

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Band: 85 (1994)

Heft: 3

Artikel: Protéines - définition, aspects nutritionnels et méthodes d'évaluation : un article de revue = Proteins - definition, nutritional aspects and evaluation methods : a review

Autor: Gaudard-de Weck, Danièle / Hischenhuber, Claudia / Kruseman, Jan

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982762>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 07.10.2024

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

Protéines – définition, aspects nutritionnels et méthodes d'évaluation: un article de revue*

Proteins – Definition, Nutritional Aspects and Evaluation Methods: a Review

Key words: Protein, Nutrition, Analysis, Amino acid, Legislation

Danièle Gaudard-de Weck, Claudia Hischenhuber et Jan Kruseman
Centre de Recherche Nestlé, Vers-chez-les-Blanc, Lausanne

Introduction

Les protéines sont des molécules de taille très variable, constituants fondamentaux des tissus vivants, qui contribuent au moins pour moitié au poids sec de la masse cellulaire. Plus de 30 000 protéines ont été recensées. Elles ont des fonctions très diverses (tableau 1): les unes forment la substance contractile des muscles, telle la myosine, d'autres entrent dans la composition de la peau et lui assurent résistance et souplesse; ce sont les protéines de structure qui assurent également la rigidité des

Tableau 1. Rôles biologiques des protéines

| Rôle | Exemples |
|------------------------|---|
| Enzyme | DNA-polymérase, trypsine, α -amylase, etc. env. 2000 enzymes caractérisées |
| Stockage | Caséine (lait), ovalbumine (blanc d'oeuf), zéine (maïs) |
| Transport | Hémoglobine (transport de l'O ₂ dans le sang) |
| Protéines contractiles | Myosine (viande) |
| Protection | Anticorps (dans le sang), thrombine (coagulation sanguine) |
| Toxines | Botuline (intoxication alimentaire), venin (serpent) |
| Hormones | Insuline (régulation de la glycémie) |
| Structure | Collagène (cartilage), glycoprotéines (paroi cellulaire) |

* Conférence tenue lors de la 105^e assemblée annuelle de la Société suisse de chimie alimentaire et environnementale, du 17 septembre 1993 à Lenzbourg.

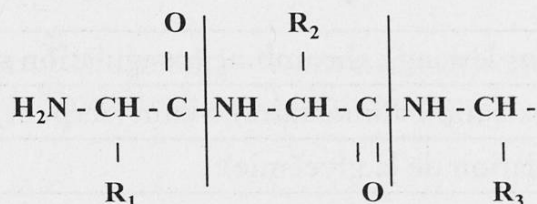
parois des cellules végétales. D'autres encore ont des fonctions de transport comme l'hémoglobine, de protection comme les anticorps, de messenger comme les hormones ou finalement sont des enzymes ou des toxines pouvant provoquer des intoxications alimentaires ou être responsables du caractère toxique des venins de serpent par exemple.

Chimiquement, les protéines sont des macromolécules composées d'acides aminés liés par des liaisons covalentes (fig. 1). Toutes contiennent du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote, presque toutes du soufre et certaines du phosphore.

Selon le nombre d'acides aminés, on différencie des peptides (quelques acides aminés), des polypeptides (P.M. < 10 000) et des protéines. La structure primaire désigne le squelette de la chaîne polypeptidique et la séquence des acides aminés. La structure secondaire désigne la disposition régulière et récurrente dans l'espace de la chaîne polypeptidique le long d'une seule dimension (particulièrement nette dans les protéines fibreuses, par exemple les filaments de myosine), alors que la structure tertiaire désigne la façon dont les chaînes polypeptidiques sont enroulées ou courbées dans les trois dimensions pour former les structures compactes et extrêmement enroulées des protéines globulaires, par exemple l'hémoglobine. Finalement, la structure quaternaire désigne l'arrangement et le regroupement dans l'espace des chaînes polypeptidiques. La plupart des protéines de grande taille contiennent plusieurs chaînes polypeptidiques, par exemple les enzymes, sans liaison covalente entre elles.

Vingt acides α aminés seulement sont communément trouvés comme éléments constitutifs des protéines; ils se différencient par la structure de leur radical (R). La glycine, l'alanine, la valine, la leucine, l'isoleucine, la sérine et la thréonine ont des chaînes latérales aliphatiques, hydroxylées dans le cas de la sérine et la thréonine. La lysine, l'arginine et l'histidine ont des chaînes latérales basiques, l'acide aspartique et l'acide glutamique ont évidemment des chaînes acides alors que l'asparagine et la glutamine contiennent un groupe amide. La phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane sont aromatiques et finalement la cystéine et la méthionine contiennent du soufre. Nous reviendrons plus loin sur l'importance de certains acides aminés dans l'alimentation.

Historiquement, c'est en 1772 que Rutherford identifie un gaz que Chaptal nommera plus tard «azote». En 1790, Lavoisier établit que ce gaz n'est pas utilisé par les mammifères. Le caractère essentiel de l'apport alimentaire d'azote a été mis



$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$: radical spécifique à chaque acide aminé

Fig. 1. Liaison peptidique

en évidence par Magendie en 1816 alors que le premier bilan azoté a été fait chez la vache en 1839 par Boussingault.

Globalement, chez les adultes en bonne santé, la quantité protéique ingérée représente 11 à 16% de l'énergie totale ingérée. Cette proportion est stable, quel que soit l'environnement culturel, climatique ou géographique du peuple considéré (1).

Il existe différentes méthodes pour déterminer les besoins protéiques en fonction de l'âge. La FAO et l'OMS (2) ont publié une synthèse tenant compte d'une part de l'apport du lait maternel pour le nourrisson (tableau 2), et d'autre part des besoins, de la qualité et de la digestibilité des protéines pour définir un niveau de sécurité, couvrant les besoins de 97,5 pour cent de la population, présenté pour quelques classes d'âge (tableau 2). Le nourrisson, qui présente un taux de croissance élevé, a des besoins protéiques importants par rapport à son poids corporel; ses besoins diminuent progressivement et se stabilisent vers l'âge adulte.

Il n'existe pas de recommandations suisses. La Suisse alémanique a tendance à se rallier aux recommandations allemandes (3). Ces dernières sont de 2,2 g/kg de poids corporel (P.C.) de 0 à 4 mois, pour diminuer selon un schéma similaire à celui adopté par la FAO à 0,8 g/kg P.C. pour l'adulte. Ceci correspond à un ingéré protéique de 59 g/jour pour les hommes et de 48g/jour pour les femmes. Les recommandations françaises (1), qui font référence en Suisse romande, sont plus élevées, restant à 2,0 g/kg P.C. jusqu'à l'âge de 6 mois et atteignant la valeur de 81 g/jour pour les hommes et de 60 g/jour pour les femmes. Ces recommandations reflètent mieux les habitudes de la population, dans la mesure où il n'a pas été démontré de contre-indications quant à l'état de santé d'un individu à manger plus de protéines que les besoins déterminés, et reportés par la FAO. La classe d'âge risquant le plus une consommation exagérément élevée de protéines (par exemple 100 g/jour) est celle des adolescents.

Tableau 2. Besoins protéiques quotidiens (2) (g/kg P.C.)

| | | | |
|-----------------------------|---------|-----------|-----------|
| Apport par le lait maternel | Bébé | 0-1 mois | 2,4 |
| | | 3-4 mois | 1,5 |
| Niveau de sécurité | Enfants | 1-1,5 ans | 1,26 |
| | | 5-6 ans | 1,02 |
| | | 9-10 ans | 0,99 |
| | Filles | 10-18 ans | 1,00-0,80 |
| | Garçons | 10-18 ans | 0,99-0,86 |
| | Adultes | | 0,75 |

P.C. = poids corporel

Définition chimique et légale

La spécificité des protéines est de renfermer de l'azote impliqué dans la liaison peptidique. En moyenne cet azote représente environ 16% du poids des protéines. Par convention, le taux d'azote doit donc être multiplié par 6,25 (100/16) pour obtenir celui de protéine. Ce facteur de conversion représente la base de la définition légale du taux de protéine. Cette valeur est acceptable pour les mélanges protéiques. Pour les protéines prises individuellement, le facteur est toutefois influencé par les rapports de l'acide glutamique à la glutamine et de l'acide aspartique à l'asparagine, ainsi que par la teneur en arginine (4). Les protéines de soja ou de riz riches en arginine ont, par exemple, un facteur de conversion inférieur à 6,25. Quelques exemples d'aliments à facteur extrême sont présentés sur le tableau 3. Le facteur très bas du cacao (5) est dû à sa haute teneur en méthylxanthines (6) et autres composés non protéiques.

Tableau 3. Facteurs de conversion protéique spécifiques de quelques aliments

| Exemple | Facteur | Référence |
|--------------------|---------|-----------|
| Cacao | 5,01 | (7) |
| Amandes | 5,18 | (9) |
| Lait maternel | 5,18 | (6) |
| Noix, noix de coco | 5,30 | (9) |
| Blé | 5,70 | (9) |
| Lait | 6,38 | (9) |

En effet, le résultat du calcul du taux de protéine calculé est également biaisé par la présence éventuelle d'azote non protéique dans l'aliment. L'azote non protéique est défini comme étant l'azote non précipité par l'acide trichloro-acétique à 12%. Cet azote provient d'une part d'acides aminés libres et de peptides utilisables pour la synthèse protéique, et d'autre part d'acides nucléiques et d'autres composés chimiques non utilisables. Enfin l'urée est un cas spécial. Telle quelle, elle n'entre pas dans la synthèse protéique mais peut servir de précurseur d'acides aminés chez les bactéries intestinales. D'après *Heine* et al. (7), environ 20% de l'urée du lait maternel, qui représente 6 à 11% de l'azote total (8) serait indirectement utilisable. Toutefois, cette proportion est sujette à controverse.

Pour les spécifications des matières premières ainsi que pour l'étiquetage de la valeur nutritionnelle des facteurs de conversion ont été définis. Le tableau 4 présente quelques exemples de facteurs intervenant dans la législation suisse (9), les directives de la Communauté économique européenne (CEE) (10) et les documents du Codex Alimentarius (11). La CEE a simplifié les choses en fixant un facteur unique de 6,25 pour l'étiquetage de la valeur nutritionnelle (à l'exception des laits destinés spécifiquement aux enfants jusqu'à une année). On utilise toutefois un

Tableau 4. Facteurs de conversion protéique légaux

| | CH (9) | CEE (10) | Codex (11) |
|---|--------|----------|------------|
| Facteur non spécifié | 6,25 | 6,25 | 6,25 |
| Blé | 5,70 | 6,25 | 5,70 |
| Orge, avoine, seigle | 5,83 | 6,25 | 6,25 |
| Maïs | 6,25 | 6,25 | 6,25 |
| Riz | 5,95 | 6,25 | 6,25 |
| Graines oléagineuses, sauf amandes, cacahuètes | 5,30 | 6,25 | 6,25 |
| Amandes | 5,18 | 6,25 | 6,25 |
| Cacahuètes | 5,46 | 6,25 | 6,25 |
| Viandes, oeufs, poissons | 6,25 | 6,25 | 6,25 |
| Légumineuses, sauf soja | 6,25 | 6,25 | 6,25 |
| Soja et dérivés | 5,71 | 6,25 | 6,25 |
| Gélatine | 5,55 | 6,25 | 6,24 |
| Lait et dérivés | 6,38 | 6,25 | 6,38 |
| Laits pour nourrissons (0-4 mois) et laits de suite (4-12 mois) | 6,38 | 6,38 | 6,38 |

facteur de 5,7 pour spécifier la qualité des semoules et des farines de blé et celui de 6,38 pour calculer le taux de protéine dans l'industrie laitière.

Les études nutritionnelles se basent sur la teneur en azote d'un produit mais pas sur son taux de protéine. Le facteur de conversion n'intervient donc pas dans ces études. Le nutritionniste utilise le terme de «protéine brute» ou «crude protein», comme étant 6,25 x le taux d'azote, quelle que soit la protéine.

En résumé, le facteur de conversion de l'azote dosé en % de composés azotés entrant réellement dans la synthèse protéique varie selon l'aliment considéré et peut, dans certains cas, être très difficile à déterminer. De plus, les facteurs utilisés pour l'étiquetage de la valeur nutritionnelle des produits dans les différents pays peuvent différer de ceux utilisés pour spécifier les matières premières.

Dosage des protéines

La teneur en protéine étant toujours calculée, le dosage des protéines est toujours indirect. La méthode de référence est la méthode dite de *Kjeldahl* (12), décrite également dans les méthodes de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC). L'échantillon est minéralisé à 370 °C dans l'acide sulfurique en présence

d'un catalyseur. Aujourd'hui la tendance est de remplacer les catalyseurs toxiques par des substances moins polluantes. Un mélange relativement inoffensif qui a fait ses preuves est le catalyseur Missouri (13). L'ammoniac formé, libéré par l'adjonction de soude caustique est distillé et récupéré dans une solution d'acide borique puis titré par de l'acide chlorhydrique. L'azote total, à l'exception des nitrites et des nitrates, est dosé par cette méthode.

Une autre méthode de dosage de l'azote, adoptée notamment par l'AOAC (14) pour les fourrages, est la combustion oxydative. La combustion est effectuée dans une atmosphère riche en oxygène et en dioxyde de carbone, en présence d'un catalyseur à base d'oxyde de cuivre et de platine. Le gaz carbonique sert de transporteur, entraînant les oxydes d'azote formés dans des tubes d'absorption où ils sont réduits en azote gazeux (diatomique). La détection et la quantification se font par conductibilité thermique. Cette méthode est plus pratique et plus rapide si de nombreuses analyses sont faites quotidiennement. L'investissement est plus important et le dosage des échantillons pauvres en protéines (< 1%) moins précis. L'azote total dosé comprend l'azote des nitrites et des nitrates.

En production, le contrôle du taux de protéine en routine est toujours plus fréquemment fait par la spectrométrie dans le proche infrarouge (NIR) (15, 16). Cette technique, permet des contrôles rapides «on line» mais doit être calibrée avec les aliments concernés. La méthode Kjeldahl est prise comme référence pour la calibration. Les appareils NIR sont donc idéaux pour le contrôle en fabrique mais pas pour les laboratoires analysant des produits très variés.

Pour le lait, la méthode colorimétrique au noir amido est une méthode de l'AOAC et de la Fédération internationale de laiterie (FIL) (17) utilisée en production. D'autres méthodes colorimétriques (Bleu de Coomassie (18), biuret, *Lowry* (19)) sont utilisées en biochimie clinique. Le résultat dépend toujours de l'aminogramme vu que le colorant utilisé ne réagit qu'avec certains acides aminés, basiques pour le bleu de Coomassie, tyrosine pour le réactif Folin-Ciocalteu utilisé dans la méthode de Lowry. La méthode dite du biuret est basée sur un complexe coloré formé essentiellement avec les liaisons peptidiques. Une partie de l'azote non protéique est souvent dosé avec de telles méthodes. En biochimie clinique, ce sont des méthodes comparatives fiables.

En résumé, la méthode de référence reste la méthode Kjeldahl. Toutefois, d'autres méthodes (combustion, NIR notamment), peuvent être plus rapides et plus simples d'utilisation dans un contexte donné.

Détermination de l'aminogramme

Le dosage du taux de protéine est un résultat purement quantitatif qui ne nous donne aucune indication sur la qualité de la protéine testée. Celle-ci dépend de son aminogramme, c'est-à-dire de sa composition en acides aminés. Pour déterminer l'aminogramme d'une protéine, on procède à une hydrolyse pour libérer les acides aminés, qui sont quantifiés après chromatographie. La plupart des acides aminés

sont dosés après une hydrolyse à l'acide chlorhydrique 6 molaire sous azote pendant 24 heures à 110 °C.

La glutamine et l'asparagine se transforment respectivement en acide glutamique et en acide aspartique pendant l'hydrolyse avec libération d'ammoniac. Les résultats obtenus pour ces acides aminés correspondent donc respectivement à la somme des concentrations de glutamine et d'acide glutamique d'une part et d'asparagine et d'acide aspartique d'autre part. Le taux des formes amides n'est pas déclaré séparément pour les produits alimentaires. Il est toutefois possible de libérer l'asparagine et la glutamine telles quelles par hydrolyse enzymatique. Les conditions d'hydrolyse et le choix des enzymes dépendent des protéines considérées et des autres composants du produit. Le lait, par exemple, peut être totalement hydrolysé en utilisant successivement la pepsine (24 heures, 37 °C, pH = 2,0), la pronase (24 heures, 37 °C, pH = 8,20) et finalement l'aminopeptidase M et la prolidase (24 heures, 37 °C, pH 8,20) (20, 21). D'autres méthodes d'hydrolyse enzymatique, utilisant des extraits d'*Aspergillus* cultivés sur des céréales ou du soja, auraient l'avantage d'être plus rapides. Toutefois, cette technique demande une mise au point pour chaque substrat considéré (22).

Les acides aminés soufrés, la cystéine, la cystine – conjugaison de deux molécules de cystéine liées par un pont disulfure – et la méthionine sont partiellement détruits lors de l'hydrolyse acide. La méthode la plus fiable pour les conserver est de les oxyder par l'acide performique respectivement en acide cystéique et en méthionine sulfone. Les protéines oxydées sont ensuite hydrolysées par l'acide chlorhydrique 6 molaire, comme pour la libération des autres acides aminés.

Le tryptophane est détruit lors de l'hydrolyse acide. Cet acide aminé est récupéré par hydrolyse alcaline sous vide, en présence de 5-méthyltryptophane comme standard interne (23).

L'hydrolyse des protéines dans un four à micro-ondes est une technique en développement. L'avantage de cette technique est le gain de temps, environ une heure au lieu de 24; la récupération de tous les acides aminés d'un aliment complexe semble toutefois encore difficile.

Après l'hydrolyse, les acides aminés sont séparés par chromatographie. La méthode de référence reste la chromatographie par échange d'ions avec un analyseur d'acides aminés. La séparation est assurée par un gradient de pH, de force ionique (différents tampons programmés) et de température (colonne thermostatée, possibilité de programmer différentes températures). La détection colorimétrique et la quantification sont menées après réaction post-colonne à la ninhydrine. Les limitations de cette technique sont la sensibilité (0,5 nmol) et la durée de l'analyse (45–120 mn). La sensibilité peut être améliorée en utilisant la fluorescence pour la détection, après formation, pour les acides aminés primaires, de dérivés avec l'o-phthalaldéhyde séparés par HPLC. Pour les acides aminés secondaires, la formation d'autres dérivés (9-fluorényl-méthylchloroformate: FMUL) a été proposée. Cette technique est adéquate pour l'étude des protéines pures, l'analyseur d'acides aminés restant la technique de référence pour les aliments.

Il est possible de former des phénylthiocarbamyl-amino acides par réaction avec le phénylisothiocyanate (PITC). Ces dérivés sont séparés par HPLC en phase

inverse. La sensibilité de cette méthode est de 1 pmole et le temps d'analyse d'environ 20 minutes. D'après les essais menés dans nos laboratoires, la séparation de l'acide cystéique et de la méthionine sulfone requiert une amélioration de la méthode.

Le tryptophane est généralement séparé par HPLC et détecté par fluorimétrie ou spectrophotométrie. Toutefois, la chromatographie échangeuse d'ions convient également.

En résumé, la détermination de l'aminogramme d'une protéine se fait toujours en deux étapes: la libération des acides aminés par hydrolyse et la quantification par chromatographie.

Lysine réactive et bloquée

Dans les aliments qui ont subi des traitements thermiques, le groupe aminé ϵ de la lysine peut avoir réagi avec les sucres réducteurs (réaction de Maillard) rendant ainsi la lysine non disponible biologiquement, ou «bloquée». Du point de vue nutritionnel, le dosage de la lysine dite réactive, c'est-à-dire ayant son groupe ϵ NH_2 libre, est très important puisque seule cette forme de lysine peut être utilisée pour la synthèse protéique. Lors de l'hydrolyse acide, la lysine bloquée se décompose en lysine, furosine et pyridosine en proportions connues. La lysine dosée est donc la somme de la lysine réactive et d'une partie de la lysine bloquée. La quantification de la furosine permet d'évaluer la concentration de lysine qui a réagi avec les sucres réducteurs, donc la proportion de lysine bloquée (déoxyfructosyl-lysine ou déoxylactulosyllysine). De la valeur dosée est soustraite la lysine formée pendant l'hydrolyse à partir de la lysine bloquée. Ainsi peut-on déterminer les taux de lysine réactive et bloquée à partir du dosage de la furosine et de la lysine après hydrolyse.

Aminogramme et nutrition

Du point de vue nutritionnel, les protéines couvrent une partie de nos besoins énergétiques. Elles doivent répondre à nos besoins en azote total pour la synthèse protéique et surtout couvrir nos besoins en acides aminés essentiels. Sont appelés essentiels les huit acides aminés pour lesquels il n'existe aucune voie de synthèse utilisée dans des conditions physiologiques chez les mammifères. Ce sont: l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine.

La capacité de synthèse *in vivo* de l'arginine et de l'histidine est insuffisante pour répondre aux besoins de l'enfant. Un besoin d'histidine a également été mis en évidence chez l'adulte mais les effets dus à une carence en cet acide aminé ne se remarquent qu'à long terme.

L'homme est donc dépendant du métabolisme cellulaire des plantes et des bactéries pour ses besoins en acides aminés essentiels. Ceux-ci doivent être présents dans l'alimentation bien que les bactéries intestinales puissent tous les synthétiser, mais en quantités insuffisantes. Les voies de synthèse des acides aminés essentiels comportent maintes étapes enzymatiques (plus nombreuses que celles des acides aminés non essentiels) et nécessitent également plus d'énergie. Cette évolution correspond donc à une stratégie d'économie.

La phénylalanine est le seul précurseur de la tyrosine, et la méthionine le seul précurseur de la cystéine. Ces deux acides aminés sont donc semi-essentiels du fait qu'ils peuvent couvrir partiellement les besoins de phénylalanine et de méthionine. Ces derniers acides aminés étant eux essentiels puisque les réactions impliquées comportent une étape irréversible. Le groupe aromatique et le groupe soufré ne peuvent pas être synthétisés chez les mammifères. Chez le rat, la phénylalanine peut couvrir approximativement 30 à 50% des besoins de tyrosine alors que la cystéine peut remplacer 47% de la méthionine (23). En conséquence, les besoins sont souvent exprimés par la somme des acides aminés tyrosine et phénylalanine et par celle de la méthionine et de la cystéine.

Une protéine est donc de bonne qualité nutritive si elle couvre suffisamment les besoins en acides aminés essentiels. Ceux-ci sont toujours exprimés en g/16 g N car c'est l'azote qui est déterminant pour la synthèse protéique, et non la quantité totale de protéines qui le contient. Les besoins en protéines par kg de poids corporel ainsi que ceux spécifiques en chaque acide aminé essentiel ont permis d'estimer le «profil parfait» adapté à chaque classe d'âge. La similitude existant entre un tel profil et la composition de protéines telles que celles du petit lait ou de l'œuf, considérées comme excellentes, a été observée. Quelle que soit la méthode utilisée pour déterminer le profil idéal servant de référence, ce dernier n'en demeure pas moins une estimation susceptible de réajustements.

Pour le nouveau-né, le profil considéré comme idéal est naturellement celui du lait maternel. Le tableau 5 présente quelques profils de référence: le lait maternel et la caséine, selon les valeurs admises par la CEE (24) et les besoins de l'enfant préscolaire, ainsi que ceux de l'adulte, comme définis par la FAO en 1985 (2). D'autres profils pour d'autres classes d'âge ont également été définis par le comité d'experts de la FAO et de l'OMS (2).

Revenons au lait maternel: les différentes analyses (25-30) varient énormément, surtout quant à la concentration en méthionine, présentant des différences de l'ordre de 30% entre le profil choisi par la CEE et celui retenu par la FAO. On trouve même dans la littérature des écarts encore plus importants.

Les besoins de l'adulte présentés sur le tableau 5 sont ceux que la FAO et l'OMS avaient définis et publiés en 1985 (2). En 1989, le comité d'experts a estimé la connaissance des besoins de l'adulte insuffisante pour se permettre d'accepter un profil moins riche en acides aminés essentiels pour l'adulte que pour l'enfant préscolaire. Dans l'attente d'une meilleure évaluation, il a donc proposé d'appliquer le profil de l'enfant préscolaire à toutes les personnes de cette classe d'âge et aux suivantes (31). Ce profil est bien entendu beaucoup plus exigeant, notamment en ce qui concerne la lysine, que celui qui faisait référence avant 1989. Dans la pratique,

Tableau 5. Profils de référence

| Acide aminé | CEE (24) g/100 g protéine | | FAO/OMS (31) g/100 g protéine brute | |
|-----------------------------|------------------------------|---------|--|--------|
| | Lait maternel | Caséine | Enfants 2-5 ans | Adulte |
| Arginine | 3,8 | 3,7 | n. s. | n. s. |
| Histidine | 2,5 | 2,9 | 1,9 | 1,6 |
| Isoleucine | 4,0 | 5,4 | 2,8 | 1,3 |
| Leucine | 8,5 | 9,5 | 6,6 | 1,9 |
| Lysine | 6,7 | 8,1 | 5,8 | 1,6 |
| Méthionine | 1,6 | 2,8 | n. s. | n. s. |
| Cystine | 1,3 | 0,3 | n. s. | n. s. |
| Méthionine + cystine | n. s. | n. s. | 2,5 | 1,7 |
| Phénylalanine | 3,4 | 5,2 | n. s. | n. s. |
| Tyrosine | 3,2 | 5,8 | n. s. | n. s. |
| Phénylalanine + tyrosine | n. s. | n. s. | 6,3 | 1,9 |
| Thréonine | 4,4 | 4,7 | 3,4 | 0,9 |
| Tryptophane | 1,7 | 1,6 | 1,1 | 0,5 |
| Valine | 4,5 | 6,7 | 3,5 | 1,3 |

n. s. = non spécifié

l'ingéré protéique dans les pays occidentaux est quantitativement supérieur aux besoins. Dès lors, la protéine n'a pas besoin d'être de qualité optimale.

Indice chimique

La comparaison d'une protéine avec une référence permet de déterminer l'indice chimique. Ce dernier est calculé en divisant la teneur en chaque acide aminé dans la protéine par celle de l'aminogramme de référence. Le rapport le plus faible est l'indice chimique et l'acide aminé concerné est appelé acide aminé limitant. Les protéines animales ont un indice chimique supérieur à celui des protéines végétales. L'acide aminé limitant des protéines végétales est la lysine dans le cas des céréales, et la méthionine dans celui des légumineuses. Remarquons par exemple que le collagène a un indice chimique zéro, puisqu'il est exempt de tryptophane.

L'association de deux sources de protéines végétales (par ex.: céréale + légumineuse), qui fait partie des traditions alimentaires depuis des millénaires, permet d'améliorer nettement la valeur nutritionnelle protéique d'un repas (tableau 6).

En résumé, la comparaison d'une protéine à un aminogramme de référence renseigne sur la qualité de cette protéine.

Tableau 6. Complémentarité des protéines végétales

| Aliment | Acide aminé limitant | Indice chimique % * | Acide aminé en excès | Indice chimique % * |
|--|-----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Riz | Lysine | 62 | méthionine + cystine | 147 |
| Soja | méthionine + cystine | 95 | lysine | 110 |
| Maïs | lysine | 46 | méthionine + cystine | 139 |
| Haricot | méthionine + cystine | 76 | lysine | 124 |
| Régime: maïs (76%) + haricot (24%) | tryptophane lysine | 64 66 | | |

* = protéine de référence: profil idéal enfants 2-5 ans, FAO/OMS (31)

Evaluation nutritionnelle in vivo

La valeur nutritionnelle d'une protéine dépendra non seulement de son aminogramme mais de sa digestibilité, c'est-à-dire du taux d'absorption de ses acides aminés. L'utilisation in vivo des protéines est influencée par les autres composants de l'aliment, et par l'origine des protéines. La rigidité des parois cellulaires des cellules végétales, leur contenu en fibres et en inhibiteurs de protéases (trypsine notamment) peuvent diminuer la digestibilité des protéines. La cuisson améliore la digestibilité des protéines végétales en attaquant les parois cellulaires, en dénaturant les protéines de haut poids moléculaire et en détruisant ou en éliminant dans l'eau de cuisson les inhibiteurs d'enzymes digestifs. Dans d'autres cas, les procédés technologiques utilisés dans la préparation de l'aliment peuvent au contraire entraîner des pertes de valeur nutritive protéique.

Les tableaux 7 et 8 résument les principaux effets négatifs des procédés technologiques sur la valeur protéique des aliments. Comme il est difficile de quantifier par analyse chimique toutes les pertes de valeur nutritive et de mesurer les interactions entre les différents composants de l'aliment, il est nécessaire de procéder à des tests in vivo.

Le test le plus largement utilisé et qui fait toujours office de référence est le «protein efficiency ratio» (PER), ou coefficient d'efficacité protéique (14). La valeur

Tableau 7. Effets chimiques des traitements thermiques sur les protéines et conséquences nutritionnelles

| Type de réaction | Conséquences chimiques | Conséquences nutritionnelles |
|-----------------------------|---|---|
| Réaction de Maillard | ϵ -NH ₂ lié aux sucres réducteurs | Perte de disponibilité d'acides aminés, surtout lysine. Diminution de la valeur biologique. Diminution de la digestibilité |
| Réticulation | Formation d'isopeptides | Perte de disponibilité d'acides aminés: lys., gln., cys. Diminution de la valeur biologique. Diminution de la digestibilité |
| Destruction d'acides aminés | Perte de mét., trp., gln. | Diminution de la valeur biologique |
| Racémisation | Formation d'acides aminés D: cys., asp., sér. | Perte de disponibilité d'acides aminés. Diminution de la valeur biologique |

Tableau 8. Effets chimiques de divers traitements technologiques et conséquences nutritionnelles

| Type de traitement ou de réaction | Type d'aliment ou de produit | Conséquences chimiques et nutritionnelles |
|---|---|---|
| Fractionnement et purification | Concentrat de soja | Perte de mét. et cys. Diminution de la valeur biologique. |
| Traitements alcalins: – solubilisation – inactivation de l'aflatoxine – texturisation – nixtamalisation* – pouvoir émulsifiant | extrait de soja, caséine arachide prot. végétales filées maïs caséine, fraction de soja | Perte d'acides aminés: lys., cys., Diminution de la valeur biologique. Diminution de la digestibilité |
| Oxydations | agents stérilisants lipides irradiation des aliments | Perte de disponibilité de mét., cys., trp., hist. |

* = La nixtamalisation est un traitement à la chaux utilisé pour la préparation du maïs en Amérique latine.

du PER se définit comme étant le gain de poids corporel (en grammes) divisé par l'ingestion protéique (en grammes). Le PER relatif est calculé en pourcentage de la valeur obtenue pour la caséine, durant le même test.

Dans ce test de croissance, les jeunes rats sont toujours nourris ad libitum; tous les régimes contiennent 10% en poids de «crude protéin» et la protéine de référence est toujours la caséine. La teneur en lipides, en fibres et en lactose est également la

même pour tous les groupes, soit au minimum respectivement de 10,0%, 5,0% et 0,0%. Les taux de vitamines et de minéraux répondent aux recommandations de l'American Institute of Nutrition de 1976 (32).

L'AOAC spécifie que le test de croissance doit durer 28 jours et comporter au moins 10 rats par groupe. Toutefois, la pratique démontre que les résultats obtenus après trois semaines de test sont les mêmes. En outre, 8 rats par groupe peuvent suffire statistiquement et permettre déjà une diminution appréciable du nombre de rats nécessaires. Dans tous les cas, les rats (en cage individuelle équipée d'une grille dans le fond, au-dessus de papiers buvards) et la nourriture (toujours en poudre) doivent être pesés deux fois par semaine, en récoltant le gaspillage. Le test est mené avec des jeunes rats juste sevrés, aimant dormir dans leur mangeoire; la quantité de nourriture jetée hors de celle-ci peut être diminuée en offrant deux mangeoires aux rats, l'une vide lui servant de litière!

Prenons comme exemple le soja, dont l'acide aminé limitant est la méthionine. Cet acide aminé limite aussi la croissance du groupe de référence nourri à la caséine car les besoins des rats en croissance pour cet acide aminé sont très élevés (33). Relativement à cette référence et aux besoins du nourrisson, le soja est par conséquent déficient en acides aminés soufrés. Un lait de soja pour nourrissons intolérants au lactose a été développé, auquel a été ajoutée de la L-méthionine. Le PER de ce produit était de $89,3\% \pm 2,1$, ce qui correspond à une bonne valeur nutritionnelle. Cette valeur montre ainsi la disponibilité de la méthionine ajoutée et que ce produit a subi une technologie adéquate lors de sa préparation, par exemple que les facteurs anti-nutritionnels du soja ont bien été éliminés ou inactivés. En définitive, le PER démontre que la disponibilité générale des acides aminés est bonne et, dans ce cas, qu'il a été possible d'accroître la valeur nutritive d'une protéine végétale. La valeur du PER inférieure à celle de la caséine malgré la teneur plus élevée en acides aminés soufrés indique toutefois une digestibilité plus faible que celle de la caséine, ou la présence d'un autre acide aminé limitant dans ce lait pour bébé.

En résumé le PER est un test de référence largement utilisé pour contrôler les effets des traitements technologiques, notamment des traitements thermiques, sur la valeur nutritive de l'aliment et pour vérifier la complémentarité des acides aminés. Son principe est de comparer la protéine étudiée à une protéine de référence, la caséine. C'est un test comparatif, simple et bien standardisé. Il peut être inadéquat ou difficile à interpréter pour des protéines dont l'aminogramme diffère sensiblement de celui de la caséine.

Pour une croissance harmonieuse, la rétention azotée est un paramètre plus déterminant que la prise de poids corporel, qui peut refléter une rétention d'eau ou de graisse. La rétention azotée, c'est-à-dire l'utilisation des acides aminés alimentaires pour le gain de poids en protéine, est déterminée dans un test de bilan azoté. Ce bilan est établi sur une période de 7 jours, après au moins 7 jours d'adaptation au régime et 3 jours d'adaptation à la cage métabolique. Le régime répond aux mêmes critères que celui utilisé dans le test PER et contient donc 10% de «crude protein». Pendant la semaine de bilan, l'ingéré est mesuré ainsi que le poids corporel du rat. Ses urines sont récoltées chaque jour dans un cylindre contenant 1 ml d'acide chlorhydrique 1 molaire (après rinçage de la cage avec le même acide dilué 10 fois)

et congelées en un «pool» pour la semaine. Les selles sont également récoltées et congelées chaque jour, en rassemblant toutes celles de la semaine. Pour récupérer la nourriture gaspillée, collectée avec les selles, l'utilisation d'un treillis est recommandée. L'azote est alors dosé par la méthode Kjeldahl dans le régime, les selles et les urines.

Un groupe de rats «protéoprive» est rajouté à chaque essai pour estimer l'excrétion endogène d'azote dans les selles et les urines. Ce groupe qui doit maintenir son poids corporel est nourri avec une diète contenant 2,5% de lactalbumine. Pour chaque rat de ce groupe, l'azote urinaire est exprimé relativement au poids corporel et la moyenne des valeurs du groupe est appelée: azote urinaire endogène relatif. Pour chaque rat des groupes expérimentaux, l'azote endogène urinaire total pour toute la semaine est calculé en multipliant son poids corporel moyen par l'azote urinaire endogène relatif, déterminé à l'aide du groupe «protéoprive». L'azote fécal du groupe «protéoprive» est exprimé relativement au poids de la nourriture ingérée et la moyenne pour le groupe est appelée azote fécal endogène relatif. L'azote endogène fécal de chaque rat des groupes expérimentaux est calculé en multipliant le poids de la nourriture qu'il a ingérée par l'azote fécal endogène relatif, calculé à l'aide du groupe «protéoprive». L'azote endogène urinaire dépend en effet du métabolisme global, donc du poids du rat, alors que l'azote endogène fécal est fonction de la quantité de nourriture en transit intestinal. Ces déterminations de l'excrétion azotée endogène sont des estimations et non des mesures rigoureuses, l'influence de l'alimentation sur la flore intestinale impliquée dans l'azote fécal n'y est, par exemple, pas prise en compte.

A partir de ces valeurs analytiques et calculées, la digestibilité, la valeur biologique et l'utilisation protéique nette peuvent être déterminées, comme l'indique le tableau 9. La digestibilité (D) est par définition le rapport de l'azote absorbé par les

Tableau 9. Bilan azoté

Valeurs analysées:

| | |
|----|------------------------------------|
| I: | azote ingéré (mg) |
| F: | azote excrété dans les fèces (mg) |
| U: | azote excrété dans les urines (mg) |

Paramètres calculés:

| | |
|---------------------------------|--|
| Digestibilité %: | $D = \frac{I - (F - Fe)}{I} \cdot 100$ |
| Valeur biologique | $BV = \frac{I - (F - Fe) - (U - Ue)}{I - (F - Fe)}$ |
| Utilisation protéique nette (%) | $NPU = \frac{I - (F - Fe) - (U - Ue)}{I} \cdot 100 = BV \cdot D$ |

Fe = azote fécal endogène Ue = azote urinaire endogène

cellules intestinales à l'azote ingéré, rendant ainsi compte du potentiel de l'hydrolyse enzymatique et de l'absorption des acides aminés. Elle est influencée par les procédés technologiques (réaction de Maillard), ainsi que par les autres composants de l'aliment (fibre, lactose), notamment par les inhibiteurs d'enzymes digestifs. La valeur biologique (BV) est le rapport de l'azote utilisé à l'azote absorbé: ce rapport dépend de la composition en acides aminés de la protéine. En effet, une déficience en acides aminés essentiels limite l'utilisation globale de la protéine. L'utilisation protéique nette (NPU) est le paramètre global, c'est-à-dire le rapport de l'azote utilisé à l'azote ingéré. Ce dernier paramètre, qui est calculé en multipliant la digestibilité par la valeur biologique, rend compte de la rétention azotée.

Le bilan azoté est un test qui caractérise la valeur nutritionnelle d'une protéine de manière plus précise et plus complète que le PER. Il représente en revanche une charge de travail beaucoup plus importante et nécessite le sacrifice d'un plus grand nombre d'animaux. La caséine sert à nouveau de référence. Les besoins de la classe d'âge à laquelle la protéine est destinée ne sont à nouveau pas pris en considération.

Indice chimique corrigé

Le groupe d'experts de la FAO et de l'OMS (31) a par conséquent proposé un nouveau paramètre caractérisant la valeur nutritionnelle d'une protéine: son indice chimique corrigé (ICC). Ce paramètre est défini comme le produit de l'indice chimique et de la digestibilité. L'indice chimique est calculé en prenant le lait maternel comme référence pour les produits destinés aux enfants jusqu'à une année (aminogramme exprimé en g par 16 g N) et les besoins de l'enfant préscolaire pour tous les autres aliments. Cette référence est logique puisque ce même groupe d'experts a du même coup supprimé les profils correspondant aux enfants plus âgés et aux adultes. Les deux améliorations qu'apporte ce paramètre sont d'une part la prise en compte des besoins du consommateur potentiel (et non du rat) et d'autre part la diminution du nombre de rats nécessaires, la digestibilité de maintes protéines étant tabulée. Cette méthode donne en définitive une appréciation plus réaliste de la valeur nutritionnelle des protéines végétales, qui ne répondent pas forcément aux besoins du rat en croissance.

Le principal désavantage de cette méthode est dû au fait que le choix du profil de référence, déterminant pour le résultat, ne repose pas sur des bases scientifiques solides. La proposition d'appliquer le profil de référence des enfants préscolaires aux adultes a, notamment, comme conséquence de tripler les besoins en lysine. En considérant de plus la digestibilité que donnent les tables de nutrition, on ne peut tenir compte des effets des procédés technologiques.

Ce test est utilisé aux USA pour l'étiquetage de la valeur nutritionnelle. En effet, si l'ICC est inférieur à 20%, une mention spéciale est requise spécifiant que l'aliment considéré ne représente pas une source protéique. Il s'agit donc d'aliments dont la fraction protéique a un aminogramme si déséquilibré que le taux de l'acide aminé le plus bas (multiplié par la digestibilité de l'aliment) n'atteint pas 20% du

taux de ce même acide aminé dans la protéine de référence (34). Pour les aliments destinés aux enfants de quatre ans et en dessous, cette mention doit être inscrite pour un ICC jusqu'à 40%, ce qui correspond donc à une exigence plus sévère.

En résumé, le PER est un test adéquat si l'aminogramme de la protéine étudiée ne diffère pas trop de celui de la caséine, prise comme référence. Le bilan azoté permet une étude plus fine des paramètres nutritionnels. L'indice chimique est le premier paramètre calculé lors de l'étude d'une nouvelle source de protéine. L'indice chimique corrigé est une nouvelle méthode de calcul qui ouvre des perspectives intéressantes, mais nécessite encore de substantielles améliorations.

Exigences légales

Pour l'étiquetage nutritionnel, la teneur en protéine d'une denrée alimentaire est déclarée. Cette valeur est calculée en utilisant le facteur correspondant au produit et valable dans le pays concerné.

En ce qui concerne la qualité nutritionnelle des protéines, il n'existe pas en Suisse ni dans la CEE de recommandations ou d'exigences légales sauf pour les aliments destinés aux nourrissons et enfants jusqu'à une année.

Dans notre pays, la Société des pédiatres suisses a proposé des recommandations concernant l'alimentation des bébés et le sevrage (35). Les directives du Codex Alimentarius sont applicables pour les valeurs non définies par cette société, ce qui est notamment le cas de la qualité protéique. Le Codex Alimentarius recommande un PER de 85% (référence: caséine) pour les formules infantiles c'est-à-dire pour toutes les préparations spécifiquement destinées aux enfants jusqu'à 12 mois et pouvant être données comme unique aliment jour après jour. Par ailleurs, un PER de 70% est recommandé pour les céréales complètes, c'est-à-dire celles dont la préparation n'exige que de l'eau (36). La Suisse va probablement suivre la réglementation de la CEE prochainement (1994), présentée sur le tableau 10 (24, 37, 38). Les taux de protéines rapportés à l'énergie totale de l'aliment sont spécifiés et doivent être calculés en utilisant le facteur 6,38 pour les préparations lactées et celui de 6,25 pour celles à base de soja.

Parmi les préparations pour nourrissons (0-4 mois), on peut distinguer celles dont le rapport des concentrations de caséine et de protéines de petit lait est identique à celui observé dans le lait de vache et celles dont ce rapport a été modifié dans le but de mieux imiter le lait maternel. Lorsque le rapport des taux de caséine et de protéines du petit lait n'est pas modifié, l'indice chimique doit être au minimum de 80% relativement au lait maternel (méthionine et cystine considérées ensemble). Cette exigence garantit un aminogramme équilibré. Dans les préparations pour nourrissons où le rapport mentionné a été modifié, le taux minimal de protéine exigé est inférieur à celui qui est requis pour les formules dont ce rapport est identique à celui du lait de vache. La concentration de chaque acide aminé essentiel et semi-essentiel exprimé relativement à l'énergie totale de la formule doit être égale au moins à celle du lait maternel (méthionine et cystine considérées

séparément). L'aminogramme de ces laits est par conséquent très similaire à celui du lait maternel. Notons que le taux de protéine des laits pour nourrissons est toujours nettement supérieur au minimum requis légalement. La législation de la CEE sera prochainement modifiée de façon à ce que, semble-t-il, toutes les formules répondent au critère cité pour les formules au rapport des concentrations de caséine et de protéines du petit lait modifié, c'est-à-dire que la concentration de chaque acide aminé essentiel et semi-essentiel (rapportée à l'énergie totale de la préparation) soit égale à celle du lait maternel. Si nécessaire, les laits pour nourrissons devront être complétés avec certains acides aminés essentiels et semi-essentiels.

Dans les préparations pour nourrissons contenant du soja, comme seule source de protéines ou non, les exigences sont identiques à toutes celles requises pour les laits pour nourrissons de façon à garantir des apports en acides aminés essentiels identiques à ceux fournis par le lait maternel. De plus, le taux d'énergie protéique minimum est plus élevé pour compenser la digestibilité moins élevée du soja.

Dans les formules hydrolysées dans le but d'être hypoallergéniques, les exigences proposées quant à l'aminogramme sont les mêmes mais le taux d'énergie protéique minimal exigé est plus bas. Ceci est justifié par l'excellente digestibilité de ces formules hydrolysées enzymatiquement.

Concernant les laits ou préparations de suite (destinées aux enfants de 4 à 12 mois), la proportion d'énergie sous forme de protéine doit être plus élevée que dans les aliments pour nourrissons. En effet, les besoins alimentaires exprimés par unité de poids corporel diminuent progressivement pendant l'enfance, et ceci plus lentement pour les besoins protéiques que pour les besoins énergétiques. Evidemment, les besoins alimentaires exprimés en valeur absolue augmentent vite durant les premiers mois puisque le poids d'un bébé sain double en 16 semaines environ. La référence est la caséine pour déterminer l'indice chimique qui doit être au minimum de 80%.

Le projet de réglementation concernant les céréales complètes stipule que ces aliments devraient répondre à l'une ou à l'autre des exigences mentionnées dans le tableau 10. A savoir: soit l'indice chimique de la protéine ajoutée aux céréales (lait ou soja par exemple) doit être au minimum de 80% en prenant la caséine comme référence, soit l'aliment complet (céréales et adjonctions) doit avoir un PER de 70% et une concentration de protéines inférieure à 5,5 grammes pour 100 kilocalories. Dans cette réglementation, l'exigence concernant l'indice chimique de la protéine ajoutée aux céréales garantirait une bonne valeur nutritionnelle de ce type d'aliment. Toutefois, une protéine dont l'indice chimique serait inférieur à 80% (référence: caséine) pourrait être acceptée si le mélange complet garde un PER d'au moins 70%. Cette exigence évite qu'une telle protéine soit incorporée dans une proportion si élevée qu'elle diminuerait la valeur nutritionnelle de l'aliment complet. Les céréales ne constituent jamais le seul aliment donné à un bébé, raison pour laquelle le PER exigé ne serait que de 70%.

En résumé, concernant toutes les préparations spécifiquement destinées aux enfants jusqu'à une année, la réglementation de la CEE, qui sera probablement adoptée par la Suisse assure des apports d'énergie protéique et d'acides aminés essentiels adéquats pour le développement et la croissance des enfants de cet âge.

Tableau 10. Réglementation de la CEE sur la qualité des protéines (24, 37, 38)

| Type d'aliments pour enfants | Exigence qualitative | Exigence quantitative* |
|--|--|------------------------|
| Préparations pour nourrissons (0-4 mois): | | |
| - Protéines de lait de vache non modifiées | (1) Indice chimique > 80% réf.: lait maternel | 2,25-3,00 |
| - Caséine/petit-lait modifié | (2) Ac. am. essentiel (+ semi)/kcal > ac. am. essentiel (+ semi) lait maternel/kcal | 1,80-3,00 |
| - Soja seul ou mélangé à des protéines de lait | (1) + mét./kcal > mét. lait maternel/kcal | 2,56-3,00 |
| - Hydrolysats de protéines (HA) | (1) + (2) | 2,25-3,00 |
| Préparation de suite (4-12 mois) | Indice chimique > 80% réf.: caséine | 2,25-4,50 |
| Céréales complètes (en projet de réglementation) | Protéines ajoutées: indice chimique > 80% réf. caséine ou mélange de protéines: PER > 70% | < 5,50 |

* = (g. de protéine pour 100 kilocalories)

Méthodes alternatives

Afin de réduire le plus possible le nombre de rats sacrifiés, des efforts considérables ont été déployés pour développer des méthodes alternatives qui permettraient de mesurer la digestibilité *in vitro*. Pourtant, il est difficile d'imaginer qu'il puisse être possible de simuler à la fois la cinétique de digestion, l'absorption des acides aminés, leur biodisponibilité (produits de Maillard par exemple) et l'effet de la flore intestinale.

Pour estimer la digestibilité des protéines, le modèle utilisant la technique du pH-stat développé par *B. O. Eggum* (31) a été proposé par le comité d'experts de la FAO et de l'OMS (dont fait partie ce nutritionniste). Ainsi, la détermination de l'indice chimique corrigé ne nécessiterait plus aucun animal de laboratoire. Cette méthode consiste à mesurer le volume de soude nécessaire pour garder le pH d'un aliment en solution constant lors de son hydrolyse enzymatique par la trypsine, la chymotrypsine et une peptidase. L'hydrolyse est effectuée pendant 10 minutes exactement. Cette technique est un modèle et non une simulation, puisqu'elle part de l'hypothèse qu'il y a une corrélation entre le taux d'hydrolyse initial (mesuré à l'aide du pH-stat) et la digestibilité réelle d'une protéine (processus de plusieurs

heures). Après avoir testé différents aliments, des coefficients ont été déterminés pour établir une droite de régression entre le volume de soude et la digestibilité. La méthode nécessite une excellente standardisation, d'autant plus que les volumes mesurés sont petits (de l'ordre de 0,5 ml) et peu différents d'un aliment à l'autre. Le caséinate de sodium est utilisé comme référence, permettant un étalonnage inter-laboratoire des résultats. Actuellement, cette méthode est soumise à des tests inter-laboratoires et comparée avec les résultats *in vivo*. Dix-sept aliments sont testés dans cette étude comparative impliquant six laboratoires. Cet échantillonnage n'est probablement pas représentatif de l'ensemble des aliments. Selon les résultats déjà publiés, la corrélation est bonne pour les protéines de haute digestibilité, mais les résultats concernant les haricots et les pois chiches ne sont pas sur la même droite de corrélation que les autres aliments testés (38–40). L'influence de la flore intestinale sur la digestibilité, dépendante de la protéine mais également des autres composants de l'aliment ou du régime, n'est pas prise en considération dans cette méthode.

Selon nos observations, si l'étude des protéines pures par la méthode du pH-stat semble aisée, l'étude d'aliments complets, notamment de préparations pour nourrissons contenant beaucoup de sucre, pose des problèmes. En effet, des dérives de pH ont été observées avant l'adjonction des enzymes, rendant difficile la standardisation de la méthode et l'interprétation des résultats. Ce type de méthode nécessite encore de nombreux développements et de multiples contrôles de l'adéquation du modèle.

Conclusion

Bien que les protéines soient des molécules de valeur nutritive très diverses, l'étiquetage nutritionnel en Suisse et en Europe se limite à la quantité totale des protéines. Les méthodes d'analyse permettant de quantifier ce paramètre vont évoluer rapidement.

Les protéines des aliments spécifiquement destinés aux enfants jusqu'à une année sont soumises à des exigences de qualité et de quantité.

L'aminogramme est le premier paramètre à déterminer lors de l'étude de la qualité nutritionnelle d'une protéine.

En nutrition, l'apport suffisant d'acides aminés essentiels disponibles est fondamental, et non la quantité totale de protéines ingérée, calculée à l'aide du facteur de conversion azote-protéine. Les méthodes d'évaluation et les références dans ce domaine sont difficiles à définir et à standardiser pour un choix de produits alimentaires toujours plus vaste et plus spécifique pour les différentes tranches d'âge. Bien que de nouvelles méthodes soient proposées, le test le plus classique – le PER – s'avère adéquat pour l'étude de la valeur nutritionnelle de beaucoup de protéines, dont les protéines laitières, et surtout pour évaluer les effets sur ce paramètre des traitements technologiques courants. Le calcul du bilan azoté correspond à une étude plus fine des paramètres nutritionnels – la digestibilité, la valeur

biologique et la rétention d'azote – permettant une première approche dans l'étude du métabolisme des protéines concernées. D'importants efforts sont mis en œuvre pour déterminer certains paramètres nutritionnels *in vitro*, toutefois le recours à des tests *in vivo* reste encore indispensable.

Remerciements

Nous remercions chaleureusement Mademoiselle *Ghislaine Rudaz* et Madame *Denise Meister* pour la dactylographie et la mise en page de cet article ainsi que Monsieur le Dr. *P. A. Finot* pour ses conseils et la lecture finale.

Résumé

Cet article de revue présente un survol de la composition chimique des protéines, les méthodes utilisées pour déterminer le taux de protéine et l'aminogramme, la définition chimique légale du taux de protéine et l'étiquetage de la valeur nutritionnelle en Suisse et dans la CEE. Sont également présentés les facteurs déterminant cette valeur, à savoir: sa concentration en acides aminés essentiels, sa digestibilité ainsi qu'un résumé des effets des procédés technologiques utilisés dans l'industrie alimentaire. Les différents tests *in vivo* et les paramètres chimiques permettant de caractériser une protéine du point de vue nutritionnel y sont décrits. Dans ces tests *in vivo*, le facteur de conversion azote-protéine n'est pas considéré car seul l'azote est mesuré. Les problèmes liés au choix des références, profil d'acides aminés pour évaluer les aminogrammes ou protéines pour les études *in vivo*, y sont discutés. En conclusion, les techniques d'analyse des protéines évoluent rapidement. L'apport de taux suffisants d'acides aminés essentiels de bonne disponibilité est le critère le plus important sur le plan nutritionnel.

Zusammenfassung

Dieser Übersichtsartikel behandelt die chemische Zusammensetzung der Proteine, die Methoden zur Bestimmung des Proteingehaltes und der Aminosäurezusammensetzung, die chemische Definition des Proteingehaltes des Gesetzgebers, sowie die Nährwertkennzeichnung in der Schweiz und der EG. Es werden ausserdem die Faktoren, die den Nährwert eines Proteins bestimmen, diskutiert, d. h. die Konzentrationen an essentiellen Aminosäuren, ihre Verdaulichkeit sowie eine Zusammenfassung der technologischen Einflüsse während der Zubereitung des Nahrungsmittels. Die verschiedenen *In-vivo*-Tests und die chemischen Parameter, die den Nährwert eines Proteins zu charakterisieren erlauben, sind beschrieben. Da die Stickstoffaufnahme vom Ernährungsstandpunkt aus bestimmend ist, werden die Umrechnungsfaktoren von Gesamtstickstoff in Protein nicht in Nährwertstudien berücksichtigt. Die Probleme, die sich durch die Wahl der Referenzproteine bzw. der Referenzaminogramme zur Bewertung der Proteinqualität ergeben, werden diskutiert. Auf die rasche Entwicklung der Analysetechniken wird hingewiesen. Abschliessend wird festgestellt, dass das wichtigste Kriterium für Proteine mit zufriedenstellendem Nährwert das Vorhandensein von ausreichenden Mengen an essentiellen Aminosäuren in für den Metabolismus verfügbarer Form ist.

Summary

This review on proteins presents a survey of the chemical composition of proteins, the methods to determine protein and amino acid contents, the legal chemical definition of protein content and nutrition labelling in Switzerland and the EEC. The factors determining the nutritional value of a protein, i.e. essential amino acid concentration and digestibility and a summary of the effects of food processing technology are also presented. The different *in vivo* tests and the chemical parameters allowing a characterisation of the nutritional value of a protein are described. The quantity of nitrogen ingested is nutritionally determinant, consequently the conversion factor nitrogen-to-protein is not taken into account in nutritional studies. The problems related to the choice of references, amino acid profiles for the evaluation of amino acid patterns, or protein for *in vivo* studies, are discussed.

In conclusion, the methods for protein analysis are in rapid evolution. A sufficient supply of essential amino acids with a good availability is the most important nutritional criterion.

Bibliographie

1. Dupin, H., Abraham, J. et Giachetti, I.: Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 2^e éd., 18–26. Technique et Documentation – Lavoisier, Paris 1992.
2. Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Technical Report Series 724. WHO, Geneva 1985 (éd. française 1986).
3. Deutsche Gesellschaft für Ernährung: Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr, 5. Überarbeitung 1991, korrigierter Nachdruck 1992, S. 25–28. Umschau Verlag, Frankfurt 1992.
4. de Rham, O.: La proportion d'azote dans les protéines et le facteur de calcul protéine/azote. *Lebensm. Wiss. Technol.* **15**, 226–231 (1982).
5. Ugrinovits, M.: Die Umrechnung von Stickstoff zu Protein (1986), Communication personnelle.
6. Shakhhalili, Y., Finot, P.A., Hurrell, R. and Fern, E.: Effects of foods rich in polyphenols on nitrogen excretion in rats. *J. Nutr.* **120**, 346–352 (1990).
7. Heine, W., Tiess, M. and Wutzke, K.D.: ¹⁵N tracer investigations of the physiological availability of urea nitrogen in mother's milk. *Acta Paediatr. Scand.* **75**, 439–443 (1986).
8. Williams, A.F.: Lactation and infant feeding. In: McLaren, D., Burman, D., Belton, N.R. and Williams, A.F. (eds.), *Textbook of paediatric nutrition*, pp. 21–45. Churchill, Livingstone 1991.
9. Manuel suisse des denrées alimentaires, 1^{er} vol., 5^e éd., p. 530. Office fédéral des imprimés et du matériel, Berne 1969.
10. Council directive of 24 September 1990 on nutrition labelling for foodstuffs (90/496/EEC). *Official Journal of the European Communities L 276*, 40–44 (1990).
11. Codex Guidelines on Nutrition Labelling CAC/GL 2, 33–41 (1985).
12. Kjeldahl, J.: Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Analyt. Chem.* **22**, 366–382 (1883).
13. Ugrinovits, M.: Kjeldahl – Stickstoffbestimmung mit verschiedenen Katalysatoren. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **71**, 124–140 (1980).
14. Association of Official Analytical Chemists (AOAC): *Official methods of analyses*, 15th ed., 1095–1098, 31st suppl., Helrich, K. (ed.). Arlington 1990.
15. Bertrand, D. et Robert, P.: Les techniques d'analyse rapide par spectrométrie infrarouge, *Spectra 2000* **92**, 34–38 (1984).

16. Osborne, B.G., Fearn, T. and Hindle, P.: Practical NIR spectroscopy with applications in the food and beverage analysis, 2nd ed. Lavoisier. Paris 1993.
17. Détermination de la teneur en protéines. Méthode au noir d'amido – méthode pratique. Méthode de la Fédération internationale de laiterie (FIL) 98 A (1985).
18. Bradford, M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248–254 (1976).
19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Rondall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265–275 (1951).
20. Henle, T., Walter, H. and Klostermeyer, H.: Evaluation of the extent of the early Maillard – reaction in milk products by direct measurement of the Amadori – product lactulose-lysine. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **193**, 119–122 (1991).
21. Schmitz, I., Zahn, H., Klostermeyer, H., Rabbel, K. und Watanabe, K.: Zum Vorkommen von Isopeptidbindungen in erhitztem Milcheiweiss. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **160**, 377–381 (1976).
22. Berka, R.M., Dunn-Coleman, N. and Ward, M.: Industrial enzymes from *Aspergillus* species. In: Bennett, J.W. and Klich, M.A. (eds.), *Aspergillus: Biology and industrial applications*, pp. 155–202. Butterworth – Heinemann, London 1992.
23. Nielsen, H.K.: Nutritional aspects of reactions between oxidizing lipid and protein with emphasis on tryptophan. Thèse 865, Université de Fribourg (Suisse). NESTEC SA (1984).
24. Commission directive of 14 May 1991 on infant formulae and follow-on formulae (91/321/EEC). *Official Journal of the European Communities L* **175**, 35–49 (1991).
25. Nayman, R., Thomson, M.E., Scriver, C.R. and Clow, C.L.: Observations on the composition of milk – substitute products for treatment of inborn errors of amino acid metabolism. Comparisons with human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* **32**, 1279–1289 (1979).
26. *Department of Health and Social Security*: The composition of mature human milk. Report on Health and Social subjects n° 12. Her Majesty's Stationery Office, London 1977.
27. Harzer, G. and Bindels, J.G.: Changes in human milk immunoglobulin A and lactoferrin during early lactation. In: Schaub, J. (ed.), *Composition and physiological properties of human milk*, pp. 285–295. Elsevier, Amsterdam 1985.
28. Picone, T.A., Benson, J.D., Moro, G., Minoli, I., Fulconis, F., Rassin, D.K. and Raiha, N.C.R.: Growth, serum biochemistries and amino acids of term infants fed formulas with amino acid and protein concentrations similar to human milk. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **9**, 351–360 (1989).
29. *United States Department of Agriculture*: Composition of foods. Dairy and egg products. *Agriculture Handbook n° 8*, 1st November 1976, item 01–107.
30. *FAO*: Amino acid content of foods. *FAO Nutritional Studies n° 24*. FAO, Rome 1981.
31. *FAO*: Protein quality evaluation. Report of joint FAO/WHO expert consultation, Bethesda, Md, USA, 1989. *FAO Food and Nutrition Paper 51*. FAO, Rome 1991.
32. Report of the American Institute of Nutrition, ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* **107**, 1340–1348 (1976).
33. Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Agricultural Board, National Research Council. *Nutrient Requirements of Domestic Animals n° 10: Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, 2nd revised ed. National Academy of Sciences, Washington, D.C. 1972.
34. *Federal Register*, **58**, 2175–2179, 6th January 1993, Rules and regulations, part 101 – food labeling, USA.

35. *Société suisse de pédiatrie/commission de nutrition*: Recommandations pour l'alimentation du nourrisson. Bull. médecins suisses 70, 860–863 (1989).
36. Codex Alimentarius Commission CAC/RS 72/74: Recommended International Standards for Foods for Infants and Children. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Rome 1976.
37. Commission of the European Communities Preliminary draft Commission directive amending directive 91/321/EEC on infant formulae and follow-on formulae (1992), 111/3307/92.
38. Commission directive on processed cereal – based foods and baby foods for infants and young children (1992), 111/3266/91 – En Rév. 2.
39. Pedersen, P. and Eggum, B.O.: Prediction of protein digestibility by an in vitro enzymatic pH – stat procedure. Z. Tierphysiol., Tierernährg. Futtermittelkde. 49, 265–277 (1983).
40. Eggum, B.O., Hansen, I. and Larsen, T.: Protein quality and digestible energy of selected foods determined in balance trials with rats. Plant foods for Hum. Nutr. 39, 13–21 (1989).
41. McDonough, F.E., Sarwar, G., Steinke, F.H., Slump, P., Garcia, S. and Boisen, S.: In vitro assay for protein digestibility: interlaboratory study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 73, 622–625 (1990).

Dr Jan Kruseman
Nestec SA
Avenue Nestlé 55
CH-1800 Vevey

Dr Danièle Gaudard-de Weck
Dr Claudia Hischenhuber
Nestec SA
Centre de Recherche
Vers-chez-les-Blanc
Case postale 44
CH-1000 Lausanne 26