleur, arôme
<u>Boissons et alcools</u>		
Liqueurs à la crème	Caséinates + CPL	Stabilisation de la crème dans l'alcool
Sodas	CPL	Opacifiant

* Concentrats de protéines du lactosérum

** Isolats de protéines du lactosérum

Tableau 3 : Quelques exemples d'utilisation des ingrédients protéiques du lait.

1.4 - Conclusion

Dans l'alimentation moderne d'assemblage, et plus particulièrement au cours des opérations de formulations, une bonne connaissance des propriétés techno-fonctionnelles des protéines laitières permet de maîtriser l'utilisation des ingrédients dans la confection de nombreux produits nouveaux. L'apparition de nouvelles techniques industrielles de fractionnement et de purification doit être également un facteur favorable pour l'utilisation de nouvelles protéines dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques. Par rapport à d'autres sources protéiques, les protéines du lait gardent de nombreux atouts en raison aussi de leur neutralité (absence de goût et de facteur antinutritionnel) et de leur connotation positive auprès du consommateur.

2 - UTILISATION DES PROTEINES VEGETALES DANS LES ALIMENTS

UZZAN A.

Bien que d'apparition relativement récente, les protéines végétales, également appelées Matières Protéiques Végétales, en abrégé MPV, sont devenues un ingrédient bien connu et largement utilisé par de nombreuses branches des industries alimentaires. Une grande variété de protéines : de soja, blé, fèves, lupin, pois,..., bien adaptées aux besoins, est proposée aux utilisateurs des IAA. Leurs caractéristiques et leur qualité se sont beaucoup améliorées au fil des ans, grâce d'une part à une meilleure connaissance et sélection de leurs matières premières, d'autre part à une meilleure maîtrise de leurs procédés d'obtention et de contrôle.

De plus leurs propriétés nutritionnelles et fonctionnelles, justifiant leur intérêt sont beaucoup mieux connues et appréciées. Aussi leurs domaines d'utilisation se sont-ils régulièrement élargis au cours des dernières années, au point que l'on compte à présent en France plus de mille références de produits alimentaires commercialisés, dans la composition desquels est annoncée leur présence (pas loin de 1 200, d'après le Bilan de Référence réalisé par le GEPV durant l'été 1995, et plus de 1 400 d'après celui réalisé en 1997). Avant de passer en revue ces utilisations, il paraît utile de faire une brève présentation des Protéines Végétales disponibles en France et un rappel de leurs propriétés et caractéristiques.

2.1 - Les sources de protéines végétales disponibles

Les protéines végétales disponibles en France sont en premier les protéines de soja qui sont les plus répandues, connues et utilisées. Une firme française, la S.I.O., a été pionnière dans ce domaine au niveau européen, avec des activités ayant débuté déjà dans les années 1950. Puis sont apparues dans les années 1970 les Protéines de Fèves, suivies de celles de Lupin et Pois. Quant au Gluten il est, en tant que co-produit de l'amidonnerie, disponible depuis des décennies. Enfin plus récemment sont apparues les Protéines de Luzerne. Encore au stade du développement, ces MPV ont une certaine potentialité de croissance. Le Codex Alimentarius FAO/OMS définit les Protéines Végétales comme « des produits alimentaires obtenus à partir d'oléagineux, de légumineuses ou de céréales par une réduction ou élimination de certains des principaux constituants non protéiques, de manière à obtenir une teneur minimum en protéine de 40 % ». Toutefois les réglementations, normes et usages actuels fixent cette teneur à au moins 50 %.

Il existe trois classes principales de Protéines Végétales :

- les **farines**, quand la teneur en protéines ($N\% \times 6,25$) est d'au moins 50 % ; le plus souvent autour de 55 % ;
 - les **concentrés**, quand elle est d'au moins 65 % ; en général de l'ordre de 70 % et même plus ;
 - les **isolés** (ce terme étant préféré à l'anglicisme "Isolate"), quand cette teneur est de 90 %.
- Il faut ajouter le **gluten de blé** dont la teneur est de 80 à 85 %. En outre, deux autres types de produits sont assimilés aux Protéines Végétales : les **farines non déshuilées ou farines grasses**, avec des teneurs en protéines de l'ordre de 40-45 %, et en lipides, de 20-25 % ; et les **farines grasses lécithinées** dans lesquelles on a réintroduit de la lécithine, pour des applications spécifiques.

Les Protéines Végétales se caractérisent aussi par leur forme qui peut être en **poudre** (farine ou semoule) ou **texturée** (flocons, granulés, morceaux). Au plan commercial les MPV sont donc dénommées par leur origine végétale, leur classe et leur forme. On dira par exemple : *Farine de Lupin en poudre* ; *Concentré de Fèves texturé* ; *Isolé de Soja en poudre* ; *Gluten de Blé*, etc... Il est fréquent, en matière d'étiquetage notamment, que l'on écrive plus simplement : *Protéines de ...*, ou encore *Protéines Végétales*. Le tableau 4 récapitule les différents types et classes de MPV actuellement disponibles.

NB : Les Protéines de luzerne pour l'alimentation humaine sont au stade expérimental.

Tableau 4 : Différents types et classes de MPV.

Le Codex Alimentarius FAO/OMS a édicté à la fin de la décennie 1980 trois Normes et une Directive concernant les Protéines Végétales :

- STAN 163/1987 pour le Gluten de blé,
- STAN 174/1989 pour les Matières Protéiques Végétales en général,
- STAN 175/1989 pour les Matières Protéiques de Soja,
- CAC/GL 4/1989 pour l'Utilisation des Matières Protéiques Végétales dans les aliments.

Ces Normes Codex ont pris une importance particulière depuis que dans le cadre de l'Organisation Mondiale du Commerce (O.M.C.) qui est chargée de gérer les accords du GATT, leur a été reconnu le caractère de documents de référence. Toutefois du fait de leur relative ancienneté (les Normes sus-citées ont été élaborées il y a presque 10 ans), les spécifications analytiques des MPV qu'elles préconisent ne correspondent plus tellement à celles des produits actuellement disponibles sur le marché. En effet, ces derniers ont beaucoup évolué du fait des progrès des connaissances et des avancées technologiques et analytiques. C'est pourquoi le *Groupe d'Etude et de Promotion des Protéines Végétales - GEPV* -, a pris l'initiative au début des années 1990 d'assurer un suivi de ces données. Pour ce faire, des échantillons variés et représentatifs des Protéines Végétales commercialisées en France par les membres de cette Association, font l'objet d'une étude analytique détaillée effectuée dans des laboratoires indépendants et réputés. Jusqu'à présent pas loin d'une cinquantaine de lots de protéines de soja, fèves, lupin, gluten et luzerne, ont été ainsi étudiés pour leur composition centésimale classique : teneurs en lipides, protéines, cellulose, matières minérales, humidité , et pour des données de sécurité alimentaire : teneurs en métaux lourds (As, Cd, Pb, Sb, Hg.), facteurs antitrypsiques, aflatoxines, hexane résiduel, nitrites/nitrates, et enfin un contrôle bactériologique.

Les résultats des études de 1990 et 1992, confirmés par ceux d'une troisième série en voie d'achèvement au moment où cette note de synthèse est rédigée (début 1996), ont permis d'une part de préciser les caractéristiques basiques des Protéines Végétales distribuées en France, comme les teneurs en humidité, protéines, cendres, lipides, cellulose ; et d'autre part d'apporter des informations tout à fait satisfaisantes et rassurantes pour ce qui est des teneurs en aflatoxines et métaux lourds, facteurs anti-trypsiques, etc..., et de la qualité hygiénique.

Ceci a conduit le GEPV à recommander des valeurs analytiques de qualité des Protéines Végétales, plus complètes et actuelles que celles disponibles dans les Normes Codex et la littérature ([tableau 5](#)). Une autre étude du GEPV a porté sur la composition en acides aminés essentiels - AAE - de ces Protéines. En effet, des publications assez anciennes font état de carence de ces protéines en certains de ces acides aminés, comme méthionine + cystine, et tryptophane. Les résultats obtenus montrent que la teneur en chacun des acides aminés indiqués est pour la plupart des Protéines Végétales étudiées, comparable aux valeurs préconisées par les dernières recommandations FAO/OMS (profil type des Besoins en ces AAE pour les enfants et adultes).

Tableau 5 : Spécifications des protéines végétales - MPV - recommandées par le GEPV.

2.2 - Quelques considérations sur les propriétés des protéines végétales : notion de nutrifonctionnalité

a) Propriétés nutritionnelles

La présentation de ces propriétés faisant l'objet de développement dans d'autres chapitres de ce Dossier, nous souhaitons simplement rappeler ici que le Rapport d'un Comité d'Experts du Codex Alimentarius FAO/OMS des protéines végétales publié en 1990 a préconisé d'utiliser, comme moyen d'expression de la valeur nutritive, le “ Protein Digestibility Corrected Amino-Acid Score ” (PDCAAS aussi appelé Index Di-Sco). En effet cet Index est un moyen simple, bien standardisé, relativement peu coûteux et fiable d'expression de cette valeur. S'appuyant sur les données de ce Rapport, Dillon a fourni dans une étude publiée aux *Cahiers de Nutrition et Diététique* les Index Di-Sco de diverses protéines alimentaires, qui sont regroupées au tableau 6. On voit que la valeur nutritive des Protéines Végétales citées exprimée par cet Index est tout à fait satisfaisante.

en %	Protéines (N x 6,25)	Digestibilité réelle	Score chimique	Indice DI-SCO
Concentré de soja	70	95	100	99
Concentré de colza	68	95	98	93
Concentré de pois	57	92	79	73
Pois (entier)	14	83	82	68
Lentilles	28	84	62	52
Fèves	27	86	55	47
Pois chiches	21	88	81	71

D'après J.C. DILLON, Cahiers de Nutrition et de Diététique, XXVII, 1, 1992.

Tableau 6 : Valeur de l'Index Chimique Corrigé de la Digestibilité (index DI-SCO) de quelques protéines végétales.

Les résultats d' études en cours du GEPV sur le Di-SCO confirment ces valeurs. De même sont développées par ailleurs dans ce Dossier, les propriétés hypocholestérolémiantes des Protéines Végétales et leurs effets bénéfiques sur la santé ; sujets qui donnent actuellement lieu à de nombreuses publications, communications, congrès, etc... ; entre autres, *le 1er Symposium International sur le rôle du soja dans la prévention et le traitement de maladies chroniques*, tenu à Mesa, Arizona, en 1994, et dont les Actes sont disponibles sous la forme d'un numéro spécial du *Journal of Nutrition* publié en 1995 ; et le second Symposium sur ce thème, tenu à Bruxelles en septembre 1996, et dont les Actes sont en cours d'impression.

b) Propriétés fonctionnelles

Ces propriétés qui font appel aux interactions entre les protéines et le milieu dans lequel elles se trouvent, sont tout à fait intéressantes car elles permettent de préparer des solutions, gels, émulsions, mousses plus stables. De plus elles conduisent à des caractéristiques sensorielles (apparence, saveur, texture, perception en bouche ...) améliorées. Elles peuvent être avantageusement modifiées par des traitements comme la texturation, actuellement bien maîtrisés. Basées sur des interactions protéines/eau ou protéines/lipides, elles sont aussi influencées par le pH, la présence de sels, la température, la structure moléculaire des protéines. L'utilisation de protéines en poudre dans différents produits alimentaires au taux de 2 % environ, est basée sur leur pouvoir liant, leur dispersibilité en phase aqueuse, leur goût, leur stabilité aux différents traitements thermiques ou cryogéniques et leur tolérance

aux variations ioniques. Elles permettent de conférer aux aliments de la texture, de la jutosité, du moelleux.

La propriété fonctionnelle majeure des protéines texturées est leur capacité élevée d'hydratation et de rétention d'eau qui est de 2 à 3 fois leur propre poids. Les concentrés texturés qui sont les plus fréquemment utilisés, peuvent se présenter sous différentes formes : flocons, émincés ou morceaux. La vitesse d'hydratation varie en fonction du mode d'extrusion, de la température, de la nature du liquide d'hydratation. Dans le cas, par exemple, de préparation hachée à base de viande, il est important de les hydrater juste avant utilisation afin d'éviter tout risque bactériologique : les flocons et émincés s'hydratent dans l'ensemble en 15 et 20 mn, alors que les morceaux sont beaucoup plus longs à s'hydrater (de 1/2 h à plusieurs heures en fonction entre autres, de la dimension et de la température du liquide).

c) La nutrifonctionnalité des Protéines Végétales

Les applications des Protéines Végétales étant basées sur leurs propriétés tant nutritionnelles que fonctionnelles, elles bénéficient dans tous les cas de l'ensemble de ces propriétés qui sont étroitement liées.

D'où le concept de nutrifonctionnalité qui a été généré par le GEPV et qui a été le thème de son Colloque au SIAL 1992. Les exposés présentés ont visé à démontrer le caractère indissociable des deux types de propriétés.

Depuis, cette notion a fait son chemin et est rentrée dans la "panoplie" de l'image des MPV résumée dans le tableau 7. Ce tableau reprend l'ensemble des intérêts nutritionnels et fonctionnels - donc nutrifonctionnels - des Protéines Végétales conduisant aux applications qui vont être ci-après brièvement passées en revue.

2.3 - Utilisation des protéines végétales dans les produits alimentaires

L'intérêt des Protéines Végétales est multiple : elles permettent la formulation équilibrée, et facilitent la préparation et la conservation de produits alimentaires divers ; elles maintiennent ou élèvent l'apport protéique tout en réduisant l'apport lipidique, et donc calorique ; elles conservent, voire améliorent leurs caractères sensoriels (goût, jutosité, moelleux, texture, craquant etc ...) et ce dans des conditions économiques compétitives. Les exemples suivants illustrent la diversité de ces applications dans différents secteurs des IAA.

Tableau 7 : Résumé des intérêts fonctionnels et nutritionnels et principales applications en résultant.

(Source : GEPV)

a) Produits à base de viande

C'est dans ce domaine que l'utilisation des Protéines Végétales est la plus importante. En effet, on trouve sur le marché de nombreux types de produits carnés dans la formulation desquels les MPV sont présentes à un pourcentage de l'ordre de 20 à 30 %. Il s'agit principalement de préparations hachées à base de viande de boeuf (type hamburgers), porc, mouton, veau, volaille..., à griller, rôtir ou frire. Ces préparations sont employées : telles quelles, panées, pour des sauces (type "bolognaise" ...), comme farces, dans les potages, les soupes, les plats cuisinés etc. Les MPV sous forme texturées sont les plus utilisées car elles possèdent après réhydratation une texture très voisine de celle de la viande hachée. Comme indiqué plus haut, elles permettent d'augmenter l'apport protéique et d'abaisser le taux de lipide

du produit, tout en contribuant à son moelleux et sa jutosité, donc à sa qualité gustative. Le tableau 8 présente la composition comparée d'un hamburger avec 20 % de protéines végétales réhydratées et d'un steak haché pur boeuf.

Tableau 8 : Composition comparée d'un hamburger avec des protéines végétales et d'un steak haché pur boeuf.

(D'après A. Uzzan et P. Delfly, 1996).

b) Produits de charcuterie

De par leurs propriétés liantes et émulsifiantes, les protéines végétales en poudre, sous forme de concentrés et isolés sont largement utilisées dans les produits de charcuterie cuite à la dose optimale de 2 %. On les emploie notamment pour la fabrication de pâtes fines, en solution, ou dans des émulsions grasses à froid ou à chaud pour des pâtés, terrines, etc... Par exemple dans la formule d'une saucisse à pâte fine, type saucisse de Strasbourg, on pourra trouver 2 % de concentré de soja qui joue le rôle de liant, à coté de maigre de boeuf, gorge et gras de porc etc, avec les condiments nécessaires (sel, épices, aromates, etc...). Par rapport à d'autres liants comme les caséinates, plasma sanguin... les protéines végétales en poudre donnent des résultats tout à fait comparables et satisfaisants ; leur compatibilité avec d'autres ingrédients et additifs permet de créer des synergies fonctionnelles intéressantes. Ces produits en poudre sont également utilisés dans les saumures de malaxage et d'injection pour la fabrication de produits type rôtis cuits, par exemple rôti cuit de dindonneau. La présence de concentré de soja à 1 % dans la saumure apporte des avantages au niveau de la texture du produit fini.

La brochure " Le Noble Art des Protéines " publiée par le GEPV en 1990 donne de nombreux autres exemples d'emploi dans des produits de viande et de poisson.

c) Produits de cuisson céréaliers

Dans ce domaine aussi, les applications des MPV sont nombreuses et variées ; elles sont aussi parmi les plus anciennes. Il faut rappeler, en effet que le gluten est un constituant à part entière et, estiment certains, irremplaçable, du pain auquel il apporte ses propriétés de levée et de visco-élasticité. De même les farines de fèves et celles de soja crues ont été et sont toujours employées en boulangerie

pour leur apport en lipoxigénase qui joue un rôle déterminant dans le blanchiment des pâtes. Déjà en 1978, à la toute-première Journée d'Etude du GEPV, plusieurs interventions avaient permis de faire le point de ces applications. Plus récemment, au Colloque GEPV/SIAL 1990, a été rapporté le cas d'un pain dans lequel l'ajout de 20 % de farine de soja à la formule d'un pain de mie a conduit à une augmentation sensible de la teneur en protéine qui passe de 8 à 17 %. Ceci se traduit aussi par un meilleur équilibre des acides aminés essentiels puisque la lysine de la protéine de soja permet d'élever l'apport du pain en cet acide aminé dont la farine de blé est déficiente. Des applications à rapprocher de cette dernière sont celles des pains enrichis au soja employés pour le School Lunch Program aux USA, et des pains, biscuits et biscottes riches - ou même très riches - en protéines. Leurs caractéristiques et compositions ont été décrites au Colloque GEPV/SIAL de 1992 : pains à 30 %, biscottes hyperprotidiques à 50 % de protéines, etc..., qui peuvent être assimilés à des produits diététiques.

D'autres applications sont basées sur les propriétés fonctionnelles et nutrifonctionnelles : pratiquement tous les produits céréaliers sont concernés : depuis la panification fine, pains spéciaux (par exemple pains pour hamburgers), biscottes et biscuits, jusqu'aux pâtisseries à « pâtes jaunes » (fondants, cakes, madeleines, génoises) et les viennoiseries (croissants, brioches, pains de mie), en passant par les pâtes feuilletées (friands, bouchées, chaussons), les pâtes à frire, gaufres, gaufrettes, crêpes, céréales pour petits déjeûners, pâtes alimentaires... etc. On pourra, ici aussi, consulter les fiches techniques jointes à la brochure « Le Noble Art des Protéines ». Les Protéines employées sont variées : farines de soja, normales ou grasses (y compris les farines lécithinées), de fèves, lupin, pois ; concentrés et isolés ...

d) Produits alimentaires élaborés et plats cuisinés

Pour les formulateurs des IAA, les Protéines Végétales offrent de multiples possibilités liées au savoir-faire et à l'esprit d'innovation de l'équipe Recherche et Développement et des laboratoires d'application. Plusieurs recettes de produits nouveaux et originaux sont données dans le chapitre Applications des Protéines Végétales (A. Uzzan et P. Delfly) de l'ouvrage *Les Protéines Végétales*, par Godon et al (2^{ème} édition, 1996). Parmi elles :

- un « plat de soja hongrois 100 % végétal », avec 4 % de concentré texturé de soja,
- un produit type « crème de Genevrier », avec 7 % de concentré texturé de soja,
- un produit type « crème glacée végétale », avec 3 % de concentré fonctionnel,
- un produit type « fromage à tartiner », avec 10 % d'une préparation à base de protéines végétales et laitières,
- un produit type « batonnet de poisson », avec 5 % de concentré texturé de soja et 77 % de filet de morue.

La réussite de ces recettes du point de vue culinaire et économique réside essentiellement dans le savoir-faire et l'expérience du formulateur, et les échanges entre le producteur des protéines et l'utilisateur.

e) Produits diététiques et de régime

La composition et les propriétés des ingrédients protéiques végétaux en font des produits fort intéressants :

- leur apport élevé ou très élevé en protéines - de 50 à 90 % sur sec - bien équilibrées pour ce qui est de leur apport en acides aminés essentiels (sauf pour les nourrissons), en fait un composant de choix pour les aliments hyperprotéiques ;

- leur teneur très faible en lipides - de 1 à 2% et parfois moins, sauf pour les produits dits gras - en fait un nutriment bien adapté pour les produits hypocaloriques ; elles peuvent aussi servir de "support" à un lipide particulier, par exemple riche en acides gras polyinsaturés ou à chaîne moyenne ;

- l'absence de tout produit d'origine animale en fait un composant de choix pour les régimes végétariens et végétaliens ;

- leur richesse en fibres végétales et la possibilité de "réguler" leurs fractions minérale et glucidique ouvrent les applications dans aliments de régimes riches en fibres, hyposodés, et hypoglucidiques.

Les produits diététiques destinés à une alimentation particulière peuvent être subdivisés en deux classes principales : ceux destinés à des personnes en traitement ou suivies médicalement, qui ont plus ou moins un caractère thérapeutique et ceux destinés à des consommateurs sains pour des besoins de forme, minceur, efforts... Les premiers comprennent (Rochette de Lempdes, *in* Séminaire CPCIA/GEPV 1993) : les aliments de l'enfance, notamment pour la gastroentérologie pédiatrique, les aliments d'appoint pour nourrissons et enfants en bas âge, les aliments pour adultes à environnement hospitalier, les aliments ou compléments alimentaires pour personnes âgées hospitalisées ou pas, et les aliments spéciaux de diététique hospitalière pour adultes ou Medical Foods. Des exemples de formulation de ces différentes spécialités ont été publiés par le même auteur, avec en particulier la nature des protéines végétales utilisées (le plus souvent isolés de soja), leur pourcentage et les conditions d'emploi. Les protéines employées dans les aliments pour nourrissons sont enrichies en le ou les acides aminés essentiels nécessaires.

L'alimentation des personnes âgées ou très âgées est souvent déficiente en protéines. Récemment sont apparus sur le marché des plats cuisinés à texture modifiée pour patients âgés ayant des difficultés à s'alimenter. Les recettes proposées vont de "la mousseline de jambon aux petits pois", jusqu'aux "délices de colin aux légumes" ; dans leur formule une partie de l'apport protéique est sous forme de protéines végétales.

On trouvera d'autres exemples d'application des isolés de soja dans des préparations pour alimentation infantile (laits, farines, petits pots ...) dans diverses publications du GEPIV. Par ailleurs, le caractère hypocholestérolémiant des Protéines Végétales a été mis à profit dans quelques spécialités pharmaceutiques prescrites dans le cadre d'une diète pour sujets à cholestérol élevé ou à risque (non disponible en France, à notre connaissance).

Il faut souligner ici le rôle des Protéines Végétales dans l'amélioration de l'état sanitaire de populations dénutries et mal nourries. Dans les pays où la famine et la malnutrition sévissent, les programmes nutritionnels de l'OMS, l'UNICEF et des Organisations Non Gouvernementales ont largement fait appel à elles, notamment dans les aliments lactés ou de sevrage.

f) Produits de la forme et du bien-être, petits déjeuners, produits festifs, de grignotage

Un des faits marquant de cette fin de siècle est l'importance que le consommateur accorde à sa santé et à tout ce qui contribue à sa forme (Nicole Becarud in *O.C.L.* 3, 1, 29/31). D'où l'importance de ces produits porteurs d'images de santé et bien-être, destinés à une population de plus en plus large de jeunes comme d'adultes. Ils résultent pour beaucoup de recommandations diététiques basées sur l'équilibre nutritionnel ; parfois celles-ci sont des convictions idéologiques, philosophiques ou religieuses (alimentation végétarienne, végétalienne, ...), ou encore leurs caractères festif et de commodité qui prévalent.

Ci-après, une liste non exhaustive de quelques produits incluant des protéines végétales comme ingrédients :

- les produits hypocaloriques ou "minceur" destinés aux régimes amaigrissants et comprenant des potages, barres céréalières, desserts ... dans lesquels l'apport protéique représente 20 à 30 % (en poids) ; les protéines utilisées étant souvent un mélange de protéines laitières et végétales ; biscuits "coupe-faim", par exemple à base de soja.

- les spécialités pour l'effort intense, sportif notamment, hyperprotidiques, pouvant contenir jusqu'à 80 % de protéines (de lait et/ou soja) ; spécialités pour végétariens : galettes, saucisses et autres préparations végétales. Parmi les produits de niches ayant un caractère plus festif ou de commodité et utilisant les Protéines Végétales on peut citer les amuse-gueules, et produits pour apéritifs, les produits pour petits déjeuners, les goûters et boissons pour les jeunes. Les Protéines Végétales utilisées sont le plus souvent des isolés et concentrés, par exemple de soja, en raison de leur apport élevé de protéines de bonne valeur nutritive et fonctionnelle. Dans les goûters, produits pour apéritifs et amuse-gueules, ce sera les farines et concentrés texturés de soja, fèves, lupin ..., en raison de leur caractère craquant ou croquant. Dans d'autres, ce sera le gluten.

Pour satisfaire ces besoins, les producteurs de Protéines Végétales ont été amenés à diversifier les caractéristiques de leurs ingrédients. C'est ainsi qu'ils proposent dans leurs catalogues, des MPV de plus en plus nombreuses et variées en spécifications et propriétés répondant à des critères particuliers. Les produits nouveaux augmentent d'année en année ; dans certains cas, on peut aller jusqu'à faire du "sur mesure" ; et depuis peu, pour certaines applications, sont apparus des produits protéiques mixtes, mélange de protéines végétales et laitières. D'autre part, il importe dans la mise au point des formules et recettes de certains produits alimentaires, de veiller à éviter toute sorte de carence : d'où l'intérêt et l'importance d'une bonne coopération entre fournisseurs et utilisateurs pour la mise au point de produits parfaitement équilibrés, bons et sains.

2.4 - Quelques considérations sur la réglementation

Pour beaucoup d'utilisateurs de Protéines Végétales, la réglementation est encore assez confuse. Ceci peut s'expliquer par le fait que les Protéines Végétales sont des produits relativement nouveaux ; il n'y a en effet, que 20 à 25 ans qu'elles sont commercialisées et utilisées dans les IAA, et ce secteur est en continuelle évolution. De plus l'enchevêtrement des réglementations nationales, communautaires et internationales n'a pas simplifié les choses.

Tout d'abord, il importe de préciser que les Protéines Végétales sont des ingrédients alimentaires, et non des additifs. Elles ne nécessitent donc pas d'autorisation d'emploi. La France a été un des premiers pays à avoir édicté ce principe dans la Circulaire DGAF/SRF C 1375 du 27 août 1975 - modifiée en 1977 - qui définit les Protéines Végétales, leurs dénominations et conditions générales d'emploi.

La réglementation proprement dite porte principalement sur les définitions des Protéines Végétales, les limites à leur incorporation, et la dénomination des produits alimentaires en contenant. Pour ce qui est des deux derniers points, il faut distinguer les cas où les Protéines sont utilisées comme

ingrédient fonctionnel (ou technologique), de ceux où elles sont employées comme composant nutritionnel protéique, en tant que source unique ou complémentaire (avec des produits d'origine animale, lait, viandes, oeufs ...) de protéines. Dans le premier cas, il y a consensus sur le fait qu'elles peuvent être employées à une teneur de l'ordre de 2 à 3 %, sans modification de la dénomination du produit alimentaire. Leur présence est indiquée dans la composition centésimale donnée sur l'étiquette.

Lorsqu'elles sont utilisées comme ingrédient nutritionnel, les réglementations diffèrent selon le type d'aliment et les pays, et il est préférable de se renseigner auprès des administrations ou organisations compétentes :

- Pour les préparations à base de viande et viandes hachées : le Code des Usages du Syndicat de l'Industrie de la Viande, SNIV, et celui du Centre Technique de la Viande et des Produits Carnés, CETEVIC. La réglementation française actuelle et les usages limitent à 30 % la teneur en protéines végétales lorsque la dénomination du produit inclut les expressions " à base de viande ", ou "produits carnés".

- Pour les charcuteries : le Code des Usages de la Salaison, de la Charcuterie, et des Conserve de Viandes du CTSCCV, qui en fonction du type de charcuterie, et des emplois (ingrédients ou liants) précise la nature, et le pourcentage de protéines pouvant être employé. Les conditions de dénomination et d'étiquetage sont spécifiques à chaque cas.

- Pour les plats cuisinés : les usages de la profession tenus à jour par le Centre Technique de la Conserve des Produits Agricoles.

- Pour les produits de panification, biscuits, pâtisseries, ... : aucune limitation sous réserve de respecter les règles d'étiquetage.

- Pour les aliments diététiques et de régime : la Commission d'Etude des Produits Destinés à une Alimentation Particulière - CEDAP - étudie tous les aspects réglementaires relatifs à ces aliments ; qu'il s'agisse de produits diététiques et de régime *stricto sensu* ou d'aliments spécifiques, préparations pour nourrissons et préparations de suite (arrêté du 11 janvier 1994, J.O. du 15 février 1994), produits diététiques destinés à une alimentation particulière ou produits de l'effort (arrêté du 20 juillet 1991 et décret 91/827 du 29 août 1991).

Ces textes sont bien entendu en conformité avec les Recommandations du Codex Alimentarius FAO/OMS relatives aux aliments diététiques (Alinorm 91/26) et la Directive du Conseil de la CE en date du 3 mai 1989.

RESUME

. Propriétés fonctionnelles des protéines du lait

Dans l'alimentation moderne d'assemblage, et plus particulièrement au cours des opérations de formulations, une bonne connaissance des propriétés technofonctionnelles des protéines laitières permet de maîtriser l'utilisation des ingrédients dans la confection de nombreux produits nouveaux. L'apparition de nouvelles techniques industrielles de fractionnement et de purification doit être également un facteur favorable pour l'utilisation de nouvelles protéines dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques. Par rapport à d'autres sources protéiques, les protéines du lait gardent de nombreux atouts en raison aussi de leur neutralité (absence de goût et de facteur antinutritionnel) et de leur connotation positive auprès du consommateur.

. Utilisation des protéines végétales dans les industries alimentaires

Les protéines végétales, également appelées Matières Protéiques Végétales, en abrégé MPV, sont devenues un ingrédient utilisé par de nombreuses branches des industries alimentaires. Les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des Matières Protéiques Végétales, justifiant leur intérêt, sont beaucoup mieux connues et appréciées. Aussi leurs domaines d'utilisation se sont-ils régulièrement élargis au cours des dernières années, au point que l'on compte à présent en France plus de mille références de produits alimentaires commercialisés, dans la composition desquels est annoncée leur présence (pas loin de 1 200, d'après le Bilan de Référence réalisé par le GEPV durant l'été 1995 ; et de 1 400 dans celui réalisé en 1997).

III - MODIFICATIONS DES PROTEINES ALIMENTAIRES

MEUNIER J.C., FOUQUES D.

Les modifications des protéines alimentaires peuvent être classées en deux grandes catégories : les modifications au cours des traitements technologiques et de l'entreposage des produits et les modifications dirigées.

1 - MODIFICATIONS AU COURS DES TRAITEMENTS TECHNOLOGIQUES ET DE L'ENTREPOSAGE

1.1 - Traitements thermiques

a) Dénaturation

Le traitement thermique modéré des protéines provoque leur dénaturation avec perte de leurs activités biologiques sans modification de la structure primaire. Le dépliement lié à la dénaturation favorise la digestion par les protéases (globulines 7S et 11S du soja, collagène, ovalbumine). Les facteurs antinutritionnels et les toxines protéiques perdent leurs activités biologiques : les inhibiteurs de Kunitz et de Bowman (inhibiteur de la trypsine) dans le soja qui engendrent un déficit en acides aminés soufrés dans un régime à base de soja ; les phytohémagglutinines (lectines) des légumineuses qui, se fixant sur les glucides des membranes des entérocytes de la bordure en brosse de l'intestin, limitent l'absorption des acides aminés ; la toxine botulique (inactivée à 100°C). Le blanchiment des produits végétaux conduit à l'inactivation d'enzymes (lipases, protéases, lipoxygénases, polyphénol oxydases, peroxydases) responsables de l'apparition d'odeur et de couleur indésirables.

b) Réaction de Maillard (1912) ou brunissement non enzymatique

C'est par une note aux Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences que Maillard en 1912 décrit la réaction sucre-acide aminé. Cette réaction, oubliée après sa description, est redécouverte vers 1950 par des chercheurs américains qui s'intéressaient au brunissement consécutif au chauffage de produits

alimentaires. Elle décrit l'action d'une amine (les groupes aminés libres des acides aminés ou des protéines, par exemple) sur la fonction aldéhyde d'un ose réducteur avec formation de glycosylamines. Selon la nature chimique des amines, les glycosylamines sont relativement stables ou instables, et dans ce cas se transforment en composés d'Amadori (cétones, amines stables).

Ces composés sont présents dans les aliments chauffés ou simplement entreposés. On les trouve aussi dans le corps humain, et en grande quantité chez les diabétiques.

Depuis la découverte du feu par l'homme, cette réaction est intimement liée à l'art culinaire. Elle permet de révéler les qualités sensorielles de beaucoup de mets : pain et viande grillés, café fraîchement torréfié, reflets bruns de certaines bières, et d'une manière générale la réaction de Maillard est à l'origine de l'apparition de propriétés organoleptiques agréables dans des produits alimentaires exposés à la chaleur. Cependant, cette réaction est aussi impliquée dans la formation de composés mutagènes et dans la réduction de la valeur nutritive d'aliments (diminution de l'apport de lysine).

Les composés soufrés (sulfites, acide thioglycolique, cystéine) sont de bons inhibiteurs de la réaction de Maillard. Cependant leur utilisation en technologie alimentaire est limitée par l'altération de l'arôme des aliments qu'ils provoquent. Ils réagissent avec les groupes carbonyle qu'ils bloquent.

c) Interactions protéines-protéines

A pH alcalin, un traitement thermique modéré conduit à la formation de nouveaux acides aminés, comme la lysinoalanine et la déhydroalanine. Celle-ci, très réactive, entraîne la formation de ponts covalents intra et (ou) intermoléculaires. Il en résulte une structure tridimensionnelle plus compacte de la molécule ou l'apparition de protéines de masse moléculaire élevée. Les protéases agiront plus difficilement, avec pour conséquence une diminution de la valeur nutritive.

d) Effets divers

La stabilité de la liaison peptidique à l'hydrolyse au cours des traitements thermiques dépend de la nature des acides aminés impliqués dans la liaison. La liaison Asp - X est relativement peu stable (hydrolyse à 80°C). Le résultat est la formation de peptides, même au cours de traitements peu sévères. Une autre conséquence de ceux-ci, mais à température plus élevée, est la racémisation des acides aminés. Or les acides aminés indispensables D n'ont pas de valeur nutritionnelle et les liaisons peptidiques impliquant de tels acides aminés sont plus difficilement hydrolysables que celles impliquant les L. Par exemple, pour l'acide aspartique, la proportion de l'énantiomère D peut atteindre 20 % de l'acide aspartique total (L+D) dans des aliments ayant subi un traitement thermique modéré.

Les transformations de certains acides aminés sont fonction de la température : par exemple à 115°C, le sulfure d'hydrogène provenant des résidus cystéine et cystine contribue à l'arôme des aliments ; à 200°C, il y a destruction de ces résidus. Les résidus glutamine et asparagine, par désamidation, contribuent principalement à la libération d'ammoniac (température > 100°C). Le tryptophane est très sensible à la chaleur, et à 200°C il est transformé en un dérivé cyclique mutagène.

1.2 - Oxydants

Le peroxyde d'hydrogène et l'hypochlorite de sodium sont les principaux oxydants utilisés en technologie alimentaire susceptibles de modifier les protéines. L'oxygène atmosphérique, partout présent, est un puissant oxydant qui directement ou indirectement modifie chimiquement les protéines alimentaires. Nitrites et sulfites (additifs) sont aussi des oxydants.

a) Action des oxydants autres que l'oxygène

Ils agissent spécifiquement sur certains acides aminés. Le peroxyde d'hydrogène et l'hypochlorite de sodium oxydent les résidus de méthionine (en méthionine sulfone), d'acides aminés soufrés (en divers acides cystéiques), de tryptophane, et à un degré moindre les résidus de tyrosine et d'histidine. Quelques unes des nitrosamines formées par oxydation d'acides aminés par les nitrites sont de puissants carcinogènes.

b) Action de l'oxygène

Il oxyde le tryptophane et la méthionine à température élevée. Mais son action est essentiellement indirecte : il oxyde des substrats non protéiques avec l'aide d'enzymes en molécules très réactives. Celles-ci oxydent ensuite les protéines.

- Système lipoxygénase (LOX)

La LOX catalyse l'oxydation par l'oxygène des acides gras polyinsaturés, comme l'acide linoléique, l'acide linoléique et l'acide arachidonique pour donner des hydroperoxydes. Dans le mécanisme de formation des hydroperoxydes, il se forme transitoirement des radicaux libres R - OO[•] qui avec une protéine P donnent [•]R- OO- P ou un radical libre P[•]. Des réactions de polymérisation s'ensuivent conduisant à des polymères de lipoprotéines et de protéines.

- Système polyphénol-oxydase (PPO)

L'activité catécholase de la PPO permet l'oxydation des catéchols en quinones. Cette enzyme est responsable du brunissement enzymatique des produits végétaux. La réactivité des quinones (puissants oxydants) sur les protéines conduit aux mélanines, à coloration brune avec apparition de saveurs désagréables.

1.3 - Fractionnement

Les procédés de purification, de concentration et de séparation utilisés pour obtenir à partir de la matière première végétale des isolats et des concentrats peuvent conduire à la perte d'acides aminés et donc à un produit final dont la composition en acides aminés sera différente de la matière première. Un effet bénéfique du fractionnement pour le soja (et les légumineuses en général) est l'élimination d'oses comme le raffinose et le stachyose qui, fermentant dans le côlon, sont à l'origine de flatulences. Les facteurs antinutritionnels (lectines, inhibiteurs de protéases) et les protéines toxiques seront soit éliminés, soit concentrés au cours du fractionnement.

2 - MODIFICATIONS DIRIGÉES

Les modifications dirigées visent à produire de nouvelles protéines en fonction d'objectifs définis : amélioration des propriétés fonctionnelles et des propriétés nutritionnelles des protéines natives. Deux outils sont actuellement à la disposition des chercheurs pour atteindre ces objectifs : l'outil enzymatique et l'outil génétique. Un troisième outil a été largement utilisé dans le passé, l'outil chimique. Mais des craintes concernant des effets liés à la toxicité des réactifs chimiques utilisés et aux réactions secondaires indésirables ont conduit à abandonner cette piste. L'utilisation des enzymes pour manipuler les propriétés fonctionnelles des protéines permet de surmonter ces problèmes. Quant à l'outil génétique, il n'est utilisé que pour cloner ou modifier des gènes d'enzymes utilisées pour la transformation de la matière première agricole. Il n'est pas encore utilisé industriellement pour modifier des protéines alimentaires.

2.1 - Modifications enzymatiques

Jusqu'à une date assez récente, on a principalement utilisé des enzymes hydrolytiques pour modifier les protéines. La mise en oeuvre d'enzymes non hydrolytiques remonte à une douzaine d'années.

a) Les hydrolases

Les peptides obtenus par protéolyse sont fonction de la protéine, de la protéase et des conditions expérimentales de l'hydrolyse. Les hydrolyses des liaisons peptidiques sont accompagnées d'un réarrangement structural important. Les peptides formés peuvent alors posséder de nouvelles propriétés biologiques, fonctionnelles et nutritionnelles. L'industrie laitière, celle de la viande et des boissons utilisent des hydrolysats de protéines. Comme certains peptides ont acquis des propriétés biologiques, ils intéressent aussi la pharmacie.

- Chymosine et texturation

La première utilisation dans l'histoire de l'humanité d'une enzyme pour modifier une protéine a été la chymosine. Cette protéase est le principe actif principal de la présure. Elle hydrolyse la liaison Phe 105 - Met 106 de la caséine κ . Il s'ensuit la coagulation des micelles de caséine du lait. La présure réalise donc la texturation des protéines du lait.

- Hydrolyse des protéines de céréales

Pepsine, trypsine, chymotrypsine, papaïne sont les enzymes les plus employées pour modifier les protéines de céréales. On obtient à partir du gluten des hydrolysats contenant des peptides de masse comprise entre 7 et 33 kDa, l'objectif étant d'obtenir des additifs alimentaires. En effet certains peptides possédant des propriétés tensio-actives pourraient être utilisés comme agents de stabilisation de mousses ou d'émulsions.

Par traitement d'un hydrolysats de zéine de maïs par une ou plusieurs endopeptidase(s) dans des conditions définies, on obtient des plastéines. Ces nouvelles protéines sont formées par des réactions de transpeptidation. On peut aussi incorporer de la lysine ou de la phénylalanine dans la zéine dissoute dans le toluène en présence de 1 % d'eau et de papaïne en faisant fonctionner la protéase dans le sens de la synthèse. On obtient des plastéines enrichies en ces acides aminés.

- Hydrolyse des protéines du lactosérum

On peut augmenter la sensibilité de la β -lactoglobuline à l'attaque protéolytique par estérification des résidus aspartyle et glutamyle. Une hydrolyse par la pepsine et la trypsine permet de formuler de nouvelles protéines ou populations protéiques. Les peptides estérifiés obtenus ont des propriétés physico-chimiques, physiologiques et biologiques particulières.

- Les peptides biologiques actifs

Ces peptides bioactifs sont issus des protéines alimentaires : celles-ci seraient donc des précurseurs de ces biopeptides qui seraient libérés *in vivo* au cours de la digestion. Parmi les activités trouvées dans les protéines alimentaires, on peut citer des activités anti-hypertensive, anti-thrombotique, immunomodulatrice, de transfert d'oligo-éléments, de modulation des fonctions digestives et inhibitrice d'enzymes. Les caséines α et β et les protéines de lactosérum sont sources d'exorphines (peptides opiacés). Des séquences phosphorylées des caséines (α_{s1} et β) sont caractérisées par un haut pouvoir de séquestration des minéraux. Les peptides localisés dans le segment N-terminal du glycomacropéptide sont capables d'inhiber l'agrégation plaquettaire, empêchant la formation du thrombus. Dans les caséines α , β et κ et la zéine, on trouve des peptides anti-hypertensifs. Le caséinomacropéptide stimule la libération de la cholécystokinine et des biopeptides issus des caséines α et β et de l' α -lactalbumine sont capables de stimuler, *in vitro*, la phagocytose.

Pour l'obtention de tels peptides, il faut choisir un substrat (protéine alimentaire), une protéase (choix stratégique fixé par les produits d'hydrolyse ciblés : chymosine, trypsine, chymotrypsine) et mettre en oeuvre des méthodes chromatographiques à haute performance (en phase inverse) ou l'électrophorèse capillaire pour séparer les peptides. Les techniques d'identification sont la composition en acides aminés, le séquençage et la spectrométrie de masse. Le réacteur enzymatique à membrane est un procédé de production privilégiée de ces peptides.

- Réactions de synthèse

L'utilisation des protéines pour réaliser l'opération inverse de l'hydrolyse des peptides et protéines permet la synthèse de petits peptides, comme par exemple les Leu et Met enképhalines (H_2N - Trp - Gly - Gly - Phe - Leu (Met) - $COOH$). Deux stratégies sont mises en oeuvre : les synthèses contrôlées cinétiquement et les synthèses contrôlées thermodynamiquement. Dans le premier cas on cherche à privilégier l'attaque du complexe enzyme-acyle par un nucléophile autre que l'eau. Dans le second cas, on déplace l'équilibre vers la synthèse en éliminant constamment le produit de la réaction (le peptide). Bien souvent, les réactions de synthèse par les protéases sont réalisées en milieu organique car d'une part l'activité de l'eau étant fortement diminuée, l'attaque du complexe enzyme-acyle par

l'eau est limitée (contrôle cinétique) et d'autre part les petits peptides formés étant souvent hydrophiles, le solvant organique permet le contrôle thermodynamique. Pour des oligomères synthétisés, insolubles dans l'eau (Leu, Met, Phe, Tyr), il faut au contraire opérer dans l'eau. En plus des enképhalines, on peut citer la synthèse par cette approche de l'aspartame (Asp - Phe) par la thermolysine (contrôle thermodynamique), d'oligomères de Lys ou de Met (10 résidus, papaine modifiée) ou de fragments d'hormones.

b) Les enzymes non hydrolytiques

On doit compter environ 150 modifications post-traductionnelles des résidus d'acides aminés dans les protéines. La question se pose de savoir quelles sont les réactions que l'on peut transposer *in vitro* pour modifier les protéines alimentaires. Le tableau 1 indique quelques enzymes potentiellement utilisables pour atteindre cet objectif. Parmi ces réactions, la phosphorylation, la déphosphorylation, la glycosylation et le pontage sont les principales réactions étudiées.

REACTION	ENZYMES IMPLIQUEES
Phosphorylation	Protéines kinases
Déphosphorylation	Phosphoprotéines phosphatases
Hydroxylation	Prolyl hydroxylase, lysyl hydroxylase
Glycosylation	Glycosyltransférases, nucléotidyltransférases
Déglycosylation	Glycosidases
Méthylation	Protéines méthyltransférases
Déméthylation	Protéines déméthylases
Acétylation	Protéines acétyltransférases
Désacétylation	Protéines désacétylases
Pontage	Transglutaminase, lipoxygénase, polyphénol oxydase, peroxydase, lysyl oxidase, protéine disulfure réductase, protéine disulfure isomérase, sulfhydryl oxydase

Tableau 1 : Exemples de réactions enzymatiques impliquant les chaînes latérales d'acides aminés liés aux protéines.

- Les réactions de pontage

De nombreuses enzymes catalysent les réactions de pontage entre protéines alimentaires. Certaines ont déjà été mentionnées dans la partie réservée aux modifications au cours des traitements technologiques. Les enzymes lipoxigénase (LOX), polyphénol-oxydase (PPO), protéine disulfure isomérase (PDI), présentes dans la matière première, peuvent être isolées et purifiées pour être utilisées *in vitro* pour modifier des protéines. Mais l'enzyme qui a fait le plus l'objet de travaux est la transglutaminase (TGase).

- *La transglutaminase (TGase)* : Elle catalyse la formation d'une liaison isopeptidique entre le résidu glutaminyle et le résidu lysyle avec libération d'ammoniac. Quand ces deux résidus appartiennent à deux molécules différentes de protéine, la réaction conduit à un pontage des deux molécules par une liaison ϵ (γ -glutamyle) lysyle. La répétition de cette réaction conduit à des polymères de masse moléculaire élevée, homo si les protéines sont identiques, hétéro si elles sont différentes. De nombreuses protéines alimentaires ont été traitées à la TGase : globulines de soja, légumineuses de pois, RuBisCO, caséines, myosine, actine, protéines de lactosérum. Les sources d'enzyme sont le foie de cobaye, le placenta humain ou le sang de boeuf (FXIII), un microorganisme, le lupin. Comme la spécificité des TGases dépend de leur origine, la connaissance de plusieurs TGases permet de disposer d'une banque d'enzymes, disponibles pour modifier un grand nombre de substrats.

Le pontage des protéines par la TGase peut conduire, sous certaines conditions expérimentales, à la réticulation des molécules avec formation d'un gel. Un tel gel a été obtenu, par exemple, avec la globuline 7S du soja et la légumine de pois. On dispose ainsi d'un outil pour texturer des protéines.

En absence d'accepteur du groupe acyle (une amine), on obtient une désamidation de la glutamine. C'est l'eau qui sert alors d'accepteur. Cette réaction est intéressante car elle modifie la charge nette de la protéine (démasquage de groupes-COOH). Des taux de désamidation de 37% ont été obtenus sur des gliadines, avec parallèlement une augmentation de leur solubilité.

Quand l'accepteur d'acyle est un oligomère d'acide aminé, il s'ensuit son incorporation dans la protéine. On a ainsi pu obtenir des protéines enrichies en lysine.

- *Lipoxigénase (LOX), polyphénol-oxydase (PPO), peroxydase* : On a déjà vu par quels mécanismes la LOX réalise des pontages entre protéines. La PPO oxyde les catéchols (activité catécholase) ou les Tyr des protéines en benzoquinones. Celles-ci, très réactives, vont réagir sur des résidus lysyl, cystéyl, histidyl de molécules de protéines. Les ponts entre molécules sont constitués par le noyau benzénique. La peroxydase lie aussi les protéines par les résidus tyrosyl (ponts d'isodityrosine). Très peu de travaux ont été consacrés à la modification *in vitro* des protéines par ces enzymes. On a surtout étudié leurs effets sur l'amélioration des pâtes boulangères.

- Phosphorylation et déphosphorylation

Les protéines kinases sont des enzymes qui catalysent la phosphorylation de diverses protéines en présence, au minimum, d'ATP. La fixation d'un groupe phosphoryle sur une protéine modifie sa charge nette, donc son point isoélectrique. Les protéines présentent le minimum de solubilité à leur pI. En modifiant la valeur de celui-ci, il devient possible d'augmenter leur solubilité au pH correspondant à leur pI par phosphorylation. On peut espérer améliorer d'autres propriétés fonctionnelles comme le pouvoir émulsifiant, l'aptitude à gélifier en présence de cations (calcium) ou l'aptitude à fixer du fer.

L'enzyme utilisée est la caséine kinase II (CKII) de *Yarrowia lipolytica*. Elle phosphoryle sur sérine et thréonine. Une deuxième protéine kinase de la même levure, la tyrosine kinase phosphoryle sur Tyr. L'utilisation de la CKII a permis de phosphoryler les globulines de soja et de surphosphoryler des caséines totales. Une ouverture intéressante serait la phosphorylation des protéines du gluten pour augmenter leur solubilité.

Les protéines phosphatases permettent de déphosphoryler des protéines phosphorylées comme les caséines et la phosvitine du jaune d'oeuf. L'intérêt est identique à celui des protéines-kinases: modification de la charge nette de la protéine. L'outil enzymatique utilisé est une phosphatase PP2A de *Yarrowia lipolytica*. Elle déphosphoryle avec une bonne efficacité la phosvitine.

La phosphatase alcaline a aussi été utilisée pour réaliser la déphosphorylation partielle des caséines du lait : augmentation du pI des caséines.

- Enzymes hydrolytiques et non hydrolytiques pour les glycosylations

On ne reviendra pas sur les glycosylations *in vivo* des protéines. Pour fixer une unité glycosyle à une protéine, trois solutions s'offrent : les glycosyltransférases, les TGases et les glycosidases.

- *Glycosyltransférases* : Ce sont les enzymes qui *in vivo* réalisent la glycosylation des protéines dans l'appareil de Golgi. Alors que la synthèse des N-glycoprotéines exige un intermédiaire lipidique, le dolichol, celle des O-glycoprotéines n'en nécessite pas. Le donneur du groupe glycosyle est un nucléotide ose (UDP-Gal, UDP-Glc...). L'instabilité, la très grande spécificité, la disponibilité commerciale très limitée des glycosyltransférases et le coût encore très élevé des glycosylnucléotides ne permettent pas d'envisager l'utilisation courante de ces enzymes comme solution à la glycosylation *in vitro* des protéines.
- *Les TGases* : Outre les réactions de pontage déjà décrites, les TGases catalysent la formation d'une liaison covalente entre les protéines et de petites molécules, comme des acides aminés et des oses. Par exemple, la TGase de foie de cobaye a été utilisée pour attacher de façon covalente des unités glycosyle (6 amino-héxyle-1thio- β -D galactopyranoside) aux résidus Gln de la légumine de pois et des β -gliadines de blé. On aboutit à un taux de glycosylation des Gln de 25,7 % pour la légumine et

15,7 % pour les gliadines. Cette glycosylation conduit à une nette augmentation de leur solubilité au voisinage de leur pI. L'utilisation des TGases pour la glycosylation *in vitro* des protéines se limite à des études analytiques en laboratoire et n'est pas envisageable à l'échelle industrielle. Se pose encore le problème de la disponibilité à coût faible de cette enzyme, bien qu'elle ait été clonée dans différents micro-organismes.

- *Les glycosidases* : *In vivo*, elles catalysent les réactions d'hydrolyse des glycanes. *In vitro*, dans certaines conditions expérimentales, elles peuvent catalyser les réactions inverses et de transfert. La situation est identique à celles des protéases pour les réactions de synthèse. Le contrôle cinétique conduit à des réactions de transglycosylation. Le contrôle thermodynamique permet l'inversion de la réaction de synthèse. En fait on pourra réaliser une telle réaction inverse non pas avec une protéine et un glycane, mais avec deux oses, ou avec un ose et un acide aminé hydroxylé pour la synthèse d'oligosaccharides, de dérivés glycosylés divers et d'acides aminés conjugués à un ose. La transglycosylation est possible en utilisant des glycosidases du suc digestif d'un escargot *Achatina achatina*. Ces enzymes peuvent transférer les résidus glycosyle de différents substrats (lactose, cellobiose, mélibiose, maltose, saccharose) à différents accepteurs alcooliques (éthanol, méthanol, propanol...) et aux acides aminés hydroxylés (Ser, Thr, hydroxy Pro). Des essais sont en cours pour O-glycosyler de petits peptides.

2.2 - Génie génétique

Il existe une autre façon de modifier les protéines alimentaires : c'est d'intervenir non pas après leur biosynthèse, mais avant, au niveau des gènes qui les spécifient, soit par mutagenèse dirigée du gène *in vitro* et expression dans un hôte approprié (bactérie), soit par transfert de gènes (transgénèse) dans l'organisme. C'est le domaine du génie génétique.

a) Modifications *in vitro* de gènes

La mutagenèse dirigée de protéines, c'est-à-dire le remplacement d'un ou de plusieurs acides aminés par modification des codons correspondants sur l'ADN, s'est développée principalement dans le domaine des enzymes. Des protéines alimentaires, telles les caséines ont bien été modifiées par cette technique (au laboratoire), mais l'unique retombée du génie génétique en Science des aliments a pour objet le clonage de gènes codant pour des enzymes utilisées pour la transformation de la matière première agricole : chymosine, α -amylase, protéase neutre, α -acétolactate décarboxylase ; la chymosine recombinée n'étant pas autorisée en France. Cependant le clonage et la surexpression de gènes qui codent des enzymes permettant de modifier les protéines alimentaires est à l'ordre du jour. Depuis la généralisation de la PCR, on clone les gènes par cette méthode.

- Clonage et amplification d'un gène par PCR pour augmenter la production

On dispose d'une enzyme purifiée dont on veut cloner le gène. On va synthétiser par PCR une sonde radiomarquée. Deux amorces (sens et antisens) sont nécessaires. Si on connaît la séquence ou tout au moins les séquences N et C terminales, il n'y a pas de difficulté pour synthétiser les amorces. Dans le cas contraire, il faut rechercher des séquences consensus entre les séquences des mêmes gènes appartenant à d'autres espèces, si elles sont connues. S'il existe une grande homologie entre ces séquences, il n'y a pas de raison pour qu'il n'en soit pas de même pour le gène à cloner. On fait donc l'hypothèse que les séquences consensus existent aussi chez le gène à cloner. A partir de celles-ci, on synthétise les amorces (environ 20 paires de bases). Par hybridation des amorces avec l'ADN de l'espèce dont on veut cloner le gène, on synthétise les sondes radiomarquées. Les sondes sont utilisées pour reconnaître le gène dans une banque génomique ou d'ADN complémentaire par hybridation. La banque est constituée de plasmides portant des fragments d'ADN ou des ADN_c. On transforme des cellules de *E. coli* sans plasmide en cellules avec un plasmide (provenant de la banque). Par hybridation avec la sonde, on sélectionne les clones portant l'ADN recherché. Un criblage secondaire est nécessaire. Il faut vérifier par PCR et par séquençage après digestion avec une enzyme de restriction la nature du gène inséré. Le gène est ensuite transféré dans un vecteur d'expression (plasmide) qui va transformer *E. coli*, par exemple. Et l'enzyme est produite par fermentation.

Si l'enzyme est glycosylée, on a intérêt à cloner dans une cellule eucaryote qui possède l'équipement enzymatique de la glycosylation. Pour limiter les étapes, longues et chères, de purification de l'enzyme endocellulaire, il est intéressant de faire excréter l'enzyme. Si celle-ci représente un pourcentage important des protéines excrétées, la purification est simple, donc peu coûteuse.

Un problème, souvent rencontré lors de la production en grande quantité de protéines par des souches recombinantes, est l'existence de corps d'inclusions contenant l'enzyme. Pour solubiliser l'enzyme, après avoir isolé les corps par centrifugation, on les traite avec de l'urée 8 M. On obtient l'enzyme soluble, mais dénaturée. La prochymosine a été clonée en 1987 dans *E. coli*. Elle est produite sous forme de corps d'inclusion. La renaturation est effectuée par dialyse à pH 10 en présence de Na Cl (0,5 M).

Une fois l'enzyme obtenue, il faut s'assurer qu'elle est identique à l'enzyme originelle. Si on a pris soin de vérifier la séquence nucléotidique au cours du clonage, les deux enzymes auront la même séquence. Mais les structures tridimensionnelles peuvent être différentes. Cette situation est plus fréquente s'il a fallu renaturer l'enzyme. La combinaison de la spectroscopie (absorbance, fluorescence, dichroïsme circulaire), de l'immunochimie (ELISA), de l'étude de la stabilité à la chaleur,

au pH et aux dénaturants, de l'analyse chimique (ponts disulfure) et de la spectrométrie de masse permet de comparer l'enzyme recombinante à l'enzyme authentique pour s'assurer que les deux protéines sont strictement identiques. Un bon exemple d'utilisation de ces techniques est fourni par la caractérisation du facteur XIII_a recombinant produit dans *S. cerevisiae*.

- Mutagénèse dirigée pour modifier les enzymes

Il y a longtemps qu'on fait de la mutagénèse empirique. Par exemple, on a sélectionné par mutations spontanées des enzymes bactériennes dirigées contre de nouveaux substrats. Mais on a intérêt à maîtriser les mutations et mieux, à les produire à volonté. C'est l'objet de la mutagénèse dirigée. Sous ce nom, on entend la construction *in vitro* de mutants touchés à un locus génétique spécifique ou sur un segment d'ADN, suivie par la définition, *in vivo* ou *in vitro* des propriétés du locus modifié.

La maîtrise des mutations dans une séquence d'enzyme, c'est à dire le remplacement d'un ou de plusieurs acides aminés, répond à ce double objectif de compréhension des mécanismes catalytiques des enzymes et de définition de propriétés nouvelles pour adapter les enzymes à des procédés industriels. Le tableau 2 propose une liste des propriétés à modifier pour optimiser un procédé. Les paramètres cinétiques sont importants, car le rapport k_c/K_m définit l'efficacité enzymatique.

- Paramètres cinétiques : k_c^* et K_m^*
- Spécificité
- Thermostabilité et température optimale
- pH optimum
- Résistance aux protéases
- Stabilité et activité dans des solvants organiques
- Exigence en cofacteurs
- Comportement cinétique
- Structure quaternaire

Tableau 2 : Propriétés d'une enzyme à modifier pour l'adapter à un procédé industriel.

* k_c : constante catalytique ; K_m : constante de Michaelis-Menten.

Cependant il faut tenir compte de la concentration du substrat : pour une concentration supérieure au K_m c'est k_c qui régit la vitesse de catalyse. On va voir quelles sont les principales techniques de mutagenèse dirigée.

- *Mutagenèse aux polydésoxyribonucléotides*

On synthétise un oligodésoxyribonucléotide dont la séquence et la longueur sont choisies pour former un duplex avec un site unique dans un minichromosome circulaire complémentaire (simple brin), mais qui comprend une base “mauvaise” (ou plus). Cet oligomère est utilisé comme amorce pour l'ADN polymérase de *E. coli*. On produit un duplex circulaire fermé à double brin. Introduit dans une cellule hôte, cet ADN fabrique le mutant souhaité.

- *Mutagenèse par utilisation d'ARN_t supprimeurs*

On introduit une mutation ambre (codon UAG, codon de fin de lecture) sur une position du gène à muter. On exprime le gène muté dans des souches possédant des supprimeurs des codons ambre, c'est à dire possédant des ARN de transfert spéciaux (ARN_t supprimeurs) pouvant reconnaître le codon UAG et des amino-acyl t-ARN synthétases chargeant ces ARN_t. Ainsi par suppression du codon stop, on peut remplacer l'acide aminé par un quelconque des autres acides aminés (mais il n'existe pas les ARN_t supprimeurs correspondant aux 20 acides aminés).

- *Mutagenèse par cassette*

Elle permet de remplacer systématiquement un acide aminé par les 19 autres. Elle est utile quand on ne peut pas prédire la nature de l'acide aminé à substituer. Il faut alors essayer les 19 autres et la méthode aux nucléotides est longue à mettre en oeuvre et celle aux ARN_t supprimeurs insuffisante.

On introduit deux sites de restriction de part et d'autre d'une séquence contenant le codon à modifier. Puis on insère des cassettes d'ADN synthétique entre ces sites pour restaurer la séquence codante à l'exception du codon cible qu'on remplace par un autre codon.

Pour réaliser des expériences de mutagenèse dirigée sur des enzymes, il est indispensable de connaître leur séquence et leur structure tridimensionnelle ainsi que de posséder le maximum de résultats sur leurs propriétés physico-chimiques.

A titre d'exemple, la tyrosyle-t-ARN synthétase a été beaucoup étudiée par la première technique. L' α -amylase de *Bacillus licheniformis* a été modifiée pour accroître sa stabilité thermique par l'utilisation d'ARN_t supprimeurs. Par mutagenèse par cassette de la subtilisine en position 222 (Met), on a trouvé les substitutions qui confèrent à l'enzyme la résistance à l'oxydation. La chymosine a été modifiée afin d'étudier la relation structure-fonction de cette enzyme. Par mutations ponctuelles, les auteurs ont modifié la spécificité envers les substrats (hexa- et octa-peptides synthétiques). La

mutation Lys 220 → Leu déplace le pH optimum vers les pH acides pour l'hydrolyse de l'hémoglobine acide.

- *Mutagenèse par PCR*

Il n'est pas nécessaire qu'il y ait une complémentarité parfaite entre l'amorce et l'ADN à amplifier. Aussi peut-on synthétiser une amorce avec une ou plusieurs erreurs qui correspondront à des mutations sur l'ADN amplifiés.

Le principe de l'étude de la relation structure-fonction des enzymes et plus généralement des protéines à activité biologique est simple : on remplace un acide aminé par un autre et on regarde l'effet sur une propriété définie de la protéine.

b) Transgénèse

Le premier exemple de transgénèse (transfert de gène) est celui de souris de taille deux ou trois fois supérieure à la normale. On a réussi à transférer par micro-injection le gène de l'hormone de croissance de rat dans des cellules oeufs de souris, puis à les implanter dans l'oviducte de femelles capables de mener à bien une gestation. Comme on a modifié les cellules germinales, le caractère acquis est transmis à la descendance. Deux domaines touchant aux protéines pourront faire l'objet d'applications : la production de molécules utiles dans le fluide (lait par exemple) d'un animal suivie de leur extraction et l'amélioration de la production animale.

- Les fermenteurs vivants

La transgénèse se pratique couramment chez le lapin, le porc, le mouton et la chèvre. Au niveau laboratoire et pilote, on produit des protéines à usage pharmaceutique : hormones, facteurs de croissance, enzymes, anticorps monoclonaux, etc... L'avantage des animaux transgéniques pour la production de protéines humaines par rapport au clonage d'un gène dans les microorganismes et dans les champignons est dans l'existence chez les animaux des systèmes de modification post-traductionnelle (glycosylation, phosphorylation, protéolyse spécifique, etc...). Un inconvénient est la possibilité de transmission de virus non encore identifiés ou de prions (tremblante du mouton, encéphalopathie spongiforme des vaches). Aucun produit issu de réacteurs vivants n'est sur le marché.

- Amélioration des performances zootechniques

L'application de la transgénèse à ce domaine concerne directement la production de protéines alimentaires. Les principaux gènes candidats à la transgénèse pour améliorer les performances zootechniques sont ceux permettant : une meilleure utilisation de la ration alimentaire avec une

croissance musculaire stimulée et une réduction des dépôts de graisse (amélioration de la qualité de la viande) ; l'acquisition d'une indépendance nutritionnelle vis-à-vis des acides aminés chez les monogastriques, un changement de la composition des lipides corporels ; une humanisation du lait de vache (synthèse de lactoferrine) ; une modification de la proportion des différentes caséines pour améliorer la qualité fromagère des laits ; un abaissement du taux de lactose et de β -lactoglobuline dans le lait (responsables de réactions allergiques) ; une augmentation de la production en protéines du lait ; un abaissement du taux de lipides du lait et une modification de leur composition (transfert du gène de la D-2 désaturase) ; une stimulation de la croissance des poissons d'élevage. Cependant, de tels animaux sont encore maintenus en milieu confiné.

- Les végétaux

Les techniques de transformation génétique furent d'abord utilisées pour l'amélioration des plantes, puis pour la production de protéines recombinantes pour l'industrie et la pharmacie.

Quelques plantes transgéniques, améliorées par rapport aux sauvages sont déjà commercialisées. Citons la tomate « longue vie », un maïs résistant à la pyrale, un colza résistant aux herbicides et un soja. Pour la tomate, on a introduit un gène anti-sens de la polygalacturonase, enzyme impliquée dans la maturation et la sénescence. La diminution de l'activité de cette enzyme conduit à retarder le ramollissement de la tomate et allonge sa durée de vie (longue vie). Pour le maïs résistant à la pyrale, on a introduit le gène codant une protéine insecticide provenant de *B. Thuringiensis*. Pour la résistance à un herbicide (colza), le gène d'une enzyme détruisant celui-ci a été ajouté au génome de la plante.

Les plantes constituent des bioréacteurs idéaux pour la production en masse de certaines protéines à faible valeur ajoutée destinées à l'industrie : (β -glucanase, α -amylase, phytase). On peut aussi transformer les plantes en usines pharmaceutiques. L'avantage, par rapport aux animaux, est que les plantes sont exemptes de virus pathogènes (VIH, hépatite) de prions et d'endotoxines. Le soja, le tabac, la pomme de terre, la banane sont déjà utilisés pour la production de vaccins (contre l'entérotoxine labile de *E. coli*), de protéines plasmatiques recombinantes, comme l'albumine humaine, ou d'anticorps (anticorps contre la bactérie responsable des caries dentaires). Mais contrairement aux plantes transgéniques améliorées, aucune enzyme et aucun produit à usage thérapeutique provenant de plantes modifiées ne sont sur le marché.

- Sécurité alimentaire

La sécurité des biotechnologies a été évaluée depuis le début des années 1980 par l'OCDE*, la FAO et l'OMS. Ces travaux ont conduit au concept d'équivalence en substance (ES), utilisé depuis comme base de réflexion pour élaborer les stratégies d'évaluation de la sécurité des aliments modifiés ou nouveaux. Ce concept est fondé sur l'idée que les organismes existants, ayant fait la preuve de leur

innocuité, puisqu'ils sont utilisés comme aliment ou comme source d'aliment et consommés traditionnellement sans effet indésirable, peuvent servir de base de comparaison.

L'évaluation de l'ES peut aboutir à trois situations :

- L'équivalence peut être démontrée. Aucune différence entre les produits alimentaires, issus de l'organisme recombiné et ceux issus de l'organisme témoin n'est mise en évidence : c'est le cas lorsque les gènes d'intérêt ou marqueurs ne s'expriment pas dans les parties comestibles de la plante par exemple. Ces produits sont considérés comme alimentaires au même titre que les produits de l'organisme témoin et aucune autre démonstration de salubrité ne s'impose.

- L'équivalence est démontrée à l'exception de la présence de produits des gènes d'intérêt ou marqueurs.

Il convient alors de démontrer l'innocuité de ces produits et des métabolites résultant de leur dégradation ou de leur action. Dans ce cas, l'évaluation porte en particulier sur :

- *Le potentiel allergène de la nouvelle protéine exprimée.*

La comparaison de la digestibilité et des propriétés biochimiques de la nouvelle protéine par rapport à des protéines connues pour être allergènes constitue les critères qui permettent cette évaluation. Mais une surveillance après mise sur le marché de ces produits s'impose, d'où l'importance de leur traçabilité. Un exemple d'allergie apportée par le transfert du gène de la protéine 2S de la noix du Brésil au soja pour augmenter la teneur de celui-ci en méthionine et cystéine a eu pour conséquence de créer un soja allergisant. Ce produit, ne répondant pas aux critères de l'ES, n'est bien sûr pas commercialisé. En revanche, on peut tuer l'allergène dans l'œuf en supprimant un gène allergisant. C'est ce qui a été fait au Japon pour un riz transgénique dépourvu d'allergène majeur.

- *La toxicité de la protéine produite par l'expression du gène introduit (par exemple, un insecticide) ou des métabolites produits par son action (par exemple, produits de dégradation d'un herbicide).* Des tests de toxicité aiguë *in vivo* sont mis en oeuvre en faisant exprimer le produit du gène par un micro-organisme.

* Organisation de Coopération et de Développement Economique
Food and Agriculture Organization
Organisation Mondiale de la Santé

- *Les effets secondaires de l'insertion du gène.* Par exemple, il peut coder une enzyme induisant une diminution du substrat ou une accumulation du produit de la réaction, etc.

- *Le risque théorique de mutagenèse par insertion, amenant une modification de l'expression habituelle des gènes.* Même si ce risque est faible, il doit être considéré pour l'évaluation de la salubrité. Le principal danger serait l'activation de gènes silencieux ou peu exprimés, pouvant déclencher la biosynthèse de métabolites secondaires toxiques.

- L'équivalence entre un nouvel aliment et un aliment traditionnel comparable ne peut être établie. L'absence d'équivalence ne signifie pas obligatoirement une absence de sécurité. Une étude au cas par cas doit être effectuée, fondée sur les propriétés biochimiques et nutritionnelles du nouvel aliment. Des tests toxicologiques sur animal peuvent aussi être envisagés.

Avec l'entrée en vigueur, en mai 1997, de la nouvelle réglementation européenne relative aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires (JOCE 258/97 du 14 février 1997), ces produits feront l'objet d'une évaluation d'innocuité unique, suivant une procédure communautaire, avant d'être mis sur le marché dans la Communauté européenne.

Ce règlement stipule que, dans le cas où ces produits sont équivalents aux mêmes produits déjà existants, la procédure est simplifiée. Sont concernés des aliments et ingrédients alimentaires produits à partir d'organismes génétiquement modifiés (OGM) mais n'en contenant pas, substantiellement équivalents au produit de référence.

Pour les aliments et ingrédients alimentaires contenant des OGM, consistant en de tels organismes, ou issus d'organismes génétiquement modifiés et non équivalents aux produits existants, une évaluation initiale est effectuée par l'organisme compétent de l'Etat membre qui reçoit la demande d'une première mise sur le marché. En France, c'est la Commission du Génie Biomoléculaire (CGB) qui est chargée de cette évaluation initiale. Le rapport de la CGB est transmis à la Commission européenne et aux Etats membres. En cas de désaccord entre les différentes instances, c'est le Conseil européen qui tranche à la majorité qualifiée.

Il reste maintenant à concrétiser le projet d'étiquetage des produits issus des OGM. Cette opération pose le problème de la traçabilité des molécules provenant des OGM. Et pour contrôler celle-ci, il est nécessaire de posséder des méthodes fiables identifiant ces molécules. A l'heure actuelle, ce n'est pas le cas. Il faudra faire confiance... Un exemple illustre cette difficulté : il est impossible de faire la distinction entre un fromage à chymosine recombinante et un fromage à chymosine authentique.

RESUME

On peut classer les modifications des protéines alimentaires en deux grandes catégories : les modifications au cours des traitements technologiques et de l'entreposage des produits et les modifications dirigées.

Dans la première catégorie, on range les traitements thermiques et oxydants et le fractionnement. Dans la seconde catégorie, les modifications par les enzymes et par les techniques du génie génétique sont les deux façons de modifier les protéines alimentaires.

Les traitements thermiques, couramment utilisés en technologie alimentaire, sont responsables de la dénaturation des protéines, du brunissement non enzymatique de celles-ci par la réaction de Maillard et d'interactions protéines - protéines. Un traitement thermique modéré a des conséquences plutôt favorables sur la qualité alimentaire des protéines : dépliement de la structure tri-dimensionnelle, inactivation de facteurs anti-nutritionnels et d'enzymes. La réaction de Maillard est intimement liée à l'art culinaire : elle est à l'origine de l'apparition de propriétés organoleptiques agréables dans des produits alimentaires exposés à la chaleur. Cependant l'exposition à des températures élevées (barbecue) conduit à la formation de composés mutagènes. Et quelle que soit la température, il y a réduction de la valeur nutritive par diminution de l'apport de lysine.

Les interactions protéines - protéines conduisent à la réticulation des protéines avec diminution de leur digestibilité.

D'autres effets de la chaleur sont à noter : hydrolyse des protéines, racémisation des acides aminés, transformation d'acides aminés (source d'arômes et de composés mutagènes).

Parmi les oxydants, il y a ceux qui sont utilisés sciemment par l'homme et il y a l'oxygène omniprésent et pas souvent souhaité. Peroxyde d'hydrogène et hypochlorite de sodium oxydent méthionine, cystéine, cystine, tryptophane. L'oxygène oxyde des substrats non protéiques avec l'aide d'enzymes en molécules très réactives qui ensuite oxydent les protéines. C'est le cas de la lipoxigénase et de la polyphénol oxydase.

Le fractionnement des matières agricoles premières pour obtenir des concentrats et des isolats a des effets bénéfiques (élimination de molécules indésirables) et (ou) néfastes (concentration de ces mêmes molécules et perte d'acides aminés).

Les modifications dirigées visent à produire de nouvelles protéines en fonction d'objectifs définis : amélioration des propriétés fonctionnelles et nutritionnelles des protéines natives. On dispose actuellement de deux outils pour atteindre cet objectif : l'outil enzymatique et l'outil génétique. Le génie génétique permet, en théorie, d'intervenir au niveau des gènes qui codent les protéines, soit par mutagenèse dirigée du gène *in vitro* et expression dans un vecteur approprié, soit par transgénèse, alors que l'outil enzymatique permet les modifications des protéines après leur biosynthèse. Dans la réalité, l'outil génétique n'est utilisé que pour cloner ou modifier des gènes d'enzymes utilisées pour la transformation de la matière première agricole. Pour réaliser cette opération, les enzymes restent les meilleures candidates.

Les hydrolases ont été et sont toujours les enzymes les plus utilisées : chymosine pour texturer les protéines du lait, protéases diverses pour obtenir des hydrolysats des protéines de céréales et du lactosérum dont certains peptides ont des propriétés physiologiques. Le principe implicite de ces modifications est l'extrapolation à l'*in vitro* des modifications post-traductionnelles des protéines *in vivo*. Parmi les quelques 150 modifications post-traductionnelles répertoriées, seules les phosphorylations (protéines kinases) et déphosphorylations (protéines phosphatases), les glycosylations (glycosidases) et les pontages (transglutaminases et peroxydases) ont été étudiées au laboratoire, sans débouchés dans la production. Un des obstacles au développement de cette stratégie est la production à coût faible des enzymes catalysant les modifications citées ci-dessus.

IV - PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENTS POUR LES PROTEINES ALIMENTAIRES

FINOT P.A.

Dans le contexte actuel où l'on reconnaît à l'alimentation une importance majeure sur la santé des populations et où l'industrie agro-alimentaire joue un rôle essentiel dans la production des matières premières, d'ingrédients alimentaires et d'aliments manufacturés, les perspectives de développements pour les protéines alimentaires sont multiples. Ces perspectives dépendent de considérations démographiques et économiques et aussi de l'évolution de la technologie alimentaire et de nos connaissances en nutrition.

L'évolution de la démographie, en particulier dans les pays en voie de développement où les ressources protéiques animales et végétales sont peu abondantes, nécessite une production accrue des ressources locales les plus prometteuses pour couvrir les besoins et réduire la malnutrition. Il est évident que la priorité doit être donnée à l'augmentation de la production agricole qui est à l'origine des aliments de base non seulement pour l'homme mais aussi pour les animaux. Ceci se fait déjà par la sélection de variétés génétiques produisant plus de protéines de meilleure valeur nutritionnelle, s'adaptant mieux aux climats locaux particuliers et résistant aux maladies et aux insectes.

La valorisation de sous-produits de l'industrie agro-alimentaire, qui connaît déjà un grand développement dans les pays industrialisés, devrait se généraliser pour des raisons économiques mais aussi de plus en plus pour des raisons écologiques, ce dont l'alimentation animale et humaine peut en tirer partie.

Le rôle grandissant de l'industrie alimentaire dans la production d'aliments et de plats élaborés est le résultat des efforts investis par la recherche et le développement pour améliorer la qualité des produits commercialisés. L'importance des protéines est essentielle car celles-ci contribuent non seulement à la valeur nutritionnelle des aliments mais aussi en grande partie à leurs qualités organoleptiques. Dans ce contexte, la maîtrise de la technologie des protéines ne fait plus de doute. De plus en plus de fractions riches en protéines sont isolées, et leur utilisation dépend de leur capacité à s'incorporer dans les aliments ; rétention d'eau, pouvoir émulsifiant, propriété gélifiante sont des qualités que la technologie est capable de développer avec les protéines pour des applications diverses et variées.

Nos connaissances sur les besoins en protéine et en acides aminés ne cessent de s'améliorer, ce qui promet le développement de produits de plus en plus spécifiques pour des groupes de population mieux ciblés, en fonction de l'âge et aussi de leur statut physiologique. Les applications en nutrition préventive et thérapeutique sont multiples.

Les propriétés physiologiques attribuées en particulier à des protéines ou à des peptides d'origine lactique, font l'objet de recherches qui ouvrent des voies nouvelles pour le développement d'aliments pouvant contribuer à prévenir des maladies ou permettant de les traiter.

Pour éviter d'anticiper sur les succès futurs et difficilement prévisibles de projets en cours ou à venir, et de dévoiler des développements précis qui font l'objet de recherches à caractère compétitif, ce document se borne à décrire des exemples récents qui ont abouti à des réussites ou des échecs. Leur analyse permet de mieux cerner comment, en tenant compte de l'évolution de nos connaissances sur les protéines, des applications futures peuvent être envisagées. Les perspectives de développement des protéines alimentaires sont présentées dans trois chapitres : les sources alternatives de protéines, les propriétés fonctionnelles et les propriétés nutritionnelles et physiologiques.

1 - LES SOURCES ALTERNATIVES DE PROTEINES

Les sources alternatives de protéines peuvent être définies comme étant des ingrédients riches en protéines obtenus par des technologies adéquates pour des applications nouvelles ou non conventionnelles.

1.1 - Valorisation des sous produits d'origine végétale

L'industrie agro-alimentaire génère des résidus riches en protéines à partir de l'extraction de l'huile des oléagineux (soja, arachide, colza, tournesol) et à partir de l'extraction de l'amidon de céréales (blé, maïs, riz), de légumineuses (pois) ou de tubercules (pomme de terre). Ces sous-produits se présentent sous la forme de farines dégraissées, moyennement riches en protéine, de concentrats dont le taux en protéine varie entre 50 et 70 % ou d'isolats dont le taux en protéines varie entre 80 et 95 %.

Les applications potentielles de ces sous-produits dépendent de trois caractéristiques importantes qui doivent coexister pour avoir une chance de succès : leurs propriétés fonctionnelles pour leur capacité à s'incorporer dans un produit organoleptiquement acceptable, leur valeur nutritionnelle pour mieux justifier leur emploi, et l'absence ou l'inactivation de facteurs antinutritionnels pour assurer leur innocuité. Une liste de sous-produits d'origine végétale avec leurs caractéristiques, leurs applications et leurs limitations est présentée dans le tableau 1. Ce tableau différencie les sous-produits qui ont trouvé une application, de ceux qui ne sont pratiquement pas exploités ; il montre bien l'importance des trois caractéristiques déjà énoncées et commentées ci-après.

Les propriétés fonctionnelles de ces sous-produits (solubilité dans l'eau, capacité émulsifiante, pouvoir de rétention d'eau, goût et couleur), sont des qualités nécessaires pour les applications, comme ingrédients, en alimentation humaine. C'est le cas du soja et du gluten de blé, même si ce dernier a une valeur nutritionnelle médiocre.

La valeur nutritionnelle de ces sous-produits est une caractéristique primordiale pour leur utilisation en nutrition humaine pour des produits de haute gamme. C'est le cas du soja qui est utilisé pour des formules infantiles ou des aliments de nutrition clinique, soit seul, soit en complément à des protéines lactiques ; il est aussi utilisé comme substitut de viande. La valeur nutritionnelle intrinsèque de ces sous-produits est un critère de valeur moins important pour l'alimentation animale car ces protéines peuvent être mélangées plus facilement à d'autres pour atteindre un profil idéal d'acides aminés, sans être limitées dans leurs applications par l'absence de propriétés fonctionnelles.

Enfin la présence ou non de facteurs antinutritionnels ou leur taux dans l'aliment sont déterminants pour les applications en alimentation humaine et animale. Dans ce contexte le cas du soja doit encore être cité en exemple car des technologies appropriées permettent d'inactiver les inhibiteurs de la trypsine et d'éliminer les sucres flatulents et l'acide phytique.

La raison pour laquelle un certain nombre de sous-produits reste difficilement exploitable (colza, coton, tournesol, lupin) est l'absence de technologies adéquates permettant d'obtenir ces caractéristiques. Chacun de ces cas présente des problèmes spécifiques qui doivent être résolus par des technologies strictement adaptées.

Perspectives. Des travaux visant à valoriser les sous-produits riches en protéines des industries de l'huile et de l'amidon se poursuivent pour transformer ces soit disant sous-produits en co-produits de haute valeur. Le succès dépendra du coût des technologies mises en jeu et des propriétés fonctionnelles des fractions protéiques obtenues.

Source (% protéine)	Sous produit (% protéine)	Valeur nutritionnelle	Propriétés fonctionnelles	Facteurs limitants	Applications
<u>Sous-produits déjà exploités</u>					
Soja (40%)	farine dégraissée (50%) concentrat (70-80%) isolat	très bonne a)	très bonne	inhibiteur de trypsine sucres flatulents acide phytique	bétail humaine enfants
blé (12-14%)	gluten	médiocre b)	bonne	intolérance au gluten	bétail humaine
maïs (9-10%)	zéine	mauvaise (c)	mauvaise	fonctionnalité	bétail
arachide (25%)	farine dégraissée (60-65%)	médiocre (c)	mauvaise	aflatoxine	bétail
pomme de terre (2%)	isolat (90%)	très bonne (a)	mauvaise	goût, solanine	bétail
riz (7,5%)	isolat, concentrat (70-90%)	très bonne (a)	mauvaise	fonctionnalité	bétail
<u>Sous produits exploitables</u>					
lupin (30-35%)	isolat/concentrat (90-95%)	médiocre (b)		alcaloïdes	
colza (20-25%)	farine dégraissée (65%)	très bonne (a)		glycosides	
coton (35-41%)	farine dégraissée (60-65%)	bonne (b)		gossypol	
tournesol (27%)	farine dégraissée	moyenne (b)		polyphénols	

a) pas d'acide aminé franchement limitant, b) un acide aminé limitant, c) plusieurs acides aminés limitants

Tableau 1 : Sous-produits d'origine végétale, caractéristiques et applications.

1.2 - Élimination des facteurs antinutritionnels

La plupart des sources végétales de protéines contiennent des facteurs antinutritionnels dont une de leurs fonctions est de protéger les graines de l'attaque par les insectes et les micro-organismes. Les plus représentatifs de ces facteurs antinutritionnels, les moyens de les éliminer et les effets physiologiques qui leur sont attribués sont présentés dans le tableau 2 et le tableau 3.

On peut mentionner ici deux cas pour lesquels une sélection génétique permet de résoudre le problème, la variété de coton "glandless" exempte de gossypol et les variétés de soja exemptes d'inhibiteur de trypsine de type Kunitz.

Perspectives. Les facteurs antinutritionnels résiduels doivent être éliminés ou réduits par des technologies simples et peu coûteuses, tout en préservant la valeur nutritionnelle des protéines. Une meilleure connaissance des effets physiologiques liés à ces facteurs antinutritionnels est nécessaire afin

de fixer des limites acceptables dans les produits. La sélection de variétés génétiques pauvres ou exemptes de ces facteurs antinutritionnels est aussi une voie qui est exploitée.

	Inhibiteurs de la trypsine	Lectines	Polyphénols Tannins	Alcaloïdes	Glycosides	Acide phytique
<u>Céréales</u>						
Blé, riz	±					+
Sorgho, millet			++T			
<u>Légumineuses</u>						
Soja	++	+			+ I, S	++
Pois/haricots	++	+				++
Lupin				++Q		
<u>Oléagineux</u>						
Colza			++T		++K	
Coton	±		+ G			
Tournesol	±		++ P			
<u>Elimination inactivation</u>	Traitements thermiques	Traitements thermiques	Traitements alcalins	Extraction à l'eau	Extraction à l'eau ; enzymes	Traitement par phytase
	T: tannin G: gossypol	P: polyphénols I: isoflavonoïdes	S: saponines Q: quinolizidine	K: goitrogènes	± négligeable + appréciable ++ important	

Tableau 2 : Facteurs antinutritionnels associés aux protéines végétales. Méthodes d'élimination.

Inhibiteur de la Trypsine :	Diminution de la digestibilité des protéines. Stimulation du pancréas : synthèse et sécrétion des enzymes protéolytiques. Augmentation des pertes d'azotes. Hypertrophie du pancréas chez certains animaux.
Acide phytique :	Chélation des ions bivalents : Ca, Mg, Zn, Fe Diminution de leur biodisponibilité.
Lectines (ou hémagglutinine) :	Lésion des cellules intestinales. Hémorragies.
Tannins :	Polyphénols condensés qui lient les protéines alimentaires, les protéines secrétées dans l'intestin et les minéraux. Réduisent leur biodisponibilité.
Polyphénols :	Composés qui, en s'oxydant, se fixent sur des acides aminés essentiels (lysine, cystéine) et réduisent leur biodisponibilité.
Glycosides :	<ul style="list-style-type: none"> - isoflavonoïdes : propriétés (anti) oestrogéniques (soja) - cyanogènes : substances libérant de l'acide cyanhydrique (manioc) - goitrogènes : glycosinolates libérant de l'isothiocyanate (colza) - saponines : substances amères affectant la croissance (soja, quinoa) - alcaloïdes : inhibiteurs de la cholinestérase (solanine chez la pomme de terre)

Tableau 3 : Effets physiologiques attribués aux facteurs antinutritionnels.

1.3 - Valorisation des sous-produits d'origine animale : boucherie, pêche, laiterie

L'homme a toujours essayé de valoriser au maximum les sous-produits de l'élevage pour des raisons économiques évidentes. Actuellement, leur valorisation s'impose aussi sur le plan écologique.

Au cours des dernières décennies, les sous-produits de l'industrie laitière et fromagère ont connu une valorisation exceptionnelle. Le petit-lait de fromagerie qui pollue les rivières est maintenant traité pour en extraire les protéines de haute valeur nutritionnelle pour des applications multiples en alimentation infantile et clinique. A cause de leurs excellentes propriétés fonctionnelles, les protéines du lactosérum sont également utilisées comme ingrédients dans beaucoup de préparations (Tableau 5). Une application récente et originale est un substitut de graisse, appelé "Simplese" qui résulte d'une technologie produisant des micro-particules. Ce produit développé aux Etats-Unis est proposé pour des régimes à basse calorie et pauvres en graisse.

Peu de sous-produits de la viande sont recyclés comme ingrédients de haute valeur commerciale ; le cas du collagène avec ses applications culinaires ou pharmaceutiques semble être une exception. La

plupart de ces sous-produits sont recyclés pour l'alimentation des animaux d'élevage et des animaux familiers. Ce recyclage est actuellement hautement critiqué, car il est rendu responsable de la transmission de maladies graves d'une espèce à une autre (problème de l'encéphalopathie bovine spongiforme).

Les sous-produits de la pêche sont aussi recyclés ; les farines de poisson sont largement utilisées en exploitation animale, avec des avantages économiques intéressants dus à leur bonne valeur nutritionnelle. Le recyclage pour l'alimentation humaine de poissons de mauvaise valeur marchande, est un défi qui a pu être relevé grâce à la technologie du "Surimi" qui permet de structurer les microfibrilles musculaires en un aliment de très bonne qualité organoleptique.

Perspectives. Pour des raisons économiques et écologiques, la valorisation des sous-produits d'origine animale est nécessaire. Les produits les plus nobles comme le lait sont surtout destinés à l'alimentation humaine et le développement de cette filière est appelé à un grand succès. Une attention plus particulière devra être donnée aux déchets de boucherie pour mieux contrôler les risques de transfert de maladies. La technologie du "Surimi" devrait être prise comme exemple de réussite technologique.

1.4 - Les aliments issus de la fermentation - avantages et limites

Les protéines issues des micro-organismes unicellulaires ou "single cell proteins", ont eu une période de développement intense dans les années 1960-1975, à cause de leur rapidité de synthèse dans un espace réduit et de la facilité de standardiser la production. Ce projet devait résoudre le problème de pénurie de protéine dans le monde et l'on a assisté à des recherches importantes sur la production de levures, de bactéries, d'algues et de mycélium. Différents substrats ont été testés, les paraffines du pétrole, le méthanol, l'éthanol, les déchets des industries sucrières. Plusieurs aspects de ce développement avaient été sous-estimés qui ont été à l'origine un très grand fiasco : le coût élevé de purification pour éliminer les acides nucléiques, la difficulté du recyclage des sous-produits de la fermentation, le manque de propriétés fonctionnelles de ces protéines, et aussi l'attitude négative des consommateurs vis-à-vis de ces aliments nouveaux considérés comme artificiels ou synthétiques. Faisant abstraction des produits traditionnels à tartiner à base de levure, un seul projet de ce type a subsisté, la production du mycellium d'un champignon, le *Fusarium graminearum*, commercialisé actuellement sous le nom de "Quorn" et qui présente une structure agréable ressemblant à celle de la viande de poulet. Son goût original neutre permet toutes sortes d'aromatisation.

Perspectives. Il est peu probable que la production extensive de protéines extraites à partir de micro-organismes unicellulaires devienne un procédé rentable, car il faut lui associer des procédés de texturation et d'aromatisation pour en faire des aliments consommables.

1.5 - Degré de purification exigé selon l'utilisation envisagée

Les applications de ces sources alternatives de protéines sont très dépendantes de leur degré de purification. Le cas des dérivés du soja a été pris comme exemple dans le tableau 4. La diversité des applications est un facteur clé qui détermine le succès d'un ingrédient.

Perspectives. Pour avoir des applications en alimentation, un extrait protéique n'a pas besoin d'être très pur ni d'être produit par une technologie chère. Le succès d'une nouvelle source de protéine dépend surtout de ses propriétés fonctionnelles. Le cas du soja est un exemple à prendre en considération pour d'autres sources alternatives de protéines.

Produits protéinés		Utilisation	
Préparation (% protéine)	Désignation	Systèmes alimentaires	Préparation
graine (40 %)	G	produits fermentés	G
farine entière (40 %)	F	tonyu, "caillé", mélanges avec lait de vache	F
farine dégraissée (50%)	D		
concentrats (70%)	C	pain, analogues de viande	D,C
isolats (90-95%)	I	alimentation infantile et clinique	C, I, H
hydrolysats (variable)	H	saucisses, soupes, sauces	D, C, I
		boulangerie, viandes, saucisses, pâtes alimentaires	F, D, C, I

Tableau 4 : Quelques utilisations des produits protéinés du soja.

1.6 - Trouver l'adéquation entre coût, qualité gustative et propriétés nutritionnelles

Le succès récent des sources alternatives de protéines dépend de facteurs relativement faciles à identifier. Les cas du soja et du "Quorn" peuvent servir d'exemples. Le soja a l'avantage d'être un aliment qui a été consommé depuis des siècles et pour lequel des recettes ou des technologies traditionnelles existent. De plus, beaucoup de propriétés nutritionnelles ou physiologiques importantes lui sont attribuées, composition équilibrée en acides aminés, stimulation de la fonction pancréatique attribuée à l'activité résiduelle des inhibiteurs de la trypsine, propriété anti-cholestérol attribuée à des structures peptidiques particulières et à la présence de saponines, propriété anti-cancer du sein attribuée aux isoflavonoïdes à effets oestrogéniques. A cela s'ajoutent des propriétés fonctionnelles

particulièrement intéressantes qui leur assurent des applications très variées comme celles présentées dans le tableau 4.

Le succès du “Quorn” résulte probablement du fait que ce produit brut de fabrication peut déjà être considéré comme un aliment, car ne subissant aucune étape de purification particulière il n’a pas la connotation négative des produits de synthèse ; de plus, étant déjà structuré (filaments du mycelium), aucune technologie coûteuse de texturation n’est nécessaire. Il a des propriétés nutritionnelles uniques, pauvre en graisse et riche en fibres qui contribuent à diminuer le cholestérol ; de ce fait il est considéré non pas comme une source alternative de protéine au sens formel du terme, mais comme un aliment. Le cas du “Quorn” est très représentatif des efforts nécessaires pour aboutir : près de vingt ans d’études pour un succès commercial limité.

Perspectives. Etant donné le nombre important de critères de qualité à respecter et des contraintes à surmonter, c’est un réel défi pour les sciences alimentaires de développer des nouveaux produits. Malgré cela, la mise sur le marché, ces dernières décennies, d’un grand nombre de nouveaux produits de qualité est le début d’un processus qui ne peut que continuer.

1.7 - Réglementation

L’introduction sur le marché de nouvelles sources de protéines est soumise à des réglementations qui se mettent en place.

Les sources alternatives de protéines qui n’ont, jusqu’à présent, jamais été consommées en quantité significative sont considérées comme des “novel foods”. Des recommandations pour l’évaluation des aspects nutritionnels et toxicologiques des “novel foods” sont actuellement proposées dans les différents pays ainsi qu’au niveau de l’Europe ; elles incluent la nécessité de fournir des informations relatives à leur origine, leur composition, leur usage et les quantités ingérées. Des procédures sont élaborées pour évaluer les aspects nutritionnels et les risques toxicologiques liés à leur composition ou aux technologies utilisées.

Perspectives. Les recommandations proposées par des groupes d’experts, pour l’évaluation nutritionnelle et toxicologique des “novel foods” et en particulier des nouvelles sources de protéines suivent une procédure standardisée. Elles seront prochainement érigées en réglementations et les entreprises devront s’y soumettre afin de mieux assurer la sécurité des consommateurs.

2 - LES PROTEINES ET LEURS PROPRIETES FONCTIONNELLES

2.1 - Relation structure / propriétés fonctionnelles

En plus de leurs propriétés nutritionnelles recherchées, les protéines possèdent des propriétés physico-chimiques qui sont mises à profit en science alimentaire. Il faut distinguer le cas des protéines dont le rôle est de contribuer à fournir la ration journalière et pour lesquelles une haute valeur nutritionnelle est requise, et le cas de fractions protéiques utilisées comme ingrédients ou aides technologiques et dont la contribution nutritionnelle est faible.

Les propriétés physico-chimiques des protéines déterminent les systèmes alimentaires dans lesquels elles peuvent être incorporées ; leur poids moléculaire, leur composition en acides aminés et leur séquence déterminent les types d'interactions qui se produisent entre elles et avec leur environnement, c'est à dire principalement avec l'eau et les graisses.

Les interactions les plus importantes sont :

- les interactions électrostatiques qui s'établissent entre les acides aminés anioniques (acide glutamique et acide aspartique) et les acides aminés cationiques (lysine, histidine, arginine et tyrosine). Ce type de liaisons est très dépendant du pH.

- les liaisons "hydrogène" qui s'établissent entre un atome électronégatif possédant un doublet électronique et un atome d'hydrogène. C'est le cas des liaisons qui se forment entre chaînes peptidiques et entre les résidus de glutamine. Ce sont les liaisons "hydrogène" qui régissent les interactions des protéines avec l'eau et qui influencent leur solubilité.

- les interactions hydrophobes qui s'établissent entre les acides aminés branchés (valine, leucine, isoleucine), les acides aminés aromatiques (tryptophane et phénylalanine) des protéines et les graisses. Elles sont responsables des propriétés émulsifiantes et moussantes.

- les liaisons inter-chaînes (ponts covalents disulfures, isopeptides de type γ -glutamyl- ϵ -lysine, et lysinoalanine) qui assurent une certaine rigidité à la matrice protéique.

Perspectives. Une meilleure connaissance des mécanismes fondamentaux qui régissent les interactions des protéines entre elles et avec leur environnement est nécessaire pour développer des produits de qualités organoleptiques excellentes. La recherche dans ce domaine a un grand potentiel.

2.2 - Propriétés enzymatiques

Parmi les propriétés fonctionnelles des protéines alimentaires, les propriétés enzymatiques sont probablement celles qui sont appelées à des développements les plus intéressants, principalement les propriétés protéolytiques. L'exploitation d'enzymes purifiés ou des enzymes endogènes contenus dans les produits naturels comme les fruits et les aliments fermentés peut contribuer à la solubilisation des protéines et à la formation de peptides précurseurs d'arômes.

Perspectives. La technologie des enzymes a un grand potentiel de développement pour l'amélioration des propriétés fonctionnelles des aliments.

2.3 - Exemples d'applications

Le tableau 5 présente une gamme de protéines utilisées pour leurs propriétés fonctionnelles requises dans différents systèmes alimentaires. La possibilité de produire des films protéiques est probablement un des meilleurs exemples qui exprime le potentiel des protéines en science alimentaire. Le gluten est un très bon substrat pour la préparation de tels films car il contient des glyadines solubles dans l'éthanol, des gluténines solubles en milieu alcalin, des liaisons disulfures nombreuses et beaucoup de résidus de glutamine qui augmentent la proportion de liaisons "hydrogène".

En jouant avec les solvants, la concentration, des agents réducteurs, le pH, et des plastifiants comme le glycérol, il est possible de produire des films dont les applications sont aussi nombreuses qu'originales : barrières à la diffusion de l'eau, encapsulation, emballages biodégradables, emballages comestibles.

C'est encore la structure des protéines et leur composition en acides aminés et leur séquence qui, par le jeu des interactions hydrophiles et hydrophobes avec les récepteurs du goût, confèrent aux protéines et aux peptides leur goût et leur caractère amer, salé ou sucré. Par exemple, l'aspartame et des dipeptides analogues ont des pouvoirs sucrants 100 à 200 fois plus élevés que le saccharose ; de même, des protéines telles que la monelline et la thaumatine extraites de certains fruits exotiques ont des pouvoirs sucrant 2 500 fois plus élevés que le saccharose.

Perspectives. L'évolution va dans le sens de l'utilisation de plus en plus fréquente de protéines pour fournir des propriétés fonctionnelles adaptées aux aliments. De nouvelles textures et de nouveaux ingrédients alimentaires se développent pour améliorer la stabilité et la palatabilité des aliments.

Propriété fonctionnelle	Protéines	Systèmes alimentaires
Solubilité, rétention d'eau	lactosérum hydrolysé lactosérum, soja	boisson, analogue des viandes, saucisse
Emulsifiant	blanc d'oeuf, isolat de soja	émulsion de type carné (pâté, saucisse) stabilisation de mayonnaise et crème glacée
Moussant	blanc d'oeuf gélatine caséinate de Na isolat de soja	meringue, cake, crème fouettée, soufflé, crème glacée, mousse de bière
Visco-élasticité - épaississant - gélifiant - pâtes	soja, gélatine sérum albumine β -lactoglobuline gluten de blé	sauce, pâté, crème, gelée, sauce, substitut de graisse, film protéique

Tableau 5 : Propriétés fonctionnelles des protéines et systèmes alimentaires

2.4 - Les technologies applicables

La maîtrise de la technologie devient essentielle, soit pour préserver les propriétés fonctionnelles originelles des protéines natives soit pour leur conférer des propriétés fonctionnelles nouvelles. Ces technologies font appel à des traitements physiques, enzymatiques et chimiques. Parmi les traitements physiques, il faut mentionner la température, la pression, les modifications de pH, et les procédés d'extraction tels que la filtration, l'ultrafiltration, la microfiltration, la nanofiltration, l'osmose inverse et l'électrodialyse, procédés largement développés au niveau industriel et utilisés dans l'industrie laitière pour isoler les protéines du lactosérum et les différentes caséines.

Les traitements enzymatiques utilisant des protéases ou des peptidases visent avant tout à hydrolyser les protéines de haut poids moléculaire et relativement insolubles, en fractions peptidiques plus ou moins courts et plus solubles. Ces procédés sont utilisés sur les protéines du soja pour des boissons. D'autres systèmes enzymatiques ont été proposés pour modifier la structure spatiale des protéines. Par exemple, la transglutaminase en créant des liaisons intermoléculaires entre la lysine et l'acide glutamique favorise la formation de gels. Les enzymes protéolytiques peuvent aussi être

utilisées pour leur capacité de synthèse. Dans des conditions spécialement adaptées, les protéases sont capables de réaliser des transpeptidations en changeant la structure secondaire des protéines et d'incorporer dans les protéines, des acides aminés ajoutés dans le milieu réactionnel sous leur forme libre. Ces "plastéines" ainsi formées ont été proposées pour améliorer les propriétés fonctionnelles ou nutritionnelles des protéines ; elles sont susceptibles de trouver actuellement plus d'applications qu'au moment de leur découverte.

Des procédés chimiques ont aussi été proposés pour modifier la chaîne latérale de certains acides aminés dans le but d'améliorer la solubilité ou les propriétés émulsifiantes des protéines. Ces traitements chimiques sont délicats à utiliser car ils touchent à la structure des acides aminés avec des conséquences potentiellement négatives sur les propriétés nutritionnelles. Le traitement chimique qui a été le plus étudié est certainement le traitement alcalin qui contribue à améliorer la fonctionnalité des protéines mais au détriment d'acides aminés nutritionnellement importants comme la cystine, et l'arginine qui sont partiellement détruits. D'autres traitements chimiques ont été proposés : l'acylation et l'alkylation des résidus de lysine, l'estérification des groupements acides, l'oxydation et la réduction des résidus cystéine/cystine, la phosphorylation de la sérine, la glycation de la lysine et la formation de ponts covalents à l'aide de malondialdéhyde ou de glutaraldéhyde. Naturellement, de tels procédés nécessitent beaucoup d'investigations pour évaluer les conséquences nutritionnelles et l'innocuité de ces interventions chimiques.

Perspectives. Une sélection doit être faite dans les technologies proposées pour modifier les propriétés fonctionnelles des protéines. Priorité doit être donnée aux techniques physiques et enzymatiques par rapport aux techniques chimiques, à moins que celles-ci ne soient reconnues comme n'introduisant pas de dommages nutritionnels.

3 - LES PROTEINES A PROPRIETES NUTRITIONNELLES SPECIFIQUES

3.1 - Les protéines naturellement équilibrées

Des protéines naturellement équilibrées comme la caséine, le lactosérum et le soja sont déjà utilisées pour fabriquer des produits de haute valeur nutritionnelle. Elles ne font déjà plus partie des protéines alternatives. D'autres peuvent être développées et leur succès dépend des avantages qu'elles procureront.

Perspectives. Le développement de nouvelles protéines bien équilibrées se fera à partir de sources alternatives comme celles présentées dans le tableau 1, au moyen des technologies adéquates.

3.2 - Les besoins spécifiques en certains acides aminés

L'accès à des protéines ou des fractions de protéines ayant des profils d'acides aminés uniques permet d'envisager des applications thérapeutiques pour soigner des malades dont les besoins en certains acides aminés sont différents des besoins recommandés pour l'homme sain. Les besoins en quelques acides aminés appelés conditionnellement essentiels sont actuellement intensivement étudiés en nutrition clinique. La glutamine serait un substrat énergétique privilégié pour l'entérocyte et les cellules immunitaires. L'arginine est un précurseur des polyamines et favoriserait l'activité cellulaire. La cystine est un des précurseurs du glutathion, molécule impliquée dans l'inactivation des radicaux libres. On imagine aisément les applications dans les domaines de la gastro-entérologie, de la cicatrisation et de l'immunité. D'autres acides aminés font l'objet de sérieuses investigations qui peuvent aboutir à des applications, grâce à l'accès à des sources de protéines de composition adéquate en acides aminés : des régimes pauvres en méthionine seraient recommandés pour le traitement de certains cancers dits "méthionine dépendant" ainsi que pour la prévention de l'athérosclérose résultant d'une homocystinémie élevée.

Perspectives. La notion de besoins en acides aminés évolue rapidement surtout dans le domaine de la prévention et de la thérapie. Ces besoins doivent être quantifiés de façon plus précise pour une meilleure formulation de produits spécifiques.

3.3 - Technologies d'isolement des protéines individuelles - cas du lait

Les technologies de purification vont devenir de plus en plus déterminantes pour avoir accès à des protéines possédant des propriétés biologiques ou physico-chimiques recherchées. Ces protéines peuvent avoir aussi une composition unique en acides aminés (Tableau 6) pour des applications nutritionnelles particulières comme celles présentées dans le paragraphe précédent.

Pour ces raisons, des technologies particulières de séparation se développent pour des applications industrielles. Ces technologies utilisent les propriétés physico-chimiques des protéines telles que taille des particules (microfiltration), poids moléculaire (ultrafiltration, diafiltration, nanofiltration, osmose inverse), solubilité à différents pH, force ionique et température (précipitation au point isoélectrique, filtration, pervaporation), propriétés ioniques (chromatographie sur échangeur d'ions), ou hydrophobicité (formation de complexes et co-précipités, membranes chimiquement modifiées). La séparation des protéines du lait de vache est certainement un bon exemple à citer pour montrer l'efficacité de ces technologies (Tableau 7).

Perspectives. De plus en plus de technologies permettent d'isoler des protéines presque à l'état pur, et ayant des profils d'acides aminés particuliers pour des applications de plus en plus en plus spécifiques en nutrition et en science alimentaire.

	pauvre en	exempt de	riche en
Caséine	Cys		Gln
β -caséine		Cys	Sér.phosph.
β -lactoglobuline	His, Phe, Tyr		Lys
α -lactalbumine	Met, Arg		Try, Cys
Globulines			Thr
Gélatine	Lys	Cys, Trp	Pro, OH-Pro, Gly
Gluten	Lys, Thr		Gln
Soja			Arg

Tableau 6 : Exemples de compositions uniques en acides aminés

<u>Fraction protéique</u>	<u>Technologie</u>
Protéines lactiques totales	ultrafiltration
Caséine acide	précipitation acide
Caséinates de Na, K, Ca	précipitation acide et neutralisation
Phosphocaséine native	microfiltration
Caséine β	microfiltration de caséine micellaire T<5°C
Caséine α	ultrafiltration ; microfiltration
Caséine K, Glycomacropeptide	addition de calcium
Concentré de protéines du petit lait	ultrafiltration
Concentré de petit-lait délipidé	microfiltration et ultrafiltration
Isolat de protéines de petit-lait	échangeur d'ions sur cellulose modifiée ou sur "Sphérosil"
α -lactalbumine	procédés combinés
β -lactoglobuline	procédés combinés
Lactoferrine/lactoperoxydase	échangeur d'ions

Tableau 7 : Technologies utilisées pour l'isolement des protéines lactiques

3.4 - Les hydrolysats de protéines en alimentation

Les protéines alimentaires peuvent être hydrolysées industriellement à l'aide de protéases, pour conférer à des aliments, des propriétés nutritionnelles ou fonctionnelles particulières. Dans ce contexte, le choix de ou des enzymes utilisées et le degré d'hydrolyse sont des paramètres déterminants pour les propriétés recherchées.

Pour des applications en nutrition infantile ou clinique, on utilise préférentiellement des protéases naturellement présentes dans le tube digestif. Si leur spécificité ou leur prix ne permettent pas d'atteindre les propriétés requises, d'autres protéases sont disponibles (Tableau 8).

Les hydrolysats de protéines sont recommandés essentiellement pour les propriétés suivantes :

- diminution des propriétés allergéniques ; application en nutrition infantile (laits hypo-allergéniques) et en nutrition clinique (produits d'alimentation entérale bien tolérés),
- absorption plus rapide ou plus complète des acides aminés ; applications en alimentation clinique chez des patients ayant des problèmes de malabsorption,
- aliments de ré-hydratation ayant une osmolarité contrôlée : application chez le sportif et dans les cas de diarrhée infectieuse des enfants.
- production de peptides à activité physiologique reconnue.

Origine	Source	Nom	Spécificité préférentielle
animale	bovine a) ou porcine b)	pancreatine b)	très large
		trypsine a) b)	Lys-, Arg-COOH
	chymotrypsine a)	Phe-, Tyr-COOH	
	elastase b)		
	pepsine a) b)	aromatic, leu, Asp-COOH	
végétale	papaie ananas	chymosine	Asp-COOH
		papaïne	Lys-, Arg-, Phe-X-COOH
bactérienne	B. subtilis	bromélaïne	Lys-, Arg-, Phe-, Tyr-COOH
		subtilisine	Hydrophobic-COOH
		neutrase	Leu-Phe-NH ₂
champignons	B. licheniformis	alcalase	Hydrophobic-COOH
	B. thermoproteolyticus	thermolysine	Ile-, Leu, Val-, Phe-NH ₂
	Streptomyces griseus	Pronase	très large

a) bovine

b) porcine

Tableau 8 : Spécificité des protéases les plus utilisées

Le tableau 9 présente quelques exemples d'applications de différents hydrolysats actuellement produits ou incorporés dans des aliments spécifiques.

Perspectives. La technologie des hydrolysats de protéine n'en est qu'à son début et la découverte de nouvelles enzymes permettant de faire des coupures spécifiques, de préparer des peptides de taille précise et de composition prévisible devrait trouver des applications de plus en plus grandes en nutrition protéique.

Protéine	Enzymes	Taux d'hydrolyse	Fonctionnalité	Propriété nutritionnelle spécifique	Application
Petit lait	pancréatine	élevé	très soluble	rapidement absorbé	supplément
Petit lait	trypsine	moyen	non-thermo-coagulable	hypo-allergénique	bébés, femme enceinte
Petit lait	trypsine	faible		bonne absorption	nutrition clinique
Caséine + petit lait	trypsine + chymotrypsine	élevé		bonne tolérance/ bonne tolérance	nutrition clinique
Soja	neutrase	faible	émulsifiable	bonne absorption/ bonne tolérance	formules infantiles
Pois	neutrase	élevé	très soluble	moyenne	supplément
Gluten		élevé	très soluble	source de glutamine	supplément, nutrition clinique

Tableau 9 : Quelques hydrolysats de protéine et leurs applications

4 - LES PROTEINES A ACTIONS PHYSIOLOGIQUES

4.1 - Effets physiologiques à préserver

Les protéines possèdent des propriétés physiologiques spécifiques : enzymatique, hormonale, facteur de croissance ou immunologique, qu'elles conservent si elles restent à l'état natif, en particulier quand elles n'ont pas subi de traitement de dénaturation par la chaleur. Ces effets physiologiques sont attribués à des protéines entières ou à des fragments de protéines qui peuvent être générés par hydrolyse dans le tube digestif. Le lait est encore un excellent exemple car il contient ces deux types de facteurs physiologiques (Tableau 10).

Perspectives. L'identification des propriétés physiologiques des protéines et de fragments peptidiques est une activité qui se développe et dont on peut envisager les applications en nutrition préventive ou clinique.

Protéine concernée	Forme active		Propriété physiologique
	protéine	fragment peptidique	
lactoferrine	+		Transporteur de Fe, immunomodulateur
lactoperoxydase, lysozyme	+		antibactérien
immunoglobulines	+		anticorps spécifiques
Transforming growth factor-β	+		facteur de croissance
Caséine αs1		séquence 23-34	antihypertensif
Caséine	+	phosphopeptides	chélateur du Ca ⁺⁺
β-caséine		séquence 63-68 séquence 60-67 séquence 177-183	immunomodulateur opioïde antithrombotique
Caséinomacropéptide		séquence 106-116	immunomodulateur antithrombotique
gluten, riz		+	opioïde
soja		+	anticholestérol

Tableau 10 : Facteurs physiologiquement actifs présents dans les protéines alimentaires

4.2 - Effets physiologiques à éliminer

Les protéines alimentaires sont responsables d'allergies qui peuvent se manifester dès l'enfance ou se développer plus tard au cours de la vie. Certaines protéines sont reconnues comme étant très allergéniques, l'albumine d'oeuf, la β -lactoglobuline, l'arachide, le soja. Leur caractère allergénique peut être diminué ou éliminé par des hydrolyses enzymatiques plus ou moins poussées comme c'est le cas des laits hypo-allergéniques actuellement sur le marché.

Le traitement de ces allergies peut trouver une solution dans la recherche et l'utilisation de protéines reconnues comme étant peu allergéniques. Une autre solution est une meilleure compréhension des phénomènes de tolérance et de leur maîtrise dans des produits adaptés.

Le cas de l'allergie au gluten (plus généralement appelé intolérance au gluten), est particulier car il résulte d'un mécanisme différent des allergies traditionnelles et qu'il n'est pas résolu par des hydrolyses enzymatiques même poussées. Des recherches dans ce domaine s'avèreraient utiles.

Perspectives. Prévenir les risques d'allergies chez les populations à risque et traiter les allergies déclarées par l'élimination des sites allergéniques ou une meilleure maîtrise de leur tolérance.

RESUME

L'évolution récente dans les domaines de la nutrition et de la technologie des protéines, qui a vu des utilisations nouvelles dans des produits de plus en plus spécifiques, ne peut qu'évoluer dans le même sens. L'exploitation des diverses sources de protéines peut voir son aboutissement à condition qu'une spécificité nutritionnelle, physiologique ou fonctionnelle se dégage. Le rôle de la technologie s'avère essentiel pour isoler les fractions intéressantes, leur garder ou leur conférer les propriétés adéquates à des coûts acceptables. Ceci ne peut aboutir que par plus de recherche à la fois en nutrition pour développer de nouveaux concepts, en technologie pour développer les procédés nécessaires et en science alimentaire pour mieux comprendre la physico-chimie des protéines et les interactions dans les systèmes alimentaires. Ces perspectives de développement vont dans le sens de la création de meilleurs produits tant du point de vue des qualités organoleptiques que des qualités nutritionnelles, pour la satisfaction et la santé du consommateur.

CONCLUSION

RÉLAT A.

Dans le premier tome du dossier protéines de l'IFN ont été définis le métabolisme et les besoins protéiques de l'homme grâce à l'analyse des conditions de remplacement et de néoformation des tissus de croissance et de production. Ces besoins se révèlent très variables selon les conditions physiologiques et physiopathologiques rencontrées, et également selon le potentiel génétique très différent d'un individu à l'autre.

La satisfaction de ces besoins est évidemment fonction de la structure physico-chimique des protéines alimentaires et de leur composition en acides aminés. Ce sont précisément ces caractéristiques des diverses protéines alimentaires que s'attache à préciser ce deuxième tome afin de parvenir à la meilleure adéquation entre apports alimentaires et besoins métaboliques. Tout d'abord un inventaire des protéines végétales et animales est dressé, ce qui permet d'analyser leurs avantages et inconvénients respectifs. Les premières, généralement moins bien équilibrées dans leur apport d'acides aminés que les protéines animales, sont produites de façon plus abondante et plus économique dans le monde, les quantités quotidiennes consommées (46 g) représentant 65 % de l'apport journalier moyen de protéines totales enregistré en 1991 avec de fortes variations quantitatives (33 à 48 g) et percentuelles (37 à 78 %) selon la zone géographique. Certaines de ces protéines végétales - celles des plantes vertes (luzerne) - sont de bonne qualité alimentaire et constituent une valorisation intéressante des sols par leur productivité à l'hectare. D'autres, contenues à taux élevé dans les graines de légumineuses, présentent un profil d'acides aminés tout à fait complémentaire de celui des protéines présentes à taux médiocre dans les céréales, et permettent ainsi d'équilibrer des régimes purement végétariens. Cependant, certaines protéines végétales, celles des graines de légumineuses, contiennent des substances antinutritionnelles dont il faut se débarrasser à l'aide de divers traitements technologiques actuellement bien maîtrisés.

Les animaux, de leur côté, constituent d'excellents fournisseurs de protéines alimentaires en raison d'une teneur élevée de protéines très bien équilibrées en acides aminés et de l'absence de produits toxiques et la comparaison des caractéristiques des diverses protéines animales (lait, oeuf, viande, poisson) fait bien ressortir ces qualités. Cependant, on ne peut oublier - et cela n'est jamais assez souligné - que la production de protéines animales est très coûteuse en raison du faible rendement exprimé par l'organisme animal lors de la transformation des matières azotées végétales pour la synthèse de nouveaux tissus (muscle, lait) ou le renouvellement des tissus anciens (entretien). Ce rendement varie entre 6 % pour la production de viande de boeuf, 20 % pour la production de viande de volaille et 30 % pour la production aquacole. Compte tenu de l'accroissement de la population mondiale, on peut présumer que c'est la technologie des protéines végétales, moins coûteuses à obtenir, qui permettra de participer le plus efficacement à la couverture des besoins de l'espèce humaine.

Les diverses technologies, qui permettent la valorisation des protéines, qu'il s'agisse de protéines laitières, ou de protéines végétales, sont évidemment intéressantes à connaître. Ces technologies, qui permettent d'isoler et purifier les protéines, élargissent considérablement leur domaine d'utilisation grâce à l'identification et à la valorisation de leurs propriétés fonctionnelles et un certain nombre d'applications majeures en sont tirées. A titre d'exemple, on peut citer l'utilisation des matières protéiques végétales (MPT) dans les produits alimentaires, notamment les produits à base de viande ou

de charcuterie, ou dans des produits diététiques, constituant un débouché très important de ces progrès technologiques.

Les protéines alimentaires ne sont pas des produits inertes, tant s'en faut et elles subissent des modifications importantes, qu'elles soient subies au cours de l'entreposage ou des traitements technologiques, ou provoquées et voulues pour améliorer leurs propriétés fonctionnelles. Les traitements technologiques susceptibles de modifier la structure physico-chimique des protéines relèvent de l'action de la chaleur (traitements thermiques) et des oxydants, ou du fractionnement. Bien évidemment, l'action combinée de la chaleur et de l'oxydation peut se retrouver au niveau de l'entreposage, par exemple dans les zones tropicales. L'effet des traitements thermiques est variable selon leur intensité : il s'étend de la réaction de Maillard (qui peut se produire par exemple entre les groupements aminés des acides aminés et les groupements réducteurs d'un ose) lorsqu'ils sont modérés, à la formation de ponts dans les structures protéiques lorsqu'ils sont plus violents, avec des conséquences très variables selon que ces réactions touchent la disponibilité de la lysine (réaction de Maillard) ou la digestibilité des protéines (interaction protéines-protéines). Ces traitements peuvent aboutir également à l'hydrolyse des protéines et à la racémisation des acides aminés et à leur transformation en arômes et produits mutagènes. La réaction de Maillard est cependant à l'origine de qualités organoleptiques agréables dans les produits exposés à la chaleur.

Les modifications dirigées, qui ont pour but de produire de nouvelles protéines aux propriétés fonctionnelles et nutritionnelles améliorées sont fondées sur l'utilisation de moyens génétiques ou enzymatiques. Le génie génétique qui permet d'intervenir avant la biosynthèse des protéines au niveau des gènes qui les déterminent, constitue une voie de progrès prodigieusement féconde par les possibilités qu'il ouvre, soit grâce à la mutagenèse dirigée du gène *in vitro* suivie de l'expression dans un hôte approprié (bactérie), soit grâce au transfert de gènes (transgénèse) dans l'organisme où s'opère la biosynthèse. Par contre l'utilisation des enzymes permet de modifier les protéines après leur biosynthèse. Ainsi, le traitement des protéines à l'aide d'enzymes hydrolytiques, technique déjà ancienne, aboutit à la formation de peptides possédant de nouvelles propriétés biologiques, fonctionnelles et nutritionnelles qui intéressent aussi bien l'alimentation que la médecine et la pharmacie. Ainsi, l'hydrolyse ménagée des protéines de lactosérum permet-elle d'obtenir des hydrolysats protéiques partiels dont les acides aminés sont absorbés très rapidement et sous un bon équilibre, ce qui les rend particulièrement assimilables en nutrition entérale chez les malades à tube digestif court. Ainsi, également, a-t-on pu obtenir la formation de certains peptides bioactifs, aux activités biologiques diverses (anti-hypertensive, antithrombotique, etc...). Par contre, l'utilisation d'enzymes non hydrolytiques (kinases, phosphatases, etc...) qui a pu cependant aboutir à 150 modifications post-traductionnelles en laboratoire, est encore actuellement sans débouché dans la production en raison du coût élevé d'obtention des enzymes à mettre en oeuvre.

Quoi qu'il en soit, la connaissance affinée de la structure physico-chimique des protéines alimentaires de diverses origines, ainsi que les capacités toujours plus grandes des industries agro-alimentaires à les isoler, purifier et traiter permettent de leur offrir des perspectives très grandes de développement, qui touchent aux sources alternatives de protéines, et à l'exploration de leurs propriétés fonctionnelles, nutritionnelles et physiologiques. On peut ainsi miser sur le développement de produits de plus en plus spécifiques pour des groupes de populations mieux ciblés, en fonction de l'âge et du statut physiologique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANANTHARAMAN K., FINOT P.A. - Nutritional aspects of food proteins in relation to technology. Food Reviews International, 1993, 9, 629 - 655.
- ARILAIT-RECHERCHE. CAYOT P. - Structures et technofonctions des protéines du lait, natives ou modifiées. Tec. et Doc., Lavoisier, 1997.
- BOURGEOIS C.M., LE ROUX M. coordonnateurs - Protéines animales. Tec. et Doc., Lavoisier, 1982.
- CAYOT P. - Les protéines du lait de vache : impacts des traitements industriels sur leur structure et leurs aptitudes technofonctionnelles. Synthèse bibliographique, Arilait, Paris, 1995.
- CHEFTEL J.C., CUQ J.L., LORIENT D. - Protéines alimentaires, Tec. et Doc., Lavoisier, 1985.
- CHEFTEL J.-C., CHEFTEL H., BESANCON P. - Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Vol I et II., Lavoisier, Tec. et Doc., 1977.
- DILLON J.C. - Les méthodes d'évaluation de la valeur nutritive des protéines en alimentation humaine. Cah. Nutr. et Diet., 1992, XXVII, 1, 54-58.
- Documentation du CIDIL - Les Cahiers de la qualité. Lexiques. Protéines. CIDIL, 34 rue de Saint-Petersbourg, 75382 PARIS, 1993.
- Documentation du CIDIL - Protéines du lait, protéines d'avenir, CIDIL, 34, rue de Saint-Petersbourg, 75382 PARIS, 1994.
- Documents GEPV:
- . Actes des Colloque au SIAL de 1986 à 1992,
 - . Le Noble Art des MPV, brochure, 1990,
 - . Brochure Technique MPV, 1992,
 - . Bibliographie annuelle sur les propriétés nutritionnelles des Protéines Végétales (dernière mise à jour faite en avril 1997),
 - . Lettre d'information : POSITIONS GEPV.
- DUPIN H. et al. - Apports nutritionnels conseillés pour la population française. 2ème édition. Tec. et Doc., Lavoisier, 1992.
- FURST P. - Peptides in clinical nutrition. Clinical Nutrition, 1991, 10, Supp : 19 - 24.
- GAUDARD-DE WECK D., HISCENHUBER C., KRUSEMAN J. - Protéines - définition, aspects nutritionnels et méthodes d'évaluation : un article de revue. Trav. Chim. aliment. hyg., 1994, 85, 317 - 339.
- GODON B., HY M., DE LA METTRIE H., NICOLAS F., POPINEAU Y. - Le gluten, modifications technologiques, nouveaux produits, nouveaux débouchés. INRA, Economie et Sociologie rurale. 1992, 65 pages.
- GODON M. et al - Les protéines végétales. Lavoisier, 2ème édition, 1996.
- GUEGEN J. éditeur - Valorisations non alimentaires des grandes productions agricoles, INRA éditions , 1995.
- GUEGUEN J., LEMARIE J. - Composition, structure et propriétés physico-chimiques des protéines de légumineuses et d'oléagineux. Dans Protéines Végétales. 2nd Ed .B. Godon, Lavoisier, 1996.
- LAROUSSE J. coordonnateur - La conserve appertisée. Chapitre 3. Enzymologie de la maturation des viandes, Tec. et Doc., Lavoisier, 1991.

- LINDEN G., LORIENT D. - Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole. Edition Masson, Paris, 1994.
- LORIENT D., CLOSS B., COURTHAUDON J.L. - Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. Lait, 1991, 71, 141-171.
- MAUBOIS J.L., LEONIL J. - Peptides du lait à activité biologique. Lait, 1989, 69, 245 - 269.
- Normes Codex pour les MPV et Directives Générales pour l'utilisation des MPV dans les aliments : CAC/Vol. XIX, Suppl.1. Commission du Codex Alimentarius, Rome, 1989, FAO/OMS.
- OHSHIMA T., SUZUKI T., KOIZUMI C. - New development in surimi technology. Trends in Food Science & Technology, 1993, 4, 157 - 162.
- OSBORNE T.B. - The proteins of the wheat kernel. Carnegie Inst. : Washington D.C. Publi., 1907, 84.
- OSBORNE T.B., MENDEL L.B. - The choice between adequate and inadequate diets as made by the rats. J. Biol. Chem., 1918, 35, 19-27.
- POPINEAU Y., DENERY-PAPINI S. - Les protéines de réserve du grain de blé. In Protéines végétales, B. GODON, Lavoisier, 1996.
- Protein hydrolysates : properties and uses in nutritional products. Overview. Outstanding symposium in food science & technology. Food Technology. 1994, 68 - 101.
- REEDS P.J., HUTCHENS T.W. - Protein requirements : from nitrogen balance to functional impact. J. Nutr., 1994, 124, 1754S - 1764S.
- RIBADEAU-DUMAS B., GRAPPIN R. - Milk protein analysis, Lait, 1989, 69, 357-416.
- ROSENBERG M. - Current and future applications for membrane processes in dairy industry. Trends in Food Science & Technology, 1995, 6, 12 - 19.
- SCRIBAN R. coordonnateur - Biotechnologie, Tec. et Doc., Lavoisier, 1988.
- STEINKE F.H. et al. - New protein foods in human health. CRC Press, Boca Raton, Fl, 1991.
- Table-Ronde sur les produits du Soja : Entretiens de Bichat, 1991.
- UTSUMI S. - Plant food protein engineering. Advances in Food and Nutrition Research, 1992, 36, 89-208.
- UZZAN A. - Les protéines végétales en alimentation humaine. Cah. Nutr. Diet., 1994, XXIX, 1, 38-46.
- UZZAN A., DELFLY P. - In Protéines végétales, B. GODON, Lavoisier, chapitre 10, 1996.
- YOUNG V. R., PELLETT P.L. - Current concepts concerning indispensable amino acid needs in adults and their implications for international nutrition planning. Food and Nutrition Bulletin, 1990, 12, 289 - 300.