

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

J Mouecoucou, C Villaume \*, HM Bau, JP Nicolas, L Mejean

*INSERM U 308, Unité de recherches sur les mécanismes de régulation du comportement alimentaire, 38, rue Lionnois, 54000 Nancy, France*

(Reçu le 19 janvier 1990; accepté le 25 mai 1990)

**Résumé** — Des rats mâles de souche Wistar, âgés de 21 j ont été nourris pendant 4 semaines avec des régimes comportant 10% de protéines de caséine ou de soja additionnées ou non de 0,5, 1, 2 ou 3% d'alginate ou de carraghénate de sodium. La consommation protéique et le gain de poids journaliers des rats nourris avec de la caséine n'étaient pas significativement différents ( $P < 0,05$ ) de ceux des rats recevant la farine de soja associée à l'alginate de sodium, quelle qu'ait été la dose. Par rapport à la caséine, une augmentation significative de la consommation protéique était observée chez les rats dont le régime contenait 3% de carraghénate. Aux taux étudiés, il n'existait pas d'effet global des alginates sur le CEP, mais il en existait un pour les carraghénates. L'addition de doses croissantes de carraghénates à la farine de soja, suivie d'un chauffage du mélange entraînait une diminution progressive du CEP, significative avec tous les taux de carraghénates, par rapport à la caséine. L'addition de 3% de carraghénate à la farine de soja chauffée, ce qui représentait 0,62% du régime, entraînait une diminution significative du CEP de cette dernière. Ces résultats confirment le rôle précipitant des carraghénates sur les protéines.

**alginate / carraghénate / soja / gain de poids / ingéré protéique / CEP**

**Summary** — Effects of sodium alginate or sodium carrageenan added to soybean meal on the protein efficiency ratio (PER). Male 21 d-old Wistar rats, were fed for 4 wk with diets containing casein or soybean proteins (10%) with 0.5, 1, 2 or 3% sodium alginate or sodium carrageenan or without any alginate or carrageenan. Daily protein intake and weight gain of casein-fed rats were not significantly different ( $P < 0.05$ ) from those of rats fed soybean meal with alginate, whatever the dose received. Rats fed 3% carrageenan in soybean meal had significantly higher feed intake than that of rats fed casein. At the levels studied, alginate had no effect on the Protein Efficiency Ratio (PER), but carrageenan did. The addition of increased quantities of carrageenan to soybean meal followed by heating the mixture led to a progressive and significant decrease in PER at all levels of carrageenan compared to casein feeding. The addition of 3% carrageenan to heated soybean meal, corresponding to 0.62% of meal diet, led to a significant decrease in PER. These results confirm the precipitating role of carrageenans on proteins.

**alginate / carrageenan / soybean / weight gain / protein intake / PER**

## INTRODUCTION

Les industries alimentaires utilisent de plus en plus d'additifs alimentaires dans le but de conserver, protéger et texturer les aliments mis sur le marché. Ainsi, la préparation de produits de substitution de la viande à partir de protéines végétales serait rendue très difficile sans le recours aux agents de texture. Ceux-ci sont employés principalement comme épaississant, gélifiant, stabilisant et émulsifiant. Ce sont des hydrocolloïdes alimentaires, appelés ainsi à cause de leur capacité de dispersion dans l'eau. Ces hydrocolloïdes sont d'origine animale ou végétale.

Les alginate et les carraghénates de sodium proviennent respectivement d'algues brunes de la classe des *Phaeophyceae* et d'algues rouges de la classe des *Rhodophyceae* (Sanderson, 1981; Doublie et Thibault, 1984). Ils sont employés en technologie alimentaire selon leurs propriétés fonctionnelles comme épaississant ou gélifiant, principalement dans les desserts lactés, les conserves de viande et de poisson où on les trouve à des doses allant de 0,005 à 2% (Doublie *et al*, 1975; Assoumani et Adrian, 1976).

Jusqu'à présent, quelques travaux ont étudié les effets des alginate et des carraghénates sur la valeur nutritionnelle des nutriments auxquels ils peuvent se trouver mélangés ou sur leurs effets gastro-intestinaux (Assoumani et Adrian, 1976; Adrian, 1975; Hawkins et Yaphe, 1965). Plusieurs recherches ont mis l'accent sur l'effet des carraghénates hydrolysés utilisés uniquement en médecine dans le traitement des ulcères gastroduodénaux (Bonfils *et al*, 1966; Stancioff and Renn, 1975; De Saint Blanquat et Pascal, 1986).

Du point de vue physiologique, les alginate et les carraghénates alimentaires ont obtenu le statut GRAS (generally reco-

gnized as safe). La plupart des travaux montrent que l'addition des alginate et des carraghénates dans les régimes n'a pas d'effet défavorable sur la digestibilité des nutriments et sur la croissance des rats s'ils sont utilisés à des doses inférieures à 5% (Hawkins et Yaphe, 1965; Fao/Oms, 1969; Stancioff et Renn, 1975; Assoumani et Adrian, 1976). Néanmoins, les procédés utilisés en technologie alimentaire (traitements thermiques, pH du milieu, présence des cations mono ou divalents) peuvent produire des liaisons entre les épaississants et les composants de l'aliment, surtout les protéines, en modifiant ainsi la valeur nutritionnelle du produit. Les protéines sensibles au calcium comme celles de caséine ou de soja peuvent réagir avec les carraghénates en augmentant la viscosité (Adrian et Assoumani, 1979). La présence de K<sup>+</sup> ou tout autre cation monovalent, ainsi que le chauffage entraînent la formation de réseaux de carraghénates. Les carraghénates insolubilisent les protéines selon le pH du milieu et la présence de sels de calcium (Adrian et Assoumani, 1979).

Dans ce travail, nous étudions les effets de mélanges chauffés de farine de soja déshuilée additionnée d'alginate ou de carraghénate de sodium sur le coefficient d'efficacité protéique (CEP).

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel

La farine déshuilée de soja a été fournie par les Établissements Louis François (Saint-Maur, France), de même que l'alginate de sodium (E401) et le carraghénate de sodium (E407).

Les rats mâles de souche Wistar EOPS (exemptés d'organismes pathogènes spécifiques) provenaient du centre de recherche et d'élevage des Oncins (Saint-Germain-sur-l'Arbresle, France).

### Préparation des échantillons

La farine de soja a été mélangée aux différents additifs de façon qu'elle contienne 0,5, 1, 2 ou 3% d'alginate de sodium ou de carraghénate de sodium.

Le mélange farine de soja plus additif alimentaire a été réalisé soigneusement à l'aide d'un robot ménager (Ronic, Ritmix). De l'eau (environ 200 ml pour 100 g de farine) a été pulvérisée de façon à humidifier le mélange. Celui-ci a été ensuite placé dans un torchon humide puis cuit à la vapeur pendant 30 min dans un autocuiseur non hermétiquement fermé. Le produit a été ensuite séché dans une étuve à ventilation (Prolabo) à 70 °C pendant une nuit. Le produit obtenu a été enfin broyé à l'aide d'un broyeur Vertec. La farine obtenue a servi à la préparation des différents régimes.

### Techniques analytiques

La composition brute de la farine de soja déshuilée commerciale a été établie (tableau I).

L'humidité a été déterminée par séchage à 105 °C de l'échantillon moulu jusqu'à poids constant (5 h). Le dosage de l'azote (N) a été effectué par la méthode de Kjeldahl et les protéines ont été déterminées par la relation  $N \times 6,25$  (AOAC, 1970). Le dosage des lipides a été réalisé par délipidation à l'hexane à l'aide de l'appareil de Soxhlet (AOAC, 1970). Les glucides éthanolosolubles ont été extraits à l'éthanol à 80% et dosés par la méthode à l'antrone

Tableau I. Composition de la farine de soja.

Composition	Proportion (% du total)
Protéines	48,17 ± 1,3
Lipides	3,93 ± 0,04
Glucides éthanolosolubles	10,63 ± 0,59
Cendres	6,16 ± 0,66
Humidité	7,39 ± 0,49
Glucides insolubles*	23,72

\* Obtenus par différence

(Roe, 1955). Les cendres ont été obtenues après calcination de la farine à 600 °C pendant 12 h.

### Étude expérimentale

#### Composition des régimes

Neuf régimes à base de farine de soja additionnée ou non d'additif alimentaire ont été testés et comparés à un régime témoin contenant de la caséine.

Tous les régimes ont la même composition de base (tableau II).

#### Détermination du coefficient d'efficacité protéique (CEP)

L'étude du CEP a été réalisée sur 10 groupes de 10 rats mâles de souche Wistar, pesant entre 45 et 50 g et âgés de 21 j au début de l'expérimentation.

Tableau II. Composition des régimes.

Composition	Proportion (% du total)
Protéines	10
Lipides (huile d'arachide)	9
Cellulose	5
Mélange salin*	5
Vitamines**	2
Amidon	69

\* Composition du mélange salin : CaHP O<sub>4</sub> : 430 g; KCl : 100 g; NaCl : 100 g; MgO : 10,5 g; MgSO<sub>4</sub> : 50 g; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : 3 g; Fe SO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O : 5 g; Oligoéléments (Mn, Cu, Co, Zn, I) : 10 g; QSP : 1 000 g.

\*\* Composition du mélange vitaminique : Tocophérol : 11 mg; Niacine : 10 mg; Pantothénate de calcium : 6 mg; Vitamine A : 2 000 UI; Chlorure de choline : 166 mg; Riboflavine : 2 mg; Vitamine B<sub>12</sub> : 0,03 mg; Ména-dione : 5 mg; Inositol : 11 mg; Chlorhydrate de pyrodioxine : 2 mg; Acide folique : 0,2 mg; Acide ascorbique : 100 mg; Acide p-aminobenzoïque : 11; Thiamine : 2 mg; Vitamine D : 200 UI; Biotine : 0,04 mg

Ils ont été placés dans des cages individuelles. Après une période d'acclimatation de 3 jours, des lots de 10 rats ont été constitués par tirage au sort. Les rats de chaque lot ont reçu un régime administré *ad libitum*, de même que l'eau du réseau de distribution. Les rats ont été pesés 1 fois par semaine et le régime pesé et administré tous les 2 jours.

Après 28 jours d'alimentation, le calcul du CEP a été effectué. Il est représenté par le rapport entre le gain de poids et les ingesta protéiques journaliers.

### Statistiques

Le traitement statistique des résultats a été réalisé sur Macintosh avec un programme Statview. Les comparaisons sont faites par une analyse de variance (ANOVA) et un test de Fisher est utilisé pour comparer les groupes.

## RÉSULTATS

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 III), et à ceux de l'ingestion de régimes contenant le carraghénate de sodium à différents taux (tableau IV).

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 des alginate ( $F^5_{54} = 1,6$ ). 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 variations significatives de la consommation ni du gain de poids. Il n'y a pas de différence entre le régime à base de farine de soja chauffée et les régimes supplémentés en alginate.

Il existe un effet global des carraghénates ( $F^5_{53} = 6,39$ ) se traduisant par une

**Tableau III.** Effet de l'addition d'alginate sur la consommation de protéines, le gain de poids et le CEP<sup>1</sup>.

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

<sup>1</sup> moyenne ± écart type de groupes de 10 rats. <sup>2</sup> le CEP est corrigé sur la base d'une valeur de 2,50 fixée pour la caséine. <sup>3</sup> FSC : farine de soja déshuilée chauffée. <sup>4</sup> ALG : alginate de sodium. <sup>5</sup> deux valeurs sont statistiquement différentes au seuil de 5% quand aucune lettre n'est commune

**Tableau IV.** Effet de l'addition de carraghénate sur la consommation des protéines, le gain de poids et le CEP<sup>(1)</sup>.

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

<sup>1</sup> moyenne ± écart type de groupes de 10 rats. <sup>2</sup> le CEP est corrigé sur la base d'une valeur de 2,50 fixée pour la caséine. <sup>3</sup> FSC : farine de soja déshuilée chauffée. <sup>4</sup> CAR : carraghénate de sodium. <sup>5</sup> deux valeurs sont statistiquement différentes au seuil de 5% quand aucune lettre n'est commune

diminution significative du CEP des rats nourris avec de la farine de soja additionnée de carraghénate de sodium 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 sans modification du gain de poids est également notée. Une diminution significative du CEP est observée entre les rats consommant de la farine de soja chauffée et ceux consommant la même farine supplémentée par 3% de carraghénates.

## DISCUSSION

Plusieurs auteurs ont observé une diminution du CEP traduisant une altération de la digestibilité chez les rats dont les régimes contiennent des hydrocolloïdes alimentaires. Mais, ces effets néfastes n'apparaissent que pour des doses supérieures ou égales à 5% du régime (Hawkins and Yaphe, 1965; Stancioff and Renn, 1975; Shiau *et al*, 1989).

Toutefois, Bau et Debry (1979) ont montré que 2% d'alginate de sodium introduit dans le lait de soja provoquait une diminution de CEP chez le rat.

Les hydrocolloïdes alimentaires ne sont que partiellement dégradés dans le tube digestif (environ 20% pour les carraghénates, 50% pour les alginates) (Hawkins et Yaphe, 1965; Adrian et Assoumani, 1979). Cependant, ils ne le traversent pas sans modifier le fonctionnement et les mécanismes de digestion. Selon certains auteurs, ils modifient l'utilisation de la ration et le développement des animaux (Assoumani et Adrian, 1976; Adrian et Assoumani, 1979). La diminution du CEP observée chez le rat ingérant des hydrocolloïdes alimentaires serait la conséquence de 2 phénomènes principaux :

– D'une part, en présence d'hydrocolloïdes alimentaires, il y aurait un accroissement de la consommation d'eau, de même qu'une augmentation de son rejet dans les fèces. Il y aurait ainsi un rejet accru d'oligopeptides présents dans la phase aqueuse (Arnal-Peyrot et Adrian, 1974).

– D'autre part, il a été mis en évidence une action antiprotéolytique des gommés alimentaires, et principalement des carraghénates, dont l'action antipepsique a été plusieurs fois démontrée. Pour certains auteurs, ils se combineraient au substrat protidique formant ainsi un complexe insoluble qui résisterait à l'action de la pepsine (Anderson, 1961; Martin *et al*, 1965). Pour d'autres, ils se combineraient à la fois au substrat et à la pepsine (Accary *et al*, 1964). Cette action anti-enzymatique s'étendrait à d'autres enzymes telles que la trypsine et la papaïne (Gatfield et Stute, 1972; Arnal-Peyrot et Adrian, 1977).

Nos résultats sont différents selon la nature de l'épaississant utilisé ainsi que le montrent les analyses de variance. L'addition de l'alginate de sodium à des taux inférieurs à 3% dans la farine de soja n'entraîne pas une altération de la digestibilité. La diminution significative du CEP constatée avec la farine de soja additionnée de carraghénate quel qu'en soit le taux, par rapport à la caséine, n'est pas due à la prise alimentaire qui, au contraire, tend à augmenter en devenant significativement plus élevée avec 3% de carraghénate. Il semble que la digestibilité du régime soit modifiée ainsi que l'ont montré dans d'autres circonstances Assoumani et Adrian (1976), Bau et Debry (1979), Arnal-Peyrot et Adrian (1974). Cette éventuelle diminution de la digestibilité interviendrait à des taux inférieurs à ceux habituellement relatés. L'altération de la digestibilité a été observée avec des taux de 5% d'hydrocolloïdes dans le régime (Hawkins et Yaphe, 1965; Stancioff et Renn, 1975; Shiau *et al*, 1989), alors que dans le cas présent, la diminution du CEP due aux carraghénates est notée avec 3% dans la farine, soit 0,62% dans le régime. Avec ce taux, il s'agit bien d'un effet connu des carraghénates qui se rajoute à celui du soja puisque le CEP tend à diminuer progressivement quand le pourcentage de carra-

ghénate incorporé augmente, et que le CEP obtenu avec la farine chauffée et celui obtenu avec la même farine supplémentée avec 3% de carraghénate sont significativement différents.

La différence de résultats observés est attribuable aux propriétés physico-chimiques et aux mécanismes de gélification différents pour les alginates et les carraghénates. Ces derniers forment des réseaux en présence d'un cation monovalent comme le potassium contenu dans le régime ou à la suite d'un chauffage. En outre, ils réagissent avec les protéines à pH inférieur au point isoélectrique. À pH supérieur au point isoélectrique, ils forment des sels doubles avec le calcium si les protéines y sont sensibles, ce qui est ici le cas des protéines de soja. Pour leur part, les alginates forment des réseaux en présence de cations divalents comme le calcium, mais n'insolubilisent pas les protéines (Adrian et Assoumani, 1979). La nature du gélifiant permet donc d'expliquer les résultats obtenus.

Le fait que l'effet du carraghénate soit significatif à partir d'un taux de 3% dans la farine (soit 0,62% dans le régime) alors qu'il n'avait été observé jusqu'alors qu'avec des taux d'au moins 5% dans le régime pourrait être dû à ce que la plupart des travaux ont utilisé la caséine comme source de protéine. Il est aussi possible que le fait de se placer dans des conditions proches de celles de la fabrication des produits alimentaires par le chauffage du mélange protéine-épaississant explique nos résultats, alors que dans les travaux antérieurs seul un mélange à froid était réalisé.

En conclusion, ces résultats préliminaires méritent des études approfondies *in vitro* de la digestibilité du fait de l'importance grandissante que pourraient prendre les protéines végétales et les agents de texture dans la fabrication de produits allégés et de viandes végétales.

## RÉFÉRENCES

- Adrian J (1975) Les additifs alimentaires à caractère épaississant et géllifiant (extraits d'algues et de gommés végétales). *Med Nutr* 11, 203-216
- Adrian J, Assoumani M (1979) Les propriétés chimiques et physiologiques des additifs épaississants et géllifiants (agents de texture). *Rev Fr Diet* 23, 3-25
- Accary JP, Dubrasquet M, Agnery J, Bonfils S (1964) Étude électrophorétique du complexe polysaccharides sulfatés-protéines. *CR Soc Biol* 158, 1844-1847
- Anderson W (1961) The antipeptic activity of sulfated polysaccharides. *J Pharm Pharmacol* 13, 139-147
- AOAC (1970) *Official methods of analysis* (11th ed) Assoc official Anal Chem Washington DC
- Arnal-Peyrot F, Adrian J (1974) Rôle des gommés et 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. *Med Nutr* 23, 49-51
- Assoumani M, Adrian J (1976) Les alginanes en alimentation. Étude chez le rat. *L'Alimentation et la Vie* 64, 45-55
- Bau HM, Debry G (1979) Germinated soybean protein products: chemical and nutritional evaluation. *J Am Oil Chem Soc* 56, 160-162
- Bonfils S, Dubrasquet M, Accary JP (1966) La thérapeutique antipeptique. *Tijdschr Gastroenterol* 9, 7-37
- Doublier JL, Thibault JF (1984) Les agents épaississants et géllifiants de nature glucidique. In: *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires* (Multon JL, ed) Tec Doc Paris, 305-341
- Doublier JL, Lisch JM, Launay B (1975) *Agents de texture alimentaire: épaississants et géllifiants*. Apria, Massy, 75 pp
- Fao/Oms (1969) 13<sup>e</sup> Comité d'experts pour les additifs alimentaires. Rome, rapport Fao n° 46A
- Gatfield IL, Stute R (1972) Enzymatic reactions in the presence of polymers: the competitive inhibition of trypsin by carrageenan. *FEBS Lett* 28, 29-31
- Hawkins WW, Yaphe W (1965) Carrageenan as a dietary constituent for the rat: faecal excretion, nitrogen absorption and growth. *Can J Biochem* 43, 479-484
- Martin F, Bérard A, Vagne M, Lambert R (1965) Étude électrophorétique de l'action de différents polysaccharides sulfatés sur la protéolyse peptique. *CR Soc Biol* 159, 1582-1585
- Roe JH (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *J Biol Chem* 212, 335-343
- de Saint Blanquat G, Pascal G (1986) Les additifs. In: *Toxicologie et sécurité des aliments* (Derache R, ed) Tec Doc, Paris, 247-280
- Sanderson GR (1981) Polysaccharids in foods. *Food Technol* 35, 50-53
- Shiau SY, Wu HJ, Huang YL, Liu LC (1989) Effects of dietary agar on protein digestibility in rats. *Nutr Rep Int* 39, 281-290
- Stancioff DJ, Renn DW (1975) Physiological effects of carrageenan. In: *Physiological effects of food carbohydrates*. ACS Symposium serie 15 (Jeanes I, Hodge J, eds) Am Chem Soc Washington, 282-295