

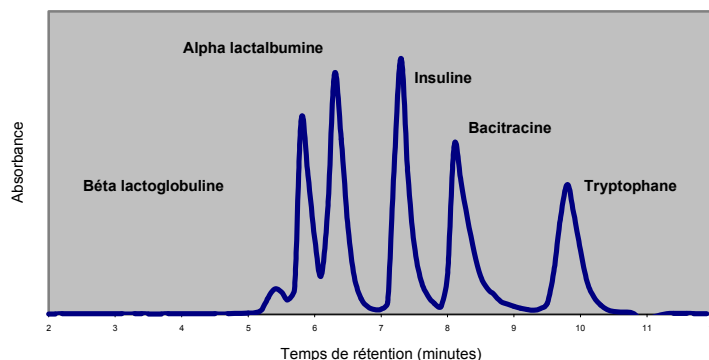
LA DETERMINATION DU PROFIL PEPTIDIQUE

L'hydrolyse enzymatique ou thermique des substances alimentaires est nécessaire pour améliorer la digestibilité protéique *in vivo* et diminuer le taux de réactions allergiques vis à vis de certaines protéines. Lors de l'hydrolyse des protéines, des polypeptides des peptides et des acides aminés sont libérés. Les sites de la protéine précurseurs de certaines allergies sont détruits diminuant ainsi le risque de réaction allergique.

Deux analyses peuvent être réalisées pour caractériser les hydrolysats : la mesure du degré d'hydrolyse (DH) et la détermination de la répartition des poids moléculaires. Le degré d'hydrolyse d'un produit est déterminé par le dosage de l'azote aminé libre (DH apparent) ou total (DH réel - méthode spectrophotométrique) et de l'azote total (méthode de Kjeldahl). Ce degré d'hydrolyse exprimé en pourcentage permet d'évaluer de façon globale l'action des enzymes sur le substrat et l'efficacité du procédé d'hydrolyse (température, pH) mais ne renseigne pas sur la contribution de chaque famille de molécules azotées (protéines, peptides, acides aminés).

Afin de compléter cette caractérisation, une analyse chromatographique est nécessaire. Les profils peptidiques ainsi obtenus permettront de comparer l'action de différentes enzymes sur un même substrat. La technique utilisée au laboratoire repose sur le principe de la perméation de gel : les molécules sont séparées selon leurs tailles, les plus petites molécules étant éluées en dernier. Une colonne spécifique de la gamme de poids moléculaires recherchés est utilisée en fonction des matrices à analyser.

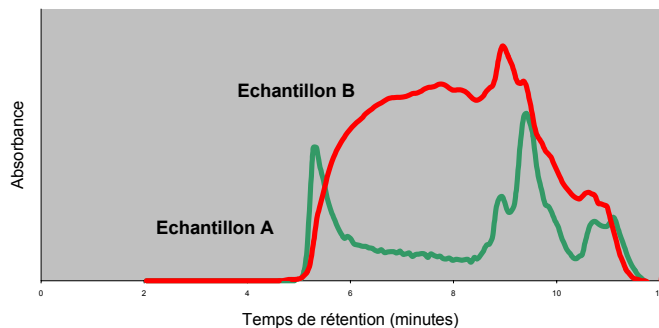
| Composés | Poids moléculaires (PM) en Daltons |
|---------------|------------------------------------|
| Protéines | PM > 10 000 |
| Peptides | 10 000 > PM > 200 |
| Acides aminés | 200 > PM |



Étalonnage d'une colonne de gel filtration.

Après solubilisation, l'échantillon est analysé par chromatographie liquide haute performance avec une détection dans l'UV. Grâce à un étalonnage externe couvrant une large gamme de poids moléculaires et à un logiciel spécifique, il est possible de quantifier les différents types de molécules constituant l'échantillon.

La répartition pondérale recherchée est fonction de l'application de l'hydrolysats. Dans le milieu médical par exemple, on considère qu'en dessous de 5000 Daltons, le pourcentage d'antigénicité des protéines de lait est inférieur à 1.



Profils peptidiques de deux hydrolysats issus d'une même matière première. (résultats NUTRINOV)

| PM (Daltons) | Échantillon A | Échantillon B |
|-------------------|---------------|---------------|
| PM > 10 000 | 22 % | 14 % |
| 10 000 > PM > 200 | 45 % | 66 % |
| 200 > PM | 33 % | 20 % |

L'échantillon B présente un taux d'hydrolyse des poids moléculaires supérieurs à 10000 Da plus important : le pourcentage de protéines a diminué au profit de celui des peptides. Cependant, le traitement effectué sur cet échantillon n'a pas permis d'obtenir la même quantité d'acides aminés libres.