

Zeitschrift: Saussurea : journal de la Société botanique de Genève
Herausgeber: Société botanique de Genève
Band: 6 (1975)

Artikel: Activité anti-trypsine et fractionnement des globulines cotylédonaire de Vigna unguiculata H81
Autor: Spierer-Royer, Annick
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-1099062>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.04.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Activité anti-trypsine et fractionnement des globulines cotylédonaire de *Vigna unguiculata* H81

ANNICK SPIERER-ROYER

Résumé

SPIERER-ROYER, A. (1975). Activité anti-trypsine et fractionnement des globulines cotylédonaire de *Vigna unguiculata* H81. *Saussurea* 6: 195-200.

La différence de solubilité des globulines cotylédonaire de *Vigna unguiculata* en solution, en fonction de la force ionique et de la température, ainsi que la disparité de leur poids moléculaire, sont utilisés pour les fractionner. La composition en acides aminés de chaque fraction globulinique est donnée. L'activité anti-trypsine des globulines est liée à une fraction exceptionnellement riche en cystine et d'autres acides aminés importants pour la nutrition de l'homme sont mieux représentés dans cette fraction. La proposition d'améliorer la valeur nutritive des graines de *Vigna* en sélectionnant des espèces à moindre teneur en inhibiteurs anti-trypsine est discutée.

Abstract

SPIERER-ROYER, A. (1975). Anti-trypsin activity and fractionation of *vigna unguiculata* seeds' globulins. *Saussurea* 6: 195-200. In French.

The differences of solubility showed by the *Vigna unguiculata* seeds' globulins when variations of ionic strength and temperature occur, and the difference of their molecular weight are utilised in order to fractionate these globulins. The amino acid composition of each fraction is given. The cystine content of the anti-trypsin fraction is very high and many amino acids, important for human nutrition are better represented in this fraction. The proposal which consists in improving the nutritive value of *Vigna* seeds by selecting seeds which contain less anti-trypsin inhibitors, is discussed.

1. Introduction

La malnutrition protéique est le problème de nutrition majeur. Le recours aux Légumineuses (17 à 25% de protéines) constitue une solution partielle, mais rapide et relativement peu onéreuse, à ce problème de l'approvisionnement en protéines du tiers monde (AYKROYD & DOUGHTY, 1964). Des recherches en vue de sélectionner des espèces et des variétés à grand rendement et haute valeur nutritive sont en cours. C'est dans le cadre d'une de ces recherches, effectuée en collaboration avec la Faculté des sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux (Belgique), que nous étudions les protéines des graines de *Vigna unguiculata* L. (Walp.), lignée H81, largement consommées dans les régions tropicales. Parmi ces protéines (albumines et globulines), existent des inhibiteurs de la trypsine (MIÈGE & al., 1972; ROYER,

1974) qui nuisent à la digestibilité de la graine (LIENER & al., 1969). Nous avons montré que la plus grande part d'activité anti-trypsine dans la graine de *Vigna* revenait aux globulines cotylédonaire (ROYER, 1975). Une des possibilités d'améliorer ces graines est de sélectionner les espèces ou les variétés pauvres en inhibiteurs anti-trypsine. Cependant, avant d'entreprendre une telle action, il faut élucider d'une part, le rôle encore inconnu de ces inhibiteurs dans la graine, et d'autre part, s'assurer que l'élimination de la fraction protéique anti-trypsine ne portera pas atteinte au taux des acides aminés essentiels à l'homme (méthionine, lysine, tryptophane...).

C'est dans cette optique que nous avons entrepris le fractionnement des globulines cotylédonaire du *Vigna unguiculata* afin de voir si l'activité anti-trypsine est liée à une fraction globulinique riche en acides aminés essentiels.

2. Méthodes

Les graines sélectionnées de *Vigna unguiculata* H81 nous ont été fournies par Monsieur Lemarchand (Phytotechnie des régions chaudes, Faculté des sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux, Belgique). Les graines sont décortiquées, cotylédons et axe germinatif sont séparés. Les globulines sont extraites à partir des cotylédons selon la méthode décrite par MIÈGE (1970), modifiée par SPIERER-ROYER (travail en cours).

2.1. Fractionnement des globulines par abaissement de la force ionique et de la température

600 mg de lyophilisat de globulines sont dissous par agitation dans 20 ml de NaCl 4%, à température ambiante. La suspension obtenue (toutes les globulines lyophilisées ne se redissolvent pas dans cette solution saline) est homogénéisée au potter afin de solubiliser le maximum de globulines, puis centrifugée 30 min. à 27 000 g, à 20°C (centrifugeuse Beckman J21, rotor JA20). Le surnageant limpide est recueilli, nous l'appellerons Su 4%.

Une partie de ce surnageant est diluée deux fois avec de l'eau distillée, la force ionique de la solution passe ainsi de 0.68 à 0.34. Après agitation à température ambiante, 15 min., une partie des globulines précipite. Cette nouvelle suspension est centrifugée (27 000 g, 30 min., 20°C) et le surnageant recueilli: il s'agit du Su 2%. La moitié du Su 2% est placée 4 heures à 0°C. Certaines globulines précipitent au froid, ce sont des cryo-globulines: cG. On élimine le précipité de cG par centrifugation (30 min., 27 000 g, 0°C). Le surnageant est appelé: Su 2%-cG.

Une aliquote de chaque surnageant est lyophilisée: Su 4%, 2% et 2%-cG.

2.2. Fractionnement du Su 2%-cG sur colonne

4 à 5 ml du Su 2%-cG sont appliqués sur une colonne de Bio Gel P150 (Calbiochem) de 1.5 x 45 cm. L'élution est effectuée avec du NaCl 2%. Les fractions

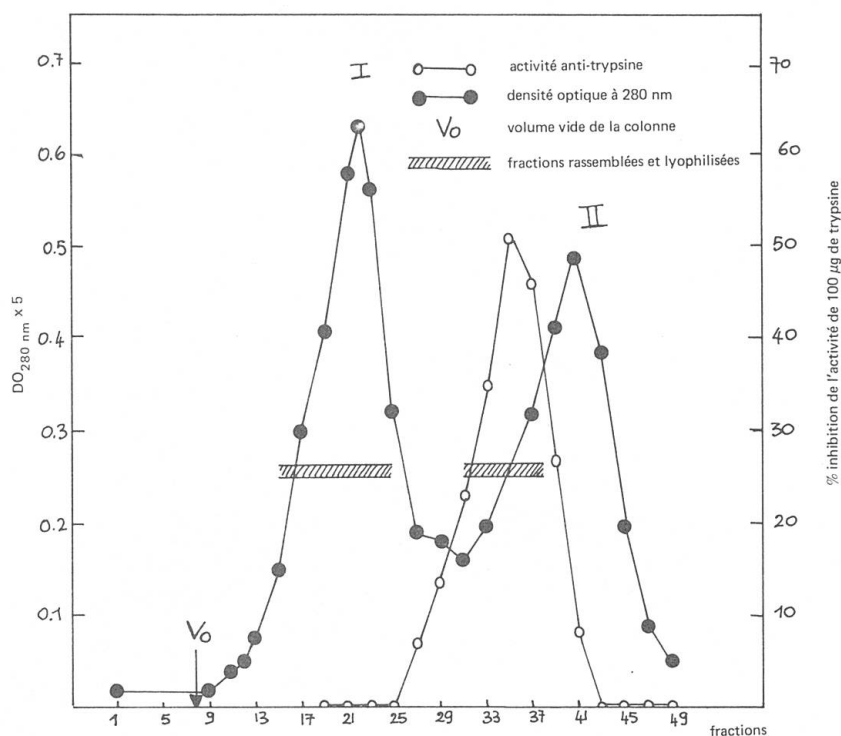


Fig. 1. — Fractionnement sur colonne de Bio Gel P150 du Su 2% cG des globulines de *Vigna unguiculata* H81. Elution avec NaCl 2%

collectées avec un Fractometre 200 (Buchler) au rythme de 150 gouttes par tube (soit environ 6.4 ml par tube). La densité optique à 280 nm est enregistrée à la sortie de la colonne à l'aide d'un appareil Uvicord III LKB. Les fractions éluées correspondant au pic I et anti-trypsine (cf. fig. 1) sont rassemblées et lyophilisées.

2.3. Activité anti-trypsine de l'éluat

On recherche l'activité anti-trypsine dans chaque fraction éluee par la méthode d'ERLANGER & al. (1961) exception faite des modifications suivantes:

- le mélange témoin est 0.3 ml de trypsine (EG 3.4.4.4., trypsine de pancréas de bœuf, type III, Sigma; la trypsine est en solution dans HCl 10^{-3}N , la densité optique de cette solution est ajustée à $DO_{280 \text{ nm}} = 0.1$ ce qui correspond à 100 μg de trypsine par ml), 0.3 ml de NaCl 2%, 2.1 ml de BAPA¹ et 0.3 ml d'acide acétique 30%;
- la solution de BAPA est additionnée de NaCl 2%.

¹BAPA: α -N-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide.

2.4. *Auto-analyse des acides aminés des différents surnageants obtenus sous 2.1. et des globulines du Su 2%-cG fractionnées sur colonne*

L'auto-analyse des acides aminés des Su 4%, 2% et 2%-cG ainsi que des pics I et anti-trypsine (cf. fig. 1) a été réalisée par Monsieur E. Otoul de la Faculté des sciences agronomiques de l'Etat (Gembloux, Belgique, Phytotechnie des régions chaudes) à partir des lyophilisats des échantillons mentionnés ci-dessus.

3. Résultats et discussion

3.1. *Activité anti-trypsine des différents surnageants*

L'activité anti-trypsine spécifique augmente respectivement dans les surnageants Su 4%, 2% et 2%-cG. Cela prouve que les globulines qui précipitent au cours des étapes de ce fractionnement (cf. 2.1.) ne contiennent pas d'inhibiteurs anti-trypsine.

3.2. *Courbe d'éluion du Su 2%-cG, activité anti-trypsine de l'éluat*

On note sur la figure 1 que les globulines du Su 2%-cG donnent deux pics d'éluion distincts (I et II) retardés sur Bio Gel P150. Le pic d'activité anti-trypsine ne coïncide avec aucun des deux pics ($DO_{280\text{ nm}}$), il chevauche le pic II.

3.3. *Auto-analyse des acides aminés*

Nous donnons au tableau 1 le résultat de l'analyse des acides aminés des globulines cotylédonaires, des Su 4%, 2% et 2%-cG et des pics d'éluion I et anti-trypsine. Les quelques conclusions suivantes peuvent être tirées de cette analyse.

- Les trois fractions globuliniques: Su 4%, 2% et 2%-cG, paraissent très semblables du point de vue de leur spectre en acides aminés. Ces derniers se rapprochent sensiblement de celui obtenu pour les globulines cotylédonaires complètes. Les différences observées entre les proportions des acides aminés des trois spectres envisagés sont trop peu importantes pour retenir l'attention.
- En ce qui concerne le spectre des globulines du pic I, il ne se différencie pas sensiblement des trois autres spectres: Su 4%, 2% et 2%-cG, à l'exception cependant de la teneur en méthionine qui est ici relativement faible et ceci dans les deux répétitions réalisées à partir de prises d'échantillon différentes. Monsieur Otoul nous signale que la faible teneur en matière protéique de l'ensemble de cet échantillon (globulines du pic I) l'a obligé à conserver une quantité assez conséquente de NaCl qui pourrait avoir perturbé l'hydrolyse. A son avis, cependant pas au point de réduire de moitié la quantité de méthionine.
- Les résultats obtenus pour le pic anti-trypsine sont totalement différents des autres. La teneur en cystéine de cet échantillon est très élevée et très nette-

Acides aminés*	Glob. cot.	Su 4%	Su 2%	Su 2% -cG	Pic I	Pic anti-trypsine
Cystéine**	0.57	0.60	0.78	0.92	0.47	5.58
Ac. aspart.	12.25	12.73	12.78	12.29	12.76	11.53
Thréonine	3.37	3.13	3.43	3.56	3.24	6.49
Sérine	4.84	4.97	4.95	5.04	5.20	6.17
Ac. glut.	19.89	21.01	20.59	19.95	21.56	13.78
Proline	3.59	3.56	3.69	3.70	3.68	3.90
Glycine	3.41	3.16	3.45	3.53	3.02	7.28
Alanine	3.72	3.44	3.52	3.61	3.44	4.86
Valine	5.63	5.42	5.48	5.45	5.57	4.94
Méthionine	1.13	1.69	0.88	1.02	0.57	trace
Isoleucine	4.76	4.50	4.54	4.47	4.55	4.22
Leucine	8.95	8.75	8.75	8.81	9.19	6.75
Tyrosine	3.46	3.30	3.22	3.33	3.07	3.00
Phénylala.	6.75	6.89	6.93	6.92	7.26	4.79
Lysine	6.80	6.63	6.65	6.73	6.86	8.80
Histidine	3.17	3.26	3.18	3.23	3.14	4.02
Arginine	8.28	8.11	7.59	8.27	7.86	9.43

* Les quantités d'acides aminés sont exprimées en % de la matière aminée des 16 acides aminés envisagés.

** La quantité de cystéine (1/2 cystine) est exprimée en % de l'azote total dosé par la méthode de Kjeldahl; les poudres: globulines complètes, Su 4%, Su 2% et Su 2%-cG ont subi une oxydation à l'acide performique préalable à l'hydrolyse.

Tableau 1. — Composition en acides aminés des globulines complètes de *Vigna unguiculata* H81 et des fractions globuliniques suivantes: Su 4%, Su 2%, Su 2%-cG, pic I et pic anti-trypsine (voir le texte).

ment supérieure à celle des autres échantillons de globulines étudiés. Par contre, la méthionine ne s'y trouve que sous forme de traces impossibles à calculer.

Comparativement aux 4 échantillons: Su 4%, 2%, 2%-cG et pic I, la thréonine et la glycine (principalement), l'alanine, la lysine, l'histidine et l'arginine sont mieux représentées dans le pic anti-trypsine. Le projet d'éliminer la fraction globulinique anti-trypsine pour améliorer la valeur nutritive du *Vigna unguiculata* H81 (par sélection par exemple) semble donc peu souhaitable. En effet, tout en diminuant la quantité d'inhibiteurs anti-trypsine, on porterait atteinte par la même occasion au taux des acides aminés essentiels à l'homme (cystéine, lysine...) qui sont très concentrés dans cette fraction globulinique à activité anti-trypsine.

Nous avons effectué le fractionnement décrit ci-dessus sur un autre *Vigna* originaire du Japon: *V. angularis* H151 qui nous a été fourni par Monsieur Lemarchand (Faculté des sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux, Belgique). Nous obtenons les mêmes résultats que pour le *V. unguiculata* H81, en particulier en ce qui concerne les pics d'élution sur colonne de Bio Gel P150 (cf. fig. 1) et le pic anti-trypsine qui chevauche le pic II globulinique. Il apparaît donc que l'activité anti-trypsine est liée aux mêmes globulines dans deux espèces éloignées de *Vigna*. La sélection de *Vigna* à moindre teneur en inhibiteurs et dans lesquels un bon équilibre en acides aminés soit conservé, paraît difficile à réaliser.

Il semble donc, qu'on doive en rester à la méthode traditionnelle de destruction des facteurs nuisibles de la graine: la chaleur (sèche ou humide). Toutefois, les molécules d'inhibiteurs sont généralement remarquablement stables (grâce à de nombreux ponts disulfures qui rendent la molécule très rigide: VOGEL & al., 1968; LIENER & al., 1969; RYAN, 1973 et ROYER, 1975) et résistent bien à de fortes températures. Ainsi, WARSY & STEIN (1973) isolent des graines de *Vicia faba* deux inhibiteurs anti-trypsine; pour détruire l'activité de l'un d'entre eux, il est nécessaire d'autoclaver 30 min. à 120°C la farine de fève. Ce chauffage excessif est nocif car il altère certains acides aminés indispensables à l'homme et dont le taux est généralement déficient dans les rations alimentaires (tryptophane, arginine...). Cependant, les dégâts provoqués par ces longues cuissons peuvent être atténués en supplémentant une ration alimentaire à base de Légumineuses par un apport en céréales (maïs) ou en protéines animales (farines de poisson, laitages...).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AYKROYD, W. R. & J. DOUGHTY (1964). *Legumes in human nutrition*. FAO Nutritional Studies No. 19. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
- ERLANGER, B. F., N. KOKOWSKY & W. COHEN (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates for trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* 95: 271-278.
- LIENER, I. E. & M. L. KAKADE (1969). Protease inhibitors. In I. E. Irvin (ed.), *Toxic constituents of plant foodstuffs*: 8-53. New York and London.
- MIÈGE, M.-N. (1970). Etude des protéines de graines d'une légumineuse Lablab niger Medik. *Arch. Sci.* 23: 75-150.
- ROYER, A. & J. MIÈGE (1972). De la nécessité d'une amélioration qualitative des protéines végétales alimentaires, un exemple: le Vigna. *Semaine d'étude des problèmes inter-tropicaux, 11-15 septembre 1972. Faculté des sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux (Belgique)*.
- ROYER, A., M.-N. MIÈGE, A. GRANGE, J. MIÈGE & J.-M. MASCHERPA (1974). Inhibiteurs anti-trypsine et activités protéolytiques des albumines de graines de Vigna unguiculata. *Planta* 119: 1-16.
- (1975). Activités protéolytiques et anti-trypsine des graines de Vigna unguiculata: répartition et interaction. *Phytochem.* 14: 915-919.
- RYAN, C. A. (1973). Proteolytic enzymes and their inhibitors in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24: 173-196.
- VOGEL, R., I. TRAUTSCHOLD & E. WERLE (1968). *Natural proteinase inhibitors*. New York and London.
- WARSY, A. S. & M. STEIN (1973). Trypsin inhibitors of broad bean (*Vicia faba* L.). *Qual. Pl. Mater. Veg.* 23: 157-169.