

Université Badji Mokhtar - Annaba

Faculté des Sciences

Département de biochimie

Master .1. Biochimie Appliquée

Cours: Biochimie Appliquée: Biomolécules d'origine végétale

METHODES D'EXTRACTION DE PROTEINES VEGETALES

PLAN

1. Méthodes d'extraction proprement dites

1.1. Méthodes d'enrichissement (négatives)

1.2. Méthodes d'isolement (positives)

1.2.1 . Mise en solution des protéines par voie chimique

1.2.2 . Mise en solution des protéines par voie enzymatique

2. Applications à certaines sources de protéines

2.1. Protéines de graines

2.1.1 Protéines de légumineuses

2.1.2 Protéines de céréales

2.2. Protéines de feuilles

Conclusion

Bibliographie

1. Méthodes d'extraction proprement dites

Il est distingué les méthodes d'enrichissement protéiques(négatives) des méthodes d'isolement (positives).

1.1.Méthodes d'enrichissement (négatives)

4 étapes principales sont adoptées:

a. Dispersion des différents éléments pour faciliter les opérations de fractionnement par les traitements mécaniques (concassage, agitation, broyage, mouture ect...). Le but est de provoquer une augmentation du rapport Surface/Volume.

b. Traitement thermique (50 à 140°C pour des durées variables) pour permettre la fluidification d'une phase (fonte des graisses), la solidification d'une phase (coagulation des protéines par thermodénaturation) et la déshydratation (concentration) afin de faciliter l'élimination des lipides.

c. Extraction proprement dite de la phase solide contenant les protéines et élimination de la phase liquide renfermant l'eau et les lipides fondus. Il est utilisé des filtres, des presses et des centrifugeuses

d. Séchage pour éliminer l'eau et extraction solide- liquide des lipides résiduels .

Les concentras sont totalement délipidés car les lipides résiduels oxydés sont responsables d'interactions protéines- lipides oxydés.

Différents systèmes d'extraction sont employés:

- Hexane + Acétate d'éthyle + Isopropanol
- Ethanol 95%
- Hexane seul pour lipides ou avec de l'éthanol pour éliminer les odeurs.

1.2 Méthodes d'isolement (Positive)

L'isolement des protéines de certaines légumineuses alimentaires est réalisé à l'échelle industrielle . Après la mise en solution, les protéines sont extraites par précipitation et extraction solide/liquide, par filtration en fonction de la masse moléculaire et par fixation sur support actif puis élution. Ces méthodes sont moins dénaturantes .

Trois paramètres sont pris en considération:

- Le rendement:

$$r = \text{Masse de protéines extraites} / \text{Masse de protéines à extraire}$$

Il est souvent faible pour les protéines végétales excepté pour le soja riche en globulines. Il est amélioré par la solubilisation par voie chimique ou dans certains cas ,par voie enzymatique.

- La sélectivité : Elle est caractérisée par le degré de pureté et d'homogénéité. Elle est rarement demandée en industrie alimentaire.

- Le Coût d'extraction : Il est lié à la vitesse $V = \text{Masse de protéines} / \text{Unité de temps}$ et à la concentration de l'extrait.

1.2.1 Mise en solution par voie chimique

Les facteurs qui influent sur la solubilisation des protéines sont le pH, la force ionique et la température.

-pH: La solubilisation est minimale au pHi . Le pH légèrement alcalin est choisi car la solubilité est meilleur qu'en milieu acide et proche de la neutralité. A partir de pH9, il y a la formation de ponts covalents intra ou intermoléculaire rendant la protéine moins digestible.

- Force ionique: L'influence positive de la force ionique sur la solubilité est observée surtout à pH proche du pHi. La solubilité est améliorée par les sels au pHi. Aux pH extrêmes , l'augmentation de la force ionique entraine la diminution de la solubilité.

- Température: Les faibles températures sont choisies car peu dénaturantes et défavorables aux développement des microorganismes.

Lorsque les protéines sont résistantes à la dénaturation, l'extraction à haute température est rentable.

Il faut tenir compte des procédés utilisés pour la récupération des protéines. s'il s'agit de la précipitation isoélectrique, l'ajustage de pH entraîne la formation de sels et risque de perturber la précipitation. Pour l'échange d'ions ou la filtration sur gel, il faut éviter les dilutions et ajuster le pH aux exigences imposées par les supports.

1.2.2 Mise en solution par voie enzymatique

La méthode est assez coûteuse. Elle est intéressante pour solubiliser les protéines. Elle serait valable si l'hydrolyse était limitée. Les produits de la réaction enzymatique sont des hydrolysats aux goûts parfois très amers.

2. Applications à certaines sources de protéines

2.1. Protéines de graines

2.1.1 Protéines de légumineuses

Les légumineuses sont cultivées pour la consommation humaine (haricot, pois, fève ...) ou l'alimentation animale (soja, luzerne...). Elles sont caractérisées par une forte teneur en protéines. Les graines renferment principalement des albumines solubles dans l'eau et les globulines solubles dans les solutions salines neutres. Les globulines sont les protéines de réserves dominantes et constituent 50 à 90% des protéines totales.

Pour les graines de soja, les protéines riches en acides aminés soufrés représentent 30 à 50%. Les globulines et les albumines représentent respectivement 90 et 10% par rapport aux protéines totales. Après extraction de l'huile par pressage ou à l'hexane, les tourteaux sont transformés en farines. L'obtention d'isolat ou de concentrat est obtenue par:

- Solubilisation en milieu alcalin, puis purification par pH- précipitation à 4.5

- Précipitation à l'alcool
- Précipitation à la chaleur

Les isolats ont de bonnes propriétés de viscosité, gélifiantes et liantes.

Concernant le colza, le tournesol, le coton et l'arachide, les tourteaux renferment des substances antinutritionnelles (substances goitrigènes, polyphénols ...) qu'il faut éliminer. Les isolats sont purifiés par ultrafiltration et par chromatographies échanges d'ions.

Concernant la féverole, les rendements des concentrés doués de propriétés fonctionnelles obtenus par les techniques de précipitation sont faibles. Des concentrés protéiques sont obtenus par turbo séparation. Les glucides fermentescibles et les α galactosides persistent.

2.1.2 Protéines de céréales

Parmi les céréales, le blé principalement destiné à l'alimentation de l'homme renferme différentes protéines. Il est distingué:

- Les albumines: Solubles dans l'eau
- Les globulines: Solubles dans les solutions salines à faibles concentrations
- Les gliadines : Solubles dans l'éthanol 70%
- Les gluténines: Partiellement solubles dans les solutions acides dilués et dans l'urée

Les gliadines et les gluténines à part, à peu près égale, de 40 à 45% des protéines totales sont les constituants majeurs de la masse cohérente, insoluble dans l'eau et viscoélastique formée après hydratation: le gluten. Ce dernier est obtenu par lixiviation. Pour son extraction, le pâton formé (0.6 à 1 l d'eau / Kg de farine) est lavé avec de l'eau pour éliminer l'amidon qu'il faut valoriser. Il donne à la farine les propriétés viscoélastiques exploitées en boulangerie. Il permet à la

pâte de lever lors de la fermentation. Les gluténines sont des agrégats protéiques constitués de sous-unités de masses moléculaires faibles (L.M.W) ou élevées (H.M.W) allant de 200KDa à quelques millions de daltons. Elles sont stabilisées par des ponts disulfures et des interactions hydrophobes. Elles sont responsables de la consistance et de l'élasticité de la pâte. Les gliadines sont la cause de la maladie coeliaque chez les individus génétiquement prédisposés. Cette pathologie définie chez l'enfant, comme une entéropathie chronique avec atrophie villositaire secondaire à une réponse immunitaire inappropriée de la muqueuse intestinale à la gliadine. A côté de cette forme typique chez le nourrisson dont le diagnostic repose sur l'analyse histologique d'une biopsie intestinale, le développement de marqueurs sérologiques a révélé l'incidence élevée des formes frustes, pauci-symptomatiques silencieuses voire latentes, faisant de la maladie coeliaque et des manifestations non digestives de l'intolérance au gluten des pathologies fréquentes. Ce sont ces formes qui sont les plus fréquentes chez l'adolescent et l'adulte. Pour l'hypersensibilité, la réaction immune est médiée par les IgE. Les IgE spécifiques sont détectées contre les épitopes des oméga-5 gliadines et des gluténines à hauts poids moléculaires. Dans ce cas, il n'existe pas d'atrophie villositaire intestinale. Il s'agit d'une pathologie moins fréquente que la maladie coeliaque.

L'extraction du gluten à partir de la farine de blé est réalisée industriellement. Cette opération a pour but d'obtenir du gluten afin de l'utiliser pour améliorer la valeur boulangère de certaines farines faibles de blé tendre ou pour appauvrir la farine du gluten (produit hypoallergénique) pour un usage diététique.

2.2 Protéines de feuilles:

Les luzernes sont généralement utilisées pour l'alimentation animale. Elles peuvent être déshydratées et transformées en granules riches en protéines donnés comme complément d'alimentation. L'industrie agro-alimentaire tire des protéines destinées à l'alimentation humaine. Dans le procédé, la partie aérienne de la plante fraîche est pressée. Il est obtenu un jus vert contenant 10% de M.S dont 30 à 40% de protéines. Le jus est chauffé à 80°C afin d'obtenir un coagulat protéique

(thermocoagulation). Le produit est séparé de la phase liquide par centrifugation, puis séché. Il est obtenu des isolats à 85% de protéines.

Conclusion

La production d'une farine, d'un concentrat ou d'un isolat entraîne la formation d'un coproduit qu'il faut valoriser. Avant l'élaboration du concentré protéique, il faut savoir si le produit est intéressant du point de vue nutritionnel et fonctionnel et si les coproduits sont valorisables seuls ou faut-il les traiter pour former d'autres sous produits

Bibliographie:

1. Abderrazak , M; Gérard, T; (2009):- Abrégé de biochimie Appliquée.EDP Sciences, 483p.
- 2.Allan, M.M; (2003):- « Coeliac disease meeting point for genetics, immunology, and protein chemistry », The Lancet, vol. 361, no 9365, . p.p 1290-1292.
- 3.Armand, B; Germain; M; (2000):- *Le blé : fondamentaux et transformation*, Laval Presse Univers.
- 4.Bizzaro,N;Tozzoli, R; Villalta, D; Fabris, M; Tonutti, E ;(2010) : -Cutting-Ledge issues in celiac disease and in gluten intolerance. Clin. Rev Allergy Immunol. doi:10.1007/s12016L010L8223L1.
- 5.Branlard et al; (1980):- Les caractéristiques électrophorétiques des gliadines et la valeur en panification du blé tendre. Ann. Amel.Plantes, 30,2, 139-149.
- 6.Fattorusso , V; Ritter, O;(2004):-Vademecum clinique :du diagnostic au traitement (17^{eme} ed). Masson, Paris.
- 7.Feillet , P;(2000): - Le grain de blé. Edition INRA, p. 75.

8.Godon, B; Vallery- Masson; D; (1985): - Protéines végétales .Ed. Tech. et doc. Lavoisier, p.p. 25-163.

9.Hugh, C; Albert, W; (1989):- Hoveling, *Wheat: Chemistry and Utilization*, CRC Press, 426 p.

10.Husby, S; Koletzko, S; Korponay-Szabo, IR; Mearin, ML ;Phillips, A; Shamir, R; (2012):- European society for pediatric Gastroenterology, Hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease.*JPediatrGastroenterolNutr*; 54:136-60.

11.Monret- Vautrin D.A; Kanny G; Morisset M; (2006): - Les allergies alimentaires de l'enfant adulte. Edition Masson. p.155, Paris.

12.Nemni, A; Grimfeld, A; Just, J; (2006): - Allergie alimentaire chez l'enfant. *Allergologie: Décision thérapeutique en médecine générale* , 31, 2-7.

13.Quc, J; Leynaud- Rouaud , C; (1992): - Les graines de légumineuses. In: *Alimentation et nutrition humaine* (Henry D; et al, Eds.), p.p. 941-964, Paris: ESF.

14.Quillien, L; Gueguen, J;(1997): - Les différentes sources de protéines alimentaires. In: *Les protéines, Tome 2: Caractéristiques des différentes sources de protéines alimentaires*. p.p. 5- 19. Dossier scientifique de l'IFN N°9 bis.

15.Rougé, P; Brunet, E; Borges, J.P; (2011):- Les protéines à motif cupine: Allergènes majeurs des graines. *Revue Française d'Allergologie* 51(1): 36-40.

Sites web :

(a) <http://.weishardt.com/doc/proprietes-gelatine.pdf>

(b) file:///C:/Users/user/Downloads/G%C3%A9n%C3%A9ralit%C3%A9s-des-produits- autoris%C3%A9s-et-interdits%20(2).pdf