

ÉTUDE DES EFFETS THERMIQUES SUR LA VALEUR NUTRITIONNELLE DES PROTÉINES DE TOURTEAU DE SOJA

I. — COMPARAISON DE QUELQUES MESURES BIOCHIMIQUES (DONNÉES PARTIELLES)

S. Z. ZELTER

avec la collaboration technique de Michelle FISZLEWICZ, S. GUÉNEAU et. J. KASCHTGES
et de C. DEFROMONT avec F. DOUARD

*Laboratoire de Recherches sur la Conservation et l'efficacité des Aliments,
I. N. A. 16 rue Claude-Bernard, Paris (V^e)
Atelier expérimental de l'Institut des Corps gras, I. T. E. R. G.,
5, Boulevard de Latour-Maubourg, Paris (VII^e)*

SOMMAIRE

La présente étude est effectuée pour : 1° préciser l'association des « paramètres » de température, de durée et d'humidité permettant l'obtention de protéines de soja possédant le maximum d'efficacité biologique ; 2° mettre au point un test de laboratoire pour détecter spécialement la cuisson excessive.

A partir d'un seul lot de graines de soja délipidées, à l'hexane, trente échantillons de tourteau sont fabriqués à l'aide d'un équipement semi-industriel, qui reproduit correctement les procédés technologiques industriels. Les paramètres de cuisson expérimentés sont : *humidité ambiante* : 5-12 et 20 p. 100 ; *température* : 100°, 110°, 120°, 130° et 140°C ; *durée d'application* de chacune de ces températures : 10, 20, 40 et 80 minutes.

Les données rapportées ici intéressent les 20 échantillons cuits dans une humidité ambiante de 20 p. 100. Elles concernent les mesures biochimiques suivantes : activité uréasique, solubilité de l'azote dans l'eau à pH 7,5 et dans NaOH 0,05 N ; taux de digestion tryptique de l'azote, réactions colorées au rouge de crésol et à l'orangé-G.

Parmi ces mesures (fig. 1, 2, 3), seuls l'index d'absorption du rouge de crésol (FRÖLICH) et le taux de digestibilité tryptique « corrigée » permettraient éventuellement une appréciation satisfaisante de l'intensité du traitement thermique. Leur validité devrait cependant être confirmée par des mesures biologiques. Des essais sont en cours sur porcs, poussins et rats.

Les protéines de soja délipidées, incomplètement ou excessivement cuites ont une valeur nutritionnelle médiocre. Un traitement thermique prolongé est plus coûteux que l'emploi de températures très élevées pendant des laps de temps très courts ;

la seconde solution serait certes préférable, mais comporte deux risques opposés :

— un traitement trop court ne détruirait pas intégralement toutes les substances antinutritionnelles, notamment les facteurs antitrypsiques ;

— des températures exagérées, plus encore que des longues durées d'application (ZIMMERMANN, 1952), favorisent des réactions de type Maillard. Celles-ci engendrent des complexes irréversibles entre acides aminés et sucres (mélanoides) qui résistent à l'action des enzymes protéolytiques ; un chauffage excessif peut également détruire une part notable d'éléments nutritionnels primordiaux (acides aminés essentiels, thiamine, etc.).

L'essai biologique demeure la meilleure mesure de la valeur nutritionnelle des protéines ; il est complexe et laborieux, et serait avantageusement remplacé par des techniques plus simples et précises.

Les techniques biochimiques paraissent séduisantes ; mais leur validité dépend de leur accord avec la réponse du réactif animal.

Une revue relativement récente (LIENER, 1958) témoigne du grand nombre de recherches entreprises sur ce sujet. Elle montre que le rapport entre les résultats de la plupart des tests biochimiques admis et ceux de l'essai biologique, est faible. D'autre part, si l'existence d'une activité uréasique dans un tourteau de soja est un indice certain de sous-cuisson, aucune mesure *in vitro* ne permet un diagnostic valable de la surcuisson.

Deux faits expliqueraient en grande partie l'insuffisance de ces techniques :

— la quasi-totalité des résultats publiés concernent soit des échantillons préparés en laboratoire (autoclave ou étuve) par des procédés fort éloignés de ceux de l'industrie, soit des échantillons du commerce dont l'histoire technologique est très imprécise. Or les résultats obtenus dans ces conditions expérimentales ne sont guère transposables aux procédés industriels (BELTER et SMITH, 1952) ;

— l'origine de la graine, son stockage, son conditionnement en vue de la délipidation, les paramètres de la cuisson (température, durée, humidité ambiante) constituent autant de facteurs qui influent sur la qualité du produit fini.

Dans la mesure où ces écueils seraient évités, une étude comparée de la signification nutritionnelle des mesures biochimiques les plus spécifiques de la qualité des protéines de soja faciliterait la mise en évidence d'une combinaison optimum de paramètres de cuisson. Pour atteindre cet objectif, nous avons considéré qu'il fallait au moins :

— opérer avec un équipement semi-industriel permettant de reproduire assez correctement les procédés industriels :

— éliminer le plus possible de facteurs étrangers à la technologie, dont l'interférence conduirait à une interprétation erronée des données ;

— éprouver la signification nutritionnelle des tests par référence aux mesures biologiques. Le porc et la volaille grands consommateurs de tourteaux de soja, conviennent plus spécialement comme réactif animal en raison de leur sensibilité, à la qualité des protéines.

Nous avons fabriqué à cette fin une trentaine d'échantillons expérimentaux de tourteau de soja, à l'aide de l'équipement semi-industriel dont l'Institut des Corps gras dispose dans son atelier expérimental du Bouchet.

MATÉRIEL, ET TECHNIQUES

A. — *Technologie expérimentale des tourteaux de soja*

Deux tonnes de graines de soja sont nettoyées et homogénéisées. Des lots de 150 kg de graines sont laminés en flocons, dont 60 p. 100 ont une épaisseur inférieure à 0,5 mm ; ils subissent pendant 70 à 140 minutes, un préchauffage à une température inférieure à 100°C et sont délipidés à l'hexane (essence B) dans un extracteur rotatif. Après élimination des solvants, la masse délipidée est asséchée et répartie en unités de cuisson de 30 kg, conservée dans des sacs en polyvinyl.

La cuisson (« *toasting* »), effectuée au plus tard 40 heures après la délipidation est réalisée par voie humide à deux taux d'humidité ambiante (20 p. 100 et 12 p. 100) ou par voie sèche (humidité propre de la graine). Les températures expérimentées sont : 100°, 110°, 120°, 130° et 140°C et les durées d'application de chacune d'elles sont de : 10, 20, 40 et 80 minutes.

L'opération est effectuée dans un cuiseur rotatif pourvu de manchons alimentés à la vapeur sous-pression et de pales assurant un brassage très rapide de la masse en cuisson.

La graine délipidée y est introduite lorsque l'appareil accuse environ 80°C. Un réglage du préchauffage, mis au point au cours d'essais préliminaires, permet d'atteindre les températures expérimentales recherchées, en un temps constant de 55 minutes, afin de limiter l'interférence de ce facteur technologique.

Un générateur de vapeur de capacité connue, permet d'injecter dans la masse en cuisson par voie humide, la quantité de vapeur sous pression nécessaire pour obtenir l'humidité ambiante recherchée (20 ou 12 p. 100). Un dispositif de thermocouples fixé sur le cuiseur assure un contrôle et un maintien de la température expérimentale à $\pm 2^\circ\text{C}$ pendant toute la durée de cuisson (températures relevées toutes les 5 minutes). La masse cuite est immédiatement transvasée dans un tambour refroidisseur (double enveloppe alimentée à l'eau froide) et sa température ramenée à $+ 15^\circ\text{C}$ en 10 minutes.

B. — *Mesures biochimiques de la qualité des protéines*

Les mesures effectuées sur les 20 échantillons de tourteau cuits dans une humidité ambiante de 20 p. 100 sont : l'activité uréasique (technique de SCHRAM et AINES modifiée par DELORT-LAVAL et ZELTER, 1960), la solubilité dans l'eau tamponnée à pH 7,5 en absence et en présence de trypsine (20 mg de trypsine 8 000 UST/g de tourteau) (DELORT-LAVAL et ZELTER, 1960), la solubilité dans NaOH 0,2 p. 100 (0,05 N) (DANGOUMAU, DEBRYUNE et CLUZAN, 1951), les tests colorimétriques au rouge de crésol (FROLICH, 1954) et à l'orangé-G (MORAN *et al.*, 1963).

RÉSULTATS

L'équipement semi-industriel utilisé ne permettait pas de dégraisser plus de 150 kg de graines à la fois et de reproduire exactement d'un lot à l'autre, les conditions technologiques de la délipidation. Cette même raison a rendu impraticable l'homogénéisation de l'ensemble des lots délipidés avant la cuisson. Ces circonstances ont peut-être quelque peu influencé les propriétés physico-chimiques finales des produits.

Des légères différences entre lots sont effectivement observées après la délipidation. Le taux d'humidité est uniformément de 3 p. 100 ; la teneur en lipides résiduels, généralement inférieurs à 1 p. 100 atteint dans trois des quatorze lots délipidés 1,6, 2,1 et 2,8 p. 100. La graine non conditionnée est caractérisée par : une activité

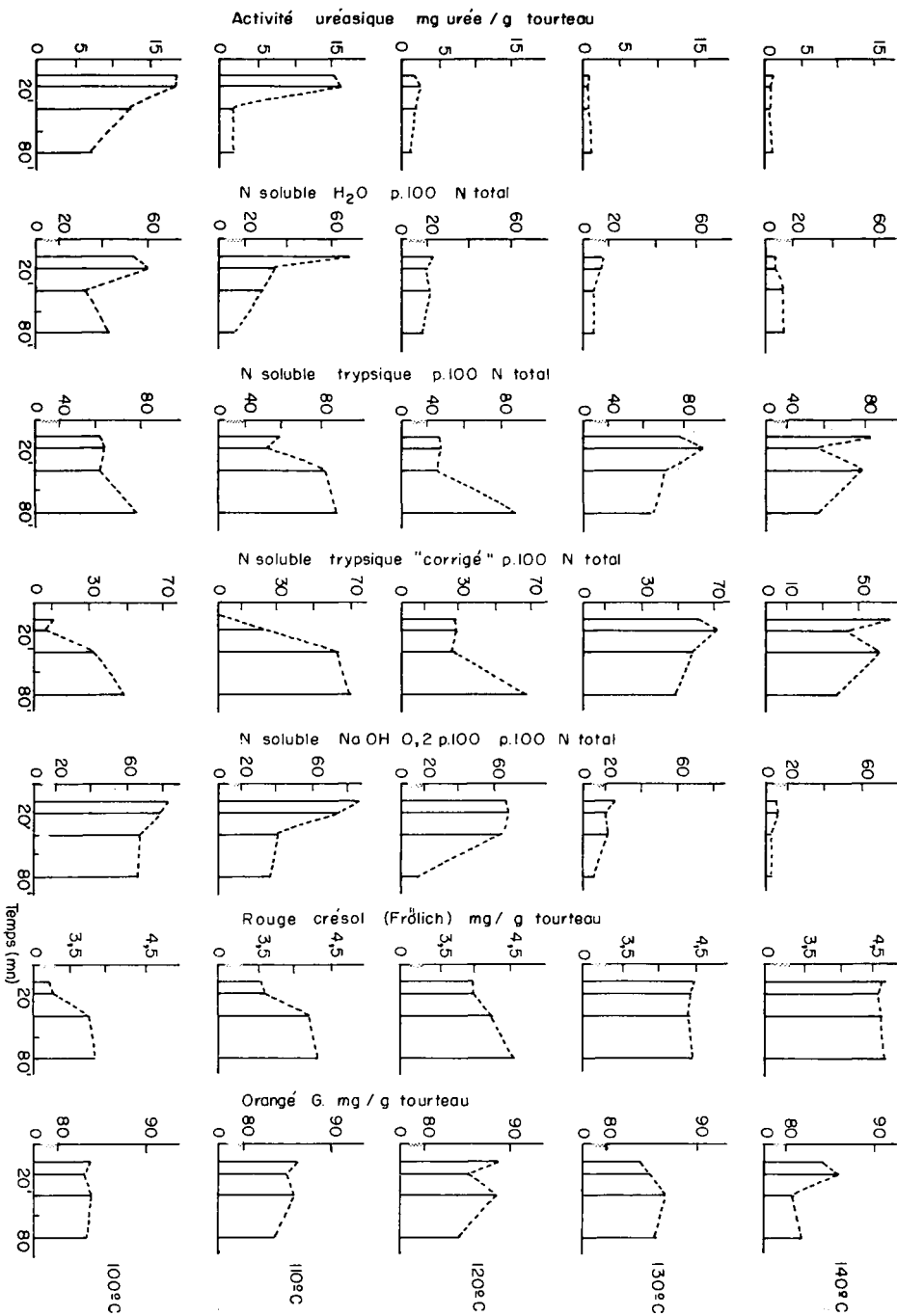


FIG. 1. — Mesures biochimiques de la qualité des protéines du tourteau de soja.

uréasique de 320 mg/g de matière sèche, une solubilité des protéines de 83,5 p. 100 dans l'eau à pH 7,5 et de 89,7 p. 100 dans NaOH-0,05 N, une digestibilité tryptique « corrigée » nulle et un index de FRÖLICH de 1,74. Après délipidation, ces valeurs oscillent respectivement suivant des lots de 211 à 340 mg, de 70,3 à 75,9, de 92,0 à 94,5, de 0,0 à 4,4 p. 100 et de 2,09 à 2,84 p. 100.

Bien que relativement étroit, cet éventail des valeurs suggère qu'une variation dans les conditions de la délipidation serait un facteur non négligeable, susceptible d'influencer dès avant la cuisson finale, l'inhibition de l'activité uréasique ou antitryptique ainsi que la solubilité des protéines d'un tourteau de soja. Il pourrait expliquer aussi les quelques résultats apparemment aberrants observés sur les échantillons

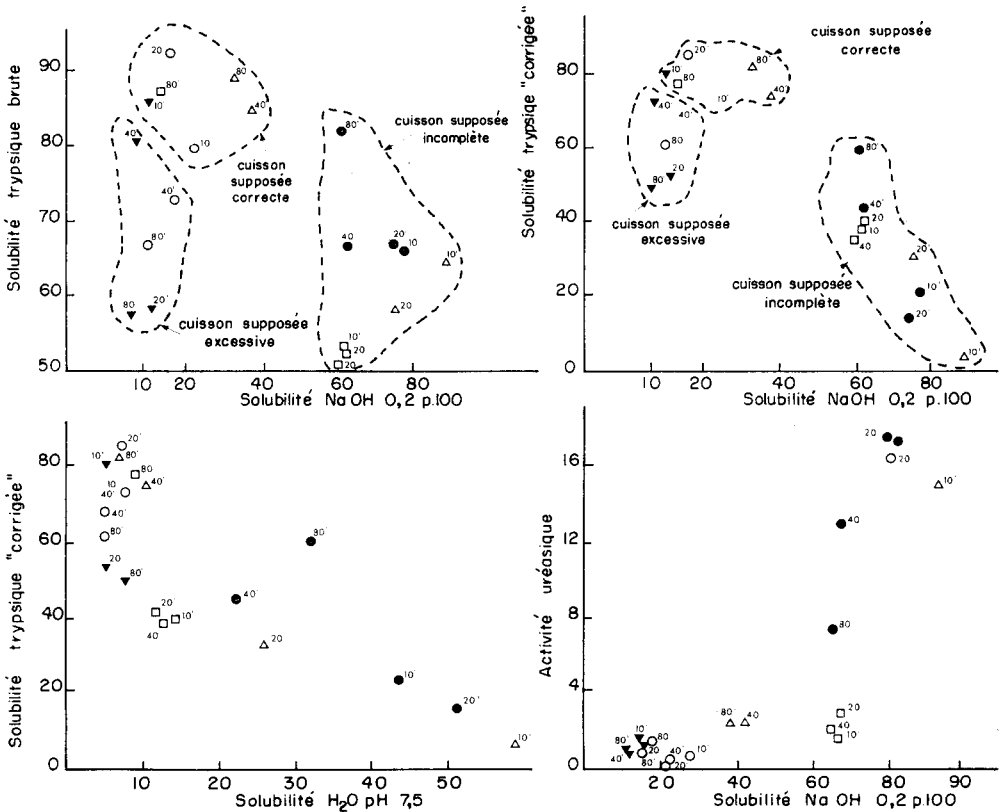


FIG. 2. — Corrélation entre tests.

- 100 °C
- △ 110 °C
- 120 °C
- 130 °C
- ▼ 140 °C

après cuisson, cette dernière opération ayant été contrôlée avec une grande précision. S'il en était ainsi, (hypothèse en cours de vérification expérimentale), le choix des paramètres de la cuisson finale devrait être raisonné en fonction de ceux appliqués au cours de la délipidation.

L'évolution des caractéristiques physico-chimiques et enzymatiques des 20 échantillons est rapportée dans les figures 1 et 3. Les relations entre certains des tests étudiés sont présentés dans la figure 2.

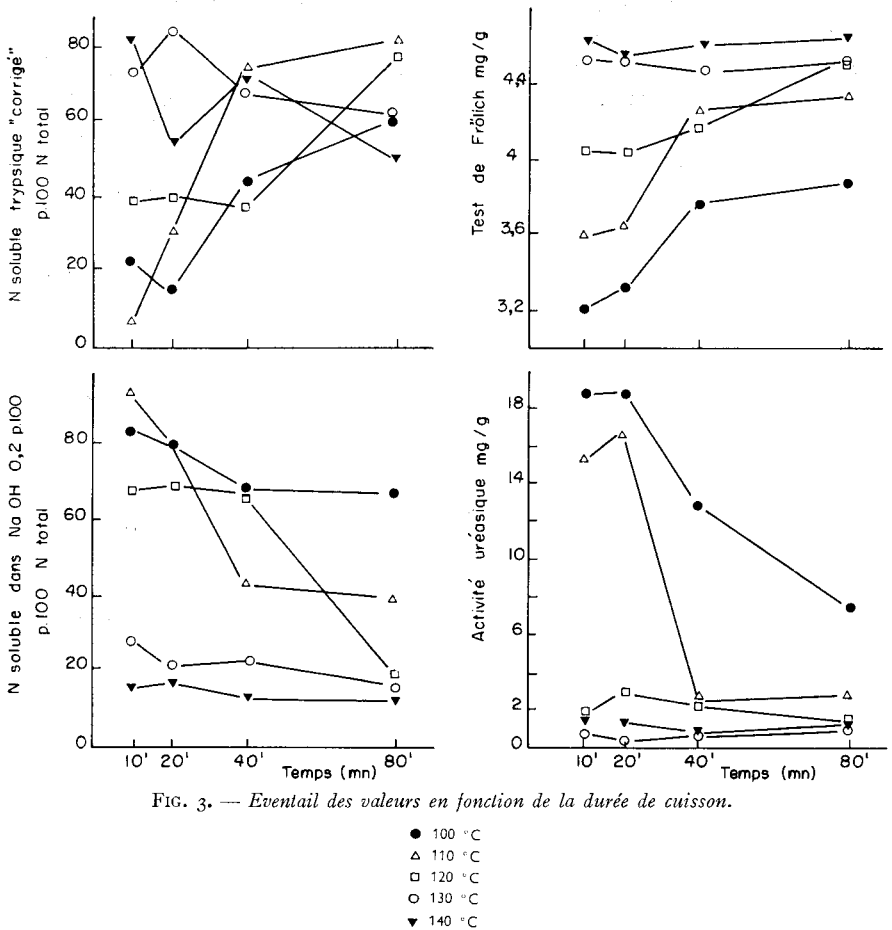


FIG. 3. — Eventail des valeurs en fonction de la durée de cuisson.

DISCUSSION

Pour résoudre le problème de la cuisson du tourteau de soja, il faut rechercher une combinaison de « paramètres » permettant l'inhibition totale de tous les facteurs antinutritionnels sans risquer des effets dénaturants excessifs ; ainsi, on pourra obtenir un produit d'efficacité protéique maximum.

Dans nos conditions expérimentales, l'inactivation totale de l'uréase qui constitue le facteur le plus thermosensible de cet aliment, n'est pas obtenue même après 80 minutes de cuisson à 100°C ; elle nécessite une application de 120°C durant 40 minutes ou de 130°C pendant 10 minutes. Mais l'absence d'activité uréasique n'implique pas néces-

sairement l'inhibition totale de l'activité antitrypsique dont la thermolabilité est plus faible.

Pour estimer aisément l'intensité du chauffage, c'est-à-dire le degré de dénaturation des protéines, il a été supposé que la simple mesure de la solubilité des protéines dans divers milieux solvants constituerait un test nutritionnel intéressant.

Pour le soja cru, le taux de solubilité dans l'eau à pH 6,5 oscille entre 81,4 et 87,9 p. 100 (BELTER et SMITHS, 1952). La graine ayant servi à la fabrication de nos échantillons expérimentaux en accuse 83,5 p. 100 à pH 7,5 en présence d'un tampon de pyrophosphate. La figure 1 montre que la solubilité s'abaisse avec l'élévation de la température et la durée de chauffage ; les fortes solubilités correspondent à des échantillons manifestant une activité uréasique encore notable. Au-delà de 40 minutes de chauffage et avec des températures de 120° et plus, la solubilité atteint pratiquement une valeur-plancher, quels que soient les paramètres de cuisson. Les solubilités dans l'eau à pH 7,5 se situent à l'intérieur de l'éventail de valeurs observées par BELTER et SMITHS (1952) pour 5 échantillons de tourteaux fabriqués à partir de graines d'origine variée et dans des conditions de « *toasting* » différentes.

La solubilité en milieu NaOH 0,05 N évolue sensiblement de la même manière que celle dans l'eau tamponnée. Les deux courbes présentent une allure similaire à celle de la décroissance de l'activité uréasique et ne renseignent pas davantage sur le degré de chauffage, au-delà du seuil thermique de destruction de cette enzyme.

BELTER et SMITH (1952) et EVANS (1945) signalent que la fraction d'insoluble protéique de soja progresse avec l'intensité du traitement thermique en raison d'une dénaturation plus poussée. Les albumines et les globulines voient leur solubilité décroître très fortement, alors que celle des glutelines s'élève. EVANS en particulier, observe que la solubilité de ces dernières dans KOH 0,2 p. 100 passe de 6,0 p. 100 dans le tourteau cru à 45,8 p. 100 (valeur maximale) après un autoclavage de 10 minutes à 121°C ; elle retombe à 22,6 p. 100 après 60 minutes et à 10 p. 100 après 2 heures, alors que l'insoluble azotée initialement de 9,2 p. 100 atteint 65,4 p. 100 après 60 minutes et 77,3 p. 100 après 120 minutes. Dans nos essais l'azote résiduel insoluble en milieu NaOH 0,05 N atteint 32 p. 100 après 10 minutes de chauffage à 120°C et 82 p. 100 après 80 minutes. Nos données sont donc en bon accord avec celles d'EVANS.

WESTFALL et *al.* (1948) admettent que l'efficacité protéique varie en raison inverse de la concentration en facteurs antitrypsiques dans un tourteau de soja partiellement cuit. La digestibilité trypsique, qui en constitue la mesure indirecte, présente d'autre part une corrélation très élevée avec le taux d'utilisation digestive réelle des protéines du soja chez le porc (DELORT-LAVAL, 1964) et satisfaisante avec la croissance du poussin (ASCARELLI et GESTETNER, 1962). Cela autorise à attribuer à ce test une signification nutritionnelle réelle. Dans notre expérience, les valeurs maxima de digestibilité trypsique « brute » ou « corrigée » ⁽¹⁾ (91,8 et 84,1 p. 100 de N digéré à la trypsine), sont obtenues après une cuisson à 130° pendant 20 minutes, alors que 10 minutes suffisent à détruire totalement l'uréase. Au-delà de cette zone thermique, la digestibilité trypsique régresse sensiblement et indiquerait donc une surcuisson ; en deçà, la cuisson est sans doute incomplète.

Ces valeurs maxima de digestibilité trypsique « brute » ou « corrigée » correspondent à un taux de solubilité de l'azote dans la soude nettement inférieur à 40 p. 100 ;

(1) Solubilité trypsique « corrigée » = solubilité trypsique « brute » — solubilité H₂O à pH 7,5.

au-dessus de ce taux, la quasi-totalité de nos échantillons possèdent encore une activité uréasique non négligeable. Ces résultats s'opposent à la thèse selon laquelle les protéines d'un tourteau de soja correctement chauffé devraient accuser une solubilité en milieu NaOH 0,2 p. 100 d'au moins 75 p. 100 (DANGOUMAU et *al.*, 1951).

La corrélation entre le taux de solubilité dans la soude et la digestibilité trypsique « brute » ou « corrigée » de nos échantillons expérimentaux infirme plus nettement encore cette thèse (fig. 2) : Les solubilités élevées (> à 40 p. 100) concordent toujours avec des teneurs en facteurs antitrypsiques encore fort appréciables (digestibilité trypsique corrigée < à 60 p. 100) et indiquent une cuisson incomplète certaine, puisqu'elles sont accompagnées d'activités uréasiques notables. Les échantillons dont l'activité antitrypsique est fortement inhibée (digestibilité trypsique > 75 p. 100) accusent par contre des solubilités à la soude relativement faibles (< 40 > 20 p. 100) ; les valeurs inférieures à 20 p. 100 coïncident généralement avec des taux de digestibilité trypsique abaissés (< 40 > 75 p. 100) par suite du traitement thermique excessif (température de 130°C et plus après 20 minutes). Les données obtenues par EVANS (1945-1946) en milieu KOH 0,02 p. 100 s'accordent également mal avec le point de vue de DANGOUMAU et *al.* ; elles semblent parfaitement logiques si l'on considère le taux de solubilité à l'origine (> 90 p. 100) et l'inévitable effet dénaturant de la chaleur appliquée même pendant un temps très court (121°C × 15 à 30 mn).

La réaction au rouge de crésol (FRÖLICH, 1954) procure des index qui se recourent correctement avec le test enzymatique à la trypsine. Selon FRÖLICH les valeurs supérieures à 4,4 signifient une surcuisson. Dans nos expériences, les échantillons possédant les digestibilités trypsiques les plus élevées donnent des valeurs voisines de 4,5. Par contre, ceux qui en raison d'un traitement thermique intense (températures de 130°C et plus après 20 minutes de cuisson) voient leur digestibilité trypsique décroître, sont vraisemblablement trop cuits, alors qu'ils n'absorbent pas plus de 4,6 mg de rouge de crésol par gramme de tourteau. L'éventail de valeurs de FRÖLICH ne paraît donc pas assez ouvert pour diagnostiquer avec certitude la surcuisson.

L'épreuve à l'orangé-G en milieu acide, préconisée par MORAN et *al.* (1963) devrait en cas d'inactivation de la lysine par formation de complexes de son groupe aminé au cours du traitement thermique, procurer des valeurs d'absorption de colorant d'autant plus faibles que la quantité de lysine rendue indisponible est plus élevée. Or, les résultats de ce test sont incohérents (fig. 1). D'ailleurs MORAN et *al.* rapportent des valeurs expérimentales dont la marge de variation est trop faible pour en permettre une interprétation valable.

En somme, nos données partielles laissent présager que parmi les tests *in vitro* étudiés, seules la digestibilité trypsique « corrigée » (qui, en gros, rend compte indirectement du degré d'inactivation des facteurs antitrypsiques) et l'index de FRÖLICH, malgré son défaut, pourraient servir de tests satisfaisants de classement d'une série de produits et permettre une discrimination entre échantillons convenablement cuits et surcuits. L'uréase offre par ailleurs la possibilité de déceler avec certitude, une cuisson incomplète.

Cette supposition demande toutefois à être confirmée par une confrontation des résultats obtenus par ces deux tests avec ceux de l'animal. Une première série d'expériences est actuellement en cours sur porcs, poussins et rats. Quatre échantillons de tourteaux ont été fabriqués en utilisant des paramètres de cuisson

qui d'après cette étude préliminaire, procurent l'éventail le plus large de valeurs de digestibilité tryptique, d'index de FROLICH et de solubilité dans l'eau ou dans NaOH 0,05 N. La figure 3 montre effectivement que cet éventail correspond à 20 minutes pour toutes les températures comprises entre 100 et 140°C. La prolongation du traitement thermique (durées supérieures à 20 minutes) rétrécit cet éventail; les possibilités de détection de la surcuisson s'en trouvent donc limitées.

Reçu pour publication en mai 1964.

SUMMARY

STUDIES ON THE EFFECTS OF HEAT TREATMENT OF THE QUALITY OF EXTRACTED SOYA-BEAN OIL MEAL PROTEINS

I. — Comparison of some biochemical tests (fragmentary results)

Exhaustive studies are carried on the effects of heat treatment of the nutritional value of soya bean oil meal proteins in order to point out :

1° which association of parameters of temperature, length of treatment and moisture may involve the maximum biological efficiency of these proteins.

2° to perfect a laboratory test able to detect with accuracy the overheating.

Thirty samples of oil meals extracted with hexane are processed from a single lot of soya beans, by means of a semi-industrial equipment which correctly reproduces the manufacturing technology. The toasting parameters experimented are : *moisture* 5-12 and 20 p. 100 ; *temperature* 100°, 110°, 120°, 130° and 140°C ; *length of treatment* for each of these gradients : 10, 20, 40 and 80 minutes.

The fragmentary results obtained with the twenty samples toasted in 20 p. 100 humidity are reported here in the figures 1, 2 and 3. These results concern the following biochemical scores : urease activity, nitrogen solubility in a pyrophosphate buffer at pH 7,5 and in NaOH 0,05 N, percentage of nitrogen digested *in vitro* by trypsin (20 mg trypsin 8 000 UST/g meal ; (DELORT-LAVAL and ZELTER, 1960), dye binding tests of cresol-red (FRÖLICH, 1954) and Orange-G (MORAN, 1963).

Our results suggest that only cresol-red test and « corrected » percentage of nitrogen digested *in vitro* by trypsin could allow a satisfactory classification of series of meal samples according to the intensity of heat treatment.

Any how validity of these tests must be checked by biological measures. To that purpose experiments are actually carried on with pigs, chicks and rats.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASCARELLI I., GESTETNER B., 1962. Chemical and biological evolution of some protein feeds for poultry. *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 401-410.
- BELTER P. A., SMITH A. K., 1952. Protein denaturation in soybean meal during processing. *J. amer. Oil Soc.*, **29**, 170-174.
- DANGOUMAU A., DEBRUYNE H., CLUZAN R., 1951. Note sur les traitements thermiques du soja et du colza. *Bull. Inf. ITERG*, **5**, 306-310.
- DELORT-LAVAL J., ZELTER S. Z., 1960. État actuel du problème de la qualité des tourteaux de soja et de son contrôle par des tests chimiques. *Ind. Alim. Anim.*, **110**, 25-34.
- DELORT-LAVAL J., BOZA-LOPEZ J., 1964. Efficacité de quelques protides alimentaires chez le porc. 5. Influence du traitement technologique sur la valeur des protéines du tourteau de soja. Validité de quelques tests biochimiques pour l'appréciation de la qualité des tourteaux. *Ann. Zootech.*, **13**, 35-50.
- EVANS R. J., St-JOHN J. L., 1945. Estimation of the relative nutritive value of vegetable proteins by two chemical methods. *J. Nutr.*, **30**, 209-217.
- EVANS R. J., MCGINNIS J., 1946. Influence of autoclaving soybean meal on the availability of cystine and methionine for the chick. *J. Nutr.*, **31**, 446-461.
- LIENER I. E., 1958. Effect of heat on plant proteins. In *Processed plant protein foodstuffs*. M. ALTSCHUL. Academic. Press. Inc. Publishers. New York.

- MORAN E. T. JR, JENSEN L. S., MCGINNIS J., 1963. Dye binding by soybean and fish meal as an index of quality. *J. Nutr.*, **79**, 239-244.
- SCHRAMM G., AINES P. D., 1959. Colorimetric determination of urease activity in soybean meals. *J. amer. Oil. Chem. Soc.*, **36**, 1-3.
- WESTFALL R. J., HAUGE M. S., 1948. In LIENER, 1958.
- ZIMMERMANN P., 1952. Die Wirkung der Hitzebehandlung auf der Nährwert des Eiweisses in Nahrungs- und Futtermitteln. *Promotionsarbeit*. Juris. Verlag. Zurich, p. p. 249.