

Zeitschrift: Archives des sciences [1948-1980]
Band: 23 (1970)
Heft: 1

Artikel: Étude des protéines des graines d'une légumineuse : Lablab niger
Medik
Kapitel: Résumé et conclusions
Autor: Miège, M.N.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-739136>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

I. MISE AU POINT DES CONDITIONS D'EXTRACTION

L'étude des facteurs pouvant exercer une influence sur la solubilisation des protéines a conduit à déterminer les conditions optimales d'extraction et a permis, en outre, de révéler des fluctuations, dans les cotylédons de la graine quiescente, des caractères de solubilité des protéines.

- 1° La durée optimum de l'extraction est de 5 minutes à 2° C.
- 2° Pour une extraction exhaustive par l'eau, la meilleure dilution est la plus faible (des dilutions de 1,25 à 50 ont été testées), à condition d'effectuer au moins 5 extractions successives. Mais si la quantité des protéines extraites par l'eau est plus grande dans le cas d'une faible que d'une forte dilution, dans ce dernier cas, ce qui n'a pas été extrait l'est par les solutions salines. L'ensemble des protéines solubilisées par ces 2 solvants s'élève, dans l'un et l'autre cas, à 86 % de l'azote total.
- 3° L'influence de l'ordre d'action des 2 solvants: eau, solutions salines, se fait sentir surtout sur le premier extrait. Le rendement de celui-ci, dans le cas où le chlorure de sodium a été utilisé, est supérieur de 18 % à celui que donne le premier extrait aqueux (effectué sur farine fraîchement moulue en observant un taux de dilution de 15). Pour solubiliser la majorité des globulines et des albumines, il suffira d'effectuer 2 extractions successives par une solution de chlorure de sodium.
- 4° La force ionique optimum la plus faible est celle d'une solution de chlorure de sodium à 4 % ($\frac{I}{2}=0,68$). Le rendement de l'extraction est légèrement amélioré si une telle solution est tamponnée à pH 7.
- 5° Les protéines de farine fraîchement moulue sont beaucoup plus solubles que celles de farine conservée après mouture; l'effet, déjà sensible après 24 heures, atteint son maximum après 15 jours. C'est l'hydrosolubilité qui est particulièrement affectée puisqu'elle peut diminuer de presque 2/3. Mais la diminution de solubilité dans les solutions salines n'est pas, elle-même, négligeable et peut, dans les conditions les plus défavorables, atteindre 8 % des protéines normalement solubilisées, quantité qui ne peut plus alors être dissoute que par les solutions alcalines diluées.

Mais ces influences, exercées par l'état de la farine, ne sont pas constantes. Elles semblent soumises elles-mêmes à un curieux cycle interne de la graine, rythme endogène annuel conjugué avec un effet de sénescence.

6° Cependant, quel que soit l'état de la farine, une extraction exhaustive est réalisée en faisant intervenir successivement dans l'ordre ou bien les 3 solvants eau, chlorure de sodium à 4%, soude 0,1 N ou, plus simplement, chlorure de sodium puis soude. Dans les 2 cas, le taux d'azote solubilisé représente la presque totalité de l'azote de la farine puisqu'il s'élève à 98,5%. L'action de tous les facteurs dont nous avons précisé l'influence ne s'exerce que sur les taux relatifs solubilisés pour chaque solvant. Le taux d'azote dissous par l'eau agissant en premier solvant peut varier de 20 à 60%, les solutions salines succédant aux épuisements par l'eau permettent de compléter cette teneur à un total qui ne varie plus alors que de 81 à 87%. L'extraction saline rétablit totalement l'équilibre et amène la teneur en azote extrait à la proportion stable de 98,5%.

La complexité des extraits et la nature et les proportions des corps accompagnant les protéines en solution ont été précisées.

II. ANALYSE ET FRACTIONNEMENT DES EXTRAITS COTYLÉDONAIRES

Sur 100 grammes de poids sec extrait 60 environ sont constitués de molécules protéiques non dialysables. Les petites molécules (40%) représentent en majorité des sucres dialysables (26% environ), le reste groupe principalement les amino acides et les sels minéraux.

La place des familles protéiques au sein de tous les corps azotés dissous a été précisée.

Une analyse de la constitution des extraits obtenus à partir de farines fraîchement moulues ou conservées après mouture, a permis de préciser que c'est la famille globulinique qui est responsable de l'importante baisse de solubilité des protéines dans l'eau consécutive au vieillissement de la farine. Toutefois, chacune des 3 familles subit cette influence dont l'effet se traduit par une légère baisse de solubilité dans les solvants aqueux ou salins.

Le mécanisme qui permettrait aux globulines d'être solubilisées par l'eau pure a été révélé par l'étude des substances phosphorées accompagnant les protéines en solution. Cette analyse a conduit à émettre l'hypothèse que les globulines formeraient avec la phytine un complexe hydrosoluble.

III. ANALYSE DES FAMILLES PROTÉIQUES COTYLÉDONAIRES

1° Les teneurs de chaque famille protéique en azote, phosphore et glucides furent précisées, révélant de sensibles différences. La plus frappante est l'opposition entre albumines, famille la plus riche en glucides, et pseudoglobulines, famille la plus

pauvre. Cependant, malgré ce contraste, la distinction de ces protéines en deux familles séparées est artificielle. En effet, l'isolement des pseudoglobulines se heurte à un défaut de reproductibilité. La recherche des causes responsables des irrégularités constatées a permis d'imputer au degré de dilution de l'extrait protéique les différences observées. Cependant, ce n'est pas sur la précipitation par les solutions demi-saturées en sulfate d'ammonium que la dilution exerce une influence, comme on pourrait le croire, mais c'est au cours de la première étape d'isolement de toutes les protéines que ce facteur intervient. En solution diluée, les pseudoglobulines précipitent au cours de la première dialyse, venant grossir artificiellement le précipité de globulines. Il n'est plus possible alors de les retrouver à l'étape normale de leur isolement. En solution concentrée, par contre, elles franchissent les étapes précédant leur isolement. C'est une dénaturation, favorisée par la dilution, qui les fait précipiter au cours d'une dialyse qui devrait les laisser en solution.

La première caractéristique des pseudoglobulines est donc une grande fragilité contrastant avec la stabilité des albumines. On peut rapprocher de cette opposition les teneurs en glucides qui sont également inverses. Mais les contrastes s'arrêtent là et l'on est surpris de constater une grande analogie des comportements électro et immunoélectrophorétiques. Ainsi on est conduit à penser que les albumines et les pseudoglobulines ne font qu'une famille. Chaque fraction de cette famille serait constituée de 2 entités dissociables, l'une stable riche en glucides, l'autre instable pauvre en glucides, les 2 entités ayant, par ailleurs, mêmes propriétés électrophorétiques et antigéniques. Les électrophorèses effectuées à pH 8,6 en gel d'agarose révèlent 9 fractions: 7 à mobilité anodique et 2 à mobilité catodique.

2° Le diagramme général des globulines révèle 3 fractions catodiques très distinctes, 1 fraction anodique majeure (hétérogène en immunoélectrophorèse) et une fraction anodique mineure très mobile, visible seulement après électrophorèses de très courtes durées.

Le fractionnement chimique des globulines comporte une précipitation isoélectrique suivie de précipitations fractionnées par saturation progressive à l'aide de sulfate d'ammonium. Selon que la solution protéique de départ est diluée (2%) ou concentrée (13%), la précipitation isoélectrique se produit à pH 4,28 ou à pH 5,45. Cette différence est à rapprocher des écarts que présente le pH de solubilité minimum à concentration protéique constante mais à forces ioniques différentes (5,1 pour $\frac{I}{2} = 0,3$ et 3,8 pour $\frac{I}{2} = 0,7$).

La saturation progressive par le sulfate d'ammonium permet d'obtenir un précipité dès 40% de saturation dans le cas de la solution protéique concentrée, par contre, avec une solution diluée, il faut aller jusqu'à 70% de saturation pour obtenir un début de précipitation. 2 fractions seulement, ainsi isolées, sont homogènes à l'électrophorèse.

La chromatographie sur DEAE cellulose a été appliquée aux familles globales albuminique et globulinique.

VI. ETUDE DES PROTÉINES EMBRYONNAIRES

L'axe est près de 4 fois plus riche en phosphore que les cotylédons bien qu'il ne soit que 2 fois plus riche en azote; en outre il contient une quantité non négligeable de lipides. Ces caractéristiques rendent compte de la différence de nature de ces deux organes. Par contre la teneur en glucides de l'axe est beaucoup plus faible que celle des cotylédons (40% contre 69%); l'amidon est responsable de cette différence, le germe n'en contenant que des traces. Si on ne considère que les glucides solubles, l'axe, par contre offre une teneur nettement supérieure (32% contre 14%).

L'examen des bilans d'extraction totale à l'aide, tout d'abord, des 3 solvants utilisés lors de la solubilisation des protéines cotylédonaires, puis avec l'intervention d'un quatrième solvant, l'alcool à 70°, a permis de révéler l'existence, propre au germe, d'une prolamine soluble non seulement dans l'alcool à 70° mais aussi dans l'eau pure (privée d'électrolytes). Le taux d'azote résiduel, non extractible par les moyens mis en œuvre, bien qu'encore relativement faible, est plus élevé pour le germe que pour les cotylédons (6% contre 1,5%).

Proportionnellement au taux d'azote extrait, le taux de phosphore des extraits de l'axe est 2 fois supérieur à celui des extraits de cotylédons, le taux de glucides accuse, lui-même, un léger avantage.

Ici, comme chez les cotylédons, la première étape d'isolement des protéines (précipitation par le sulfate d'ammonium à saturation) permet d'éliminer la majorité de ces substances compagnes, à un degré moindre toutefois en ce qui concerne les matières phosphorées.

Une étude détaillée des formes sous lesquelles se trouve le phosphore dans les extraits a révélé une proportion de phosphore protéique près de 2 fois plus importante dans les extraits de l'axe que dans les extraits cotylédonaires (chez le germe 30% du phosphore total extrait contre 15,8% chez les cotylédons). Ceci n'est pas surprenant. On peut s'étonner davantage du taux relativement élevé de phytine qui, moins élevé que le taux cotylédonaire, atteint cependant 43% du phosphore extrait et 33% du phosphore total de la farine.

L'analyse des 2 familles embryonnaires a permis plusieurs constatations.

- Les globulines, qu'elles soient cotylédonaires ou embryonnaires, sont plus riches en azote et en phosphore mais moins riches en glucides que les albumines.
- Aucune famille cotylédonaire ou de l'axe n'est totalement dépourvue de glucides; la teneur minimum constatée atteint encore 6% (en ne considérant que les familles globales car les pseudoglobulines de cotylédons ne renferment que 2,5% de glucides). Ce sont les albumines de l'axe qui présentent le taux le plus élevé (18%), en conséquence leur taux d'azote est le plus faible de tous (13,2%).

- La teneur en phosphore des protéines de l'axe est singulièrement importante (0,7 à 0,9 %) alors que chez les cotylédons, les albumines en sont pratiquement dépourvues et les globulines n'en renferment que 0,28 %.
- La proportion des albumines par rapport aux globulines est plus élevée chez l'axe que chez les cotylédons.

Malgré les différences de constitution révélées entre protéines de germes et de cotylédons, les électrophorogrammes soulignent un certain nombre de similitudes. Toutefois les albumines de l'axe accusent une plus grande mobilité anodique et une plus forte proportion de fractions catodiques que celles des cotylédons, elles sont plus complexes. Par contre les globulines sont plus simples. La chromatographie sur cellulose anionique a permis de séparer, à partir des albumines comme des globulines, un grand nombre de fractions. Les chromatogrammes présentent des différences. Malgré ces particularités des protéines de chacune des deux parties de la graine qu'affirment les diagrammes chromatographiques ou électrophorétiques, une parenté de structure est révélée par croisements immunochimiques.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALTSCHUL, A. M., N. J. NECERE, A. A. WOODHAM et J. M. DECHARY (1964). — A new classification of seed proteins: application to the aleurins of *arachis hypogea*. *Nature*, 203, p. 502.
- L. Y. YATSU, R. L. ORY et E. M. ENGLEMAN, (1966). — Seed proteins. *Ann. rev. Plant. Physiol.* 17, p. 113.
- ANDERSON D. G. et A. G. MAC CALLA (1960a). — Sedimentation of cristallin globulin from cucurbit seed. *Canad. journ. biochem. and physiol.* 38, p. 275.
- A. G. MAC CALLA et D. R. MAC CALLA (1960b). — Electrophoretic properties of cristallin globulin from cucurbit seeds. *Canad. Journ. Biochem. and Physiol.* 38, p. 657.
- BARRE R. et J. LABAT (1962). — Etude du fractionnement des protéines sériques au moyen des sels phytiques et des sels de zinc. *Ann. Pharm. Fr.* 20, p. 597.
- BAUDET J. et J. MOSSE (1962). — Sur l'extractibilité des protéines de la farine par l'eau. *C. R. Ac. Sc. Paris.* 255, p. 2843.
- et J. MOSSE (1962). — Etude de l'extraction des protéines des graines I. Extraction par l'eau des protéines de la farine de blé. *Ann. Physiol. Veg.* 4, p. 315)
- et J. MOSSE (1963). — Extraction des protéines des graines. III. Extraction par l'eau et les solutions salines des protéines de la farine de blé. *Ann. Physiol. Veg.* 5, p. 303.
- J. MOSSE et Mlle. Th. MOURoux (1965). — Sur les causes du fractionnement des protéines de farine de blé solubles dans l'eau lors de leur extraction: interaction avec les composés phosphorés. *C.R.Ac.Sc. Paris* 260, p. 1007.
- BERTRAND D. (1963). — Techniques de dosages dans « Techniques de Laboratoire » J. LOISELEUR Ed. tome 1 fasc. 2 p. 983.
- BILS, R. F. et R. W. HOWELL (1963). — Biochemical and cytological changes in developing soybean cotyledons. *Crop. Science* 3, p. 304.
- BOURDILLON J. (1951). — A cristallin bean seed protein in combination with phytic acid. *J. Biol. Chem.* 189, p. 65.
- BRESSANI R. et R. CONDE (1961). — Changes in the chemical composition and in the distribution of Nitrogen of Maize at different stages of development. *Cereal chemistry*, 38, p. 76.
- BRIGGS P. R. et R. L. MANN (1950). — An electrophetic analysis of soybean protein. *Cereal chemistry*, 27, p. 243.