

## Cinétique de la dégradation des protéines de soja par la pronase E et poids moléculaires des peptides libérés

N Depardon, D Debroas, G Blanchart

INRA-ENSAIA, laboratoire de zootechnie, 2, av de la Forêt-de-Haye,  
BP 172, 54505 Vandœuvre, France

L'utilisation de la pronase cherche à simuler la protéolyse ruminale pour estimer la dégradation théorique des protéines. Ce travail vise à établir si les peptides libérés par la pronase sont semblables à ceux produits *in situ*. Dans cette hypothèse, ces peptides pourraient être mis à la disposition d'inoculum de bactéries du rumen, pour permettre de caractériser l'utilisation de ceux qui sont naturellement disponibles *in situ*.

La farine de soja est hydrolysée par la pronase E (protéase de *Streptomyces griseus* type XIV, Sigma), à 0,066 U/ml dans un tampon borate-phosphate à pH 8,0. Les protéines de soja sont séparées par électrophorèse (SDS-PAGE, 12% d'acrylamide) et dosées par densitométrie. Après précipitation des protéines (HClO<sub>4</sub> 5%, 25 000 g), les peptides sont analysés (3 répétitions) par HPLC (tableau I).

Au cours de la dégradation des protéines de soja, suivie par électrophorèse (fig 1), 2 des sous-unités  $\alpha$  et  $\alpha'$  de la conglycinine sont totalement et préférentiellement dégradées. Ce même résultat a été obtenu par Romagnolo *et al* (1990) lors d'une étude de la dégradation des protéines de soja *in sacco*. L'analyse des peptides ainsi libérés (tableau I) montre que les polypeptides de hauts poids moléculaires (PM) sont dégradés en peptides plus petits au cours de l'hydrolyse. Après 18 h, la fraction peptidique la plus représentée est comprise entre 1 et 2 kDa soit 8 à 16 acides aminés.

Ces résultats apportent un éclairage nouveau à ceux de la bibliographie pour lesquels les peptides libres du rumen *in situ* seraient plutôt de faible poids moléculaire (Wallace, 1992). Les résidus protéiques de l'action *in vitro* de la pronase et les poids moléculaires des peptides libérés sont assez semblables à ceux issus de la protéolyse ruminale *in situ*.

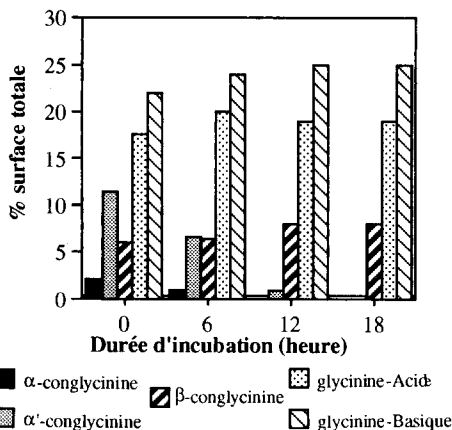
Romagnolo D, Polan CE, Barbeau WE (1990) *J Dairy Sci* 73, 2379-2385

Wallace RJ (1992) *J Sci Food Agric* 58, 177-184

**Tableau I.** Distribution des poids moléculaires des peptides.

PM (kDa)	Durée d'incubation (heures)			
	0	6	12	18
> 20	29,5	5,6 ± 0,2	6,0 ± 0,2	3,1 ± 0,9
5-20	43,4	11,4 ± 0,5	15,2 ± 0,4	7,5 ± 3,7
2-5	19	33,5 ± 0,1	22,3 ± 0,7	27,3 ± 2,4
1-2	7	36,1 ± 0,05	36,7 ± 0,3	43,6 ± 2,7
< 1	0,4	13,1 ± 0,6	19,5 ± 0,2	17,5 ± 1,4

Analyse par HPLC : colonne gel filtration SEC 2000 (Beckman), tampon phosphate 0,1M pH 6,8, 0,3 ml/min, absorbance à 220 nm. La distribution des PM est calculée à partir de l'intégration de la surface totale du chromatogramme et est exprimée en % de la surface totale.



**Fig 1.** Cinétique de dégradation des protéines du soja, après séparation par électrophorèse. Les résultats sont exprimés en % de la surface totale lue par densitométrie à 595 nm.