

C. ORALE S1-17:

PURIFICATION ET IDENTIFICATION DE PEPTIDES DOUES D'ACTIVITES BIOLOGIQUES A PARTIR DES HYDROLYSATS PROTEIQUES DE POIS CHICHE

Abir MOKNI GHRIBI¹; Assaâd SILA²; Rémy PRZYBYLSKIC³; Naima NEDJAR-ARROUME³; Ines MAKHLOUF¹; Christophe BLECKER⁴; Hamadi ATTIA¹; Pascal DHULSTER³; Ali BOUGATEF²; Souhail BESBES¹

- 1- LAVASA, Ecole nationale d'ingénieurs de Sfax, Tunisie
- 2- Unité Enzymes et Bioconversion, ENIS, Tunisie
- 3- Institut Régional de Recherche en Agroalimentaire et Biotechnologie Lille 1, France
- 4- Unité de Technologie des Industries Agro-Alimentaires, Gembloux, Belgique

Mots clés:Peptides, Pois chiche, Fractionnement, Purification

Résumé:L'obtention de peptides bioactifs repose en général sur l'hydrolyse enzymatique ménagée et contrôlée de protéines, suivie de méthodes de fractionnement, de purification et de tests biologiques. L'hydrolyse enzymatique de concentré protéique de pois chiche (CP) par l'Alcalase et les propriétés physico-chimiques et antioxydantes de l'hydrolysate résultant (CPH) ont été déterminées. CPH ayant un degré d'hydrolyse de l'ordre de 14,67% et qui présente une activité antioxydante élevée, est fractionné sur colonne de gel de filtration Sephadex G-25. Le chromatogramme d'élution à 280 nm montre que l'hydrolysate est fractionné en 4 fractions peptidiques (Fra.I, Fra.II, Fra.III et Fra.IV). Les fractions correspondantes à chaque pic ont été ensuite rassemblées et lyophilisées. Le test de l'activité antioxydante de l'ensemble des fractions réalisé à une concentration de 1mg/ml, révèle que la fraction Fra.III présente l'activité antioxydante la plus élevée. Cette fraction a été retenue en vue d'isoler quelques peptides actifs et déterminer leurs masses moléculaires ainsi que leurs séquences en acides aminés. Fra.III est soumise à un nouveau fractionnement selon l'hydrophobicité par HPLC sur une colonne de silice C18 en phase inverse. Le profil HPLC a montré la présence de plusieurs sous-fractions peptidiques. 11 sous-fractions ont été collectées puis concentrées par speed-vac. Le test d'inhibition du radical libre DPPH à 200 µg/ml montre que seule les fractions P3 et P8 sont douées d'activité antioxydante. Pour identifier et caractériser les peptides des fractions P3 et P8 sortie de la RP-HPLC, la technique de spectrométrie de masse dite en «tandem» ou MS/MS a été utilisée. Deux peptides ont été identifiés. La composition en acides aminés pour la fraction P3 est Asp-His-Gly alors que celle de la fraction P8 est Val-Gly-Asp-Ile. Des masses moléculaires de 327,33 et 402,49 kDa ont été montrés pour les fractions P3 et P8, respectivement.