

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET VALEUR NUTRITIONNELLE
DES PROTEINES DE COLZA EXTRAITES PAR VOIE FERMENTAIRE

T. Staron

La production mondiale annuelle de graines de colza est d'environ 7 millions de tonnes et 600.000 à 700.000 tonnes de graines sont produites en France. L'huile va à la consommation humaine et à divers usages industriels, quant aux tourteaux ils sont destinés exclusivement à l'alimentation animale.

Les tourteaux de colza contiennent entre 32 et 37 % de protéines qui possèdent un équilibre en acides aminés convenable (4,55 % de thréonine, 4,30 % de méthionine-cystine et 5,5 % de lysine). Toutefois ces tourteaux recèlent des quantités importantes de composés soufrés, sous forme de thioglycosides.

Les produits issus de l'hydrolyse de ces composés (isothiocyanates, thiocyanates, nitriles) exercent chez les animaux des activités toxiques et antinutritionnelles qui se manifestent principalement par des effets goitrogènes. Ces propriétés dans la mesure où elles ne peuvent être atténuées donnent au tourteau de colza les caractéristiques d'un faux aliment, c'est-à-dire d'un produit qui possède les mêmes apparences que les denrées usuelles, sans en présenter les qualités nutritionnelles.

De nombreuses méthodes de détoxification des tourteaux et d'extraction des protéines ont été imaginées et publiées par ailleurs (APPELQVIST et OHLSON, 1972; BALLESTER et al., 1970; EKLUND et al., 1971; OWEN et CHICHESTER, 1971; PODNANSKI et al., 1973; RUTKOWSKI et KOZLOWSKA, 1967; STARON, 1970 a, b; TAPE et al., 1970; WIEDNER, 1971). Nous traiterons donc dans ce texte des propriétés physico-chimiques et de la valeur nutritionnelle des protéines de colza extraites par voie fermentaire.

Caractéristiques et composition des fractions protéiques obtenues

Les protéines des graines de colza sont moins bien connues que les protéines natives de soja et varient considérablement avec les variétés et les méthodes culturales, se qui explique les grandes divergences entre les travaux tchèques, canadiens et suédois. En effet, les variations d'azote non protéique (de 2 à 11 %) et des groupes de protéines sont très importantes. D'après un travail suédois cité par APPELQVIST et réalisé sur *Brassica napus*, il y aurait environ 20 protéines acides, 20 protéines neutres et 5 protéines basiques:

- 20 % de ces protéines possèdent un PM de 16 - 20.000
- 5 % de ces protéines possèdent un PM de 50 - 75.000
- 75 % de ces protéines possèdent un PM de 120- 150.000

Le constituant majeur est une globuline 12S qui se fragmente en 3S et 7, 2S(1).

De nombreuses enzymes ont été également identifiées (thioglycosides glucohydrolase, lipase, lipoxygénase, choline - kinase, acide glycérique kinase, glutamique décarboxylase, β -galactosidase, β -glucosidase, estérase).

Il n'est pas possible de reconnaître ces constituants après extraction industrielle de l'huile par pression et cuisson désamérisation. En effet, ces traitements technologiques dénaturent les protéines natives et par conséquent altèrent leurs propriétés physico-chimiques initiales: on voit apparaître de nouveaux peptides, des hauts polymères, de nouvelles protéines et des composés issus de la réaction de Maillard etc. . .

Les protéines de colza se caractérisent par des solubilités dans l'eau (30 à 50 %), dans le NaCl à 5 % (25 à 50 %) et dans la soude 0, 1N (30 à 60 %) beaucoup plus faibles que celles du soja (80 à 90 %, pour les trois solvants).

Les variations des solubilités des protéines sont très importantes en fonction des lots de tourteaux de colza. Ces différences sont principalement dues aux traitements technologiques appliqués pour extraire l'huile et pour diminuer la nocivité des tourteaux vis à vis des animaux.

Nous avons réalisé des tests de solubilité dans différentes solutions, sur des tourteaux originels, puis fermentés; les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous:

Tourteaux de colza - Protéines solubles, en pour cent des protéines totales

	H ₂ O	NaCl 5%	NaOH 0, 1N
Tourteau d'extraction par solvants, CETIOM	30	42	33
Tourteau d'extraction par solvants, fermenté	45	79	55
Tourteaux cuits (moyenne de 5 échantillons)	12	22	27
Tourteaux cuits fermentés (moyenne de 6 échantillons)	26	58	37

Ces résultats mettent en évidence la faible solubilité des protéines de colza avant fermentation. Par ailleurs seules les protéines solubles dans le NaCl précipitent convenablement entre pH = 3, 8 et 4, 2.

Caractéristiques des protéines de colza après fermentation

Au cours de la fermentation les protéines du tourteau de colza sont profondément modifiées.

On observe la libération, puis l'hydrolyse d'hétéroprotéines (protéines α);

une solubilisation progressive de protéines ne possédant pas de pH isoélectrique et qui constitue 25 % des protéines totales (protéines β); des protéines qui s'insolubilisent à pH = 4 (protéines γ).

En fin de macération on distingue donc 2 types de protéines faciles à séparer par centrifugation:

- (a) protéines solubles à pH = 4;
- (b) protéines insolubles à pH = 4.

Leurs compositions centésimales, en acides aminés et certaines propriétés physico-chimiques sont consignés dans les tableaux ci-dessous.

	Protéines β	Protéines γ désamérisées	Tourteau de colza départ
Protéines	100	85	34 à 38
Cellulose	-	2	13
Autres hydrates de carbone	-	6	30 à 35
Matière grasse	-	-	1,5
Cendres	-	2	6 à 8
Humidité	-	5	10 à 12
Indice de solubilité protéique (PSI)	95 à 100	40 à 60	5 à 20
pH isoélectrique	-	4	2 à 6
Capacité d'absorption de l'eau, en % de la protéine	solubles	100 à 130	30 à 50
Lysine disponible en % de la lysine totale (Roach) (10, 17)	98	92 à 95	75 à 92

Composition en acides aminés en % pour 16 g d'N

	Tourteau de colza départ	Protéines γ de colza fermenté	Protéines β de colza fermenté
Acide aspartique	7,73	8,03	2,68
thréonine	4,36	5,56	3,63
sérine	3,92	5,01	3,85
Acide glutamique	19,36	16,07	25,71
proline	6,55	6,69	10,23
glycocolle	5,48	5,75	4,87
alanine	4,84	5,19	4,00
cystine	2,00	1,50	4,00
valine	5,74	6,05	4,15
méthionine	1,78	2,35	2,80
isoleucine	4,76	4,65	3,11
leucine	7,62	8,21	6,64
tyrosine	3,07	3,49	1,55
phénylalanine	4,54	4,30	2,79
histidine	3,05	2,76	4,26
lysine	5,90	5,90	7,27
ammoniaque	2,48	1,77	2,03
arginine	6,82	6,72	6,53
tryptophane	1,25	1,20	1,30
Pourcentage de protéines	34	65 à 85	100

Lorsqu' on soumet les protéines de colza fermentées à des fractionnements salins, puis d'exclusion sur sephadex en présence de marqueurs, on retrouve les fractions décrites dans le tableau suivant:

Fractions	Composants	Poids moléculaires	% des protéines totales
Azote non protéique	acides aminés peptides	500 à 6000	6 à 10
Protéines	Sous - Unités Unité complète	20.000 à 30.000 60.000	25
Protéines ✓	5 à 9 fractions	75.000 à 600.000	65

Recherches de germes pathogènes dans les poudres obtenus (protéines β, γ)

Les farines protéiques destinées à l'alimentation humaine doivent posséder les caractéristiques bactériologiques définies par le P A G. Les déterminations pratiquées sur les lots obtenus ont donné des résultats très satisfaisants.

Germes	Normes bactériologiques	
	P A G	Protéines de colza
Aérobies	$< 2 \times 10^4/g$	7.000 à 15.000/g
Anaérobies	$< 10^4/g$	1.000 à 3.000/g
Spores de champignons	$< 10/g$	10/g
Streptocoques du groupe D	$< 10^2/g$	absent/1g
Staphylococcus aureus	absent dans 1g	absent/1g
Clostridies réduisant les sulfites	$< 10^2/g$	absentes/1g
Escherichia coli	absent/10g	absent/10g
Enterobactéries	absentes/0,1g	absentes/0,1g
Shigella	absentes/25g	absentes/25g
Salmonella	absentes/25g	absentes/25g
Arizona	absentes/25g	absentes/25g

Recherches d'effets antienzymatiques et hypertrophiants d'organes

Le colza est une graine très riche en composés toxiques et antinutritionnels. L'action de ces constituants se manifeste chez les différentes espèces animales par des effets antitrypsiques, hypertrophiants d'organes (pancréas, tyroïdes) et hormonaux (goitrogènes). Etant donné ces activités physiologiques nombreuses et complexes, il est indispensable de suivre les résultats de la détoxification par des méthodes biologiques in vitro et in vivo.

A) Test antitrypsique, in vitro

Pourcentage de protéine dégradée, en 2h30 à 37°C par le duodénum de rat lyophilisé.

milieu réactionnel:

Substrat	100 mg
duodénum de rat lyophilisé.	10 mg
tampon TRIS pH = 8	10 ml

Caséine lactique	22
Protéine du colza β	20,5
Protéine γ du colza	11,5
Protéine γ désamérisée par l'alcool	20
Tourteau de colza fermenté total	9,3
Tourteau de colza fermenté total désamérisé par l'alcool	15,2
Tourteau de colza	4,7
Tourteau de soja cuit	10,2
Tourteau de soja cru	2,8
Coagulum de luzerne	4,2
Coagulum de luzerne fermenté	14,7
Caséine de soja (Promine D)	9,1

B) Expérience d'hypertrophie d'organes chez le rat

Composition de l'aliment en %: Protéines = 20 %; Saccharose = 20%; huile d'arachide = 8 %; complément vitaminique et minéral = 4 %; amidon de froment variable q. s. p. 100 %.

- nombre d'animaux par lot = 12
- durée de l'expérience = 5 semaines

Nous n'avons pas inclus le lot de colza témoin, non fermenté, car le rat n'accepte pas de consommer cet aliment.

	<u>Poids moyen des</u> pancréas	<u>Poids moyen des</u> deux tyroïdes
Lot Caséine	320 mg	147 mg
Lot Protéine β	311 mg	130 mg
Lot Protéine γ	363 mg	215 mg
Lot Protéine γ désamérisé par l'alcool	290 mg	165 mg
Lot Tourteau de soja cru	467 mg	249 mg
Lot Tourteau de soja cuit	392 mg	170 mg

L'analyse des deux tableaux ci-dessus montre que la protéine β du colza se comporte comme la caséine lactique, par contre les protéines γ re-cèlent encore des impuretés qui manifestent des effets anti-trypsiques qui sont facilement éliminées par lavage de cette fraction à l'alcool à 95°. Pour ce qui concerne les effets hypertrophiants sur le pancréas et

les tyroïdes, ils ont été éliminés au cours des traitements technologiques. Des examens histologiques sont en cours sur les deux glandes. Notons par ailleurs qu'aucune anomalie pondérale ni lésion macroscopique ou perturbation biochimique n'a été observée sur les autres organes (foie, rate, reins, cerveau, intestins, poumons, coeur, gonades, estomac, os, muscles, peaux et poils) (STARON, 1970 a, b).

Les tests de comportement, de réponse immunitaire, de sécrétion d'hormone de croissance et les expériences de prolificité-tératogénèse n'ont pas permis de déceler de différences entre les lots de rats et souris recevant de la caséine lactique et les lots nourris avec les protéines de colza.

Valeur nutritionnelle des protéines de colza obtenues par voie fermentaire

Les GMQ (gain de poids moyen par animal) et les CEP = $\frac{\text{gain de poids}}{\text{quantités de protéines ingérées}}$ ont été réalisés sur jeunes rats mâles sevrés; la durée de l'expérience est de 21 jours et le taux de protéine dans les aliments est de 10 %. Chaque lot expérimental comportait 30 animaux.

Composition des régimes en pour cent; GMQ; CEP

Régimes	Caséine lactique	Tourteau de Soja cuit	Protéine β	Protéines γ	Amidon	Saccharose	Huile d'Arachide	Cellulose	Complément minéral et Vitaminique	DL-Méthionine	L-phénylalanine	GMQ	CEP
I	12	0	0	0	53,8	20	8	2	4	0,20	0	4,0	2,9
II	0	20	0	0	45,8	20	8	2	4	0,55	0	3,6	2,7
III	0	0	10	0	56	20	8	2	4	0	0	4,5	3,3
IV	0	0	0	15	51	20	8	2	4	0	0	3,7	2,8
V	0	0	0	15	50,85	20	8	2	4	0,15	0	3,9	2,90
VI	12	0	0	0	53,2	20	8	2	4	0,20	0,6	3,5	2,6
VII	0	0	10	0	55,4	20	8	2	4	0	0,6	4,1	2,9

Les CEP obtenus, chez le rat avec les protéines de colza sont donc intéressants, puisque le PAG propose que les protéines végétales pour l'alimentation humaine doivent avoir un CEP corrigé = 1,8, par rapport à la caséine = 2,5.

Préparation d'aliments et de boissons à base de protéines de colza fermenté (STARON et al., 1974)

Les protéines de colza fermentées ont été incluses dans de très nombreux aliments traditionnels de l'homme (boissons, produits charcutiers, produits patisseries), dans le but de déterminer le comportement rhéologique, la maturation, la conservation et l'acceptabilité de ces aliments.

Les boissons et les glaces

Les expériences ont été réalisées avec les protéines β qui sont très solubles et qui ne possèdent pas de point iso-électrique.

Il est possible de dissoudre jusqu'à 70 g/l de cette protéine dans les jus de fruits gazéifiés ou non, sans troubler le liquide, ni altérer les saveurs originelles de ces boissons. Il en est de même pour les glaces.

Les laits, les sauces, les potages

Ces trois types d'aliments liquides tolèrent des taux élevés de protéines β et γ (de 15 à 25 % de leurs poids secs) et conservent toutes les caractéristiques exigées par le palais.

Les produits charcutiers

a) Les charcuteries cuites:

Des rillettes, des pâtés de foies et de viandes, des cervelas, des saucisses type Strasbourg et Francfort ont été préparés. Les taux des protéines de viande remplacés par les protéines de colza varient selon les produits de 15 à 45 %. Dans ces limites l'aspect physique, l'impression masticatoire et palatale que confèrent ces aliments, sont respectés. Par ailleurs leur durée de conservation est supérieure à celle des aliments traditionnels.

b) Les charcuteries sèches:

Des saucisses sèches et des saucissons type Lyon, ont été obtenus avec des chairs dans lesquelles 15 % de protéines animales ont été remplacées par une partie équivalente de protéines de colza. La maturation de ces produits a été normale, leurs aspects et leurs goûts n'ont pas été perturbés.

Les pâtisseries, les pâtes alimentaires, le pain

Des cakes, biscuits divers, tuiles, flans, pâtes alimentaires ont été préparés avec des farines comportant 6 à 12 % de protéines de colza. Ces produits ont été très appréciés par les dégustateurs. Des chocolats ont également été protéinés. Pour ce qui concerne le pain un enrobage préalable de la protéine est nécessaire pour limiter la réaction de Maillard pendant la cuisson.

Discussion et conclusions

Les protéines de colza étant bien équilibrées, de nombreux auteurs ont tenté de les extraire et de les purifier dans le but de les utiliser dans l'alimentation des animaux monogastriques et de l'homme (BALLESTER et al., 1970; EKLUND et al., 1971; LO et HILL, 1971; OWEN et CHESTER, 1971; TAPE et al., 1970). Leurs procédés s'appliquent à la graine et aux tourteaux. Pour ce qui concerne les graines, on extrait

généralement l'huile par l'eau (procédé Dangoumault), on hydrolyse les thioglycosides par la myrosinase, puis on concentre les protéines par centrifugations différentielles et on les désamérise par l'alcool; les isothiocyanates sont éliminés dans les effluents.

A partir des tourteaux des tentatives d'extraction des protéines par la soude ont été réalisées, ainsi que leur récupération par précipitation acide ou ultrafiltration.

Les expériences nutritionnelles réalisées sur rates gestantes ont montré que ces fractions comportaient encore des substances toxiques autres que les glucosinolates; ces produits inconnus occasionnent des accidents vasculaires, des avortements et de la mortalité (EKLUND, 1973). Par contre chez les mâles l'efficacité alimentaire des protéines, ainsi obtenues est bonne (EKLUND et al., 1972).

Pour ce qui concerne la fermentation, il apparait qu'elle agit sur un grand nombre de paramètres: (hydrolyse des thioglycosides et dégradation des isothiocyanates apparus; hydrolyse de certains polysaccharides jusqu'au stade acides organiques; dégradation de la protéine α ; solubilisation progressive des protéines et libération de fractions originales (protéines β et γ).

Ces modifications aboutissent à un équilibre qui convient aux enzymes digestives et confère aux protéines de colza une innocuité parfaite, des propriétés technologiques intéressantes et une haute valeur alimentaire.

Des expériences nutritionnelles de longue durée, avec les protéines de colza fermentées, sont prévues chez l'homme, en vue de leur homologation.

Des variétés de colza sans thioglycosides, vont être cultivées dans les prochaines années et l'alimentation du bétail bénéficiera largement de ce progrès apporté par les généticiens. Cette solution élégante permettra de supprimer les technologies actuellement pratiquées et peu efficaces pour éliminer les substances toxiques du colza.

La fermentation, procédé séculaire qui permet l'obtention de très nombreux aliments humains (pain, fromage, vin, manioc, coprah, soja etc..) pourrait donc essentiellement être utilisée pour l'obtention des protéines de colza destinées à l'alimentation humaine.

Bibliographie

1. APPELQVIST, L. -A. et R. OHLSON (1972): Rapeseed
Elsevier Publishing Company Amsterdam, London,
New York
2. BALLESTER, D., R. RODRIGS, J. NAKOUZI, C. O. CHICHESTER,
E. YANEZ et F. MÖNCKEBERG (1970): Rapeseed meal

- III. A simple method for detoxification.
J.Sci.Food Agric. 21, 143
3. EKLUND, A., G. AGREN, T. LANGLER, U. STENRAM et H. NORD-GREN (1971): Preparation of a detoxified lipid-protein concentrate from rapeseed by a water ethanol, by hydraulic processing and evaluation its nutritive value.
J.Sci.Food Agric. 22, 650; 22, 653; 23, 1457 (1972)
 4. EKLUND, A. (1973):
Nutr. Rep. Int. 7, 647
 5. FAUCONNEAU, G., R. PION et P. VERMOREL (1971): Valeur nutritive des aliments pour les monogastriques en croissance: études effectuées sur le rat.
Rapport Interne INRA
 6. GRAY, W. D. (1970): The use of fungi as food and in food processing.
The Chem. Rubber CO, CRC monosci. Series
 7. LO, M. T. et D. C. HILL (1971): Evaluation of protein concentrates prepared from rapeseed meal.
J.Sci.Food Agric. 22, 128
 8. OWEN, D. F. et C. O. CHICHESTER (1971): A process for producing non toxic rapeseed protein isolate and an acceptable feed by-product.
Cereal Chem. 48, 91
 9. POZNANSKI, S., W. BEDNANSKI et J. JAKUBOWSKI (1973): Utilisation du lactosérum comme milieu pour transformer le grain égrugé de colza selon le procédé microbiologique.
Le Lait 523-524, 169
 10. ROACH, A. G., P. SANDERSON et D. R. WILLIAMS (1967):
J.Sci.Food Agric. 18, 274
 11. RUTKOWSKI, A. et H. KOZLOWSKA (1967): Rapeseed meal
Wydawnictwo Ministerstwa Przemyslu Lekkiego i Spozywczego, Varsovie Pologne
 12. STARON, T. (1970 a): Une méthode de détoxification des tourteaux de colza par voie biologique.
Journ. Int. Colza, Paris 26-30 mai 1970, p. 482
ed. CETIOM, 184 avenue Victor Hugo, Paris 17^o
 13. STARON, T. (1970 b): A method of biologically detoxifying rapeseed meal.
Proc. Int. Conf. Sci., Technol., Market. of rapeseed and rapeseed products. St. Adèle, Québec, Canada, 20.-23. Sept. 1970, p. 321
 14. STARON, T. (1973): Les légumineuses, nouvelles sources de protéines utilisables dans l'alimentation humaine.
Rev. Path. Comp. Med. Exper. 73^e année T. 10 n^o
Hors Série Décembre 1973

15. STARON, T., F. ROBINO, C. ESTEVE et A. KOLLMANN (1974):
Préparation d'aliments humaine à base de protéines
de colza fermentées.
(Texte in préparation)
16. TAPE, N. W., Z. I. SABRY et K. E. EAPEN (1970): Production of rape-
seed flour for human consumption.
J. Inst. Can. Technol. Aliment. 3, 78
17. VIROBEN, J., J. TISSIER et S. Z. ZELTER (1970):
communication personnelle
18. WIEDNER, S. (1971): Transformations des thioglycosides contenus
dans le tourteau de colza au cours d'un ensilage.
Dysertation Olsztyn Pologne