

STRATEGIES DE PURIFICATION DE FRACTIONS FOLIAIRES CONTENANT DES PROTEINES VEGETALES

Pascal DHULSTER



Polytech'Lille/IUTA
Bd. Paul Langevin
Université Lille1 Sciences et Technologies
59655 Villeneuve d'Ascq cedex
03 28 76 73 90



1. Contexte

LUZERNE (légumineuse)

Abondamment cultivée en
Champagne-Ardennes

Haut rendement protéique (3000
Kg/Ha/an)

PROTEINES DE LUZERNE

Protéines « vertes » (50%)

Membranaires (liposolubles)
Associées aux pigments

« La Ribulose Bisphosphate
Carboxylase Oxygénase »
(Fixation du CO₂ et son Oxygénation)

Protéines « blanches » (50%)

Cytosoliques (hydrosolubles)

F-1p (65%)
RuBisCO
**Protéine la plus
abondante du globe**

F-2p (35%)
**Autres
protéines**

1. Contexte

**ProBioGEM, UPRES-EA 1026
(Université Lille 1)**

Spécialisé dans la purification et la valorisation de protéines agricoles

SARL du Rafidin (Pocancy)

Cultive la luzerne et développe un procédé d'extraction industrielle de protéines blanches de luzerne

Eurodia (Wissous)

Spécialisé dans la mise en œuvre de techniques séparatives à grande échelle



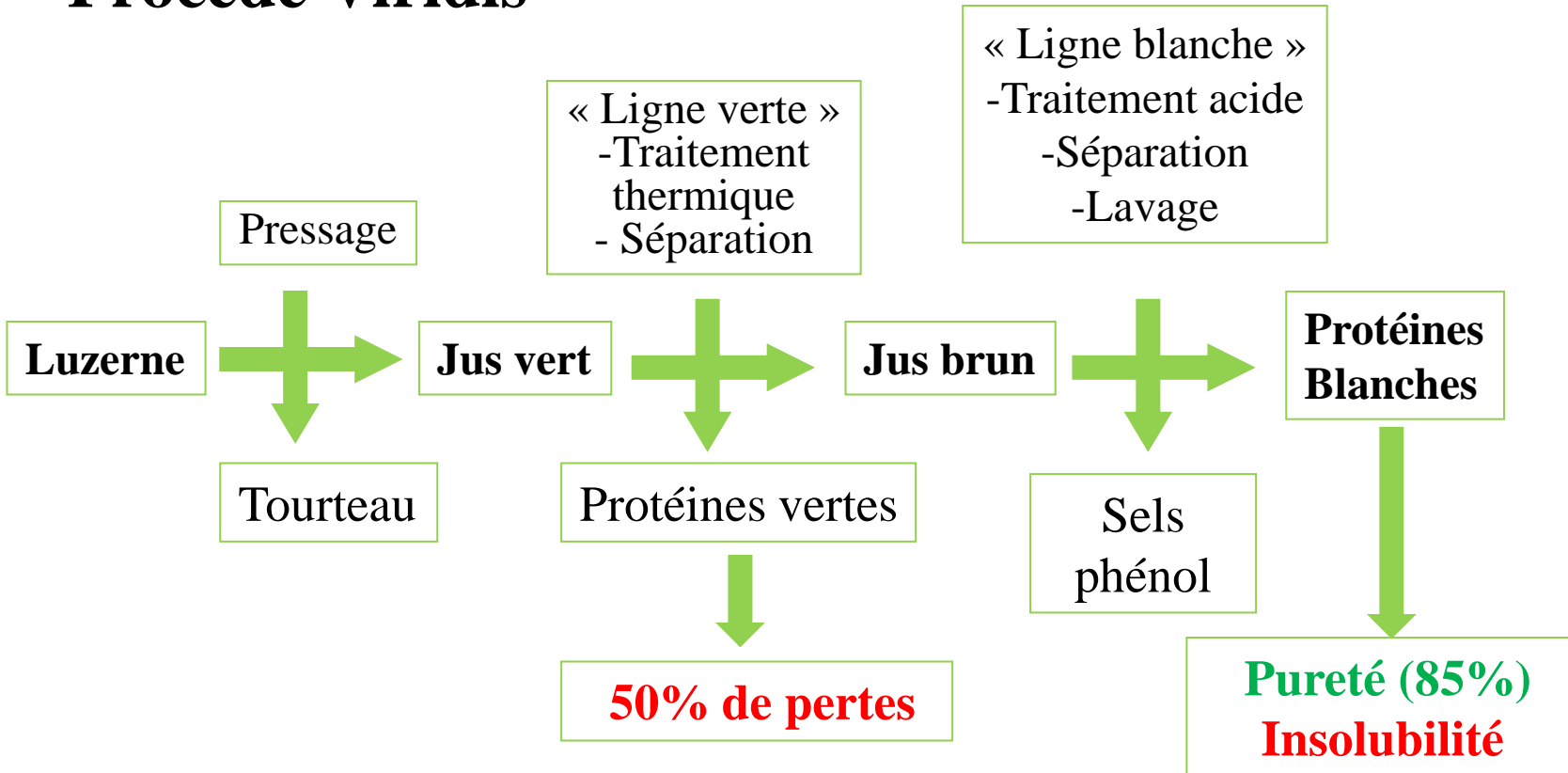
**Stratégie de purification et de valorisation des protéines blanches de luzerne
issues de l'extraction industrielle**



**Applications: nutraceutiques, industrie agroalimentaire, alimentation
animale, adhésifs biosourcés...**

2. Procédés industriels d'extraction des protéines blanches

Procédé Viridis

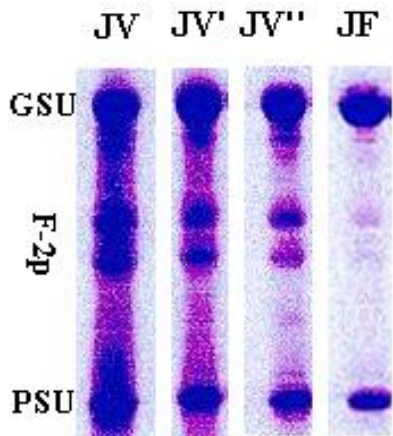


Démarche

-
- Résoudre la perte de rendement
 - Résoudre l'insolubilité

2. Procédés industriels d'extraction des protéines blanches

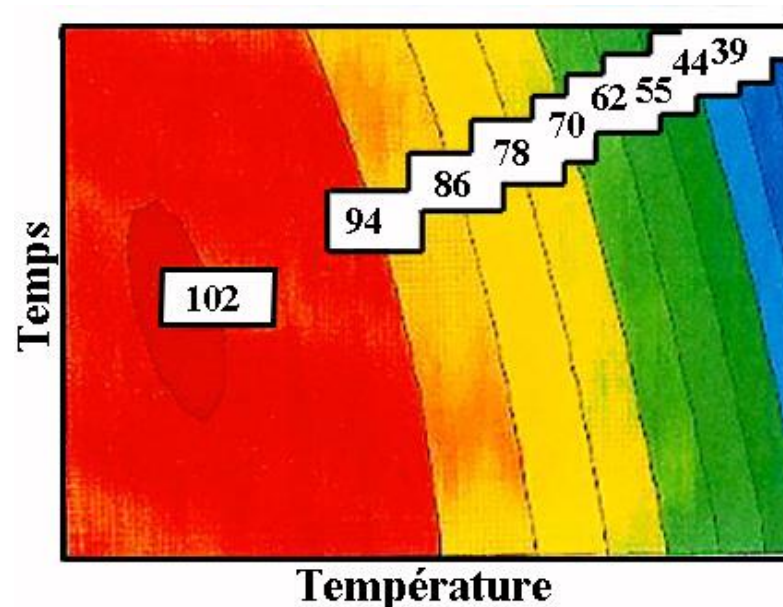
➤ Suivi de la ligne verte par électrophorèse SDS-PAGE



Traitement thermique mené au cours de la ligne verte entraîne une perte majeure de la F-2p

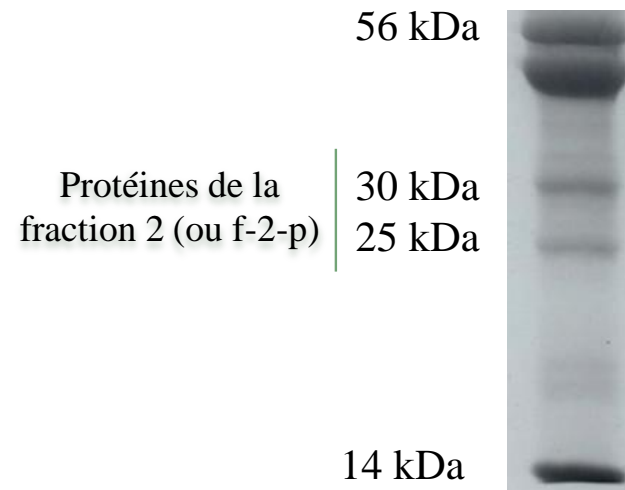
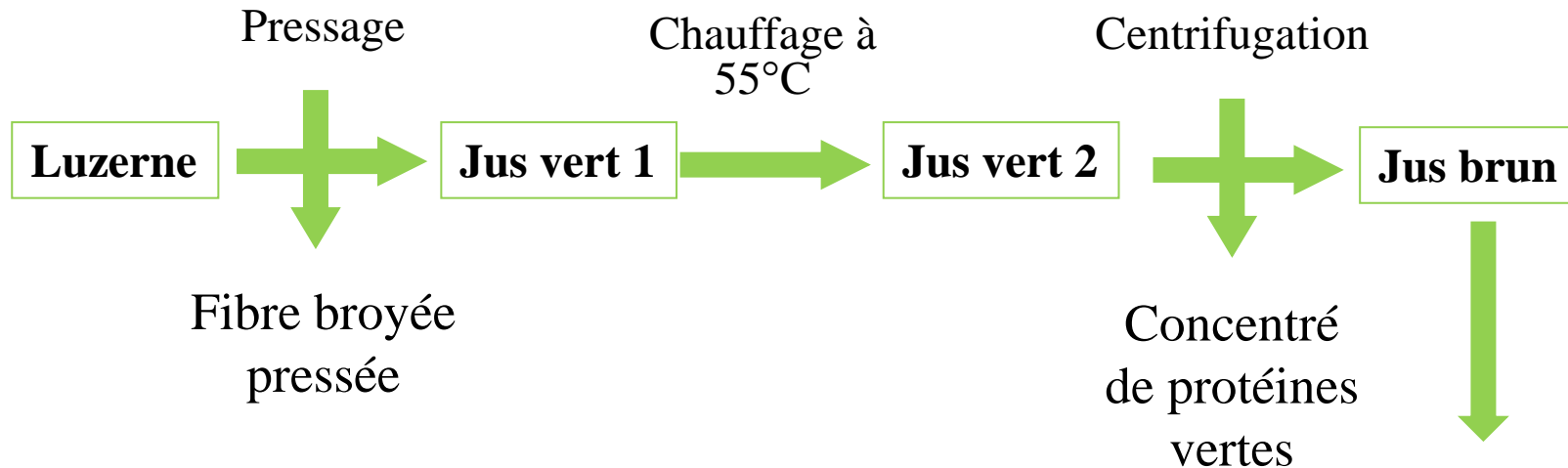
➤ Optimisation des paramètres temps et température par plan d'expérience

Essai	Temps	Température
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	$-\alpha$	0
6	$+\alpha$	0
7	0	$-\alpha$
8	0	$+\alpha$
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0



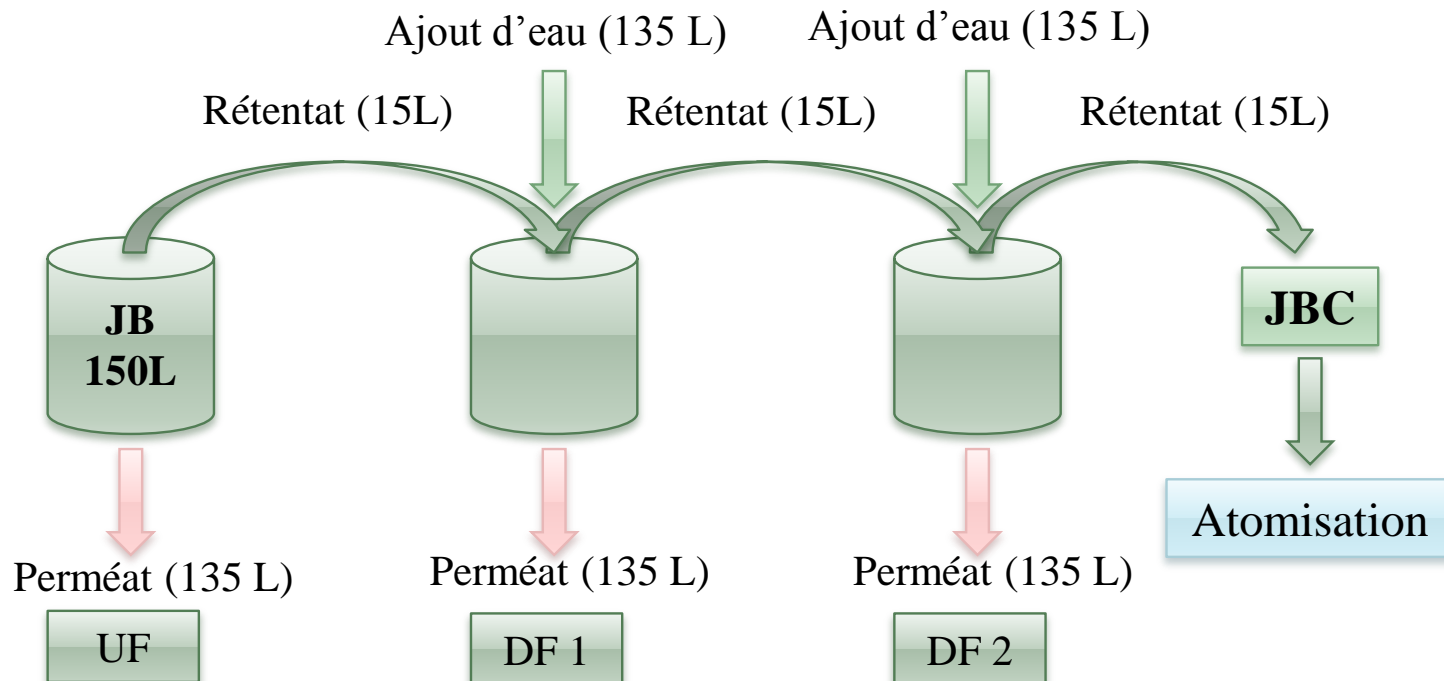
2. Procédés industriels d'extraction des protéines blanches

Procédé mis en place par la SARL du Rafidin

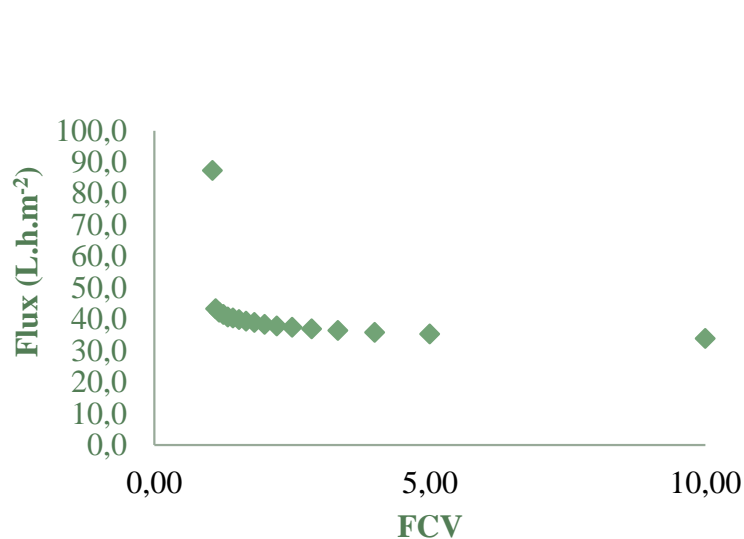


3. Concentration du jus brun par ultrafiltration/diafiltration

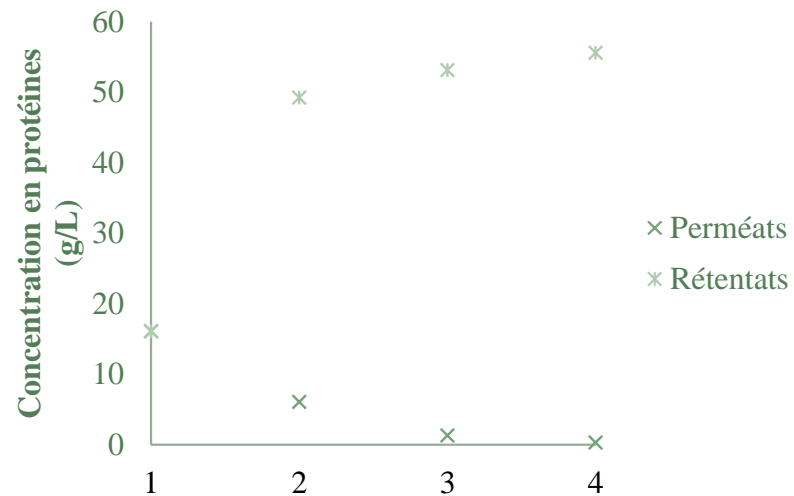
- Pilote Koch, France
- Membrane en polyethersulfone (HFK 131 VYT, Koch), module spiralé, seuil de coupure 10 kDa
- Surface membranaire : 5 m²
- Volume traité : 150 L
- Pression transmembranaire : 2,5 bar
- Facteur de concentration volumique (FCV) : 10
- Deux diafiltrations
- Séchage du concentré par atomisation



3. Concentration du jus brun par ultrafiltration/diafiltration



Flux transmembranaire



Concentration en protéines
1 : jus brun; 2 : UF; 3 : DF 1; 4 : DF 2

	Protéines	Polyphénols	Sucres	Cendres
Jus brun	24,6	4,1	18,5	30,8
Jus brun concentré	76,9	5,7	11,7	5,1

(en % par rapport à la matière sèche)

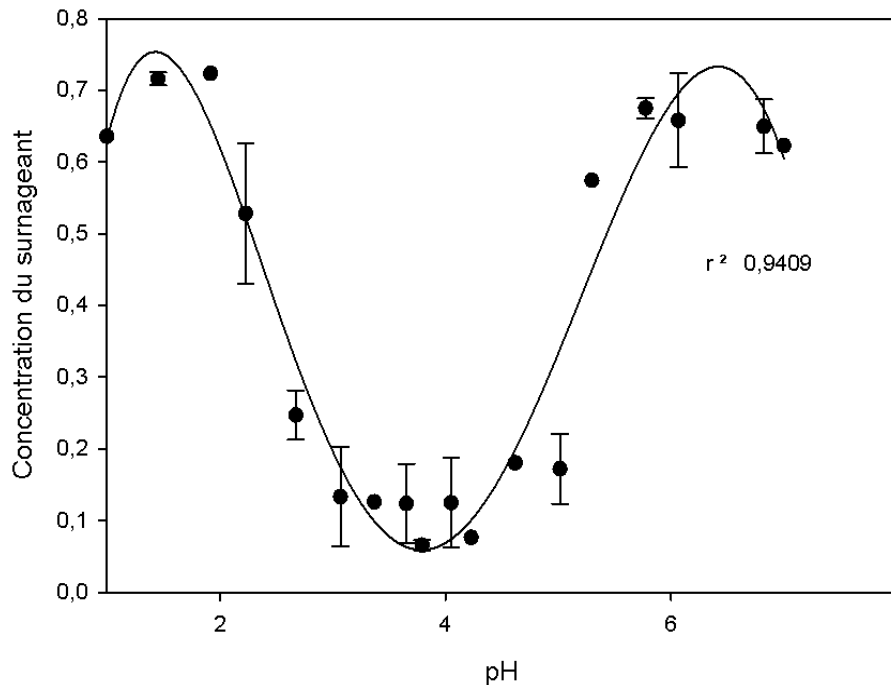
3. Concentration du jus brun par ultrafiltration/diafiltration

➤ Ultrafiltration/diafiltration : bilan

- Un facteur de concentration de 3 pour les protéines
- 86% en polyphénols
- 94% en sucres
- 98% en cendres

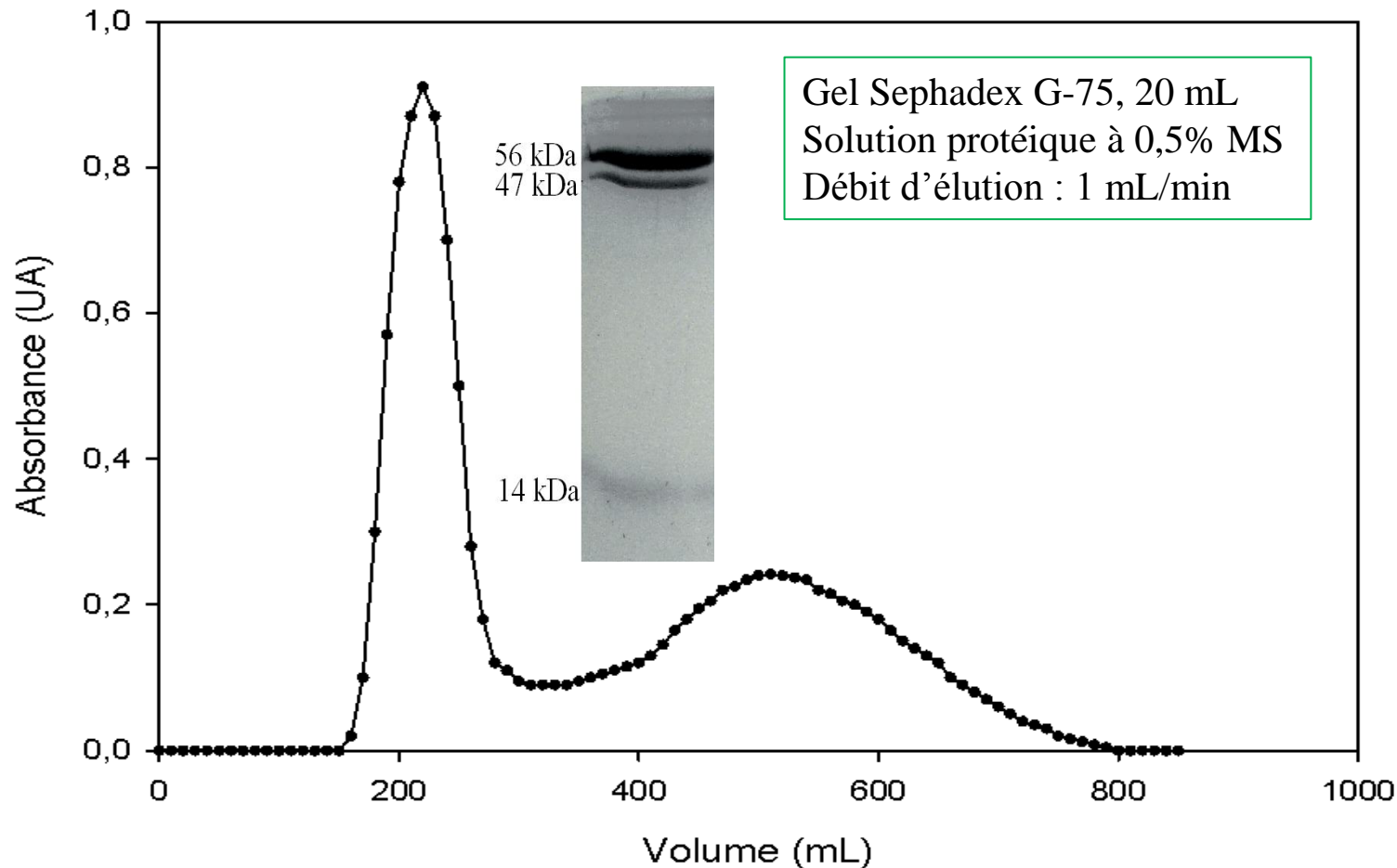


Bonne solubilité au pH du travail



4. Purification de la RuBisCO

➤ Purification par chromatographie gel-filtration



4. Purification de la RuBisCO

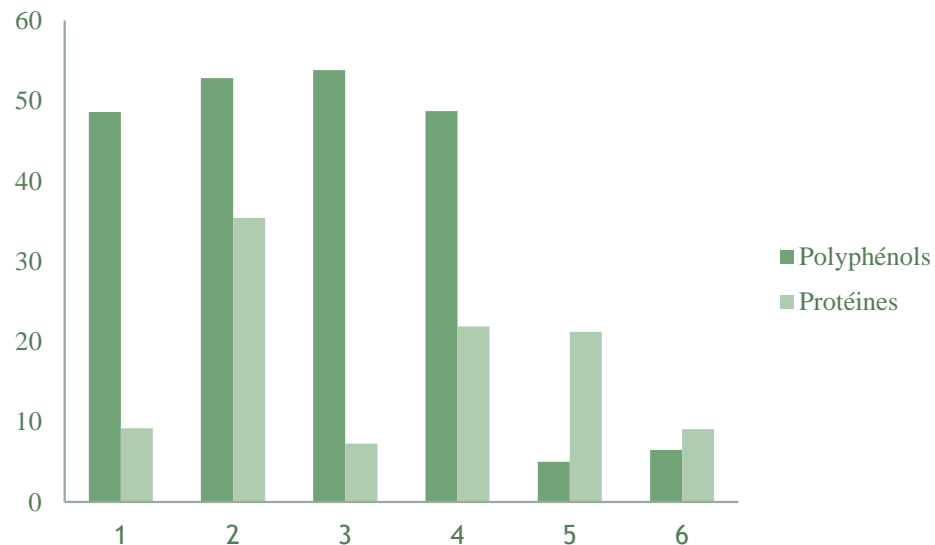
➤ Séparation des polyphénols par adsorption

Études en partenariat avec Eurodia

- Screening de résines
 - 2 résines adsorbantes : 1 et 2
 - 2 résines échangeuses d'anions : 3 et 4
 - 2 résines échangeuses de cations : 5 et 6
- Sélection en batch de résines efficaces quant à l'adsorption des polyphénols avec peu de perte en protéines

▪ Adsorption statique

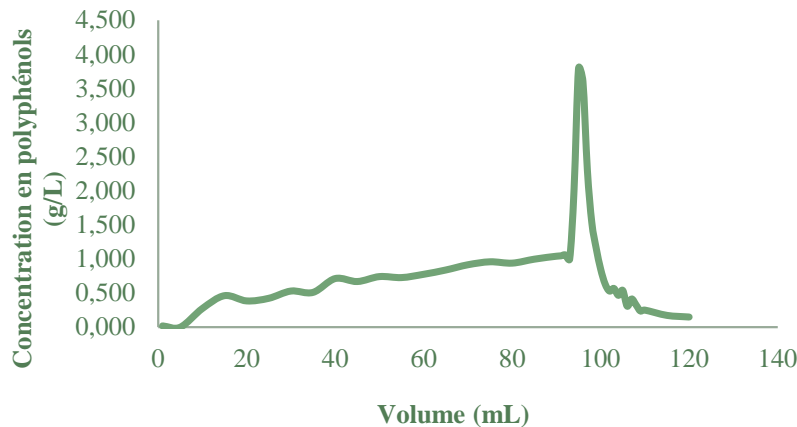
▪ Solution protéique à 7% MS



4. Purification de la RuBisCO

➤ Séparation des polyphénols par adsorption en continue

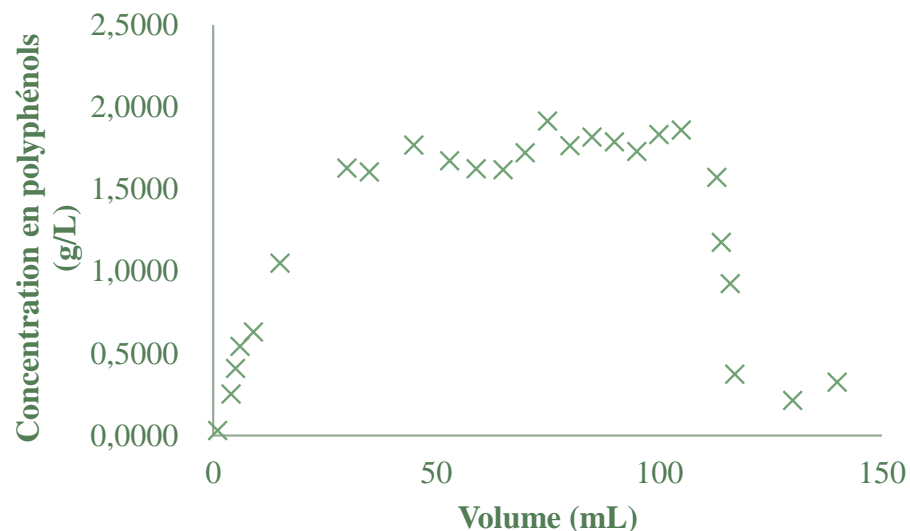
- Adsorption sur colonne
- Débit d'élution : 1 mL/min
- Solution protéique à 7% MS



- Résine anionique 3
- Abattement en polyphénols comparable aux essais en batch.

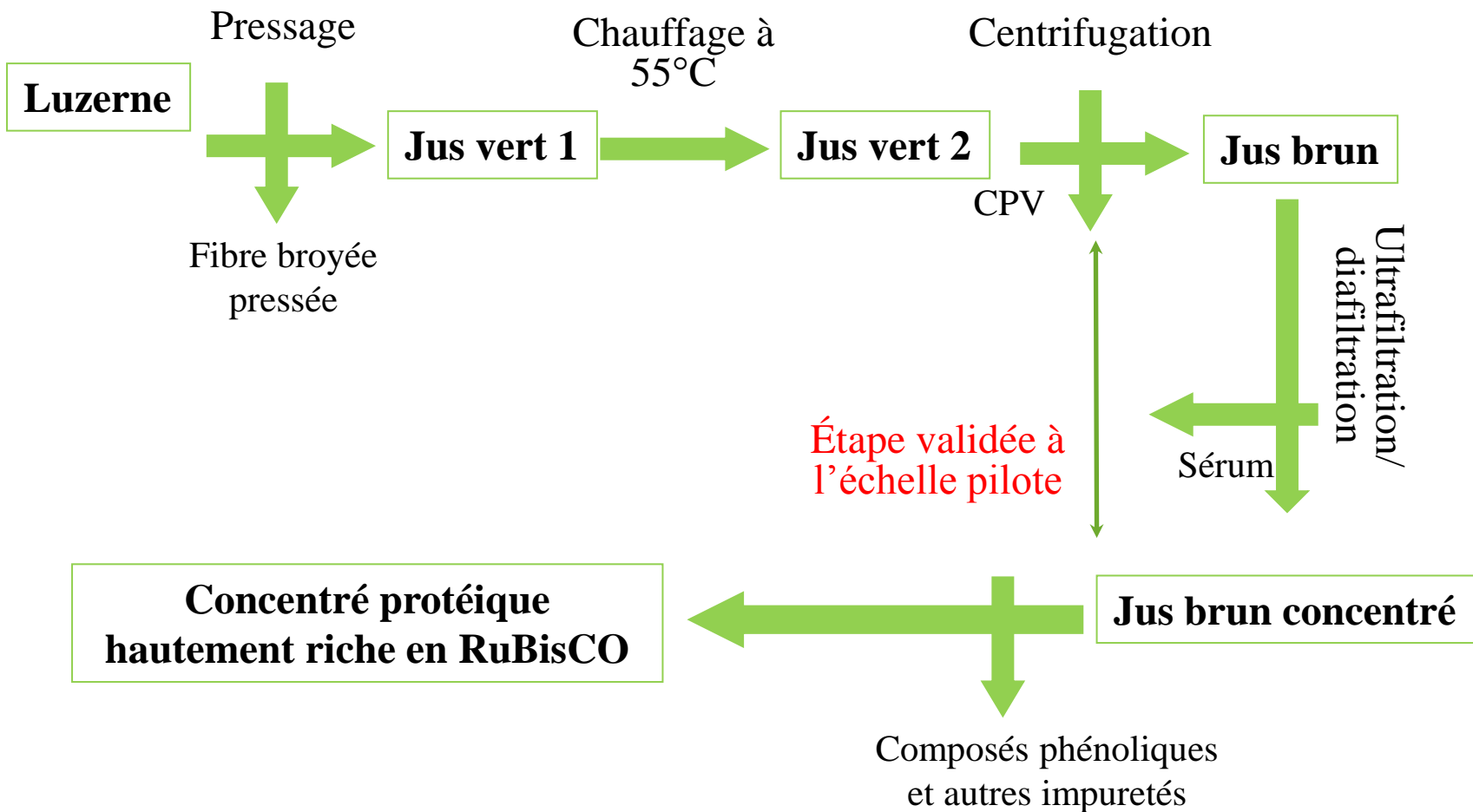
• Adsorbant 1

- Seuls 22% de polyphénols sont retenus par la résine en adsorption dynamique



5. Procédé intégré de valorisation des fractions foliaires de la luzerne

Pilote mis en place et validé à une échelle semi-industrielle



Étape en cours de développement

Remerciements

- Damien Levesque, SARL du Rafidin
- Emeline Carpentier, SARL du Rafidin
- Florence Lutin, Eurodia
- Loubna Firdaous, ProBioGEM, Université Lille 1
- Romain Kapel, LRGP, Université de Lorraine

