

**UNIVERSITE DE NANCY I**

**Faculté des Sciences**

**U.F.R. S. T. B.**

**GFD : BIOLOGIE ET BIOCHIMIE STRUCTURALES, METABOLIQUES,  
MOLECULAIRES ET NUTRITIONNELLES**

**THESE**

Présentée devant l'Université de Nancy I pour l'obtention du titre

de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE**

Spécialité : Alimentation Nutrition

**EFFETS DE L'INGESTION DE L'ALGINATE OU DU CARRAGHÉNATE DE  
SODIUM ASSOCIÉS À LA FARINE DE SOJA OU À LA CASÉINE SUR LA  
DISPONIBILITÉ DES PROTÉINES ET LES LIPIDES PLASMATIQUES DU  
RAT.**

Présentée et soutenue publiquement le 1-12-1992 à la Faculté des Sciences

par

**Justine MOUECOUCOU**

Travail effectué dans l'équipe de Recherche Aliments et Comportement de  
l'INSERM U308

Membres du Jury

Président : Professeur J.P. NICOLAS

Examineurs : Professeur G. de SAINT BLANQUAT, rapporteur

Professeur M. METCHE, rapporteur

P. BRACQUART, Maître de Conférence

L. MEJEAN, Directeur de Recherches I.N.S.E.R.M.

C. VILLAUME, Chargé de Recherches I.N.S.E.R.M.

## **A Mon Père**

*dont l'amour, le soutien, les encouragements constants  
et les énormes sacrifices financiers m'ont permis de faire mes études.  
L'aboutissement de ce travail aurait été pour lui une immense satisfaction et une  
grande récompense*

## AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé à l'INSERM U308, dans l'Equipe de Recherches Aliments et Comportements dirigée par Monsieur L. MEJEAN.

Je tiens avant tout à remercier tous ceux qui, en m'acceptant, dans cette équipe de recherches, m'ont permis de réaliser ce travail. Je tiens également à exprimer ma gratitude à tous ceux qui ont bien voulu juger cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur L. MEJEAN, Directeur de Recherches à l'INSERM U308, qui en m'accueillant dans son laboratoire, m'a donné l'occasion de réaliser cette thèse. Je le remercie également pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à la rédaction de ce travail.

A Monsieur le Professeur J. P. NICOLAS, Directeur de l'unité 308, qui a accepté d'assurer la présidence de ce Jury, veuillez trouver ici l'assurance de mon profond respect.

Je remercie particulièrement Monsieur C. VILLAUME, chargé de Recherches à l'INSERM U308, qui m'a proposé ce sujet. Je lui exprime ma profonde gratitude pour m'avoir fait confiance, pour m'avoir guidée quotidiennement dans la réalisation de cette thèse, pour son soutien et sa grande efficacité.

A Monsieur H. M. BAU, Ingénieur de Recherches CNRS, Collaborateur de l'Equipe de Recherches Aliments et Comportement, pour sa disponibilité, sa compétence sur le plan technologique, pour les judicieux conseils qu'il m'a apportés durant tout mon séjour dans ce laboratoire. Je le prie d'accepter mes sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur G. de SAINT BLANQUAT, Directeur du DEUST Agro-Ressources à Foullayronnes (Bordeaux). Pour avoir bien voulu juger ce travail malgré ses nombreuses occupations, et en être rapporteur. Je vous remercie de l'honneur que vous me faites.

A Monsieur le Professeur M. METCHE, professeur de Biochimie Appliquée à l'ENSAIA-INPL, qui m'a fait l'honneur de juger ce travail avec sa haute compétence et d'en être rapporteur.

A Monsieur P. BRACQUART, Maître de conférence à la Faculté des Sciences de l'Université de Nancy I, qui a bien voulu faire partie du jury, je lui en suis profondément reconnaissante.

Mes remerciements vont également à Monsieur Fillion A., qui m'a beaucoup aidée lors des expériences en animalerie.

Je remercie également A. CHANGO et L. GUERMANI, F. MICHEL, N. MUSSE et A. SCHWERTZ, qui à divers titres m'ont apporté une aide précieuse.

Ce travail a fait l'objet de publications suivantes :

**MOUECOUCOU J., VILLAUME C., BAU H. M., NICOLAS J. P., MEJEAN L., 1990**

Effets des alginates et des carraghénates de sodium associés aux protéines de soja sur le coefficient d'efficacité protéique (CEP).

Repr. Nutr. Dev., **30**, 541-547.

**MOUECOUCOU J., VILLAUME C., BAU H. M., NICOLAS J. P., MEJEAN L., 1991**

Effects of soybean protein diets supplemented with different levels of sodium alginate or carrageenan in rats.

Food hydrocolloids, **5**, 45-47.

**MOUECOUCOU J., VILLAUME C., BAU H. M., NICOLAS J. P., MEJEAN L., 1991**

Renutrition après ingestion de régimes comprenant 10 % de protéines de soja associées à diverses concentrations d'alginate ou de carraghénate de sodium. Effets sur la croissance et les paramètres lipidiques chez le rat.

Repr. Nutr. Dev., **31**, 377-388.

**MOUECOUCOU J., VILLAUME C., BAU H. M., NICOLAS J. P., MEJEAN L., 1993**

Effects of methionine addition in soybean or casein diets supplemented with carrageenan on weight gain and blood lipids in rats.

J. Sci., Food Agr., sous presse.

**MOUECOUCOU J., VILLAUME C., BAU H. M., NICOLAS J. P., MEJEAN L., 1993**

Effets de l'incorporation du carraghénate de sodium dans les régimes à base de caséine ou de farine de soja sur les lipides plasmatiques du rat adulte.

Sci. Alim., sous presse.

## SOMMAIRE

<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>10</b>
<b>Chapitre 1:</b>	<b>11</b>
<b>LES ADDITIFS ALIMENTAIRES. GENERALITES</b>	
I.INTRODUCTION	11
II. DEFINITION DE L'ADDITIF ALIMENTAIRE	12
III.CLASSIFICATION DES ADDITIFS	12
IV.EMULSIFIANTS, STABILISANTS, EPAISSISSANTS ET GELIFIANTS	13
IV.1. Emulsifiants ou agents tensio-actifs	14
IV.2. Stabilisants, épaississants et gélifiants	14
IV.2.1. Hydrocolloïdes de nature alimentaire	14
IV.2.2. Hydrocolloïdes de nature chimique	15
IV.2.3. Hydrocolloïdes de nature végétale	15
<b>Chapitre 2:</b>	<b>17</b>
<b>LES CARRAGHENANES ET LES ALGINANES</b>	
I. ORIGINE, STRUCTURE, EXTRACTION	17
I.1. Les carraghénanes	17
I.1.1. Origine	17
I.1.2. Structure	18
I.1.3. Extraction	20
I.2. Les alginanes	20
I.2.1. Origine	20
I.2.2. Structure	20
I.2.3. Extraction	21

	2
II. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	21
II.1. Solubilité	22
II.1.1. Solubilité des carraghénanes	22
II.1.2. Solubilité des alginanes	22
II.2. Viscosité	23
II.2.1. Définition	23
II.2.2. Degré de polymérisation	23
II.2.3. Concentration	23
II.2.4. Température	24
II.2.5. pH	24
II.2.6. Concentration de la solution en sels	24
II.3. Gélification	25
II.3.1. Mécanismes de gélification	25
II.3.1.1. Gélification des carraghénanes	25
II.3.1.1.1. Gélification du iota carraghénane	25
II.3.1.1.2. Gélification du kappa carraghénane	26
II.3.1.1.3. Cas des fractions lambda, mu et nu	26
II.3.1.1.4. Importance des cations	27
II.3.1.2. Gélification par entassement des chaînes : cas des alginanes	27
II.3.2. Synergie des carraghénanes et des alginanes avec d'autres hydrocolloïdes	28
II.3.2.1. Synergie des carraghénanes avec la caroube	28
II.3.2.2. Synergie des alginanes avec les pectines	28
III. PROPRIETES FONCTIONNELLES	29
IV. IMPORTANCE DES ALGINANES ET DES CARRAGHENANES DANS L'INDUSTRIE AGRO-ALIMENTAIRE	31

IV.1. Utilisation alimentaire des alginanes et des carraghénanes	31
V. PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES	32
V.1. Toxicité	32
V.2. Devenir dans l'appareil digestif	33
V.2.1. Hydrolyse des alginanes et des carraghénanes	33
V.2.2. Absorption	33
V.3. Effets sur le métabolisme des nutriments	34
V.3.1. Effets sur le métabolisme de l'azote	34
V.3.2. Effets sur le métabolisme lipidique	36
V.3.3. Effets sur le métabolisme minéral	37
V.4. Cas des carraghénanes dégradés	38
<b>Chapitre 3 :</b>	<b>39</b>
<b>LE SOJA</b>	
I. INTRODUCTION	39
II. PRODUCTION DU SOJA	40
II.1. Production mondiale du soja	40
II.2. Production du soja dans la CEE	40
III. STRUCTURE ET COMPOSITION DE LA GRAINE	41
III.3.1. Structure de la graine	41
III.3.2. Composition de la graine	42
III.3.2.1. Les protéines	42
III.3.2.2. Les lipides	43
III.3.2.3. les glucides	43
IV. PROPRIETES NUTRITIONNELLES DU SOJA	43
IV.1. Composition en acides aminés	43

	4
IV.2. Energie	44
IV.3. Vitamines	45
IV.4. Minéraux	45
V. FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DES GRAINES DE SOJA	46
V.1. Inhibiteurs de protéases	46
V.2. Inhibiteurs de lipase	47
VI. EFFETS DU SOJA SUR LE METABOLISME LIPIDIQUE	48
VII. UTILISATION DU SOJA DANS L'INDUSTRIE AGRO-ALIMENTAIRE	50
VII.1. Utilisation du soja comme agent fonctionnel	51
VII.2. Utilisation du soja comme agent nutritionnel	51
<b>Chapitre 4:</b>	53
<b>BUT DU TRAVAIL ET DEMARCHE EXPERIMENTALE</b>	
IV. PRESENTATION DE L'ETUDE	53
V. DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE	53
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES</b>	55
I. DETERMINATION DE LA COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE	56
I.1. Détermination de l'humidité	56
I.2. Détermination des cendres	56
I.3. Détermination des lipides	56
I.4. Détermination des glucides éthanolosolubles	56
I.4.1. Principe	56
I.4.2. Extraction	57
I.4.3. Dosage	57
I.5. Détermination de l'azote	57
I.5.1. Principe	57

I.5.2. Dosage de l'azote protéique	58
I.5.3. Dosage de l'azote non protéique	59
II. PREPARATION DE LA FARINE DE SOJA OU DE LA CASEINE ASSOCIEES A L'ALGINATE OU AU CARRAGHENATE DE SODIUM.	59
III. ETUDE EXPERIMENTALE SUR LES ANIMAUX	59
III.1. Différents régimes expérimentaux	59
III.2. Conditions expérimentales en animalerie	60
III.3. Protocoles expérimentaux	61
III.3.1. Etude de l'effet de l'incorporation de l'alginate ou du carraghénate de sodium dans la farine de soja sur le CEP, l'évolution pondérale et le métabolisme des lipides.	61
III.3.2. Etude des effets de la supplémentation en méthionine des régimes à base de caséine ou de farine de soja associées au carraghénate de sodium sur le CEP et l'évolution pondérale des rats. Effets de la réalimentation sur les paramètres lipidiques.	61
III.3.3. Effets de l'incorporation du carraghénate de sodium dans les régimes à base de caséine ou de farine de soja sur les lipides plasmatiques du rat adulte.	62
III.4. Méthodes de dosage dans ces protocoles	62
III.4.1. Détermination du coefficient d'efficacité protéique (CEP)	62
III.4.2. Prélèvement du sang	62
III.4.3. Préparation des lipoprotéines plasmatiques	63
III.4.4. Dosage du cholestérol et des triglycérides	63
IV. DIGESTION ENZYMATIQUE "IN VITRO"	63
IV.1. Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la pepsine	64
IV.2. Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la trypsine	64
IV.3. Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la papaïne ou par la bromélaïne.	64
IV.4. Digestion	

	6
IV.5. Digestion enzymatique "in vitro" dans la cellule de digestion	65
IV.5.1. Description de la cellule de digestion	65
IV.5.2. Réactifs	66
IV.5.3. Digestion	66
IV.5.3.1. Digestion par la trypsine	66
IV.5.3.2. Digestion par la papaïne ou par la bromélaïne	67
V. VISCOSITE	67
VI. STATISTIQUES	67
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	<b>68</b>
<b>Chapitre 1:</b>	<b>69</b>
<b>COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE</b>	
I. RESULTATS	69
I.1. Composition de la farine de soja	69
I.2. Composition de la caséine	69
<b>Chapitre 2 :</b>	<b>70</b>
<b>EFFETS DE L'ADDITION DE L'ALGINATE OU DU CARRAGHENATE DE SODIUM A LA FARINE DE SOJA SUR LE CEP, L'EVOLUTION PONDERALE ET LES LIPIDES PLASMATIQUES DU RAT.</b>	
I. RESULTATS	70
I.1. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur la consommation, le gain de poids et le CEP.	70
I.2. Evolution pondérale des rats nourris avec des régimes à base d'alginate de sodium.	71
I.3. Evolution pondérale des rats nourris avec des régimes à base de carraghénate de sodium.	71
I.4. Consommation protéique des animaux durant la troisième période expérimentale.	72

	7
I.5. Effets des régimes à base d'alginate de sodium sur la triglycéridémie et la cholestérolémie des rats.	72
I.6. Effets des régimes à base de carraghénate de sodium sur la triglycéridémie et la cholestérolémie des rats.	72
II. DISCUSSION	73
II.1. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium sur le CEP de la farine de soja.	73
II.2. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur l'évolution pondérale des rats.	77
II.3. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium sur les lipides plasmatiques.	78
II. CONCLUSION	81
<b>Chapitre 3 :</b>	82
<b>EFFETS DE LA SUPPLEMENTATION EN METHIONINE DES REGIMES A BASE DE FARINE DE SOJA OU DE CASEINE ASSOCIEES AU CARRAGHENATE DE SODIUM SUR LE CEP ET L'EVOLUTION PONDERALE DES RATS. EFFET DE LA REALIMENTATION SUR LES LIPIDES PLASMATIQUES.</b>	
I. RESULTATS	82
I.1. Effets de l'addition du carraghénate de sodium et de la DL-méthionine dans les régimes à base de caséine sur la consommation, le gain de poids et le CEP.	82
I.2. Effets de l'addition du carraghénate de sodium et de la DL-méthionine dans les régimes à base de farine de soja sur la consommation, le gain de poids et le CEP.	82
I.3. Evolution de la consommation des rats.	83
I.4. Evolution pondérale des animaux.	83
I.5. Cholestérol et triglycérides plasmatiques des animaux.	84
II. DISCUSSION	84
II.1. Effets de la supplémentation en méthionine de la farine de soja ou de la caséine associées au carraghénate de sodium sur le CEP et sur l'évolution pondérale des rats.	84
II.2. Effets de la réalimentation avec le régime standard sur	87

les paramètres lipidiques.

III. CONCLUSION	88
<b>Chapitre 4 :</b> <b>EFFETS DE L'INCORPORATION DU CARRAGHENATE DE SODIUM DANS LES REGIMES A BASE DE SOJA SUR LES LIPIDES PLASMATIQUES DES RATS ADULTES.</b>	89
I. RESULTATS	89
I.1. Effets de l'incorporation du carraghénate de sodium dans les régimes à base de farine de soja ou de caséine sur les lipides plasmatiques des rats.	89
II. DISCUSSION	89
III. CONCLUSION	92
<b>Chapitre 5 :</b> <b>VISCOSITE DE LA FARINE DE SOJA OU DE LA CASEINE ASSOCIEES À L'ALGINATE OU AU CARAGHENATE DE SODIUM.</b>	93
I. RESULTATS	93
I.1. Viscosité des échantillons de farine de soja ou de caséine associées à l'alginate ou au carraghénate de sodium.	93
II. DISCUSSION	93
III. CONCLUSION	94
<b>Chapitre6 :</b> <b>EFFETS DE L'ALGINATE OU DU CARRAGHENATE DE SODIUM SUR L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE "IN VITRO" DE LA FARINE DE SOJA OU DE LA CASEINE.</b>	96
I. RESULTATS	96
I.1. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la caséine sur la protéolyse "in vitro" par la pepsine, la trypsine, la papaïne ou la bromélaïne.	96
I.2. Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur la protéolyse "in vitro" par la pepsine.	96
I.3. Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja dans la cellule	96

	9
de digestion par la papaïne, la bromélaïne ou la trypsine.	
II. DISCUSSION	97
III. CONCLUSION	99
<b>QUATRIEME PARTIE : CONCLUSION GENERALE</b>	<b>101</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>107</b>

**PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## Chapitre I : LES ADDITIFS ALIMENTAIRES. GENERALITES

### I. INTRODUCTION

La culture saisonnière des produits de base, mais aussi les guerres, les intempéries et la famine ont amené l'homme depuis l'antiquité à essayer de conserver ses aliments de façon à faire face aux éventuelles pénuries alimentaires. Pour cela, depuis des temps très anciens, les aliments ont été salés, fermentés, séchés dans le but d'éviter leur dénaturation par les microorganismes qui les rendent impropres à la consommation.

L'art de la salaison existe depuis plus de 5000 ans avant notre ère. Des écrits font mention de l'usage du sel par les Sumériens (4000 avant J. C.), en Mésopotamie (3000 ans avant J. C.) où l'eau très salée de la Mer Morte était utilisée (DE SAINT BLANQUAT et PASCAL, 1984). On note aussi l'utilisation de l'huile, du vinaigre et du salpêtre. Dans la Rome Antique, le dioxyde de soufre était utilisé pour désinfecter le matériel de vinification (IFT, 1975). Son rôle d'agent de conservation est retrouvé dans la littérature du 17<sup>ème</sup> siècle (EVELYN, 1664).

L'évolution des technologies modernes a permis de mettre au point des procédés faisant appel à des principes physiques de conservation. La mise en conserve des aliments par APPERT, la réfrigération, la congélation, la surgélation et la lyophilisation ont permis de prolonger le temps de conservation et d'augmenter la nature des aliments à conserver.

Selon les pratiques culinaires et le but recherché dans la préparation de certains plats, des produits pouvant favoriser les qualités organoleptiques, la présentation ou encore la conservation ont été ajoutés. Ceci pouvait être obtenu avec des produits naturels (jaune d'oeuf dans la mayonnaise, pomme dans les confitures) ou chimiques (emploi des nitrates dans la charcuterie). Aujourd'hui, de nombreuses substances naturelles ou chimiques appelées additifs alimentaires sont ajoutées aux denrées.

C'est ainsi que l'industrie agroalimentaire, utilise de nombreux additifs alimentaires. En effet, pour que ces industries puissent prolonger le temps de

conservation, afin de faciliter la production, le stockage, pour améliorer la présentation, les qualités organoleptiques des aliments, leur utilisation est nécessaire. Le consommateur réalise également un gain de temps considérable en trouvant sur le marché des préparations prêtes à l'emploi mises sur le marché par les industries agro-alimentaires grâce à l'utilisation de ces additifs.

## II.DEFINITION DE L'ADDITIF ALIMENTAIRE

A la suite de la directive du 21.12.1988 émise par la Communauté Economique Européenne (CEE) et relative au rapprochement des législations des Etats membres, en France, une nouvelle définition est parue au Journal Officiel le 11.2.1989, et est établie de la façon suivante :

“Il s'agit de toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi, habituellement non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive; son adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires est faite dans un but technologique, au stade de leur fabrication, transformation, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage; elle a pour effet de devenir elle-même ou ses dérivés un composant des denrées alimentaires”.

## III.CLASSIFICATION DES ADDITIFS

Ils sont classés par catégories fonctionnelles c'est à dire en considérant la propriété principale de leur utilisation. Le décret du 14.10.1991 paru au Journal Officiel le 10.12.1991 les classe en 24 catégories selon les travaux d'harmonisation au sein de la CEE :

- colorants
- conservateurs
- anti-oxygènes
- émulsifiants
- stabilisants
- épaississants

- gélifiants
- agents anti-agglomérants
- édulcorants
- agents de sapidité
- agents d'aromatisation
- adjuvants de fabrication
- correcteur d'acidité
- poudre à lever
- antimoussant
- agent d'enrobage
- agent de traitement de la farine
- affermissant
- humectant
- séquestrant
- enzymes (utilisées en tant qu'additifs)
- agent de charge
- gaz propulseur et gaz de charge

Les 7 premières catégories ont reçu un numéro conventionnel fixé par la CEE (circulaire du 16.8.1979). La lettre E signifiant Europe est suivie du numéro conventionnel qui leur est attribué. Ainsi les colorants portent le numéro E100, les conservateurs E200, les antioxydants E300, les émulsifiants, stabilisants, épaississants et gélifiants E400.

Un décret du 12.10.1972 rend obligatoire de faire figurer sur l'étiquette des aliments vendus sous emballage, l'indication des composants de l'aliment, y compris les différentes catégories d'additifs.

Le travail présenté ici ne concerne que les catégorie d'additifs de la série E400.

#### IV.EMULSIFIANTS, STABILISANTS, EPAISSISSANTS ET GELIFIANTS

Le but principal de ces additifs est d'affermir la texture physico-chimique des produits alimentaires ou de stabiliser des mélanges non miscibles. Ils sont appelés

agents de texture. Une distinction est faite entre les agents tensio-actifs (émulsifiants) et les macromolécules stabilisatrices (stabilisants, épaississants, gélifiants).

#### IV.1.Emulsifiants ou agents tensio-actifs

Les agents tensio-actifs ont pour but de permettre la formation et la stabilisation des émulsions par réduction de la surface de tension à l'interface huile-eau (ARTZ, 1989). C'est le cas des lécithines ou des esters d'acides gras dans les mayonnaises et les margarines.

Pour réaliser l'émulsion de l'huile dans l'eau, il faut augmenter la surface de contact entre les deux liquides. Ceci est obtenu en fractionnant le volume d'huile sous forme de gouttelettes sphériques. Plus le nombre de gouttes formées est important, plus leur taille est petite et plus la surface sera grande. Un apport énergétique est donc nécessaire pour réaliser cette opération physique, l'énergie pouvant être apportée sous différentes formes, en particulier l'énergie mécanique par agitation. Les émulsifiants réduisant la tension à l'interface entre les deux liquides, leur addition permet de diminuer l'énergie nécessaire à la formation de l'émulsion.

#### IV.2.Stabilisants, épaississants, gélifiants

Cette catégorie d'additifs nous intéresse particulièrement et sera donc étudiée de manière plus détaillée.

Ces additifs sont naturel ou chimique selon leur origine. Ce sont des polymères complexes de nature glucidique d'où leur nom de glycanes (WHISTLER et SMART, 1953), fournissant des dispersions colloïdales en phase aqueuse, pour cela, on les appelle hydrocolloïdes. Il est traditionnel de distinguer les hydrocolloïdes de nature alimentaire, végétale ou chimique.

##### IV.2.1.Hydrocolloïdes de nature alimentaire

Ce sont des substances naturelles telles que l'amidon à l'état natif ou modifiés et ses dérivés (amylose et amylopectine), des caséines et des gélatines.

**Tableau 1: Principaux types d'agents épaississants et gélifiants de nature glucidique**

Origine botanique	Type	n° CEE
Exsudats de plantes	gomme arabique	E 414
	gomme adragante	E 413
	gomme karaya	
	gomme ghatti	
Extraits d'algues	agar-agar	E 406
	alginates	E 400-E 405
	carraghénanes	E 407
	furcellaranes	
Extraits de graines	gomme guar	E 412
	caroube	E 410
Extraits de céréales ou de tubercules	amidons	
	amidons modifiés	
Extraits de sous-produits végétaux	pectines	E 440 a et b
Exsudats de microorganismes	gomme xanthane	E 415
Dérivés de cellulose	méthylcellulose	E 461
	carboxyméthylcellulose	E 466

D'après DOUBLIER et THIBAUT (1984).

#### IV.2.2. Hydrocolloïdes de nature chimique

Dans cette catégorie, on trouve des substances synthétisées en vue de leur emploi en technologie alimentaire. On y distingue les celluloses modifiées : méthylcellulose et carboxyméthylcellulose, et des matières synthétiques moins développées, ce sont en général des polymères vinyliques.

#### IV.2.3. Hydrocolloïdes de nature végétale

Ce sont des substances extraites des parois cellulaires de certains végétaux. Elles sont considérées comme des fibres alimentaires. Sous ce vocable, on distingue usuellement les substances extraites d'algues marines, de végétaux, voir de microorganismes (Tableau 1).

-Substances extraites d'algues marines : ce sont les alginanes issus d'algues brunes, les carraghénanes, les furcellaranes et l'agar-agar (agarose) produits par les algues rouges.

-Substances extraites de fruits et de graines : la gomme guar, la caroube, la gomme karaya, la gomme de tamarinier, la gousse de gombo ou okra et les pectines.

-Substances constituées d'exsudats végétaux naturels : la gomme ghatti et la gomme adragante.

-Substances extraites de certains arbres : gommes et mucilages extraits de la feuille de baobab.

-Substances mucilagineuses produites par divers microorganismes : gomme xanthane et sclérogucane.

Ces hydrocolloïdes végétaux sont également appelés "gomme ou mucilage". Ce sont des substances glucidiques d'où leur nom générique de glycanes (WISTHLER et SMART, 1953). Ils sont utilisés pour leur fonction de viscosité et de gélification.

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux extraits d'algues marines, principalement aux alginanes et carraghénanes qui ont fait l'objet de ce travail.

## Chapitre 2 : LES CARRAGHENANES ET LES ALGINANES

### I.ORIGINE, STRUCTURE, EXTRACTION

#### I.1.Les carraghénanes

##### I.1.1.Origine

Ils sont extraits d'algues rouges de la famille des *Rhodophyceae*.

Il y a 600 ans, dans le district du Carraghen en Irlande du Sud, les habitants utilisaient l' "Irish moss" ou mousse perlée en alimentation, en médecine et comme fertilisant; elle fut ensuite utilisée pour gélifier le lait (TOWLE, 1973). En France, les bretonnes avaient coutume de réaliser des entremets "blanc-manger" en faisant macérer des algues rouges maintenues dans une étamine ou un bas dans du lait chaud (AMAT, 1989).

Ce n'est qu'en 1837 que le colloïde, principal constituant de ces algues rouges fut extrait par PEREIRA. La première purification de l'extrait a été brevetée en 1871 par BOURGADE. C'est dans les années 1930-1940 qu'ont été mis au point des procédés permettant d'obtenir des extraits à l'échelle industrielle avec la naissance des premières usines sur la Côte Est des Etats-Unis. En France, une usine d'extraction fonctionne depuis 1956 dans le Cotentin : la société CECA.

La principale algue rouge d'où sont extraits les carraghénanes est le *Chondrus crispus* qui croît dans les eaux tempérées du Maine aux Etats-Unis, le long des côtes des provinces maritimes du Canada, et en Europe, le long des côtes de Bretagne et de Normandie, en France, dans la péninsule Ibérique, et en Islande (PEDERSEN, 1990). Certaines algues rouges d'où sont extraits les carraghénanes croissent également dans les eaux tropicales. C'est le cas de *Euchema cottoni* qu'on trouve sur les côtes des Philippines, d'Indonésie et de Zanzibar (PEDERSEN, 1990). Plusieurs autres espèces d'algues fournissent des carraghénanes, il s'agit de *Gigartina stellata*, *Hypnea muciformis*, *Iridea flaccida*, etc..

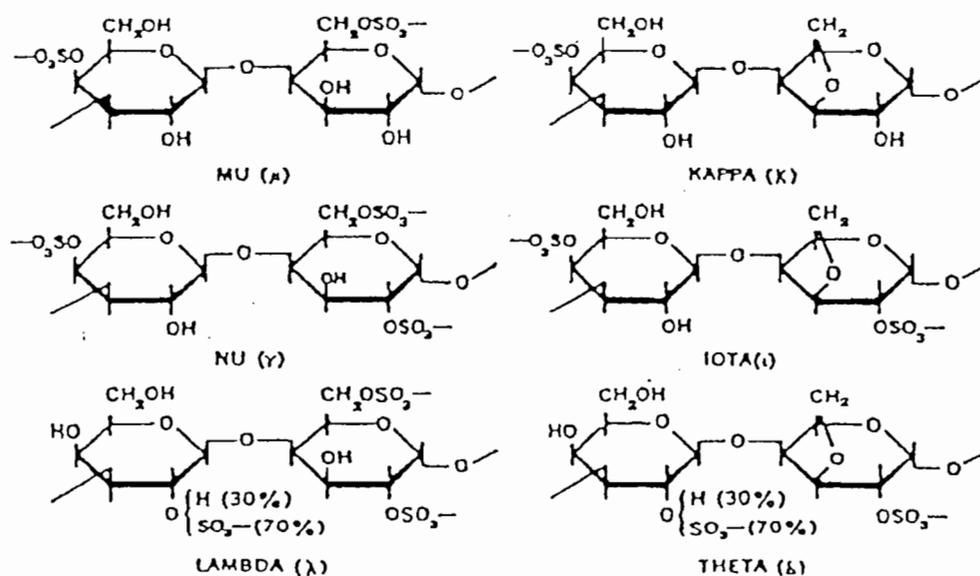
En France, le ramassage des algues se fait pour 90 % le long des côtes normandes et bretonnes et pour 10 % dans la région de Biarritz (MOLL et MOLL,

Tableau 2: Principales espèces d'algues utilisées pour la fabrication industrielle de carraghénanes

Type	Genre	Espèce	Fractions prédominantes
Carraghénanes	Chondrus	crispus	$\lambda, \kappa, \mu$
		ocellatus	$\kappa, \mu$
	Gigartina	stellata	$\lambda, \kappa, \mu$
		pistillata	
		acicularis	$\lambda + \mu, \kappa$
		radula	
Eucheuma	spinosum	$\iota, \pm \nu$	
	cottonii	$\kappa + \mu$	
Hypnea	muciformis	$\kappa, \mu$	
Iridaea	flaccida	$\lambda + \kappa + \mu$	

D'après DOUBLIER et THIBAUT (1984)

Figure 1: Structure chimique des carraghénanes



D'après REES (1963)

1990). Une culture artificielle de *Chondrus crispus* est actuellement réalisée dans le Cotentin (AMAT, 1989).

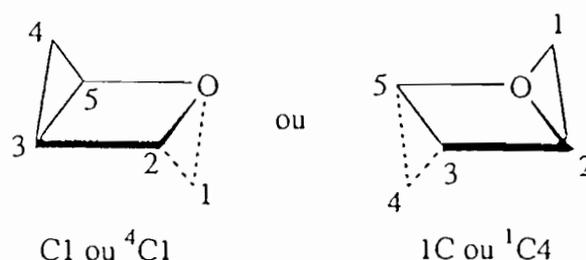
L'utilisation des carraghénanes n'a cessé d'augmenter pour atteindre aujourd'hui un marché mondial de l'ordre de 17000 tonnes dont la plus grande partie (80 %) est utilisée en alimentation (AMAT, 1989).

### I.1.2. Structure

Ce sont des polysaccharides sulfatés dont la structure chimique est un polymère linéaire de D-galactose et dont le motif de répétition est un dimère. L'un des résidus du dimère est un  $\beta$ -D-galactose lié en 1-3 et le second résidu est un  $\alpha$ -D-galactose sulfaté ou non, lié en 1-4. Certains galactoses liés en 1-4 sont sous forme 3,6 anhydrogalactose.

Il existe différentes fractions de carraghénanes produits par différentes algues rouges (Tableau 2). En effet, les chercheurs ont d'abord pensé qu'il existait deux fractions : le lambda et le kappa carraghénane. Plus tard, REES (1963) a démontré l'existence de cinq fractions. Ainsi les principales fractions sont appelées  $\kappa$  (kappa),  $\iota$  (iota),  $\lambda$  (lambda) avec 2 fractions mineures :  $\mu$  (mu) et  $\nu$  (nu) (Figure 1). Ces fractions diffèrent par :

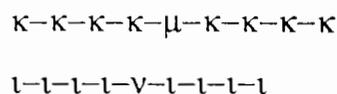
- le nombre et la position des groupements sulfates présents sur le digalactane de base
- la présence d'un certain nombre de motifs 3,6 anhydro galactose liés en 1-4
- la présence de cations fixés sur les groupements sulfates ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ )
- la conformation des cycles pyranoses qui, selon REES (1969) peuvent être sous la forme C1 ou 1C :



-Les fractions kappa et iota ont un cycle  $\beta$ -D-galactose de conformation C1 lié en 1-3 et un cycle  $\alpha$ -3,6 anhydro galactose de conformation 1C lié en 1-4. La différence entre les 2 fractions réside dans le fait que les motifs 3,6 anhydrogalactose du iota carraghénane sont sulfatés sur le carbone 2.

-La fraction  $\lambda$ -carraghénane est constituée de motifs  $\beta$ -D-galactose-2-sulfate, de conformation C1 liés en 1-3 et de  $\alpha$ -D-galactose 2,6 sulfate de conformation C1 lié en 1-4.

-Les fractions mu et nu sont formées par un motif  $\beta$ -D-galactose-4-sulfate de conformation C1, lié en 1-3 et un motif  $\alpha$ -D-galactose-6-sulfate de conformation C1 lié en 1-4. La différence entre ces 2 fractions de carraghénanes est la présence de groupements sulfates sur le carbone 2 du galactose lié en 1-4. Ces fractions sont plutôt considérées comme des fractions "parasites" qui s'intercalent dans une fraction lambda, kappa ou iota selon le schéma :



D'autre part, les fractions mu et nu peuvent être transformées en kappa et iota respectivement. Ceci peut être fait "in vivo" par des enzymes isolées de *Gigartina Stellata* qui permettent d'éliminer le sulfate en C6 et la formation d'un pont anhydro 3,6. Cette transformation peut également être réalisée industriellement par traitement de ces fractions en milieu alcalin. La conformation du motif change également, on passe ainsi de la forme C1 à la forme 1C. C'est pourquoi les fractions mu et nu sont considérées comme les précurseurs biologiques des kappa et iota carraghénanes (REES 1969).

En général, les carraghénanes commercialisés sont des mélanges plus ou moins enrichis en l'une ou l'autre des 3 principales fractions portant le numéro E407.

Ces polysaccharides ont une masse moléculaire comprise entre 100000 et 1000000 qui dépend de l'origine et du procédé d'extraction.

**Tableau 3: Principales espèces d'algues brunes utilisées pour la production industrielle d'alginate**

Famille	Espèce	Lieu de récolte
Fucaceae	Ascophyllum nodosum Fucus serratus	G.B., Norvège, Canada
Laminariaceae	Laminaria digitata Laminaria hyperborea (ou cloustonii)	France G.B., Norvège
Alariaceae	Ecklonia maxima	Japon
Lessoniaceae	Macrocystis pyrifera	Californie, Australie

D'après MC NELLY et PETTITT (1973)

**Tableau 4: Variation du rapport mannuronique / guluronique (M/G) en fonction de l'origine botanique**

Algues	Rapport (M / G)
Asophyllum nodosum	1,5 -1,9
Ecklonia maxima	1,4-1,8
Macrocystis pyrifera	1,4-1,8
Laminaria digitata	1,3-1,6
Laminaria cloustonii-frondes stripes	1,3-1,6 0,4 - 1

D'après MC NELLY et PETTITT (1973)

### I.1.3.Extraction

Les procédés d'extraction reposent sur la solubilité de ces gommés dans l'eau à 100°C pendant plusieurs heures, éventuellement en milieu alcalin. Les carraghénanes sont ensuite récupérés à partir de la solution filtrée par séchage sur rouleaux chauffants ou par précipitation à l'alcool suivie d'un séchage (TOWLE, 1973).

## I.2.Les alginanes

### I.2.1.Origine

Les alginanes sont extraits d'algues brunes de la famille de *Phaeophyceae*. Seules quelques espèces sont utilisées pour extraire l'alginate industriel. La plus utilisée est le *Macrocystis pyrifera* qui pousse en abondance le long des côtes d'Amérique du Nord et du Sud, de Nouvelle Zélande, d'Australie et d'Afrique. C'est la principale source d'alginate au monde (IMESSON, 1990). Plusieurs autres variétés sont également utilisées telles que *Laminaria*, *Ecklonia*, *Ascophyllum nodosum* (Tableau 3).

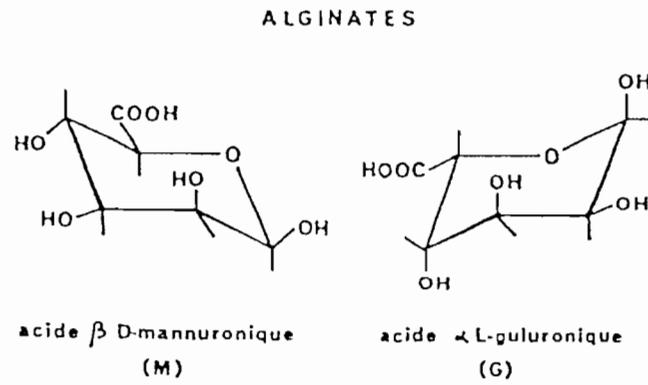
Le processus d'extraction des alginanes a été breveté par STANFORD en 1881 mais, il a fallu attendre 1921 pour que débute la production commerciale par Kelco aux Etats-Unis (MC NEELY et PETTITT, 1973). D'autres compagnies se sont installées en Angleterre en 1834 et en Norvège en 1939 (IMESSON, 1990).

La demande sans cesse croissante des alginanes est estimée être aujourd'hui entre 22000 et 24000 tonnes (IMESSON, 1990).

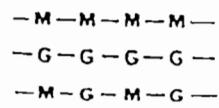
### I.2.2.Structure

Il s'agit de macromolécules linéaires constituées de 2 types de motifs monomères liés en 1-4 : l'acide  $\beta$ -D-mannuronique et l'acide  $\alpha$ -L-guluronique (Figure 2). Les études de diffraction par rayons X montrent que l'acide  $\beta$ -D-mannuronique est

Figure 2: Structure chimique des alginates



séquences possibles (liaisons 1→4) :



D'après ATKINS et al., (1970)

de conformation C1 alors que l'acide  $\alpha$ -L-guluronique est de conformation 1C (ATKINS et al., 1970).

Selon l'espèce d'algue, le rapport pondéral mannuronique / guluronique ainsi que la répartition des motifs le long de la chaîne varient et déterminent les propriétés du polymère (Tableau 4).

On trouve dans le commerce l'acide alginique et ses différents sels:

- acide alginique E400
- alginate de sodium E401
- alginate de potassium E402
- alginate d'ammonium E403
- alginate de calcium E404
- alginate de propylène glycol E405

Leurs poids moléculaires varient de 20000 à 200000 selon l'origine et le procédé d'extraction.

### I.2.3.Extraction

Les procédés d'extraction sont basés sur les caractéristiques de solubilité des alginanes selon leur état ionique et leur pouvoir complexant avec le calcium. Un traitement préliminaire des algues à l'acide permet d'éliminer les ions calcium liés à l'alginate. La solubilisation de la macromolécule est ensuite obtenue par neutralisation avec une base ou un sel alcalin. L'alginate est précipité par réacidification sous forme d'alginate de calcium (MCNEELY et PETTITT, 1973).

## II.PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Les propriétés particulières des hydrocolloïdes épaississants et gélifiants sont essentiellement liées aux interactions privilégiées que ces macromolécules établissent avec l'eau (ADRIAN et ASSOUMANI, 1979).

**Tableau 5: Comparaison des propriétés des différents carraghénanes**

	k-carraghénane	i-carraghénate	l-carraghénate
Groupement sulfate (approx.)	25-30 %	28-35 %	32-39 %
3,6-anhydro-galactose	28-35 %	30%	0%
<b>Solubilité</b>			
Eau chaude	Soluble au dessus de 70°C	Soluble au dessus de 70°C	Soluble
Eau froide	Sels de Na <sup>+</sup> sont solubles Gonflement faible ou important	Sels de Na <sup>+</sup> sont solubles Sel de Ca <sup>2+</sup> donne des dispersions thixotropiques	Solubilité de tous les sels
Lait chaud	Soluble	Soluble	Soluble
Lait froid	Insoluble	Insoluble	Se disperse avec épaissement
Lait froid (plus TSPP*)	Epaissit ou gélifie	épaissit ou gélifie	Augmente l'épaississement ou la gélification
Solutions concentrées de sucre	Soluble à chaud	Difficilement soluble	Soluble à chaud
Solutions concentrées de sels	Insoluble à chaud ou à froid	Soluble à chaud	Soluble à chaud
Solvants organiques	Insoluble	Insoluble	Insoluble
<b>Gélification</b>			
Effet des cations	Gels plus fermes avec K <sup>+</sup>	Gels plus fermes avec le Ca <sup>++</sup>	Pas de gélification
Type de gel	Cassant avec synérèse	Elastique, sans synérèse	Pas de gélification
Effet de la caroube	Synergie	Rien	Rien
<b>Stabilité</b>			
PH neutre et alcalin	Stable	Stable	Stable
Acide (pH 3,5)	Stable à l'état gélifié	Accéléré par la chaleur	Hydrolyse

\*TSPP: Tétrasonium pyrophosphate

D'après GLICKSMAN (1983)

## II.1.Solubilité

La dispersion ou solubilité de ces macromolécules dans l'eau dépend de leur structure.

### II.1.1.Solubilité des carraghénanes

La dispersion des carraghénanes dans l'eau dépend de la fraction utilisée (Tableau 5):

-Le  $\kappa$ -carraghénane ne contient qu'un groupement sulfate, en plus, la présence de 3,6 anhydrogalactose le rend insoluble dans l'eau. Seul le  $\kappa$ -carraghénane sous sa forme sodique est soluble dans l'eau froide. En présence de cations  $K^+$  et  $Ca^{2+}$ , un chauffage à  $60^\circ C$  est nécessaire pour obtenir sa solubilisation.

-Le  $\iota$ -carraghénane qui comprend deux groupements sulfates et un motif 3,6 anhydrogalactose est partiellement soluble à froid et totalement à chaud.

-Le  $\lambda$ -carraghénane riche en groupements sulfates et dépourvu de 3,6 anhydrogalactose est facilement soluble dans l'eau quel que soit le cation lié.

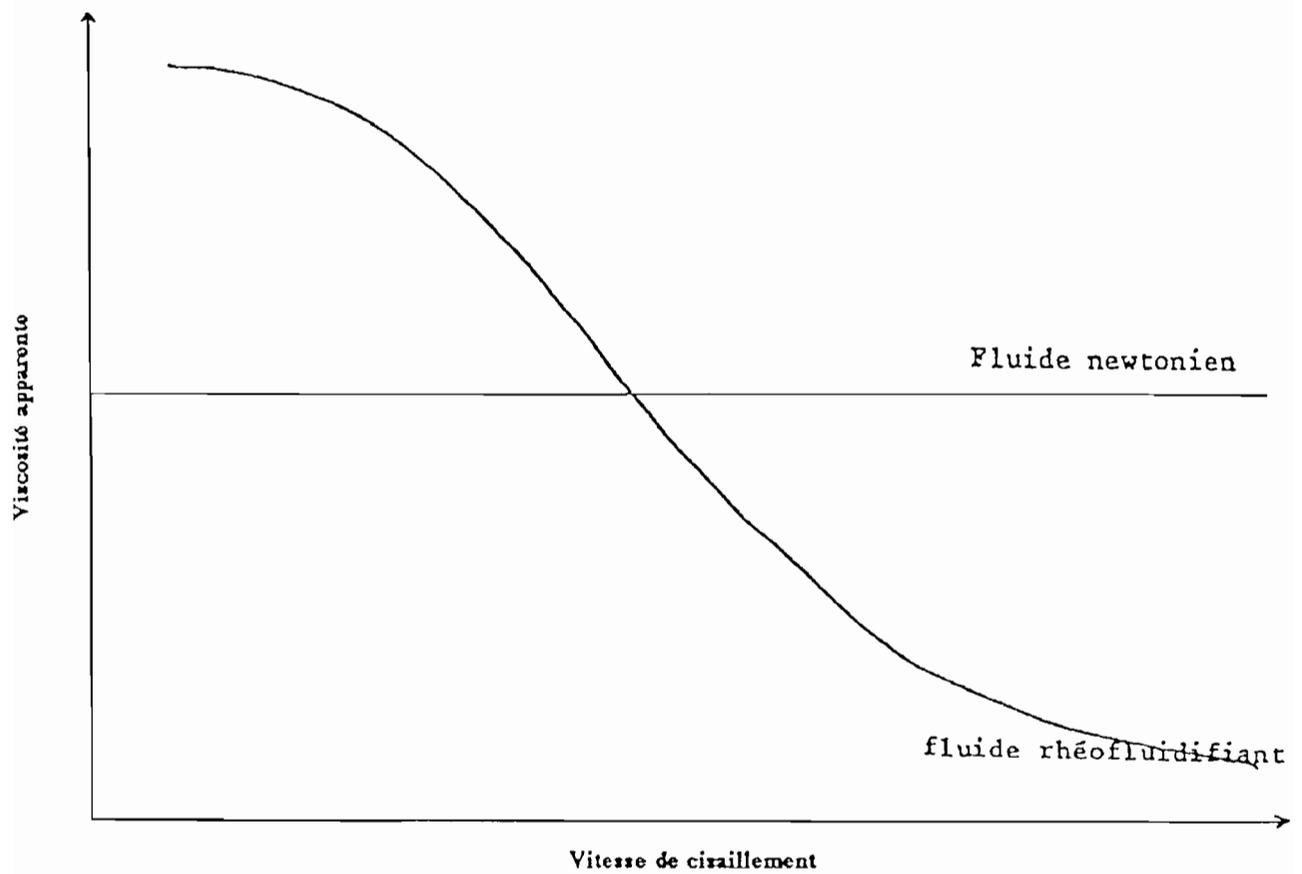
-Les fractions  $\mu$ - et  $\nu$ - carraghénanes ont le même comportement que le  $\lambda$ -carraghénane.

### II.1.2.Solubilité des alginanes

La solubilité dans l'eau des alginanes dépend du cation associé au groupement carboxylique.

Les alginanes de métaux alcalins, d'ammonium et de base organique de faible poids moléculaire sont solubles dans l'eau froide ou chaude alors que l'acide alginique et ses sels de métaux di ou trivalents sont insolubles, exception faite du sel de magnésium : aussi, l'addition d'acide fortement ionisé ou de sels solubles de métaux di ou trivalents provoque-t-elle la précipitation des alginanes alcalins

Figure 3: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement



D'après DOUBLIER et THIBAUT (1984)

(MCNEELY et PETTITT, 1973).

## II.2.Viscosité

### II.2.1.Définition

La viscosité d'un liquide est liée à la résistance plus ou moins grande qu'opposent les molécules de ce liquide au glissement les unes par rapport aux autres.

Tous les hydrocolloïdes possèdent la propriété d'augmenter considérablement la viscosité du milieu aqueux pour de faibles concentrations souvent inférieures à 1 % (DOUBLIER et THIBAUT, 1984). Ces hydrocolloïdes ont un comportement non-newtonien, c'est à dire que la viscosité apparente (valeur lue sur le viscosimètre) varie avec la vitesse de cisaillement, alors que l'eau a un comportement newtonien (Figure 3).

La viscosité des hydrocolloïdes dépend de plusieurs facteurs : du degré de polymérisation de la molécule, de la concentration, de la température, du pH, de l'agitation et de la concentration en sels de la solution.

### II.2.2.Degré de polymérisation

La viscosité croît de façon exponentielle avec le poids moléculaire.

### II.2.3.Concentration

Il y a croissance exponentielle de la viscosité en fonction de la concentration. La relation entre concentration et viscosité peut s'exprimer par la formule :

$$m c = \log \eta - 0,89 \text{ (TOWLE, 1973)}$$

$\eta$ : viscosité intrinsèque

c: concentration

m: constante

#### II.2.4.Température

La viscosité des solutions d'algines diminue avec l'augmentation de température. Cette diminution est réversible pour des temps de chauffage courts. Si ces périodes de chauffage sont plus longues, on observe une baisse progressive de la viscosité causée par une dépolymérisation partielle de la molécule ( MCNEELY et PETTITT, 1973).

Dans le cas des carraghénanes, la viscosité décroît progressivement de façon exponentielle quand la température augmente. Le phénomène est réversible si on opère à pH proche de 9 et si le chauffage n'est pas prolongé jusqu'à atteindre une dégradation thermique du carraghénane (TOWLE, 1973).

#### II.2.5.PH

La viscosité des solutions d'algines change légèrement dans la gamme de pH 4 à 10. Une légère augmentation de la viscosité se produit aux pH proches de la neutralité (pH 6-8) à cause des effets répulsifs des groupes carboxyl chargés négativement. La viscosité augmente en dessous de pH 4,5, atteint un maximum à pH 3-3,5 et décroît à des pH plus faibles (MCNEELY et PETTITT, 1973).

A pH acide les solutions de carraghénanes sont fragiles.

#### II.2.6.Concentration de la solution en sels

Les ions calcium augmentent la viscosité des solutions d'algines.

Les sels abaissent la viscosité des solutions de carraghénanes en diminuant les forces électrostatiques de répulsion des groupements sulfates. L'effet est plus marqué pour des cations divalents tels que le calcium (TOWLE, 1973).

Les mesures de viscosité doivent se faire à des concentrations en polysaccharides et à des températures telles que la gélification ne puisse pas se produire.

Figure 4 : Représentation schématique des différentes étapes de la gélification

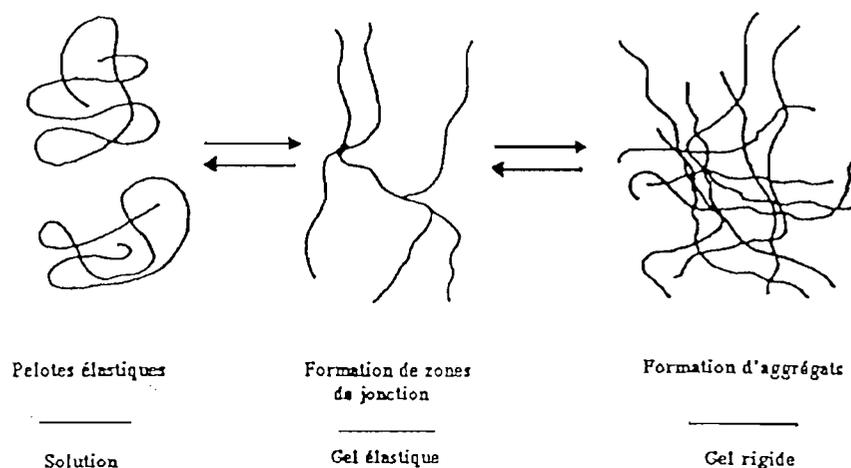


Figure 5 : Modèles de gélification par jonction ponctuelle (1) et par zone de jonction (2)

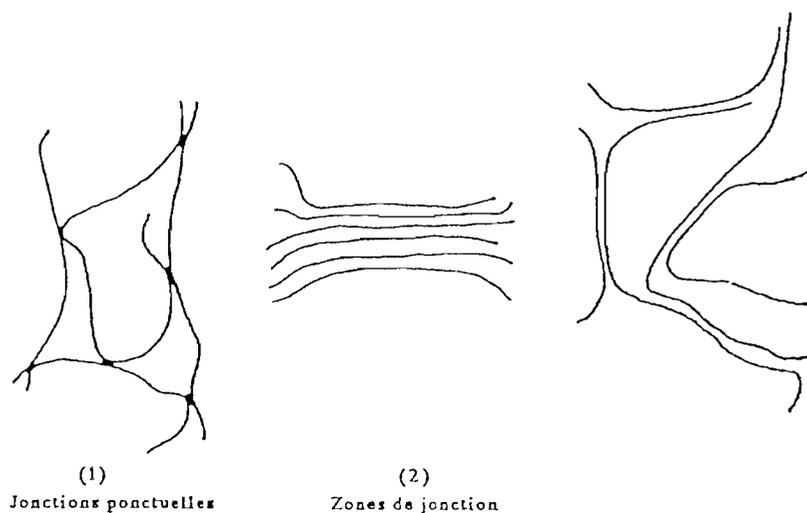
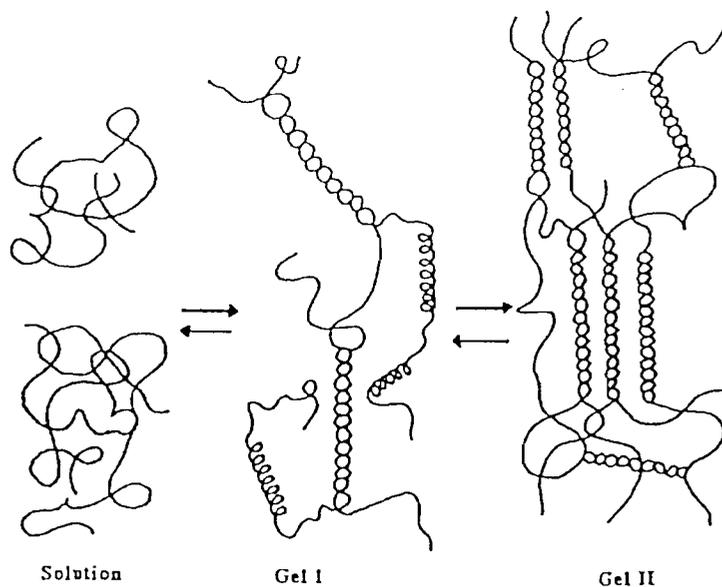


Figure 6 : Gélification du iota carraghénane



### II.3.Gélification

La gélification correspond à la formation d'agrégats de polymères dans les trois dimensions, immobilisant l'eau renfermée dans les mailles du réseau ainsi formé et donnant à l'ensemble une structure rigide capable de résister à des pressions (GLICKSMAN, 1976). Un tel gel offre à la fois les caractéristiques d'un solide et celles d'un liquide (GLICKSMAN, 1969).

Plusieurs étapes de transition peuvent être distinguées dans la formation d'un gel (Figure 4):

-l'état "sol" ou le polymère forme une solution, les macromolécules ne sont pas organisées les unes par rapport aux autres.

-l'état gel apparaît quand suffisamment de chaînes sont associées pour former un réseau ou un gel d'abord élastique.

-au fur et à mesure que les chaînes s'organisent entre elles, le gel devient de plus en plus rigide puis, a lieu en général le phénomène de synérèse : le gel se contracte et exsude une partie de la phase liquide.

#### II.3.1.Mécanismes de la gélification

REES (1969) a proposé deux modes de gélification.

##### II.3.1.1.Gélification des carraghénanes

La gélification des carraghénanes se fait selon REES (1969) par l'intermédiaire de doubles hélices : des réseaux se forment à la suite de jonctions de type hélicoïdal (Figure 5).

Dans le cas des kappa et iota carraghénanes, l'alternance des motifs C1 ou 1C comme nous l'avons vu précédemment permet l'arrangement de la macromolécule

en une spirale régulière dont le motif de répétition est constitué par trois diholosides. La double hélice qui se forme est stabilisée par des liaisons hydrogènes interchaines entre les 0-2 et les 0-6 des résidus galactoses. Dans ces 2 fractions, tous les groupements sulfates sont situés à l'extérieur de la spire. Les chaînes peuvent donc rapprocher leur face interne et former des doubles hélices.

#### II.3.1.1.1.Gélification du iota carraghénane

Dans le cas du iota carraghénane, la constitution du réseau tridimensionnel permettant la formation d'un gel est due à la présence sur la chaîne d'unités déviantes de conformation C1 au lieu de 1C (substitution des anhydrogalactoses par le galactose 6 ou 2,6 sulfate). Ces unités déviantes interrompent la stéréorégularité de la chaîne et obligent cette dernière à s'associer en double hélice avec plusieurs chaînes voisines (Figure 6). L'association des doubles hélices entre elles est limitée du fait des répulsions électrostatiques dues aux groupements sulfates situés à l'extérieur de la double spire. Ces raisons expliquent la bonne élasticité du gel obtenu avec le iota carraghénane, et l'absence de synérèse.

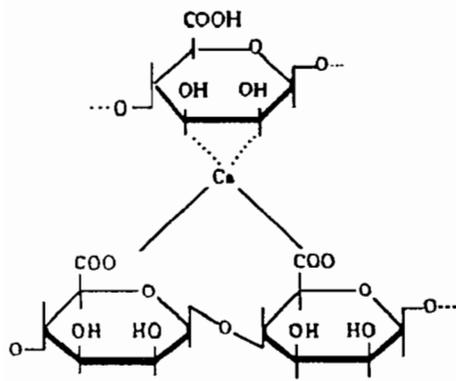
#### II.3.1.1.2.Gélification du kappa carraghénane

La formation du réseau tridimensionnel est également due à l'existence d'unités déviantes dans le cas du  $\kappa$ -carraghénane. La différence avec le  $\iota$ -carraghénane réside dans le fait que le  $\kappa$ -carraghénane est dépourvu de groupement sulfate sur le carbone 2 du motif lié en 1-4, les doubles hélices formées peuvent donc s'agréger entre elles grâce à l'absence sur leur face extérieure de groupement chargé négativement, surtout en présence de potassium. Ceci permet d'avoir un gel ferme et cassant. Ce phénomène permet également d'expliquer la synérèse observée avec le kappa carraghénane.

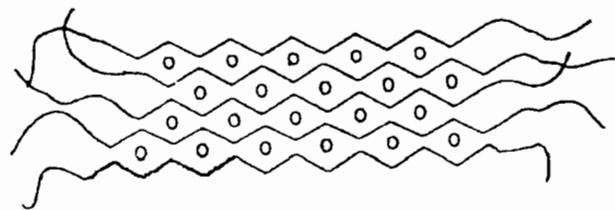
#### II.3.1.1.3.Cas des fractions lambda, mu et nu carraghénanes

Ces différentes fractions, du fait de l'alternance C1-C1 des motifs galactose ne peuvent pas s'organiser en simple spire et ne peuvent de ce fait former des doubles

Figure 7: Gélification des alginanes. Modèle de la boîte à oeufs



Formule



Structure des polymères selon le modèle de la «boîte d'œufs»

D'après GRANT (1973)

trivalents, le plus utilisé étant le calcium. Celui-ci se fixerait sur l'acide guluronique par l'intermédiaire de l'oxygène carboxylique, l'oxygène du cycle pyranique et sur deux hydroxyles. Ceci n'est observé que si la séquence polyguluronique dépasse 20 à 30 résidus. L'empilement régulier des deux chaînes est capable de lier fortement le  $\text{Ca}^{2+}$  à la manière des oeufs dans une boîte. L'agrégation des dimères est ensuite rendue possible par l'intermédiaire d'autres ions  $\text{Ca}^{2+}$ , mais, elle reste limitée (Figure 7).

Les séquences polymannuroniques ou mixtes interrompent les zones organisées; chaque chaîne participe ainsi à la formation de zones de jonction entre plusieurs autres chaînes.

La nature du gel obtenu dépend de la composition des alginanes en acides guluronique et mannuronique. Ainsi, les alginanes riches en acide guluronique donneront des gels rigides, moins cassants et moins élastiques que ceux obtenus avec des alginanes riches en acide mannuronique.

Les gels d'alginanes sont formés à froid et ne sont pas thermoréversibles.

### II.3.2.Synergie des carraghénanes et des alginanes avec d'autres hydrocolloïdes

Le mélange de deux macromolécules peut, dans certaines conditions, présenter des phénomènes de synergie conduisant à des différences de comportements rhéologiques et de gélification.

#### II.3.2.1.Synergie des carraghénanes avec la caroube

La gomme de caroube est un galactomannane composé d'une chaîne de mannose sur laquelle sont branchés des motifs galactose. Le rapport galactose / mannose est d'environ 1 / 4 (COURTOIS et LE DIZET, 1970).

L'existence de zones exemptes de galactose ou "zones lisses" sur la chaîne mannane rend possible des interactions entre les galactomannanes et les

carraghénanes. Ces zones lisses viennent s'associer grâce à des liaisons hydrogènes, aux doubles hélices des carraghénanes. Chaque molécule de galactomannane participe ainsi au réseau tridimensionnel et renforce la cohésion du gel. Cette synergie est plus marquée avec le kappa qu'avec le iota carraghénane du fait de l'absence de groupes chargés (DEA, 1979).

Il est ainsi possible d'obtenir des gels avec ce mélange à une concentration inférieure à celle où ils gélifient seuls.

#### II.3.2.2.Synergie des alginanes avec les pectines

Il est possible d'obtenir des gels en combinant les alginanes et les pectines hautement méthoxylées. La nature du gel obtenue diffère selon la teneur de l'alginate en acide guluronique. Ces gels sont rigides si la teneur en acide guluronique est élevée et moelleux si elle est faible (TOFT, 1982). De plus, ces gels sont réversibles alors que les gels d'alginate seuls ne le sont pas. La formation des gels avec l'alginate et la pectine est possible en présence de calcium.

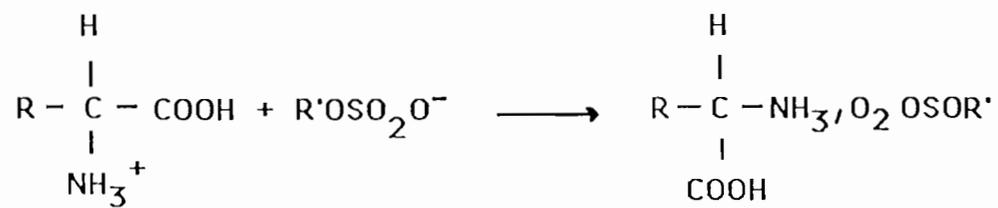
Selon THOM et al., (1982), le mécanisme reposerait sur la formation de zones de jonction par l'intermédiaire de liaisons hydrogène entre la chaîne pectique et les alginanes au niveau des séquences polyguluroniques.

### III.PROPRIETES FONCTIONNELLES

Les propriétés fonctionnelles des hydrocolloïdes sont liées essentiellement à leur réactivité avec les protéines et avec les cations.

Les alginanes, les carraghénanes et d'autres hydrocolloïdes chargés tels que les pectines et la carboxyméthylcellulose peuvent établir des interactions ioniques non spécifiques avec les protéines. Celles-ci sont fortement dépendantes du pH et de la force ionique du milieu (STAINBY, 1980). Ces mécanismes sont à la base de procédés permettant de récupérer les protéines d'effluents industriels (ex: plasma sanguin, lactosérum) (IMESSON et al., 1977; LEDWARD, 1979) ou dans les technologies d'extraction des protéines végétales (GILLBERG et TORNEILL, 1976).

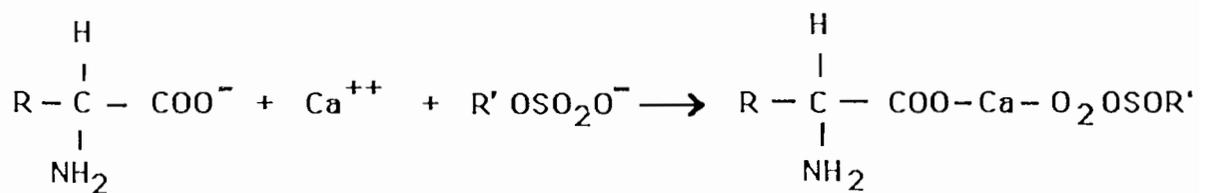
Figure 8 : Réaction entre les protéines et les carraghénanes



protéine  
(cation)

carraghénane  
(anion)

A un pH supérieur au point iso-électrique :



protéine  
(anion)

carraghénane  
(anion)

D'après ADRIAN ET ASSOUMANI (1979)

Cependant, des interactions ioniques spécifiques ont lieu entre les polysaccharides fortement sulfatés tels que les carraghénanes ayant un caractère nettement anionique et les protéines ayant un caractère amphotère. Ces interactions sont fortement liées au pH du milieu (TOWLE, 1973; ADRIAN et ASSOUMANI, 1979); ainsi:

- quel que soit le pH, les carraghénanes se comportent comme des anions étant donnée la présence d'ions sulfates.

- à pH inférieur au point isoélectrique des protéines (généralement pH 4,5), ces dernières se comportent comme des cations, ce qui permet une relation directe entre elles et les carraghénanes.

- à pH supérieur au point isoélectrique, la protéine est sous forme anionique et n'a pas d'action avec le polysaccharide. Un processus indirect peut se développer dans la mesure où la protéine et le carraghénane peuvent former un sel double avec le calcium. Pour cela, la protéine doit être sensible au calcium; c'est le cas de la caséine et des protéines de soja (CHAKKRABORTY et RANDOLPH, 1972; TOWLE, 1973). Dans les deux cas, le polysaccharide insolubilise la protéine (Figure 8).

La principale application de cette propriété est la réactivité avec les protéines du lait avec lequel on peut obtenir des gels plus fermes qu'avec de l'eau, permettant ainsi de préparer une grande gamme de produits laitiers (GLAHN, 1982). Les carraghénanes réagissent ainsi avec différentes fractions des protéines du lait :

- les carraghénanes protègent les  $\beta$ -lactoglobulines contre un risque de dénaturation thermique notamment lors des stérilisations UHT,

- les  $\kappa$ - et  $\iota$ - carraghénanes jouent un rôle stabilisateur des protéines sensibles au calcium telles que les  $\alpha$ -S1 et  $\beta$ -caséine. Ils tendent à remplacer la  $\kappa$ -caséine dans son rôle stabilisant de la micelle caséine (HANSEN, 1982),

- le  $\kappa$ -carraghénane forme également des complexes stables avec l'association  $\alpha$ -S-caséine-calcium.

**Tableau 6: Propriétés spécifiques des alginanes, des carraghénanes et de l'agar**

Alginanes	Carraghénanes	Agar
Solubilité dans l'eau froide	Gel thermoréversible	Formation de gel très cassant
Réactivité instantanée avec le calcium	Réactivité avec les protéines	Résistant à haute température
Pas de fusion lors de la formation du gel	Synergie avec la caroube	Retient de grandes quantités de solides solubles

D'après GLICKSMAN (1987)

#### IV.IMPORTANCE DES ALGINANES ET DES CARRAGHENANES DANS L'INDUSTRIE AGRO-ALIMENTAIRE.

Les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des alginanes et carraghénanes sont avantageusement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire où ces hydrocolloïdes trouvent leur principale application. Ils sont utilisés dans une moindre mesure dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques.

Les alginanes et les carraghénanes ont de nombreuses applications communes en alimentation. Ils sont tous utilisés comme agents texturants : épaississants, stabilisants et gélifiants. Néanmoins, chacun d'eux possède des propriétés uniques qui font de lui un hydrocolloïde de choix dans une application spécifique (GLICKSMAN, 1969, 1987) (Tableau 6).

Les différents alginanes et carraghénanes peuvent être utilisés seuls ou en mélange entre eux ou avec d'autres colloïdes conduisant ainsi à l'élaboration de produits commerciaux standardisés, capables d'agir spécifiquement sur les propriétés rhéologiques de certaines préparations. Le choix de l'un ou l'autre hydrocolloïde dans les applications alimentaires dépend non seulement du produit et de l'effet recherchés, mais aussi, des caractéristiques du milieu, notamment du pH, de la présence d'électrolytes, du traitement thermique et de la stabilité au stockage.

##### IV.1.Utilisation alimentaire des alginanes et des carraghénanes

Les nombreuses applications alimentaires des alginanes et des carraghénanes sont énumérées dans les tableaux 7 et 8.

Nous rapportons ici quelques domaines d'application de ces deux gommes :

-les alginanes et carraghénanes sont utilisés comme stabilisateurs d'émulsion dans de nombreuses préparations telles que les sauces, les crèmes fouettées, les crèmes glacées où ils agissent en évitant la séparation des cristaux de glace. Dans le cas du lait, du fait des interactions privilégiées entre le carraghénane et la caséine, cet hydrocolloïde est abondamment utilisé (Tableau 9). Il permet de stabiliser les protéines du lait, la suspension des globules lipidiques et, de ce fait, permet au lait de

**Tableau 9: Applications des carraghénanes dans le lait**

Utilisation	Fonction	Type	Taux (%)
Desserts gélifiés	Prévention du petit lait		
Crèmes glacées, lait glacé	Contrôle la fusion	κ	0,010-0,030
Produits laitiers pasteurisés			
Chocolat, boisson sucrée aux oeufs parfumée au fruit	Suspension, tenue	κ	0,025-0,035
Lait liquide écrémé	Tenue	κ, ι	0,025-0,035
Lait entier	Stabilise l'émulsion, tenue	κ, ι	0,025-0,035
Mélange crémeux pour fromage blanc	Adhésion	κ	0,020-0,035
Produits laitiers stérilisés			
Chocolats, etc.	Suspension, tenue	κ	0,010-0,035
Réduction de calories	Suspension, tenue	κ	0,010-0,035
Lyophilisés	Stabilisation de l'émulsion	κ	0,005-0,015
Aliments infantiles	Stabilisation des lipides et des protéines	κ	0,020-0,040
Laits gélifiés			
Flans cuits ou crèmes renversées	Gélification	κ, κ+ι	0,20-0,30
Crème anglaise (plus TSPP)	Epaississement, gélification	κ, ι, λ	0,20-0,30
Pudding et tartes (à base d'amidon)	Taux de gélatinisation de l'amidon		
Mélange sec cuit avec du lait			
Prêt à consommer	Contrôle la synérèse, tenue	ι	0,10-0,20
Produits fouettés			
Crème Chantilly	Stabilise la dispersion	λ	0,05-0,15
Crème Chantilly sous pression	Stabilise la dispersion, l'émulsion	κ	0,02-0,05
Préparation froide à base de lait			
Petits déjeuners instantanés	Suspension, Tenue	λ	0,10-0,20
Shakes	Suspension, tenue, stabilise la dispersion	λ	0,10-0,20
Laits acidifiés			
Yaourt	Tenue, suspension de fruits	κ + caroube	0,20-0,30

D'après GLICKSMAN (1983)

supporter un traitement de stérilisation UHT. Il permet aussi la préparation de nombreux desserts gélifiés où il représente le gélifiant de choix (GLICKSMAN, 1987). La stabilité des carraghénanes à haute température en fait des colloïdes spéciaux pour toutes les préparations UHT.

-ils peuvent être utilisés dans le but de créer un enrobage imperméable qui protège les aliments du dessèchement et de l'oxydation. C'est le cas avec les fruits, viandes, poissons, avec la charcuterie, de même qu'avec les produits surgelés (viande et poisson).

-l'addition de ces hydrocolloïdes dans les produits à base de viande (charcuterie, viande hachée) permet d'éviter la synérèse et améliore la texture et la tenue à la coupe (GLICKSMAN, 1979).

-la substitution de certains éléments est rendue possible grâce à l'emploi de nombreux hydrocolloïdes. On retrouve ici les alginanes et les carraghénanes dans les sauces et salades ou dans les boissons fruitées où ils sont capables de donner à la fois le trouble et l'onctuosité.

-la fabrication des aliments basses calories doit beaucoup à l'utilisation de ces gommes.

## V.PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES

### V.1.Toxicité

Les alginanes et carraghénanes, aux doses utilisées dans les industries agro-alimentaires ne présentent pas d'effet toxique comme l'ont montré de nombreux travaux (BENITZ et al., 1973; WEINER, 1991).

La FDA leur a d'ailleurs accordé le status GRAS (generally recognized as safe) (1972).

## V.2.Devenir dans l'appareil digestif

### V.2.1.Hydrolyse des alginanes et des carraghénanes

L'hydrolyse de ces hydrocolloïdes par des enzymes digestives est probablement très faible. Les hommes et les animaux ne possèdent pas de système enzymatique capable de les dégrader.

Dans l'estomac où le pH est très acide, de faibles hydrolyses pourraient se produire. Toutefois, des expériences d'hydrolyse "in vitro" avec des enzymes du suc gastrique à pH 1,2 et à 37°C ont montré dans le cas des carraghénanes, qu'après 3 heures, l'hydrolyse des liaisons glycosidiques est inférieure à 0,1 % (STANCIOFF et RENN, 1975). Certains auteurs ont montré que la dégradation des carraghénanes pouvait se situer entre 0 et 20 % (HOUCK ET BAYANA, 1960; HAWKINS et YAPHE, 1965; DEWAR et MADY, 1970).

En ce qui concerne les alginanes, quelle que soit la forme sous laquelle ils sont ingérés, il existe une forte probabilité pour qu'ils soient transformés en acide alginique (ASSOUMANI et ADRIAN, 1976). Dans le caecum, une dégradation par la microflore hydrolytique peut se produire. Des estimations laissent supposer qu'environ 50 % des alginanes sont susceptibles d'être dégradés lors de la digestion (ASSOUMANI et ADRIAN, 1979).

### V.2.2.Absorption

Si les carraghénanes ne sont pas dégradés, ils ne peuvent être absorbés intacts. Chez certains animaux tels que le singe, le chien, le porc, le rat et la souris, il semble que les carraghénanes ne soient pas absorbés. HOUCK et BAYANA (1960), ont récupérés 100 % des carraghénanes dans les fèces des chiens. D'autres études ont également montré un taux de récupération d'environ 90 à 100 % chez le rat (NILSON et WAGNER, 1959; HAWKINS et YAPHE, 1965).

Dans le cas du cobaye et du lapin, des résultats contradictoires ont été obtenus. Certains auteurs ont trouvé que les carraghénanes alimentaires causaient chez ces animaux une ulcération du caecum (MARCUS et WATT, 1969). Il semble que

la plus grande partie du carraghénane est excrétée dans les fèces, mais qu'une certaine quantité serait absorbée par les macrophages des couches sub-épithéliales du caecum et du côlon. D'autres études ont en revanche montré une non absorption des carraghénanes par ces espèces animales (ANDERSON et SOMAN, 1966). GRASSO et al., (1973) ont émis l'hypothèse selon laquelle l'absorption par les macrophages serait particulière au cobaye et au lapin, rongeurs herbivores ayant un caecum large.

Dans le cas des alginanes, l'hydrolyse libère l'acide uronique qui peut être absorbé comme dans le cas de la pectine dont les 9/10<sup>ème</sup> de l'acide uronique issu de sa dégradation ne sont pas retrouvés dans les fèces (ADRIAN et ASSOUMANI, 1979).

Les alginanes intacts ne peuvent pas traverser la paroi intestinale (SHARRAT et DEARN, 1972).

### V.3.Effets sur le métabolisme des nutriments

#### V.3.1.Effets sur le métabolisme de l'azote

La présence de gommes végétales dans les régimes des animaux a en général pour conséquence une diminution de l'absorption de l'azote se traduisant par une croissance moindre de ces animaux.

NILSON et WAGNER (1959) ont montré que les rats et souris dont les régimes contenaient 25 % de carraghénanes présentaient une cirrhose du foie indiquant une déficience ou une insuffisance alimentaire. Une diminution de la captation de l'azote et de la croissance des rats ingérant des régimes comportant 16 % de protéines et 2 à 20 % de carraghénanes a été également démontrée (HAWKINS et YAPHE, 1965). D'autres auteurs ont mis en évidence une altération de la digestibilité des protéines en présence de carraghénanes.

Les carraghénanes agissent en inhibant les enzymes protéolytiques, particulièrement la pepsine. Cette activité antiprotéolytique a été plusieurs fois observée aussi bien "in vitro" qu'"in vivo".

“In vitro”, une diminution de l'hydrolyse de substrats protéiques divers par la pepsine en présence de carraghénanes a été observée. HOUCK et BAYANA (1960) ont montré une diminution d'environ 26 % de l'activité de la pepsine en présence de sérum albumine bovine et de carraghénanes. Par la suite, cette activité antipeptique des carraghénanes a été plusieurs fois démontrée aussi bien chez l'animal que chez l'homme (ANDERSON, 1961; ACCARY et al., 1964; MARTIN et al., 1965; STANLEY, 1982).

Deux théories existent pour expliquer l'action antiprotéolytique des carraghénanes:

-l'hydrocolloïde se lie au substrat protéique, le protégeant ainsi de l'attaque par la pepsine (ANDERSON, 1961; PIPER et FENTON, 1961, MARTIN et al., 1965; TEXTER et al., 1967). Cette hypothèse est supportée par le fait que le degré d'inhibition dépend du rapport carraghénane / substrat, et non de la quantité de pepsine (VAUGHAN et al., 1962).

-le carraghénane se combine à la fois avec l'enzyme (dans ce cas, c'est une action antipeptique directe), et avec le substrat (action antipeptique indirecte) (ACCARY et al., 1964; JARDILLIER et al., 1969; ISHIMORI, 1971). Cette possibilité d'une double combinaison est admissible étant donnée la nature protéique du substrat et de l'enzyme, et les interactions qui existent entre le carraghénane et les protéines.

L'action antiprotéolytique n'est pas limitée aux carraghénanes. Elle est commune à tous les polysaccharides sulfatés, le taux et la localisation des groupements sulfates étant la condition de l'inhibition (LEVEY et SHEINFELD, 1954; HOUCK et BAYANA, 1960; ANDERSON, 1961).

Toutefois, l'activité antiprotéolytique n'est pas limitée à la pepsine. Elle a été observée “in vitro” avec d'autres enzymes digestives telles que la trypsine (GATFIELD et STUTE, 1972; STANLEY, 1982), et avec une enzyme non digestive telle que la papaïne (ARNAL-PEYROT et ADRIAN, 1977).

Dans le cas des alginanes, il a été rapporté une diminution de la digestibilité

protéique se traduisant par une altération du coefficient d'efficacité protéique (CEP) et une croissance amoindrie des rats ingérant des régimes contenant 5 % d'algines (ASSOUMANI et ADRIAN, 1976). IKEGAMI et al., (1990) ont montré que l'alginate et le carraghénate de sodium introduits dans les régimes des rats à des taux de 5 % entraînaient une baisse de la digestion compensée par une hypertrophie des organes digestifs (pancréas et intestin), et par une augmentation de la sécrétion des enzymes pancréatiques et des acides biliaires.

Les interactions des algines avec les protéines alimentaires ne sont pas encore bien connues.

L'altération de la croissance des animaux s'explique aussi par le fait qu'en présence d'hydrocolloïdes dans les régimes, il apparaît une augmentation de l'excrétion fécale d'azote due non seulement à l'action anti-enzymatique expliquée précédemment, mais aussi au fait qu'ils captent une partie importante de l'eau du bol alimentaire (NILSON et SCHALLER, 1941; NILSON et WAGNER, 1951; TOMARELLI et al., 1974). Celle-ci, contenant l'azote soluble est rejetée dans les fèces en même temps que les hydrocolloïdes (ARNAL-PEYROT et ADRIAN, 1974).

L'augmentation de la viscosité induite par la présence des hydrocolloïdes pourrait être aussi une explication à la diminution de la digestibilité et de l'absorption des nutriments (ARNAL-PEYROT et ADRIAN, 1974). Dans le travail d'IKEGAMI et al. (1990), la présence d'acide alginique et d'alginate de calcium, tous deux non visqueux n'entraîne pas une diminution de l'absorption, ni une atrophie du pancréas exocrine.

### V.3.2.Effets sur le métabolisme lipidique

Les gommages végétales telles que la gomme guar, la pectine, les carraghénanes ont une activité hypolipémiant et anti-athérogénique comme cela a été observé chez l'homme (KEYS et al., 1961). FARENBAACH a observé une diminution du cholestérol sanguin chez le poulet avec des régimes comportant 1 à 3 % de carraghénanes. ERSHOFF et WELLS (1962) ont observé un effet similaire chez le rat avec 10 % de carraghénanes dans les régimes contenant 1 % de cholestérol.

Les carraghénanes agiraient selon le mode de la pectine et d'autres polysaccharides indigestibles en inhibant la réabsorption des sels biliaires, entraînant dans les fèces les éléments lipophiles (FISHER et al., 1965; JENKINS, 1975; CUMMINGS, 1976).

A notre connaissance, aucun travail ne décrit un quelconque effet des alginanes sur les lipides sanguins.

### V.3.3.Effets sur le métabolisme minéral

Il a été plusieurs fois démontré que les alginanes inhibent l'absorption intestinale du strontium chez l'animal si ces deux produits sont absorbés en même temps, ce phénomène étant proportionnel à la quantité d'alginane administré (SKORYNA et al., 1964). Cet effet n'a pas été observé avec les carraghénanes (WALDROM EDWARD et al., 1965).

Chez l'homme ingérant 1,5 g et 20 g d'alginane par jour, la rétention du strontium est réduite respectivement de 56 à 69 % (HESP et RAMBOSTON, 1965; HARRISSON et al., 1966; CARR et al., 1968).

Certains auteurs ont montré "in vivo", que l'assimilation du calcium semble être réduite par les alginanes (HODGKINSON et al., 1967, VIOLA et al., 1970), alors que d'autres n'ont observé aucun effet de cet hydrocolloïde sur l'absorption du calcium (MILLIS et REED, 1947; CARR et al., 1968).

Les carraghénanes présents à des taux de 4 % dans les régimes provoquent une diminution de l'efficacité calcique par suite de l'élimination fécale accrue de calcium (MORETAIN-GAMBLIN, 1973) et une légère diminution de l'hémoglobine pouvant être la conséquence d'une moindre absorption du fer (TOMARELLI et al., 1974).

Comme cela a été observé avec les laits gélifiés, des minéraux solubles peuvent être éliminés dans les fèces, entraînés par l'eau retenue dans le colloïde (MORETAIN-GAMBLIN, 1973).

L'assimilation d'autres éléments minéraux pourrait également être modifiée par la présence d'alginate et de carraghénanes dans les régimes, mais le rôle des hydrocolloïdes dans ce domaine est encore mal connu.

#### V.4.Cas des carraghénanes dégradés

Ce sont des molécules de faible poids moléculaire (10000 à 20000) issues de l'hydrolyse de carraghénanes natifs, de poids moléculaire élevé. Ces fractions ont ainsi perdu leurs propriétés gélifiantes, épaississantes et visqueuses, et ne peuvent plus être utilisées à des fins alimentaires et technologiques.

Les carraghénanes dégradés sont utilisés uniquement à des fins thérapeutiques, dans le traitement d'ulcères gastro-duodénaux. Ils réagissent avec les protéines du tissu ulcéreux et forment une pellicule insoluble, protégeant la lésion contre les effets de l'acidité gastrique et de la pepsine (ANDERSON et BOTTLE, 1959). Ceci a été démontré aussi bien chez l'homme (BONFILS, 1968, 1970) que chez l'animal (HOUCK et BAYANA, 1960).

Contrairement aux carraghénanes alimentaires, les carraghénanes dégradés seraient essentiellement absorbés au niveau intestinal (ANDERSON et SOMAN, 1966). Ils ont été retrouvés dans l'urine de babouins et de cobayes (ANDERSON et SOMAN, 1966; BEATTIE et al., 1970).

Des ulcérations de l'intestin sont apparues suite à l'emploi des carraghénanes dégradés chez certaines espèces herbivores tels que le cobaye et le lapin (GRASSO et al., 1973). Chez ces animaux, les carraghénanes dégradés sont accumulés dans les macrophages existant dans la muqueuse intestinale (SHARRAT et al., 1970; GRASSO et al., 1973). La souris, le rat et le hamster y sont moins sensibles (MARCUS et WATT, 1969, GRASSO et al., 1973).

Chez l'homme, BONFILS (1970) a administré à 200 patients 5 g de carraghénanes dégradés par jour, pour le traitement d'ulcères gastriques, sans qu'un effet adverse apparaisse au niveau du côlon après six mois de traitement. Toutefois, pour certains auteurs, une incertitude demeure à propos des effets de ces carraghénanes dégradés chez l'homme.

## Chapitre 3 : LE SOJA

### I. INTRODUCTION

Les industries agro-alimentaires s'intéressent depuis des années aux protéines végétales. Les efforts se sont concentrés sur le soja dont l'utilisation en alimentation humaine par les populations asiatiques remonte à plusieurs dizaines de siècles.

Le soja apparaît en Occident aux 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles. Il a d'abord été utilisé pendant plusieurs années en alimentation animale. La graine de soja, riche en lipides a été ensuite utilisée pour l'extraction de l'huile destinée à l'alimentation humaine, alors que le tourteau, sous-produit d'extraction a été destiné pendant longtemps à la seule alimentation animale.

Les industriels se sont donc intéressés à la graine et au tourteau. De nouvelles technologies ont été mises en place pour faire du tourteau de soja un aliment disponible et acceptable pour les sociétés occidentales. Le soja représente également un avantage économique considérable dans la mesure où le rendement de ses protéines est le plus élevé de toutes les autres protéines et de moindre coût.

Le soja pourrait ainsi remplacer ou diminuer la consommation importante, dans les pays développés, de produits carnés dont le coût de production est élevé par rapport à celui des protéines végétales.

Grâce à la haute valeur nutritionnelle de ses protéines, le soja peut être intéressant non seulement dans les pays industrialisés pour lutter contre la surconsommation de graisses animales, mais aussi dans les pays du tiers-monde pour lutter contre la malnutrition protéique.

Les soyfood (aliments à base de soja), d'abord commercialisés aux Etats-Unis commencent à gagner l'Europe avec l'apparition sur les marchés de produits orientaux et de nouveaux produits à base de soja.

**Tableau 10 : Parts de marché des graines,  
tourteaux, huiles, en 1985/1986**

<b>Graines</b>	<b>Huiles</b>	<b>Tourteaux</b>
Soja : 45 % Coton : 13 % Colza : 9 %	Soja : 30 % Palme : 19 % Colza : 13 %	Soja : 62 % Coton : 8 % Colza : 7 %

Source: L'Inoculum, 1987, n°18

Autres : Arachide, coprah, lin, palmiste, tournesol

**Tableau 11: Production mondiale de soja (en milliers de tonnes), productions des principaux pays producteurs. Evaluation et rendement de cette production de 1939-1979**

<b>Année</b>	<b>Production mondiale</b>	<b>Etats-Unis</b>	<b>Chine</b>	<b>Brésil</b>	<b>Autres pays</b>	<b>Rendement mondial (kg/ha)</b>
1939	13167	2453	9495	—	1219	1064
1944	13773	5213	7630	—	930	1050
1949	14169	6374	6673	25	1097	1100
1954	19914	9296	8709	117	1798	1150
1959	25845	14511	9525	147	1662	1212
1964	28188	19103	6940	305	1840	1177
1969	40516	30839	6200	1057	2420	1425
1974	54365	33062	9500	7876	3927	1387
1979	94375	61715	8300	15200	9160	1857

D'après THOMPSON (1981).

## II. PRODUCTION DU SOJA

### II.1. Production mondiale du soja

Le soja est de très loin, la première oléoprotéagineuse du monde (Tableau 10). La production mondiale a considérablement augmenté de 1939 à 1979 (Tableau 11) pour atteindre en 1989 / 1990, 106 millions de tonnes (MARTIN, 1990).

Les Etats-Unis et les pays d'Amérique Latine sont les plus grands producteurs. A eux seuls, ils produisent 79 % de la récolte mondiale (Figure 9). La Chine est le 3<sup>ème</sup> producteur mondial et le 1<sup>er</sup> parmi les pays asiatiques. La production de la CEE dans la même période est de 2 %.

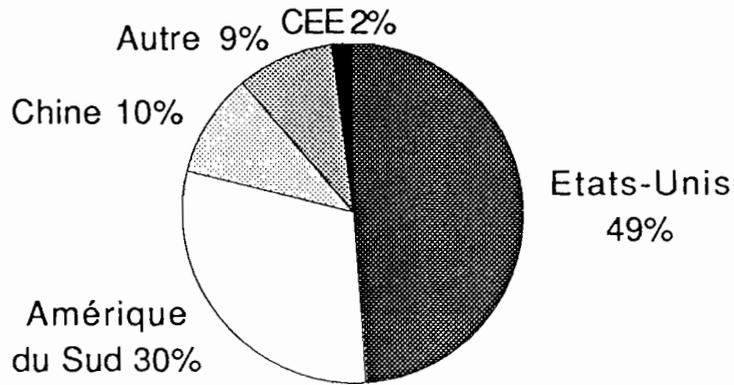
La surface cultivée atteint aujourd'hui 57 millions d'hectares, les pays américains ayant les plus grandes surfaces (Figure 10). De même, le rendement mondial moyen s'est accru (1,8 tonne par hectare); la CEE enregistre les rendements les plus élevés (3,27 tonnes par hectare). Ceci tient au fait que le soja est l'aliment protéique dont le prix de revient des calories produites est le plus faible. Les protéines de soja présentent la production la plus élevée par unité de terrain devant celles de riz, de blé, de lait et de viande de boeuf (Figure 11).

Bien qu'une partie importante du soja soit encore utilisée pour l'alimentation animale (70 %), la part réservée à l'alimentation humaine est estimée aujourd'hui à 30 % (Figure 12) (MARTIN, 1990), alors qu'en 1976, il était estimé que seulement 3,5 % de la production mondiale servait à l'alimentation humaine (HORAN, 1976). On la retrouve sous forme d'huile, de farine, de produits nouveaux préparés à base de soja.

### II.2. Production du soja dans la CEE

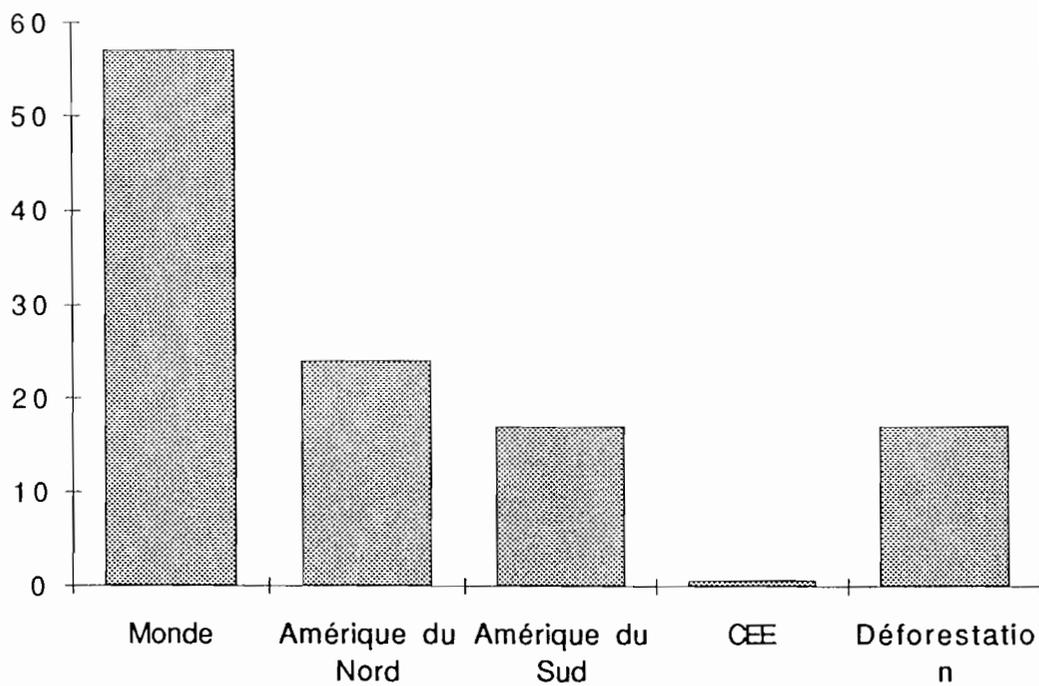
Dans la CEE, la production des protéines provenant des oléagineux est gravement déficitaire. Le soja représente encore aujourd'hui l'un des secteurs où le taux d'approvisionnement est le plus faible. La CEE couvre actuellement 7 % de ses besoins en soja. Toutefois, les adaptations au sol et au climat, l'amélioration de la réglementation, les nouvelles techniques de plantation et d'amélioration de la fécondation peuvent laisser espérer un potentiel pouvant s'estimer à 3 millions de

**Figure 9: Production mondiale du soja en 1989/1990**



D'après MARTIN, 1990

**Figure 10: Répartition des surfaces cultivées en 1989/1990 (millions d'hectares)**



D'après MARTIN, 1990

**Figure 11: Production de protéines par hectare  
(kg/ha)**

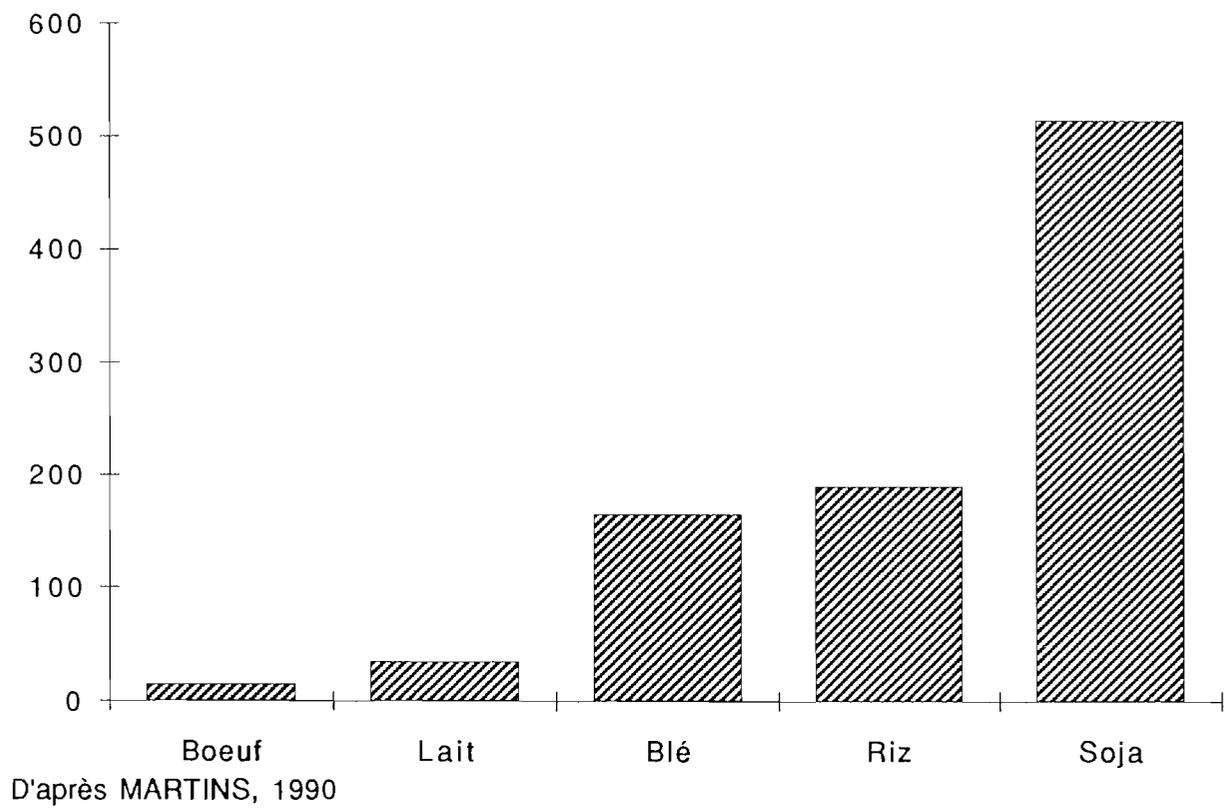
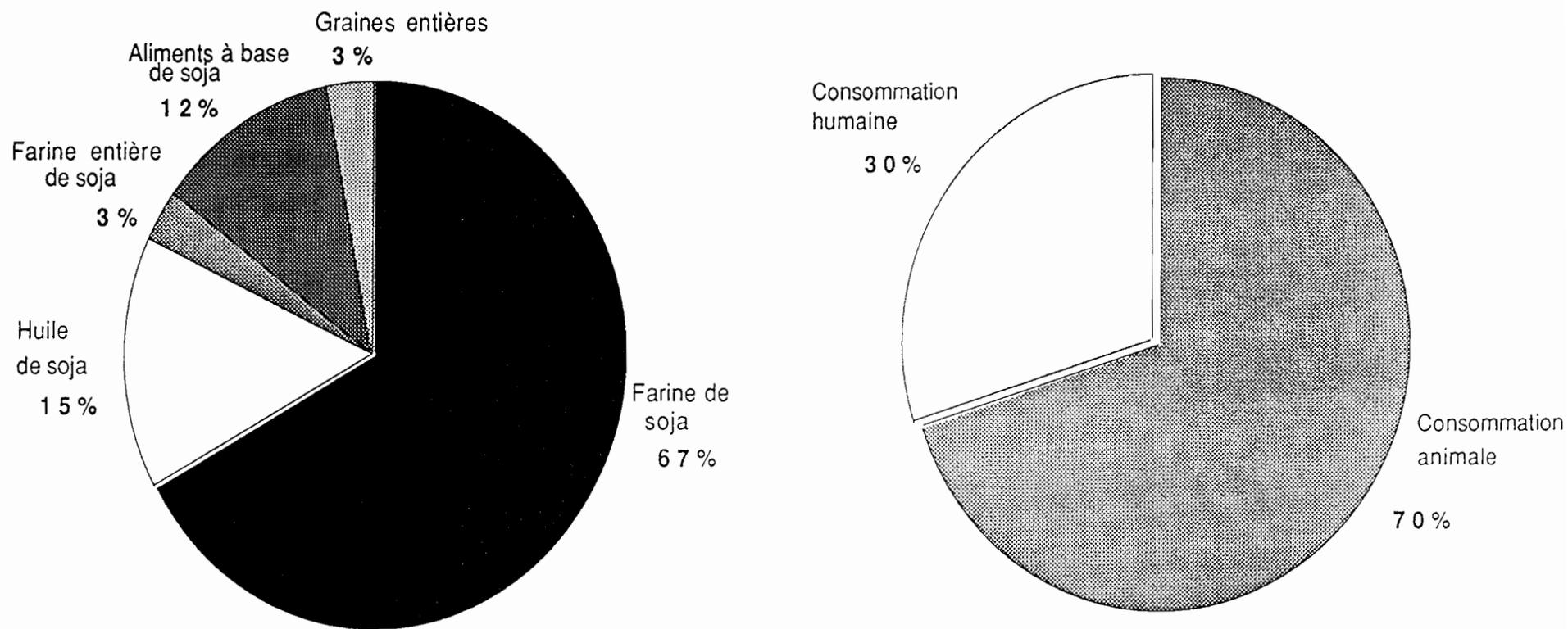


Figure 12: Utilisation mondiale du soja en 1989/1990



D'après MARTIN (1990)

tonnes. Les premiers producteurs au sein de la CEE sont l'Italie du nord, la France (sud et sud-est), suivies de l'Espagne, du Portugal, de la Grèce et de la RFA (Inoculum<sup>1</sup> n°31, 1990). Malheureusement, les accords internationaux et la politique agricole commune pourraient freiner le développement et la culture du soja dans la CEE.

L'utilisation du soja est en grande partie réservée à l'alimentation animale. En France, 80,5 % est réservé à l'alimentation animale sous forme de graines entières cuites (41 %) et de tourteaux (39,5 %). Par contre, l'utilisation en alimentation humaine n'est que de 11,3 % (10 % sous forme d'huile et seulement 1,3 % sous forme de produits alimentaires). Le reste, 8,2 % est utilisé pour l'approvisionnement en semence (Inoculum, n°39, 1987).

### III. STRUCTURE ET COMPOSITION DE LA GRAINE DE SOJA

Le soja domestique (*Glycine max* (L)), est une plante légumineuse herbacée annuelle, connue et utilisée depuis des millénaires en Extrême-Orient, notamment en Chine où des écrits le mentionnent déjà plus de 3000 ans avant Jésus-Christ (Inoculum n°16, 1986).

#### III.1. Structure de la graine

La graine de soja comprend trois constituants : les téguments (8 %), l'hypocotylédon (2 %) et le cotylédon (90 %) (WAGGLE et KOLAR, 1979). Ce dernier renferme les constituants les plus importants : les protéines et les lipides qui, ensemble, représentent environ 60 % de la graine (KAWAMURA, 1967). Leurs proportions dépendent de la variété, de la fertilité du sol et des conditions climatiques. La taille, la couleur et la forme de la graine dépendent de la variété sans que la composition chimique de la graine ne varie beaucoup. Généralement, la graine est quasi-sphérique et de couleur jaune (WANG et al., 1983).

Le cotylédon renferme les cellules contenant les lipides et les protéines. Les plus petites, d'un diamètre de 0,2 à 0,3 micron sont les sphérosomes lipidiques. Les plus grosses, de 2 à 20 microns de diamètre sont des inclusions protéiques; 60 à 70

---

<sup>1</sup> L' Inoculum est un journal des producteurs de soja édité par l' ONIDOL

**Tableau 12: Composition des constituants majeurs des graines de soja et de leurs différentes parties**

	<b>Protéines (%)</b>	<b>Lipides (%)</b>	<b>Glucides (%)</b>	<b>Cendres (%)</b>
Graines entières	40	21	34	4,9
Cotylédons	43	23	29	5
Téguments	8,8	1	86	4,3
Hypocotylédons	41	11	43	4,4

D'après KAWAMURA (1967)

**Tableau 13: Caractéristiques et poids moléculaires des fractions obtenues par ultracentrifugation de protéines de soja extractibles à l'eau**

<b>Fraction</b>	<b>% total</b>	<b>Composants</b>	<b>Poids moléculaire</b>
2S	22	Inhibiteurs trypsiques Cytochrome C	8000-21500 12000
7S	37	Hémagglutinines Lipoxygénases Bêta-amylases Globulines 7S	110000 102000 61700 180000-210000
11S	31	Globulines 11S	350000
15S	11		600000

D'après WOLF et COWAN (1975)

% des protéines de la graine se trouvent localisées dans ces structures, entourées d'une membrane phospholipidique (SAIO et WATANABE, 1968).

Les protéines de réserve représentent la majeure partie des graines à maturité. Elles sont peu nombreuses et ont un poids moléculaire élevé (>100000). En revanche, les protéines de structure ou fonctionnelles sont plus nombreuses et ont un poids moléculaire plus faible (MARTINEZ, 1979).

### III.2.Composition de la graine

La composition de la graine de soja entière et de ses différentes parties est décrite dans le tableau 12.

La graine entière contient 40 % de protéines, 21 % de lipides, 34 % de glucides et 4,9 % de cendres.

#### III.2.1.Les protéines

Les protéines de soja sont composées en majorité de globulines. Celles-ci sont généralement solubles dans l'eau ou dans une solution de sel dilué, sauf au voisinage de leur point isoélectrique où elles sont insolubles (WOLF, 1972).

Les protéines de soja constituent un mélange de molécules différentes en taille, en charge et en structure. L'évolution des méthodes de fractionnement a permis de distinguer les caractéristiques des constituants protéiques.

OSBORNE et CAMPBELL (1898) ont introduit le terme "glycinine" pour désigner la principale globuline de soja. Le fractionnement par ultracentrifugation des protéines a permis de distinguer 4 fractions d'après leur coefficient de sédimentation. Ces fractions sont appelées : 2S, 7S, 11S et 15S (1 unité SVEDBERG =  $10^{-13}$  S), et ont des caractéristiques différentes (Tableau 13) (WOLF et COWAN, 1975).

**Tableau 14: Composition du soja en acides gras**

Acides gras saturés		Acides gras insaturés	
Nom	%	Nom	%
Laurique	0,0-0,2	Dodécanoïque	—
Myristique	0,1-0,4	Tétradécanoïque	0,05-0,64
Palmitique	6,5-9,8	Hexadécanoïque	—
Stéarique	2,4-5,5	et palmitoléique	0,42-1,60
Arachidique	2,4-5,5	Oléique	10,9-60,0
Béhénique		Linoléique	45,0-64,8
Lignocérique	0,0-0,1	Linoléinique	0,3-12,1
		Arachidonique	traces
<b>Total</b>	<b>15</b>		<b>85</b>

D'après DAUBERT (1951)

**Tableau 15: Composition en glucides du soja**

Glucides	(%)
Glucides solubles	17
Hexose	trace
Sucrose	5,7
Raffinose	4,1
Stachyose	4,5
Verbascose	trace
Fibres (a) (b)	21
Hémicellulose	15,8
Cellulose	3,6
Lignine	1,4
Pectine	—
Autres composés glucidiques	—

D'après WAGGLE et KOLAR (1979)

(a)valeur obtenue par différence

(b)d'après CHANDRASIRI et al. (1987)

### III.2.2. Les lipides

La teneur en lipides du soja est élevée (20 %). 85 % des acides gras sont polyinsaturés (acides oléique, linoléique et linoléinique) (Tableau 14).

### III.3.3. Les glucides

Les glucides du soja peuvent être divisés en fractions soluble et non soluble (Tableau 15). La fraction soluble comprend les hexoses, le saccharose, le raffinose, le stachyose, le verbascose, la pectine et l'hémicellulose, tandis que la fraction insoluble se compose de cellulose et de lignine, fournissant une teneur en fibres proche de 5,5 % (KAWAMURA, 1967).

## IV. PROPRIÉTÉS NUTRITIONNELLES DU SOJA

### IV.1. Composition en acides aminés

Sur le plan alimentaire, le soja figure parmi les végétaux les plus importants car il possède une haute valeur nutritionnelle liée à la teneur en protéines de sa graine, en leur composition en acides aminés et à leur richesse en acides aminés essentiels. La plupart des acides aminés du soja présentent des teneurs proches de celles de l'oeuf pris comme protéine de référence (Tableau 16). Seuls les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) sont en dessous des valeurs recommandées, comme dans toutes les légumineuses. En revanche, le soja est riche en lysine. Ainsi les régimes comportant des mélanges de légumineuses et de céréales telles que le riz, le maïs, le blé, riches en acides aminés soufrés et pauvres en lysine ont une valeur nutritionnelle plus élevée que celle des régimes ne contenant que des légumineuses ou des céréales (BRESSANI, 1981).

WILLIAMS (1970) a indiqué que la supplémentation d'un isolat de soja par 1,5 % de DL-méthionine augmentait la valeur du CEP jusqu'à celui de la caséine. Plusieurs travaux réalisés notamment chez l'animal (RACKIS et al., 1975; TORUN et al., 1981) ont montré que le soja, utilisé comme seule source de protéines dans l'alimentation avait un CEP correspondant à 62 ou à 92 % de celui de la caséine.

**Tableau 16: Composition en acides aminés du soja, de l'oeuf et de la protéine FAO/WHO (g/16g d'azote)**

	Soja*	Oeuf*	FAO**
Arginine	7,20	6,08	
Cystine	1,60	1,76	3,50
Méthionine	1,28	3,20	
Isoleucine	4,48	5,60	4,00
Leucine	7,84	8,32	7,80
Lysine	6,40	6,24	5,40
Histidine	2,56	2,40	
Phénylalanine	4,96	5,12	6,10
Tyrosine	3,20	4,00	
Thréonine	3,84	5,12	4,00
Tryptophane	1,28	1,76	
Valine	4,80	7,52	5,00
Alanine	4,32	5,44	
Acide aspartique	11,68	10,72	
Glycine	4,16	3,04	
Acide glutamique	18,72	12,00	
Proline	5,44	3,84	
Serine	5,12	7,68	

\*D'après PAUL et SOUTHGATE (1978)

\*\*Protéine de référence FAO/WHO (1973)

Pour certains auteurs, ces résultats sous-estiment la qualité nutritionnelle du soja pour l'homme car, le besoin des rats en acides aminés soufrés est plus élevé que celui des hommes (TORUN et al., 1981).

Chez l'homme adulte, il a été démontré que le soja, utilisé comme seule source de protéines est capable de couvrir le besoin en acides aminés soufrés (ZEZULKA et CALLOWAY, 1976; ISTFAN, 1983, YOUNG et al., 1984).

Chez le nourrisson et l'adolescent, TORUN (1981) a montré que les produits à base de protéines de soja avaient la même valeur nutritionnelle que les produits à base de lait de vache. Aussi, la nécessité de supplémenter la protéine de soja en méthionine n'est pas évidente, mais peut être conseillée (TORUN, 1981).

Le problème de l'utilisation du soja comme seule source protéique pourrait venir des enfants prématurés. Une croissance moindre a été observée chez les prématurés nourris avec du lait de soja par rapport à ceux nourris avec du lait de vache (NAUDE et al., 1979).

#### IV.2.Energie

Les compositions des graines entières, de la farine déshuilée et d'autres produits dérivés du soja sont rassemblées dans le tableau 17. Les graines entières et la farine de graines entières peuvent être une source appréciable d'aliments caloriques à cause de leur teneur en glucides et en lipides. D'autre part, la farine déshuilée et le concentrat de protéines contiennent une quantité importante de glucides malgré l'absence de lipides.

Plus de la moitié des glucides font partie des fibres (Tableau 15) et contribuent probablement peu à la valeur énergétique du fait de leur caractère peu digestible. En outre, la moitié des glucides solubles sont des oligosaccharides pouvant être dégradés par la microflore du tractus digestif et fournissant peu d'énergie. La farine entière et déshuilée contient 35 à 38 % de glucides, la part indisponible de cette fraction est assez importante pour que l'énergie disponible soit beaucoup moins grande.

**Tableau 17: Composition des produits à base de soja (%)**

	Protéines (a)	Lipides	Glucides (b)	Cendres	Fibres brutes
Graines entières	42	20	35	5	5,5
Farine de graines entières	40	20	35	5	5,5
Farine déshuilée	54	1	38	6	3,5
Protéine concentrée	70	1	24	5	3,5
Protéine isolée	92	0,5	2,5	4,5	0,3

(a)Protéines=N x 6,25

(b)Compris fibres

D'après WAGGLE et KOLAR (1979)

Les lipides des graines entières seraient donc la source d'énergie la plus importante des produits du soja.

### IV.3. Vitamines

Le soja est une bonne source de vitamines, notamment celles du groupe B, telles que la niacine, la thiamine et la riboflavine (Tableau 18).

Comme toutes les protéines végétales brutes, le soja ne contient pas de vitamine B12. D'après les études de LIENER (1981), les graines de soja crues sont non seulement déficientes en vitamine B12, mais elles contiennent également une substance thermolabile qui augmente le besoin en vitamine B12 chez l'homme. Comme la plupart des produits à base de soja sont soumis à un traitement thermique au cours de la fabrication, l'effet de cette substance antimétabolique ne devrait pas présenter un problème nutritionnel. Cependant, la supplémentation en vitamine B12 des régimes à base de soja est nécessaire (LIENER, 1981).

### IV.4. Minéraux

Les produits à base de soja contiennent des minéraux tels que le calcium, le fer, le cuivre, le zinc et le phosphore en quantité nutritionnelle suffisante (Tableau 19). LIENER (1978) a indiqué que la quantité de calcium dans le lait de soja était comparable à celle contenue dans le lait de vache. La quantité de calcium disponible dans le caillé de soja (tofu) est quatre fois plus élevée que dans le lait de vache car, le calcium est utilisé pour précipiter les protéines. Toutefois, la plupart du calcium des graines est lié sous forme de phytate.

Bien que les protéines de soja soient riches en phosphore, la moitié est combinée à l'acide phytique. De ce fait, l'organisme n'est pas capable de l'utiliser, et sa disponibilité pour l'homme n'est pas exactement connue (LIENER, 1981). L'acide phytique pose probablement un problème plus sérieux pour la biodisponibilité du zinc, du fer et du cuivre que pour celle du phosphore (O'DELL, 1979; ERDMAN, 1981).

**Tableau 18: Teneur du soja en vitamines**

Vitamines	ug vitamine/g de soja (1)	Besoins journaliers (2)
Thiamine	11,0-17,5	1,2 mg (3)
Riboflavine	3,4-3,6	1,8 mg (3)
Pyridoxine	7,1-12,0	2,2 mg (4)
Niacine	21,4-23,0	19,8 mg (3)
Biotine	0,08	100-200 ug (4)
Acide pantothénique	13,0-21,5	4-7 mg (4)
Acide folique	1,9	200 ug (3)
Inositol	2,3	-
Choline	3,4	-
Carotène	0,18-2,43	750 ug (3)
Vitamine E	1,4	10 mg (4)
Vitamine K	1,9	70-140 (mg) (4)

(1).D'après SMITH et CIRCLE (1972)

(2).Besoins pour l'homme adulte

(3).PASSEMORE et al. (1973)

(4).Food and Nutrition Board (1980)

**Tableau 19: Teneur du soja en éléments minéraux**

Minéraux toxiques	Farine déshuilée	Protéine de soja concentrée	Protéine de soja isolée
Arsenic	0,1 ppm	-	0,2 ppm
Cadnium	0,25 ppm	-	<0,2 ppm
Chrome	0,9 ppm	<1,5 ppm	<1,0 ppm
Chlore	0,13%	0,11%	0,13%
Cobalt	0,5 ppm	-	<1,0 ppm
Manganèse	28 ppm	30 ppm	17 ppm
Mercure	0,05 ppm	-	<0,5 ppm
Molybdène	2,6 ppm	4,5 ppm	<3,0ppm
Plomb	0,2 ppm	-	<0,2 ppm
Soufre	0,25%	0,42%	-
Minéraux non toxiques			
Calcium	0,22%	0,22%	0,18%
Cuivre	23 ppm	16 ppm	12 ppm
Fer	110 ppm	100 ppm	160 ppm
Fluor	1,4 ppm	-	<10 ppm
Iode	0,01 ppm	0,17 ppm	<10 ppm
Magnésium	0,31%	0,25%	380 ppm
Phosphore	0,68%	0,70%	0,76%
Potassium	2,37 ppm	2,10%	960 ppm
Sélénium	0,6 ppm	-	0,36 ppm
Sodium	254 ppm	50 ppm	1,10%
Zinc	61 ppm	46 ppm	40 ppm

D'après WAGGLE et KOLAR (1979)

**Tableau 20: Facteurs antinutritionnels du soja**

<b>Thermolabiles</b>	<b>Thermostables</b>
Inhibiteurs trypsiques Phytates ou phytines Hémagglutinines ou lectines Lipoxygénases Goïtrogènes Antivitamines	Saponines Facteurs de flatulence ou Glucides fermentescibles Lysinoalanine Oestrogènes Allergènes

D'après LIENER (1981)

**Tableau 21: Propriétés des inhibiteurs trypsiques de Kunitz et de BOWMAN-BIRK.**

<b>Propriétés</b>	<b>Kunitz</b>	<b>Bowman-Birk</b>
Point isoélectrique	4,5	4,2
Poids moléculaire	21500	7975
Résidus d'acides aminés	197	72
Résidus de cystine/mole	2	7
Résistance à la chaleur, aux acides ou à la pepsine	instable	stable
Inhibition de la chymotrypsine	faible	élevée
Hypertrophie pancréatique	+	+

D'après WOLF et COWAN (1975)

## V.FACTEURS ANTINUTRITIONNELS DES GRAINES DE SOJA

Comme la plupart des graines de légumineuses, le soja contient des facteurs antinutritionnels. En général, ces facteurs agissent en se liant aux différents nutriments composant le bol alimentaire et entravent leur digestibilité et leur absorption, diminuant ainsi la valeur nutritionnelle du soja.

Ces différentes substances peuvent être ou non sensibles à la chaleur (Tableau 20).

A l'aide d'un traitement thermique adéquat, il est possible d'inactiver les facteurs thermolabiles afin d'améliorer la qualité nutritionnelle du soja ou de ses dérivés (DEL VALLE, 1981). Ainsi, ils sont aisément éliminés par les traitements thermiques classiques auxquels le soja est soumis au cours de la trituration. Dans les protéines de soja commercialisées, la teneur en ces facteurs est largement inférieure au seuil de qualité proposé par les nutritionnistes (UZZAN, 1990). Toutefois, les traitements thermiques trop sévères pourraient par contre être responsables d'une baisse de la digestibilité et de la disponibilité des acides aminés (formation de la lysinoalanine) mal libérés par les enzymes protéolytiques. Le chauffage à 100°C pendant 60 minutes à pH 8 d'une solution de 8 % de protéines de soja entraîne une perte de 18 % de cystéine et de 29 % de méthionine sans formation de lysinoalanine (WRANG, 1990).

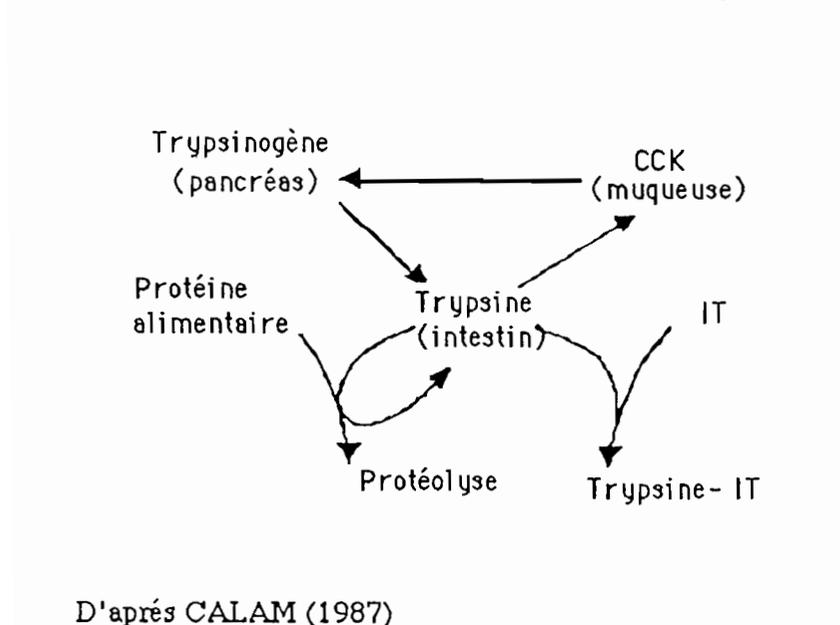
Les facteurs thermolabiles peuvent être éliminés grâce aux traitements appropriés de purification des protéines lors de leur concentration (UZZAN, 1990).

Parmi les substances antinutritionnelles, les mieux connues et les plus étudiées sont les inhibiteurs de protéase.

### V.1. Inhibiteurs de protéases

La graine de soja crue contient des protéines qui se lient aux enzymes protéolytiques digestives (RACKIS et al., 1986). Ces protéines sont appelées

Figure 13 : Mode d'action de l'inhibiteur trypsique



inhibiteurs de trypsine et de chymotrypsine.

L'ingestion des graines de soja crues produit une diminution de la croissance des animaux, alors qu'un traitement approprié par le chauffage améliore la croissance de façon importante. Pour les animaux monogastriques, une réduction d'environ 80 % de l'activité de ces inhibiteurs par le traitement thermique est suffisant pour produire une croissance optimale (RACKIS et al., 1972).

Ces inhibiteurs ont été identifiés; leur mécanisme d'action est connu. Ils inhibent les enzymes pancréatiques, particulièrement la trypsine et la chymotrypsine dont le rôle est important dans la digestion des protéines. Ils agissent en se liant à l'enzyme, entraînant un excès de production de la cholécystokinine qui, à son tour stimule la production excessive d'enzymes pancréatiques (Figure 13) (ANDERSON et RACKIS, 1979).

Les inhibiteurs aggravent donc le déficit en acides aminés soufrés en stimulant la synthèse de trypsine pancréatique, riche en cystine, et en augmentant ainsi les pertes endogènes (KAKADE et al., 1973). L'excès de production de la cholécystokinine intestinale est à l'origine de l'hypertrophie du pancréas observée chez les animaux (rat, souris, poulet) (CALAM et al., 1987, STRUTHERS et al., 1983).

Ces inhibiteurs sont de deux types majeurs : l'inhibiteur de KUNITZ et l'inhibiteur de BOWMAN-BIRK. Le premier est une protéine de poids moléculaire 20000 qui inhibe fortement la trypsine, alors que le second, de poids moléculaire 8000, inhibe à la fois la trypsine et la chymotrypsine (LIENER et KAKADE, 1980). Le tableau 21 rassemble les propriétés de ces inhibiteurs.

## V.2. Inhibiteurs de lipase

L'existence d'une protéine inhibitrice de lipase a été rapportée dans le soja (SATOUCI et MATSUSHITA, 1976; GARGOURI et al., 1984) ainsi que dans le germe de blé (LAIRON et al., 1985; 1987). Cette protéine réagit avec les lipides en affectant la lipolyse des graisses "in vivo" et influe sur leur absorption intestinale et leur métabolisme.

## VI.EFFETS DU SOJA SUR LE METABOLISME LIPIDIQUE

Au cours des deux dernières décennies, l'accent a été mis sur les recherches concernant l'effet hypolipémiant observé avec les protéines végétales chez l'homme et chez l'animal. Les protéines de soja sont les protéines végétales les mieux étudiées.

La substitution systématique des protéines animales par les protéines végétales dans les régimes provoque généralement une hypocholestéromie (CARROLL et al., 1979).

Plusieurs études ont été publiées, démontrant l'effet hypocholestérolémiant du soja chez l'homme. SIRTORI (1979, 1983) a montré que les patients atteints d'hypercholestérolémie de type II ingérant un régime pauvre en lipides montraient une cholestérolémie diminuée de façon importante lorsque la source protéique était le soja au lieu des protéines animales, et ce, en présence ou non d'une supplémentation en cholestérol alimentaire. L'effet était d'autant plus marqué que les patients étaient sévèrement atteints (SIRTORI, 1983).

Une réduction du cholestérol et des triglycérides sanguins a été observée chez des femmes présentant une lipémie normale ou chez des femmes hypercholestérolémiques lorsque celles-ci bénéficiaient de régimes à base de soja (CARROLL, 1978, WOLFE et al., 1981).

Dans leurs travaux respectifs chez l'homme, SIRTORI et CARROLL ont observé une diminution du cholestérol des LDL sans que celui des HDL ne varie.

SHOREY et al. (1981) ont également observé une diminution du cholestérol total chez des sujets hypercholestérolémiques nourris avec des protéines de soja par rapport à ceux nourris avec des protéines animales.

De très nombreuses études sur le métabolisme lipidique ont été faites chez des animaux tels que le rat et le lapin. La diminution de la cholestérolémie est encore plus importante chez ces animaux que chez l'homme (CARROLL, 1982; SIRTORI et al., 1984; KRITCHEVSKY et al., 1981; TERPSTRA et al., 1982; KUYVENHOVEN ET al., 1986).

Les facteurs et les mécanismes responsables de l'effet hypolipémiant du soja ne sont pas encore bien définis. Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour essayer d'expliquer ce phénomène. Il peut s'agir d'un effet provenant de la protéine ou des facteurs présents avec les protéines de soja :

- les protéines de soja, au contraire de la caséine pourraient augmenter le catabolisme des VLDL.

- l'absorption des lipides dans le tractus intestinal pourrait être plus rapide avec la caséine qu'avec le soja.

- les protéines de soja pourraient augmenter l'excrétion du cholestérol biliaire et des stéroïdes fécaux.

- la synthèse de cholestérol pourrait être ralentie en présence de soja.

Le contenu en acides aminés des protéines de soja est également mis en cause. HUFF et al. (1977) ont étudié les effets des protéines intactes du soja ou de caséine, ainsi que le mélange des acides aminés correspondants à chaque protéine. Les protéines intactes du soja et les acides aminés correspondants abaissent le taux de cholestérol des animaux alors que dans le cas de la caséine, le taux de cholestérol est plus élevé, mais la diminution du cholestérol est moins importante dans le cas du mélange des acides aminés par rapport aux protéines intactes.

KRITCHEVSKY (1978, 1981, 1987) suggère que le rapport lysine / arginine de la source protéique affecte le cholestérol sanguin. Ce rapport est faible dans les protéines végétales.

D'autres acides aminés tels que la proline, la cystéine, la méthionine, la leucine et la glutamine ont été incriminés.

SUGANO et al. (1988) ont montré un effet hypocholestérolémiant obtenu à l'aide d'un peptide issu de la digestion des protéines de soja. Ce peptide contenait des acides aminés hydrophobes et était résistant à la digestion.

Les facteurs autres que les protéines, mis en cause dans l'effet hypocholestérolémiant du soja sont divers et nombreux.

Ainsi, les saponines contenues dans la graine de soja pourraient augmenter l'excrétion biliaire du cholestérol dans les fèces (OAKENFULL, 1984). De même, les phytostérols agiraient sur l'absorption intestinale du cholestérol ainsi que sur sa synthèse (POLLACK et KRITCHEVSKY, 1981). D'après SHARMA (1987), les fibres solubles de soja seraient aussi hypocholestérolémiantes.

Les lipides du soja auraient également un rôle à jouer dans la diminution du cholestérol. Le soja est riche en acides gras polyinsaturés (85 %) et en lécithines. Ces dernières peuvent avoir une influence sur le métabolisme du cholestérol du fait de leur composition comportant la phosphatidylcholine, constituant important des biomembranes. Une supplémentation en lécithine chez le sujet hypercholestérolémique entraîne une diminution du taux de lipides plasmatiques (BROOK et al., 1986). L'ingestion de lécithine a également permis d'abaisser le taux de cholestérol sanguin (SIMONS et al., 1977). Enfin, le rapport zinc / cuivre alimentaire diffère dans le soja et la caséine. Il est connu pour être un facteur de régulation de la cholestérolémie (KLEVAY, 1975; KATYA-KATYA, 1984).

## VII.UTILISATION DU SOJA DANS L'INDUSTRIE AGRO-ALIMENTAIRE

Depuis des siècles, le soja fait partie de l'alimentation des populations asiatiques. Celles-ci ont élaboré des aliments variés en utilisant des procédés tels que la cuisson, la coagulation, l'extraction, la germination et la fermentation (BAU et DEBRY, 1979). Les aliments traditionnels sont fermentés dans les conditions très variées (miso, tempeh, natto, sufu) ou non fermentés (graines de soja germées, boisson ou "lait" de soja, tofu).

Bien que les préparations traditionnelles à base de soja ne fassent qu'une entrée timide dans les sociétés occidentales, des efforts sont réalisés dans ces pays pour intégrer le soja comme ingrédient de base dans certains aliments. Les produits modernes mis sur le marché sont :

-boisson ou "lait" de soja (jus de soja ou tonyu)

**Tableau 22: Propriétés fonctionnelles des produits à base de soja**

Propriétés fonctionnelles	Mode d'action	Type d'utilisation	Type de produit(a)
Solubilité	Solubilisation de protéines en fonction du pH	Boissons	F, C, I, H
Absorption de l'eau et fixation	Formation de liaisons hydrogènes, piège de l'eau	Viandes, charcuteries pains, gâteaux	F, C
Viscosité	Epaississants et liaisons hydrogènes	Soupes, Sauces	F, C, I
Gélification	Formation de matrice protéique	Viandes, caillés, fromages	C, I
Cohésion-adhésion	Protéine servant de matière adhésive	Viandes, charcuteries, pâtisseries, pâtes	F, C, I
Elasticité	Formation de liaisons disulfures dans les gels	Viandes, pâtisseries	I
Emulsification	Formation et stabilisation des émulsions lipidiques	Charcuteries, soupes, gâteaux	F, C, I
Absorption des lipides	Fixation de lipides libres	Viandes, charcuteries, pâtes	F, C, I
Saveur	Absorption, piège	Imitation de viandes, pâtisseries	C, I, H
Propriétés moussantes	Formation de film (capture de gaz)	Crèmes fouettées desserts, gâteaux	I, S, H
Contrôle de coloration	Blanchiment de la lipoxygénase	Pains	F

(a) F, C, I, H, S: farine, concentrat, isolat, hydrolysate et sérum (petit lait) de soja  
D'après BRESSANI (1981)

- farine déshuilée contenant entre 50 et 65 % de protéines
- protéines concentrées (entre 65 et 90 %)
- protéines isolées (taux de protéines > 90 %)

A partir des farines ou des concentrats, on peut obtenir des protéines texturées par extrusion; et par filage à partir des isolats. Ces différents produits (en dehors du jus de soja et de la farine entière) font partie des matières protéiques végétales (MPV) et peuvent être introduits dans les aliments carnés, dans un but fonctionnel, mais aussi nutritionnel.

### VII.1.Utilisation du soja comme agent fonctionnel

Les protéines de soja ont des propriétés fonctionnelles intéressantes qui sont mises à profit par l'industrie agro-alimentaire. Ces propriétés résultent de leur structure moléculaire (séquence en acides aminés, groupements hydrophiles, liaisons peptidiques responsables des structures secondaires et tertiaires) (UZZAN, 1985). Elles portent sur le pouvoir d'absorption d'eau, de gélifiant, d'émulsifiant, de liant, etc... Pour cela, les protéines sont incorporées à des taux de l'ordre de 1 à 5 %; Le tableau 22 rassemble les propriétés fonctionnelles des protéines de soja.

### VII.2.Utilisation du soja comme agent nutritionnel

Dans un but économique, le soja a d'abord été incorporé dans les produits carnés utilisés dans les collectivités (armée, cantine scolaire) (ERDMAN et al., 1989).

Actuellement, il est introduit sous forme de protéines concentrées ou isolées dans de nombreuses préparations aussi variées que les aliments infantiles, les pâtisseries, les biscottes et dans les produits diététiques (Tableau 23).

Dans la préparation des produits diététiques, l'accent est mis sur les produits allégés, contenant moins de lipides dans le but de lutter contre la surconsommation des graisses animales contenant des acides gras saturés et du cholestérol, à l'origine des maladies cardiovasculaires. Pour cela, une fraction des produits carnés est remplacée par du soja, dépourvu de cholestérol et riche en acides gras polyinsaturés

**Tableau 23: Graines de soja et produits commercialisés à base de soja.  
Composition brute et utilisation.**

	Protides	Lipides	Glucides	Fibres	Cendres	Applications
Graines	38-40	18-20	32-34	3,5-3,8	4,9	Lait, alimentation traditionnelle, graines, caillé ou pâtes fermentées, sauce
Farine entière	40-44	20-22	26-28	2,8	5,3	Aliments infantiles, produits diététiques petits déjeuners chocolatés, aliments animaux
Farine déshuilée	50-55	<1	34-36	3,2	5,8	Pâtisseries, biscuiterie, aliments infantiles produits diététiques, biscotterie
Protéines texturées extrusion	50-55	<1	34-36	3,3	5,7	Plats cuisinés, préparation à base de produits carnés, charcuterie
Protéines concentrées	70-72	<1	10,0 -25	3,4-4,4	3,7-5,6	Produits diététiques Charcuterie, plats cuisinés
Protéines isolées	90-97	<1	<1	0,1-0,2	2,0-3,8	Aliments infantiles

D'après BAU et DEBRY (1979)

## Chapitre 4 : BUT DU TRAVAIL ET DEMARCHE EXPERIMENTALE

### I.PRESENTATION DE L'ETUDE

L'incorporation des protéines de soja dans les produits carnés ou la préparation des desserts à base de soja doit pouvoir conduire à un produit fini dont les qualités organoleptiques puissent être garanties au consommateur. Pour cela, l'utilisation d'additifs alimentaires, et particulièrement d'agents de texture est nécessaire.

De nombreuses interactions peuvent se produire entre les agents de texture utilisés et les différentes molécules composant le soja, notamment les protéines. Nous nous sommes intéressés aux effets de ces interactions sur le plan nutritionnel, particulièrement sur la valeur nutritionnelle des mélanges protéines-hydrocolloïdes, sur la digestibilité de ceux-ci et sur le métabolisme des lipides après ingestion de ces mélanges. Nous avons choisi comme modèle, l'alginate et le carraghénane de sodium qui, grâce à leurs propriétés fonctionnelles trouvent de nombreuses applications et figurent parmi les agents de texture les plus utilisés et de manière très variée.

### II.DEMARCHE EXPERIMENTALE

Comme nous l'avons vu dans les chapitres précédents, les agents de texture tels que les alginates et les carraghénanes ont des interactions avec les protéines des aliments. Les effets de ces interactions sur le plan nutritionnel ont été souvent étudiés en prenant la caséine comme protéine. Ces différentes études ont montré que la présence de ces additifs à des taux inférieurs ou égaux à 5 %, n'entraînait pas d'altération de la digestibilité des protéines, ni de la croissance des animaux.

Nous nous sommes intéressés aux interactions de ces hydrocolloïdes avec les protéines de soja, le mélange étant chauffé. Les hydrocolloïdes ont été introduits à de faibles doses comme c'est le cas en principe dans les industries agro-alimentaires. L'effet d'une consommation chronique a été étudié en prenant le rat mâle de souche Wistar comme modèle.

Les concentrats ou isolats peuvent être introduits dans ces produits jusqu'à 30 % et parfois plus (UZZAN, 1985).

Dans la gamme des produits allégés, les industries agro-alimentaires ont mis sur le marché des boissons, des yaourts, des crèmes à base de "lait" de soja. Ces produits présentent également l'avantage d'être dépourvus de cholestérol.

Dans un premier temps, nous avons étudié la digestibilité des protéines de soja en présence d'alginate ou de carraghénate de sodium chez le jeune rat Wistar. L'effet de ces hydrocolloïdes sur l'évolution pondérale et le métabolisme des lipides de ces animaux a également été observé.

Nous avons ensuite étudié la digestibilité du soja ou de la caséine contenant le carraghénate de sodium et supplémentés ou non en DL-méthionine. La croissance des animaux et les lipides plasmatiques de ces derniers après réalimentation avec un régime standard ont été étudiés.

Au vu des résultats obtenus dans les deux précédentes expérimentations sur les lipides plasmatiques des animaux, nous avons voulu connaître l'effet du carraghénate de sodium administré à ces animaux uniquement à l'âge adulte.

Pour essayer d'expliquer la diminution observée "in vivo" chez le rat de la digestibilité des régimes contenant le carraghénate de sodium, nous avons réalisé une digestion "in vitro" des échantillons de soja ou de caséine contenant différentes concentrations d'alginate ou de carraghénate de sodium.

La viscosité de ces échantillons a également été mesurée.

## **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

## I.DETERMINATION DE LA COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE

La farine de soja déshuilée commerciale fournie par les établissements Louis François (St Maur, France) a été analysée afin d'en déterminer la composition physico-chimique.

### I.1.Détermination de l'humidité

La détermination de l'humidité est faite à partir de 5 g d'échantillon portés à 105°C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La différence de poids observée correspond à la quantité d'eau évaporée.

### I.2.Détermination des cendres

500 mg de farine sont introduits dans un four à pyrolyse (Pyrolabo), puis portés à 600°C pendant 12 h jusqu'à calcination complète. Les cendres obtenues sont pesées.

### I.3.Détermination des lipides

La méthode utilisée est celle de l'AOAC (1970). La farine est délipidée à l'hexane dans un appareil Soxhlet durant une nuit. L'échantillon complètement délipidé est séché et pesé. La quantité de lipides correspond à la perte de poids de l'échantillon.

### I.4.Détermination des glucides éthanolosolubles

#### I.4.1.Principe

Le dosage des glucides éthanolosolubles totaux est effectué selon la méthode de ROE (1955) à l'acide sulfurique concentré à chaud qui agit sur les hexoses et leurs

homologues supérieurs en donnant des dérivés furfuriques qui produisent avec l'anthrone une coloration verte dont la densité est proportionnelle à la quantité de glucides présents; la coloration présente un maximum à 620 nm.

#### I.4.2.Extraction

Ils sont extraits par l'éthanol à 80 %. Un gramme d'échantillon est dissout dans 70 ml d'éthanol à 80 % et laissé sous reflux à 80°C pendant 4h. Après centrifugation à 2000 g pendant 15 min, le surnageant est récupéré, et le culot dissout dans 30 ml d'éthanol à 80 % est à nouveau laissé sous reflux pendant 1h. Après une nouvelle centrifugation, les deux surnageants sont mélangés et le volume est relevé.

#### I.4.3.Dosage

Réactif à l'anthrone : anthrone / thiourée : 0,05 / 1 % dans H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 66 % (v / v).

Une gamme étalon glucose est préparée à partir d'une solution mère à 1g / ml dans l'acide benzoïque. Un ml de solution à analyser est mis dans un tube à essai auquel on ajoute 10 ml de réactif à l'anthrone. Après agitation, les tubes sont placés dans un bain-marie portés à ébullition pendant 15 min, puis refroidis à l'eau courante et mis à l'obscurité pendant une demi-heure. La densité optique est lue à 620 nm.

La densité optique des échantillons est reportée sur la droite étalon obtenue avec le standard.

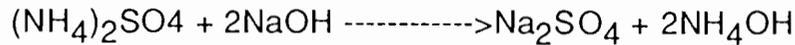
#### I.5.Détermination de l'azote

La teneur en azote est déterminée par microanalyse Kjeldahl (AOAC, 1970).

##### I.5.1.Principe

Le principe est basé sur la distillation de l'ammoniaque obtenue après minéralisation de la matière organique. Celle-ci est détruite par l'acide sulfurique sous forme de CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O et l'azote organique se retrouve sous forme de sulfate d'ammonium.

L'ammonium est ensuite déplacé par la soude suivant la réaction :



L'ammoniaque libérée est entraînée par la vapeur d'eau, puis recueillie dans une solution absorbante d'acide borique et dosée par une solution d'acide sulfurique.

### I.5.2. Dosage de l'azote protéique

Réactifs :

-acide sulfurique

-catalyseur de minéralisation : mélange finement broyé de sélénium (2g),  $FeSO_4$  (10g) et de sulfate de potassium (64g)

-solution de soude à 40 %

-Indicateur coloré concentré :

solution A : 0,033 g de vert de bromocrésol + 0,066g de rouge de méthyl dans 100 ml d'éthanol absolu

solution B : 5 g d'acide borique dans 100 ml d'éthanol absolu

solution absorbante : 100 ml de solution B + 20 ml de solution A + 100 ml d'éthanol. Compléter la solution à 1000 ml par de l'eau distillée et neutraliser avec la soude.

100 mg d'échantillons sont minéralisés pendant une nuit dans l'acide concentré. Le minéralisat est ensuite dilué dans une fiole de 50 ml avec de l'eau distillée. Un ml de minéralisat dilué est mélangé à 12 ml de NaOH à 40 % et distillé dans un appareil à distillation (Vapodest). Après 10 min de distillation, l'ammoniaque recueillie dans une fiole contenant 5 ml de solution absorbante est titrée par  $H_2SO_4$  0,01 N jusqu'à l'obtention d'une teinte rose.

Le pourcentage d'azote est calculé de la façon suivante :

$$\% N = 100/P \times 14,008 (n-n') \times T$$

P = poids de l'échantillon (mg)

n= ml de  $H_2SO_4$  versé

n'= ml de  $H_2SO_4$  versé lors de l'essai à blanc

T= titre de la solution de  $H_2SO_4$

**Tableau 24: Composition des différents régimes expérimentaux**

Composition	Régime à 10 % de protéines	Régime à 20 % de protéines	Régime standa UAR n°4
Protéines	10%	20%	17%*
Lipides	9%	5%	3%
Cellulose	5%	5%	4%
Mélange minéral**	5%	5%	4,30%
Mélange vitaminique***	2%	2%	-
Eau	-	-	12%
Amidon	69%	63%	58,70%

\*Les protéines du régime UAR n°4 sont à base de céréales (88%), de tourteaux de protéines végétales (7%), de protéines de poisson (2%), et d'un mélange minéral vitaminé (3%)

\*\*Mélange minéral des régimes à 10 ou 20 % de protéines(g/kg):

CaHPO4.....430g  
 KCL.....100g  
 NaCL.....100g  
 MgO.....10,5g  
 MgSO4.....50g  
 Fe2O3.....3g  
 FeSO47H2O.....5g  
 Oligoéléments.....10g  
 Q.S.P.....1000g

\*\*\*Mélange vitaminique des régimes à 10 ou 20 % de protéines(mg ou UI/kg) :

Tocophérol : 11 mg	Inositol : 11 mg
Niacine : 10 mg	Chlorhydrate de pyrodoxine : 2 mg
Pantothénate de calcium : 6 mg	Acide folique : 0,2 mg
Vitamine A : 2000 UI	Acide ascorbique : 100 mg
Chlorure de choline : 166 mg	Acide p-aminobenzoïque: 11 mg
Riboflavine : 2 mg	Thiamine : 2 mg
Vitamine B12 : 0,03 mg	Vitamine D : 200 UI
Menadione : 5 mg	Biotine : 0,04 mg

\*\*Composition en minéraux du régime UAR n°4 (g/kg):

P.....5,9 g  
Ca.....8,3 g  
Na.....1,9 g  
K..... 6,7 g  
Mg.....2 g  
Mn.....0,09 g  
Fe.....0,24 g  
Cu.....0,03 g  
Co.....0,0015 g  
I.....0,0003 g

\*\*\*Apport vitaminique du régime UAR n°4 (mg/kg ou UI/kg):

Vit. A.....7500 UI  
Vit. D3.....1500 UI  
Vit. B1.....7 mg  
Vit. B2.....6,5 mg  
Vit. B3.....16,5 mg  
Vit. B6.....2,6 mg  
Vit. B12.....0,02 mg  
Vit. E.....30 mg  
Vit. K3.....2,5 mg  
Vit. PP.....75 mg  
Ac. Folique.....0,5 mg  
Biotine.....0,04 mg  
Choline.....1600 mg

La quantité de protéines est obtenue par la relation :  $P = N \times 6,25$

### I.5.3. Dosage de l'azote non protéique

Nous avons utilisé la méthode de BECKER et al. (1940). 500 mg de farine sont dissous dans 10 ml de NaOH 0,004 N et agités pendant 2 h. La précipitation des protéines est obtenue par addition d'un égal volume d'acide trichloroacétique 1,6 N. Après centrifugation à 3000 g pendant 20 min, le dosage de l'azote non protéique se fait sur 2 ml de surnageant minéralisé par microanalyse Kjeldahl.

## II. PREPARATION DE LA FARINE DE SOJA OU DE LA CASEINE ASSOCIEES A L'ALGINATE OU AU CARRAGHENATE DE SODIUM

La farine de soja ou la caséine (UAR, Villemoisson / Orge, France) sont mélangées aux différents additifs de façon à ce qu'elles contiennent 0,5, 1, 2 ou 3 % d'alginate ou de carraghénate de sodium (mélange de iota- et kappa-carraghénate) (Ets Louis François, Saint Maur, France).

Le mélange est réalisé soigneusement à l'aide d'un robot ménager (Ronic, Ritmix). De l'eau (environ 200 ml pour 100 g d'échantillon) est pulvérisée de façon à humidifier le mélange. Celui-ci est ensuite placé dans un torchon humide, puis cuit à la vapeur pendant 30 min dans un autocuiseur non hermétiquement fermé. Le produit est ensuite séché dans une étuve à ventilation (Prolabo) à 70°C pendant une nuit, puis broyé à l'aide d'un robot Vertec. La farine obtenue sert à la préparation des régimes utilisés dans les diverses expérimentations.

## III. ETUDE EXPERIMENTALE SUR LES ANIMAUX

### III.1. Différents régimes expérimentaux

Leurs compositions sont décrites dans le tableau 24. Les régimes comportent 10 ou 20 % de protéines selon l'expérimentation. La source protéique est soit la caséine chauffée ou non, associée ou non à 3 % de carraghénate de sodium, soit la farine de soja chauffée associée ou non à 0,5, 1, 2 ou 3 % d'alginate ou de

carraghénate de sodium.

Dans le cas du soja, les taux d'hydrocolloïdes sont de 0,1; 0,2; 0,4 et 0,6 % pour les régimes à 10 % et de 0,2, 0,4, 0,8 et 1,2 % pour les régimes à 20% de protéines de soja. Dans les régimes à base de caséine, le taux de carraghénate est respectivement de 0,35 % ou de 0,70 % dans les régimes à 10 % ou à 20% de protéines.

Selon l'expérimentation, ces régimes comprennent 5 ou 9 % de lipides apportés par l'huile d'arachide en tenant compte de la quantité de lipides contenus dans les échantillons.

Dans le cas où les régimes sont supplémentés en méthionine, la supplémentation est de 0,1 % de DL-méthionine.

Un régime standard à 17 % de protéines a aussi été utilisé (UAR n°4, UAR, Villemoisson / Orge, France).

### III.2. Conditions expérimentales en animalerie

Nous avons utilisé des rats mâles de souche Wistar. A leur arrivée, ils sont placés dans des cages individuelles, dans une animalerie à température, degré hydrométrique et lumière contrôlés :

- température :  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- degré hydrométrique : 65-70 %
- éclairage : période diurne de 7h à 19h; période nocturne de 19h à 7h

Une période d'acclimatation permet aux animaux de s'accoutumer aux conditions expérimentales. Après cette période, des lots de 10 ou 12 rats selon les expérimentations sont constitués par tirage au sort. Ces différents lots doivent présenter un poids moyen par rat dont la différence par rapport aux autres lots doit être inférieure à 5 g.

Les régimes expérimentaux sont administrés "ad libitum" et pesés tous les 2 jours. Le poids des animaux est mesuré une fois par semaine. L'eau est fournie par le

réseau de distribution.

### III.3. Protocoles expérimentaux

#### III.3.1. Etude de l'effet de l'incorporation de l'alginate ou du carraghénate de sodium sur le CEP, l'évolution pondérale des animaux et le métabolisme des lipides.

Les rats mâles de souche Wistar, âgés de 21 j et pesant entre 45 et 50 g à l'arrivée sont répartis en lots de 10 rats et nourris au cours de 3 périodes expérimentales différentes.

Pendant la première période, les rats sont nourris pendant 4 semaines avec des régimes à 10 % de protéines apportées par la caséine non chauffée ou par la farine de soja associée ou non à 0,5, 1, 2 ou 3 % d'alginate ou de carraghénate de sodium et chauffée. Après cette période, tous les lots de rats ont reçu pendant 16 semaines un régime standard à 17 % de protéines (UAR, n°4). A l'issue de cette deuxième période, les rats des lots constitués lors de la première période ont été réalimentés pendant 6 semaines avec les régimes à base de caséine ou de farine de soja associées ou non aux hydrocolloïdes, comme ceux de la première période, mais comportant cette fois 20 % de protéines.

#### III.3.2. Etude des effets de la supplémentation en méthionine des régimes à base de caséine ou de farine de soja associées au carraghénate de sodium sur le CEP et l'évolution pondérale des rats. Effet de la réalimentation sur les paramètres lipidiques.

Sept lots de 12 rats Wistar âgés de 21 j ont été constitués et répartis en 2 groupes. Ces animaux ont été nourris pendant 2 périodes expérimentales différentes. Pendant la première période, les animaux ont reçu pendant 4 semaines des régimes à 10 % de protéines, fournies pour le premier groupe par la caséine chauffée (CAS CH), la caséine associée à 3 % de carraghénate et chauffée (CAS CH + CAR), et ce dernier régime supplémenté avec 0,1 % de DL-méthionine (CAS CH + CAR + MET) d'une part, et pour le second groupe, par la farine de soja chauffée (FSC, la farine de soja chauffée + 3 % de carraghénate (FSC + CAR), la farine de soja chauffée

supplémentée avec 0,1 % DL-méthionine (FSC + MET), et la farine de soja chauffée + 3 % de carraghénate + 0,1 % DL-méthionine (FSC + CAR + MET) d'autre part.

Pendant la seconde période, tous les animaux ont été alimentés avec le régime standard pendant 8 semaines pour contrôler l'évolution pondérale.

### III.3.3.Effets de l'incorporation du carraghénate de sodium dans les régimes à base de caséine ou de farine de soja sur le métabolisme lipidique du rat adulte.

Des rats adultes, âgés de 11 semaines ont été nourris pendant 1 semaine avec un régime standard, puis répartis en 5 lots de 10 rats et nourris pendant 6 semaines avec des régimes expérimentaux à 20 % de protéines. La source protéique est pour le premier groupe de rats, la caséine non chauffée, la caséine chauffée ou le mélange de caséine + 3 % de carraghénate de sodium, pour le second groupe, la farine de soja chauffée ou la farine de soja associée à 3 % de carraghénate de sodium.

## III.4.Méthodes et dosages dans ces protocoles

### III.4.1.Détermination du coefficient d'efficacité protéique (CEP)

La détermination du CEP se fait sur de jeunes rats âgés de 21 j, nourris pendant 4 semaines avec des régimes à 10 % de protéines. Le CEP est représenté par le rapport entre le gain de poids et les ingesta protéiques journaliers moyens calculés sur 28 jours.

### III.4.2.Prélèvement du sang

A la fin des expérimentations, les rats à jeun depuis la veille sont endormis à l'éther, puis décapités et le sang est recueilli sur anticoagulant EDTA / Iniprol. Le sang est centrifugé à 2800 g pendant 20 min à 4°C pour récupérer le plasma. Celui-ci est conservé à - 20°C jusqu'au moment des dosages.

### III.4.3.Préparation des lipoprotéines plasmatiques

La séparation des lipoprotéines se fait par ultracentrifugation du plasma selon la méthode de HAVEL (1955).

Une première ultracentrifugation du plasma à 40000 g à 10°C pendant 18 h permet de récupérer les VLDL (very low density lipoproteins). La densité de la solution restant après récupération des VLDL est amenée à 1,063 puis, la solution est à nouveau centrifugée à 40000 g pendant 20 h pour séparer les LDL (low density lipoproteins) et les HDL (high density lipoproteins). La solution est séparée en deux fractions, la fraction supérieure contient les LDL et la fraction inférieure les HDL.

Toutes les fractions sont conservées à - 20°C en vue du dosage des lipides.

### III.4.4.Dosage du cholestérol et des triglycérides

Le dosage du cholestérol et des triglycérides se fait sur le plasma et les différentes fractions lipoprotéiques.

Le cholestérol et les triglycérides sont mesurés par des méthodes enzymatiques à l'aide de trousse commercialisées par Boehringer Mannheim.

## IV. DIGESTION ENZYMATIQUE "IN VITRO"

La digestibilité des protéines en présence d'hydrocolloïdes est testée "in vitro" par la digestion enzymatique.

La digestion enzymatique "in vitro" de la farine de soja ou de la caséine associée aux différentes concentrations d'alginate ou de carraghénate de sodium est réalisée à l'aide de 2 enzymes digestives : la pepsine et la trypsine, et de 2 enzymes non digestives : la papaïne et la bromélaïne.

#### IV.Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la pepsine

Pepsine : EC.3.4.4.1. provenant de la muqueuse gastrique (3200 unités / mg). Sigma Chemical (Ref. p 7012).

La pepsine est dissoute dans une solution de HCl 0,1 N. Les différents échantillons sont mis en solution dans HCl 0,1 N à la concentration de 2,5 g pour 100 ml et agités pendant une demi-heure à 37°C.

#### IV.2.Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la trypsine

Trypsine : E.C.3.4.21.4. provenant du pancréas bovin type III (10200 BAEE unités / mg de protéines). Sigma Chemical (Ref. Tr 8253).

La trypsine est dissoute dans du tampon phosphate 0,2 M pH 8,2. Les échantillons précédemment digérés par la pepsine sont amenés à pH 8,2 avec du NaOH 1N.

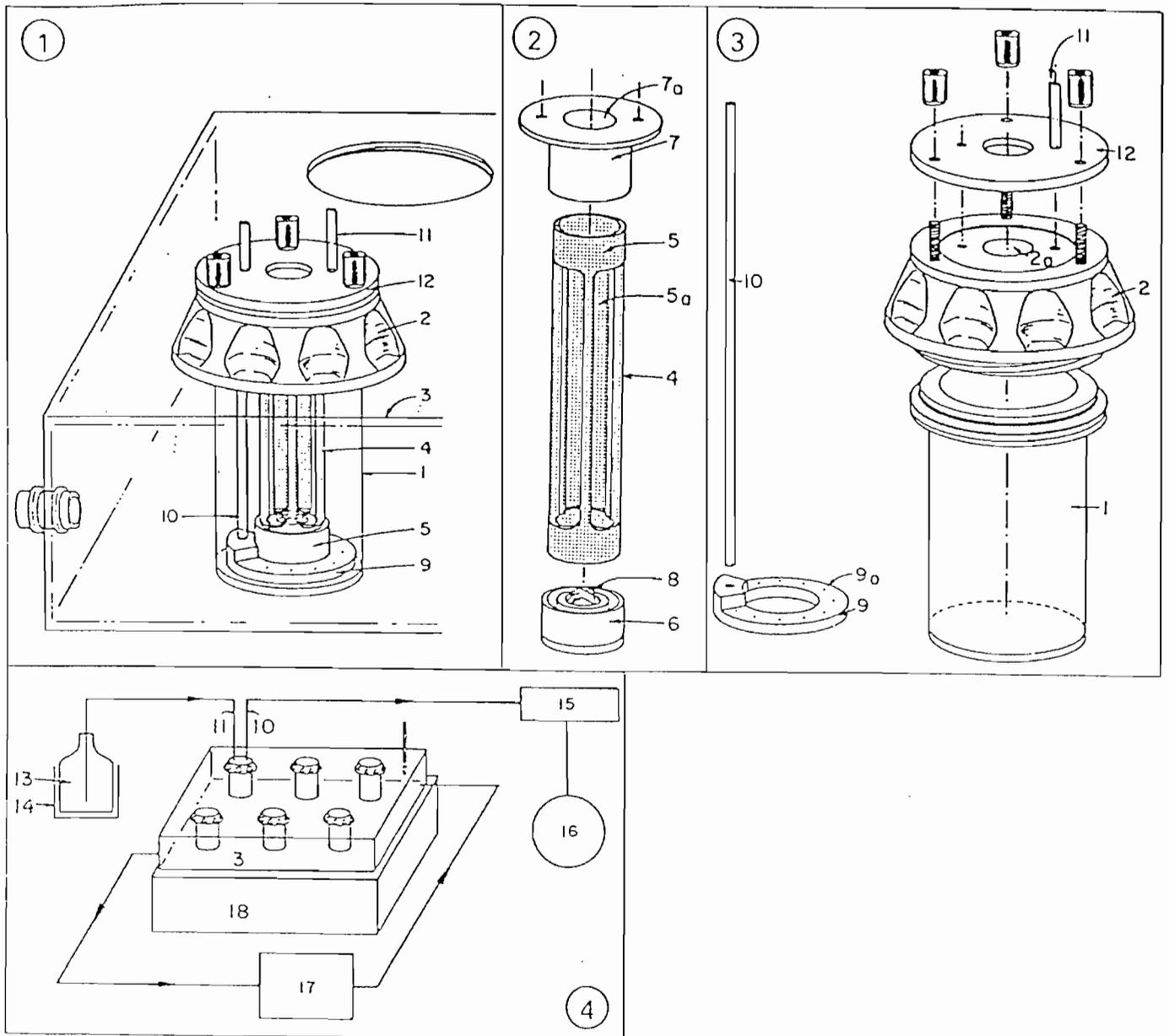
#### IV.3.Préparation des échantillons pour l'hydrolyse par la papaïne ou par la bromélaïne.

Papaïne : E.C.3.4.22.2. provenant de "Papaya latex" (2,3 unités / mg de poudre). Sigma Chemical (Ref. P 3375).

Bromélaïne E.C.3.4.22.4. provenant de l'ananas (1190 unités / mg de poudre). Sigma Chemical (Ref. B 2252).

Les enzymes sont dissous dans du tampon phosphate 0,2 M, pH 6,2. Les échantillons sont mis en solution dans ce même tampon à raison de 2,5 g pour 100 ml.

Figure 14: Représentation graphique des différentes parties de la cellule de digestion.



(1) Compartiment externe; (2) Couvrecie, (a) ouverture centrale, (3) (14) Bain circulant thermostaté, (4) Membrane à dialyse; (5) Compartiment interne, (6) Bouchon inférieur (7) Bouchon supérieur, (a) ouverture centrale; (8) Barreau aimanté; (9) Anneau maintenant le compartiment interne; (10) Sortie du tampon; (11) Entrée du tampon; (12) Système de blocage; (13) Réservoir de tampon; (15) Pompe péristaltique; (16) Collecteur de fractions; (17) Circulation du bain; (18) Agitateur magnétique

D'après SAVOIE et GAUTHIER (1986)

#### IV.4.Digestion

Les échantillons en solution sont agités pendant une demi-heure et ensuite ajustés aux différents pH. Les enzymes sont ajoutés de façon à avoir un rapport enzyme / substrat = 1 / 250 (P / P). Les prélèvements sont faits aux temps 0, 10, 20, 30, 60 et 120 min. La réaction est arrêtée par addition de 5 ml de TCA 3,2 N. Le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 15 min. Le dosage de l'azote non protéique est fait sur 2 ml de surnageant par microanalyse Kjeldahl.

#### IV.5.Digestion enzymatique "in vitro" dans la cellule de digestion

Nous avons utilisé une cellule de digestion qui a été mise au point par SAVOIE et GAUTHIER (1986), et qui est une adaptation de MAURON et al. (1955) et de STHEINART et KIRCHEGESSNER (1973).

L'idée de départ est de séparer les produits d'hydrolyse du mélange réactionnel, puisque ces produits libérés dans le milieu peuvent inhiber la réaction d'hydrolyse. Pour cela, SAVOIE et GAUTHIER (1986) ont mis au point un système d'hydrolyse en 2 étapes avec les enzymes digestives, une première digestion a lieu avec la pepsine, celle-ci est suivie par la digestion par une enzyme intestinale dans un sac à dialyse qui libère au fur et à mesure les produits d'hydrolyse dans un tampon dont la circulation est assurée par une pompe péristaltique.

##### IV.5.1.Description de la cellule de digestion

L'unité de digestion est faite de Teflon et de Plexiglass assurant l'inertie (Figure 14). Elle est composée de deux compartiments concentriques. Le compartiment interne à l'intérieur duquel a lieu la digestion est limité par une membrane à dialyse (Spectra Por<sup>6</sup> MWCO 1000), maintenue en place par un trépied fermé aux deux extrémités par des bouchons étanches. Ce sac à dialyse plonge dans un compartiment externe contenant du tampon et est relié par des anneaux distributeurs à un réservoir de tampon d'une part, et à un collecteur de fractions d'autre part, la circulation du tampon étant assurée par une pompe péristaltique. L'ensemble des deux compartiments fermé par un couvercle est placé dans un bain chauffant et circulant permettant de maintenir une température constante durant tout le processus

de digestion. Le couvercle vissé sur le bain, contient une ouverture centrale donnant libre accès au compartiment interne. Le bain est placé sur un agitateur magnétique permettant au barreau aimanté présent à l'intérieur du compartiment interne d'assurer le mélange permanent du mélange réactionnel.

#### IV.5.2.Réactifs

Les enzymes et les différents tampons sont ceux utilisés précédemment. Toutes les solutions contiennent 50 ppm de thimérosal (Sigma Chemical) un agent antibactérien.

#### IV.5.3.Digestion

Nous avons réalisé la digestion enzymatique de la farine de soja associée à 3 % d'alginate ou de carraghénate de sodium en présence de trypsine, de bromélaïne ou de papaïne.

##### IV.5.3.1.Digestion par la trypsine

La digestion de la farine de soja par la trypsine est précédée d'une hydrolyse par la pepsine.

La farine de soja contenant 40 mg d'azote est suspendue dans 16 ml de HCl 0,1 N et agitée pendant 5 min à 37°C. Après ajustement du pH à 1,8 à l'aide du NaOH 1N, le volume est amené à 19 ml avec de l'eau distillée. Un ml de pepsine est ajouté (E / S : 1/250) et la réaction est menée dans un bain-marie à 37°C. Après 30 min de digestion, la réaction est arrêtée par l'addition du NaOH 1N jusqu'au pH 8,2. Le volume est ajusté à 22 ml avec de l'eau distillée. Le digestat est transféré dans la membrane à dialyse de la cellule de digestion. Un ml de trypsine dissoute dans du tampon phosphate pH 8,2, 0,2 M est ajouté. La circulation permanente du tampon phosphate pH 8,2 permet de récupérer les produits d'hydrolyse toutes les heures pendant 6 heures.

#### IV.5.3.2. Digestion par la papaïne ou par la bromélaïne

La digestion par ces deux enzymes est faite sans hydrolyse préalable par la pepsine.

L'échantillon est dissout dans 16 ml de tampon phosphate pH 6,2, 0,2 M. Après 5 min d'agitation à 37°C, le pH est ajusté à 6,2 avec du NaOH 1 N. Le volume est ajusté à 22 ml avec du tampon. Cette préparation est introduite dans le sac à dialyse, 1 ml de de papaïne ou de bromélaïne est ajouté pour amorcer la réaction. Le tampon circulant est dans ce cas le tampon phosphate pH 6,2. Le dialysat est collecté toutes les heures comme dans le cas précédent.

Dans tous les cas, les quantités d'azote libérées par heure étant faibles, le dosage de l'azote est fait sur 20 ml de dialysat minéralisé en présence de 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36 N.

### V. VISCOSITE

La viscosité des échantillons de farine de soja ou de caséine associées ou non aux hydrocolloïdes à différentes concentrations est mesurée à l'aide d'un viscosimètre VT 180 GEBRUDER HAAKE, équipé d'un dispositif à manchon thermostatique où le mobile entraînant la substance plonge dans un béccher métallique concentrique à peine supérieur au sien. Avec ce dispositif, la valeur en centipoise est directement affichée.

Les échantillons sont mis en solution dans l'eau distillée de façon à ce qu'ils contiennent 10 % de protéines. Après 1 h d'agitation, ils sont introduits dans le béccher métallique du viscosimètre. La mesure se fait à 37°C.

### VI. STATISTIQUES

De façon générale et sauf cas contraire expressément précisé dans les légendes des tableaux, les résultats sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Le traitement statistique des résultats est réalisé sur Macintosh avec un

programme Statview (FELDMAN et al.). Les comparaisons sont faites au seuil de 95 % par analyse de variance (Anova) et un test de Fisher est utilisé pour comparer les groupes après s'être assuré de la normalité de la distribution.

## **TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION**

## Chapitre 1 : COMPOSITION PHYSICO-CHIMIQUE

### I.RESULTATS

#### I.1.Composition de la farine de soja

Le tableau 25 montre la composition physico-chimique de la farine de soja commerciale.

Celle-ci contient 3,9 % de lipides, alors qu'en général, les farines déshuilées ont un taux de lipides plus faible (<0,1 %).

La teneur en glucides insolubles est obtenue par différence et correspond à celle généralement trouvée dans le soja.

Le taux de protéines de cette farine est assez élevé ( $48,2 \pm 1,3$  %).

La teneur en azote non protéique est très faible : 0,03 %.

#### I.2.Composition de la caséine

La caséine alimentaire provenant de UAR contient 86,8 % de protéines, 10 % d'eau, 4 % de minéraux et ne contient pas de lipides.

**Tableau 25: Composition de la farine de soja**

Composition	%
Protéines	48,8 ± 1,3
Lipides	3,9 ± 0,04
Glucides éthanolosolubles	10,6 ± 0,6
Cendres	6,2 ± 0,7
Humidité	7,4 ± 0,5
Glucides insolubles*	23,7

\*Obtenus par différence

**Chapitre 2 :**  
**EFFETS DE L'ADDITION DE L'ALGINATE OU DU CARRAGHENATE DE SODIUM A LA FARINE DE SOJA SUR LE CEP, L'EVOLUTION PONDERALE ET LES LIPIDES PLASMATIQUES DU RAT.**

**I.RESULTATS**

**I.1.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur la consommation, le gain de poids et le CEP.**

La consommation protéique et le gain de poids journaliers ont été mesurés pour chaque lot de rats. Les effets de l'ingestion de la caséine ont été comparés à ceux de l'ingestion de la farine de soja chauffée, à ceux de l'ingestion de régimes contenant l'alginate de sodium à différents taux (Tableau 26), et à ceux de l'ingestion de régimes contenant le carraghénate de sodium à différents taux (Tableau 27).

Il existe une différence significative entre le CEP des rats nourris avec de la caséine et celui des rats nourris avec de la farine de soja chauffée.

Il n'existe pas d'effet global de l'alginate de sodium sur le CEP ( $F^{554} = 1,6$ ). Il n'y a pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre le CEP des rats nourris avec de la caséine et celui des rats recevant les régimes contenant de l'alginate de sodium jusqu'à 2 %. En revanche, une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du CEP des rats nourris avec le régime contenant 3 % d'alginate de sodium est observée. Dans tous les cas, il n'y a pas de variation significative de la consommation ni du gain de poids. Il n'y a pas de différence entre le régime FSC et les régimes supplémentés en alginate de sodium.

Il existe un effet global du carraghénate de sodium ( $F^{553} = 6,39$ ) se traduisant par une diminution significative du CEP des rats nourris avec le régime FSC + CAR quelle que soit la dose de cet hydrocolloïde par rapport à celui des rats témoins. Une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la consommation protéique des rats recevant 3 % de carraghénate de sodium sans modification du gain de poids est également notée. Une diminution significative du CEP est observée entre les rats consommant la farine de soja chauffée et ceux consommant la même farine supplémentée par 3 % de

**Tableau 26: Effet de l'addition de l'alginate de sodium sur la consommation de protéines, le gain de poids et le CEP.**

Régimes	Protéines ingérées (g/j)	Gain de poids (g/j)	CEP (1)
Caséine	1,62 ± 0,20 a (1)	4,58 ± 0,50 a	2,50 ± 0,07 a
FSC (2)	1,70 ± 0,17 a	4,38 ± 0,77 a	2,25 ± 0,32 b
FSC + 0,5 % ALG (3)	1,66 ± 0,08 a	4,33 ± 0,39 a	2,30 ± 0,08 a,b
FSC + 1 % ALG	1,66 ± 0,22 a	4,33 ± 0,67 a	2,30 ± 0,09 a,b
FSC + 2 % ALG	1,63 ± 0,18 a	4,32 ± 0,94 a	2,32 ± 0,12 a,b
FSC+ 3 % ALG	1,62 ± 0,14 a	4,05 ± 0,38 a	2,20 ± 0,24 b

n= 10 rats

(1): Le CEP est corrigé sur la base de 2,50 fixée pour la caséine

(2) : FSC : farine de soja chauffée

(3): ALG : alginate de sodium

**Tableau 26: Effet de l'addition du carraghénate de sodium sur la consommation de protéines, le gain de poids et le CEP.**

Régimes	Protéines ingérées (g/j)	Gain de poids (g/j)	CEP
Caséine	1,62 ± 0,20 a	4,58 ± 0,50 a	2,50 ± 0,07 a
FSC (2)	1,70 ± 0,17 a,b	4,38 ± 0,77 a	2,25 ± 0,32 b
FSC + 0,5 % CAR (4)	1,68 ± 0,14 a,b	4,20 ± 0,36 a	2,19 ± 0,14 b,c
FSC + 1 % CAR	1,71 ± 0,17 a,b	4,20 ± 0,46 a	2,16 ± 0,21 b,c
FSC + 2 % CAR	1,79 ± 0,20 a,b	4,27 ± 0,56 a	2,10 ± 0,24 b,c
FSC + 3 % CAR	1,81 ± 0,30 b	4,17 ± 0,84 a	2,03 ± 0,24 c

n= 10 rats

(4):CAR : carraghénate de sodium

carraghénate de sodium.

### I.2. Evolution pondérale des rats nourris avec des régimes à base d'alginate de sodium.

La figure 15 montre l'évolution pondérale des rats nourris avec des mélanges chauffés de farine de soja associée à l'alginate de sodium à différents taux, comparés à ceux nourris avec de la caséine ou avec de la farine de soja chauffée. Il n'y a aucune différence significative entre ces lots dans aucune des trois périodes expérimentales.

### I.3. Evolution pondérale des rats nourris avec des régimes à base de carraghénate de sodium.

La figure 16 illustre l'évolution pondérale des rats nourris avec de la caséine, ou avec des mélanges chauffés de farine de soja associée au carraghénate de sodium à différents taux. Quand les rats sont réalimentés avec le régime standard, seuls ceux nourris auparavant avec de la farine de soja contenant 0,5 % de carraghénate de sodium présentent la même évolution pondérale que les groupes nourris avec de la caséine ou de la farine de soja chauffée. En revanche, les rats nourris au préalable avec de la farine de soja additionnée de 1, 2 ou 3 % de carraghénate de sodium montrent une croissance inférieure à celle des trois groupes précédents. Pour les lots ayant reçu de la farine de soja contenant 3 % de carraghénate, la différence de poids est significative ( $p < 0,05$ ) dès la première semaine de réalimentation par le régime standard (5<sup>ème</sup> semaine de l'expérimentation). Pour tous les autres groupes, elle apparaît à partir de la 9<sup>ème</sup> semaine de régime standard et est maintenue jusqu'à la fin de l'expérimentation. Dans tous les cas, le passage à un régime à 20 % de protéines n'entraîne pas de modification de cette courbe de poids.

La perte de poids des animaux observée à la 13<sup>ème</sup> semaine est due à un problème d'approvisionnement en régime standard.

Figure 15: Effet de l'addition de l'alginate de sodium à la farine de soja sur l'évolution pondérale des rats

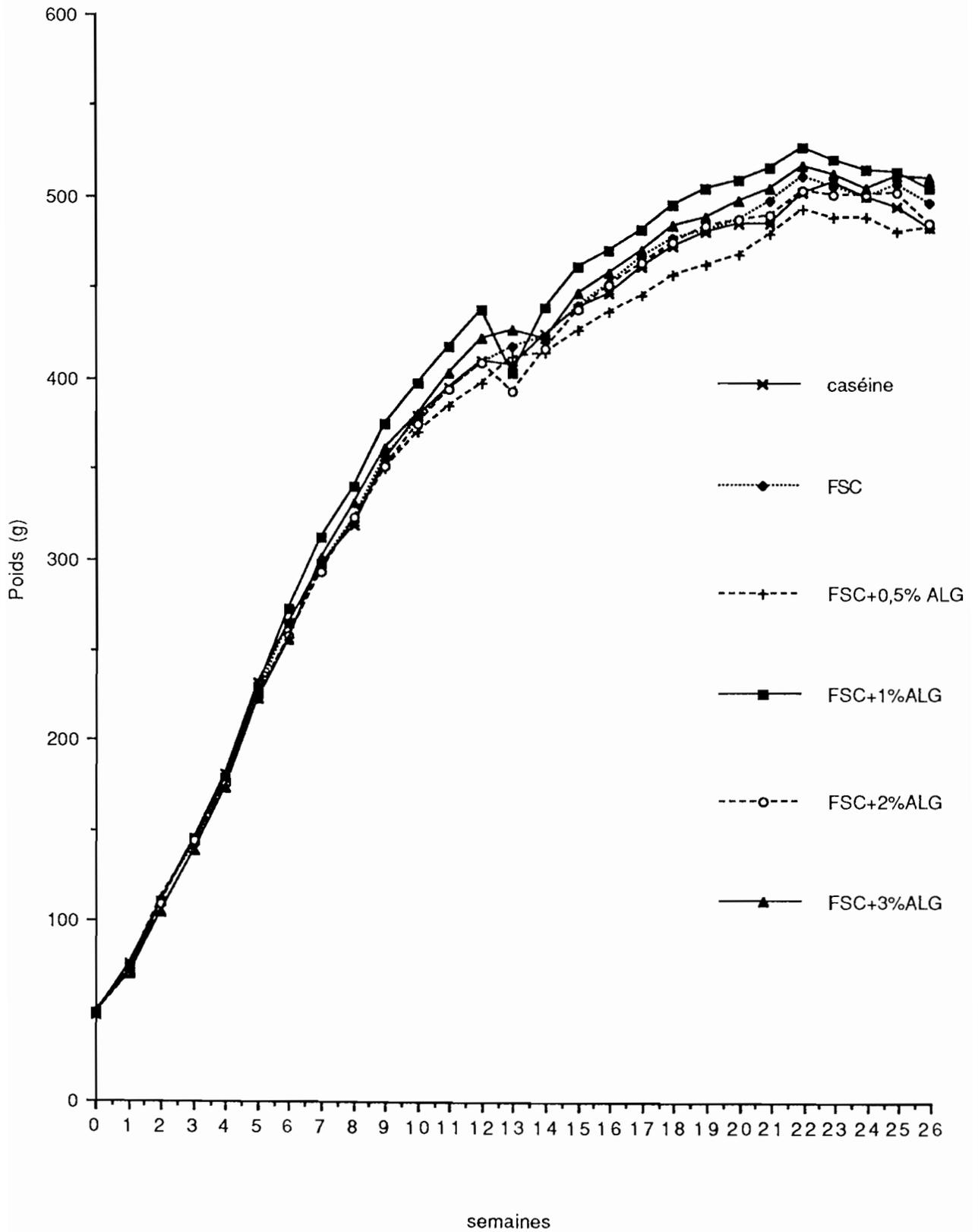
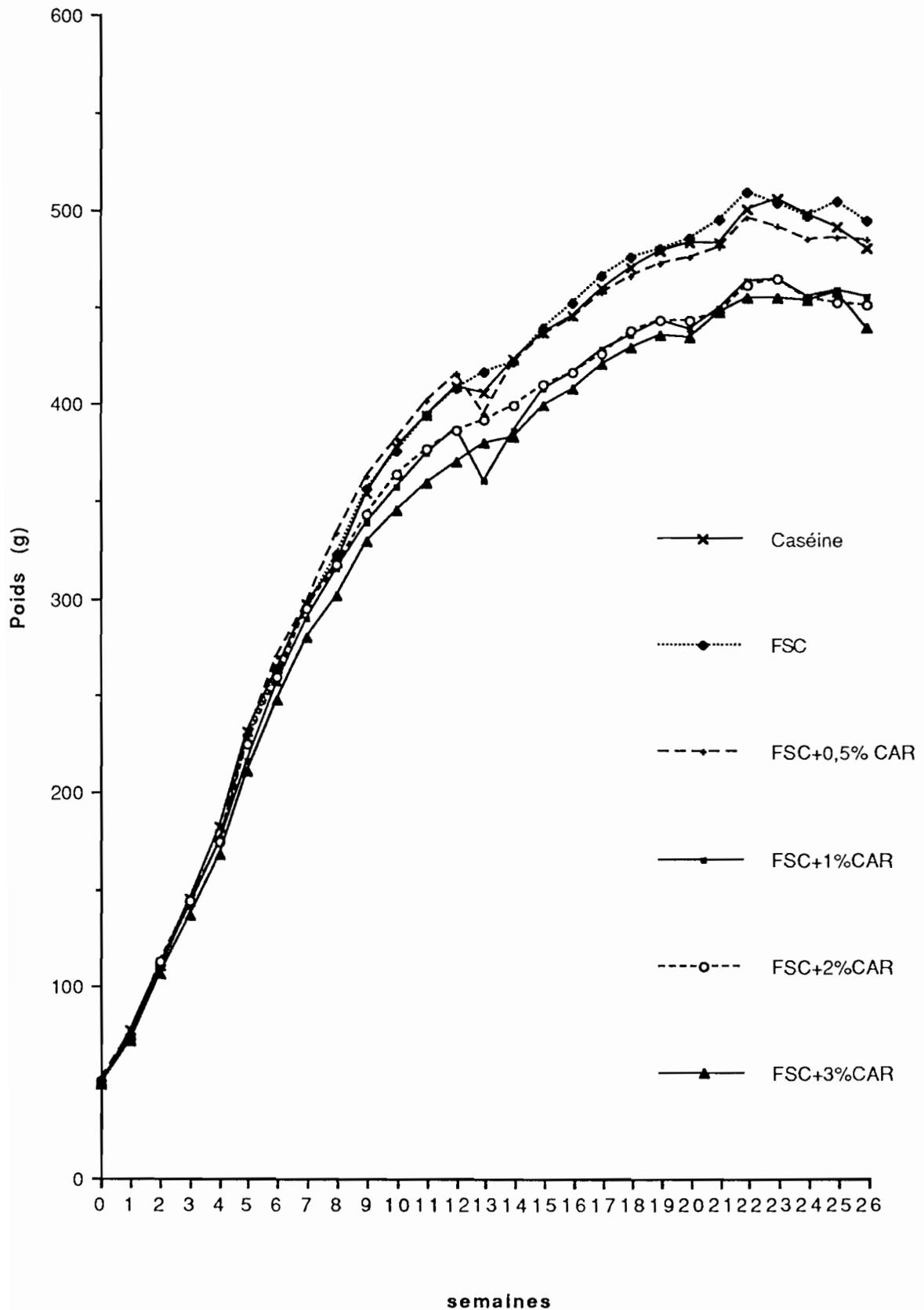


Figure 16: Effet de l'addition du carraghénate de sodium à la farine de soja sur l'évolution pondérale des rats



**Tableau 28 : Consommation des rats nourris avec de la farine de soja associée à l'alginate de sodium pendant la troisième période expérimentale**

Régimes	n	Protéines ingérées (g/j)
Caséine	10	4,23 ± 0,2 a (1)
FSC	10	4,47 ± 0,24 b
FSC ± 0,5 % ALG	10	4,33 ± 0,29 a,b
FSC ± 1 % ALG	10	4,53 ± 0,24 b
FSC ± 2 % ALG	10	4,36 ± 0,1 a,b
FSC ± 3 % ALG	10	4,48 ± 0,27 b

(1): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 29 : Consommation des rats nourris avec de la farine de soja associée au carraghénate de sodium pendant la troisième période expérimentale**

Régimes	n	Protéines ingérées (g/j)
Caséine	10	4,23 ± 0,2 a (1)
FSC	10	4,47 ± 0,24 b
FSC ± 0,5 % CAR	10	4,54 ± 0,31 b
FSC ± 1 % CAR	10	4,49 ± 0,28 b
FSC ± 2 % CAR	10	4,36 ± 0,39 a,b
FSC ± 3 % CAR	10	4,39 ± 0,31 a,b

#### I.4. Consommation protéique des animaux durant la troisième période expérimentale (Tableaux 28 et 29).

La prise alimentaire des rats nourris avec de la caséine est significativement plus faible que celle des rats nourris avec des régimes à base de farine de soja chauffée. L'addition d'hydrocolloïdes (alginate ou carraghénate de sodium) ne modifie pas cette observation.

Il n'y a pas de différence de consommation protéique des animaux nourris avec de la farine de soja chauffée additionnée d'alginate de sodium par rapport à ceux nourris avec de la farine de soja chauffée additionnée de carraghénate de sodium.

#### I.5. Effets des régimes à base d'alginate de sodium sur la triglycéridémie et sur la cholestérolémie des rats (Tableaux 30 et 31).

Il n'y a pas de variation significative des triglycérides plasmatiques dans les groupes de rats nourris avec de la caséine, de la farine de soja associée ou non à 0,5, 1, 2 ou 3 % d'alginate de sodium. Un effet hypotriglycéridémiant est observé avec 1 % d'alginate dans la farine de soja (Tableau 30) par comparaison avec tous les autres régimes. Le taux de triglycérides dans les VLDL est le reflet des taux de triglycérides plasmatiques, alors que les triglycérides des fractions LDL et HDL ne varient pas.

Un effet hypercholestérolémiant de la farine de soja chauffée et supplémentée ou non par de l'alginate de sodium est observé par rapport à la caséine (Tableau 31) sauf avec le mélange chauffé farine de soja associée à 2 % d'alginate. Le cholestérol ne varie ni dans les VLDL, ni dans les LDL des différents groupes de rats. Le cholestérol des HDL varie dans le même sens que celui du plasma et augmente de façon significative dans les groupes nourris avec de la farine de soja chauffée et pour la farine de soja mélangée avec 0,5, 1, et 2 % d'alginate de sodium et chauffée.

#### I.6. Effets des régimes à base de carraghénate de sodium sur la triglycéridémie et la cholestérolémie des rats (Tableaux 32 et 33).

Il n'y a pas de différence significative des triglycérides plasmatiques entre les

**Tableau 30: Effets de l'alginate de sodium sur la triglycéridémie des rats (moyenne ± écart-type)**

Régimes	n	TG (1) Plasma (g/l)	TG VLDL (g/l)	TG LDL (g/l)	TG HDL (g/l)
Caséine	10	1,17 ± 0,43 a,c (2)	0,59 ± 0,24 a,b,c	0,23 ± 0,07	0,24 ± 0,15
FSC	10	1,19 ± 0,30 a,c	0,61 ± 0,30 a,c	0,32 ± 0,15	0,22 ± 0,09
FSC + 0,5 % ALG	10	1,21 ± 0,41 a,c	0,63 ± 0,35 a,c	0,27 ± 0,15	0,30 ± 0,17
FSC + 1 % ALG	10	0,72 ± 0,11 b	0,37 ± 0,10 b	0,20 ± 0,07	0,14 ± 0,10
FSC + 2 % ALG	10	0,91 ± 0,36 b,c	0,43 ± 0,15 a,b	0,19 ± 0,08	0,30 ± 0,29
FSC + 3 % ALG	9	1,36 ± 0,44 a	0,75 ± 0,25 c	0,36 ± 0,27	0,21 ± 0,22

(1).TG : triglycérides

(2): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 31: Effets de l'alginate de sodium sur la cholestérolémie des rats (moyenne ± écart-type)**

Régimes	n	CT (3) Plasma (g/l)	CT VLDL (g/l)	CT LDL (g/l)	CT HDL (g/l)
Caséine	7	0,48 ± 0,16 a (2)	0,07 ± 0,05	0,12 ± 0,06	0,26 ± 0,06 a
FSC	9	0,63 ± 0,13 b,c	0,07 ± 0,03	0,16 ± 0,04	0,32 ± 0,07 a,c
FSC + 0,5 % ALG	10	0,67 ± 0,16 b	0,10 ± 0,05	0,14 ± 0,04	0,38 ± 0,09 b,c
FSC + 1 % ALG	9	0,64 ± 0,13 b,d	0,07 ± 0,03	0,18 ± 0,07	0,44 ± 0,10 c
FSC + 2 % ALG	9	0,52 ± 0,17 a,c,d	0,07 ± 0,05	0,13 ± 0,06	0,35 ± 0,10 b
FSC + 3 % ALG	9	0,68 ± 0,14 b	0,10 ± 0,04	0,18 ± 0,08	0,32 ± 0,05 a,b

(3).CT: cholestérol

groupes de rats alimentés avec de la caséine ou avec de la farine de soja contenant ou non 0,5 % de carraghénate et chauffée (Tableau 32). En revanche, on observe un effet hypotriglycéridémiant significatif ( $p < 0,05$ ) du carraghénate quand il est présent dans la farine de soja aux taux de 1, 2 ou 3 % par rapport aux groupes précédents. Cet effet hypotriglycéridémiant est retrouvé dans toutes les fractions lipoprotéiques et semble en relation avec la dose de carraghénate utilisée. Il paraît cependant plus marqué pour les VLDL et les HDL.

L'analyse de variance montre qu'il n'existe pas d'effet global dû au régime sur la cholestérolémie (Tableau 33). L'augmentation de la cholestérolémie observée dans les groupes nourris avec de la farine de soja chauffée et la farine de soja contenant 0,5 % de carraghénate et chauffée est due à la farine de soja. Cet effet de la farine de soja est retrouvé au cours de l'étude du cholestérol des HDL.

## II.DISCUSSION

### II.1.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium sur le CEP de la farine de soja.

Le but de cette première partie expérimentale était d'observer l'effet de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur le CEP du mélange.

Les résultats obtenus montrent non seulement une diminution du CEP de la farine de soja chauffée par rapport à la caséine, mais également une altération du CEP de la farine de soja associée à 3 % de carraghénate de sodium alors que l'addition de l'alginate de sodium n'a aucun effet sur cette farine.

Plusieurs auteurs ont observé une diminution du CEP traduisant une altération de la digestibilité chez les rats dont les régimes contenaient des hydrocolloïdes alimentaires. Ceci a été observé avec de nombreuses gommés végétales telles que la gomme guar, la pectine, la gomme karaya, l'agarose, l'alginate, le carraghénate, etc..., mais, ces effets gênants n'apparaissent que lorsque celles-ci sont présentes à des doses supérieures ou égales à 5 % dans les régimes (HAWKINS et YAPHE,

**Tableau 32: Effets du carraghénate de sodium sur la triglycéridémie des rats (moyenne ± écart-type)**

Régimes	n	TG (1) Plasma (g/l)	TG VLDL (g/l)	TG LDL (g/l)	TG HDL (g/l)
Caséine	10	1,17 ± 0,43 a (2)	0,59 ± 0,24 a	0,23 ± 0,07 a,b	0,24 ± 0,15 a
FSC	10	1,19 ± 0,30 a	0,61 ± 0,30 a,b	0,32 ± 0,15 a	0,22 ± 0,09 a,b
FSC + 0,5 % CAR	9	1,16 ± 0,032 a	0,81 ± 0,17 b	0,21 ± 0,07 a,b	0,23 ± 0,13 a,b
FSC + 1 % CAR	8	0,80 ± 0,31 b	0,42 ± 0,16 a,c	0,23 ± 0,20 a,b	0,11 ± 0,07 c
FSC + 2 % CAR	10	0,60 ± 0,16 b	0,34 ± 0,12 c	0,15 ± 0,08 b	0,07 ± 0,07 c
FSC + 3 % CAR	10	0,63 ± 0,25 b	0,36 ± 0,21 c	0,14 ± 0,08 b	0,13 ± 0,12 b,c

(1).TG : triglycérides

(2): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 33: Effets du carraghénate de sodium sur la cholestérolémie des rats (moyenne ± écart-type)**

Régimes	n	CT (3) Plasma (g/l)	CT VLDL (g/l)	CT LDL (g/l)	CT HDL (g/l)
Caséine	7	0,48 ± 0,16	0,07 ± 0,05	0,12 ± 0,06	0,26 ± 0,06 a (2)
FSC	9	0,63 ± 0,13	0,07 ± 0,03	0,16 ± 0,04	0,32 ± 0,07 a
FSC + 0,5 % CAR	8	0,63 ± 0,16	0,10 ± 0,03	0,18 ± 0,07	0,37 ± 0,09 b
FSC + 1 % CAR	9	0,59 ± 0,15	0,07 ± 0,04	0,14 ± 0,05	0,35 ± 0,04 b
FSC + 2 % CAR	10	0,60 ± 0,15	0,09 ± 0,04	0,15 ± 0,07	0,33 ± 0,08 b
FSC + 3 % CAR	10	0,58 ± 0,11	0,09 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,38 ± 0,05 b

(3).CT: cholestérol

1965; STANCIOFF et RENN, 1975; HARMUTH-HOENE et SCHWERDTFEGER, 1979; SHIAU et al., 1989).

Dans le cas de cette expérimentation, la diminution du CEP ne peut être liée à une baisse de la prise alimentaire puisque dans le cas des régimes contenant de l'alginate de sodium, la consommation protéique journalière des animaux ne diffère pas de celle des rats nourris avec de la caséine, alors qu'une augmentation significative de la consommation des animaux ingérant le carraghénate de sodium est observée. Ce résultat diffère de ceux de nombreux auteurs qui ont montré un effet rassasiant des carraghénates et d'autres fibres solubles (WILMURST et CRAWLEY, 1980; ADRIAN; 1976; STEVENS et al., 1987).

En effet, les polysaccharides indigestibles sont supposés causer un effet rassasiant et pourraient de ce fait réduire la prise alimentaire. Pour cela, ils sont inclus dans les régimes de prévention et les thérapies contre l'obésité (WILMURST et CRAWLEY, 1980; STEVENS et al., 1987).

L'effet rassasiant pourrait être expliqué par le ralentissement de la vidange gastrique qui a été plusieurs fois observé en présence de ces polysaccharides indigestibles (HOLT et al., 1979; HARMUTH-HOENE et SCHWERDTEFEGER, 1979; TORSDOTTIR et al., 1991).

Plusieurs hypothèses tentent d'expliquer la diminution du CEP observée en présence d'hydrocolloïdes. Bien que ces derniers ne soient pas dégradés par les enzymes du tube digestif, ils ne le traversent pas sans modifier le fonctionnement et les mécanismes de digestion. Ces modifications entraînent une diminution de l'utilisation de la ration et une diminution du développement des animaux et pourraient s'expliquer par la nature et les propriétés de ces hydrocolloïdes.

Les hydrocolloïdes végétaux, par leur capacité de rétention de l'eau provoquent un rejet accru de l'eau dans les fèces, entraînant également l'azote des acides aminés libres et des oligopeptides solubles. Ceci a été observé avec le mucilage de baobab (ARNAL-PEYROT et ADRIAN, 1977) et avec la gomme guar, la gomme karaya et le carraghénate (ELSENHANS, 1981). La perte fécale de l'azote est d'autant plus importante que l'hydrocolloïde présent dans le régime est retrouvé intact dans les fèces, donc non dégradé par la microflore bactérienne du tube digestif, c'est

synthétique tel que l'hydroxyméthylcellulose (CHERBUT, 1990; REPPAS et al., 1991, TORSDOTTIR et al., 1991). Il a été démontré une diminution de la glycémie et de l'insulinémie post-prandiale chez les animaux et les hommes diabétiques ayant ingéré des régimes contenant de l'alginate de sodium, de la gomme guar ou des pectines (JENKINS et al., 1976; JENKINS et al., 1978; TORSDOTTIR et al., 1991).

D'autres auteurs ont montré que l'augmentation de la viscosité induite par la présence de fibres visqueuses a pour conséquence l'épaississement de la couche de mucus qui tapisse la paroi intestinale et peut altérer l'absorption des nutriments (HOLZEIMER et WINNE, 1986; FUSE et al., 1989). Ainsi, la diminution du temps d'apparition du pic de la glycémie post prandiale a été plusieurs fois démontrée et expliquée non seulement par le ralentissement de la vidange gastrique, mais également par ce phénomène d'épaississement de la couche de mucus (HOLZEIMER et WINNE, 1986; FUSE et al., 1989; TORSDOTTIR et al., 1991).

Le glucose n'est pas le seul nutriment affecté puisque ELSENHANS et al. (1980) et CASPARY et al., (1980) ont montré que des gommages telles que la gomme tragacante, la caroube, la gomme guar et le carraghénate à différentes concentrations diminuent non seulement l'absorption du glucose, mais aussi celle d'acides aminés libres tels que la leucine et la phénylalanine par les cellules intestinales isolées de rats, la modification de l'absorption étant fonction de la concentration de la gomme et de l'épaississement de la couche de mucus.

La différence de résultats observée entre l'alginate et le carraghénate de sodium est attribuable à leur nature chimique et à leurs propriétés physico-chimiques différentes. Les carraghénates forment des liaisons avec les protéines quel que soit le pH, ce qui n'est pas le cas des alginates dont les interactions avec les protéines ne se font que par l'intermédiaire du calcium et à pH neutre. Cette différence explique peut-être le résultat obtenu aux taux d'alginate de sodium utilisés dans notre expérimentation. Ainsi, la diminution du CEP obtenue avec 2 % d'alginate de sodium dans le lait de soja en présence de chlorure de calcium et à pH 7 serait due aux interactions des protéines du lait de soja et de l'alginate de sodium par l'intermédiaire du calcium (BAU et DEBRY, 1980). En revanche, la diminution du CEP observée avec 5 % de cet hydrocolloïde dans un régime à base de caséine pourrait être due à la forte viscosité du régime induite par sa présence (ASSOUMANI et ADRIAN, 1976).

Le fait que l'effet du carraghénate de sodium soit significatif à partir d'un taux de 3 % dans la farine de soja (soit 0,6% dans le régime) alors qu'il n'avait été observé jusqu'alors qu'avec des taux d'au moins 5 % dans les régimes, pourrait être dû à ce que la plupart des travaux ont utilisé la caséine comme source de protéines. Il est aussi possible que le fait de se placer dans des conditions expérimentales proches de celles de la fabrication des produits alimentaires, notamment par le chauffage du mélange protéines-hydrocolloïdes explique nos résultats, alors que dans les travaux antérieurs, seul un mélange à froid était réalisé.

## II.2.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur l'évolution pondérale des rats.

Les animaux nourris après le sevrage avec de la farine de soja ont présenté par la suite une évolution pondérale différente selon que leur régime initial contenait de l'alginate ou du carraghénate de sodium. Alors que les lots de rats ayant reçu de l'alginate montraient une évolution pondérale normale et identique à celle des rats nourris avec de la caséine lorsqu'on les réalimentait avec un régime standard, un retard de croissance était remarqué avec les animaux dont la farine de soja était supplémentée de 1, 2 ou 3 % de carraghénate de sodium. La croissance diminuée de ces animaux serait due à l'association du carraghénate et de la farine de soja, le tout étant chauffé.

La présence du carraghénate de sodium dans le régime provoque une modification de l'absorption dont les mécanismes ont été évoqués précédemment, notamment, une diminution de la digestibilité protéique. A cela s'ajoute le fait que les protéines de soja sont légèrement déficientes en méthionine. Comme le taux de protéines est faible (10 %) dans l'étude du CEP, et comme le taux de méthionine des protéines de soja est faible (1,5 g / 16 g d'azote) comparé à celui de la caséine (2,5 g / 16 g d'azote), et enfin, comme le rat est un animal nécessitant plus de méthionine pour son développement que l'homme, la quantité de méthionine est juste suffisante dans le cas de la farine de soja chauffée. Si une partie est rendue indisponible par la présence du carraghénate de sodium, alors que la quantité de méthionine disponible pour l'anabolisme pourrait être insuffisante, ceci pourrait engendrer une malnutrition protéique par déficience en cet acide aminé essentiel.

Il est bien connu que les animaux ayant subi une malnutrition protéique précoce ou nés de mères carencées pendant la gestation ont un retard de croissance qui n'est plus jamais rattrapé malgré le retour à une alimentation équilibrée. Cet effet est d'autant plus marqué que le temps de privation est long (DICKERSON et al., 1972; NOLEN, 1972; HARRIS, 1980; OKASAKI et al., 1981; TULP et NORTON, 1981; BECK et al., 1983; WARREN et BEDI, 1985). Le fait de nourrir les rats dès leur sevrage avec un régime comportant peu de méthionine et dont la disponibilité protéique est réduite par la présence de carraghénate pourrait expliquer une partie de nos résultats.

### II.3.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur les lipides plasmatiques du rat.

L'addition de l'alginate de sodium n'entraîne pas de variation du cholestérol et des triglycérides plasmatiques des rats. Toutefois, un effet hypotriglycéridémiant est observé avec 1 % d'alginate de sodium additionné à la farine de soja alors qu'aucun effet significatif n'a été noté pour les autres doses employées. Ce résultat est difficile à expliquer. Etant isolé dans une série étudiant différentes doses, il pourrait être faussement significatif.

Nos résultats montrent un effet hypotriglycéridémiant propre au carraghénate et obtenu dès l'addition de 1 % de carraghénate de sodium dans la farine de soja ( 0,42 % dans le régime). Cette diminution semble proportionnelle à la dose ajoutée. Les taux utilisés ici sont très faibles par rapport à ceux généralement connus comme présentant un effet hypotriglycéridémiant. Nous n'avons pas retrouvé l'activité hypocholestérolémiant des carraghénates observée par FARENBACH et al., (1966) chez le poulet avec des doses de 1 à 3 % de carraghénate dans les régimes, et par ERSHOFF et WELLS (1962) chez les rats ingérant un régime supplémenté avec 1 % de cholestérol et contenant 10 % de carraghénate. Cet effet hypocholestérolémiant a été observé de nombreuses fois avec les fibres alimentaires solubles.

Seules les fibres solubles ont cette propriété alors que les fibres insolubles ont tendance à augmenter le taux de cholestérol. C'est ainsi que les fibres solubles telles que la pectine, la gomme guar, la gomme xanthane diminuent le taux de lipides sanguins alors que les fibres insolubles telles que la cellulose et la lignine n'ont pas d'effet ou ont tendance à l'augmenter (HILLMAN et al., 1985; SHINNICK et al., 1988).

L'effet bénéfique des fibres solubles a été démontré aussi bien chez l'homme sain ou hypercholestérolémique (BELL et al., 1990; SPILLER et al., 1991; ANDERSON et al., 1991), que chez l'animal (FERNANDEZ et al., 1990; NISHINA et al., 1991) et ce, que les régimes aient été ou non supplémentés en cholestérol. Dans les deux cas, la diminution du cholestérol total s'accompagne d'une baisse importante du cholestérol des LDL.

Les effets hypolipémiants des fibres solubles seraient dus à leurs propriétés physico-chimiques. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la diminution des triglycérides et du cholestérol sanguins observée en présence de ces fibres solubles.

Les fibres agiraient en adsorbant les sels biliaires au niveau intestinal, inhibant la réabsorption intestinale par la circulation entéro-hépatique, réduisant ainsi les possibilités d'absorption intestinale de tous les constituants lipophiles utilisant les sels biliaires comme vecteur (FISCHER et al., 1964). Le taux de lipides sanguins se trouverait ainsi diminué.

FERNANDEZ et al. (1990) ont montré que la pectine réduisait le cholestérol plasmatique selon le même mécanisme que la cholestyramine, un agent hypocholestérolémiant qui agit en précipitant les acides biliaires dans la lumière intestinale en se liant à ces derniers.

Les fibres solubles pourraient aussi se lier aux produits de la digestion des lipides tels que les acides gras et les monoglycérides, et réduiraient ainsi leur absorption (VAHOUNY et al., 1980). "In vitro", il a été prouvé que la pectine pouvait lier jusqu'à quatre fois son poids en lipides (FALK et NAGYVARY, 1982), et qu'il existait une interaction électrostatique entre la pectine et le LDL cholestérol (BAIG et CERDA, 1982).

La viscosité induite par les fibres jouerait un rôle important. Il a été prouvé que dans le cas de l'avoine, seule la fraction contenant le  $\beta$ -glucan qui est l'élément visqueux, produit un effet hypolipidémiant (KESTIN et al., 1990). L'augmentation de l'épaisseur de la couche de mucus au niveau intestinal souvent décrite et qui réduit l'absorption du glucose et des acides aminés libres, pourrait aussi réduire

l'absorption de la micelle lipidique et du cholestérol. EBIHARA et SCHNEEMAN (1989) ont retrouvé au niveau de la paroi intestinale de rat ayant ingéré de la konjac mannane, de la gomme guar et du chitosane, une quantité importante de  $^3\text{H}$ -cholestérol et  $^{14}\text{C}$ -trioléïne. L'altération du taux d'absorption des acides gras, mais aussi du glucose pourrait expliquer l'hypotriglycéridémie due aux fibres solubles (MAZUR, 1991).

Une autre hypothèse explique l'effet hypocholestérolémiant par la formation d'acides gras volatils (acétate, propionate, butyrate) produits par la microflore intestinale. Ceux-ci sont absorbés au niveau du côlon. Ces produits sont connus pour inhiber la synthèse du cholestérol hépatique (TOPPING, 1991).

Le propionate provoque une hypocholestérolémie chez le rat et le porc, alors qu'il n'a aucune action chez le babouin (ILLMAN et al., 1988; BOILA et al., 1988; VENTER et al., 1990).

Cette hypothèse est assez controversée. Quoique le propionate inhibe la synthèse du cholestérol hépatique, les concentrations nécessaires pour cette inhibition sont beaucoup plus élevées que celles trouvées "in vivo" (ILLMAN et al., 1988). D'autre part, l'augmentation de l'excrétion des sels biliaires observée avec les fibres hypocholestérolémiantes s'accompagne de la synthèse du cholestérol hépatique (ILLMAN et TOPPING, 1988).

En plus, des gommages comme le carraghénate et la gomme xanthane qui ne sont pas dégradées par la microflore intestinale (n'augmentent donc pas la production d'acides gras volatils) ont un effet hypocholestérolémiant et augmentent l'excrétion biliaire (ELSENHANS et al., 1981; IKEGAMI et al., 1990).

L'augmentation de l'excrétion biliaire ne suffit pas toujours à expliquer l'hypolipémie puisque la cellulose qui ne se lie pas aux sels biliaires et ne diminue pas les lipides plasmatiques provoque une augmentation de l'excrétion des sels biliaires (FASEB, 1987).

L'effet hypocholestérolémiant généralement observé avec les protéines végétales, et particulièrement avec les protéines de soja par rapport à la caséine n'est pas observé ici. Au contraire, un effet hypercholestérolémiant relatif de la farine de

soja par rapport à la caséine a été remarqué. Des travaux réalisés sur le porc ont montré l'influence de l'état nutritionnel sur les concentrations sanguines de cholestérol et de triglycérides en fonction du type de protéines ingérées (BEYNEN et al., 1990). Dans le cas présent, nos rats sont à jeun depuis la veille à 17 h. Les conditions expérimentales de l'étude de l'effet de la nature des protéines sont très variables (souche des animaux, durée des expérimentations, état nutritionnel des animaux). Elles pourraient fournir une explication à l'absence d'hypocholestérolémie observée dans ce travail après ingestion de soja. Des résultats récents obtenus dans notre laboratoire montrent l'importance de la durée du jeûne préalable au prélèvement sur les taux des paramètres lipidiques. A partir de 8 h de jeûne, l'effet hypocholestérolémiant s'amenuise en même temps que la durée de jeûne augmente, pour disparaître après 24h (GUERMANI et al., 1992).

### III.CONCLUSION

La présence de faibles taux de carraghénate de sodium associé à la farine de soja pourrait provoquer une altération de la digestibilité protéique se traduisant par une altération du CEP et par un retard de croissance des animaux qui n'est plus compensé par le retour à un régime équilibré, alors que la présence des mêmes taux d'alginate de sodium n'a aucun effet sur ces paramètres.

Nous avons obtenu un effet hypotriglycéridémiant du carraghénate, sans variation de la cholestérolémie.

Les effets observés avec les faibles quantités de carraghénate de sodium seraient dus non seulement aux propriétés physico-chimiques de cet hydrocolloïde, mais aussi au chauffage du mélange farine de soja-carraghénate de sodium.

**Chapitre 3 :**  
**EFFETS DE LA SUPPLEMENTATION EN METHIONINE DES REGIMES A  
BASE DE FARINE DE SOJA OU DE CASEINE ASSOCIEES AU  
CARRAGHENATE DE SODIUM SUR LE CEP ET L'EVOLUTION  
PONDERALE DES RATS. EFFET DE LA REALIMENTATION SUR LES  
LIPIDES PLASMATIQUES.**

I.RESULTATS

I.1.Effets de l'addition du carraghénate de sodium et de la DL-méthionine dans les régimes à base de caséine sur la consommation, le gain de poids et le CEP (Tableau 34).

Aucune différence significative n'est obtenue entre les consommations protéiques et entre les gains de poids des rats nourris avec le régime CAS CH ou avec le régime CAS CH + CAR. Une diminution significative du CEP est observée avec le mélange CAS + CAR par rapport à la caséine chauffée.

L'addition de DL-méthionine au mélange CAS CH + CAR a entraîné une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la consommation protéique, du gain de poids et du CEP.

I.2.Effets de l'addition du carraghénate de sodium et de la DL-méthionine dans les régimes à base de farine de soja sur la consommation, le gain de poids et le CEP (Tableau 35).

Une augmentation significative de la consommation alimentaire des rats nourris avec le mélange FSC + CAR + MET est observée par rapport aux lots nourris avec le régime FSC. L'addition de cet acide aminé provoque une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du gain de poids par rapport aux régimes dont il est absent. L'addition du carraghénate de sodium à la farine de soja diminue significativement le CEP de cette dernière. La supplémentation en méthionine entraîne l'augmentation significative du CEP par rapport aux deux autres régimes.

**Tableau 34: Ingéré protidique, gain de poids et CEP des rats nourris avec de la caséine.**

Régimes	Ingéré protidique (g/j)	Gain de poids (g/j)	CEP
CAS CH (1)	1,49 ± 0,17 a (3)	5,31 ± 0,72 a	2,50 ± 0,19 a
CAS CH + 3 % CAR	1,52 ± 0,13 a,b	5,13 ± 0,66 a	2,37 ± 0,27 b
CAS CH + 3 % CAR + MET (2)	1,61 ± 0,10 b	6,29 ± 0,46 b	2,75 ± 0,15 c

n=12 rats pour chaque régime

(1).CAS CH : caséine chauffée

(2).MET : méthionine

(3): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 35: Ingéré protidique, gain de poids et CEP des rats nourris avec de la farine de soja**

Régimes	Ingéré protidique (g/j)	Gain de poids (g/j)	CEP
FSC	1,53 ± 0,18 a (3)	4,24 ± 0,55 a	1,94 ± 0,13 a
FSC + MET	1,63 ± 0,11 a,b	5,42 ± 0,79 b	2,33 ± 0,17 c
FSC + 3 % CAR	1,59 ± 0,12 a,b	3,91 ± 0,62 a	1,73 ± 0,37 b
FSC + 3 % CAR + MET	1,68 ± 0,16 b	5,29 ± 0,65 b	2,21 ± 0,17 c

n=12 rats pour chaque régime

### I.3. Evolution de la consommation des rats (Figures 17 et 18).

Pour les régimes à base de caséine et à base de soja, durant la première période expérimentale, la consommation quotidienne des animaux augmente régulièrement de la 1<sup>ère</sup> à la 4<sup>ème</sup> semaine. La réalimentation des animaux avec le régime standard provoque une brusque augmentation de l'ingéré protidique pendant les deux premières semaines de cette seconde phase expérimentale (S5 et S6). Après une baisse de la consommation observée à la 3<sup>ème</sup> semaine de la seconde période (S7), celle-ci réaugmente (S8) puis reste stable jusqu'à la fin de l'expérimentation.

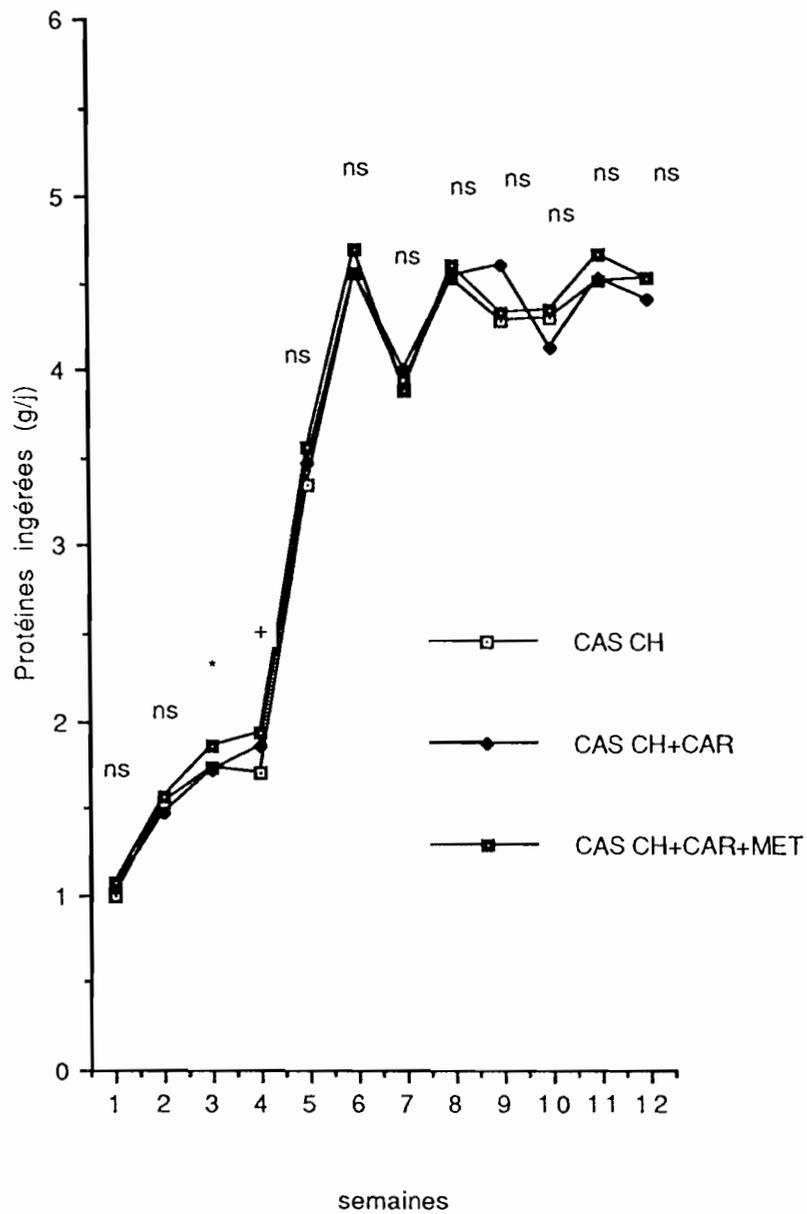
Pendant la seconde phase expérimentale, aucune différence significative de la consommation n'est observée entre les lots de rats dont le régime comporte de la caséine au cours de la première phase (Figure 17). Le lot nourri au préalable avec le mélange FSC + CAR + MET maintient une consommation journalière significativement plus importante que celle des autres lots nourris initialement avec du soja (Figure 18).

### I.4. Evolution pondérale des animaux (Figures 19 et 20)

Dans le groupe des rats nourris avec de la caséine, dès la 2<sup>ème</sup> semaine expérimentale (S1), les animaux dont le régime est supplémenté avec de la DL-méthionine et du carraghénate présentent une augmentation de poids significative par rapport aux rats nourris avec de la CAS CH ou avec de la CAS CH + CAR. Cette différence de poids persiste au cours de la seconde période expérimentale jusqu'à la 3<sup>ème</sup> semaine (S7) de cette période. Au cours des 4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> semaine (S8, S9, S10) de régime standard, le poids des rats nourris avec le régime supplémenté en carraghénate de sodium et en DL-méthionine augmente significativement par rapport à celui des rats nourris avec le régime contenant seulement du carraghénate. A la fin de l'expérimentation, ces différences ne sont plus significatives (Figure 19).

Les animaux du lot nourri avec le régime FSC + CAR + MET présentent un gain de poids significativement supérieur à celui des deux autres lots dès la 3<sup>ème</sup>

Figure 17: Consommation protéique des rats nourris avec de la caséine.



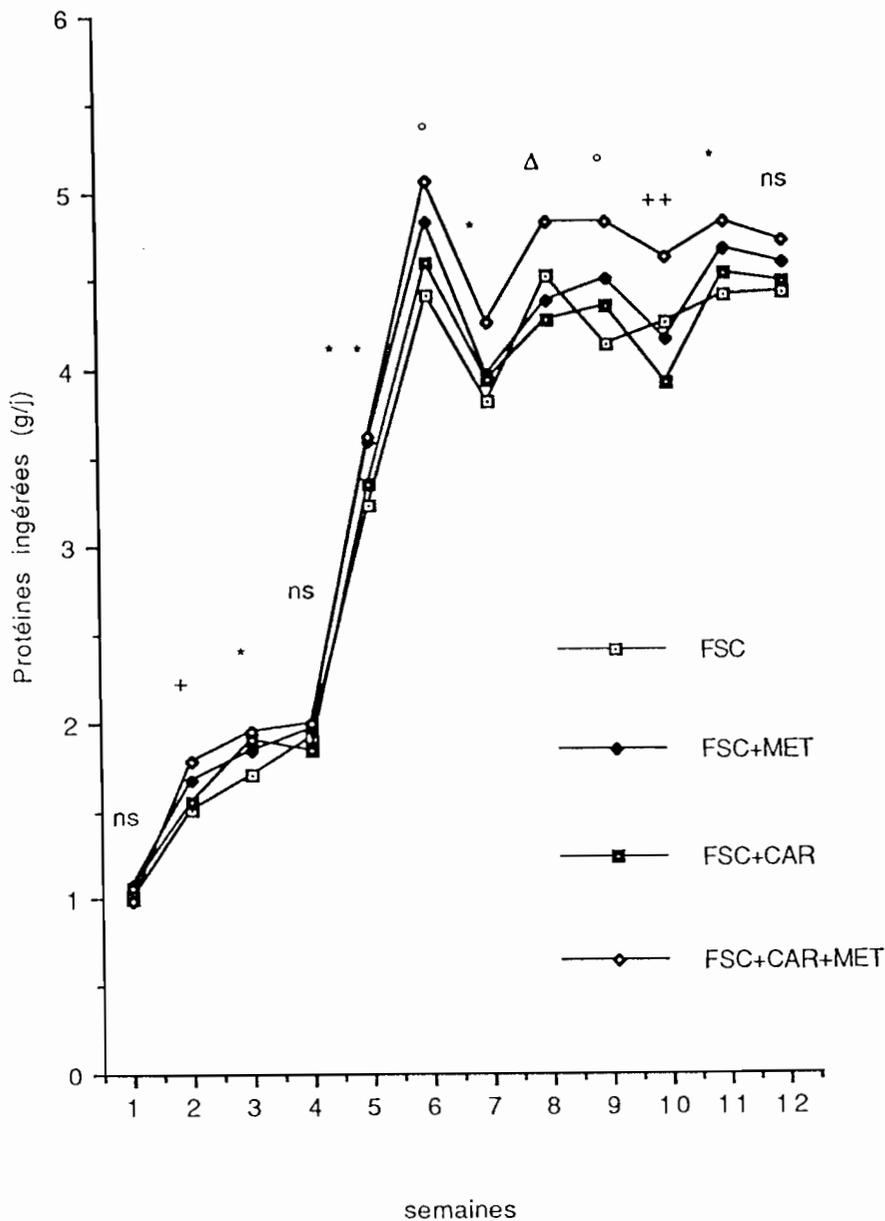
ns : non significatif

\* : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot CAS CH+CAR et le lot CAS+CAR+ MET

+ : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot CAS CH et les deux autres lots

n= 12 rats pour chaque régime

Figure 18: Consommation protéique des rats nourris avec de la farine de soja



ns : non significatif

+ : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC+CAR+MET et le lot FSC et le lot FSC CH+CAR

\* : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC+CAR+MET et le lot FSC

\*\* : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC et les lots FSC+MET et FSC+CAR+MET

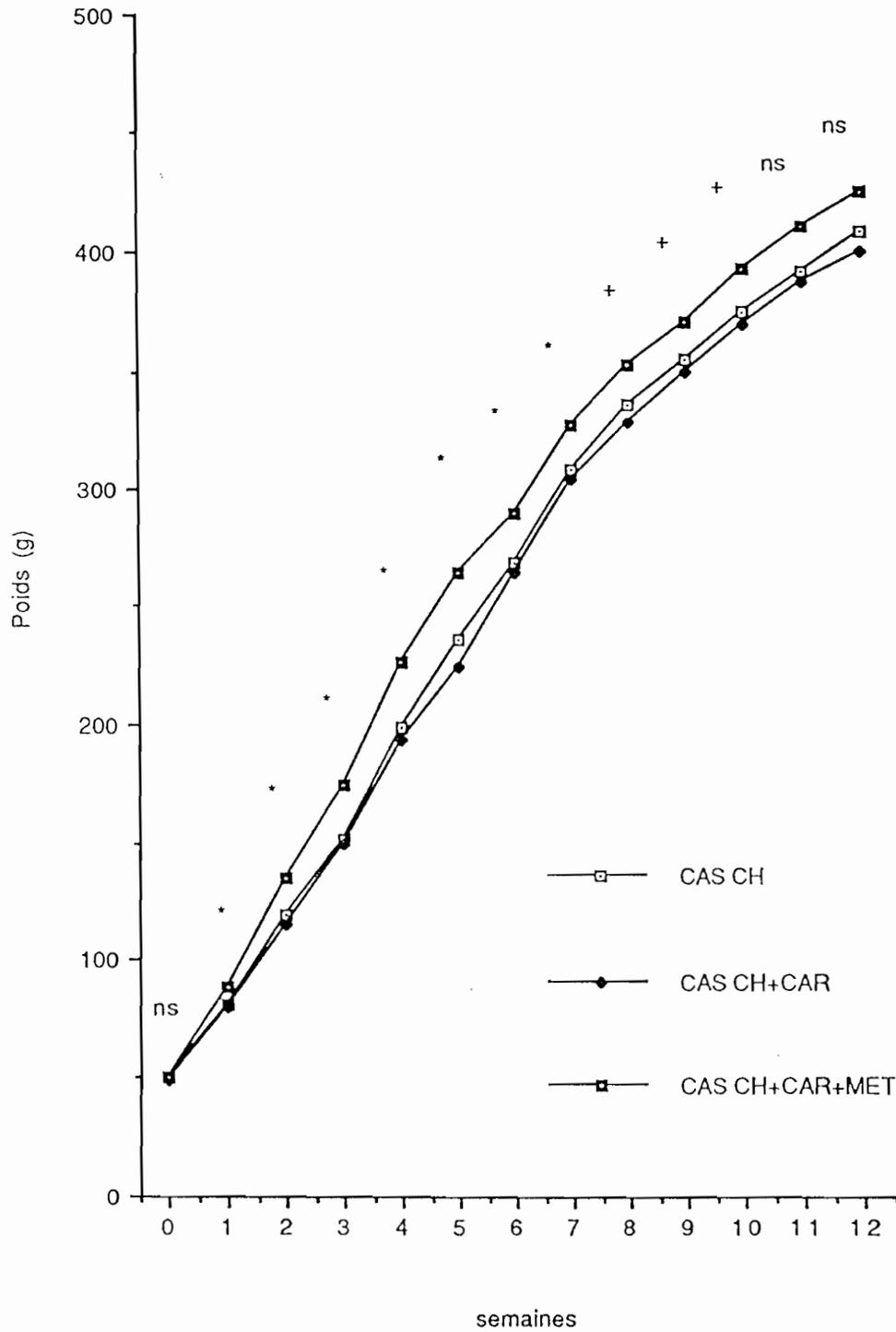
° : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC et les lots FSC+MET FSC+CAR+MET, et entre les lots FSC+CAR et FSC+CAR+MET

Δ : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC+CAR+MET et les trois autres lots

++ : Significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot HSM+CAR+MET et les trois autres lots, et entre le lot FSC et FSC+CAR

n = 12 rats pour chaque régime

Figure 19: Evolution pondérale des rats nourris avec de la caséine



ns : non significatif

\* : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot CAS+CAR+MET et les autres lots

+ : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot CAS+CAR+MET et le lot CAS+CAR

n= 12 rats pour chaque régime

**Tableau 36: Cholestérolémie et triglycéridémie des rats nourris avec de la caséine puis avec un régime standard**

Régimes	Cholestérol (g/l)	Triglycérides (g/l)
CAS CH	0,58± 0,10 a	1,47 ± 0,28 a
CAS CH +3 % CAR	0,55 ± 0,12 a	1,13 ± 0,40 b
CAS CH + 3 % CAR + MET	0,57 ± 0,10 a	1,14 ± 0,31 b

n=12 rats pour chaque régime

(1): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 37: Cholestérolémie et triglycéridémie des rats nourris avec de la farine de soja puis avec un régime standard**

Régimes	Cholestérol (g/l)	Triglycérides (g/l)
FSC	0,60 ± 0,11 a (1)	1,09 ± 0,32 a
FSC + MET	0,58 ± 0,15 a	1,21 ± 0,28 a
FSC +3 % CAR	0,54 ± 0,08 a	1,02 ± 0,21 a
FSC + 3 % CAR + MET	0,58 ± 0,10 a	1,03 ± 0,36 a

n=12 rats pour chaque régime

semaine (S2). Cette différence de poids est maintenue pendant la première phase expérimentale et se poursuit jusqu'à la 3<sup>ème</sup> semaine de la seconde phase expérimentale (S7). A partir de la 4<sup>ème</sup> semaine (S8) de cette seconde période et jusqu'à la fin, une différence de poids significative est observée entre les rats initialement nourris avec régime FSC + CAR + MET et ceux nourris initialement avec FSC + CAR. Une différence de poids non significative est apparue dès la 1<sup>ère</sup> semaine de réalimentation avec le régime standard entre les animaux du lot FSC et ceux du lot FSC + CAR, celle-ci persiste jusqu'à la fin de l'étude (Figure 20).

#### I.5. Cholestérol et triglycérides plasmatiques des animaux (Tableaux 36 et 37).

A la fin de l'expérimentation, la cholestérolémie des animaux n'est pas différente quel que soit le lot auquel ils appartiennent.

Les triglycéridémies ne sont pas différentes entre les lots de rats précédemment nourris avec les régimes FSC, FSC + CAR ou FSC + CAR + MET. En revanche, une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la triglycéridémie est observée chez les rats dont les régimes contenaient pendant la première période de la CAS CH + CAR, par rapport aux rats nourris initialement avec de la caséine chauffée.

## II. DISCUSSION

### II. 1. Effets de la supplémentation en méthionine de la farine de soja ou de la caséine associées au carraghénate de sodium sur le CEP et sur l'évolution pondérale des rats.

Nos résultats montrent que le CEP du mélange FSC + CAR est significativement inférieur à celui des autres régimes à base de farine de soja. De même, l'addition de la DL-méthionine à un faible taux améliore le CEP de la farine de soja et de la farine de soja contenant le carraghénate de sodium. Ces résultats confirment ceux obtenus lors de l'expérience précédente où nous avons montré que le mélange FSC + CAR provoquait une diminution significative du CEP.

L'addition de 3 % de carraghénate de sodium à la caséine (soit 0,35 % dans le régime) provoque une diminution légère mais significative du CEP, alors qu'habituellement, l'altération du CEP de la caséine est produite avec des doses de carraghénate plus élevées (environ 5 à 10 %) (HARMUTH-HOENE et SCHWERDTFEGER, 1979; RHEE et al., 1981).

L'altération du CEP de la farine de soja ou de la caséine associées au carraghénate de sodium sans diminution de la prise alimentaire est la preuve d'une diminution de la digestibilité protéique.

En effet, les carraghénates, grâce aux charges négatives de leurs groupements sulfates se lient aux protéines, particulièrement à celles sensibles au calcium telles que les protéines de soja et de caséine (CHAKKRABORTY et RANDOLPH, 1972; TOWLE, 1973). La diminution de la disponibilité protéique qui peut être également due aux différents mécanismes précédemment cités dans le deuxième chapitre (inhibition enzymatique, augmentation de l'excrétion azotée, augmentation de la viscosité) provoque une diminution de l'absorption de la méthionine déjà limitante dans le soja.

La supplémentation en méthionine des régimes à base de farine de soja ou de caséine associées au carraghénate de sodium augmente leur CEP, ce qui accrédite notre hypothèse.

Des auteurs ont aussi expliqué la diminution du CEP des régimes par la dilution de l'énergie dans la mesure où l'addition des hydrocolloïdes se fait aux dépens de l'amidon (ELSENHANS et al., 1981), en général à des taux supérieurs ou égaux à 5 %. Ceci n'est pas le cas dans notre expérimentation car le carraghénate est ajouté à la source protéique qui sert à la préparation des régimes. De plus, nous avons vu dans les expériences précédentes que l'addition de carraghénate dans les régimes provoque une augmentation de la consommation des animaux, mais, le CEP est néanmoins altéré.

Paradoxalement, l'addition de méthionine au régime contenant ou non le carraghénate de sodium a pour conséquence une augmentation de la consommation des animaux. Ces résultats diffèrent de ceux de CHANDRASIRI et al. (1991) qui n'ont pas trouvé de variation de la consommation des rats avec des régimes supplémentés

en méthionine. On pourrait en effet s'attendre à ce que les rats mangent moins puisque le régime est mieux équilibré avec l'apport supplémentaire de méthionine et permet plus facilement de couvrir leurs besoins.

La croissance des animaux est également affectée par l'ingestion du carraghénate de sodium associé à la farine de soja. Lors de l'étude précédente, nous avons montré que les rats initialement nourris avec des mélanges FSC + CAR présentaient un retard de croissance qui n'était plus jamais compensé lorsqu'ils étaient réalimentés avec un régime standard. Dans le cas présent, le retard de croissance des animaux nourris avec le régime FSC + CAR qui tend à s'accroître à mesure que l'expérimentation se poursuit, n'est plus observé lorsque la méthionine est ajoutée au mélange farine de soja-carraghénate.

La consommation protéique journalière ne peut être mise en cause dans le cas de la farine de soja chauffée et de la farine de soja associée au carraghénate de sodium, car il n'y a pas de différence significative de la consommation dans les deux groupes au cours des deux périodes expérimentales. La consommation plus élevée des animaux nourris avec le régime FSC + CAR + MET n'explique pas la différence de poids observée entre ceux-ci et les deux autres lots cités précédemment, puisque les animaux ayant ingéré le régime FSC + MET ont une consommation moindre que celle des rats du lot FSC + CAR + MET, mais ont une évolution pondérale normale.

L'action des carraghénates sur la disponibilité des protéines, le faible taux de protéines (et par conséquent, le faible taux de méthionine) dans les régimes à base de soja dès le sevrage des animaux font en sorte que ces derniers présentent un retard de croissance qu'ils n'arrivent plus à compenser.

L'addition du carraghénate de sodium à la caséine provoque la diminution du CEP mais n'a pas d'effet par la suite sur l'évolution pondérale des animaux lorsqu'ils sont réalimentés avec le régime standard. Les acides aminés soufrés dont fait partie la méthionine sont limitants dans certaines protéines animales et les légumineuses telles que le soja. Néanmoins, ils sont en quantité plus importante dans la caséine que dans le soja. Ainsi, la présence de 0,35 % de carraghénate de sodium dans le régime à base de caséine est sans conséquence néfaste sur la croissance des animaux. Ces résultats sont comparables à ceux de TOMARELLI et al. (1974) qui, après avoir stérilisé du lait contenant 4 % de carraghénate n'avaient pas trouvé

d'altération de la croissance des rats.

DE WAARD et REYVEN (1990) ont montré que la renutrition des rats malnutris donne de meilleurs résultats lorsque celle-ci a lieu avec la caséine par rapport au soja. Ceci tient au fait que la méthionine, critique dans la caséine est quand même plus élevée que dans le soja où elle est déficiente pour le rat qui demande un régime plus riche en méthionine que l'homme.

### II.2.Effet de la réalimentation avec le régime standard sur les paramètres lipidiques.

Les fibres solubles dont font partie les gommes végétales ont une action hypolipémiant qui a été plusieurs fois démontrée. Les mécanismes pouvant expliquer cet effet sur les lipides sanguins ont été abordés dans l'expérimentation précédente.

Dans le cas de la présente expérimentation, après les deux phases successives, le cholestérol plasmatique ne présente aucune différence entre les différents groupes de rats. Cette absence d'effet montre que le carraghénate de sodium, à la dose utilisée au cours de la première période expérimentale n'a pas d'effet sur ce paramètre lipidique après 8 semaines de réalimentation par un régime standard. En revanche, une hypotriglycémie est observée chez les animaux dont le régime lors de la première période expérimentale contenait de la caséine associée au carraghénate de sodium supplémentée ou non de méthionine par rapport à celui contenant de la caséine seule, alors que l'addition du carraghénate de sodium est sans effet sur la triglycémie des lots de rats nourris initialement avec de la farine de soja. Il se pourrait que dans le cas de ces régimes, le taux de triglycides soit restauré par le régime standard. L'expérimentation précédente a montré que l'addition du carraghénate à la farine de soja provoquait une hypotriglycémie des animaux après que ceux-ci aient ingéré le régime pendant six semaines.

La prise alimentaire ne peut pas expliquer ces résultats, puisque dans le cas des régimes à base de caséine, il n'y a pas de différence dans la consommation journalière, alors que dans le cas des régimes à base de soja, la différence de consommation entre les lots de rats ne modifie pas leur triglycémie.

L'hypotriglycémie persistant après réalimentation avec un régime standard des rats nourris au préalable avec de la caséine supplémentée en carraghénate ne peut être expliquée dans l'état actuel de nos travaux.

### III. CONCLUSION

Les résultats de cette étude montrent indirectement une altération de la digestibilité protéique en présence de carraghénate de sodium se traduisant par une diminution du CEP de la caséine ou de la farine de soja. Alors que dans le cas de la caséine, les animaux ont une croissance normale, ceux nourris avec de la farine de soja contenant le carraghénate montrent un déficit pondéral. Ceci est dû au taux de méthionine faible dans la farine de soja. L'addition de méthionine aux régimes contenant déjà le carraghénate permet de compenser totalement l'effet de cet hydrocolloïde sur le CEP en augmentant à la fois la prise alimentaire et le gain de poids. On observe également un effet hypotriglycémiant qui varie avec la nature des protéines alimentaires.

## Chapitre 4 :

### EFFETS DE L'INCORPORATION DU CARRAGHENATE DE SODIUM DANS LES REGIMES A BASE DE CASEINE OU DE SOJA SUR LES LIPIDES PLASMATIQUES DU RAT ADULTE.

#### I.RESULTATS

##### I.1.Effets de l'incorporation du carraghénate de sodium dans les régimes sur les lipides plasmatiques des rats.

Il n'y a pas de variation du cholestérol plasmatique des animaux ayant ingéré le régime CAS CH + CAR par rapport à ceux dont le régime ne contient pas de carraghénane. Par contre une diminution significative des triglycérides plasmatiques est observée chez les animaux recevant le carraghénate de sodium par rapport à ceux dont le régime n'en contient pas, sans augmentation significative de la prise alimentaire (Tableau 38).

Dans le cas des rats nourris avec de la farine de soja, il n'y a pas de variation du cholestérol ni des triglycérides plasmatiques entre les animaux nourris avec le mélange FSC + CAR et ceux nourris avec le régime FSC (Tableau 39).

Un effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant significatif ( $p < 0,05$ ) de la farine de soja chauffée par rapport à la caséine est également observé (Figure 21).

#### II.DISCUSSION

L'effet hypolipidémiant du soja par rapport à la caséine abondamment décrit est retrouvé dans notre expérimentation. Cet effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant est obtenu avec un régime normolipidique (5 % de lipides et 20 % de protéines) et sans supplémentation en cholestérol, sur des rats adultes âgés de 11 semaines, et pesant 320 à 340 g au début de l'expérimentation. Dans les expérimentations rapportées dans les chapitres 2 et 3, cet effet n'était pas observé chez le rat. Ceci n'est pas étonnant dans le cas de l'expérimentation relatée dans le chapitre 3 puisque une période de réalimentation avec un régime standard durant 8 semaines avait lieu avant le sacrifice des animaux.

**Tableau 38: Effets du carraghénate de sodium associé à la caséine sur les lipides plasmatiques et la prise alimentaire**

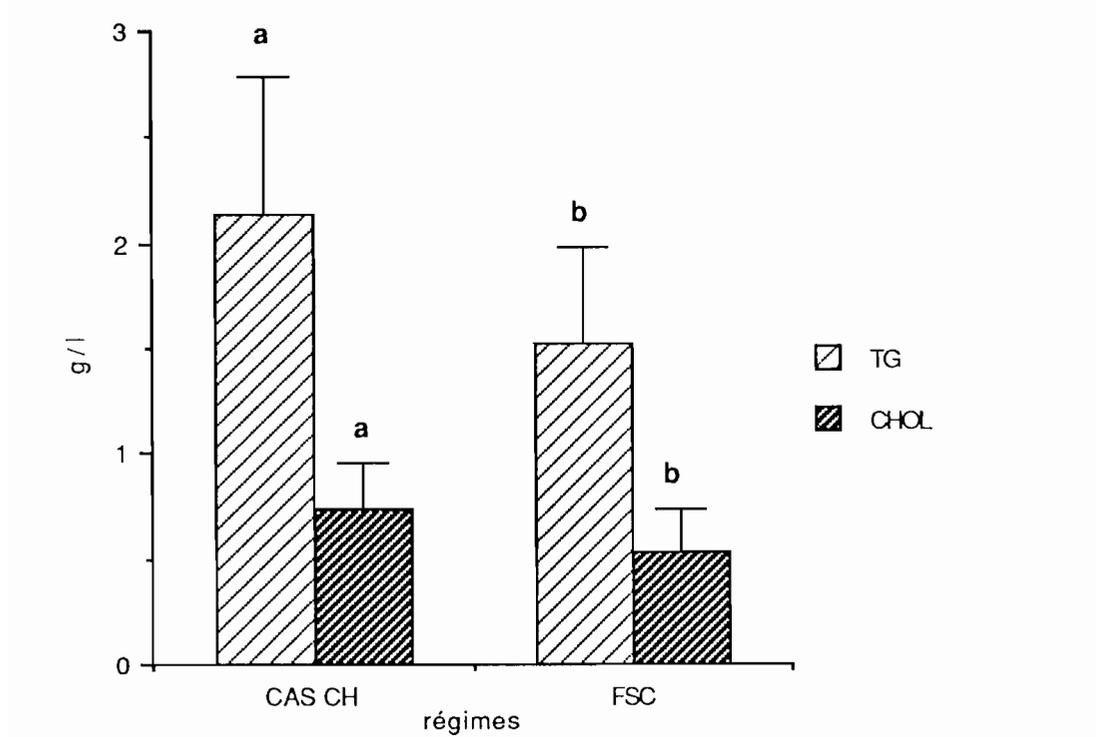
Régimes	Cholestérol (g/l)	Triglycérides (g/l)	Protéines ingérées (g/j)
CAS CH	0,74 ± 0,21 a	2,13 ± 0,66 a	5,02 ± 0,39 a
CAS CH + 3 % CAR	0,75 ± 0,19 a	1,62 ± 0,35 b	5,13 ± 0,35 a

(1): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune.

**Tableau 39: Effets du carraghénate de sodium associé à la farine de soja sur les lipides plasmatiques et la prise alimentaire**

Régimes	Cholestérol (g/l)	Triglycérides (g/l)	Protéines ingérées (g/j)
FSC	0,53 ± 0,16 a (1)	1,52 ± 0,46 a	5,02 ± 0,21 a
FSC + 3 % CAR	0,56 ± 0,12 a	1,64 ± 0,54 a	5,22 ± 0,19 a

**Figure 21: Cholestérol et triglycérides plasmatiques des rats nourris avec de la caséine ou de la farine de soja.**



**Tableau 40: Cholestérolémie (moyenne ± écart-type en g/l)  
après la première et la troisième expérimentation**

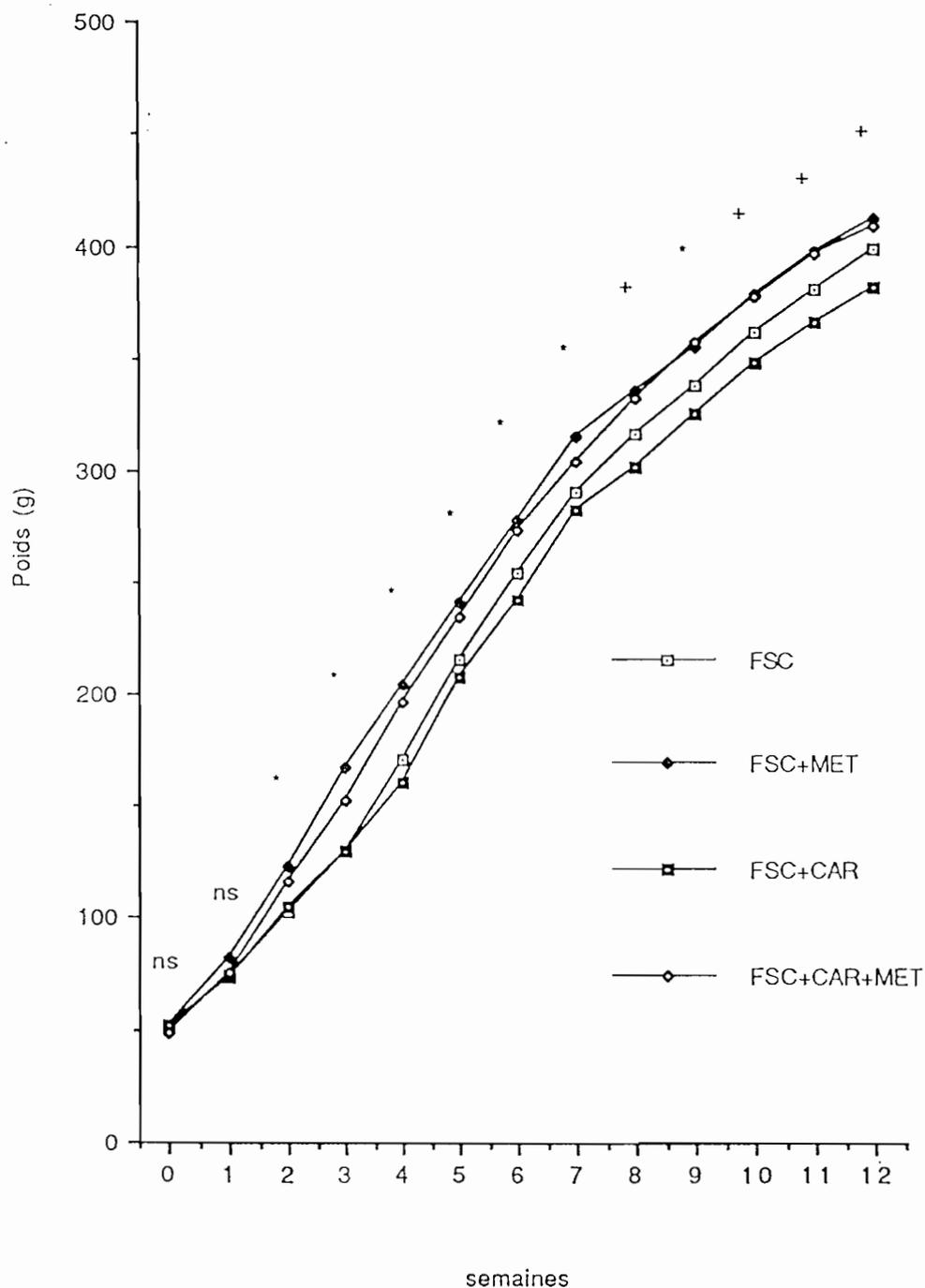
Régimes	1ère expérimentation	3ème expérimentation
Caséine	0,48 ± 0,16 a (1)	0,74 ± 0,21 b
FSC	0,63 ± 0,13 b	0,53 ± 0,16 a

(1): Deux valeurs sont significativement différentes au seuil de 5 % quand aucune lettre n'est commune

**Tableau 41: Effet du chauffage de la caséine sur  
les paramètres lipidiques**

Régimes	Cholestérolémie (g/l)	Triglycéridémie (g/l)
Caséine	0,63 ± 0,20 a (1)	1,59 ± 0,83 a
CAS CH	0,74 ± 0,21 a	2,13 ± 0,66 a

Figure 20: Evolution pondérale des rats nourris avec de la farine de soja



ns : non significatif

\* : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC+CAR+MET et les trois autres lots

+ : significatif entre le lot FSC+MET et les lots FSC, FSC+CAR, et entre le lot FSC+CAR+MET et les lots FSC et FSC+CAR

° : significatif ( $p < 0,05$ ) between FSC+MET et les lots FSC, FSC+CAR; et entre les lots FSC+CAR et FSC+CAR+MET

Δ : significatif ( $p < 0,05$ ) entre le lot FSC+CAR+MET et les lots FSC, FSC+CAR, et entre les lots FSC+MET et FSC+CAR

++ : significatif entre le lot FSC+CAR et les lots FSC+MET et FSC+CAR+MET

n= 12 rats pour chaque régime

Les discordances entre les résultats obtenus avec la première expérimentation au cours de laquelle les sacrifices avaient eu lieu après ingestion des régimes différenciés en soja et caséine pendant 6 semaines, et la troisième expérimentation méritent d'être analysées en détail et les causes éventuelles recherchées (Tableau 40).

Des travaux effectués dans notre laboratoire ont montré l'importance de l'état nutritionnel des animaux au moment du prélèvement. L'effet du soja a ainsi pu être montré avec des animaux nourris ou à jeun depuis 8h. Il n'existait plus avec des animaux à jeun depuis 24h.

Pour l'ensemble des travaux présentés ici, les prélèvements ont tous été effectués dans les mêmes conditions de jeûne. L'état nutritionnel ne permet donc pas d'expliquer pourquoi l'effet du soja existe dans un cas et pas dans l'autre.

Les différences observées peuvent être liées au traitement subi par la caséine. Dans la première expérimentation, elle a été mélangée aux autres ingrédients du régime à froid, alors que dans la troisième expérimentation, elle a été chauffée à 100°C pendant 30 minutes de façon à avoir des groupes comparables pour l'étude de l'effet du carraghénate, après chauffage avec la protéine à laquelle il est mélangé. L'influence du chauffage sur les paramètres lipidiques est reporté dans le tableau 41.

Un groupe de rats nourris avec un régime contenant de la caséine froide a été ajouté dans la troisième expérimentation. Le tableau 41 prouve que le chauffage tend à augmenter les valeurs de la cholestérolémie et de la triglycéridémie. Ces augmentations ne sont pas significatives, mais elles sont suffisantes pour expliquer les discordances observées entre la première et la troisième expérimentation.

GUERMANI et al. (1992) avaient déjà observé l'importance des traitements technologiques utilisés pour la préparation de la caséine en montrant que la caséine délipidée et dévitaminée conduisait à des taux sanguins plus élevés de cholestérol que la caséine alimentaire ou le caséinate de sodium. Cette observation suggérait l'existence de relations complexes liant la structure de la caséine ingérée, sa capacité à stimuler la sécrétion gastrique acide, sa digestibilité peptique et la libération de peptides pouvant modifier le métabolisme du cholestérol. Dans le cas présent, le

même type d'argumentation peut être invoqué. Le chauffage dénature partiellement la caséine avec toutes les conséquences susceptibles d'être entraînées sur la digestibilité, ce paramètre jouant en dernier lieu sur la cholestérolémie par l'intermédiaire possible de la libération des acides aminés et leur effet sur l'augmentation des taux d'hormones liées au métabolisme du cholestérol.

Plusieurs hypothèses tentent d'expliquer l'effet hypocholestérolémiant des protéines végétales et particulièrement du soja (présence dans le soja d'un peptide hydrophobe, de phytostérols, de saponines, de fibres solubles, de lécithine, etc...) (OAKENFULL, 1984; POLLACK et KRITCHEVSKY, 1981; BROOK et al., 1986; SUGANO et al., 1988).

Avec les taux de carraghénate de sodium utilisés, et dans nos conditions expérimentales, nous observons un effet hypotriglycéridémiant lorsqu'il est associé à la caséine, alors que cet effet n'est plus retrouvé dans le cas du soja.

Le faible taux de carraghénate de sodium ajouté à la caséine (0,70 % dans le régime) est suffisant pour abaisser le taux de triglycérides plasmatiques. Cet effet hypotriglycéridémiant est observé avec une prise alimentaire identique dans les deux lots de rats nourris avec de la caséine.

L'effet hypotriglycéridémiant des gommes végétales a été plusieurs fois observé avec des doses de gommes plus importantes que celles utilisées dans notre cas. Ces gommes augmentent l'excrétion fécale des sels biliaires et diminuent l'absorption des lipides (JENKINS et al., 1975; CUMMINGS et al., 1976; IKEGAMI et al., 1990).

Dans une des expériences précédentes où les rats avaient été nourris dès le sevrage et pendant 4 semaines avec des régimes à base de caséine ou de soja contenant de faibles quantités de carraghénate de sodium, puis avec un régime standard dépourvu d'hydrocolloïde, l'effet hypotriglycéridémiant chez ces animaux persistait encore au bout de 8 semaines dans le cas des régimes à base de caséine, alors qu'on ne le retrouvait plus dans le cas du soja.

L'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate de sodium associé à la caséine existe chez le rat quel que soit l'âge auquel les animaux l'ingèrent et présente une

propriété rémanente inexpliquée.

Dans le cas du soja, les rats n'ayant pas été nourris au sevrage avec des régimes contenant le carraghénate de sodium ne présentent pas le même phénomène que ceux du groupe caséine. Les taux de carraghénate utilisés ici sont peut-être trop faibles pour obtenir une diminution de la triglycéridémie chez ces rats adultes.

Une hypotriglycéridémie proportionnelle à la dose de carraghénate présente dans la farine de soja avait été observée chez les rats adultes après qu'ils aient été nourris dans un premier temps dès le sevrage avec des régimes à base de soja contenant le carraghénate de sodium à des taux différents, puis au cours d'une deuxième période avec un régime standard dépourvu de carraghénate, et dans la dernière période avec les mêmes régimes que pendant la première période et comportant à nouveau du carraghénate.

Il semble que l'effet hypotriglycéridémiant de faibles doses de carraghénate de sodium associé au soja n'existe chez le rat adulte que lorsque ces animaux ont été initialement nourris avec des régimes contenant cet hydrocolloïde et qu'on le leur redonne plus tard. Quand ils ingèrent le mélange soja-carraghénate à l'état adulte seulement, aucun effet n'est observé. Dans l'état actuel de nos expériences, nous ne pouvons apporter d'explication sur le plan métabolique à cette observation qui témoigne d'une sorte de conditionnement à long terme des propriétés induites par l'alimentation.

Le cholestérol plasmatique des rats n'est pas affecté par la présence du carraghénate de sodium aux doses utilisées dans les régimes.

### III.CONCLUSION

En conclusion, ces résultats obtenus avec des rats adultes montrent qu'aux taux utilisés dans notre expérimentation, le carraghénate de sodium ne modifie pas la cholestérolémie après ingestion de soja ou de caséine pendant 6 semaines. En revanche, alors que l'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate de sodium est à nouveau observé chez les rats adultes du groupe caséine, celui-ci ne l'est plus dans

le groupe soja alors qu'une expérience précédente avait montré une hypotriglycéridémie obtenue après ingestion du carraghénate de sodium associé à la farine de soja chez des rats adultes ayant été initialement nourris avec ce régime dès leur sevrage. Ceci suggère que l'alimentation au cours du jeune âge pourrait dans certains cas conditionner certaines réponses métaboliques à l'âge adulte.

## Chapitre 5 : VISCOSITE DE LA FARINE DE SOJA OU DE LA CASEINE ASSOCIEES A L'ALGINATE OU AU CARRAGHENATE DE SODIUM.

### I.RESULTATS

#### I.1.Viscosité des échantillons de farine de soja ou de caséine associées à l'alginate ou au carraghénate de sodium.

Nous avons mesuré la viscosité d'une solution à 10 % de protéines de soja ou de caséine associées ou non à 0,5, 1, 2 ou 3 % d'alginate ou de carraghénate de sodium (Figures 22a, 22b, 23).

Au pH naturel de la farine de soja (pH 6,8), seul l'alginate de sodium augmente la viscosité lorsqu'il est présent à partir de 1 %.

L'addition de l'alginate de sodium à la caséine ne provoque pas de variation de la viscosité.

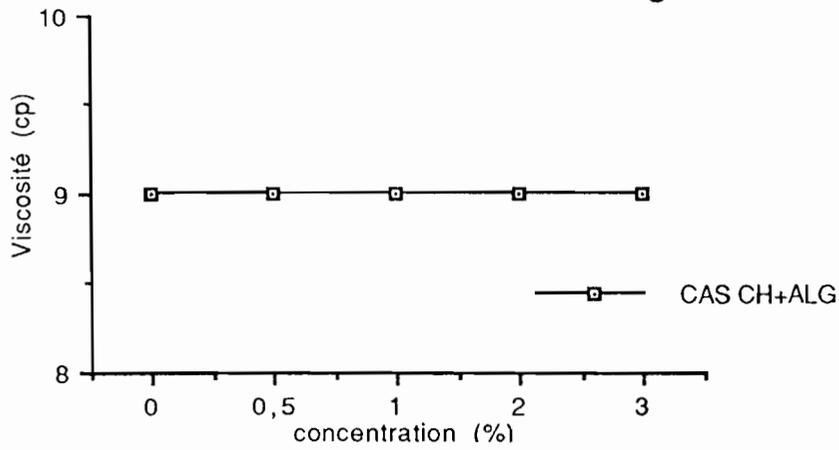
Aux taux utilisés dans notre expérimentation, le carraghénate de sodium n'augmente pas la viscosité de la farine de soja ni de la caséine.

### II.DISCUSSION

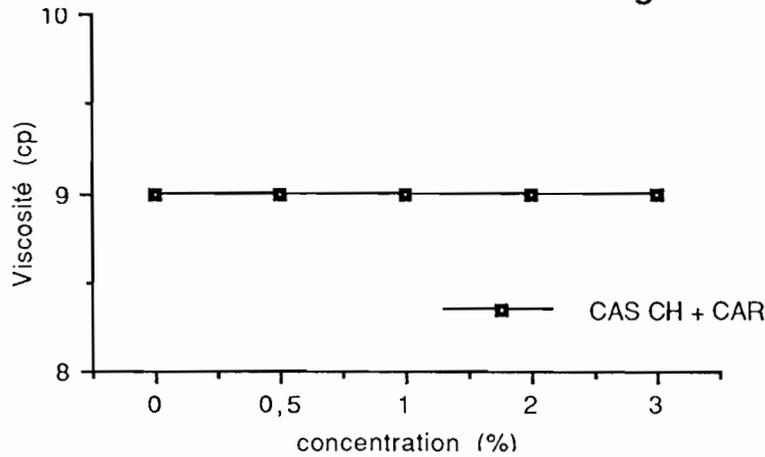
La mesure de la viscosité de la farine de soja ou de la caséine dans notre expérimentation ne peut pas nous apporter beaucoup d'information. Néanmoins, d'après les résultats obtenus, il semble bien que la viscosité ne soit pas le facteur essentiel pouvant expliquer les résultats obtenus "in vivo" chez le rat.

En effet, nos résultats ne montrent pas une augmentation de la viscosité de la farine de soja ou de la caséine due au carraghénate de sodium aux taux utilisés, alors que nous avons pu démontrer qu'"in vivo", le carraghénate de sodium, associé à la farine de soja ou à la caséine diminue fortement la disponibilité protéique et la triglycéridémie.

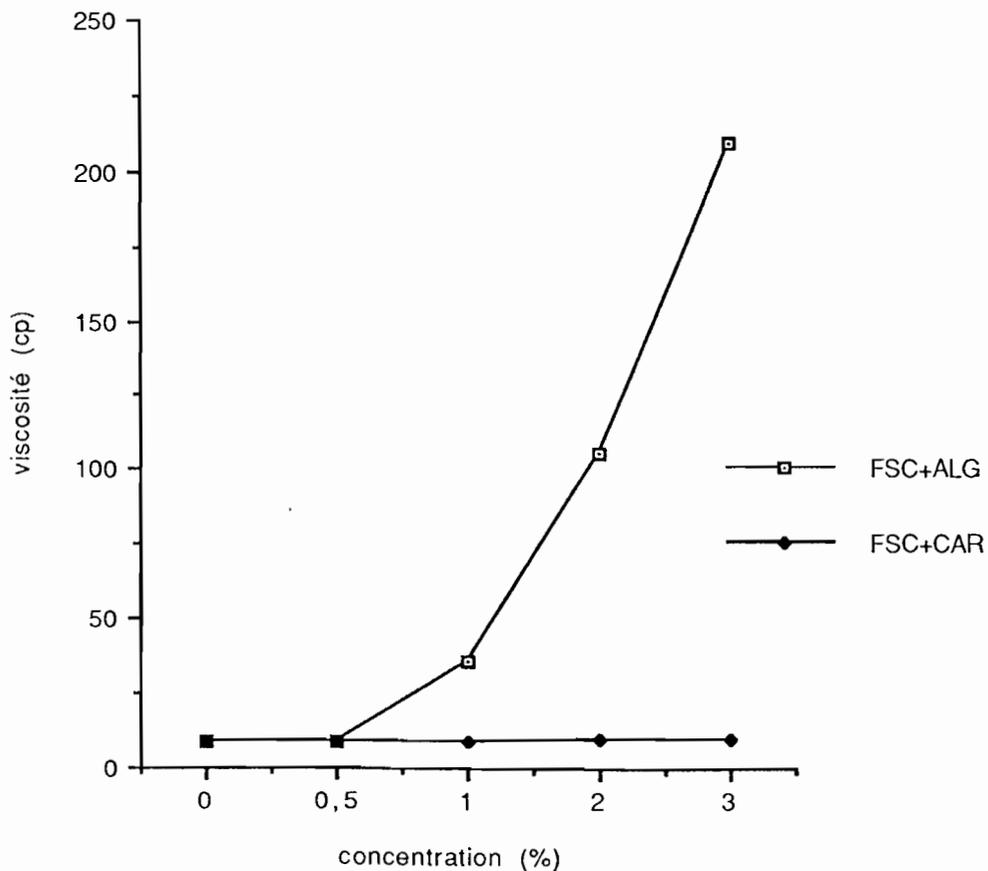
**Figure 22a: Viscosité de la caséine associée à différentes concentrations d'alginate de sodium**



**Figure 22b: Viscosité de la caséine associée à différentes concentrations de carraghénate de sodium**



**Figure 23: Viscosité de la farine de soja associée à différentes concentrations d'alginate ou de carraghénate de sodium**



En outre, le carraghénate modifié qui a perdu ses propriétés visqueuses se lie aux protéines et inhibe l'activité des enzymes (BONFILS, 1968; STANLEY, 1982).

L'addition de l'alginate de sodium à la farine de soja augmente la viscosité de cette dernière, mais n'a aucune conséquence "in vivo". La présence de cet hydrocolloïde ajouté à la caséine n'a pas de conséquence sur la viscosité du mélange aux doses utilisées.

### III.CONCLUSION

Il paraît évident que la viscosité ne suffise pas pour expliquer les résultats observés "in vivo". La mesure de la viscosité telle qu'elle a été faite dans notre expérimentation ne peut pas nous permettre de tirer des conclusions sur l'importance de ce paramètre. Il aurait été préférable de mesurer la viscosité du régime total tel quel et celle du bol alimentaire dans l'estomac et dans l'intestin pour mieux se rendre compte des variations de viscosité "in vivo".

## Chapitre 6 : DIGESTION ENZYMATIQUE "IN VITRO"

### I.RESULTATS

#### I.1.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la caséine sur la protéolyse "in vitro" par la pepsine, la trypsine, la papaïne ou la bromélaïne.

L'addition de l'alginate de sodium à la caséine a peu d'effet sur l'hydrolyse de cette dernière dans le cas de la pepsine, et aucun effet dans le cas de la papaïne et la bromélaïne. Dans le cas de l'hydrolyse par la trypsine, une légère inhibition apparaît avec 2 et 3 % d'alginate de sodium (Figures 24a, 25a, 26a, 27a). Après 2h de protéolyse et en présence de 3 % d'alginate, l'azote non protéique libéré par la pepsine est réduit de 23 %, de 28 % avec la trypsine, de 4 % avec la bromélaïne et de 2 % avec la papaïne.

La présence du carraghénate de sodium inhibe l'hydrolyse de la caséine par toutes les enzymes. Cette inhibition est proportionnelle à la dose de l'hydrocolloïde. Ainsi, elle très importante avec 2 et 3 % de carraghénate de sodium dans tous les cas (Figures 24b, 25b, 26b, 27b). Après 2 h d'hydrolyse et en présence de 3 % de carraghénate, l'azote non protéique libéré est réduit de 48 % avec la pepsine, de 57 % avec la trypsine, de 30 % avec la bromélaïne et de 24 % avec la papaïne.

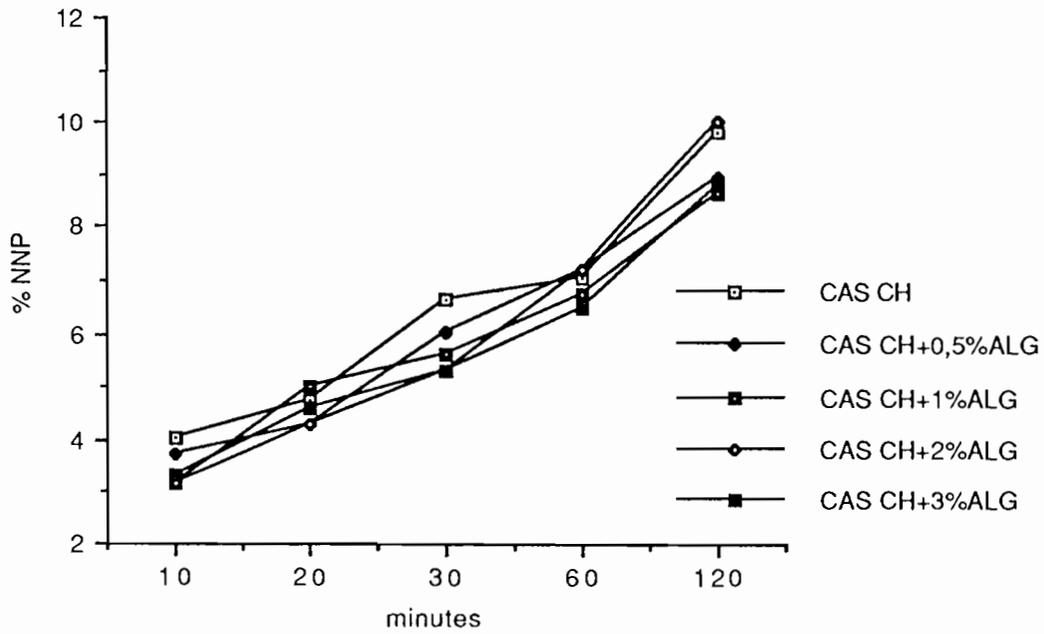
#### I.2.Effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine de soja sur la protéolyse "in vitro" par la pepsine.

L'alginate de sodium n'a aucun effet sur la protéolyse de la farine de soja par la pepsine, alors que celle-ci est inhibée par le carraghénate de sodium aux taux de 2 et 3 %. L'hydrolyse est réduite de 16 % en présence de 3 % de carraghénate et après 2 h (Figures 28a, 28b).

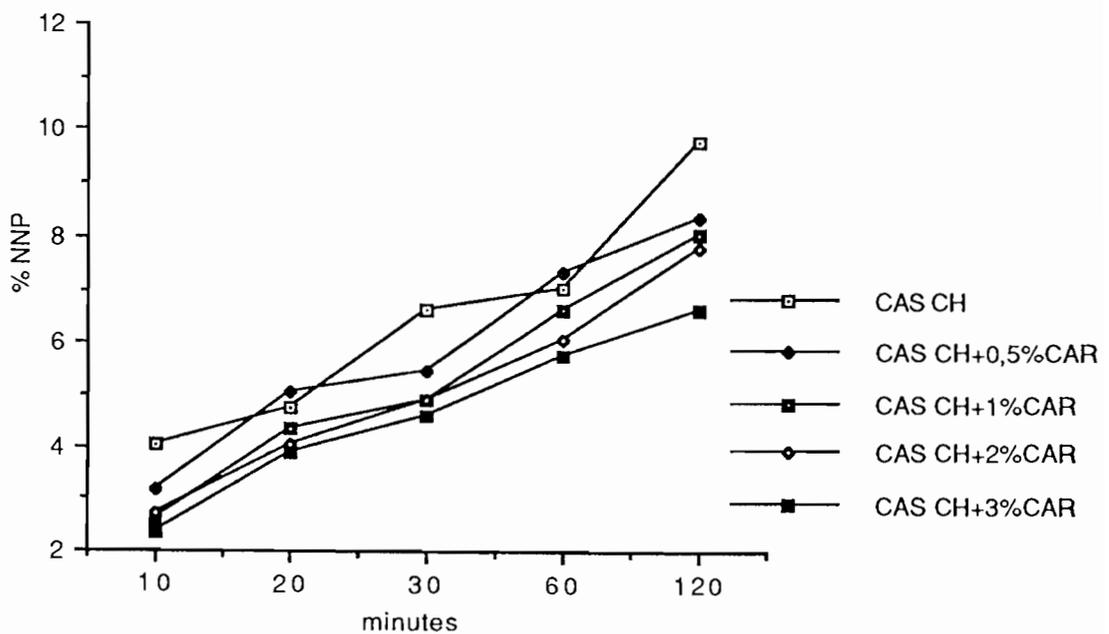
#### I.3.Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja dans la cellule de digestion par la papaïne, la bromélaïne ou la trypsine.

Nous obtenons également une forte inhibition des activités enzymatiques en présence de 3 % de carraghénate de sodium alors qu'avec l'alginate de sodium à la

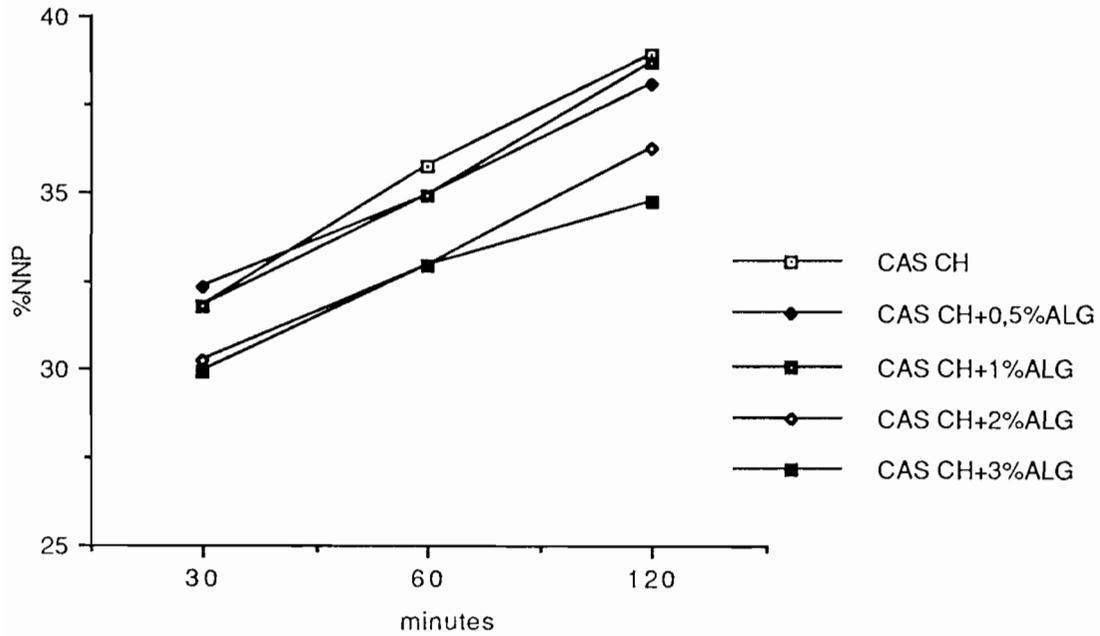
**Figure 24a: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée à l'alginate de sodium par la pepsine**



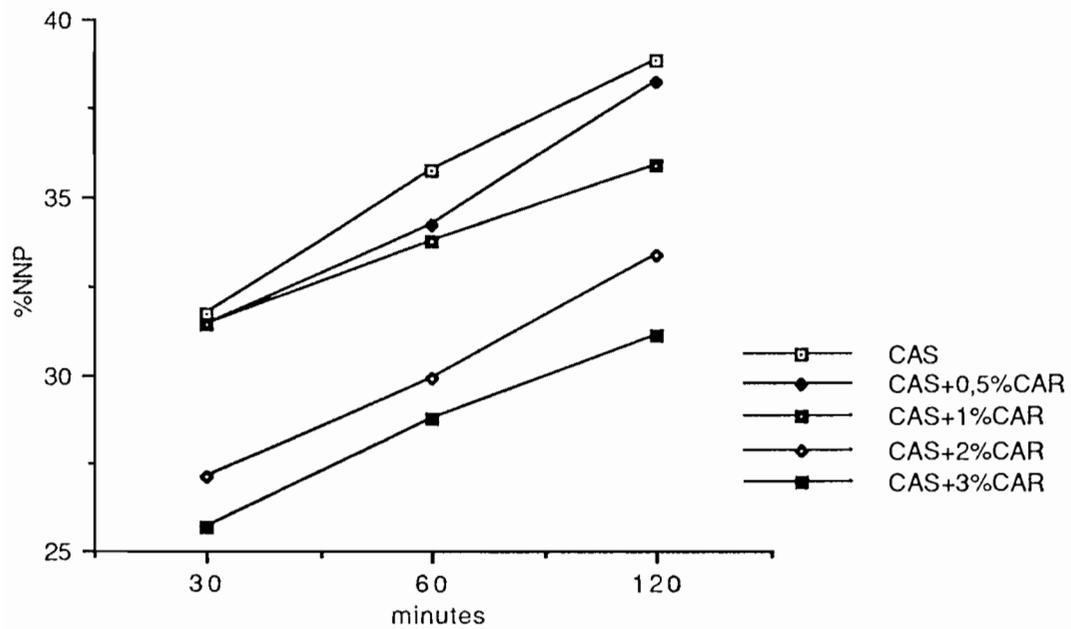
**Figure 24b: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée au carraghénate de sodium par la pepsine**



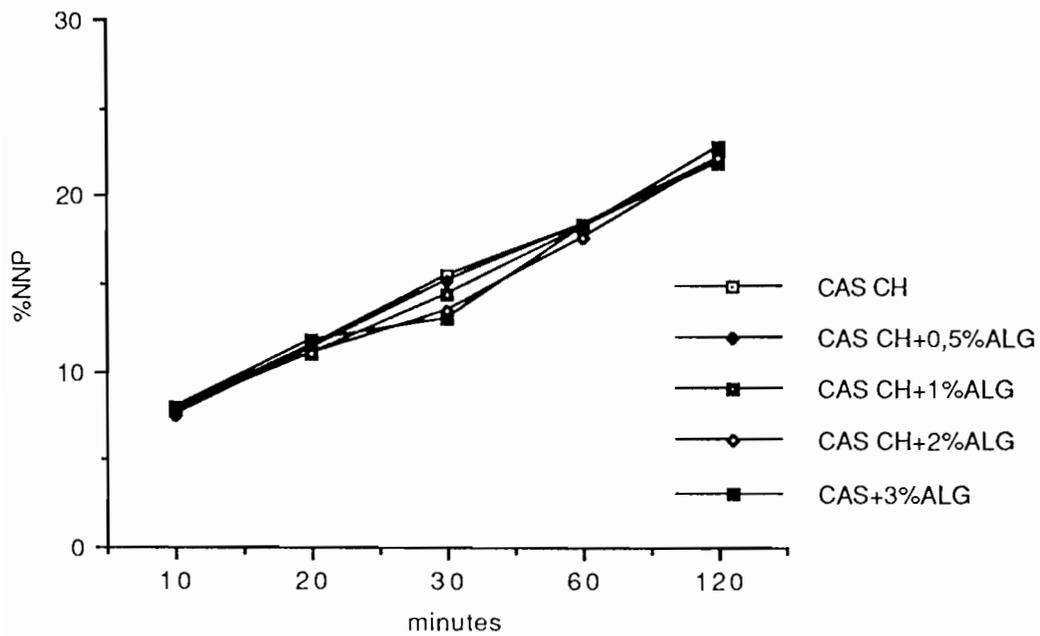
**Figure 25a: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée à l'alginate de sodium par la trypsine**



**Figure 25b: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée au carraghénate de sodium par la trypsine**



**Figure 26a: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée à l'alginate de sodium par la bromélaïne**



**Figure 26b: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée au carraghénate de sodium par la bromélaïne**

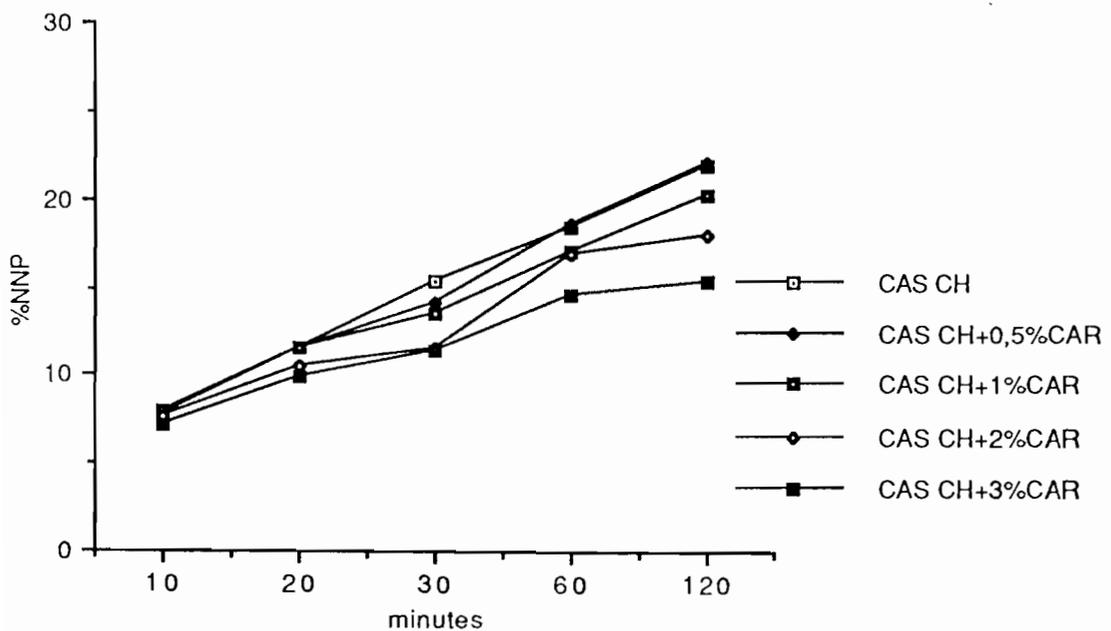


Figure 27a: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée à l'alginate de sodium par la papaïne

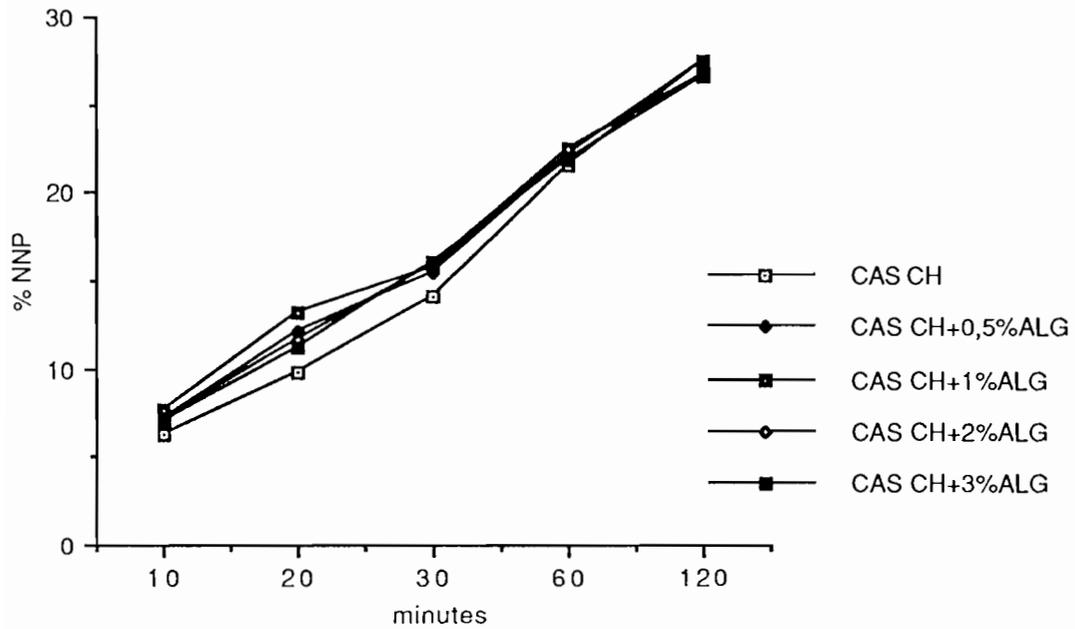
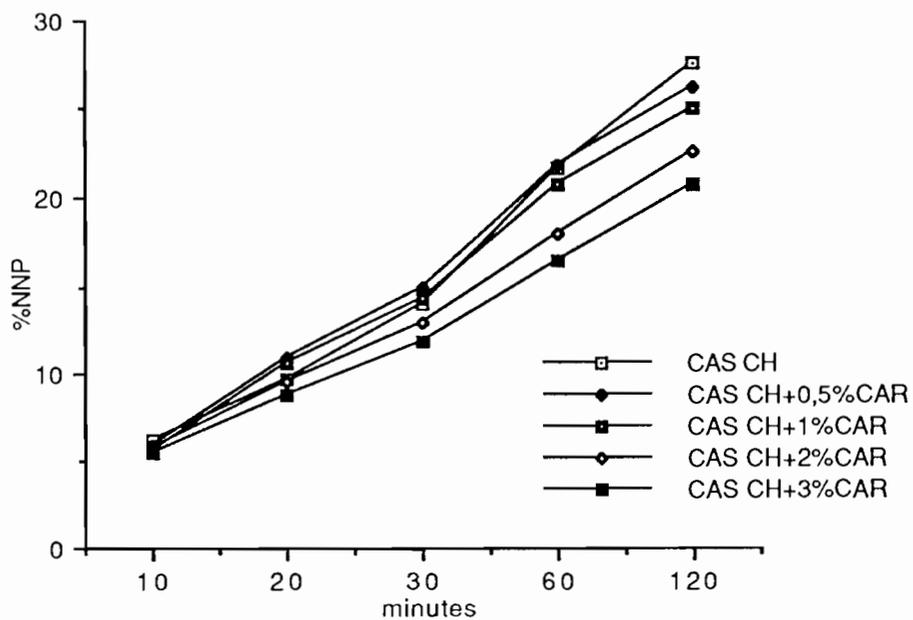
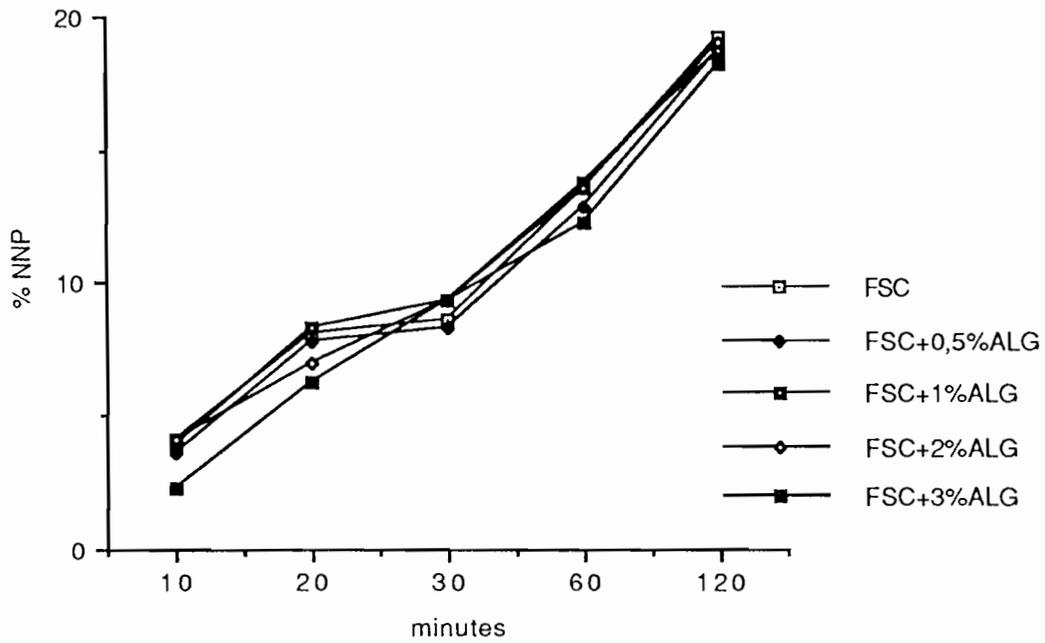


Figure 27b: Hydrolyse "in vitro" de la caséine associée au carraghénate de sodium par la papaïne



**Figure 28a: Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja associée à l'alginate de sodium par la pepsine**



**Figure 28b: Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja associée au carraghénate de sodium par la pepsine**

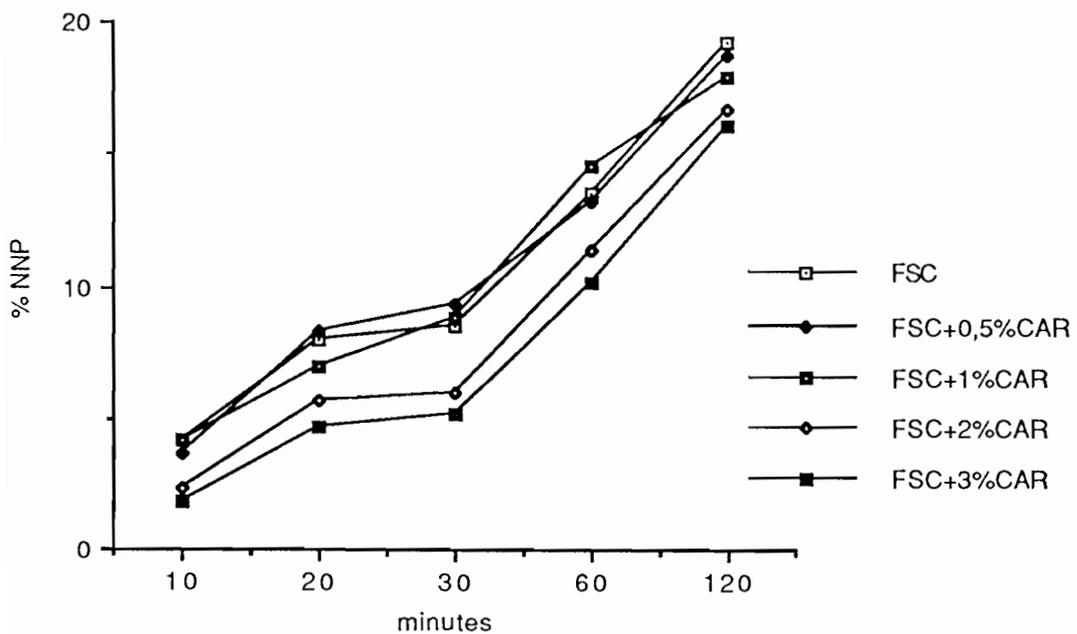


Figure 29: Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja par la trypsine

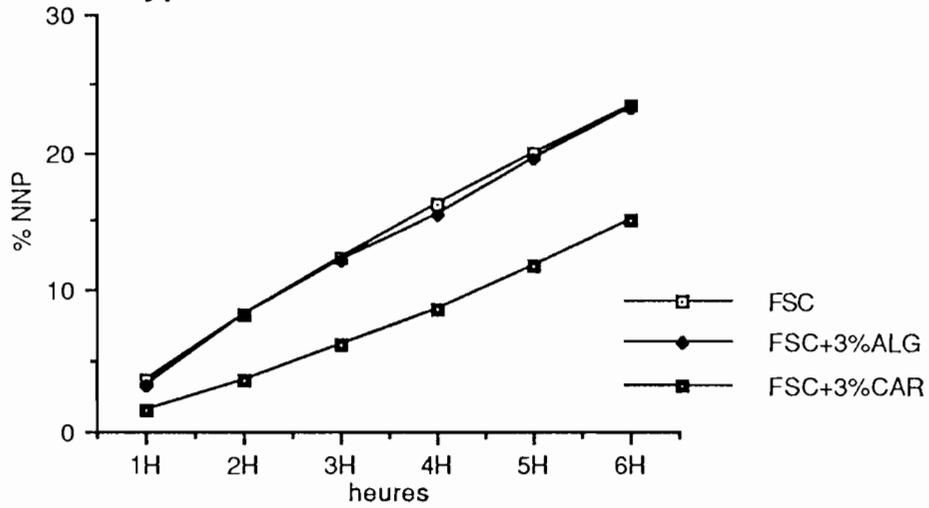


Figure 30: Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja par la bromélaïne

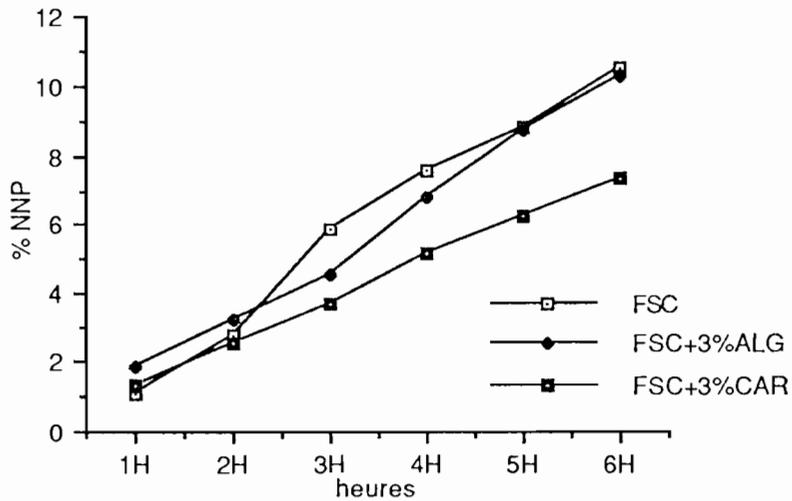
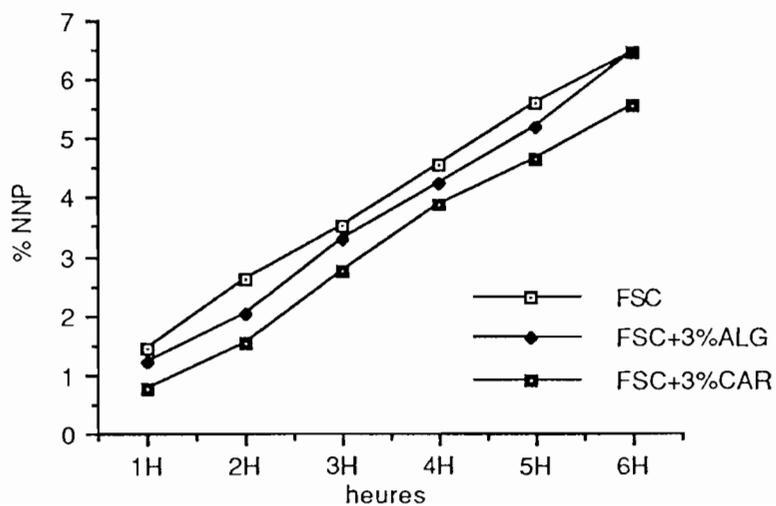


Figure 31: Hydrolyse "in vitro" de la farine de soja par la papaine



même concentration, il y a peu ou pas d'effet (Figures 29, 30, 31). Les trois enzymes sont loin d'avoir la même efficacité sur la farine de soja.

L'inhibition produite par l'addition de 3 % de carraghénate est d'autant plus efficace que l'enzyme utilisée est active sur le soja. Ainsi, après 6 h de protéolyse, le carraghénate réduit de 42 % la libération d'azote non protéique par la trypsine, de 30 % l'action de la bromélaïne et de 14 % celle de la papaine.

## II.DISCUSSION

Les résultats de digestion "in vitro" doivent être considérés comme préliminaires. Ils ont été obtenus à l'aide de deux méthodes différentes pour la caséine (digestion dans le tube à essai) et pour le soja (cellule de digestion), ce qui rend les comparaisons entre caséine et soja délicates. Mais ce n'était pas le but recherché. Une étude systématique mériterait cependant d'être entreprise sur cet aspect.

La protéolyse des échantillons utilisés comme source de protéines dans les différents régimes a été testée en présence de diverses enzymes digestives et non digestives.

Dans tous les cas, la présence d'alginate de sodium dans la caséine ou dans la farine de soja à 0,5, 1 et 2 % n'entraîne pas l'inhibition de la protéolyse. La légère inhibition de la protéolyse de la caséine et non du soja obtenue avec 3 % d'alginate dans le cas de la pepsine et de la trypsine mais non dans le cas des deux enzymes d'origine végétale n'est peut-être pas due qu'à la forte viscosité. Car si certains auteurs ont montré que l'augmentation de la viscosité empêche une bonne accessibilité de l'enzyme sur son site d'action (STANLEY, 1982), cet effet aurait dû gêner toutes les enzymes quel qu'ait été le substrat.

Ces résultats sont en accord avec ceux de notre expérimentation "in vivo" dans laquelle l'ingestion par les rats de régimes comprenant la farine de soja associée à l'alginate de sodium aux doses utilisées dans notre travail n'avait aucun effet sur la digestibilité protéique représentée par le CEP, ni sur la croissance des animaux.

En revanche, en présence de carraghénate de sodium et quelle que soit la source protéique, on observe une inhibition plus ou moins importante de toutes les activités enzymatiques qui semble dose-dépendante. Elle est plus importante avec la pepsine et la trypsine qu'avec les enzymes végétales. Il semble aussi, au vu de la comparaison des résultats après 2 h d'hydrolyse pepsique de la caséine et du soja en présence de 3 % de carraghénate de sodium, que cet hydrocolloïde inhibe plus activement l'hydrolyse pepsique de la caséine que celle du soja.

L'inhibition de la protéolyse enzymatique par les carraghénates a été plusieurs fois démontrée en présence de diverses enzymes telles que la pepsine, la trypsine, la papaïne, et par différents auteurs (ANDERSON, 1961; ACCARY et al., 1964; MARTIN et al., 1965; ARNAL-PEYROT et ADRIAN, 1977; STANLEY, 1982).

Cette inhibition est due au fait que les carraghénates ont des interactions spécifiques avec les protéines par l'intermédiaire de leurs groupements sulfates et quel que soit le pH. En effet, à pH inférieur au point isoélectrique des protéines (cas de l'hydrolyse par la pepsine), celles-ci se comportent comme des cations et se lient directement aux groupements sulfate des carraghénanes; à pH supérieur au point isoélectrique (cas de l'hydrolyse par la trypsine, la papaïne et la bromélaïne), les protéines se comportent comme des anions, dans ce cas la liaison se fait par l'intermédiaire de cations tels que le calcium. Les protéines de soja et la caséine sont particulièrement sensibles au calcium.

Dans le cas des carraghénates, l'inhibition de l'activité enzymatique existe quelle que soit la nature du carraghénate (qu'il soit kappa, lambda, iota, mu ou nu). Ceci a été également vérifié dans le cas du carraghénate dégradé de  $PM < 20000$  et qui a perdu toutes ses propriétés gélifiantes, épaississantes et visqueuses (BONFILS, 1968; STANLEY, 1982). Ceci prouve que l'inhibition de la protéolyse enzymatique par le carraghénate n'est pas due à un processus physique mais plutôt à un processus chimique (STANLEY, 1982).

Dans notre expérimentation, l'inhibition est fonction de la concentration en carraghénate, celle-ci est beaucoup plus importante avec 2 ou 3 %.

L'inhibition "in vitro" de la protéolyse enzymatique par le carraghénate de sodium doit entraîner l'altération de la digestibilité protéique et concorde avec les

observations effectuées "in vivo" chez les rats ayant ingéré des régimes à base de farine de soja associée à cet hydrocolloïde, et présentant un retard de croissance.

La digestion "in vitro" de la farine de soja par la papaïne, la bromélaïne (pH 6,2) ou par la trypsine (pH 8,2) dans le tube à essai ne nous a pas donné une relation linéaire en fonction du temps.

Des auteurs ont montré que la libération des produits d'hydrolyse dans le milieu réactionnel pouvait inhiber la réaction (ROBBIN, 1978). C'est peut-être le cas dans notre expérimentation. C'est pourquoi, pour l'hydrolyse de la farine de soja par ces enzymes, nous avons utilisé la cellule de digestion mise au point par GAUTHIER et al., (1986), dont le principe est la libération instantanée des produits d'hydrolyse (acides aminés et petits peptides) à travers une membrane de dialyse d'exclusion moléculaire 1000 D, dans un tampon circulant permettant non seulement d'éliminer une possible inhibition de la réaction, mais également de les récupérer au fur et à mesure de leur libération. Avec ce système, nous avons pu obtenir une hydrolyse cohérente et linéaire en fonction du temps, et nous avons également pu démontrer une inhibition de la protéolyse par la présence du carraghénate, ce qui n'est pas le cas avec l'alginate de sodium.

La méthode de SAVOIE et GAUTHIER (1986) utilise une hydrolyse enzymatique en 2 étapes : une prédigestion par la pepsine suivie d'une digestion par la pancréatine pour mieux se rapprocher des conditions "in vivo". Nous avons utilisé les 2 étapes pour ce qui est de la digestion par la trypsine et une seule étape dans le cas de la papaïne et de la bromélaïne, ce qui explique les faibles taux d'hydrolyse de ces 2 enzymes par rapport à la trypsine. La prédigestion par la pepsine améliore la digestion pancréatique ou tryptique qui lui succède en augmentant la solubilité des protéines et en déployant la structure de la molécule, rendant accessible les liaisons peptidiques aux autres enzymes (GAUTHIER et SAVOIE, 1986).

### III.CONCLUSION

Le carraghénate de sodium se lie aux protéines. Cette liaison entraîne une inhibition de leur hydrolyse. Ces résultats obtenus "in vitro" expliquent la faible efficacité protéique observée "in vivo" chez les rats ingérant les régimes contenant le

carraghénate de sodium. En revanche, l'alginate de sodium n'a que très peu ou pas d'effet aux doses utilisées dans notre expérimentation, sur l'activité enzymatique. La faible inhibition observée dans le cas de l'hydrolyse de la caséine par la pepsine et la trypsine ne peut être liée à la viscosité puisque dans le chapitre précédent nous avons vu que l'addition de cet hydrocolloïde à la caséine n'augmentait pas la viscosité de cette dernière. Cette inhibition serait peut-être due à un effet spécifique de l'alginate sur la caséine

## **QUATRIEME PARTIE : CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

Les hydrocolloïdes d'origine végétale sont très utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour la préparation d'aliments aussi variés que les biscuits, les plats préparés, les confitures, les glaces, les crèmes, les charcuteries, les plats allégés, etc...

Ils servent aussi à la texturation de nouvelles sources de protéines comme les matières protéiques d'origine végétale.

Leurs propriétés nutritionnelles et métaboliques ont été largement étudiées, mais les effets nutritionnels de leurs interactions éventuelles avec les protéines lors des procédés de fabrication et particulièrement avec les protéines végétales ont fait l'objet d'un nombre de travaux limités, ce qui nous a conduit à étudier particulièrement cet aspect.

Les mélanges chauffés d'alginate ou de carraghénate de sodium avec les protéines de soja ont ainsi fait l'objet de l'évaluation de certaines de leurs propriétés nutritionnelles et métaboliques. Des expériences complémentaires ont été ensuite entreprises pour expliquer les observations réalisées auparavant.

Plusieurs travaux ont permis de préciser les effets de l'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium sur le CEP et la croissance du rat.

La présence de carraghénate de sodium dans la farine de soja a provoqué une altération du CEP. Ce phénomène n'a pas été observé avec l'alginate de sodium utilisé dans les mêmes conditions. En outre, la diminution du CEP était accompagnée d'une augmentation de la prise alimentaire.

Dans le cas des régimes composés à partir de farine de soja et de carraghénate de sodium, un retard de croissance a été observé. Malgré le retour à un régime standard, le retard de croissance a subsisté, ce qui est une manifestation de malnutrition protéique.

Ceci nous a conduit à tenir le raisonnement suivant. Les protéines de soja sont déficientes en acides aminés soufrés. Si elles se lient aux carraghénates, les acides

aminés soufrés limitants sont rendus indisponibles, alors une malnutrition peut être observée. Cette hypothèse a été vérifiée grâce à une expérimentation étudiant l'effet de la supplémentation en méthionine. Il a été alors observé que l'addition de méthionine au régime à base de soja et de carraghénate permettait d'augmenter le CEP et n'entraînait plus de retard de croissance.

D'autre part, le carraghénate de sodium associé à la caséine provoquait une faible diminution du CEP sans retard de croissance. Ceci fournit une contre-preuve à notre hypothèse. En effet, le taux de méthionine dans la caséine est supérieur à celui du soja, et l'addition de carraghénate n'entraîne pas un déficit en méthionine suffisant pour créer un déséquilibre en cet acide aminé menant à une malnutrition protéique.

L'effet préjudiciable des carraghénates sur la digestibilité protéique a été observé par plusieurs auteurs aussi bien "in vivo" qu'"in vitro", mais avec des doses supérieures à 5 %, alors qu'ici, l'effet est observé à des doses moindres et comparables à celles utilisées dans les produits alimentaires. Le fait que dans ce travail, les mélanges soient chauffés, ce qui est plus proche de la réalité industrielle, pourrait provoquer des liaisons plus faciles entre les carraghénates et les protéines sans que le chauffage à lui seul soit en cause, puisque l'alginate est sans effet.

La différence de résultats observée entre l'alginate ou le carraghénate de sodium pourrait être due à leurs structures chimiques différentes. Tous deux sont des polymères acides, mais le carraghénate contient des groupements sulfates qui peuvent se lier aux protéines quel que soit le pH du milieu, ce qui n'est pas le cas de l'alginate dont la liaison avec les protéines n'a lieu qu'à pH neutre et en présence de calcium.

Les faibles digestibilités observées par certains auteurs avec des doses élevées d'alginate ( $\geq 5\%$ ) pourraient être dues à l'augmentation de la viscosité qui provoquerait une altération de l'absorption des nutriments.

Parallèlement aux travaux précédents menés sur la valeur nutritionnelle, l'effet de l'alginate et du carraghénate de sodium a été aussi étudié sur les lipides plasmatiques. Cette étude avait pour objectif de vérifier si le mélange de ces fibres solubles avec le soja avait un effet hypolipidémiant renforcé compte-tenu du fait que séparément, chaque constituant du mélange est actif sur les lipides plasmatiques.

L'addition de l'alginate ou du carraghénate de sodium à la farine a été sans effet sur le cholestérol plasmatique des rats. Cette absence d'effet est peut-être liée aux conditions expérimentales. En revanche, l'addition de carraghénate de sodium à la farine de soja a diminué le taux de triglycérides plasmatiques alors que l'alginate restait sans effet. Par la suite, il a été montré que l'effet du carraghénate sur la triglycéridémie existait que cet hydrocolloïde soit associé au soja ou à la caséine. L'effet hypotriglycéridémiant n'était pas dû à une diminution de la prise alimentaire puisque celle-ci augmentait quand le carraghénate était présent dans le régime.

Il semble que cet effet soit complexe et dépende de la nature de la protéine mélangée au carraghénate.

Lorsque le mélange est ingéré au sevrage puis, que les animaux sont alimentés avec un régime standard, l'effet hypotriglycéridémiant persiste 8 semaines après la fin de l'ingestion du carraghénate quand il était mélangé à de la caséine. Cet effet n'est pas retrouvé dans le cas du soja.

Quand le mélange est ingéré à l'âge adulte, l'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate n'existe pas avec le soja, mais existe avec la caséine.

Enfin, lorsque les rats sont alimentés dès le sevrage avec un régime à base de soja et de carraghénate, puis avec un régime standard, et pour terminer avec le régime de la première période, l'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate est mis en évidence et semble proportionnel à la dose.

La nature de la protéine mélangée avec le carraghénate semble donc conditionner l'effet de ce dernier. Avec la caséine, cet effet existe toujours quel que soit l'âge et paraît se poursuivre après l'arrêt de l'ingestion. Avec le soja, il existe chez le rat adulte à condition qu'il ait été nourri après le sevrage avec un régime contenant le carraghénate.

Subsidiairement, nous avons pu observer l'effet hypotriglycéridémiant du soja par rapport à la caséine.

Des travaux réalisés dans notre équipe avaient montré l'importance de l'état

nutritionnel du rat sur la mise en évidence de l'existence de l'effet hypocholestérolémiant du soja par rapport à la caséine. Un jeûne trop long effaçait cet effet, et la nature de la caséine utilisée influait aussi selon sa dénaturation.

Les résultats obtenus dans les diverses expérimentations confirment ces observations. En effet, la caséine chauffée apparaît plus hypercholestérolémiante que la caséine non chauffée.

A ce stade de l'expérimentation, il fallait trouver une explication aux effets observés "in vivo" avec le carraghénate en recourant à des études "in vitro" permettant de vérifier des hypothèses sur les mécanismes en cause.

Comme le carraghénate diminuait le CEP non pas par l'intermédiaire d'une diminution de la prise alimentaire mais par une diminution du gain de poids, il devait par conséquent agir au niveau de la digestion des protéines ou de l'absorption intestinale des acides aminés et peptides libérés. Nous avons donc entrepris des études de viscosité et de digestibilité "in vitro" aussi bien avec l'alginate qu'avec le carraghénate de sodium.

Ces études ont montré que la viscosité ne semblait pas en cause, mais par contre, que la digestibilité "in vitro" était très sensible à la présence du carraghénate et pratiquement pas à celle de l'alginate.

L'addition de carraghénate aux protéines de soja ou de caséine entraînait une inhibition de l'activité protéolytique de diverses enzymes à des degrés variés. Ces résultats "in vitro" concordent bien avec les observations faites "in vivo" sur la croissance et le CEP.

Les résultats de digestibilité pourraient être mis aussi en parallèle avec les observations relatives à l'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate plus marqué en présence de caséine qu'en présence de soja.

Il semblerait en effet que le carraghénate inhibe plus fortement les enzymes protéolytiques en présence de caséine qu'en présence de soja. Ceci mériterait des travaux complémentaires, car si cela se vérifiait, cela suggérerait que l'effet hypotriglycéridémiant du carraghénate est lié à la digestion protéique, autrement dit,

qu'il existe un lien entre protéine alimentaire et triglycéridémie.

Nous avons montré dans cette étude que la présence de gommages végétales dans les régimes des rats même à de faibles doses n'est pas sans conséquence sur la digestibilité des nutriments (particulièrement les protéines et les lipides qui ont fait l'objet de ce travail). D'autres nutriments (minéraux, vitamines) peuvent également être affectés par la présence de ces additifs.

Bien que ces résultats aient été obtenus chez le rat Wistar, on pourrait logiquement s'inquiéter des effets de ces hydrocolloïdes chez l'homme. Il est vrai que l'utilisation des additifs est très importante surtout sur le plan économique, mais les conséquences nutritionnelles de leur consommation prolongée chez les populations à risque devraient être prises en compte. Le problème ne devrait pas se poser chez l'homme sain ayant une alimentation équilibrée, mais dans le cas des enfants, grands consommateurs de desserts à base de lait (crème dessert, laits gélifiés, laits chocolatés, etc...) où ces hydrocolloïdes sont abondamment utilisés, il pourrait apparaître des déficiences en certains nutriments. De même chez les personnes qui se nourrissent exclusivement d'aliments basses calories et de plats cuisinés où les agents de texture sont utilisés à des doses élevées, une déficience en certains nutriments pourrait apparaître en même temps que la perte de poids.

Pour obtenir l'effet technologique désiré lors de la préparation des produits alimentaires, plusieurs additifs peuvent être utilisés en même temps. Les interactions qui pourraient se produire entre ceux-ci et leurs conséquences sur le plan nutritionnel méritent également d'être étudiés.

## BIBLIOGRAPHIE

## REFERENCES

**ACCARY J. P., DUBRASQUET M., AGNERAY J., BONFILS S., 1964**

Etude électrophorétique du complexe polysaccharides sulfates-protéines.  
C. R. Soc. Biol., **158**, 1844-1847.

**ADRIAN J., 1975**

Les additifs alimentaires à caractère épaississant et gélifiant (extraits d'algues et de gommes végétales).  
Méd. Nutr., **11**, 203-216.

**ADRIAN J., ASSOUMANI M., 1979**

Les propriétés chimiques et physiologiques des additifs épaississants et gélifiants (agents de texture).  
Rev. Fr. Diet., **23**, 3-25.

**AMAT M. A., 1989**

Les carraghénanes : production à partir de cultures de "Chondrus Crispus" et applications alimentaires.  
Océanis, **15**, 661-671.

**ANDERSON J. W., FLOORE T. L., GEIL P. B., O'NEAL D. S., BALM K., 1991**

Hypocholesterolemic effects of different bulk-forming hydrophilic fibers as adjuncts to dietary in mild to moderate hypercholesterolemia.  
Arch. Intern. Med., **151**, 1597-1602.

**ANDERSON R. L., RACKIS J. J., TALLENT W. H., 1979**

Biological active substances in soy products. In : "Soy protein and human nutrition", WILCKE H. L., HOPKINS D. T., WAGGLE D. H., eds, Academic Press, New-York, p.209-233.

**ANDERSON W., 1961**

The antipeptic activity of sulphated polysaccharides.

J. Pharm. Pharmacol., **13**, 139-147.

**ANDERSON W., BOTTLE W., 1972**

Intestinal absorption of macroanions.

J. Pharm. Pharmacol., **24**, 166-167.

**ANDERSON W., SOMAN P. D., 1966**

The absorption of carrageenans.

J. Pharm. Pharmacol., **18**, 825-827.

**A.O.A.C., 1970**

Official methods of analysis. 11 th edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington D. C.

**ARNAL-PEYROT F., ADRIAN J., 1974**

Rôle des gommés et des mucilages sur la digestibilité. Cas de la feuille de baobab.

Ann. Nutr. Alim., **28**, 505-521.

**ARNAL-PEYROT F., ADRIAN J., 1977**

Note sur l'activité de la papaïne en présence d'hydrocolloïdes alimentaires.

Méd. et Nutr., **3**, 49-51.

**ARTZ W. E., 1989**

Emulsifiants. In : "Food Additives", BRANEN A. L., DAVIDSON P. M., SALMINEN S. eds, MARCEL DEKKER, INC., New-York, p. 347-389.

**ASSOUMANI M., ADRIAN J., 1976**

Les alginanes en alimentation. Etude chez le rat.

Alim. et Vie, **64**, 45-55.

**ATKINS E. D. T., MACKIE W., SMOLKO E. E., 1970**

Cristalline structure of alginic acids.

Nature, **225**, 626.

**BAIG N. M., CERDA J. J., 1981**

Pectin : its interactions with serum lipoproteins.

Am. J. Clin. Nutr., **34**, 50-53.

**BAU H. M., DEBRY G., 1979**

Germinated soybean protein products : chemical and nutritional evaluation.  
J. A. O. C. S., **56**, 160-162.

**BAU H. M., DEBRY G., 1980**

L'art et l'utilisation du soja. Habitudes et traditions.  
Cah. Nutr. Diet., **15**, 277-284.

**BEATTIE I. A., BLAKEMORE W. R., DEWAR E. T., WARWICK M. H., 1970**

A study of orally administered degraded carrageenan in the baboon.  
Food Cosmet. Toxicol., **8**, 257-266.

**BECK B., DOLLET J. M., MAX J. P., DEBRY G., 1983**

Relations among weight deficit, food intake and early deprivation in long-term protein malnourished rats.  
Nutr. Res., **3**, 743-748.

**BECKER H. C., MILNER R. T., NAGEL R. H., 1940**

A method for the determination of non protein nitrogen in soybean meal.  
Cereal Chem., **17**, 447.

**BELL L. P., HECTORN K. J., REYNOLDS H., HUNNINGHAKE D. H., 1990**

Cholesterol lowering effects of soluble-fiber cereals as part of a prudent diet for patients with mild to moderate hypercholesterolemia.  
Am. J. Clin. Nutr., **52**, 1020-1026.

**BENITZ K. F., GOLDBERG L., COULSTON F., 1973**

Intestinal effects of carrageenans in the Rhesus Monkey (*Macaca Mulatta*)  
Fd. Cosmet. Toxicol., **11**, 565-575.

**BOILA R. J., SALOMONS M. D., MILLIGAN L. P., AHERNE F., 1981**

The effect of dietary propionic acid on cholesterol synthesis in swine.  
Nutr. Rep. Int., **23**, 1113-1121.

**BONFILS S., 1968**

Sulphated polysaccharides as pepsin inhibitors.  
Gastroenterology, **54**, 993.

**BONFILS S., 1970**

Carrageenan and human gut.  
Lancet, ii, 414.

**BOURGADE G., 1871**

U.S. Patent 112.535.

**BRESSANI R., 1981**

The role of soybean in food systems.  
J.A.O.C.S., **58**, 392.

**BROOK J. G., LINNS S., AVIRAM M., 1986**

Dietary soya lecithin decreases plasma triglycerides levels and inhibits collagen and ADP-induced platelet aggregation.  
Biochem. Med. Metab. Biol., **35**, 31.

**CALAM J., BOJARSKI J. C., SPRINGLER C. J., 1987**

Raw soyabean flour increases cholecystokinin release in man.  
Br. J. Nutr., **58**, 175-178.

**CARR T. E. F., HARRISSON G. E., HUMPHREYS E.R., SUTTON A., 1968**

Reduction in the absorption and retention of dietary strontium in man by alginate.  
Intern. J. Radiat. Biol., **14**, 225-233.

**CARROLL K. K., 1982**

Hypercholesterolemic and atherosclerosis effects of dietary protein.  
Fed. Proc., **41**, 2792-2796.

**CARROLL K. K., GIOVANETTI P. M., HUFF M. W., MAOSE O., ROBERTS D. C. K., 1978**

Hypocholesterolemic effect by substituting soybean protein for animal protein in the diet of healthy young women.

Am. J. Clin. Nutr., **31**, 1312-1321.

**CARROLL K. K., HUFF M. W., ROBERTS D. C. K., 1979**

Vegetable protein and lipid metabolism. In : "Soy protein and human nutrition", WILCKE H. L., HOPKINS D. T., WAGGLE D. H. eds, Academic Press, New-York, p 261-280.

**CASPARY W. F., ELSENHANS B.N., SÜFKE U., PTOK M., BLUME R., LEMBCKE B., CREUTZFELDT W., 1980**

Effect of dietary fiber on absorption and motility.  
Front. Horm. Res., **7**, 202-217.

**CHAKKRABORTY B. K.; RANDOLPH H. E., 1972**

Stabilization of calcium-sensitive plant proteins by K-carrageenans.  
J. Food Science, **37**, 719-721.

**CHANDRASIRI V., BAU H. M., VILLAUME C., GIANNANGELI F., LORIENT D., MEJEAN L., 1987**

Effet de la germination de la graine de soja sur la composition et la valeur nutritionnelle de sa farine.  
Sci. Alim., **8**, 139-150.

**CHANDRASIRI V., VILLAUME C., BAU H. M., MEJEAN L., 1991**

Effects of the nature of dietary proteins, lecithin and methionine supplementation on rat plasma lipids.  
Arch. Internat. Physiol. Biochem. Biophys., **99**, 291-295.

**CHERBUT C., ALBINA E., CHAMP M., DOUBLIER J. L., LECANNU G., 1990**

Action of guar gum on the viscosity of digestive contents and on gastrointestinal motor function in pigs.  
Digestion, **46**, 205-213.

**COURTOIS J. E., LE DIZET P., 1970**

Recherches sur les galactomannanes. IV. Action de quelques mannanes sur divers galactomannanes.

Bull. Soc. Chim. Biol., **52**, 15-22.

**CREGER C. R., GUZMAN V. A. de, COUCH J. R., 1970**

Effect of guar gum on cholesterol levels of chickens.

Nutr. Rep. Int., **2**, 243-247.

**CUMMINGS J. H., HILL M. J., JENKINS D. J. A., PEARSON J. R., WIGGINS H. S., 1976**

Change in fecal composition and colonic function due to cereal fiber.

Am. J. Clin. Nutr., **29**, 1468-1473.

**DAUBERT B. T., 1951**

Chemical composition of soybean oil. In : "Soybean and soybean products", MARLEY K. S., ed. Intersciences, New-York, p 157.

**DEA J. C. M., 1979**

Interactions of ordered polysaccharides structure. Synergism and freeze-thaw phenomena. In "Polysaccharides in food", BLANSHARD J. M. V., MITCHELL J. R., eds., London, Butterworth.

**DEL VALLE F. R., 1981**

Nutritional qualities of soya protein as affected by processing.

J. A. O. C. S., **58**, 419.

**DEWAR E. T., MADDY M. L., 1970**

Faecal excretion of degraded and nature carrageenan by the young rat.

J. Pharm. Pharmac., **22**, 792-793.

**DICKERSON J. W. T., HUGUES P. C. R., MC ANULTY P. A., 1972**

The growth and development of rats given a low protein diet.

Br. J. Nutr., **27**, 527.

**DOUBLIER J. L., THIBAUT J. F., 1984**

Les agents gélifiants et épaississants de nature glucidique. In : " Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires", MULTON J. L., ed, Tec. Doc., Lavoisier, Paris, p.305-341.

**EBIHARA K., SCHNEEMAN B. O., 1989**

Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats.

J. Nutr., **119**, 1100-1106.

**EDWARDS C. A., BLACKBURN N. A., 1987**

Viscosity of food gums determined in vitro related to their hypoglycemic actions.

Am. J. Clin. Nutr., **46**, 72-77.

**ELSENHANS B., BLUME R., CASPARY W. F., 1981**

Long-term feeding of unavailable carbohydrate gelling agents. Influence of dietary concentration and microbiological degradation on adaptative response in the rat.

Am. J. Clin. Nutr., **34**, 1837-1848.

**ELSENHANS B., SÜFKE U., BLUME R., CASPARY W. F., 1980**

The influence of carbohydrate gelling agents on rat intestinal transport of monosaccharides and neutral amino-acids "in vitro".

Clin. Sci., **59**, 373-380.

**ERDMAN J. W., 1981**

Effects of soya protein on mineral availability.

J. A. O. C. S., **58**, 489-493.

**ERDMAN J. W., FORDYCE E. J., 1989**

Soy products and the human diet.

Am. J. Clin. Nutr., **49**, 725-735.

**ERSHOFF B. H., WELLS A. F., 1962**

Effects of methoxyl content on anticholesterol activity of peptic substances in the rats.

Expl. Med. Surg., **20**, 272-276.

**EVELYN J. 1664**

Pomona, or an appendix concerning fruit trees. In : "Relation to cider and several ways of ordering it. Supplement. Aphorisms concerning cider", MARTIN P. J., ALLESTRY J. A., LONDON.

**FALK J. D., NAGYVARY J. J., 1982**

Exploratory studies of lipid-pectin interaction.

J. Nutr., **112**, 182-188.

**FARENBACH M. J., RICCARDI B. A., GRANT W.C., 1966**

Hypocholesterolemic activity of mucilaginous polysaccharides in white Leghorn Cockerels.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **123**, 321-326.

**FELDMAN D. S., HOFMAN R., GAGNON J., SIMPSON J., 1987**

Statview II. La solution pour l'analyse de données et la représentation graphique. Ed. Alpha système diffusion, Grenoble, 273 p.

**FERNANDEZ M. L., TREJO A., MC NAMARA D., 1990**

Pectin isolated from Prickly Pear (*Opuntia Sp.*) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs.

J. Nutr., **120**, 1283-1290.

**FISHER H., GRIMINGER P., WEISS H. S., 1964**

Avian atherosclerosis : retardation by pectin.

Science, **146**, 1063-1064.

**FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1972**

GRAS (generally recognized as safe). Food ingredients : carrageenan, PB-221206.

**FOOD and NUTRITION BOARD, 1980**

Recommended Dietary allowances, 9th ed., National Academy of Sciences, Washington, D. C.

**FUSE K., BAMBA T., HOSODA S., 1989**

Effects of pectin on fatty acid and glucose absorption and on thickness of unstirred water layer in rat and human intestine.

Dig. Dis. Sci., **44**, 1109-1116.

**GATFIELD I. L., STUTE R., 1972**

Enzymatic reaction in the presence of polymers. The competitive inhibition of trypsin by lambda-carrageenan.

Febs Letters, **28**, 29-31.

**GARGOURI Y., JULIEN R., PIERONI G., VERGER R., SARDA L., 1984**

Studies on the inhibition of pancreatic and microbial lipases by soybean proteins.

J. Lip. Res., **25**, 1214-1221.

**GAUTHIER S. F., VACHON C., SAVOIE L., 1986**

Enzymatic conditions of an "in vitro" method to study protein digestion.

J. Food Sci., **51**, 960-964.

**GILLBERG L., TORNELL R., 1976**

Preparation of rapeseed protein isolates. Precipitation of rapeseed proteins in the presence of polyacids.

J. Food Science, **41**, 1070-1075.

**GLAHN P. E., 1982**

Desserts lactés, gélifiants et carraghénates.

La technique laitière, **969**, 41-43.

**GLICKSMAN M., 1969**

Gum technology in the food industry.

Academic Press New-York.

**GLICKSMAN M., 1976**

Hydrocolloïdes utilisation in fabricated foods.

Cereal. Fds. World, **21**, 17-23.

**GLICKSMAN M., 1979**

Gelling hydrocolloïdes in food product applications. In : "Polysaccharides in foods", BLANSHARD J. M. V., MITCHELL J. R., eds. London Butterworth p 185-204.

**GLICKSMAN M., 1983**

Red seaweed extracts (agar, carrageenan, furcellaran). In : "Food hydrocolloïdes", GLICKSMAN M., ed, CRC Press, Boca Raton, **2**, p. 73-113.

**GLICKSMAN M., 1987**

Utilization of seaweed hydrocolloids in the food industry.

Hydrobiologia, **151/152**, 31-47.

**GRANT G. T., MORRIS E. R., REES D. A., SMITH P. J., THOM D., 1973**

Biological interactions between polysaccharides and divalent cations. Egg-box model.

Febs letters, **22**, 195.

**GRASSO P., SHARRAT M., CARPANINI F. M. B., GANGOLI S. D., 1973**

Studies on carrageenan and large-bowel ulceration in mammals.

Food Cosmet. Toxicol., **11**, 555-564.

**GUERMANI L., VILLAUME C., BAU H. M., MEJEAN L., NICOLAS J. P., 1992**

Effect of different kinds of dietary casein on blood cholesterol and triglycerides in pair fed rats.

Nutrition, **8**, 101-104.

**HANSEN A. M. T., 1982**

Hydrocolloid-protein interactions. Relationship to stabilization of fluid milk products. A review. In : "Gums and stabilizers for the food industry. Interactions of hydrocolloids", Progress in Food and Nutrition Sciences, PHILLIPS G. O., WEDLOCK D. J., WILLIAMS P. A., eds. London, Pergamon Press, p. 127-138.

**HARMUTH-HOENE A. E., SCHWERDTFEGER E., 1979**

Effect of indigestible polysaccharides on protein digestibility and nitrogen retention in growing rats.

Nutr. Metab., **23**, 399-407.

**HARRIS P., 1980**

Changes in adipose tissue of the rat due to early undernutrition followed by rehabilitation. 1. Body composition and adipose tissue cellularity.

Br. J. Nutr., **43**, 15-26.

**HARRISSON J., MC NEIL K. G., JANIGA A., 1966**

The effect of sodium alginate on the absorption of calcium.  
Biochem. J., **41**, 273-534.

**HAVEL R. J., EDER H.N, BRANDGON J. H., 1955**

The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum.  
J. Clin. Nutr., **34**, 1345-1353.

**HAWKINS W. W., YAPHE W., 1965**

Carrageenan as a dietary constituent for the rat : fecal excretion, nitrogen absorption and growth.  
Can. J. Biochem., **43**, 479-484.

**HESP R., RAMSBOTTON B., 1965**

Effect of sodium alginate in inhibiting uptake of radio-strontium. IV. Estimation of suppressant effect of sodium alginate.  
Nature, **208**, 1341-1342.

**HILLMAN L. C., PETERS S. G., FISHER C. A., POMARE E. W., 1985**

The effects of the fiber components pectin, cellulose and lignin on serum cholesterol levels.  
Am. J. Clin. Nutr., **42**, 207-213.

**HODGKINSON A., NORDIN B. E. D., HAMBLETON J., OXBY C. R., 1967**

Radiostrontium absorption in man : suppression by calcium and by sodium.  
Can. Med. Assoc. J., **97**, 1139-1143.

**HOLT S., HEADING R. C., CARTER D. C., PRESCOTT L. F., TOTHILL P., 1979**

Effect of gel fibre on gastric emptying and absorption of glucose and paracetamol.  
Lancet, **1**, 636-639.

**HOLZEIMER G., WINNE D., 1986**

Influence of dietary fiber and intraluminal pressure on absorption and pre-epithelial diffusion resistance (unstirred layer) in rat jejunum "in situ".  
Arch. Pharm., **334**, 514-524.

**HORAN F. E., 1976**

World soybean research, HILL L. D., ed. Interstate Printers and Publishers, Inc.,  
Dauville, Illinois, p. 775.

**HOUCK J. C., BHAYANA J., LEE T., 1960**

The inhibition of pepsin and peptic ulcers.  
Gastroenterology, **39**, 196-200.

**HUFF M. W., HAMILTON R. M. G., CARROLL K. K., 1977**

Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, cholesterol free, semi-purified diets,  
effects of dietary proteins, protein hydrolysates and amino acids mixtures.  
Atherosclerosis, **28**, 187-195.

**IFT, 1975**

Sulfites as food additives : a scientific statut summary.  
Food Technol., **21**, 117.

**IKEGAMI S., HARADA H., TSUSHIHASHI N., NAGAYAMA S., NISHIDE E.,  
INNAMI S., 1984**

Effect of indigestible polysaccharides on pancreatic exocrine secretion and biliary  
output.  
J. Nutr. Sci. Vitaminol., **30**, 515-523.

**IKEGAMI S., TSUCHIHASHI F., HARADA H., TSUCHIHASHI N., NISHIDE  
E., INNAMI S., 1990**

Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic biliary secretion and  
digestives organs in rats.  
J. Nutr., **120**, 353-36.

**ILLMAN R. J., TOPPING D. L., MC INTOSH G. H., TRIMBLE R. P., 1988**

Hypocholesterolemic effects of dietary propionate : studies in whole animal and  
perfused rat liver.  
Ann. Nutr. Metab., **32**, 97-107.

**IMESSON A. P., LEDWARD D. A., MITCHELL J. R., 1977**

On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins.  
J. Sci. Fd. Agr., **28**, 661-668.

**IMESSON A. P., 1990**

Applications of alginate. In : "Gums and stabilizers for the food industry", PHILLIPS G. O., WEDLOCK D. J., WILLIAMS P. A., eds. London, Pergamon Press, 5, p. 553-569.

**INOCULUM n°16, 1986**

**INOCULUM n°31, 1987**

**INOCULUM n°39, 1990**

**ISHIMORI A., 1971**

Mechanisms of the antipeptic action of anionic carbohydrate and its clinical application for the treatment of peptic ulcer.

Tohoku J. Expl. Med., **103**, 141-157.

**ISTFAN N., MURRAY E., JANGHORBANI M., EVANS W. J., YOUNG V. R., 1983**

The nutritional value of a soy protein concentrate (Staro-3200) for long term protein nutritional maintenance in young men.

J. Nutr., **113**, 2524-2534.

**JARDILLIER J. C., ACCARY J. P., DUBRASQUET M., AGNERAY J., 1969**

Détermination de l'activité et du mode d'action de polysaccharides antipeptiques.

C. R. Soc. Biol., **163**, 1085-1089.

**JENKINS D. J. A., GOFF D. V., LEEDS A. R., ALBERTI K. G. M. M., WOLEVER T. M. S., GASSULI M. A., HOCKADAY T. D. R., 1976**

Unabsorbable carbohydrate and diabetes : decreased post-prandial hyperglycemia.

Lancet, **2**, 172-174.

**JENKINS D. J. A., WOLEVER T. M. S., LEEDS A. R., GASSULI M. A., HAISMAN P., DILAWARI J., GOFF D. V., METZ G. L., ALBERTI K. G. M. M., 1978**

Dietary fibers, fiber analogues and glucose tolerance : importance of viscosity.  
Br. Med. J., 1, 1392-1394.

**JENKINS D. J. A., HILL M. J., CUMMINGS J. H., 1975**

Effect of wheat fiber on blood lipids, fecal steroid excretion and serum iron.  
Am. J. Clin. Nutr., 28, 1408-1411.

**KAKADE M. L., HOFF D. E., LIENER I. E., 1973**

Contribution of trypsin inhibition to the deteriorious effects of unheated soybeans fed to rats.

J. Nutr., 103, 1772.

**KATYA-KATYA M., ENSMINGER A., MEJEAN L., DEBRY G., 1984**

Effect of zinc supplementation on plasma cholesterol levels.  
Nutr. Res., 4, 633-638.

**KAWAMURA S., 1967**

Quantitative paper chromatography of sugars of the cotyledon, hull, and hypocotyledon of soybeans of selected varieties.

Kagawa Univ. Fac. Technol. Bull., 15, 117.

**KESTIN M., MOSS R., CLIFTON P. M., NESTEL P. J., 1990**

Comparative effects of three cereal brans on plasma lipids blood pressure, and glucose metabolism in mildly hypercholesterolemic men.

Am. J. Clin. Nutr., 52, 661-666.

**KEYS A. GRANGE F., ANDERSON J. T., 1961**

Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man.

Proc. Soc. Expl. Biol. Med., 106, 555-558.

**KLEVAY L. M. (1975)**

Coronary heart disease : the zinc / copper hypothesis.

Am. J. Clin. Nutr., 28, 764-774.

**KRITCHEVSKY D., TEPPER S. A., CZARNECKI S. K., KLURFELD D. M., 1987**

Dietary protein and atherosclerosis.

J. A. O. C. S., **64**, 1167-1171.

**KRITCHEVSKY D., TEPPER S. A., CZARNECKI S. K., KLURFELD D. M., STORY J. A., 1981**

Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets, a beef protein and textured vegetable protein.

Atherosclerosis, **39**, 169-175.

**KRITCHEVSKY D., 1979**

Vegetable protein and atherosclerosis.

J. A. O. C. S., **56**, 135-140.

**KRITCHEVSKY D., TEPPER S. A., CZARNECKI S. K., KLURFELD D. M., 1982**

Atherogenicity of animal and vegetable protein. Influence of the lysine to arginine ratio.

Atherosclerosis, **41**, 429-431.

**KUYVENOVEN M. W., WEST C. E., VAN DER MEER R., BEYNEN A. C., 1986**

Fecal steroid excretion in relation to the development of casein-induced hypercholesterolemia in rabbit.

J. Nutr., **116**, 395-404.

**LAIRO D., BOREL P., TERMINE R., GRATAROLI C., CHABERT C., HAUTON J. C., 1985**

Evidence for a proteinic inhibitor of pancreatic lipase in cereals, wheat bran and wheat germ.

Nutr. Rep. Intern., **32**, 1107-1113.

**LAIRO D., LACOMBE O., BOREL P., CORRAZE G., NIBBELINK M., CHAUTAN M., CHANUSSOT F., LAFONT A., 1987**

Beneficial effect of wheat germ on circulating lipoproteins and tissue lipids in rats fed a high fat, cholesterol containing diet.

J. Nutr., **117**, 838-845.

**LEDWARD D. A., 1979**

Protein-polysaccharides interactions. In : " Polysaccharides in food", BLANSHARD J. M. V., MITCHELL J. R., eds, London, Butterworth, p 205-218.

**LEVEY S., SHEINFELD S., 1954**

The inhibition of the proteolytic action of pepsin by sulfate containing polysaccharides. Gastroenterology, **27**, 625-628.

**LIENER I. E., 1981**

Factors affecting the nutritional quality of soya products. J. A. O. C. S., **58**, 406.

**LIENER I. E., KAKADE M. L., 1980**

Protease inhibitors. In : "Toxic constituents of plant stuffs", LIENER ed., 2nd ed., New-York Academic Press, p. 7-71.

**LIFE SCIENCES RESEARCH OFFICE, FASEB, 1987**

Physiological effects and health consequences of dietary fiber. Pich S. ed., Federation of American societies for Experimental Biology, Bethesda M.9.

**MARCUS R., WATT J., 1969**

Seaweed and ulcerative colitis in the laboratory animal. Lancet, **2**, 489.

**MARTIN F., BERARD A., VAGNE M., LAMBERT R., 1965**

Etude électrophorétique de l'action des différents polysaccharides sulfatés sur la protéolyse peptique. C. R. Soc. Biol., **159**, 1582-1585.

**MARTIN M., 1990**

Le soja dans l'alimentation humaine : une perspective mondiale. Symposium Eurosoja 5-7 septembre, Strasbourg.

**MARTINEZ W. H., 1979**

The importance of functionality of vegetable protein in foods. In : "Soy protein and human nutrition". WILCKE H. L., HOPKINS D. T., WAGGLE D. H., eds. Academic Press, New-York, p. 53-77.

**MAURON J., MOTTU F., BUJARD E., EGLI R. H., 1955**

The availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder. In vitro digestion studies.

Arch. Biochem. Biophys., **59**, 433-451.

**MAZUR A., REMESY C., GUEUX E., LEVRAT M. A., DEMIGNE C., 1990**

Effects of diets rich in fermentable carbohydrates on plasma lipoprotein levels on lipoprotein catabolism in rats.

J. Nutr., **120**, 1037-1045.

**MC NELLY W. H., PETTITT D. J., 1973**

Algin. In : "Industrial gums. Polysaccharides and their derivatives", WHISTLER R. L., BE MILLER J. N., eds, Academic Press, New-York, p. 49-83.

**MILLIS J., REED F. B., 1947**

The effect of sodium alginate on the absorption of calcium.

Biochem. J., **41**, 273-275.

**MOLL M., MOLL N., 1990**

Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques. Chimie et santé. Masson, Paris.

**MORETAIN-GAMBLIN M. P., 1973**

Valeur nutritionnelle des laits gélifiés aromatisés.

Cah. Nutr. Diet., **8**, 269-279.

**NAUDE S. P. E., PRINSLOO J. G., HAUPT C. F., 1979**

Comparison between a humanized cow's milk and soy product for premature infants.

S. Afr. Med. J., **55**, 982-986.

**NILSON H. W., SCHALLER J.W., 1941**

Nutritive value of agar and Irish Moss.

Food Res., **6**, 461-469.

**NILSON H. W., WAGNER J. A., 1959**

Feeding test with carrageenin.

Food Res., **24**, 235-239.

**NISHINA P. M., SCHNEEMAN B. O., FREEDLAND R. A., 1991**

Effects of dietary fibers on non fasting plasma lipoprotein and apolipoprotein levels in rats.

Lipids, **121**, 431-437.

**NOLEN G. A., 1972**

Effect of various restricted dietary regimes on the growth, health and longevity of albino rats.

J. Nutr., **102**, 1477-1494.

**OAKENFULL D. G., TOPPING D. L., ILLMAN R. J., FENWICK D. E., 1984**

Prevention of dietary hypercholesterolemia in the rat by soya bean and quillaja saponin.

Nutr. Rep. Int., **29**, 1039-1046.

**O'DELL B. L., 1979**

Effect of soy protein on trace mineral availability. In : "Soy protein and human nutrition". WILCKE H. L., HOPKINS D. T., WAGGLE D. H., eds. Academic Press, New-York, p. 187-204.

**OKASAKI S., MATSUEDA S., OHNAKA M., NIIYAMA Y., 1981**

Effect of various periods of protein restriction immediately after weaning on subsequent catch-up growth in rats.

Nutr. Rep. Int. , **23**, 471-484.

**OSBORNE T. B., CAMPBELL G. F., 1898**

Protein of the soybean.

J. A. O. C. S., **20**, 419.

**PASSEMORE et al., 1973**

Handbook on Human Nutritional Requirements, World Health Organization, Geneva.

**PAUL A. A., SOUTHGATE D. A. T., 1978**

THE MC CANCE and WIDDOWSON'S composition of foods. Elsevier North Holland Biomedical Press. Amsterdam, New-york, Oxford.

Fourth revised and extended edition of MRC. Special report n°297.

**PEDERSEN J. K., 1990**

Seaweed extracts. Sources and production methods. In : "Gums and stabilizers for the food industry". PHILLIPS G. O., WEDLOCK D. J., WILLIAMS P. A., eds. London, Pergamon Press, **5**, 475-481.

**PEREIRA J., 1843**

Elements of materia medica and therapeutics.

Sea and Blanchard, Philadelphia, **1**, 35.

**PIPER D. W., FENTON B., 1961**

Effect of sulfated polysaccharides on peptic digestion.

Gastroenterology, **40**, 638-643.

**POLLACK O. J., KRITCHEVSKY D., 1981**

Sistosterol.

S. Karger, Basel, p 220.

**RACKIS J. J., 1972**

Biological active components. In: "Soybeans : chemistry and technology. II. Proteins".

SMITH A. K., CIRCLE J. J., eds. WESTPORT C. T., Avi Publishing Co., p.158-202.

**RACKIS J. J., MC GHEE J. E., BOOTH A. N., 1975**

Biological threshold levels of soybean trypsin inhibitors by rat bioassay.

Cereal Chem., **52**, 85-92.

**RACKIS J. J., WOLF W. J., BAKER E. C., 1986**

Protease inhibitor activity in plant foods : content and inactivation. In : "Nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods". FRIEDMAN M., ed. Plenum Press, New-york, p.299-347.

**REES D. A., 1963**

Characterization of carbohydrate sulfate by acid hydrolysis.  
Biochem. J., **88**, 343-345.

**REES D. A., 1969**

Structure, conformation and mechanism in the formation of polysaccharides gels and networks.

Adv. Carboh. Chem. Biochem., **24**, 267-332.

**REPPAS C., PEYER J. H., SIROIS P. J., DRESSMAN J. B., 1991**

Effect of hydroxymethyl cellulose on gastrointestinal transit and luminal viscosity in dogs.

Gastroenter., **100**, 1217-1223.

**RHEE M., PITTZ E. P., ABRAHAM R., 1981**

Effect of combinations of Iridea carrageenan and cellulose on the absorption of some nutrients from the alimentary tract of rats.

Ecotoxicol. Environ. Safety, **5**, 1-14.

**ROBBIN R. C., 1978**

Effect of ratio of enzymes to substrate on amino-acid patterns released from protein quality.

Nutr. Res., **48**, 44.

**ROE J. H., 1955**

The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent.

J. Biol. Chem., **212**, 335-343.

**SAINT BLANQUAT G. de, PASCAL G., 1984**

Les additifs. Dans : "Toxicologie et sécurité des aliments", DERACHE E., ed., Tec. Doc.. Lavoisier, Paris, p. 247-280.

**SAIO K., WATANABE T., 1968**

Structure of mature soybean cotyledon.

J. Food Sci. Technol. Jap., **15**, 290.

**SATOUCHI K., MATSUSHITA S., 1976**

Purification and properties of a lipase inhibiting protein from soybean cotyledons.  
Agr. Biol. Chem., **40**, 889-897.

**SAVOIE L., GAUTHIER S. F., 1986**

Dialysis cell for the "in vitro" measurement of protein digestibility.  
J Food Sci., **51**, 494-498.

**SHARMA R. D., 1987**

An evaluation of hypercholesterolemic activity of some uncommon legums.  
Nutr. Res., **7**, 351-363.

**SHARRAT M., DEARN P., 1972**

An radiographic study of propylene glycol alginate in the mouse.  
Food Cosm. Toxicol., **10**, 35-40.

**SHIAU S. Y., WU H. J., HUANG Y. L., LIU L. C., 1989**

Effects of dietary agar on protein digestibility in rats.  
Nutr. Rep. Int., **39**, 281-290.

**SHINNICK FRED L., LONGACRE M. J., INK S. L., MARLETT J. A., 1988**

Oat fiber : composition versus physiological function in rats.  
J. Nutr., **118**, 144-152.

**SHOREY R. L., BAZAN B., LO G. S., STEINKE F. H., 1981**

Determinants of hypercholesterolemic response to soy and animal protein based diets.  
Am. J. Clin. Ntr., **34**, 1769-1778.

**SIMONS L. A., HICHIE J. B., RUYS J., 1977**

Treatment of hypercholesterolemia with oral lecithin.  
Aust. Nz. J. Med., **7**, 262-.

**SIRTORI C. R., 1983**

Soybean protein : a hypocholesterolemic drug?  
Trends Pharmacol., **4**, 43.

**SIRTORI C. R., GATTI E., MANTERO O., 1979**

Clinical experience with the soybean protein diet in treatment of hypercholesterolemia.

Am. J. Clin. Nutr., **32**, 1645-1658.

**SIRTORI C. R., GALLI G., LOVATI M. R., CARRARA P., BOSISIO E., KIENLE M. G., 1984**

Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rats.

J. Nutr., **114**, 1493-1500.

**SKORYNA S. C., PAUL T. M., WAALDROM-EDWARD D., 1965**

Studies on inhibition of intestinal absorption of radioactive strontium. IV. Estimation of suppressant effect of sodium alginate.

Can. Med. Ass. J., **93**, 404-407.

**SMITH A. K., CIRCLE S. J., 1972**

Soybeans : chemistry and technology. I. Proteins.

Avi Publishing Co., Westport, Connecticut, p. 470.

**SPILLER G. A., FARQUHAR J. W., GATES J. E., NICHOLS S. F., 1991**

Guar gum and plasma cholesterol. Effect of guar gum and an oat fiber source on plasma lipoproteins and cholesterol in hypercholesterolemic adults.

Ather. Thromb., **11**, 1204-1208.

**STAINBY G., 1980**

Proteinaceous gelling systems and their complexes with polysaccharides.

Food Chem., **6**, 3-14.

**STANCIOFF D. J., RENN D. W., 1975**

Physiological effects of carrageenan. In : "Physiological effects of food carbohydrates", JEANES I., HODGE J., eds, ACS, Symposium serie 15, American Chemical Society, Washington, p. 282-295.

**STANFORD E. E. C., 1881**

British Patent 142.

**STANLEY N. F., 1982**

The effect of carrageenan on peptic and tryptic digestion of casein.  
Prog. Fd. Nutr. Sci., **6**, 161-170.

**STEINHART H., KIRCHEGESSNER R., 1973**

In vitro-Verdauungsapparatur zur enzymatischen Hydrolyse von Proteinen.  
Arch. Tierernährung, **23**, 449.

**STEVENS J., LEVITSKY D. A., VAN SOEST P. J., ROBERTSON J. B.,  
KALWARF H. J., ROE D. A., 1987**

Effect of psyllium gum and wheat bran on spontaneous energy intake.  
Am. J. Clin. Nutr., **46**, 812-817.

**STRUTHER B. J., MAC DONALD J. R., DAHLGREEN R. R., HOPKINS D.  
T., 1983**

Effects on the monkey, pig and rat pancreas of soy products with varying levels of trypsin inhibitor and comparison with the administration of cholecystokinin.  
J. Nutr., **113**, 86.

**SUGANO M., YAMADA Y., YOSHIDA K., KASHIMOTO Y., TATSUO T.,  
KIMOTO M., 1988**

The hypercholesterolemic action of the undigested fraction of soybean protein in rats.  
Atherosclerosis, **41**, 115-122.

**TERPSTRA A. H. M., VAN TINTELEN G., WEST C. E., 1982**

The hypocholesterolemic effects of dietary soy protein in rats.  
J. Nutr., **112**, 810-812.

**TEXTER E. C., CHING-CHUNG, HIGINO C. I., TOWNE J. C., MEYER M.A.,  
COSEY E. L., 1967**

Comparison of estimated pectic activity by RISA and Hemoglobin methods of crystalline pepsin solutions of human gastric secretions and sulfated polysaccharides.  
Ann. N. Y. Acad. Sci., **140**, 734-743.

**THOM D., DEA I. C. M., MORRIS E. R., POWELL D. A., 1982**

Interchain association of alginate and pectin. In : "Gums and stabilizers for the food industry. Interaction of hydrocolloïds. Progress in food an nutrition science", PHILLIPS G. O., WEDLOCK D. J., WILLIAMS P. A., eds, London, Pergamon Press, p. 89-96.

**TOFT C., 1982**

Interactions between pectins and alginates. In : "Gums and stabilizers for the food industry. Interaction of hydrocolloïds. Progress in food an nutrition science", PHILLIPS G. O., WEDLOCK D. J., WILLIAMS P. A., eds, London, Pergamon Press, p. 7.

**TOMARELLI R. M., TUCKER W. D., BAUMAN L. M., SAVINI S., WEABER J. R., 1974**

Nutritional quality of processed milk containing carrageenan.  
J. Agr. Food Chem., **22**, 819-824.

**TORUN B., 1981**

Soybean and soy products in the feeding of children.  
J. A. O. C. S., **58**, 460-464.

**TORUN B., VITERI F. E., YOUNG V. R., 1981**

Nutritional role of soya protein for humans.  
J. A. O. C. S., **58**, 400-406.

**TORSODOTTIR I., ALPSTEN M., HOLM G., SANDBERG A. S., TOLLI J., 1991**

A small dose of soluble alginate-fiber affects post prandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes.  
J. Nutr. , **121**, 795-799.

**TOPPING D. L., 1991**

Soluble fiber polysaccharides : effects on plasma cholesterol and colonic fermentation.  
Nutr. Rev., **49**, 195-203.

**TOWLE G. A., 1973**

Carrageenan. In : "Industrial gums. Polysaccharides and their derivatives", WHISTLER

R. L., BE MILLER J. N., eds, Academic Press, New-york, p. 83-114.

**TSAI S., YAMADA K., MURAKAMI H., OMIKA H., 1989**

Effect of polysaccharides on textural characteristic of soy protein isolate emulsion.  
Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, **36**, 765-768.

**TULP O. L., NORTON E. S., 1981**

Effect of prolonged experimental protein malnutrition and refeeding on growth, adipose tissue development and body composition in rats.  
J. Nutr., **111**, 1145-1156.

**UZZAN A., DEFLY P., 1985**

Les utilisations industrielles des matières protéiques végétales. In : "Protéines végétales", GORDON G., ed., Tec. Doc., Lavoisier, APRIA, Paris, p. 585-593.

**UZZAN A., 1990**

Différents types et formes de protéines de soja : qualités et spécifications.  
Symposium Eurosoja, 5-6 septembre, Strasbourg.

**VAHOUNY G. V., TOMBES R., CASSIDY M. M., KRITCHEVSKY D., GALLO L. L., 1980**

Dietary fibers.V. Binding of bile salts, phospholipids and cholesterol from mixed micelles by bile acid sequestrant and dietary fibers.  
Lipids, **15**, 1012-1018.

**VAUGHAN O. W., FILER L. J. jr, CHURELLA, 1962**

The antipeptic effect of carrageenin on the peptic hydrolysis of various proteins.  
J. Agr. Food Chem., **10**, 517-519.

**VENTER C. S., VORSTER H. H., VAN DE NEST D. G., 1990**

Comparison between physiological effects of konjac glucomannan and propionate in baboons fed "western" diets.  
J. Nutr., **120**, 1046-1053.

**VIOLA S., ZIMMERMANN G., MOKADY S., 1970**

Effect of pectin and algin upon protein utilization digestibility of nutrients and energy in

young rats.

Nutr. Rep. Int., 1, 367-375.

**WAARD H. (de), REYVEN P. L. M., 1990**

The effects of quantity and type of dietary protein on the rehabilitation of rats after a period of energetic undernourishment.

Nutr. Milk Dairy J., 44, 33-42.

**WAGGLE D. H., KOLAR C. W., 1979**

Types of soy protein products. In : " Soy protein and human nutrition", WILCKE H. H., HOPKINS D. T., WAGGLE D. H., eds, Academic Press, New-York, p. 13.

**WALDROM-EDWARD D., PAUL T. M., SKORYNA S.C., 1965**

Suppression of intestinal absorption of radioactive strontium by naturally occurring non-absorbable polyelectrolytes.

Nature, 205, 1117-1118.

**WANG H. L., SWAIN E. W., KWOLER W. F., 1983**

Effect of soybean varieties on the yield and quality of tofu.

Cereal Chem., 60, 245.

**WARREN M. A., BEDI K. S., 1985**

The effect of lengthy period of undernutrition on food intake and on body and organs growth during rehabilitation.

J. Anat., 141, 65-75.

**WEINER M. L., 1991**

Toxicological properties of carrageenan.

Agents and Action, 32, 46-52.

**WHISTLER R. L., SMART C. L., 1953**

Polysaccharides chemistry. Academic Press, New-york.

**WILLIAMS L. D., 1970**

Symposium on vegetable proteins (Protein symposium 3). The British food manufacturing. Industries Research Association, London, p. 23.

**WILMURST P., CRAWLEY J. C. W., 1980**

The measurement of gastric transit time in obese subjects using  $^{24}\text{Na}$  and the effects of energy content and guar gum on gastric emptying and satiety.

Br. J. Nutr., **44**, 1-6.

**WOLF W. J., 1972**

What is protein?

Food Techn., **5**, 44.

**WOLF W. J., COWAN J. C., 1975**

"Soybean as food source". Revised edition. CRC Press, Cleveland, OHIO.

**WOLFE B. M., GIOVANETTI P. M., CHENG D.C. H., ROBERTS D. C. K., 1981**

Hypolipidemic effect of substituting soybean protein isolate for all meat and dairy product in the diet of hypercholesterolemic men.

Nutr. Rep. Int., **24**, 1187-1198.

**WRANG C. H., DAMODARAN S., 1990**

Thermal destruction of cysteine and cystine residues of soy protein under condition of gelation.

J. Food Sci., **55**, 1077-1080.

**YOUNG V. R., WAYLER A., GARZA C., 1984**

A long-term metabolic balance study in young men to assess the nutritional quality of an isolated soy protein and beef protein.

Am. J. Clin. Nutr., **39**, 8-15.

**ZEZULKA A. Y., CALLOWAY D. H., 1976**

Nitrogen retention in men fed varying levels of amino acids from soy protein concentrate with or without added L-methionine.

J. Nutr., **106**, 212-221.

# UNIVERSITE DE NANCY I

NOM DE L'ETUDIANT : Mademoiselle MOUECOUCOU Justine

NATURE DE LA THESE : DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I  
en ALIMENTATION NUTRITION

VU, APPROUVE ET PERMIS D'IMPRIMER

NANCY, le 18 NOV. 1992 n° 530

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DE NANCY I

