

Thème 4:

Production et fortification des aliments par les petites industries agroalimentaires en vue d'améliorer la (bio)disponibilité des (micro) nutriments

Theme 4:

Small scale industrial food production and fortification for increased (micro)nutrient (bio)availability

Enrichissement des aliments en micronutriments: élément d'une stratégie intégrée de lutte contre les carences en micronutriments, en particulier en fer, dans les pays en développement

Berger Jacques

Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UR106 "Nutrition, Alimentation, Sociétés", 911 Avenue Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5.

Auteur correspondant: j.berger@ipt.vn

- Résumé -

Dans les pays en développement, les carences en micronutriments, en particulier en fer, vitamine A et iode, représentent un problème de santé publique aux conséquences physiologiques et économiques non négligeables. L'évaluation de l'importance de ces carences, de leur distribution et des facteurs de risque permet de sélectionner les groupes cibles et les interventions à mettre en oeuvre. Les programmes de contrôle des carences intègrent la supplémentation, l'enrichissement d'aliments, la diversification alimentaire, et les mesures de santé publique.

L'enrichissement des aliments, a pour objectif d'augmenter le contenu d'un aliment en micronutriments identifiés préalablement comme inadéquats, et leur consommation. Le succès d'un programme d'enrichissement, requiert une volonté politique affirmée et la collaboration du secteur privé, des scientifiques, des consommateurs, des agences internationales, bilatérales et des ONG. Une fois le véhicule alimentaire sélectionné, le choix de chaque micronutriment "fortifiant" dépend de sa stabilité et de sa biodisponibilité dans l'aliment, au cours du stockage et des procédures de préparation. Le procédé d'enrichissement doit être simple et l'aliment enrichi acceptable par le consommateur en terme de propriétés organoleptiques, de sécurité et de prix. Le taux d'enrichissement dépend des besoins nutritionnels des groupes cibles, de la consommation de l'aliment enrichi, de la biodisponibilité du fortifiant et de la législation des pays. Des études d'efficacité en condition contrôlées et en conditions réelles sont nécessaires afin d'évaluer l'impact et l'absence de toxicité de l'aliment enrichi. La mise en place d'un système de suivi du programme et de contrôle de qualité du produit, notamment de sa concentration adéquate en micronutriments de sa production à sa consommation, permet d'assurer l'efficacité et la pérennité du programme et d'envisager les ajustements nécessaires au cours de son développement.

Mots-clés: Micronutriments - Carences - Enrichissement d'aliments - Pays en développement.

- Abstract -**Fortification of foods with micronutrients: a component of an integrated strategy to control micronutrient deficiencies, especially iron deficiency, in developing countries**

In developing countries, micronutrient malnutrition, especially iron, vitamin A and iodine deficiencies, is a public health problem with important physiologic and economic consequences. Programs implemented to control these deficiencies include supplementation, food-based approaches such as nutrition diversification and food fortification and global public health and disease control measures. Food fortification is recognized as the most cost-effective approach of improving micronutrient status of large populations. Its objective is to increase in a food the level of specific nutrients previously identified as inadequate and their intake.

To be successful, the control of micronutrient deficiencies requires strong political commitment. Food fortification should be included in national strategies of the national plan of action for nutrition and benefit of the active collaboration of the scientific community, the food industry, the consumers, the international and bilateral agencies and NGO. Fortification programs require the definition and careful planning of a fortification strategy adapted to every specific situation. The evaluation of the micronutrient status of a population identifies the magnitude of the problem, its distribution and risk factors that allows selecting the target groups and the interventions to be implemented. Identifying the patterns of consumption of potential food vehicles allows to choose the appropriate one. The choice of each suitable micronutrient fortificant depends on both its stability and biological availability after its addition to food, normal food storage and preparation procedures. The levels of fortification depend on the nutritional needs of the target group and on both estimated consumption of the fortified food and bioavailability of the fortificant and also on the regulations in the country. Target population must consume the fortified food in amounts sufficient to ensure adequate levels of the micronutrient without risk of toxicity. Field trials will evaluate the efficacy and effectiveness of the fortified product in the target groups. The fortification process must be technically viable and the fortified food acceptable by consumers in term of organoleptic characteristics, safety and price. The consumers demand depends on their education and information of the nutritional and health benefits of fortified products. The promotion strategies of the fortified foods include their packaging, presentation, and selection of distribution channels.

The implementation of a follow-up of the program and of quality control of the product, especially of its appropriate content of fortificants from production until time of consumption, allows to ensure the efficacy and sustainability of the program and to provide all necessary adjustments during its development.

Key words: Micronutrient – Deficiencies – Food fortification – Developing countries.

INTRODUCTION

Dans les pays en développement (PED), les carences en micronutriments représentent un problème de santé publique aux conséquences physiologiques et économiques non négligeables¹. Les principales carences identifiées concernent les carences en iode, fer et vitamine A², mais d'autres carences comme la carence en zinc, vitamine B12, riboflavine et acide folique co-existent probablement même si leur existence et importance n'ont pas encore été bien étudiées. La carence en fer touche près de 3,5 milliards de personnes à travers le monde principalement les femmes à partir de l'adolescence, les nourrissons et les jeunes enfants². La carence en vitamine A concerne environ 127 millions d'enfants d'âge pré-scolaire dont 4,4 millions présentent des signes de xérophtalmie et près de 20 millions de femmes enceintes, avec 25-35% des cas recensés en Afrique³. La carence en iode concernerait environ 2 milliards de personnes avec près de 740 millions de goitreux² et près de 27% de la population mondiale présenteraient une consommation inadéquate en zinc. Dans les PED, ces différentes carences sont rarement isolées et souvent additionnelles.

Les conséquences de ces carences sur la santé de l'individu sont multiples. La carence en fer, qui dans sa forme la plus sévère résulte en anémie, se traduit chez l'adulte par une diminution de la capacité physique⁴ et de la productivité⁵. Chez la femme enceinte, les anémies sévères sont responsables de 20% des décès maternels⁶. Elles augmentent les risques de morbidité et de mortalité fœtale et néonatale ainsi que le risque de prématurité et de faible poids du nourrisson à la naissance⁷. Les enfants anémiques sont intellectuellement moins performants et présentent des troubles du comportement⁸. La carence martiale sans anémie serait aussi associée à un déficit du développement intellectuel étroitement corrélé au degré de sévérité de la carence en fer⁸. Les enfants anémiés présenteraient une taille inférieure et une dynamique de croissance ralentie^{9,10}. La résistance aux infections et l'immunocompétence sont diminuées¹¹. La carence en vitamine A est la principale cause de cécité et de troubles visuels (xérophtalmie) et augmente les risques de morbidité et de mortalité probablement par un effet sur l'intégrité des barrières épithéliales et des fonctions immunologiques¹². Elle augmente le risque de carence en fer et d'anémie notamment par un effet négatif sur la mobilisation des réserves en fer¹³. La carence en iode est responsable de la formation de goitre mais surtout de retardement intellectuel pouvant aboutir au crétinisme. Elle a un impact négatif sur la croissance et elle est associée à une baisse de la résistance aux infections avec une augmentation de la morbidité et de la mortalité et à un taux élevé de mort-nés et d'avortements¹⁴. La carence en zinc a un impact négatif sur le système immunitaire et sur la croissance et elle est associée avec un risque plus élevé de morbidité notamment de diarrhées¹⁵. Les implications économiques de ces carences, notamment de l'anémie ferriprive, sont loin d'être négligeables: baisse de la force productive, augmentation des coûts de santé, perte de capital humain et social et diminution du PNB¹⁶. L'ampleur des conséquences de ces carences sur la santé de l'individu justifie la mise en œuvre d'interventions de santé publique.

Les carences apparaissent lorsque les apports en micronutriments ne permettent pas de couvrir les besoins, en particulier ceux élevés des populations à risque. Les besoins en micronutriments correspondent aux quantités nécessaires pour compenser les pertes physiologiques ou liées à des infections, et répondre aux circonstances particulières de la vie, comme durant les périodes de croissance accélérées et au cours de la grossesse. Dans les PED, ces carences sont principalement liées au faible contenu et/ou la faible biodisponibilité des micronutriments des régimes alimentaires. La carence en iode dépend du faible contenu en iode des sols et de l'environnement (les carences apparaissent le plus souvent en zone de montagnes ou inondées) ou de la présence de facteurs goitrigènes dans les régimes. La carence en

vitamine A résulte d'une consommation inadéquate d'aliments riches en rétinol ou précurseurs de la vitamine A^{17,18}. La carence en fer résulte principalement de la présence dans le régime d'inhibiteurs de l'absorption comme les phytates ou tannins, très présents dans les aliments d'origine végétale qui constituent le plus souvent la base de l'alimentation des populations les plus pauvres des PED et/ou de l'absence de promoteurs de l'absorption comme par exemple la vitamine C¹⁹.

La connaissance par les pays de la prévalence et de la sévérité des carences, de leurs facteurs étiologiques, de leur distribution géographique et des groupes à risque concernés est essentielle. La plupart des PED dispose d'enquêtes épidémiologiques nationales plus ou moins récentes ou pour le moins d'informations recueillies au travers d'enquêtes plus limitées qu'il sera peut-être nécessaire de compléter ou d'affiner. Ces informations ainsi que les conséquences de ces carences en terme de santé publique et d'impact économique et la disponibilité de stratégies d'intervention réalisables et économiquement viables doivent permettre aux autorités sanitaires et politiques des pays concernés de prendre la mesure de l'ampleur du problème et de planifier des interventions par exemple dans le cadre de leur Plan National d'Action pour la Nutrition¹.

Les programmes à mettre en œuvre pour contrôler les carences en micronutriments doivent intégrer différentes approches comme la supplémentation, les approches alimentaires telles que la diversification alimentaire et l'enrichissement d'aliments, et des mesures globales de santé publique et de contrôle des infections et pathologies¹⁹. Il est important d'indiquer que ces interventions sont complémentaires et non compétitives et que leur choix dépend de la prévalence, de la sévérité et des facteurs étiologiques des carences ainsi que des groupes à risque identifiés. Il est souvent recommandé de les mettre en œuvre simultanément du fait de leur impact différent dans le temps et de leur faisabilité en fonction des différents contextes.

La présentation qui va suivre focalisera sur une des approches possibles: l'enrichissement des aliments en micronutriments, et plus spécialement dans le cadre de la lutte contre la carence en fer qui reste la carence la plus prévalente et la plus difficile à prévenir et à contrôler.

ENRICHISSEMENT EN MICRONUTRIMENTS

L'enrichissement («fortification» en anglais) est défini comme l'addition à un aliment d'un ou plusieurs nutriments essentiels, normalement ou non contenu dans l'aliment, avec l'objectif de prévenir ou corriger une carence affirmée en un ou plusieurs nutriments dans la population ou dans des groupes de population spécifiques²⁰. Il concerne l'enrichissement d'aliments de base destinés à l'ensemble de la population ou d'aliments préférentiellement consommés par les groupes à risque²¹.

L'enrichissement d'aliments est pratiqué déjà depuis longtemps dans les pays industrialisés où l'élimination virtuelle des carences en micronutriments a été largement attribuée à l'enrichissement des aliments en micronutriments^{22,23}. La conférence internationale sur la Nutrition de 1992 a souligné l'importance et la pertinence de l'enrichissement des aliments en micronutriments pour lutter contre les carences en micronutriments dans les PED¹. Cette approche est considérée, quand elle est possible, comme l'approche de meilleur coût-efficacité pour améliorer le statut en micronutriments des populations ce qui est un gage de pérennité²⁴. Elle est socialement acceptable car, le plus souvent, elle ne modifie pas les habitudes alimentaires ni les aliments consommés. Le rôle principal de l'enrichissement en micronutriments des aliments est la prévention des carences, mais les produits enrichis contribuent aussi à l'élimination des carences installées.

UN PARTENARIAT MULTISECTORIEL INDISPENSABLE

Le succès d'une intervention requiert l'implication du secteur public et la définition d'une politique de nutrition publique. La mise en œuvre d'un Plan National d'Action pour la Nutrition est un des éléments dont dispose les pouvoirs publics, mais la définition d'un programme d'enrichissement d'aliments ne peut toutefois concerner que ce seul secteur public. Un partenariat multisectoriel incluant notamment la communauté scientifique, les pouvoirs publics, les agences internationales les ONG, le secteur privé mais aussi de la société civile notamment les consommateurs et bénéficiaires est souhaitable et considéré comme l'approche à privilégier. Ce partenariat doit être initié dès le début du projet, préciser les rôles de chacun et permettre l'échange constant d'informations appropriées. Les producteurs comme les consommateurs doivent être parfaitement informés du changement minimum dans la production ou les décisions d'achat nécessaires pour modifier les préférences et la demande vers les aliments enrichis¹⁶. Le secteur privé doit participer à la définition des moyens et techniques à mettre en œuvre pour atteindre les objectifs. Le secteur public, soutenu par les organisations internationales et bilatérales, a pour rôle notamment d'informer, motiver, conseiller, contrôler et soutenir le secteur privé et d'assurer la diffusion de l'information auprès des populations. La communauté scientifique responsable de la composante recherche et développement doit démontrer la faisabilité et l'impact du programme.

DÉFINIR UN PROGRAMME D'ENRICHISSEMENT

Population cible

Les programmes d'enrichissements d'aliments peuvent être dirigés vers l'ensemble de la population, comme par exemple l'enrichissement en fer et vitamines B des farines de blé²⁵ ou de maïs²⁶, l'enrichissement en fer de la sauce soja en Chine²⁷ ou de la sauce de poisson au Vietnam²⁸. Ils peuvent aussi être développés pour répondre aux besoins spécifiques d'un groupe de population comme dans le cadre d'aliments de complément au lait maternel enrichis en micronutriments pour les nourrissons et jeunes enfants²⁹ ou pour les scolaires notamment à travers la mise en place de déjeuners scolaires appropriés³⁰ ou de biscuits enrichis³¹. La définition de la population cible est très importante pour le choix du véhicule alimentaire et des quantités de micronutriments à ajouter.

Véhicule alimentaire

Une fois la population cible identifiée se pose la question du choix du ou des véhicule(s) alimentaire(s) à enrichir. Des enquêtes alimentaires sont nécessaires afin de définir les aliments qui sont consommés régulièrement et en quantité suffisante par les populations cibles. Il est notamment judicieux de disposer de données de consommation d'aliments susceptibles d'être enrichis par les groupes les plus à risques comme les enfants de moins de 5 ans et les femmes en âge de procréer, enceintes ou non. La pertinence de ces données sera d'autant plus grande qu'elles pourront être désagrégées en fonction du niveau socioéconomique et dans le cadre d'un programme national des particularités géographiques et écologiques. L'absence de véhicule alimentaire suffisamment consommé ou de manière régulière peut conduire à l'abandon d'un programme d'enrichissement.

Le véhicule alimentaire doit pouvoir être enrichi dans des unités de production centralisées et la technologie d'enrichissement doit être simple et peu coûteuse. Si possible, le choix doit porter sur un aliment ayant des qualités (couleur, odeur)

pouvant masquer les éventuelles modifications qui pourraient intervenir lors de l'enrichissement. Les véhicules alimentaires les plus souvent utilisés, notamment au niveau national, sont des farines de céréales (blé ou maïs) ou des condiments comme le sel, le sucre ou les margarines^{22,32}.

Fortifiants et niveaux d'enrichissement

Un bon fortifiant doit être organoleptiquement stable et ne pas produire de modifications notables de l'aliment véhicule ou des aliments auxquels il est mélangé. Il doit avoir une bonne biodisponibilité et la conserver au cours du stockage et de l'utilisation. Il doit être facilement disponible en complément alimentaire et d'un coût abordable.

Le choix de ces fortifiants ne présente pas de gros problème en ce qui concerne l'enrichissement en iode, le plus souvent sous forme d'iodate de potassium^{32,33}. Il en est de même pour l'enrichissement en vitamine A, essentiellement sous forme de palmitate de rétinol³⁴.

C'est plus compliqué pour le fer. Les composés en fer les plus utilisés sont présentés dans le tableau 1 en fonction de leur biodisponibilité relative par rapport à celle du sulfate de fer utilisée comme référence²¹. Les composés de fer solubles dans l'eau sont plus aisément absorbés. Mais ce sont aussi ceux qui produisent le plus de problèmes organoleptiques indésirables tels que changements de couleur et de saveur, oxydation des lipides et rancissement. Les composés peu solubles dans l'eau mais solubles en milieu acide présentent une bonne absorption avec l'avantage d'avoir moins d'effets organoleptiques néfastes. Les composés peu solubles en milieu acide ne provoquent pas de modifications organoleptiques, mais leur absorption est très variable du fait de leur faible solubilité dans le suc gastrique. Enrichir un aliment consiste donc à trouver le meilleur compromis entre biodisponibilité et effets organoleptiques indésirables.

Tableau 1: Caractéristiques des composés de fer couramment utilisés pour enrichir les aliments.

Composés de fer	Biodisponibilité relative *	Quantité de fer (%)	Aliments communément enrichis
Solubles dans l'eau			
Sulfate ferreux hydraté	100	20	Aliments pour nourrissons, pain, pâtes
Sulfate ferreux	100	33	
Gluconate ferreux	89	12	
Lactate ferreux	106	19	
Citrate d'ammonium ferrique	-	18	
Peu solubles dans l'eau / solubles en milieu acide			
Fumarate ferreux	100	33	Céréales pour enfants
Succinate ferreux	92	35	
Saccharate ferreux	74	10	Poudres chocolatées
Glycérophosphate ferrique	-	15	
Citrate ferreux	74	24	
Tartrate ferreux	62	22	
Insolubles dans l'eau / peu solubles en milieu acide			
Orthophosphate ferrique	25-32	28	Céréales pour enfants poudres chocolatées, riz
Pyrophosphate ferrique	21-74	25	
Fer élémentaire			
Electrolytique	75	97	Céréales pour enfants, farine de blé, céréales
Carbonyl	5-20	99	
H-Réduit	13-148	97	
CO-Réduit	-	97	
Atomisé	-	97	

* Biodisponibilité relative chez l'homme par rapport au sulfate de fer 7H₂O, pour la même quantité totale en fer (adapté d'après [41]).

Le sulfate de fer a principalement été utilisé dans les aliments lactés pour nourrissons; le fumarate de fer pour enrichir les céréales pour enfants³⁵ et parfois aussi pour les farines de céréales^{25,26}. D'autres composés insolubles dans l'eau comme le pyrophosphate ferrique ont aussi été largement utilisés du fait de leur stabilité organoleptique dans les céréales pour enfants et les poudres chocolatées. Leur biodisponibilité est considérée assez faible mais une récente étude démontre la biodisponibilité relative élevée d'un nouveau composé le pyrophosphate ferrique micronisé dispersible³⁶ et son potentiel pour l'enrichissement d'aliments. D'autres composés comme le fer élémentaire sont très largement utilisés pour l'enrichissement des farines de céréales, en particulier de blé, le plus souvent sous forme de premix contenant des vitamines du groupe B²⁵. Cependant les effets bénéfiques de cet enrichissement sur le statut en fer des populations sont sujets à caution du fait de la biodisponibilité très variable de certains fers élémentaires et de l'absence d'étude ayant montré leur efficacité. Un récent atelier tenu à Monterrey au Mexique a conclu qu'actuellement le seul composé de fer élémentaire acceptable comme fortifiant serait le fer électrolytique (325 mesh) qui ne présente toutefois qu'une biodisponibilité moitié moindre de celle du sulfate de fer³⁷.

Le choix d'un "bon" composé en fer ne suffit pas à lui assurer une bonne absorption. En effet, les composants de l'aliment véhicule comme de ceux des autres composants du régime peuvent interférer. Certains, les activateurs, augmentent l'absorption, d'autres en revanche, les inhibiteurs, la diminuent. Les inhibiteurs les plus puissants sont les phytates, les tannins, et certaines protéines comme les protéines de soja³⁸. L'activateur le plus puissant est l'acide ascorbique³⁹ dont l'effet dose dépendant est fonction des autres activateurs ou inhibiteurs du régime⁴⁰. Les acides citrique, succinique et lactique ont aussi un effet positif, mais moins important³⁸.

L'adjonction de vitamine C à l'aliment fortifié est une solution relativement onéreuse et sa dégradation lors du stockage peut poser problème. D'autre part, l'effet bénéfique de l'acide ascorbique sur le fer élémentaire et le fumarate de fer est discutable⁴¹. L'utilisation de composés où le fer est protégé des inhibiteurs est une alternative. Trois composés présentent des possibilités intéressantes: l'éthylène diamine tétracétate de fer et de sodium (NaFeEDTA), le bisglycinate ferreux et l'hémoglobine.

Le NaFeEDTA est organoleptiquement stable et particulièrement intéressant pour les aliments nécessitant un stockage prolongé et des températures de préparation élevées ou qui contiennent des inhibiteurs du fer non-hémérique⁴². Il a l'avantage non seulement de conférer une meilleure absorption au fer qu'il contient, mais aussi de favoriser l'absorption de l'ensemble du fer non hémérique du régime et celle du zinc⁴². Dans le cas de régime contenant des inhibiteurs de l'absorption de fer, l'absorption du fer du NaFeEDTA, de l'ordre de 7-10%, est 2 à 3 fois supérieure à celle du sulfate de fer⁴³. Ajouté à de la sauce de poisson^{28,44}, du curry⁴⁵ ou du sucre⁴⁶ le NaFeEDTA améliore le statut nutritionnel des populations. Cependant, des réactions colorées se développent parfois comme par exemple lorsque le sucre enrichi est ajouté à des produits à base de maïs ou dans le thé et le café. En Bolivie, la consommation quotidienne pendant quatre mois d'*api*, mélange de maïs-quinua-tarui consommé sous forme de boisson chaude, contenant du sulfate de fer ou du NaFeEDTA améliore la concentration d'hémoglobine et les capacités intellectuelles et annule l'anémie chez des enfants scolarisés³⁰.

Le bisglycinate de fer est composé d'une molécule de fer liée à deux molécules de glycine⁴⁷. Son absorption serait élevée. Il ne réagirait pas avec les lipides et éviterait le rancissement des céréales, de la margarine et du lait⁴⁸. Cependant le lait⁴⁹ et les phytates⁵⁰ diminueraient son absorption qui serait augmentée par l'acide ascorbique⁴⁹. L'efficacité et la sûreté de ce composé doivent être évaluées dans diverses conditions avant de le recommander pour la fortification⁵¹.

Le concentré d'hémoglobine de bovin, dont l'absorption (de l'ordre de 15-20%) n'est pas influencée par les composants du régime hormis le calcium, a été employé au Chili comme fortifiant dans une farine de riz⁵² et dans des biscuits de blé⁵³. Ses principaux inconvénients sont sa couleur rouge-brun intense, sa faible teneur en fer de l'ordre de 0,3%, les problèmes de contamination potentiels impliqués dans sa production ainsi que les perceptions culturelles de ce supplément²¹.

La biodisponibilité du fer peut également être améliorée dans les aliments «véhicules» en diminuant l'effet des inhibiteurs notamment de l'acide phytique. Mais cette opération n'est réellement efficace que lorsque le contenu résiduel en acide phytique est très faible ou mieux inexistant⁴¹. Les pratiques traditionnelles qui réduisent les phytates et polyphosphates, comme le décorticage des céréales, le trempage, la germination qui active les phytases endogènes et la fermentation qui favorise un pH optimum pour l'activité des phytases, augmentent la biodisponibilité du fer. Ces méthodes sont particulièrement intéressantes pour la préparation d'aliments de complément du nourrisson⁵⁴ car elles diminuent aussi la viscosité des bouillies, améliore la biodisponibilité du zinc et le contenu en vitamines hydrosolubles comme la riboflavine et confèrent à l'aliment une meilleure sécurité microbiologique⁷. L'addition de phytase exogène augmente l'absorption du fer.

Les quantités de micronutriments à ajouter à l'aliment véhicule dépendent de plusieurs facteurs. Tout d'abord des besoins des populations cibles. Certains éléments évalués avant le démarrage du programme permettent de disposer d'informations quant aux apports quotidiens par l'alimentation et à la consommation de l'aliment enrichi. Ces deux paramètres influenceront la quantité de micronutriments à ajouter qui devra aussi tenir compte de la législation en cours dans le pays lorsqu'elle existe et des recommandations internationales. En général les niveaux d'enrichissement admis sont entre 15 et 30% des RDI. La biodisponibilité des micronutriments ajoutés est un autre élément à considérer. Elle peut être évaluée, comme par exemple pour le fer, à l'aide d'isotopes stables, mais, le plus souvent, elle est estimée à partir des connaissances disponibles. Des études d'efficacité biologique en condition contrôlées sont alors nécessaires afin de prouver l'impact positif et l'absence d'effets secondaires ou néfastes de l'aliment enrichi.

Evaluation de l'impact du programme

Efficacité en conditions contrôlées: cette évaluation, appelée "*efficacy*" en anglais, à pour objectif de déterminer si une intervention est efficace ou plus efficace qu'une autre dans des conditions idéales. Une bonne étude repose sur une étude randomisée, réalisée en double-aveugle, incluant un groupe témoin et dans laquelle la consommation régulière et en quantités appropriées de l'aliment enrichi ou non ou du supplément ou du placebo est rigoureusement contrôlée. Les variables ou indicateurs mesurés doivent être choisis avec soin afin d'optimiser les résultats. Elles peuvent être des variables biologiques comme par exemple la mesure de la concentration d'hémoglobine ou de contenus sériques en micronutriments ou d'autres comme la croissance ou les performances intellectuelles ou physiques. De nombreux exemples d'études d'efficacité existent en particulier dans le cadre de la supplémentation en fer⁵⁵⁻⁵⁷. En ce qui concerne l'enrichissement d'aliments, l'étude que nous avons récemment réalisée au Vietnam dans le cadre de l'enrichissement en fer du *nuoc mam* (sauce de poisson) a démontré que la consommation régulière pendant 6 mois de 10 ml *nuoc mam* enrichi apportant 10 mg de fer sous forme de NaFeEDTA permet d'améliorer significativement le statut en fer et de réduire la prévalence de l'anémie ferriprive chez des femmes en âge fertile²⁸. L'utilisation d'indicateurs du statut en fer comme la ferritine sérique et les récepteurs libres de la transferrine ont permis de

calculer les quantités de fer corporelles et d'estimer la quantité de fer absorbé au cours de l'étude.

Efficacité opérationnelle ou en conditions réelles ("*effectiveness*" en anglais): démontrer une efficacité en conditions contrôlées ne garantit pas que le programme aura un effet lorsqu'il sera mis en œuvre. Il est donc indispensable d'évaluer auparavant l'efficacité du programme dans les conditions réelles du terrain afin de décider si la population cible doit bénéficier du programme. Cette évaluation sera réalisée lorsque certaines des étapes de mise sur le marché et de promotion du produit présentées dans le paragraphe suivant auront été achevées. Cette évaluation requiert en général des échantillons de population plus importants qu'une étude "d'efficacy", parfois des communautés entières. La méthodologie utilisée repose le plus souvent sur la comparaison de deux sites différents dont seulement un bénéficie de l'intervention et/ou sur des évaluations avant-après sur les mêmes sujets ou des sujets différents. Les variables mesurées peuvent être aussi des variables biologiques ou physiologiques ou d'autres comme la consommation d'aliment enrichi par les populations cibles. Un des avantages de cette évaluation, réalisée le plus souvent sur des périodes assez longues, généralement plus d'une année, est qu'elle peut aussi permettre, si les bons indicateurs sont choisis, de mettre en évidence d'éventuels effets négatifs comme par exemple les risques d'accumulation de réserves en fer. L'évaluation d'efficacité en conditions réelles n'est, pour différentes raisons, pas toujours réalisée alors qu'elle constitue un argument essentiel pour convaincre les décideurs politiques et les bailleurs de fond à investir dans des actions de nutrition publique.

Promotion de l'aliment enrichi et pérennité du programme

Une fois défini et son efficacité en conditions contrôlées testée, l'aliment enrichi doit donc faire l'objet de différentes attentions afin d'en assurer une consommation adéquate et la pérennité du programme.

Le contrôle de qualité, essentiellement de la responsabilité du producteur, permet de garantir la composition et la qualité sanitaire des ingrédients comme du produit fini et qu'à l'instant de sa consommation l'aliment contient la quantité requise de micronutriments^{22,58}. Ceci implique notamment de considérer des éléments comme l'emballage du produit, l'exposition du produit aux conditions climatiques parfois extrêmes de certains pays et le temps qui peut se dérouler entre la préparation et la consommation du produit. Outre son utilité protectrice, l'emballage doit être informatif quant à son contenu et à son mode d'utilisation et ne pas accroître de façon substantielle le coût de l'aliment enrichi. Le prix de l'aliment enrichi est un élément important à considérer notamment lorsqu'il est destiné aux populations les plus défavorisées. Il dépend du coût global de l'enrichissement incluant le coût des micronutriments qui en représente la plus grande part, les ressources humaines, l'équipement et sa maintenance, le contrôle de qualité⁵⁸... Le coût additionnel du produit enrichi peut être supporté par les pouvoirs publics, par les producteurs pouvant par exemple recevoir en échange des incitations fiscales ou un label des autorités sanitaires du pays indiquant l'intérêt du produit ou par les consommateurs si la promotion du produit a été bien planifiée. La communication et la promotion du produit sont des éléments très importants du programme notamment si le produit enrichi est en compétition avec d'autres produits similaires non enrichis ou si l'enrichissement a modifié de façon substantielle les propriétés organoleptiques ou le prix de l'aliment véhicule. La simple information des consommateurs ne suffit pas le plus souvent et des campagnes de promotion sociales et/ou commerciales sont nécessaires. Le programme Fasevie mené au Vietnam par l'Institut National de Nutrition de Hanoi en coopération avec l'IRD et le GRET s'est appuyé sur une

approche de marketing social visant à la promotion des conditions d'une bonne nutrition des nourrissons et des jeunes enfants⁵⁹. Cette promotion est réalisée par des volontaires communautaires de l'Union des Femmes vietnamiennes et intègre des messages adaptés à l'âge des enfants concernant les bonnes pratiques alimentaires (allaitement exclusif jusqu'à six mois d'âge, introduction en temps opportun d'aliments de complément de bonne qualité nutritionnelle). Les aliments de compléments enrichis en vitamines et minéraux, fabriqués localement par de petites unités de production, sont proposés aux mères par les volontaires communautaires. Ces dernières sont rémunérées par une marge sur la vente des aliments enrichis ce qui contribue à la pérennité de ce projet. D'autres expériences impliquant la participation active des communautés ont montré des résultats intéressants⁶⁰.

La mise sur le marché et la pérennité d'un programme de fortification dépendent aussi de la législation mise en place par les pouvoirs publics. Cette législation, qui doit s'appuyer sur les standards, recommandations et règlements du Codex Alimentarius, doit permettre d'atteindre les objectifs du programme d'enrichissement et d'assurer que les doses d'enrichissement soient dans des limites acceptables et sûres⁶¹. La mise en place d'un système de contrôle et de surveillance permettant d'ajuster les composantes du programme au cours de son développement complètera le dispositif devant assurer le succès et la pérennité du programme d'enrichissement.

RÉFÉRENCES

- Conférence Internationale sur la Nutrition (CIN). Les grands enjeux des stratégies nutritionnelles. Rome: FAO/OMS, 1992.
- ACC/SCN. Fourth report on the world nutrition situation. Nutrition throughout the life cycle. Geneva: ACC/SCN in collaboration with IFPRI; 2000.
- West KP. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr* 2002;132(9):2857S-66S.
- Gardner GW, Edgerton VR, Senewiratne B, Barnard RJ, Ohira Y. Physical work capacity and metabolic stress in subjects with iron deficiency anemia. *Am J Clin Nutr* 1977;30:910-7.
- Basta S, Soekirman M, Karryadi K, Scrimshaw N. Iron deficiency anemia and the productivity of adult males in Indonesia. *Am J Clin Nutr* 1979;3:916-25.
- Viteri F. Prevention of iron deficiency. In: Institute of Medicine NAPE, ed. Prevention of micronutrient deficiencies: Tools for policy makers and public health workers. Washington; National Academic Press, 1997:45-103.
- Allen LH. Pregnancy and iron deficiency: Unresolved issues. *Nutr Rev* 1997;55(4):91-101.
- Lozoff B, Brittenham GM, Viteri F, Wolf AW, Urrutia JJ. Developmental deficits in iron-deficient infants: effects of age and severity of iron lack. *J Pediatr* 1982;101(6):948-51.
- Fairweather-Tait SJ. Iron deficiency in infancy: easy to prevent - or is it? *Eur J Clin Nutr* 1992;46 (4):9S-14S.
- Chwang L, Soemantri AG, Pollitt E. Iron supplementation and physical growth of rural Indonesian children. *Am J Clin Nutr* 1988;47:496-501.
- Berger J, Dyck JL, Galan P, et al. Effect of daily iron supplementation on iron status, cell-mediated immunity, and incidence of infections in 6-36 month old Togolese children. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:29-35.
- Ross A. The relationship between immunocompetence and vitamin A status. In: Sommer A, West KP, eds. Vitamin A deficiency: health, survival and vision. New York: Oxford University Press, 1996:251-73.
- Bloem MW, Wedel M, Van Agtmaal EJ, Speek AJ, Saowakontha S, Schreurs WHP. Vitamin A intervention: short-term effects of a single, oral, massive dose on iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990;51:76-9.
- de Benoist B, Delange B. La carence iodée: bilan et perspective pour le futur. *Cahiers Santé* 2002;12(1):9-17.
- Brown KH, Peerson JM, Rivera J, Allen LH. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2002;75(6):1062-71.
- Hunt JM. Reversing productivity losses from iron deficiency: The economic case. *J Nutr* 2002;132(4):794S-801S.
- de Pee SWC. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: a review of the literature. *Eur J Clin Nutr* 1996;50:38S-53S.
- de Pee S, Bloem MW, Gorsten J, et al. Reappraisal of the role of vegetables in the vitamin A status of mothers in Central Java, Indonesia. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1068-74.
- Berger J, Dillon J. Stratégies de contrôle de la carence en fer dans les pays en développement. *Cah Santé* 2002;12(1):22-30.
- FAO/WHO. Codex Alimentarius. 2nd edition. 1994;4.
- Hurrell R. Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutr Rev* 1997;55(6):210-22.
- Clarke R. Technology and quality control. Rome: FAO, 1995.
- Ramakrishnan U, Yip R. Experiences and Challenges in Industrialized Countries: Control of Iron Deficiency in Industrialized Countries. *J Nutr* 2002;132(4):820S-24S.
- World Bank. Enriching lives: overcoming vitamin and mineral malnutrition in developing countries: development in practice. Washington, DC: World Bank, 1994.
- Hertrampf E. Iron Fortification in the Americas. *Nutr Rev* 2002;60(7(1)):22S-5S.
- García-Casal MN, Layrisse M. Iron Fortification of Flours in Venezuela. *Nutr Rev* 2002;60(7(1)):26S-9S.
- Mannar V, Gallego EB. Iron Fortification: Country Level Experiences and Lessons Learned. *J Nutr* 2002;132(4):856S-8S.
- Thuy P, Berger J, Davidsson L, et al. Regular consumption of NaFeEDTA fortified fish sauce improved iron status and reduced anemia prevalence in anemic Vietnamese women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:284-90.

29. Berger J, Trêche S, Salvignol B, Khan N, Goudeau C. Fortified complementary food - The Vietnam experience. Proceedings from the national seminar and workshop "Optimizing early child nutrition; integrating strategies for fortified complementary feeding." Jakarta, Indonesia, 26-27, September; 2001:37-43.
30. Berger J, Aguayo V, San Miguel JL, Tellez W, Lujan C. Estrategias de control de la anemia ferropénica en niños bolivianos residentes a gran altitud. In: Berger J SMJ, Arce RM, Fernandez E, Aguayo, eds. Anemias por deficiencia de hierro en la región andina: Definición y estrategias de intervención. ORSTOM; 1996:227-48.
31. Laillou A, Monvois C, Berger J, Bisavit-A. An innovative solution to combat micronutrient deficiency in Vietnam. Sight and life Newsletter, 2003:3-7.
32. Lofti M, Venkatesh Mannar M, Merx R, Naber-van den Heuvel P. Micronutrient fortification of foods. Current practices, research and opportunities: The Micronutrient Initiative (MI). International Development Research Center (IDRC)/International Agriculture Centre (IAC), 1996.
33. WHO/UNICEF/ICCIDD. Recommended iodine levels in salt and guidelines for monitoring their adequacy and effectiveness. Geneva: WHO, 1996.
34. Wirakartakusumah M, Hariyadi P. Technical aspects of food fortification. Food Nutr Bull 1998;132:101-8.
35. Hurrell RF, Furniss DE, Burri J, Whittaker P, Lynch SR, Cook JD. Iron fortification of infant cereals: a proposal for the use of ferrous fumarate or ferrous succinate. Am J Clin Nutr 1989;49:1274-82.
36. Fidler MC, Davidsson L, Zeder C, Hurrell RF. Erythorbic acid is a potent enhancer of nonheme-iron absorption. Am J Clin Nutr 2004;99(1):99-102.
37. Turner L. Monterrey workshop summary: evaluating the usefulness of elemental iron powders. Nutr Rev 2002;60(7):16S-17S.
38. McPhail P, Bothwell TH. The prevalence and causes of nutritional iron deficiency anemia. In: Fomon S, Zlotkin S, eds. Nutritional Anemias. Nestlé Nutrition Workshop Series. New York: Nestec Ltd., Vevey/Raven Press Ltd.; 1992:1-12.
39. Hallberg L, Brune M, Rossander L. Effect of ascorbic acid on iron absorption from different types of meals. Studies with ascorbic acid given in different amounts with different meals. Ann Nutr Appl Nutr 1986;40A:97-113.
40. Siegenberg D, Baynes RD, Bothwell TH, et al. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. Am J Clin Nutr 1991;53:537-41.
41. Hurrell RF. Fortification: Overcoming Technical and Practical Barriers. J Nutr 2002;132(4):806S-12S.
42. Davidsson L, Kastenmayer P, Hurrell RF. Sodium iron EDTA [NaFe(III)EDTA] as a food fortificant: the effect on the absorption and retention of zinc and calcium in women. Am J Clin Nutr 1994;60:231-7.
43. International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG). Iron EDTA for food fortification. Washington, DC: The Nutrition Foundation/ILSI, 1993.
44. Garby L, Areekul S. Iron supplementation in Thai fish-sauce. Ann Trop Med Parasitol 1974;68:467-76.
45. Ballot D, McPhail A, Bothwell T, Gilloomy M, Mayer FG. Fortification of curry powder with NaFe(II)EDTA in an iron-deficient population: report of a controlled iron-fortification trial. Am J Clin Nutr 1989;49:162-9.
46. Viteri F, Alvarez E, Bulux J, et al. Iron fortification in developing countries. Nutrition in Health and Disease 1994:345-54.
47. Pineda O, Ashmead H, Perez J, Lemus C. Effectiveness of iron amino acid chelate on the treatment of iron deficiency anemia in adolescents. J Appl Nutr 1994;46:2-13.
48. Cook JD. Adaptation in iron metabolism. Am J Clin Nutr 1990;51:301-8.
49. Olivares M, Pizzaro F, Pineda O, Name JJ, Hertrampf E, Walter T. Milk inhibits and ascorbic acid favors ferrous bis-glycine chelate bioavailability in humans. J Nutr 1997;127:1407-11.
50. Fox TE, Eagles J, Fairweather-Tait SJ. Bioavailability of iron glycine as a fortificant in infant foods. Am J Clin Nutr 1998;67:664-8.
51. Allen L, Ahluwalia N. Improving iron status through diet. The application of knowledge concerning dietary iron bioavailability in human populations. USAID/OMNI, 1997.
52. Calvo E, Hertrampf E, de Pablo S, Amar M, Stekel A. Haemoglobin-Fortified-Cereal: an alternative weaning food with high iron bioavailability. Eur J Clin Nutr 1989;43:237-43.
53. Olivares MHE, Pizarro F, Walter T, et al. Hemoglobin-fortified biscuits: bioavailability and its effect on iron nutriture in school children. Arch Lat Am Nutr 1990;2:209-19.
54. Obizoba I, Atii J. Effect of soaking, sprouting, fermentation and cooking on nutrient composition and some anti-nutritional factors of sorghum. (Guinesia) seeds. Plant Foods Hum Nutr 1991;41:203-12.
55. Berger J, Aguayo VM, Tellez W, Lujan C, Traissac P, San Miguel JL. Weekly iron supplementation is as effective as 5 day per week iron supplementation in Bolivian school children living at high altitude. Eur J Clin Nutr 1997;51:381-6.
56. Liu XN, Kang J, Zhao L, Viteri FE. Intermittent iron supplementation in Chinese preschool children is efficient and safe. Food Nutr Bull 1995;16(2):139-46.
57. Beaton G, McCabe G. Efficacy of intermittent iron supplementation in the control of iron deficiency anemia in developing countries: an analysis of experience. Toronto, Canada: Micronutrient Initiative, Canadian International Development Agency (CIDA), 1999.
58. FAO/ILSI. Preventing micronutrient malnutrition: a guide to food-based approaches. A manual for policy makers and programme planners. Rome: FAO/ILSI, 1997.
59. Berger J, Laillou A, Khan N, Monvois C, Salvignol N, Trêche S. Fasevie: une solution originale au problème de la malnutrition infantile au Vietnam. Les cahiers de la Coopération française au Vietnam, 2004:30.
60. Nantel G, Tontisirin K. Policy and sustainability issues. J Nutr 2002;132(4):839S-44S.
61. Orriss G. Food fortification: safety and legislation. Food Nutr Bull 1998;19(2):109-16.

Prévention de l'anémie dans les zones rurales au Bénin: aspects technologiques de la fortification en fer de la farine fermentée de maïs

Bassa Septime, Michodjèhoun-Mestres Laétitia,
Anihouvi Victor, Hounhouigan* Joseph

Département de Nutrition et Sciences Alimentaires, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

*Auteur correspondant: hounjos@bj.refer.org

- Résumé-

L'anémie due à la carence en fer constitue un problème de santé publique dans les pays d'Afrique subsaharienne. L'une des formes de lutte les plus efficaces contre cette forme de malnutrition est la consommation d'aliments riches en fer. Au Bénin, le maïs occupe une place de choix dans l'alimentation humaine avec une consommation moyenne annuelle d'environ 85 kg/habitant, pouvant atteindre 150 kg dans certaines zones rurales des Départements du Sud et du Centre du pays. La fortification en fer du maïs peut donc constituer une alternative pour la résolution des problèmes liés à la carence en fer dans ces zones. La présente étude, qui fait partie d'un projet de recherche-action conduit par CARE BENIN, vise à étudier la faisabilité de la fortification du *mawè*, une farine fermentée de maïs généralement consommée au Bénin. Des 5 variétés de maïs couramment utilisées dans la zone d'étude, la variété *Gbogboué* est la plus consommée (70% de la population). La teneur en fer de ces variétés de maïs varie entre 1,5 mg/100 g, base sèche (bs) et 6,3 mg/100g (bs) tandis que la teneur en phytates varie entre 0,4 g/100g et 0,8 g/100g (bs). La teneur en fer du *mawè* et des produits dérivés collectés dans la zone varie entre 2,5 et 3 mg/100g (bs) et leur teneur en phytates entre 0,4 et 0,5 g/100g (bs). Le décorticage du maïs *Gbogboué* entraîne une réduction de la teneur en fer d'environ 44% et une réduction de la teneur en phytates de près de 31%. L'effet de la fermentation sur la réduction de la teneur en phytates n'est significatif qu'après 24 heures de fermentation (20%). Des 4 types de sels de fer testés (sulfate ferreux, gluconate de fer, fumarate ferreux et NaFeEDTA), seul le sulfate ferreux permet de préserver les caractéristiques organoleptiques des produits à base de *mawè*. La technologie de fortification mise au point permet d'obtenir des pâtes et des bouillies de *mawè* parfaitement acceptables. La fortification du *mawè* ainsi réalisée permet un apport supplémentaire quotidien minimum de 10 mg de fer par individu dans les conditions normales de consommation du *mawè* dans la zone d'intervention.

Mots-clés: Maïs – Fermentation – Fortification – Fer – Phytates.

- Abstract -**Prevention of anaemia in rural areas in Benin: technological aspects of the fortification of fermented maize meal with iron**

Iron Deficiency Anaemia (IDA) is one of the major public health problems in the world, especially in Asia and sub-Saharan African countries. The consumption of iron-rich foods can efficiently contribute to the reduction of IDA. In Benin, maize is an important part of the daily diet, with an average consumption of 85 kg/capita per year, which could reach 100 to 150 kg in rural area of the southern and central departments of the country. So, fortification of maize meal with iron could be an efficient way of preventing or treating IDA in these parts of Benin. This study, which is a part of a Research-Development project initiated by CARE-BENIN aims to study the feasibility of the fortification of *mawè*, a fermented maize flour generally consumed in Benin. Preliminary studies on processing and consumption habits shown that among the five maize varieties used in the region (*Gbogboué*, *Gbali*, *Djakpé*, *djongbo* and *DMR*), *Gbogboué* is the most consumed (70 % of the population). Average iron content of the maize varieties varies from 1.5mg/100g for *Gbali* to 6.3 mg/100g (dw) for *Gbogboué*; phytates content varies from 0.4g/100g for *Gbali* to 0.8g/100g (dw) for *Gbogboué*. Iron content of maize products sampled in the intervention zone varies from 2.5 to 3 mg/100 g (dm) and phytate contents from 0.4 to 0.5g/100g (dm). Iron content of *mawè* from *Gbogboué* was reduced by 44% and phytate content by 31% as the result of dehulling. Fermentation affects significantly the phytate content of *mawè* (20% reduction) only after 24 h. From four types of iron salts including ferrous sulfate, iron gluconate, ferrous fumarate and NaFeEDTA, tested for their ability to preserve the sensory qualities of traditional *mawè* products, only ferrous sulfate was found suitable. A premix (type 540) containing ferrous sulfate was tested in the intervention zone and was found to be suitable to produce acceptable fortified *mawè*-based products, allowing an additional daily intake of 10 mg of iron per consumer. On the basis of these results, works are in progress to introduce fortified *mawè* in the household food consumption at Dogbo, in the Department of Mono, at the South-West of Benin.

Keys words: Maize – Fermentation – Fortification – Iron – Phytates.

INTRODUCTION

L'anémie due à la carence en fer (Iron deficiency anemia, IDA) est depuis fort longtemps reconnue mondialement comme la carence d'ordre nutritionnel la plus courante parmi celles qui fragilisent l'immunité contre les infections et réduit les capacités physiques et mentales de l'homme. L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans son rapport de 1998 a alerté la communauté mondiale sur le fait que l'IDA constitue un problème de santé publique dans la plupart des pays du monde. C'est en Asie et en Afrique au sud du Sahara que le problème se pose avec le plus d'acuité. Au Bénin en particulier, la situation alimentaire et nutritionnelle de la population est marquée par la malnutrition protéino-énergétique chez les enfants de 0 à 5 ans et les carences en micro-nutriments qui touchent toutes les couches de la population. Parmi les stratégies mises en œuvre pour lutter contre la malnutrition, l'approche alimentaire constitue la stratégie la plus porteuse d'espoir en raison de son caractère durable.

L'aliment de base au Bénin est constitué par les céréales. Or les produits céréaliers sont connus dans leur composition actuelle comme pauvres en fer. L'utilisation biologique du fer est en outre réduite par les facteurs anti-nutritionnels dont les phytates. Il existe cependant des techniques visant à restituer ou à enrichir en micronutriments les aliments quotidiennement consommés.

Plusieurs travaux ont été effectués dans divers pays sur la fortification de la farine sèche (environ 12% d'humidité) de céréales¹. Aucune étude n'a été documentée sur la fortification de la farine humide (environ 40% d'humidité) et fermentée de céréales. Et pourtant, les produits fermentés de céréales occupent une place importante dans l'alimentation des populations. En effet, une étude réalisée à Cotonou, ville cosmopolite et capitale économique du Bénin, a montré que près de 45% du maïs transformé dans cette ville est consommé sous forme de produits fermentés². La présente étude a donc pour objectif de s'inspirer des technologies existantes de fortification de farine pour développer une technologie de fortification de la farine fermentée de maïs (*mawè*) à l'échelon villageois, et d'évaluer l'acceptabilité des produits dérivés.

MÉTHODOLOGIE

L'étude a été réalisée en 4 étapes décrites ci-dessous:

La phase d'enquête: caractérisation des ménages et identification des pratiques de transformation et de consommation du maïs dans la zone d'intervention

Sur la base d'un recensement exhaustif de tous les ménages, une enquête par questionnaire a été réalisée dans 60 ménages choisis au hasard dans 3 villages (Gbannavè, Agbédranfo et Totchangni) de la commune de Dogbo (Département du Couffo), à raison de 20 ménages par village. Des informations ont été recueillies sur la taille des ménages, les variétés de maïs utilisées, les quantités de maïs périodiquement transformées, les diagrammes de production du *mawè*, etc.

La caractérisation physico-chimique du maïs, du *mawè* et des produits dérivés

Suite à l'enquête précédente, au total 3 échantillons de 5 variétés de maïs, 11 échantillons de *mawè*, 2 de *makumè* (pâte cuite à base de *mawè*) et 2 d'*aklui* (bouillie granulée à base de *mawè*) ont été collectés au niveau de quelques ménages pour être analysés. Les échantillons de grains de maïs collectés ont été moulus à l'aide d'un moulin RETSCH de type ZMI (Retsch GmbH et Co.KG, Haan, Allemagne),

mis dans des sachets étiquetés puis gardés dans un dessiccateur à la température ambiante. Le *mawè*, le *makumè* et l'*aklui* ont été conservés dans un congélateur à -18°C pour être analysés ultérieurement, après décongélation à 4°C. Le prélèvement des échantillons a été fait à l'aide d'une spatule en matière plastique afin d'éviter toute contamination éventuelle en fer.

L'analyse physique des échantillons a consisté en la mesure de la couleur des farines avec un colorimètre Minolta CR-210b. L'appareil a été étalonné avec une céramique blanche de référence dont les coordonnées de couleur sont: X = 0,315; Y = 94,8 et Z = 0,3324. Les coordonnées utilisées pour la détermination de la couleur sont L* (luminance), a* (saturation en rouge), b* (saturation en jaune) et ΔE qui est la différence totale de couleur par rapport à la céramique blanche de référence (illuminant D65; CIE 1976).

Les analyses chimiques réalisées en double, ont porté sur la détermination de la teneur en fer, en eau, en protéines, en lipides et en cendres par les méthodes AACCS³, respectivement 40-41A; 44-15A; 46-11A; 30-25 et 08-01 (1983), la mesure du pH et de l'acidité titrable par la méthode de Nout et al.⁴, la détermination de la teneur en phytates par la méthode colorimétrique modifiée de Makover⁵ et Van Veldhoven⁶ et décrite par Zeder⁷, le dosage des fibres brutes par la méthode décrite par Voogt et Osborne⁸, la détermination de la teneur en glucides par différence.

L'évaluation de l'effet du décortiquage et de la fermentation sur la teneur en fer et en phytates du *mawè*

Du *mawè* a été obtenu, à l'issue de trois préparations par une productrice expérimentée, à partir du maïs (variété *Gbogboué*) suivant le diagramme technologique donné sur la figure 1 et correspondant à la pratique la plus courante de production dans la zone d'intervention. Le fer et les phytates ont été dosés sur le maïs entier, le griz (fragment de maïs décortiqué) et le *mawè* à 0 heure de fermentation puis les phytates seuls sur le *mawè* à 12h, 24h, 48h, 72h, 5 jours, 7 jours et 10 jours de fermentation.

Les essais de fortification

Méthode de fortification:

Le choix de la forme chimique de fer la plus adaptée a été fait en testant quatre sels de fer (sulfate ferreux, gluconate ferreux, fumarate ferreux et NaFeEDTA), puis deux types de prémix (celui au fer réduit et vitamines ou N-Richment type 40 code 585 et celui au sulfate ferreux et vitamines ou N-Richment type 540 code 588)⁹. Dans tous les cas, les sels de fer ou les prémix sont d'abord dilués avec de la farine sèche de maïs décortiqué et le mélange homogène obtenu est ensuite ajouté à la farine humide de maïs décortiqué (environ 40% d'humidité) avant d'être pétri et mis en fermentation après ajout d'eau jusqu'à 45% de teneur en eau. La quantité de chaque constituant utilisé est déterminée suivant les principes suivants:

- La quantité moyenne de maïs consommée par jour par un individu est de 300 g (bs). Avec un rendement en *mawè* de 78%, 300 g de maïs donneront 234 g de *mawè* (bs).
- L'apport journalier en fer recommandé¹⁰ pour le fer est de 30 mg pour les femmes enceintes et allaitantes (tranche d'âge dont le besoin est le plus élevé). On suppose qu'on apporte le tiers de cet apport journalier, soit 10 mg de fer supplémentaire pour 234g de matière sèche de *mawè* par jour et par individu à travers la fortification.

- La fortification est testée sur la quantité de *mawè* obtenue à partir de 3 kg de maïs (quantité moyenne régulièrement amenée au moulin par chaque ménage), soit 2,34 kg de matière sèche de *mawè*. En conséquence, le prémix est prélevé de manière à apporter 100 mg de fer à 2,34 kg de matière sèche de *mawè*.

Le tableau 1 précise les quantités des différents sel de fer ou prémix utilisées pour 2,34 kg de matière sèche de *mawè*. L'excipient utilisé est de la farine de maïs décortiqué à environ 12% d'humidité. La quantité d'excipient utilisée pour chaque prémix (type 540 ou 40) a été déterminée en tenant compte du rapport de dilution indiqué dans les spécifications données par le fabricant⁹. Pour le sulfate de fer et le fumarate de fer, elle a été déterminée en utilisant un pourcentage d'incorporation voisin de 0,06%, comparable à celui généralement utilisé pour les essais sur la farine sèche¹. Compte tenu du faible taux de fer dans le gluconate de fer et le NaFeEDTA, la quantité d'excipient utilisée a été calculée sur la base d'un taux d'incorporation de 0,13% (tableau 1).

Tableau 1: Quantité de chaque composé et d'excipient à incorporer pour obtenir 100 mg de fer dans 1 kg de matière sèche de *mawè*.

Composé	Pourcentage de fer	Quantité de sel ou de prémix à prélever (en g)	Quantité d'excipient (g)	Quantité de prémix dilué (en g) à rajouter à 1kg de matière sèche de <i>mawè</i>
Sulfate de fer	30	0,142	0,627	0,769
Fumarate de fer	33	0,129	0,640	0,769
Gluconate de fer	14	0,305	1,404	1,709
NaFeEDTA	12	0,356	1,353	1,709
Prémix au sulfate de fer (type 540)	12	0,356	2,492	2,848
Prémix au fer réduit (type 40)	24	0,178	2,676	2,854

Evaluation sensorielle

Pour évaluer les modifications de couleur, d'odeur et de goût dans les différents *mawè* fortifiés par rapport au témoin, des préparations standardisées de *makumè* (pâte cuite) issues de chaque type de *mawè* fortifié ont été soumises à deux tests d'évaluation sensorielle¹¹:

- les échantillons fortifiés avec les sels de fer ont été analysés par le scoring test avec 17 dégustateurs;
- les échantillons fortifiés avec les prémix de types 40 et 540 ont été soumis à un test de comparaison par paire avec le *mawè* témoin, et 21 dégustateurs connaissant bien le produit.

Pour chaque produit, la dégustation a été faite en deux sessions, l'une avec du *makumè* issu de *mawè* de 24 heures de fermentation et l'autre avec du *makumè* issu du *mawè* de 72h de fermentation.

Etude de l'effet de la fortification sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du *mawè*

Les teneurs en fer et phytates ainsi que le pH des produits ont été déterminés sur les échantillons après différentes durées de fermentation comme décrits ci-dessus.

Les bactéries lactiques, les levures et moisissures et les entérobactéries ont été analysées suivant les méthodes décrites dans une étude précédente¹².

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel statitcf (ITCF, Boigneville, France).

L'analyse de variance et le test de Newman & Keuls ont été utilisés pour comparer les moyennes.

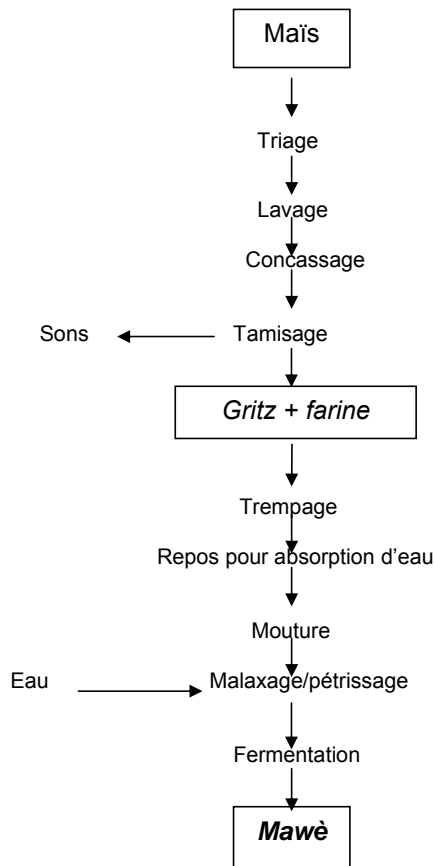


Figure 1: Diagramme courant de fabrication du *mawè* dans la région d'étude.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Caractérisation des ménages et identification des pratiques de transformation et de consommation du maïs dans la zone d'intervention

Le maïs joue un rôle important dans la consommation alimentaire des habitants des trois villages. Quatre variétés de maïs sont consommées à savoir: *gbogboué*, *djongbo*, *DMR* et *gbali*. La variété *gbogboué* serait la plus consommée (70% des répondants), suivie de *gbali* (environ 17%), *DMR* (3%) et *djongbo* (environ 2%).

Environ 8% des unités de consommation font le mélange des différentes variétés. Les déterminants du choix de la variété de maïs sont, soit la possibilité d'obtenir une pâte extensible (environ 28% des répondants), soit la résistance de la variété aux attaques des insectes au cours de la conservation (27%). Les autres raisons, plus rarement citées, sont la courte durée du cycle végétatif (12%) et la préférence pour le caractère farineux des grains (7%). Les unités de consommation ont une taille variant entre 2 et 12 personnes avec une moyenne de 6 personnes.

Par ailleurs, la quantité moyenne de maïs sec quotidiennement transformée par unité de consommation est de 0,8 otoca (unité locale de mesure correspondant à 1,5 kg de maïs), soit 1,2 kg, en période d'abondance et de 0,75 otoca (1,12 kg) en période de soudure. Environ 27% des unités de consommation produisent régulièrement du *mawè* pour leur consommation.

Quatre diagrammes technologiques de production de *mawè* ont été identifiés dans la région. Le plus fréquemment utilisé (plus de 80% des ménages) est décrit sur la figure 1.

La caractérisation physico-chimique du maïs, du *mawè* et des produits dérivés

Les teneurs en protéines (8 à 11,6%), en lipides (4,9 à 5,6%), en cendres (1 à 1,6%), en fibres brutes (1,4 à 1,8%) et en glucides des variétés de maïs collectées dans la zone d'intervention (tableau 2) sont proches de celles données par la FAO¹³. Les variétés *gbali*, *djakpé* (variété non citée lors des enquêtes, mais collectée sur le marché local) et *DMR* ont les plus faibles teneurs en fer tandis que les variétés *djongbo* et *gbogboué* ont les plus fortes teneurs en fer: 4,6 mg et 6,3 mg / 100g respectivement. Le *gbogboué* et le *djakpé* sont les variétés les plus riches en phytates (749 et 728 mg/100g, respectivement). Les taux obtenus dans le *DMR* et le *djongbo* sont également élevés (625 et 632 mg/100g, respectivement). Ces résultats sont proches de ceux d'autres auteurs¹⁴ qui ont trouvé que la teneur en phytates de la farine de maïs blanc est de l'ordre de 710 mg/100g.

Les teneurs en protéines, en lipides, en cendres et en fibres du *mawè*, du *makumè* et de l'*aklui* sont similaires d'un produit à l'autre, mais plus faibles que celles observées sur le maïs entier (tableau 3). La très grande variabilité observée au niveau des teneurs en nutriments du *mawè* et des produits dérivés serait due d'une part à la variabilité de la composition chimique des variétés de maïs utilisées et d'autre part, à la diversité des méthodes de transformation du maïs en *mawè* au niveau des ménages. Le pH plus élevé et l'acidité titrable plus faible des produits dérivés du *mawè* seraient dus à la perte de certains acides organiques lors de la cuisson. Les faibles teneurs en fer et en phytates du *mawè*, du *makumè* et de l'*aklui* (tableau 3) comparées à celles du maïs (tableau 2) s'expliqueraient par le décorticage subi par les grains de maïs. Les variétés *djongbo* et *gbogboué*, communément appelées «variétés jaunes» dans la région, ont effectivement les indices de saturation en jaune les plus élevés (b* égal à 10,9 et 11,2 respectivement, tableau 4). En se basant sur la

différence totale de couleur (ΔE), le *gbali* est la variété la plus blanche ($\Delta E = 15,7$) alors que le *gbogboué* est la variété la plus colorée ($\Delta E = 20,7$).

Tableau 2: Composition chimique des différentes variétés de maïs collectées (Moyenne et écart type).

Echantillon	TMS [*]	Lipides (%bs)	Protéines (%bs)	Cendres (%bs)	Fibres brutes (%bs)	Glucides (%bs) ^{**}	Fer (mg/100g bs)	Phytates (mg/100g bs)
<i>Gbogboué</i> (n=3)	89,3±0,07	5,61±0,01	10,8±0,08	1,51±0,05	1,47±0,05	80,59	6,26±0,03	750±29
DMR (n=3)	87,5±0,09	5,37±0,03	10,1±0,04	1,13±0,07	1,84±0,06	81,52	2,65±0,03	624,6±1,7
<i>Gbali</i> (n=3)	86,7±0,07	4,9±0,08	8,75±0,12	1,05±0,04	1,47±0,06	83,83	1,54±0,14	386,1±1,3
<i>Djongbo</i> (n=3)	91,5±0,04	5,05±0,06	11,6±0,02	1,57±0,02	1,4±0,04	80,42	4,58±0,06	632±79
<i>Djakpé</i> (n=3)	86,3±0,03	4,92±0,05	7,98±0,02	1,44±0,03	1,68±0,03	83,98	1,58±0,06	728±43

^{*} TMS = Teneur en matière sèche; ^{**} Glucides: déterminés par différence.

Tableau 3: Composition chimique du *mawè* et des produits dérivés collectés dans la zone d'étude.

Echantillons	TMS [*]	pH	Acidité titrable (% acide lactique)	Lipides (%bs)	Protéines (%bs)	Cendres (%bs)	Fibres brutes (%bs)	Glucides (%bs) ^{**}	Fer (mg/100 g bs)	Phytates (mg/100 g bs)
<i>Mawè</i> (n=11)	47,9±5,0	4,0±0,6	1,6±0,1	1,4±0,3	8,9±1,1	1,0±0,4	1,5±0,5	85,6±1,7	3,0±0,6	450±191
<i>Makumè</i> (n=2)	23,1±0,4	4,3±0,4	1,0±0,1	1,3±0,4	10,0±0,0	0,7±0,0	1,6±0,4	85,4±0,8	2,5±0,1	442±5,9
<i>Aklui</i> (n=2)	10,6±0,4	4,4±0,6	0,8±0,4	1,4±0,4	9,2±1,7	0,7±0,0	1,2±0,0	86,8±1,6	2,9±0,2	438±19

^{*} TMS = Teneur en matière sèche; ^{**} Glucides: déterminés par différence.

Tableau 4: Coordonnées de couleur des différentes variétés de maïs.

Echantillons	L*	A*	b*	ΔE
<i>Gbogboué</i>	85,5 ± 0,1	-2,3 ± 0,1	11,2 ± 0,1	20,7 ± 0,2
<i>Gbali</i>	88,9 ± 0,1	-0,9 ± 0,1	7,7 ± 0,1	15,7 ± 0,1
<i>Djakpé</i>	84,5 ± 0,3	0	4,9 ± 0,1	16,8 ± 0,3
DMR	86,9 ± 0,0	-0,9 ± 0,1	8,3 ± 0,1	16,9 ± 0,1
<i>Djongbo</i>	90,7 ± 0,1	-2 ± 0,1	10,9 ± 0,0	16,7 ± 0,0

L* = Paramètre de luminosité - a* = Indice de saturation en rouge - b* = Indice de saturation en jaune
 ΔE = Différence totale de couleur par rapport à la céramique blanche de référence.

Effet du décorticage et de la fermentation sur la teneur en fer et en phytates du *mawè*

La teneur en fer est réduite de manière significative par le décorticage, en passant de 6,1 mg/100g (bs) dans le maïs à 3,4 mg/100g dans le gritz, soit une réduction de 44%. En revanche, elle ne change pas de manière significative dans le *mawè*. Le décorticage réduit de manière significative la teneur en phytates du maïs qui passe de

0,60 à 0,42 g/100g (tableau 5), soit une réduction de 30%. L'effet de la fermentation sur la teneur en phytates n'est significatif qu'à partir de 24 h de fermentation (- 20%). La baisse de la teneur en phytates après 10 jours de fermentation n'est pas significativement différente de celle obtenue après 24 h. Au total, le décorticage et la fermentation en 24h induisent une réduction de la teneur en phytates d'environ 45%.

Tableau 5: Teneurs en fer et en phytates du maïs entier, du gritz et du *mawè* après différentes durées de fermentation.

	TMS [*] (%)	Fer (mg/100g bs)	Phytates (g/100g bs)
Grains entiers (variété <i>Gbogboué</i>)	88,03 ± 0,18	6,12 ± 0,61 (a) **	0,60 ± 0,01 (a)
Gritz	61,22 ± 0,52	3,40 ± 0,03 (b)	0,42 ± 0,04 (b)
<i>Mawè</i> 0h	53,43 ± 0,02	2,84 ± 0,22 (b)	0,42 ± 0,03 (b)
<i>Mawè</i> 12h	53,02 ± 0,17	-	0,37 ± 0,02 (bc)
<i>Mawè</i> 24h	52,37 ± 0,04	-	0,33 ± 0,02 (cd)
<i>Mawè</i> 10jours	50,52 ± 0,37	-	0,29 ± 0,03 (d)

Teneurs déterminées sur 2 échantillons (n=2)

^{*} TMS = Teneur en matière sèche.

** (a b c et d): Les valeurs de la même colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au niveau 5%.

Effet de la fortification au sulfate ferreux sur le développement de la microflore

La fortification au sulfate de fer semble avoir induit une augmentation significative de la charge de bactéries lactiques sur le *mawè* fortifié, notamment après 12h de fermentation (tableau 6). En revanche, les levures et moisissures et les entérobactéries ne sont pas affectées par la fortification. La charge des entérobactéries décroît progressivement lorsqu'on passe de 0 h à 72 h de fermentation quel que soit le type de *mawè*. Ceci est conforme aux résultats de travaux précédents sur le *mawè*¹².

Tableau 6: Dénombrement des bactéries lactiques, des levures et moisissures et des entérobactéries (en LogCFU/g) dans le *mawè* témoin et le *mawè* fortifié au sulfate ferreux après différentes durées de fermentation.

Type de <i>mawè</i>	Bactéries lactiques (LogCFU/g)			Levures et moisissures (LogCFU/g)			Entérobactéries (LogCFU/g)		
	0h	12h	72h	0h	12h	72h	0h	12h	72h
<i>Mawè</i> témoin	6,6a	9,4a*	9,4a	6,1a	9,1a	9,1a	3,7a	2,6a	1,4a
<i>Mawè</i> fortifié	7,1a	10b	9,7a	6,2a	9,2a	9,3a	3,8a	2,7a	1,4a

Les valeurs de la même colonne portant des lettres différentes sont significativement différentes (P < 0,05).

L'apport de sel n'a pas d'effet significatif sur le pH du *mawè* fortifié: pour les deux types de *mawè*, on observe que de 0 à 24 h de fermentation, le pH diminue, mais qu'à partir de 24 h il ne change plus de manière significative jusqu'à 72 h (tableau 7).

Tableau 7: Comparaison de l'évolution du pH et de la teneur en phytates en fonction de la durée de fermentation dans le *mawè* témoin et le *mawè* fortifié au sulfate ferreux.

Durée de fermentation	PH		Teneur en phytates (g/100g bs)	
	<i>Mawè</i> témoin	<i>Mawè</i> fortifié au sulfate ferreux	<i>Mawè</i> témoin	<i>Mawè</i> fortifié au sulfate ferreux
0 heure	5,86 ± 0,07 (a)	5,77 ± 0,14 (a)	-	-
24 heures	3,76 ± 0,04 (b)	3,75 ± 0,07 (b)	0,35 ± 0,02 (a)	0,40 ± 0,03 (a)
48 heures	3,75 ± 0,01 (b)	3,71 ± 0,00 (b)	-	-
72 heures	3,64 ± 0,04 (b)	3,62 ± 0,06 (b)	0,35 ± 0,03 (a)	0,31 ± 0,00 (a)

(a et b): Les valeurs relatives à chaque caractéristique (pH ou teneur en phytates) et portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à 5%.

Teneur en fer du *mawè* fortifié

L'utilisation pour la fortification du prémix au fer réduit de type 40 ou du prémix au sulfate ferreux de type 540 se traduit par une teneur en fer de, respectivement, 7,9 et 9,0 mg/100g dans le *mawè* fortifié contre 3,0 mg/100g dans le *mawè* témoin (tableau 8). Ainsi, la consommation de 300 g de maïs (soit 234 g de *mawè* en base sèche) apporterait en moyenne à l'organisme 11,5 mg si on utilise le prémix au fer réduit et 14,04 mg de fer supplémentaire si on utilise le prémix au sulfate ferreux.

Tableau 8: Teneur en fer (mg / 100 g bs) des 3 types de *mawè*.

Durée de fermentation (h)	Types de <i>mawè</i>		
	Témoin	Fer réduit type 40	Sulfate de fer type 540
<i>Mawè</i> de 0h	3,0 ± 0,0 a	7,9 ± 0,0 b	9,0 ± 0,7 b
<i>Mawè</i> de 72h	-	-	8,7 ± 1,6 b
<i>Mawè</i> de 72h après lavage	-	-	9,0 ± 0,8 b

(a et b): les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes à 5 %.

Evaluation des changements organoleptiques après fortification

Le sulfate ferreux, le gluconate de fer et le fumarate de fer n'entraînent pas de changement perceptible de couleur du *mawè* fortifié, à 24h ou à 72h, contrairement au NaFeEDTA dont le *mawè* a une couleur significativement différente après 72h de fermentation (tableau 9).

Tableau 9: Comparaison de la couleur du *mawè* témoin et des *mawè* fortifiés avec différents sels de fer.

	Témoin	Sulfate	Gluconate	Fumarate	NaFeEDTA
24 heures	0,0	0,05 ± 0,92	-0,2 ± 0,95	-0,5 ± 1,0	0,5 ± 1
72 heures	0,0	-0,1 ± 0,83	-0,2 ± 0,87	0,0 ± 0,89	1,24 ± 1,18
Moyenne	0 (a)	-0,03 (a)	-0,2 (a)	-0,25 (a)	0,87 (b)

(a et b): Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0,05).

De tous les types de *mawè*, celui au sulfate ferreux est le plus proche du témoin. En ce qui concerne l'odeur, les analyses statistiques révèlent une différence significative uniquement pour le type de sel de fer, mais non pour la durée de fermentation ou l'interaction des 2 facteurs (tableau 10).

Tableau 10: Comparaison de l'odeur du *mawè* témoin et des *mawè* fortifiés avec différents sels de fer.

	Témoin	Sulfate	Gluconate	Fumarate	NaFeEDTA
24 heures	0,0	0,19 ± 0,75	0,1 ± 0,72	0,1 ± 0,25	-0,25 ± 0,85
72 heures	0,0	0,05 ± 0,59	0,33 ± 0,73	-0,38 ± 0,74	-0,57 ± 0,68
Moyenne	0 (ab)	0,12 (ab)	0,22 (b)	-0,14 (ac)	-0,41 (c)

(a, b et c): Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0,05).

Le *mawè* témoin, le *mawè* fortifié au sulfate ferreux et celui fortifié au fumarate de fer ne sont pas significativement différents entre eux; Pour le goût (tableau 11), seul le *mawè* au NaFeEDTA possède une valeur différente du témoin et des autres. Par ailleurs, tous les dégustateurs ont signalé qu'à 72 h de fermentation, l'*akassa* fortifié obtenu confère une sensation d'acidité très élevée quel que soit le type de sel utilisé. En définitive, le sulfate ferreux est le sel qui préserve le mieux les caractéristiques organoleptiques du *mawè* fortifié et le rapproche donc du témoin.

Tableau 11: Comparaison du goût du *mawè* témoin et des *mawè* fortifiés avec différents sels de fer.

	Témoin	Sulfate	Gluconate	Fumarate	NaFeEDTA
24 heures	0,0	0,0 ± 0,77	0,1 ± 0,85	-0,25 ± 0,79	-0,55 ± 0,76
72 heures	0,0	0,19 ± 0,6	0,0 ± 0,55	-0,24 ± 0,83	-0,57 ± 0,6
Moyennes	0(a)	0,10 (a)	0,05 (a)	-0,25 (a)	-0,56 (b)

(a et b): Les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0,05).

Le test de comparaison par paire organisé pour apprécier l'effet de l'utilisation du prémix à base de sulfate de fer type 540 sur les caractéristiques organoleptiques du *mawè* fortifié après 24 heures de fermentation confirme que l'utilisation de prémix à base de sulfate de fer ne modifie pas de manière perceptible les caractéristiques organoleptiques du *mawè*. Une conclusion similaire peut être faite en ce qui concerne le prémix à base de fer réduit (type 40), mais les valeurs obtenues pour la couleur et le goût sont à la limite du seuil de différence (résultats non présentés).

CONCLUSION

La variété de maïs la plus consommée dans la région d'étude (*Dogbo*) est le *gbogboué*. Parmi les formes de consommation du maïs rencontrées, le *mawè*, bien que n'occupant pas la première place, est connu et bien consommé. La fortification en fer de cet aliment et la vulgarisation du *mawè* fortifié sont susceptibles de contribuer significativement à l'amélioration du statut en fer des populations. La fortification peut se faire soit par l'utilisation de sels de fer soit par l'utilisation de prémix (mélange de fer et vitamines). Dans tous les cas, la forme de fer la plus appropriée pour la fortification du *mawè* est le sulfate ferreux.

RÉFÉRENCES

1. Maziya-Dixon B. Background paper on cereal grain. Ibadan, Nigeria: International Institute of Tropical Agriculture, 1998.
2. Hounhouigan DJ. Fermentation of maize (*Zea mays L.*) meal for *mawè* production in Bénin. Physical, chemical and microbiological aspects. PhD thesis. The Netherlands: Wageningen Agricultural University, 1994.
3. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the AACC. 8th ed. St Paul, Minnesota, USA: AACC, 1983.
4. Nout MJR, Rombouts FM, Havelaar A. Effect of accelerated natural lactic fermentation of infant food ingredient on some pathogenic microorganisms. Int J Food Microbiol 1989;8:351-61.
5. Makover R.U. Extraction and determination of phytic acid in beans (*Phaseolus vulgaris*). Cereal Chem 1970;47:288.
6. van Veldhoven, Maannaerts GP. Inorganic and organic phosphate measurements in the nanomolar range. Anal Biochem 1987;161:45.
7. Zeder C. Détermination de la teneur en acide phytique des aliments. Suisse: Laboratoire de Nutrition Humaine, ETH- Zürich, 1998.
8. Osborne DR, Voogt P. The Analysis of Nutrients in Foods. London: Academic Press, 1978:151-3.
9. AIC Canada. Product information. Flour service division. Ontario, 2003.
10. Anonyme. Recommended dietary allowance. USA: National Academy of Sciences, 1997.
11. Bainbridge Z, Tomlins K, Wellings K, Westby A. Methods for assessing quality characteristics of non-grain starch staples. Part 4, Advanced Methods. Chatman, UK: Natural Resources Institute, 1996:43-78.
12. Hounhouigan DJ, Nout MJR, Nago CM, Houben JH, Rombouts FM. Microbiological changes in *mawè* during natural fermentation. World J Microbiol Biotechnol 1994;10(4):410-3.
13. FAO. Table de composition des aliments à l'usage de l'Afrique. Rome: FAO, 1970.
14. Hotz C, Gibson RS. Assessment of home-based processing methods to reduce the phytate content and phytate/zinc molar ratio of white maize (*Zea mays*). J Agric Food Chem 2001;49:692-8.

Enrichissement protéique de l'*attiéké* (semoule à base de manioc): comparaison de deux sources protéiques, *Saccharomyces cerevisiae* et *Voandzeia subterranea* (pois de terre)

Essia Ngang Jean-Justin^{1,3*}, Kouebou Christiant P²,
Djouilde Darman Roger³

¹ Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé B.P. 79 Yaoundé, Cameroun.

² Unité de Recherche en Technologie Agro-Alimentaire, Institut de Recherche Agricole pour le Développement, Station polyvalente de Garoua, B.P. 415 Garoua, Cameroun.

³ Laboratoire de Microbiologie, Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro-Industrielles, B.P. 455 Ngaoundéré, Cameroun.

*Auteur correspondant: essia_ngang@yahoo.fr

- Résumé -

Principale source d'énergie des populations de l'Afrique subsaharienne, le manioc est consommé sous différentes formes parmi lesquelles l'*attiéké* qui fait de plus en plus partie des habitudes alimentaires des populations d'Afrique occidentale et centrale. Les racines de manioc étant caractérisées par leur faible teneur en protéines, la recherche de nouvelles sources protéiques reste l'une des alternatives de lutte contre la malnutrition protéino-énergétique en Afrique. C'est dans cette perspective qu'une étude de l'amélioration de la valeur protéique de l'*attiéké* a été entreprise par substitution partielle du manioc par une source protéique d'origine végétale ou microbienne. Pour ce faire, les racines de manioc épluchées, lavées, râpées et pressées sont mélangées à une partie de pois ou de levures avant roulage. Les taux de substitution de manioc par chaque source protéique sont respectivement de 0, 5, 10, 15, 20 et 25%. Les produits obtenus sont évalués pour leurs qualités organoleptiques dont la couleur, l'odeur, le goût et l'acceptabilité générale. Ceux-ci sont ensuite séchés à l'étuve à 50°C et analysés pour leur composition chimique (teneur en protéines, cendres) et leurs propriétés fonctionnelles (solubilité des protéines, absorption d'eau et gonflement). Jusqu'à 10% du taux de substitution des deux sources protéiques, les produits sont bien acceptés et aucune différence significative des qualités sensorielles n'est observée par rapport au témoin. Au-delà de cette valeur, les produits enrichis de levures sont peu appréciés notamment pour leur couleur et leur odeur. Cette moins bonne appréciation n'est observée qu'à partir de 20% de substitution pour les produits enrichis en pois, et ceci pour leur goût. Les produits les mieux appréciés sont ceux obtenus par substitution de 15% de pois de terre et 10% de levures. Pour des taux de substitution de manioc variant de 0 à 25%, les résultats d'analyses chimiques ont montré une augmentation de la teneur protéique de 2,3 à 10,5% avec *Voandzeia subterranea* et de 2,3 à 11,5 % avec les levures. Une amélioration de la teneur en cendres et des propriétés fonctionnelles a également été observée en fonction de la richesse du produit en protéines. Les résultats sont dans les deux cas meilleurs avec les levures qu'avec le pois de terre.

Mots-clés: Manioc – Qualité nutritionnelle – Protéines – *Saccharomyces cerevisiae* – *Voandzeia subterranea*.

- Abstract -**Protein enrichment of *attiéké* (cassava-based semolina): comparison of two protein sources, *Saccharomyces cerevisiae* and *Voandzeia subterranea* (bambara groundnut)**

Cassava is the main energy source of many populations in sub-Saharan Africa. It is consumed under different forms among which, *attiéké*, a couscous, which is more and more a part of West and central Africa populations' food habits. The cassava roots are characterised by their low protein content. So research of new protein sources remains one of the alternatives to fight against energy protein malnutrition, which is widespread in Africa.

That is why a study on the improvement of *attiéké* protein value has been carried out by substituting partially cassava by vegetable or microbial protein sources. For such purpose, the cassava roots are peeled, washed, grated and pressed, then mixed with a part of Bambara groundnuts or yeasts before the rolling. The rates of cassava substitution by each protein source are respectively 0.5, 10, 15, 20 and 25%. The obtained products are assessed for their organoleptic qualities (i.e., colour, odour, taste, and general acceptability). These ones are then oven dried at 50°C and analysed for their chemical composition (protein and ash contents) and their functional properties (protein solubility, water absorption and swelling). Up to 10% of substitution rate for the two protein sources, the products are well accepted and no significant difference of sensorial qualities is observed compared to the control. Beyond this value the yeast-enriched products are poorly appreciated in particular because of their colour and odour. The poor appreciation is observed only from 20% of substitution for the Bambara groundnut-enriched products because of the taste. The most appreciated products are those, which are obtained by substituting 15% Bambara groundnuts and 10% yeasts to cassava.

From 0 to 25% of cassava roots substitution, chemical analyses have shown an increase of protein content from 2.3 to 10.5% with *Voandzeia subterranea* and from 2.3 to 11.5% with yeasts. Improvement of ash content and functional properties has also been observed according to the protein content of the product. In these two cases the results are better with yeasts than Bambara groundnuts.

Key words: Cassava – Nutritional quality – Protein – *Saccharomyces cerevisiae* – *Voandzeia subterranean*.

INTRODUCTION

Le manioc (*Manihot esculenta* Crantz) constitue l'une des principales sources d'énergie pour des millions de populations africaines. La disponibilité de cette racine tout au long de l'année, en fait un des aliments les plus impliqués dans la recherche de la sécurité alimentaire en Afrique. Seulement le manioc présente trois inconvénients majeurs: la toxicité liée à la présence des composés cyanogénétiques et responsables de troubles neurologiques et métaboliques^{1,2}; la courte durée de conservation entraînant d'énormes pertes post-récolte; la faible teneur en protéines contribuant à la malnutrition protéino-énergétique surtout dans les régions où le manioc représente plus de 60% de l'apport énergétique journalier^{3,4}. Les populations ont développé diverses techniques de transformation artisanales (rouissage, trempage, séchage, grillage...) pour réduire la toxicité et conserver le manioc^{5,6}. Les dérivés fermentés sont parmi les produits courant issus du manioc, les plus connus étant le *fufu*, le *gari*, la *chikwangué*⁷. Il existe également des préparations à base de racines fraîches notamment l'*attiéké*, une semoule très appréciée par les populations d'Afrique occidentale et centrale. Si les deux premières contraintes ci-dessus citées ont pu trouver des solutions par l'expérience des paysans, celle liée à la valeur protéique reste une préoccupation majeure vu la persistance et l'accroissement de la malnutrition protéino-énergétique sur le continent; d'où l'objectif de ce travail qui vise à rechercher de nouvelles sources protéiques.

Parmi les différentes sources protéiques connues, les légumineuses et les microorganismes ont fait l'objet de nombreux travaux d'enrichissement du manioc; le soja, les champignons et lactobacilles occupant une place de choix^{8,9,10}. Peu de travaux ont été réalisés sur l'amélioration des propriétés nutritives de l'*attiéké* et peu d'intérêts ont été portés sur le pois de terre (*Voandzeia subterranea*), légumineuse pourtant dotée par sa composition d'un fort potentiel d'utilisation en tant que supplément nutritif en alimentation humaine^{11,12}. Cette source protéique végétale mérite ainsi d'être valorisée. Dans le présent travail, elle est comparée à une source protéique microbienne; *Saccharomyces cerevisiae*, connue pour la qualité de ses acides aminés et testée sur d'autres dérivés du manioc^{13,14}.

MATÉRIEL ET MÉTHODES**Matériel biologique**

Les racines de manioc (variété locale douce) et les grains secs de pois de terre achetés sur le marché de Ngaoundéré (nord-Cameroun) sont respectivement conservés au réfrigérateur et stockés à la température ambiante du laboratoire. La levure utilisée est une souche de *Saccharomyces cerevisiae* conservée à 4°C sur gélose Sabouraud au chloramphénicol.

Production de la biomasse levurienne

Les colonies de levure sur gélose Sabouraud sont repiquées sur bouillon Sabouraud pendant 24h et le culot est repris dans une solution stérile de NaCl à 9g/l. La biomasse microbienne est ensuite produite en réacteur pendant 24 à 36h par propagation des cellules dans une solution stérile de mélasse de canne à sucre à 2%. En fin de culture, les levures sont récupérées par centrifugation du milieu à 4000tr/min pendant 20 min (centrifugeuse Bioblock Scientifique, France). La biomasse obtenue est lavée trois fois à l'HCl 0,1N et conservée à 4°C.

Production de la pâte de pois de terre

Les pois de terre sont triés puis trempés pendant 5 heures (eau du robinet, 1/3, m/v) afin de faciliter le dépelliculage. Les pois dépelliculés sont étuvés pendant 1 heure à 40°C (étuve Memmert, Allemagne) pour une élimination partielle d'eau puis broyés (broyeur Moulinex; France) et la pâte obtenue conservée au réfrigérateur.

Production d'*attiéké* enrichi en levures et pois de terre

Les racines de manioc frais sont épluchées à l'aide d'un couteau puis lavées à l'eau du robinet. Les racines sont ensuite râpées (râpeuse artisanale) et la pulpe obtenue est pressée (presse à vis MC 2000 AUF 1:7 conçue à l'ENSAI). Le «gâteau» de presse obtenu est scindé en deux lots destinés respectivement aux essais avec les levures et pois de terre. Après substitution du manioc à 0, 5, 10, 15, 20 et 25% m/m, les *attiéké* sont produits par roulage puis cuisson à la vapeur (figure1).

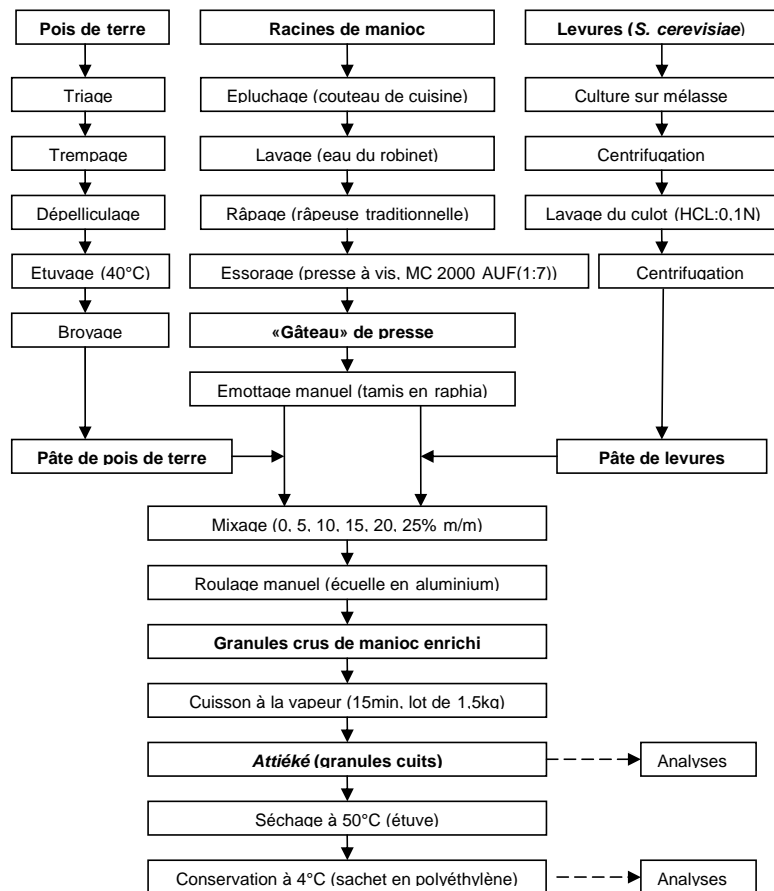


Figure 1: Diagramme général de production d'*attiéké* enrichis aux levures et pois de terre.

Analyse des propriétés physico-chimiques

La teneur en eau des produits est mesurée après dessiccation à 105°C pendant 24h. La teneur en protéines totales est mesurée par spectrophotométrie¹⁵. Les cendres sont déterminées après incinération à 550°C.

Analyse des propriétés fonctionnelles

La capacité de rétention d'eau est évaluée après centrifugation à 2500tr/min de 1g de produit broyé (broyeur Moulinex, France) et mixé à 5ml d'eau distillée¹⁶. L'indice de solubilité des protéines à l'eau est donné par le rapport entre la teneur des protéines solubles et celle des protéines totales¹⁷. Les indices de gonflement des produits dans l'eau distillée froide (25°C) et chaude (85°C) sont évalués selon Okezie et Bello¹⁸.

Analyse sensorielle

Un panel de 20 juges constitués d'enseignants et étudiants de l'ENSAI ayant une expérience de l'évaluation sensorielle est utilisé pour l'analyse. Les échantillons d'*attiéké* cuits (25g), refroidis et codifiés sont servis aux panélistes sans ingrédient additionnel. Les critères de couleur, odeur, goût et acceptabilité générale sont évalués sur une échelle hédonique à 6 points (6 = adore, 1 = déteste).

Analyse statistique

Les opérations sont répétées trois fois, les résultats ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA). Le test de comparaison de Duncan a été appliqué lorsqu'une différence significative ($P < 0,05$) entre les produits a été révélée à travers le logiciel SPSS¹⁹.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Composition physico-chimique des *attiéké*

Le tableau 1 présente la composition physico-chimique des *attiéké*. L'addition de levures ou pois de terre s'accompagne d'une augmentation des teneurs en eau, protéines et cendres respectivement de 2,3 à 11,45%; 6,13 à 10,73% et 1,43 à 2,34%. La hausse de teneur en protéines obtenue en présence de levures est comparable à celle obtenue lors de l'enrichissement protéique du manioc par la fermentation fongique²⁰. La valeur protéique maximale obtenue dans la présente étude (11,47%) reste néanmoins inférieure à celle de 19% obtenue par Zvauya et Muzondo¹⁰. Ceci s'expliquerait par la prolifération de levures dans le produit durant les travaux effectués par ces auteurs. Le résultat obtenu avec le pois est également comparable à celui obtenu par Numfor et Noubi⁹ décrivant une hausse de 7% de protéines après substitution du manioc à 10% par la farine de soja. Malgré des hausses de plus de 200% de la valeur protéique initiale, de meilleurs résultats sont observés avec les microorganismes qu'avec les pois. Ceci s'expliquerait par la forte teneur protéique des cellules microbiennes comparativement à celle des légumineuses; respectivement 50 et 21% de protéines par rapport au poids sec²¹. L'origine du supplément protéique ne semble pas influencer les teneurs en cendres et en eau des produits, aucune différence n'étant observée entre les produits aux levures et pois pour ces deux paramètres. L'augmentation de la teneur en eau consécutive à la hausse du taux de substitution serait probablement due aux propriétés d'hydratation des protéines²¹. L'augmentation des cendres en présence de levures est comparable à celle décrite par Tatsadjeu *et al.*²² lors de l'enrichissement protéique des farines de manioc et maïs par *Saccharomyces cerevisiae*.

Tableau 1: Composition physico-chimique des échantillons d'*attiéké* (g/100g MS)¹.

Substitution (%)	Teneur en eau		Teneur en protéines		Teneur en cendres	
	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois
0	6,16 (0,19) ^e	6,17 (0,11) ^e	2,31 (0,19) ^f	2,31 (0,19) ^f	1,44 (0,17) ^c	1,43 (0,17) ^c
5	7,93 (0,15) ^d	6,65 (0,47) ^d	6,33 (0,41) ^e	5,85 (0,13) ^e	1,47 (0,28) ^c	1,67 (0,14) ^b
10	8,56 (0,18) ^{cd}	8,69 (0,25) ^c	7,76 (0,25) ^d	7,46 (0,30) ^d	1,49 (0,14) ^c	1,85 (0,11) ^b
15	8,97 (0,11) ^{bc}	9,34 (0,32) ^b	9,22 (0,19) ^c	9,03 (0,15) ^c	1,77 (0,11) ^b	2,46 (0,09) ^a
20	9,52 (0,32) ^b	9,46 (0,19) ^b	10,35 (0,39) ^b	9,45 (0,24) ^b	2,32 (0,20) ^a	2,46 (0,11) ^a
25	10,65 (0,83) ^a	10,73 (0,25) ^a	11,45 (0,16) ^a	10,53 (0,14) ^a	2,32 (0,19) ^a	2,34 (0,11) ^a

¹ Moyenne (écart-type) de trois répétitions; abcdef: les moyennes des colonnes suivies de lettres différentes présentent une différence significative (P<0,05) d'après le test de comparaison multiple de Duncan.

Propriétés fonctionnelles des *attiéké*

La figure 2 présente la variation des capacités de rétention d'eau (CRE) et des indices de solubilité des protéines (ISP) des produits. L'augmentation des ISP est proportionnelle au taux de substitution, aucune différence n'est cependant observée entre les CRE des produits contenant aussi bien les levures que les pois à moins de 25% de substitution.

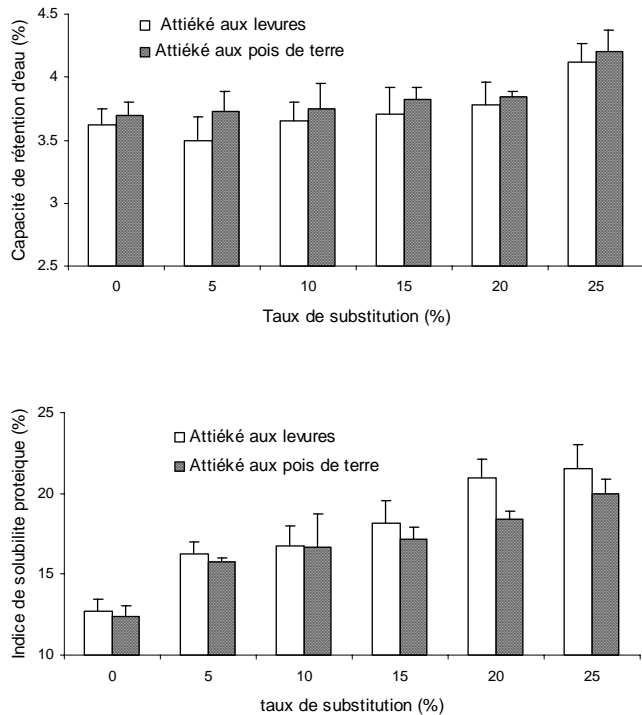


Figure 2: Capacité de rétention d'eau et indice de solubilité des différents *attiéké*.

Les variations des indices de gonflement à froid (IG-25°C) et chaud (IG-85°C) représentées dans la figure 3 montrent également une augmentation de ces paramètres proportionnellement au taux de substitution. Les IG-25°C présentent des valeurs inférieures aux IG-85°C quel que soit le niveau de substitution. A froid, l'augmentation des IG-25°C s'expliquerait par une augmentation du nombre de liaisons polaires capables de fixer les molécules d'eau consécutif à l'accroissement du taux de protéines²¹. Les faibles valeurs des IG-25°C en présence de pois par rapport aux levures semblent renforcer cette hypothèse étant donné les moindres teneurs en protéines des *attiéké* contenant le pois de terre. En milieu aqueux à chaud, les fortes valeurs des IG-85°C seraient dues à une meilleure hydratation de l'amidon gélatinisé sous l'effet de la température; le gonflement des granules d'amidons dépendant du degré d'humidité, de la température et de la nature du substrat^{23,24,25}.

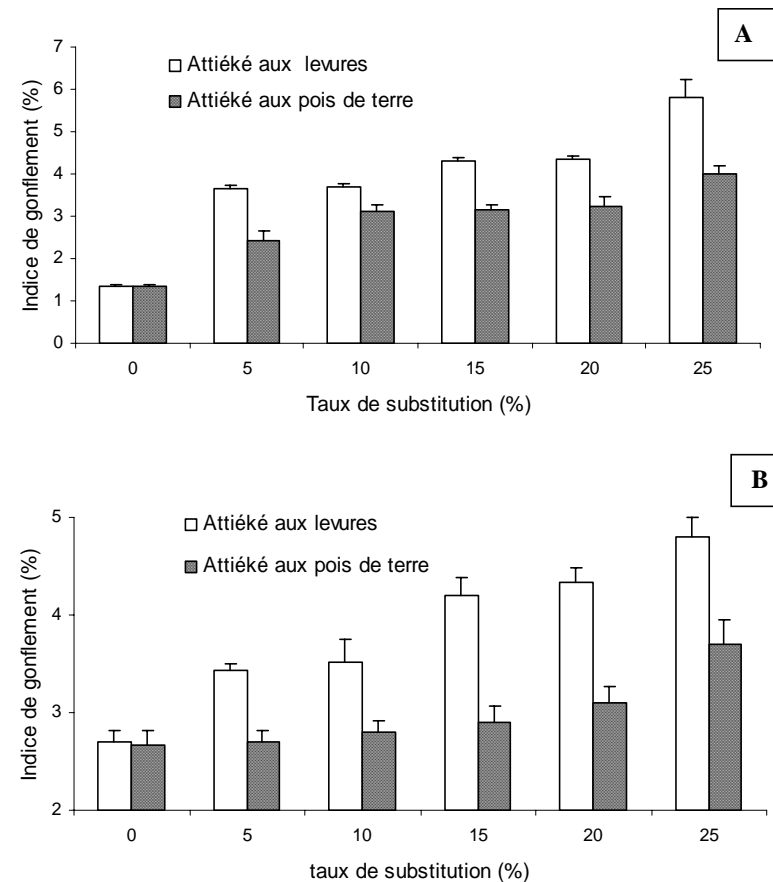


Figure 3: Indices de gonflement à l'eau froide (A) et chaude (B) des différents *attiéké*.

Qualité organoleptique des *attiéké* produits

Les résultats de l'appréciation de la qualité organoleptique des *attiéké* présentés dans le tableau 2 montrent que les produits enrichis aux protéines de levure sont globalement bien appréciés jusqu'à 10% de substitution, leurs couleur, goût et odeur étant comparables au témoin. Au-delà de ce degré de substitution, la couleur et le goût semblent moins attrayants. Pour les produits enrichis aux pois, aucune différence de couleur n'est observée entre les taux de substitution. Par contre l'odeur et le goût sont moins appréciés à partir de 20 % de substitution. Ces *attiéké* enrichis par le pois de terre sont globalement bien acceptés jusqu'à 15% de substitution.

Tableau 2: Notes attribuées par les panélistes aux échantillons d'*attiéké*¹.

Substi-tution (%)	Couleur		Odeur		Goût		Acceptabilité générale	
	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois	<i>Attiéké</i> aux levures	<i>Attiéké</i> aux pois
0	4,4 (0,54) ^a	4,4 (0,54) ^a	4,8 (0,44) ^a	4,8 (0,44) ^a	4,2 (0,44) ^a	4,2 (0,44) ^a	5,0 (0,70) ^a	5,0 (0,70) ^a
5	4,2 (0,83) ^a	4,6 (0,54) ^a	5,0 (0,70) ^a	4,6 (0,54) ^a	4,6 (0,54) ^a	4,0 (0,70) ^a	4,6 (0,54) ^a	5,0 (0,70) ^a
10	4,2 (0,83) ^a	4,4 (0,54) ^a	4,8 (0,44) ^a	4,6 (0,54) ^a	4,4 (0,54) ^a	4,2 (0,44) ^a	4,8 (0,44) ^a	4,6 (0,54) ^a
15	3,4 (0,54) ^{ab}	4,6 (0,54) ^a	2,8 (0,44) ^b	4,0 (0,70) ^b	2,8 (0,44) ^b	4,0 (0,70) ^a	2,8 (0,44) ^b	4,8 (0,44) ^a
20	3,4 (0,54) ^{ab}	4,2 (0,83) ^a	2,0 (0,70) ^b	3,0 (1,00) ^{bc}	2,2 (0,44) ^b	2,8 (0,44) ^{bc}	2,4 (0,89) ^{bc}	3,2 (0,83) ^b
25	2,8 (0,44) ^b	4,4 (0,54) ^a	1,8 (0,44) ^b	2,0 (0,70) ^c	1,2 (0,44) ^c	2,0 (0,70) ^c	1,6 (0,54) ^c	2,4 (0,54) ^c

¹ Moyenne (écart-type) de trois répétitions; abcd, les moyennes des colonnes suivies de lettres différentes présentent une différence significative ($P < 0,05$) d'après le test de comparaison multiple de Duncan.

CONCLUSION

La présente étude montre la possibilité d'améliorer la valeur nutritive de l'*attiéké* dont les quantités de production sont appelées à augmenter en raison de la poussée démographique sur le continent qui entraîne une augmentation de la consommation alimentaire. Bien que l'enrichissement par la levure ait montré une meilleure hausse de la valeur protéique des *attiéké*, ces produits sont moins appréciés au-delà de 10% de substitution pour leurs propriétés organoleptiques. La bonne acceptabilité des produits obtenus avec 15% de substitution du manioc par le pois de terre soit 8,9% de protéines, confirme le potentiel du pois de terre en tant que supplément nutritionnel pour les zones rurales subsahariennes notamment celles à forte prévalence de malnutrition protéine-énergétique. L'évaluation des propriétés hygiéniques et nutritionnelles des produits obtenus (facteurs antinutritifs, acides aminés et minéraux essentiels, vitamines, biodisponibilité des nutriments) reste néanmoins à déterminer afin de satisfaire les attentes des consommateurs et prescriptions des nutritionnistes.

RÉFÉRENCES

- Mlingi NLV, Assey V, Swai A, Mc Larty D, Karle H, Rosling H. Determinants of cyanide exposure from cassava in kunzo-affected population in northern Tanzania. *J Food Sci Nutr* 1993;44:137-44.
- Tylkester T, Banea M, Bikangi N, Poulter N, Cooke R, Rosling H. Cassava cyanogens and konzo, an upper motor neuron disease found in Africa. *Lancet* 1992;339:208-11.
- Diasolua Ngudi D, Kuo YH, Lambein F. Food safety and amino acid balance in processed cassava "Cossettes". *J Agric Food Chem* 2002;50:3042-9.

- Oyewole O, Aibor A. Fermentation of cassava with cowpea and soya bean for enriched *fufu*. *Trop Sci* 1992;33:129-33.
- Amoa-Awua WKA, Appoh FE, Jokobsen M. Lactic acid fermentation of cassava into agbelima. *Int J Food Microbiol* 1996;31:87-98.
- Longue OG. Effect of processing on the chemical composition and energy value of cassava. *Nutr Rep Int* 1980;21:819-28.
- Ofuya CO, Nnajifor C. Development and evaluation of a starter culture for the industrial production of gari. *J Appl Bacteriol* 1989;66:37-42.
- Edem DO, Ayatse JOI, Itam EH. Effect of soy protein supplementation on the nutritive value of gari (farina) from *Manihot esculenta*. *Food Chem* 2001;75:57-62.
- Numfor FA, Noubi L. Effect of full fat soya bean flour on the quality and acceptability of fermented cassava flour. *Food Nutr Bull* 1995;16:241-4.
- Zvauya R, Muzondo MI. Protein enrichment of cassava by solid state fermentation. *Chem Mikrobiol Technol Lebensm* 1993;15:171-4.
- Onimawo IA, Momoh AH, Usman A. Proximate composition and functional properties of four cultivars of bambara groundnut (*Voandzeia subterranea*). *Plant Foods Hum Nutr* 1999;53:153-8.
- Baudoin JP, Mergeai G. Voandzou (*Vigna subterranea* L. Verd). In: Raemaekers RH, ed. Agriculture en Afrique tropicale, Tome 1: Les cultures en Afrique tropicale, légumineuses à graines. Bruxelles: DGCI, 2001:397-401.
- Antai SP. Enrichment of nutrient quality of cassava (*Manihot esculenta*) with microbial proteins. *Plant Foods Hum Nutr* 1990;40:289-96.
- Jespersen L. Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS Yeast Res* 2003;3:191-200.
- Devani MB, Shishoo I, Shah SA, Suhagia BN. Spectrophotometric for the microdetermination of nitrogen in Kjeldahl digest. *J Assoc Offic Anal Chem* 1989;72:953-56.
- Beuchat LR. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour. *J Agric Food Chem* 1977;25:258-61.
- Anderson RA, Conway HF, Pfeifer VF, Griffin EL. Roll and extrusion-cooking of grain sorghum grits. *Cereal Sci Today* 1969;14:372-80.
- Okezie Onuma B, Bello AB. Physico-chemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. *J Food Sci* 1988;53:450-4.
- SPSS. SPSS for windows. Chicago: SPSS Inc, 1993.
- Billard P. Fermentation lactique d'un amidon de manioc enrichi en protéines de levure: application à la conception de nouvelles boissons à caractère nutritionnel, compléments alimentaires pour les pays en voie de développement. Thèse de microbiologie. Grignon, France: INAPG, 1997.
- Cheftel JC, Cuq JL, Lorient D. Protéines alimentaires: Biochimie-Propriétés Fonctionnelles-Valeur nutritionnelle-Modifications chimiques. Paris: Tec & Doc Lavoisier, 1985.
- Tatsadjeu NL, Essia Ngang JJ, Etoa FX, Mbofung CMF. Enrichissement des farines de manioc et de maïs par les protéines d'organismes unicellulaire: effets

sur les propriétés physico-chimiques et biochimiques. Cameroon: Biosciences proceedings, 1999;5:394-9.

23. Moorthy SN, Rickard J, Blanshard JMV. Influence of gelatinization characteristics of cassava starch and flour on the textural properties of some food products. In: Dufour D, O'Brien GM, Rupert Best, eds. Cassava flour and starch: Progress in research and development. Cali: CIAT publication, 1996:151-5.
24. Padmaja G, Balagopalan C, Moorthy SN, Potty VP. *Yuca Rava* and *Yuca* porridge: the functional properties and quality of two novel cassava food. In: Dufour D, O'Brien GM, Rupert Best, eds. Cassava flour and starch: Progress in research and development. Cali: CIAT publication, 1996:323-30.
25. Njintang YN, Mbofung CMF. Kinetics of starch gelatinisation and mass transfer during cooking of taro (*Colocassia esculenta*) slices. Starch 2003;55:170-6.

Effet du blanchiment mécanique sur la qualité technologique, culinaire et nutritionnelle du fonio, céréale d'Afrique de l'Ouest

Fliedel^{1*} Geneviève, Ouattara¹ Maimouna, Grabulos¹ Joël, Dramé² Djibril, Cruz¹ Jean-François

¹ CIRAD-CA, Programme Cultures Alimentaires, Equipe Qualité des Produits commercialisés, TA 70/16, 73 Avenue Jean-François Breton, 34398 Montpellier cedex 5, France.

² IER, Laboratoire de Technologie Alimentaire, BP 258, Bamako, Mali.

*Auteur correspondant: genevieve.fliedel@cirad.fr

- Résumé -

Le fonio, céréale à grains minuscules et vêtus, est encore de nos jours transformé traditionnellement et consommé le plus souvent sous forme de couscous accompagné d'une sauce. Les critères de qualité recherchés par les consommateurs sont la blancheur du grain, le gonflement et la consistance moelleuse. La mécanisation des opérations post-récolte, notamment le décortiquage-blanchiment, peut entraîner des différences de qualités technologique, culinaire et nutritionnelle du fonio blanchi.

Dans le cadre d'un projet financé par le Common Fund for Commodities (CFC) en Guinée, au Mali et au Burkina Faso, l'effet du blanchiment mécanique sur la qualité du blanchiment et le comportement à la cuisson du fonio cuit, a été étudié et comparé à un blanchiment traditionnel au pilon. Plusieurs protocoles d'analyse de la qualité ont été développés au niveau du laboratoire.

Le décortiqueur GMBF, développé dans le cadre du projet, dégerme le grain aussi bien que le pilon: la teneur en lipides du fonio blanchi est respectivement de 1 % m.s. et 0,9 % m.s. Le taux de brisures est même plus faible (0,3 % au GMBF au lieu de 1,9 %). Le taux de gonflement des grains après cuisson est plus élevé après blanchiment au GMBF ou au pilon (182 et 173 g d'eau pour 100 g de fonio cuit b.s.) avec une consistance plus moelleuse (forces d'extrusion plus basses: 38,8 et 42,5 kgf) que pour un produit issu d'un décortiqueur de type abrasif (137 g d'eau pour 100 g et 52 kgf). Le décortiqueur GMBF permet de décortiquer et blanchir le fonio avec des caractéristiques physico-chimiques et culinaires du grain proches de celles du fonio blanchi traditionnellement, ce qui n'est pas le cas d'autres décortiqueurs présents sur le marché.

La valeur nutritionnelle du fonio blanchi est proche de celle d'un riz blanc avec toutefois une teneur plus élevée en soufre et en zinc, même après lavage des grains et élimination totale du sable.

A taux de blanchiment équivalents, des différences de qualité technologique et culinaire ont pu être relevées entre les variétés. La variété Siragué, en provenance de Guinée, qui est l'une des plus appréciées par les consommateurs, se détache des autres avec une capacité de gonflement plus élevée et une consistance plus moelleuse.

Mots-clés: Céréale – Fonio – Qualité technologique – Qualité culinaire – Valeur nutritionnelle.

- Abstract -**Effect of mechanical milling on technological properties, cooking quality and nutritional value of fonio, a West African cereal**

Fonio, a cereal from West Africa with tiny and paddy grains, is still nowadays traditionally processed and most often consumed as a couscous accompanied with a sauce. Quality criteria requested by consumers are whiteness, swelling power and soft consistency of cooked grain. The mechanisation of post-harvest operations, mainly dehulling and milling, may induce differences in technological, cooking and nutritional qualities of milled fonio.

During a project funded by CFC (Common Funds for Commodities) in Guinea, Mali and Burkina Faso, we have studied the effect of the mechanical dehulling on milling and cooking properties of fonio, compared to the traditional pounding. Several analytical procedures were developed at the laboratory level on fonio quality.

The GMBF dehuller, developed during the project, removes the germ as well as by pounding: lipid content of milled fonio is respectively of 1% d.b. and 0.9% d.b. Percentage of brokens is lower (0.3% with GMBF and 1.9%). Swelling power of cooked grains is higher when fonio is milled traditionally and by using GMBF (173 and 182 g of water for 100 g of cooked fonio d.b.) with a softer consistency (lower extrusion forces: 42.5 and 38.8 kgf) than for a product milled with an abrasive dehuller (137 g of water for 100 g d.b. and 52 kgf). GMBF can dehusk and mill fonio with physicochemical and cooking grain characteristics similar to those of a traditionally milled fonio.

Nutritive value of milled fonio is closed to that of milled rice with however a higher content of sulphur and zinc even after washing the grain and removing all the sand.

Differences of technological and cooking qualities were noticed among the varieties analysed, with an equivalent whiteness. The variety Sirague from Guinea, which is one of the most liked by consumers, is far from the others with a higher swelling power and a softer consistency.

Key words: Cereal – Fonio – Technological properties – Cooking quality – Nutritional value.

INTRODUCTION

Le fonio, *Digitaria exilis*, aussi connu sous les noms de acha ou hungry rice, est une des plus petites céréales, considérée comme une céréale mineure, appartenant à l'une des 7 espèces de mil. Cultivé dans l'Ouest africain depuis des temps anciens, sa précocité couplée à sa rusticité en fait une culture de soudure par excellence^{1,2,3}. Son aire de culture se situe entre les 8ème et 14ème parallèles nord, du Sénégal au Lac Tchad¹. Les principaux pays producteurs sont: la Guinée, le Nigeria, le Mali, le Burkina Faso et la Côte d'Ivoire. Aujourd'hui délaissé au profit des autres céréales locales, il doit son abandon à une pénibilité de transformation et de préparation lente et laborieuse, due à la taille minuscule de ses grains. Il véhicule pourtant une connotation valorisante de céréale prisée et rare puisque les plats culinaires dérivés sont très recherchés et appréciés.

Compte tenu de l'intérêt porté au fonio, de sa trop longue durée de préparation et du besoin d'un produit prêt à l'emploi en milieu urbain, des initiatives de mise en place d'unités de production semi-artisanale peu mécanisée ont émergé depuis peu. Parallèlement, des initiatives de conceptions de petits équipements (essentiellement pour le décorticage) ont vu le jour. Par contre, les quelques essais de semi-industrialisation des opérations de décorticage et de pré-cuisson se sont révélés infructueux.

Dans le cadre de la promotion des céréales en Afrique de l'Ouest, le Common Fund for Commodities (CFC) a financé des travaux portant sur l'amélioration des technologies post-récolte du fonio. Ce projet régional, qui a démarré en 1999, est supervisé par la FAO et regroupe les Instituts de Recherche nationaux du Mali (IER), de la Guinée (IRAG) du Burkina Faso (IRSAT) et le CIRAD, qui en est le maître d'œuvre. L'objectif principal de ce projet est de mécaniser toutes les étapes de la transformation du fonio afin:

- de réduire la pénibilité du travail des femmes;
- d'améliorer la qualité du produit fini pour le rendre plus compétitif;
- d'accroître l'offre en produits transformés sur les marchés locaux et à l'exportation;
- de diminuer les coûts de transformation.

Pour atteindre ces objectifs quatre équipes de chercheurs ont été impliquées au CIRAD et dans les trois pays concernés:

- des machinistes pour mettre au point des équipements adaptés aux besoins des petites entreprises ou des groupements villageois;
- des technologues pour étudier la qualité des produits issus des machines;
- des socio-économistes pour réaliser les enquêtes de consommation et des études de marché afin de promouvoir cette céréale;
- des sélectionneurs pour cataloguer les principales variétés.

Objectif de l'étude

Selon les enquêtes de consommation réalisées, les premiers critères de qualité portent sur la blancheur, l'absence de sable, le gonflement à la cuisson et la consistance moelleuse du grain. Il est essentiel que le produit issu des techniques modernes ait au moins les mêmes qualités technologiques, organoleptiques et nutritionnelles que le fonio existant sur les marchés locaux.

L'objectif de cette étude est donc de:

- comparer le blanchiment mécanique et le blanchiment traditionnel du fonio au point de vue qualité du blanchiment, comportement à la cuisson et valeur nutritionnelle;

- caractériser les principales variétés dans chacun des trois pays du projet afin d'identifier la ou les variétés présentant des caractéristiques technologiques et nutritionnelles plus intéressantes que les autres en vue d'une transformation mécanique à l'échelle artisanale.

Démarche suivie

La démarche suivie par les technologues a été la suivante:

- mieux connaître la céréale fonio;
- étudier les technologies traditionnelles de transformation;
- mettre au point des protocoles d'analyse de la qualité des produits;
- analyser la qualité technologique et culinaire des fonios blanchis traditionnellement et des fonios issus des machines;
- déterminer la composition et la valeur nutritionnelle du fonio décortiqué et du fonio blanchi par rapport aux autres céréales (mil, sorgho, maïs, riz);
- identifier les variétés aux caractéristiques technologiques intéressantes.

Morphologie du grain

Le fonio, monocotylédone glumacée de la famille des graminées, genre *Digitaria*, est une céréale vêtue dont le caryopse après battage reste entouré de glumes et de glumelles (balles). Le grain paddy est ovoïde, de très petite taille: 1,5 mm de longueur, 0,9 mm de largeur et le poids de 1000 grains est en moyenne de 0,5 g. Les balles représentent 20-25 % du poids du grain. Le caryopse (grain décortiqué) mesure 1 mm de long et 0,7 mm de large; il est recouvert d'un péricarpe brillant, de couleur claire (jaune) ou foncée (brun) selon les variétés et possède un germe relativement gros et enchâssé. Lors du blanchiment, les parties périphériques du grain sont éliminées (le péricarpe, tout ou partie du germe et très certainement la partie extérieure de l'albumen).

Des études histologiques ont montré que le grain de fonio, comme celui de toutes les autres céréales, possède un germe qui contient l'essentiel des réserves lipidiques et un albumen riche en réserves amylacées, les protéines étant surtout concentrées à la périphérie au niveau de la couche à aleurone avec un gradient de concentration décroissant vers le centre⁴.

Décortiquage et blanchiment traditionnels des grains de fonio

Après le battage, réalisé sur des nattes, des bâches en plastique ou à même le sol, les grains sont séchés au soleil puis stockés dans des greniers en attendant d'être transformés⁵.

Les opérations traditionnelles de transformation du fonio paddy en fonio blanchi effectuées par les femmes⁶ démarrent en général par un nettoyage grossier des grains paddy à l'aide de deux tamis successifs: le premier d'environ 2mm est utilisé pour enlever les grosses particules (pailles, autres grains...) et le deuxième d'environ 1mm pour enlever la poussière, la terre ou les grains immatures.

Le décortiquage et le blanchiment sont réalisés simultanément au moyen de mortiers et de pilons. Cinq pilages successifs suivis chacun d'un vannage sont effectués pour éliminer progressivement les balles, le péricarpe et le germe jusqu'au parfait blanchiment du grain. Le quatrième pilage-vannage correspond au stade auquel le grain est vendu pré-blanchi sur le marché. Les rendements correspondants en pourcentage du paddy sont d'environ 60-68 % après blanchiment complet.

Après le 5^{ème} pilage, commence le lavage du fonio blanchi. Le grain est plongé dans une grandealebasse d'eau et brassé à la main; l'eau sale contenant la poussière et

les sons est éliminée. Cette première opération est répétée cinq fois d'affilée. Ensuite les femmes procèdent à une élimination progressive, minutieuse et totale du sable. Pour cela, elles plongent laalebasse contenant le grain blanchi lavé dans une bassine d'eau propre et commencent par petits mouvements de balancier à faire tomber petit à petit le grain dans l'eau jusqu'à ce que seul le sable reste au fond de laalebasse. Cette opération est reproduite quatre à cinq fois ou plus si nécessaire.

Viennent ensuite les étapes d'essorage et de cuisson du fonio. Les grains sont mis par petites quantités dans un tamis fin ou dans un tissu propre et essorés par mouvements rotatifs du bras ou par torsion du tissu. Le fonio blanchi ainsi lavé et essoré est bien propre, prêt à être cuit à la vapeur ou préparé selon différentes recettes. Il peut être aussi séché ou précuit à la vapeur puis séché et vendu.

Modes de consommation

Le fonio blanchi lavé est traditionnellement cuit trois fois à la vapeur, puis consommé avec une sauce légume, sauce arachide ou sauce gombo. C'est le *foyo* ou couscous de fonio.

Depuis quelques années, certaines transformatrices produisent du fonio précuit, vendu en sachets de 500g ou 1kg dans les supermarchés. Ce fonio est précuit par une cuisson à la vapeur dans un grand couscoussier, puis séché au soleil. A la maison, il est cuit par deux cuissons à la vapeur et consommé comme le *foyo* accompagné d'une sauce.

Le fonio peut être aussi consommé selon d'autres recettes:

- le fonio au gras (fonio blanchi cuit dans de l'huile de palme avec de la viande et des légumes);
- la bouillie de fonio;
- le *tô* de fonio (farine de fonio blanchi cuite sous forme de pâte épaisse);
- le *dégué* de fonio (farine de fonio blanchi roulée sous forme de gros granules précuits, trempés dans de l'eau bouillante) qui peut être délayé dans du lait et consommé au cours du petit déjeuner ou encore sous forme de gâteaux ou beignets.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal

L'étude a été faite sur des fonios en provenance du Mali et de la Guinée:

- deux types de fonio paddy: l'un récolté en l'an 2000 et acheté sur un des marchés de Bamako au Mali (Bamako 2000), l'autre en provenance de la région de Koutiala au Mali et récolté dans le village de Fingoloni en 2001 (Fingoloni 2001);
- deux types de fonio blanchis à partir du paddy Fingoloni 2001, l'un traditionnellement par Mme Soumaré, une transformatrice de Bamako au Mali et l'autre au décortiqueur-blanchisseur GMBF (Guinée-Mali-Burkina-France) développé dans le cadre du projet;
- cinq variétés originaires de Guinée produites en 2001: *Kenselen*, *Siragué*, *Bolefendé*, *Mbalia* et *Rané*;
- un échantillon de sorgho, de mil, de maïs grains entiers et de riz blanchi achetés sur un marché à Bamako, Mali. Le sorgho, le mil et le maïs ont ensuite été décortiqués au pilon.

Préparation et analyse technologique des échantillons de fonio au laboratoire

Tous ces protocoles d'analyse ont été développés dans le cadre du projet CFC.

Le nettoyage des grains paddy

Avant toute opération de décortiquage et blanchiment, le fonio paddy est nettoyé par tamisage en utilisant deux types de tamiseurs selon les quantités de grains disponibles. Dans les deux cas, il est débarrassé des fines impuretés (grains immatures, sable fin) et des grosses particules (paille, graines étrangères, cailloux) grâce à un jeu de deux tamis:

- le tamiseur à courant d'air Alpine type 200LS, utilisé pour les quantités inférieures à 1kg, permet un triage aérodynamique des particules. 100g de fonio sont tamisés 2min sur un tamis de 1000µm pour séparer les grosses particules, le passant est récupéré et tamisé sur un tamis de 710µm qui laisse passer les fines impuretés;
- le nettoyeur-calibreur Tripette et Renaud NSL2000, utilisé pour les quantités supérieures à 1kg, fonctionne en continu. Il est constitué de deux tamis superposés vibrants (tamis supérieur de 1,5mm et tamis inférieur de 1mm) couplés à un système de ventilation (réglée au minimum pour le fonio) et un cyclone.

Le décortiquage des grains de fonio paddy

Il a été effectué avec un décortiqueur de laboratoire à rouleaux de caoutchouc Sataké, habituellement utilisé pour le riz et adapté au fonio. Pour le fonio, les rouleaux de caoutchouc ont été resserrés au contact, la ventilation réglée au minimum, l'alimentation en grains effectuée par lots de 200g. Deux passages des grains ont été nécessaires pour minimiser la quantité de grains paddy dans les grains décortiqués.

Analyse de la qualité du décortiquage:

- le rendement au décortiquage: c'est le pourcentage de la masse des grains décortiqués par rapport à celle des grains paddy pesés au départ;
- le taux de paddy présents: les grains non décortiqués sont séparés manuellement des grains décortiqués à partir d'1g de grains échantillonnés représentatifs de l'ensemble du lot. Le taux de paddy correspond au pourcentage de la masse des grains paddy rapporté à la masse de l'échantillon initial après décortiquage.

Le blanchiment des grains décortiqués

Les grains décortiqués ont été blanchis avec un blanchisseur de laboratoire Sataké habituellement utilisé pour le riz et modifié pour le fonio en réduisant la capacité de la chambre de blanchiment. Le blanchiment se fait par abrasion à l'aide d'une meule abrasive tournant autour d'un axe horizontal dans une cage perforée constituée d'un grillage fin adapté à la taille du fonio. Un blanchiment optimal a été obtenu avec 80g de grains abrasés pendant 1min15 à la vitesse maximale.

Analyse de la qualité du fonio blanchi

Après blanchiment, le produit est tamisé manuellement avec un tamis de 400µm pour éliminer les sons puis avec un tamis de 500µm pour séparer les brisures:

- le taux de brisures correspond à la quantité de brisures récupérées rapportée en pourcentage à la quantité totale de grains blanchis et de brisures;
- le rendement au blanchiment est le pourcentage de la masse des grains blanchis (entiers et brisures) par rapport à celle des grains décortiqués pesés au départ.

Le lavage des grains

Avant cuisson ou analyse biochimique, les grains blanchis ou décortiqués sont séparés des sons, poussières ou sable encore présents par un lavage à l'eau distillée en deux étapes selon la méthode traditionnelle. Les grains sont ensuite étalés sur une serviette et mis à sécher sur la paille à 20-25°C pendant 48h jusqu'à ce que leur teneur en eau avoisine 12%.

La cuisson du fonio blanchi

60g de fonio blanchi, lavé et séché sont préalablement réhydratés avec 18ml d'eau millipore et laissés reposés 10min dans une barquette avant d'être cuits trois fois à la vapeur pendant respectivement 10, 12 et 10min. Les cuissons sont réalisées dans un couscoussier contenant 1,5l d'eau désionisée portée à ébullition sur une plaque chauffante à 300°C. Entre chaque cuisson, les grains sont émottés, puis réhydratés avec 18ml d'eau millipore. Deux essais de cuisson sont effectués par échantillon.

La qualité culinaire du fonio cuit a été déterminée en évaluant:

- *la capacité de gonflement du fonio en cours de cuisson:* par dessiccation d'environ 3g de fonio cuit dans une étuve à 100°C pendant 24h. Le gonflement est exprimé en g d'eau absorbée pendant la cuisson pour 100g de fonio cuit sec.
- *la consistance du fonio cuit:* qui est mesurée à l'INSTRON (type 4300) en effectuant des tests d'extrusion avec une cellule d'Ottawa (modèle réduit de 7,5cm² de surface d'extrusion) munie d'une grille dont les trous ont 2mm de diamètre. Une heure après cuisson, le fonio maintenu à 35°C dans une étuve, est rapidement transféré dans la cellule d'extrusion. Au fur et à mesure de la descente du piston à la vitesse de 100 mm/min, le capteur de force enregistre une force de résistance à la compression qui augmente jusqu'à un palier d'extrusion. La force moyenne d'extrusion entre les limites (kgf) a été retenue pour la mesure de la consistance du fonio cuit. Plus le produit est ferme, plus la force d'extrusion est élevée. Deux mesures de consistance ont été effectuées par échantillon de fonio cuit.

Analyses chimiques des grains décortiqués et blanchis

Les teneurs en eau, en lipides, en protéines (Nx6,25) et en matières minérales ont été déterminées selon les normes françaises ou européennes en vigueur (NF V 03-707, NF V 03-050, NF V 03-610, NF V 03-720 respectivement).

Le dosage des éléments minéraux a été effectué par spectrométrie d'émission à plasma sauf celui du soufre, effectué par turbidimétrie après formation de sulfate de baryum sur un colorimètre à flux continu à 420nm.

Les acides gras transformés en esters méthyliques ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme.

Les acides aminés, après hydrolyse en présence d'acide méthano-sulfonique, ont été séparés par HPLC sur une colonne C18 avec une dérivation dabsyl et détection UV à 436nm.

Les teneurs en vitamines B1 et B2 ont été déterminées par HPLC à détection fluorimétrique.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Caractérisation technologique et biochimique du fonio blanchi traditionnellement

Afin de mieux apprécier la qualité des produits traditionnels présents sur les marchés, plusieurs échantillons de fonio blanchis non lavés, blanchis lavés et pré-cuits ont été collectés au Mali et au Burkina et analysés au point de vue technologique et biochimique (tableau 1). D'une manière générale, tous les produits blanchis lavés ou pré-cuits sont propres (taux d'impuretés inférieur à 0,1%, avec quelques traces de sable) sauf un échantillon prélevé auprès des femmes du fleuve à Bamako qui contient 0,2% d'impuretés et jusqu'à 1,8% de sable; ce qui apparaît comme une exception. Le blanchiment est à la fois minutieux et relativement poussé puisque le taux de paddy est généralement inférieur à 1% avec un grain très bien dégermé (teneur en lipides en dessous de 1% m.s). Par rapport à un fonio décortiqué qui contient en moyenne 9-11% m.s. de protéines et 1-1,1% m.s. de matières minérales, la teneur en protéines de ces fonios blanchis traditionnellement avoisine 7,4–8,5% m.s et la teneur en matières minérales n'atteint pas 0,5% m.s., ce qui signifie que la couche à aleurone en périphérie des grains est attaquée au cours du pilage, le grain est usé et bien blanchi par les femmes.

Ainsi les décortiqueurs-blanchisseurs adaptés ou développés pour le fonio devront donner un produit blanchi ayant des caractéristiques proches de celles de ces produits traditionnels pour pouvoir être acceptés par les transformateurs et les consommateurs; ils devront notamment donner un grain propre, avec très peu de paddy, bien blanchi sans pour autant être trop usé, pour une meilleure qualité nutritionnelle et un meilleur rendement.

Tableau 1: Caractérisations technologiques et biochimiques de divers échantillons de fonio blanchis traditionnellement.

Provenance	Echantillon de fonio	Grosses impuretés (% > 900 µm)	Quantité de grains paddy (en %)	Taux de cailloux, sable (en %)	Teneur en lipides (% m.s.)	Teneur en cendres (% m.s.)	Teneur en protéines (% m.s.)
Mme Soumaré Bamako Mali	Blanchi, lavé, pré-cuit	< 0,1	0,06	Trace	0,3	0,3	7,7
Mme Soumaré Bamako Mali	Blanchi, lavé	0,1	0,03	Trace	0,8	0,3	7,8
UCODAL Bamako - Mali	Blanchi, lavé, pré-cuit	< 0,1	0,1	Trace	0,2	0,2	7,4
UCODAL Bamako - Mali	Blanchi, lavé	0,1	0,3	Trace	0,6	0,2	7,7
Femmes du Fleuve Bamako Mali	Blanchi, lavé	0,2	0,5	1,8	0,8	0,3	7,7
ENT.RE.C.E.F - Orodara - Burkina	Blanchi, lavé	< 0,1	1,1	Trace	1,2	0,4	8,5
TOME (grpt de femmes) Ouagadougou - Burkina	Blanchi, lavé	< 0,1	0,04	Trace	0,9	0,2	9,4
LANAYA BoboDioulasso - Burkina	Blanchi, lavé	< 0,1	0,4	Trace	0,7	0,5	7,5
X Burkina	Blanchi, lavé	< 0,1	0,2	Trace	0,6	0,4	8,4
Marché des céréales Bamako - Mali	Blanchi, non lavé	0,7	1,6	1,9	1,8	0,5	9,7

Analyse de la qualité technologique des produits issus de divers décortiqueurs-blanchisseurs mécaniques

Au début du projet les équipements de décortiquage existants ont été testés dans les trois pays; la plupart sont déjà utilisés pour décortiquer le riz, le sorgho, le mil, le maïs et certains, peu nombreux, spécifiquement utilisés sur le fonio (décortiqueur «Sanoussi», plusieurs décortiqueurs de type Engelberg en Guinée). Ces machines, qui peuvent fonctionner en continu ou par lots, appartiennent à deux grands types de décortiqueurs: les décortiqueurs qui fonctionnent par abrasion en usant le grain de l'extérieur vers l'intérieur (c'est le cas des types PRL) et les décortiqueurs fonctionnant par friction qui arrachent le son et les balles (c'est le cas du «Sanoussi» et des types Engelberg). Le tableau 2 en donne quelques exemples.

Tableau 2: Performance de quelques décortiqueurs-blanchisseurs testés.

Machines	Principe & Fonctionnement	Débit Opération kg/h	Rendement %	Paddy résiduel %	Taux de brisures %	Teneur en lipides % m.s.	Teneur en cendres % m.s.
Décortiqueur Nuhull	Abrasif Continu	40	52,8	4,3		1,3	0,66
Décortiqueur Mini-PRL	Abrasif Semi-continu	32	62,7	8,0	10	1,2	0,50
Décortiqueur Sanoussi	Friction Discontinue (par lots)	20	61,4	50,0	17	2,0	0,77
Décortiqueur « Galama »	Friction Continue	20	70,0	6,0	3	1,3	0,63
Décortiqueur GMBF(essai 1)	Friction Continue	114	71,6	0,4	2,2	1,0	0,40
Décortiqueur GMBF(essai 2)	Friction Continue	118	66,4	0,2	5	0,9	0,40
Décortiquage manuel	Friction Discontinue	1 à 3	60 à 68	0,1 à 1	2 à 5	0,7 à 1,2	0,3 à 0,5

Les résultats montrent que la plupart des décortiqueurs testés ont un débit trop faible (inférieur à 50kg/h) pour répondre aux besoins des transformateurs. Pour des rendements de décortiquage-blanchiment proches des rendements traditionnels (60-68%), aucun de ces décortiqueurs ne décortique bien le grain puisqu'un taux de paddy excessif (supérieur à 4%) a été trouvé dans les produits. Par ailleurs, la plupart de ces décortiqueurs ne dégerment pas le grain au cours du décortiquage (teneur en lipides de plus de 1,2% m.s.) et brisent beaucoup plus que le pilon (plus de 10% de brisures) même s'ils arrivent à blanchir les grains décortiqués (teneur en matières minérales évaluée après lavage des grains qui élimine la majorité des paddy présents). Ces premiers essais ont montré que, même si aucun décortiqueur n'était en mesure de donner satisfaction, les décortiqueurs de type Engelberg semblaient, pour les machinistes, un peu mieux adaptés que ceux de type abrasif pour le décortiquage-blanchiment du fonio.

Un prototype de type Engelberg adapté aux dimensions et aux particularités du grain de fonio a ainsi été développé. Il est le fruit d'une étroite collaboration entre les quatre partenaires. Les solutions techniques répondent aux deux contraintes majeures de ce matériel: la précision dimensionnelle de fabrication imposée par la petite taille des grains de fonio et la possibilité de le construire dans les ateliers ouest africains.

Ce décortiqueur appelé GMBF (Guinée-Mali-Burkina-France) est constitué d'un carter cylindrique horizontal à l'intérieur duquel tourne un rotor métallique équipé de nervures longitudinales. La masse de grains qui tombe par gravité de la trémie d'alimentation est mise en pression par la rotation du rotor nervuré. Lors de leur progression dans la chambre de décortiquage, les grains sont décortiqués par la friction qu'ils exercent les uns sur les autres. Une lame frein, solidaire du carter, permet par son réglage, de freiner la progression des grains et d'accroître les phénomènes de friction. La friction doit être suffisante pour décortiquer et blanchir le fonio sans provoquer un échauffement excessif ou générer trop de brisures. Des trappes sont placées à l'entrée et à la sortie de la chambre de décortiquage pour réguler le débit de la machine. Ce décortiqueur est équipé d'un canal de vannage qui permet l'aspiration des sons à la sortie des grains.

Les performances obtenues sont intéressantes tant en matière de débit (supérieur à 110kg/h), qu'en terme de rendement au décortiquage (66-72%) et de qualité de décortiquage: le taux de paddy ne dépasse pas 0,5%, le taux de brisures 5% et le taux de dégermage est voisin de celui obtenu avec le pilon (teneur en lipides inférieure à 1%). La qualité technologique du produit issu de ce décortiqueur GMBF apparaît proche de celle du fonio blanchi traditionnellement par les femmes.

Comparaison du blanchiment mécanique au décortiqueur GMBF et du blanchiment traditionnel

Qualité technologique et culinaire

Il s'agissait de vérifier à partir du fonio paddy Fingoloni si le grain blanchi au décortiqueur-blanchisseur GMBF était comparable au fonio blanchi traditionnellement non seulement au point de vue qualité de blanchiment mais aussi au point de vue qualité culinaire. Tous ces résultats ont été comparés à ceux obtenus avec le même grain blanchi au laboratoire avec le blanchisseur Sataké (tableau 3).

Tableau 3: Qualités technologiques et culinaires du fonio Fingoloni issu du blanchiment traditionnel et du blanchiment mécanique.

Fonio Fingoloni blanchi	Rendement au blanchiment (%)	Taux de brisures (%)	Teneur en lipides (% m.s.)	Gonflement (g d'eau pour 100 g)	Force d'extrusion (kgf)
Blanchiment traditionnel	90	1,9	0,9	173,1	42,5
Blanchiment par la GMBF	90	0,3	1	182	38,8
Blanchiment au Sataké	89	0,3	1,6	137,1	52,1

Les taux de brisures du fonio blanchi mécaniquement, aussi bien à la GMBF qu'au Sataké, sont équivalents et voisins de 0,3%. Par contre, les cinq pilages traditionnellement effectués pour bien blanchir le fonio, brisent davantage les grains. La teneur en lipides est plus basse dans le fonio blanchi traditionnellement et à la GMBF, respectivement 0,9 et 1% m.s., que dans celui blanchi par abrasion au laboratoire. Pour ces deux produits, les taux de gonflement des grains après cuisson sont plus élevés avec des forces d'extrusion plus basses par rapport au produit du laboratoire. Ce qui veut dire que les deux produits issus du blanchiment traditionnel et de la GMBF ont un dégermage plus poussé, gonflent plus et sont plus moelleux.

Il est intéressant de noter que la machine GMBF qui utilise le système de friction arrive à bien dégermer le fonio avec des caractéristiques de blanchiment et culinaires

proches de celles du produit traditionnel. Il semblerait que la qualité du blanchiment et notamment du dégermage soit une caractéristique importante dans la qualité culinaire du produit. L'élimination du germe faciliterait l'absorption d'eau par les grains donc la consistance moelleuse désirée par le consommateur.

Qualité nutritionnelle du fonio

La composition biochimique du fonio décortiqué et du fonio blanchi au pilon ou à la GMBF (les mêmes valeurs, à quelques points près, ont été obtenues au niveau de ces deux derniers) a été comparée à celle d'un échantillon de sorgho, de mil, de maïs et de riz achetés sur un marché local puis décortiqués ou blanchis (tableau 4).

Le grain de fonio décortiqué contient moins de protéines, moins de matières minérales que les autres céréales et autant de lipides que le sorgho (mais moins que le maïs ou le mil).

Des travaux précédents⁶ avaient montré que le grain entier contient 68% m.s. d'amidon, 1% m.s. de sucres et 6,5-8,5% m.s. de fibres totales. Les sucres présents sont principalement le saccharose (2 fois moins que chez le sorgho), suivi du raffinose, du glucose et du fructose.

Après blanchiment, le grain est «enrichi» en glucides et appauvri en tous les autres constituants: il ne contient plus que 7-9% de protéines, 0,8-1% de lipides, 0,3-0,6% de matières minérales. Sa composition est tout à fait comparable à celle d'un riz blanc (tableau 4).

Les travaux précédents⁶ ont montré que le fonio blanchi contient 70-93% m.s. d'amidon, 4-7% de fibres et 0,06% de sucres (le seul sucre présent est le glucose). Les pentosanes totaux sont en quantité négligeable (0,2-0,1%) par rapport aux 1,1% présents chez le sorgho ou le mil décortiqué et ne peuvent expliquer l'éventuel effet bénéfique de la consommation de fonio pour les diabétiques, c'est-à-dire un index glycémique plus faible qu'avec les autres céréales et une réponse post-prandiale plus étalée dans le temps en raison d'une assimilation en sucres plus lente⁶.

Tableau 4: Composition biochimique du fonio décortiqué et blanchi en comparaison à celle d'un échantillon de sorgho, de mil, de maïs et de riz.

	Protéines % m.s.		Lipides % m.s.		Matières minérales (% m.s.)		Glucides % m.s.	
	Entier	Blanchi	Entier	Blanchi	Entier	Blanchi	Entier	Blanchi
Fonio	9 – 11	7 – 9	3,3 – 3,8	0,8 – 1	1 – 1,1	0,3 – 0,6	84 - 86	89 - 91
Sorgho	11	10	3,5	1,2	1,2	0,5	84	88
Mil	12	11	4	1,2	1,2	0,8	83	87
Maïs	11	10	4,5	1	1,3	1	83	88
Riz	nd*	8	nd	0,9	nd	0,5	nd	90

*nd: non déterminé.

- Éléments minéraux

Pour le fonio décortiqué, comme pour le sorgho et le maïs grain entier, l'élément minéral majoritaire est le phosphore, puis le potassium, le soufre, le magnésium et ensuite le calcium alors que pour le mil grain entier, c'est le potassium qui est prépondérant, suivi du phosphore et des autres éléments minéraux (tableau 5). Après le blanchiment du fonio et du riz ou le décortiquage du sorgho, du mil et du maïs, les

valeurs chutent considérablement suite très certainement à l'élimination d'une grande partie de la couche à aleurone, les éléments minéraux étant, pour la plupart, concentrés à la périphérie du grain. Seul le soufre résiste et semble plus interne à l'albumen que les autres éléments minéraux. Le fonio est la céréale grain entier la plus riche en soufre et en magnésium, en zinc et en manganèse, le maïs en phosphore et le mil en potassium. Après blanchiment, le fonio reste le plus riche en soufre, et en zinc avec le mil. Ces résultats confirment ceux trouvés précédemment⁶ avec d'autres échantillons de fonio, de sorgho et de mil mais mériteraient d'être validés statistiquement sur un plus grand nombre d'échantillons.

Tableau 5: Composition en éléments minéraux d'un échantillon de fonio décortiqué et blanchi en comparaison à celle d'un échantillon de sorgho, de maïs, de mil et de riz en provenance du Mali.

	Matières minérales % m.s.	P % ms	K % ms	S % ms	Mg % ms	Ca % ms	Na ppm	Fe ppm	Zn ppm	Mn ppm	Cu ppm
Fonio Fingoloni décortiqué	1,02	0,25	0,17	0,16	0,13	0,022	72,3	38,8	33,4	21,6	6,8
Fonio Fingoloni blanchi pilon	0,29	0,06	0,02	0,16	0,03	0,012	58,5	27,3	21,8	4,9	3,0
Fonio Fingoloni blanchi GMBF	0,37	0,07	0,03	0,15	0,04	0,013	72,6	25,0	21,4	5,8	2,6
Sorgho Wassa entier	1,13	0,25	0,25	0,13	0,13	0,014	58,7	94,6	32,6	20,9	6,2
Sorgho Wassa décortiqué	0,46	0,12	0,10	0,11	0,06	0,008	53,5	65,0	13,2	8,5	2,1
Maïs Tiémantié entier	1,28	0,34	0,33	0,12	0,12	0,012	67,0	33,4	28,7	9,4	2,2
Maïs Tiémantié décortiqué	0,18	0,09	0,08	0,12	0,03	0,007	32,7	18,9	7,4	2,5	1,5
Mil Sanio entier	1,16	0,23	0,34	0,12	0,11	0,017	102,6	82,5	33,1	13,0	4,9
Mil Sanio décortiqué	0,78	0,16	0,20	0,10	0,08	0,014	82,0	59,8	28,5	8,2	3,8
Riz Gambiaca blanchi	0,51	0,06	0,03	0,08	0,01	0,012	59,1	23,4	18,6	12,2	1,8

- Acides gras

La proportion d'acide gras dans les lipides du fonio décortiqué est pratiquement la même que dans les lipides du fonio blanchi, qu'il soit blanchi au pilon ou à la GMBF, alors que l'on passe respectivement de 4 à 0,8-1% m.s. de lipides. Cette remarque est valable pour les autres céréales quel que soit le degré de dégermage. 74 à 80% des acides gras présents sont des acides gras insaturés, et ceci quelle que soit la céréale (pour le riz la proportion est de 72%). L'acide gras insaturé majoritaire est l'acide linoléique en C18:2 suivi de l'acide oléique en C 18:1 (tableau 6).

Tableau 6: Composition en acides gras d'un échantillon de fonio décortiqué et blanchi en comparaison à un échantillon de sorgho, de maïs, de mil et de riz en provenance du Mali.

Acides gras (%)	Fonio Fingoloni décortiqué	Fonio Fingoloni blanchi pilon	Fonio Fingoloni blanchi GMBF	Sorgho Wassa décortiqué	Maïs Tiémantié décortiqué	Mil Sanio décortiqué	Riz Gambiaca blanchi
C14:0 acide myristique	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,9
C16:0 acide palmitique	16,8	18,8	19,2	16,7	15,9	17,9	23,9
C16:1 acide palmitoléique	0,3	0,3	0,3	0,6	0,1	0,2	0,2
C18:0 acide stéarique	4,1	4,4	4,5	2	2,7	5,4	2,6
C18:1 acide oléique	30,6	31,3	33,1	36,9	29,3	25,3	28,9
C18:2 acide linoléique	45,7	43	40,4	41,9	49,7	47,6	40,9
C18:3 acide linoléinique	0,8	0,7	0,6	1	0,9	2,4	1,6
C20:0 acide arachidique	1,1	1,2	1,2	0,4	0,7	1	0,8
C22:0 acide béhénique	0,4	<0,1	0,4	0,2	0,3	0,2	<0,1

- Vitamines

Le grain de fonio décortiqué contient surtout de la vitamine B1 (tableau 7). Après un blanchiment qui dégerme bien le grain, ce taux chute considérablement tout comme pour le riz alors que le mil, le sorgho et le maïs en conserve un tout petit peu plus après décorticage au pilon.

Tableau 7: Composition en vitamines B d'un échantillon de fonio décortiqué et blanchi en comparaison à un échantillon de sorgho, de maïs, de mil et de riz en provenance du Mali.

Vitamines B (mg / 100 g m.s.)	Fonio Fingoloni décortiqué	Fonio Fingoloni blanchi pilon	Fonio Fingoloni blanchi GMBF	Sorgho Wassa décortiqué	Maïs Tiémantié décortiqué	Mil Sanio décortiqué	Riz Gambiaca blanchi
Vitamine B1 (Thiamine)	0,48	0,06	0,06	0,17	0,10	0,22	0,06
Vitamine B2 (Riboflavine)	0,05	0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,05	<0,02

- Acides aminés

La composition en acides aminés apparaît équilibrée mis à part une déficience en lysine comme pour toutes les autres céréales (tableau 8). Il faut noter cependant que cette céréale, même après blanchiment, est plus riche en acides aminés soufrés que les autres, notamment en méthionine (pratiquement 2 fois plus riche que le mil ou le maïs et 3 fois plus que le riz). Cette richesse en acides aminés soufrés avait déjà été soulignée dans la littérature⁷. Les protéines plus riches en méthionine présenteraient, pour la même quantité, une meilleure efficacité protéique, auraient un rôle bénéfique sur le taux de lipides, de cholestérols et de triglycérides sanguins et participeraient à la détoxification métabolique des tannins contenus dans le bol alimentaire. Le grain de fonio blanchi au pilon ou à la GMBF apporte plus d'acides aminés insulino sécréteurs (valine, leucine, isoleucine) que le riz blanchi ou le mil décortiqué mais moins que le sorgho ou le maïs. Cependant, même en quantité moindre, ces acides aminés devraient être plus biodisponibles et être bénéfiques pour les consommateurs diabétiques.

Tableau 8: Composition en acides aminés d'un échantillon de fonio décortiqué et blanchi en comparaison à un échantillon de sorgho de maïs, de mil et de riz en provenance du Mali.

Acides aminés % m.s.	Fonio Fingoloni décortiqué	Fonio Fingoloni blanchi pilon	Fonio Fingoloni blanchi GMBF	Sorgho Wassa décortiqué	Maïs Tiemanté décortiqué	Mil Sanio décortiqué	Riz Gambiaca blanchi
acide aspartique + asparagine	0,68	0,59	0,58	1,02	0,62	0,73	0,74
acide glutamique + glutamine	2,16	2,39	2,33	3,48	2,25	1,27	1,35
sérine	0,49	0,49	0,48	0,59	0,47	0,37	0,35
thréonine	0,34	0,34	0,33	0,41	0,33	0,11	0,23
glycine	0,08	0,04	0,05	0,07	0,07	0,12	0,11
alanine	1,24	0,98	0,94	1,48	1,29	1,15	1,32
arginine	0,93	1,04	1,00	1,50	0,80	0,63	0,44
proline	0,51	0,58	0,56	1,12	0,88	0,59	0,27
valine	0,52	0,54	0,52	0,68	0,48	0,49	0,43
méthionine	0,34	0,36	0,42	0,24	0,22	0,23	0,15
isoleucine	0,28	0,31	0,29	0,45	0,27	0,28	0,23
leucine	0,91	1,04	1,00	1,98	1,34	0,76	0,56
tryptophane	0,16	0,16	0,13	0,15	0,04	0,11	0,11
phénylalanine	0,47	0,52	0,52	0,68	0,47	0,39	0,35
cystéine	0,07	0,07	0,08	0,08	0,09	0,04	0,05
lysine	0,19	0,13	0,12	0,14	0,15	0,16	0,21
histidine	0,17	0,18	0,16	0,28	0,26	0,18	0,15
tyrosine	0,23	0,24	0,27	0,38	0,27	0,19	0,21

Comparaison variétale

Cette étude a consisté à comparer l'aptitude au blanchiment et le comportement à la cuisson après blanchiment mécanique de deux types de fonio paddy du Mali et de différentes variétés originaires de Guinée (tableau 9). En raison des petites quantités de grains disponibles pour chacune des variétés, le décorticage et le blanchiment ont été faits dans les mêmes conditions au laboratoire avec le décortiqueur et le blanchisseur Sataké.

La variété *Bolefendé* semble plus dure que les autres avec une usure plus faible et moins de brisures; elle est plus proche des deux vracs maliens. Par contre, la variété *Siragué* a les taux d'usure et de brisures les plus élevés; elle paraît être la plus tendre.

A des taux d'usure, de cendres et de lipides équivalents, il se dégage des différences variétales au point de vue qualité culinaire. La variété *Siragué* et le fonio paddy

Fingoloni 2001 se détachent des autres fonio. La première par une capacité de gonflement plus élevée et une consistance plus moelleuse et le second par une faible capacité de gonflement et une texture plus ferme. Les autres variétés et le fonio paddy Bamako 2000 ont des taux de gonflement variant de 151,7 à 166,7g d'eau/100g avec des forces moyennes de l'ordre de 38kgf. Ces résultats sont confirmés par l'analyse de variance qui montre 4 et 5 groupes homogènes avec le test de Newman-Keuls pour le gonflement et la consistance du fonio cuit respectivement.

Cette variété *Siragué* qui se différencie des autres est celle qui est justement l'une des plus appréciées par les consommateurs guinéens. Des essais multiloceaux ont été menés en 2002 dans les trois pays du projet avec 12 variétés sélectionnées par les agronomes pour leur bonne qualité agronomique (rendement, cycle végétatif) dans le but d'identifier la variété la plus adaptée à la transformation mécanique et qui répond aux critères de qualité culinaire. Là encore, la variété *Siragué* retenue parmi les 12, s'est détachée des autres par ses propriétés de gonflement et de moelleux.

Tableau 9: Qualités technologiques et culinaires de différents types de fonio en provenance du Mali et de Guinée.

Variétés	Rendement au blanchiment (degré d'usure) (%)	Taux de brisures (%)	Teneur en lipides (% ms)	Teneur en matières minérales (% ms)	Gonflement* (g d'eau pour 100 g)	Force d'extrusion* (kgf)
Fonio Fingoloni	88,4 (11,6)	0,2	1,7	0,5	137,1 d	52,1 b
Fonio Bamako	87,9 (12,1)	0,4	1,5	0,5	162,7 b c	47,6 a
<i>Kenselen</i>	85,8 (14,2)	1,1	1,3	0,3	166,8 b	38,3 d
<i>Siragué</i>	84,1 (16)	1,6	1,2	0,4	182,4 a	31,4 e
<i>Bolefendé</i>	89 (11)	0,4	1,2	0,4	162,9 b c	41,3 c
<i>Mballa</i>	86,6 (13,4)	0,2	1,4	0,6	156,5 b c	38,3 d
<i>Ravé</i>	84,7 (15,3)	0,5	1,1	0,4	151,7 c	38,4 d

* Les chiffres suivis d'une même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5 %.

CONCLUSION

Le décortiqueur GMBF réalisé dans le cadre du projet CFC a été fabriqué au Mali par la société IMAF et est en cours d'expérimentation dans les trois pays partenaires. Il décortique le fonio aussi bien que le font les femmes au pilon, avec un rendement proche, peu de brisures, peu de grains paddy restants. Le grain blanchi est bien dégermé et gonfle bien pendant la cuisson avec une consistance moelleuse, comme le produit traditionnel. Il a été testé par plusieurs formatrices qui ont été très satisfaites de ses performances. Elles considèrent que cette machine devrait alléger considérablement la pénibilité de leur travail. Malgré quelques problèmes d'usure en cours de résolution, cette machine devrait être fabriquée localement dans les différents pays pour une diffusion plus large.

La composition du fonio blanchi est similaire à celle d'un riz blanc avec un plus: il est plus riche en soufre et en zinc, en acides aminés soufrés et en acides insulino

sécréteurs. La variété guinéenne *Siragué* retenue par les agronomes se détache des autres par ses propriétés culinaires particulièrement intéressantes.

Références

1. Portères R. Les céréales mineures du genre *Digitaria* en Afrique et en Europe. *J Agric Tradit Bot Appl* 1955;7-8-9:350-675.
2. Jideani IA. Acha, *Digitaria exilis*, the neglected cereal. *J Agric Food Chem* 1990;34(2):361-4.
3. Borlaug NE, Axtell J, Burton GW, Harlan JR, Rachie KO. Fonio. In: National Research Council, ed. *Lost crop of Africa*. Washington, DC: National Academy press, 1996:59-75.
4. Bui-Phong F. Le fonio, une plante à part. Caractérisation technologique, physico-chimique et histologique des grains de plusieurs variétés. Mémoire d'ingénieur de l'Institut de Sciences et Technologies. L'Université Pierre et Marie Curie, Paris: CIRAD/CA, 1998:52.
5. Cruz JF. Le fonio. Montpellier: CIRAD-CA, 2001:24.
6. Flidel G, Berthé A, Ouattara L. Analyse des caractéristiques technologiques du fonio. Projet CFC/IGG. Amélioration des technologies post-récolte du fonio. CIRAD/AMIS, 2001:24.
7. Cruz JF, Dramé D, Diallo T, Son G. Rapport annuel n°2/00. Projet CFC/IGG. Amélioration des technologies post-récolte du fonio. 2000:73.
8. de Lumen BO, Thompson S, Odegard WJ. Sulfur amino acid-rich proteins in acha (*Digitaria exilis*), a promising under-utilized african cereal. *J Agric Food Chem* 1993;41:1045-7.

Remerciements: Nous tenons à remercier le laboratoire CERECO à Garons pour l'analyse du profil d'acides gras, de vitamines B, le laboratoire du Programme Agronomie du CIRAD-AMIS pour l'analyse des éléments minéraux, le laboratoire du Programme Coton du CIRAD-CA pour l'analyse des acides aminés et les laboratoires LTA/IER de Bamako et DTA/IRSAT de Ouagadougou pour leur étroite collaboration.

Conservation de produits locaux à travers un transfert de technologie de séchage: cas de l'atomisation au Sénégal

Lardinois^{1,4*} Mathias, Totté^{2,4} Anne, Tounkara¹ Latsouk, Mbaye² Cheikh T, Beye¹ Cheikh, Thonart³ Philippe, Ngom² El Hadji A, Guiro¹ Amadou T

¹ Unité de Biotechnologie, ITA, Route des Pères Maristes, BP2765 Dakar, Sénégal.

² Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel, Ecole Supérieure Polytechnique, Université Cheikh Anta Diop, BP5085, Dakar, Sénégal.

³ Centre Wallon de Biologie Industrielle, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux – Université de Liège, Belgique.

⁴ Association pour la Promotion de l'Education et de la Formation à l'Etranger, BP 6279, Dakar, Sénégal.

*Auteur correspondant: mathias.lardinois@apefe.sn

- Résumé -

En vue de restructurer l'interface entre la recherche scientifique publique et les acteurs socio-économiques, un pôle de développement et de contrôle des procédés de séchage des produits des bio-industries a été créé au Sénégal en 2002. En diminuant la teneur en eau des produits, le séchage stoppe l'altération due aux micro-organismes et ralentit fortement l'altération physico-chimique.

Outre les compétences d'une équipe de technologues pluridisciplinaires, le pôle s'appuie sur du matériel de pointe tels qu'une unité pilote de séchage par atomisation, une unité pilote de lyophilisation, du matériel de séchage solaire ou au gaz, du matériel de fermentation en réacteurs, des équipements agro-alimentaires (centrifugeuses, filtres, ...).

La tour d'atomisation est un modèle à simple effet à co-courant. Le produit est injecté sous forme liquide (solution, suspension ou émulsion). Il est dispersé en fines gouttelettes dans un courant d'air chaud au moyen d'une turbine tournant à vitesse élevée (entre 10900 et 21000 tours/min). Le produit final est recueilli sous forme de poudre.

Les conditions opératoires dépendent fortement du produit et doivent être déterminées expérimentalement. A titre d'exemple, dans le cas de l'atomisation de la gomme arabique, la solution initiale doit avoir une teneur en matière sèche de 15 à 20%, avec une T° de l'air de 180 à 200 °C à l'entrée et de 90 à 110 °C à la sortie pour obtenir un débit de 60 l/h de solution.

L'atomisation est une technique de séchage s'appliquant à de nombreuses substances. Citons le lait, le café, les œufs, les fruits, les purées de viandes ou de légumes, les gommes, les algues, les micro-organismes (levures, bactéries, ...), les enzymes, les protéines, les vitamines, etc. Elle permet de réaliser des formulations particulières tels que l'enrobage ou l'addition d'éléments nutritifs. L'atomisation d'une farine de mil fermentée a été testée.

En conclusion, l'atomisation est une technique qui peut être très utile dans le domaine nutritionnel. Sa flexibilité permet d'étudier des demandes très diverses et le pôle de séchage est prêt à y répondre.

Mots-clés: Atomisation – Séchage – Conservation – Produits locaux – Aliment enrichi.

- Abstract -**Conservation of local products by mean of transfer of a drying technology: example of atomization in Senegal**

In order to reinforce the interface between the scientific state research and the socio-economic actors, a pole of development and control of the drying processes of products issued from bio-industries has been created in Senegal in 2002.

Drying is one of the techniques used to preserve agroalimentary products. By decreasing the amount of water, the alteration due to micro-organisms is stopped and the one due to physicochemical reactions is significantly reduced.

Besides the hard skills of a pluridisciplinary team, the pole is doted of high technology equipments: one pilot-scale drying unit by atomization, one pilot-scale drying unit by lyophilisation, drying equipments by sun and gas, biological reactors, agro-alimentary equipments (centrifuge, filters, etc.).

The pilot-scale drying unit by atomization is a simple effect model (co-current). The product to be dried is injected as liquid (solution, suspension or emulsion). It is dispersed as thin droplets in a stream of hot air by a high speed rotating turbine (between 10900 and 21000 rd/min). That increases the surface of exchange. The end product is collected as a powder.

The operating conditions are strongly dependant of the product and must be determined experimentally. For example, the drying of gum arabic is performed with a starting solution of 15 to 20% SM, with an inlet air temperature of 180 to 200°C and an outlet air temperature of 90 to 110°C. Theses parameters allow a product flow-rate of 60 l/h with this installation.

Atomization is a technique that can be used with many different substances. For examples: coffee, eggs, fruits, purées of meet or vegetables, gums (arabic, sterculia, etc.), algae (Chlorella, Spirulina), micro-organisms (yeast, bacteria, etc.), enzymes, proteins, vitamins, etc. This technique allows producing original formulations such as coatings and addition of nutrients.

As a first test, the atomization of fermented millet flour has been performed. This product has the advantage to be treated (acidification, pre-cooking).

In conclusion, the atomization is a technique that can be very useful in the nutritional area. Its flexibility allows studying very different needs, and the pole of drying is ready to answer them.

Key words: Atomization – Drying – Conservation – Local products – Fortified food.

INTRODUCTION

Le Sénégal a compris qu'il faut renforcer les complémentarités entre son agriculture et son industrie. Le développement du secteur agro-industriel paraît à cet égard particulièrement prometteur.

De même, l'exportation est devenue une exigence par rapport à la stratégie de développement économique du Sénégal. Dès lors, il importe de trouver toutes les niches potentielles sur le marché mondial et de développer de nouveaux produits et des procédés de transformation porteurs pour les transformateurs et les PMI/PME de l'agroalimentaire.

En conséquence et en vue de restructurer et de renforcer l'interface entre la recherche scientifique publique et les acteurs socio-économiques locaux, un pôle de développement et de contrôle des procédés de séchage des produits des bio-industries a été créé au Sénégal en septembre 2002. Ce pôle s'appuie sur l'expertise des trois instituts de recherche/développement:

- l'Institut de Technologie Alimentaire de Dakar (ITA),
- l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (ESP),
- et le Centre Wallon de Biologie Industrielle (CWBI - Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux et Université de Liège, Belgique).

Ces institutions ont de longues années de collaboration commune. Pour ce qui est de l'ITA et du CWBI, un accord de partenariat existe depuis 11 ans (1992). Dans le cadre de ce partenariat des actions ont été entreprises concernant:

- la maîtrise des procédés de fermentation du lait caillé pour la production d'un lait caillé correspondant au goût des sénégalais grâce à des ferments lactiques répondant à ces critères,
- la production de vinaigre selon la méthode d'Orléans comme substitut à la dilution de l'acide acétique interdite par la législation,
- la maîtrise des procédés de fermentation du néré largement utilisé dans l'alimentation sahélienne (*nététou, soumbala*),
- le développement de technologies diverses de séchage en partenariat avec l'Ecole Supérieure Polytechnique de Dakar.

Toutes ces actions ont pu connaître des progrès significatifs grâce à l'intervention des agents de l'Association pour la Promotion de l'Education et de la Formation à l'Etranger (APEFE - Belgique) qui ont collaboré étroitement avec les chercheurs et les techniciens locaux.

STRATÉGIE

L'expérience acquise au cours des précédentes collaborations entre ces instituts montre qu'il ne suffit pas de mettre au point un produit scientifiquement optimisé en terme de production et de qualité pour que ce dernier soit effectivement transféré dans des structures socio-économiques locales.

En conséquence, le pôle de séchage axe son intervention sur la mise à disposition de technologies plutôt que sur le développement de produits particuliers. Il vise à identifier les demandes des entreprises dans le domaine concerné. Après des tests de faisabilité, les procédés de production (schémas de production, technologies de séchage, modèles, appréciation des produits finis...) sont établis avec le partenaire industriel. Afin de renforcer le transfert effectif des procédés développés, une unité

pédagogique pour la formation des opérateurs et la sensibilisation des relais est mise en œuvre.

De plus, ce projet s'inscrit dans une stratégie de développement technologique de différents pays du Sud partenaires: Burkina Faso, Tunisie, Maroc, Haïti et Cuba. Grâce à cette structure internationale, les échanges sud-sud se développent progressivement et se sont déjà concrétisés entre le Sénégal et le Burkina Faso pour la diffusion de technologies appropriées innovantes, résultats des activités menées par l'APEFE dans ces pays.

STRUCTURE

Le projet actuel s'intègre dans le cadre d'un véritable partenariat à long terme entre les institutions des deux pays en les structurant de la recherche jusqu'au transfert technologique effectif. Une convention a été signée à cet effet. Elle implique une synergie au niveau de l'utilisation des moyens disponibles entre différentes institutions sénégalaises et wallonnes, entre deux postes APEFE (ITA et ESP), ainsi qu'entre diverses sources de financement.

L'objectif de cette structure est de mettre en place un incubateur d'entreprises capable de maîtriser des procédés de séchage des produits agroalimentaires locaux. Elle complète les acquis technologiques obtenus par les institutions concernées, au terme de plusieurs années de recherche / développement tant dans le cadre d'échanges nord-sud que sud-sud. Les principaux domaines couverts par ces partenariats sont la biotechnologie alimentaire en général (sélection de souches locales, production de starters, etc.), les fermentations traditionnelles, la formation scientifique et professionnelle et le transfert de procédés.

A ce stade, il importe de poursuivre les actions entreprises jusqu'à leur terme afin d'assurer la maîtrise complète des procédés par les chercheurs et les techniciens de l'ITA et de l'ESP en vue de leur transfert ultérieur vers l'industrie. Les technologies utilisées permettront aux transformateurs de disposer de méthodes fiables pour la production d'aliments de qualité sains et pouvant satisfaire les exigences dans ce domaine tant sur le marché intérieur qu'international. Le développement d'un pôle de séchage entre l'ITA, le CWBI et l'ESP est à ce titre essentiel car le séchage est un des points critiques dans la transformation des produits alimentaires. En effet, le séchage est une des techniques de conservation de ces derniers. En diminuant suffisamment leur teneur en eau, l'altération due aux micro-organismes est stoppée et l'altération physico-chimique est fortement ralentie.

MATÉRIEL

Outre les compétences d'une équipe de technologues pluridisciplinaires, le pôle s'appuie sur du matériel de pointe tels que:

- une unité pilote de séchage par atomisation pour les produits solubilisés;
- un lyophilisateur pilote;
- du matériel de fermentation en réacteurs (2; 5 et 80 L);
- des équipements de transformation et de conditionnement agroalimentaires (cuves, mélangeurs, homogénéisateurs, centrifugeuse, filtres, etc.);
- du matériel de séchage solaire ou au gaz;
- des salles de formation;
- des centres de documentation;
- des laboratoires de contrôle de la qualité.

TOUR D'ATOMISATION

Du point de vue technologique, la tour d'atomisation présente un intérêt particulier. En effet, c'est un matériel peu rencontré dans la région. C'est un modèle à simple effet à co-courant de la firme NIRO S.A. Cette installation est de type pilote industriel. Cela veut dire que des quantités suffisantes peuvent être traitées pour permettre la production de quantités commercialisables de produits pour une diffusion non confidentielle, permettant d'envisager la rentabilité du procédé. Notons cependant que ces quantités sont très variables en fonction du produit à atomiser.

Le produit est injecté sous forme liquide (solution, suspension ou émulsion). Il est dispersé en fines gouttelettes dans un courant d'air chaud au moyen d'une turbine tournant à vitesse élevée (entre 10900 et 21000 tours/min). Cela augmente la surface d'échange entre le liquide et l'air. Le produit est recueilli sous forme de poudre (figure 1).

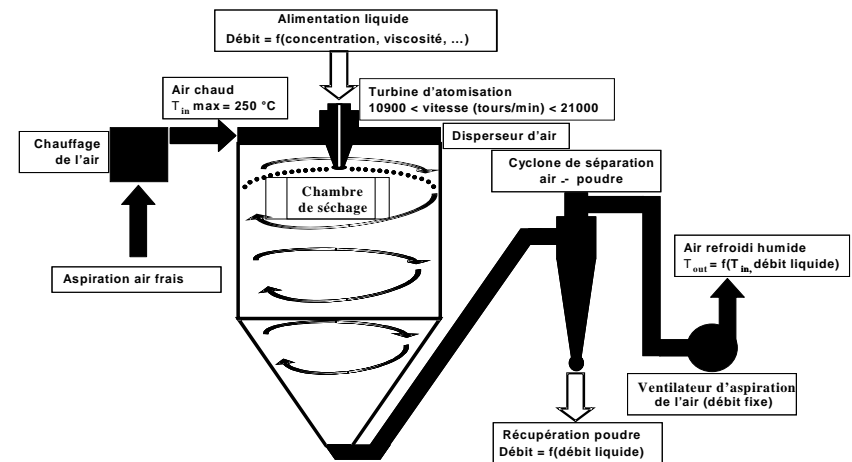


Figure 1: Schéma de principe du séchage par atomisation.

Les conditions opératoires (température d'entrée de l'air, débit de produit, etc.) dépendent fortement du produit (viscosité, sensibilité à la chaleur, etc.) et doivent être déterminées expérimentalement.

Dans une tour d'atomisation, le séchage est de type convectif. De ce fait, on observe deux phases de séchage. La première phase, lorsque la particule humide entre en contact avec l'air chaud, est caractérisée par la température constante de cette particule. C'est la phase de séchage adiabatique. Par définition, la température adiabatique de séchage est la température d'évaporation de l'eau libre se trouvant à la surface des particules à sécher, en équilibre avec l'air chaud. Cette température est déterminée grâce aux lois de la thermodynamique. Les paramètres à connaître sont l'humidité (relative ou absolue) de l'air de séchage et sa température. L'outil le plus souvent utilisé pour connaître la température adiabatique de séchage est le diagramme de Mollier. La température adiabatique est toujours très inférieure à la température de l'air chaud.

Cette propriété est très importante car elle permet d'appliquer des températures d'entrées élevées, sans pour autant dénaturer les produits à sécher. Cela a une influence sur la vitesse de séchage.

Lorsque toute l'eau libre est évaporée, la particule s'échauffe pour libérer progressivement l'eau qu'elle emprisonne. De ce fait la température maximale à laquelle le produit à sécher peut être soumis est la température de sortie de l'air de séchage.

Au vu de ces considérations, il faut remarquer que lorsque le produit commence à s'échauffer, il a déjà perdu une grande quantité d'eau. De ce fait, son activité de l'eau est déjà réduite, diminuant ainsi les phénomènes de dégradation des produits biologiques.

A titre d'exemple, dans le cas de l'atomisation de la gomme arabique, la solution à sécher a une teneur en matière sèche initiale de 15 à 20%, avec une température d'air de 180 à 200°C à l'entrée et de 90 à 110°C à la sortie. Ces paramètres permettent d'obtenir avec cette installation un débit de 60 l/h de solution à sécher.

APPLICATIONS

L'atomisation est une technique de séchage s'appliquant à de nombreuses substances. Citons le lait, le café, les œufs, les fruits, les purées de viandes ou de légumes, les gommes (arabique, sterculia), les algues (*Chlorella*, *Spirulina*), les micro-organismes (levures, bactéries), les enzymes, les protéines, les vitamines, etc (Masters K, 2002)¹. De plus, elle permet de réaliser des formulations particulières tels que l'enrobage ou l'addition d'éléments nutritifs. Le conditionnement final sous forme de poudre permet une conservation, un stockage et un transport aisé, facilitant la fourniture des produits dans des zones rurales ne disposant pas d'infrastructure pour la conservation à moyen et long terme des aliments frais. Il permet également d'incorporer les produits dans des préparations culinaires tels que les sauces, jus de fruits, etc.

Dans un premier temps, l'atomisation d'une farine de mil fermentée a été testée. Ce test a été réalisé dans la lignée de ce qui se fait en Europe, à savoir l'atomisation de la farine de blé pré-acidifiée et diluée, utilisée ensuite comme adjuvant de panification.

L'atomisation de la farine de mil, diluée après fermentation contrôlée, devrait permettre l'obtention d'une farine de mil acide de longue conservation, dont les facteurs anti-nutritionnels inhérents au mil ont fortement diminué. L'intérêt de cette farine réside dans l'apport d'arômes et de goût acide, offrant ainsi un produit prêt à l'emploi (roulage de produits granulés traditionnels, biscuits, gâteaux...) et à une cuisson directe, tout en garantissant une durée de conservation de minimum 8 mois à température ambiante (30°C). De plus, les premières analyses microbiologiques montrent qu'une quantité non négligeable des bactéries lactiques d'acidification a survécu au traitement, conférant ainsi des propriétés probiotiques au produit. L'évaluation des rendements de production et du prix de revient est à l'étude.

Dans le domaine de la nutrition, nous pouvons également citer l'utilisation de la technique d'atomisation pour l'enrichissement du sel en iode et en fer. L'apport de la technique vient de l'enrobage du sel d'iode avec de la dextrine, ceci afin d'éviter une réaction entre les sels de fer et d'iode en présence d'humidité.

CONCLUSION

L'atomisation est une technique qui peut être très utile dans le domaine nutritionnel. Sa flexibilité permet d'étudier des demandes très diverses, tant dans le domaine du séchage et du conditionnement d'éléments nutritifs "seuls", que dans celui de l'enrichissement de produits alimentaires de base.

La structure du pôle de séchage, de par son approche technologique formative et participative, en fait un outil très prometteur. En effet, l'équipe en place est prête à étudier des demandes très diverses dans le cadre de ses compétences, avec pour seules limites celles des appareils utilisés. Au-delà, ses contacts privilégiés avec les fournisseurs de matériels et des entrepreneurs internationaux font qu'à tout moment des informations complémentaires peuvent être obtenues. De même, l'expérience de cette équipe dans la rédaction de dossiers et la recherche de financement lui permet d'appuyer les opérateurs intéressés dans leurs démarches auprès de bailleurs de fonds nationaux et/ou internationaux.

De nombreux opérateurs économiques se sont montrés intéressés par une collaboration avec le pôle de séchage. A l'heure actuelle, trois produits sont en cours de développement, alors que le pôle est encore en phase de démarrage et de mise en place.

RÉFÉRENCE

1. Masters K. Spray drying in practice. Charlottenlund: SprayDryConsult International ApS, 2002.

Remerciements: Les auteurs remercient l'Association pour la Promotion de l'Education et de la Formation à l'Etranger (APEFE - Belgique) et la Direction des Relations Internationales de la Région Wallonne de Belgique pour le soutien qu'elles apportent à ce projet.

La cuisson-extrusion à très faible coût pour la production de farines infantiles au Burkina Faso: intérêts et contraintes

Mouquet^{1*} Claire, Salvignol² Bertrand, Trèche³ Serge

¹ UR106 «Nutrition, Alimentation, Sociétés»/IRD, 01 BP182, Ouagadougou, Burkina Faso.

² GRET, 213 rue La Fayette, F75 010, Paris, France.

³ UR106/IRD, BP 64501, F 34 394 Montpellier cedex 5, France.

*Auteur correspondant: claire.mouquet@ird.bf

- Résumé -

La cuisson-extrusion est un procédé intéressant pour la production de farines infantiles, car il permet à la fois de gélatiniser et de dextriniser l'amidon et de réduire certaines activités antinutritionnelles. Les températures élevées atteintes au cours du procédé garantissent également au produit de bonnes qualités hygiéniques. Mais la plupart des cuiseurs-extrudeurs (CE) existants ne sont pas adaptés aux contextes des pays en développement, car ils requièrent un investissement financier considérable et ont une capacité de production trop importante (environ 300 kg/h).

Au Vietnam, des CE monovis de petite capacité de production (30 à 50 kg/h) utilisés pour la fabrication d'aliments de rue ont été adaptés à la production de farines infantiles. Ces CE simplifiés sont toutefois moins performants que les équipements industriels: la teneur en lipides du mélange à extruder ne doit pas dépasser 6 g/100 g de matière sèche, sous peine de réduire les températures atteintes au cours du procédé. Néanmoins, une farine infantile instantanée de bonne qualité nutritionnelle, organoleptique et hygiénique a été obtenue par mouture d'extrudats de riz et sésame et de soja torréfié.

Le transfert de ces CE à très faible coût au Burkina Faso n'est cependant envisageable qu'à condition de prendre en compte les contraintes liées au contexte de ce pays. Il faudra notamment étudier les possibilités de construction locale des principales pièces mécaniques de ces CE et adapter leurs performances aux matières premières disponibles. En outre, en raison de la qualité sanitaire peu fiable de l'eau utilisée pour la préparation des bouillies, il sera préférable de mettre au point une farine infantile à cuisson rapide, nécessitant 2 à 3 minutes d'ébullition, plutôt qu'une farine instantanée.

A ces conditions, la mise en œuvre de CE à très faible coût au Burkina Faso pourrait permettre de produire une farine infantile attractive et bon marché.

Mots-clés: Cuisson-extrusion – Farine infantile – Jeunes enfants – Gélatinisation – Dextrinisation.

- Abstract -**Extrusion cooking at very low cost for the production of infant flours in Burkina Faso: interests and constraints**

Extrusion cooking is a useful process for the production of infant flours, as it allows to gelatinise and partially dextrinise the starch, and simultaneously reduces the activity of some antinutritional factors. Moreover, the high temperature (about 150°C) generated by the high shear of the blend of raw materials during the process allows the destruction of the initial microflora, thus ensuring good hygienic qualities to the final product.

But existing extrusion equipment is not suited to the context of developing countries as it requires a considerable initial financial investment and the production capacity (minimum 300 kg/hour) is too high, resulting in problems with raw material supply and distribution.

In Vietnam, monovis extruders of very low production capacity (between 30 and 50 kg/h) are currently used for street food manufacture. Their adaptation for instant infant flour production allowed settling several small production units throughout the country. However the performances of these simplified extruders are not as good as those of industrially-built equipment with large production capacity: Particularly, the lipid content of the blend of raw material must not exceed 6g /100g of DM at the risk of considerably reduce the temperature during the process. Nevertheless, an infant flour offering good nutritional, organoleptic and hygienic qualities was formulated with rice-sesame extrudates added with roasted soybean flour, and the product is at present produced and marketed in different areas of Vietnam.

However, the transfer of this simplified very low-cost extruder in Burkina Faso for the production of infant flour will require taking the specific constraints linked to the context of this country into account. In particular, it will be necessary to study the possibilities to locally construct the main spare parts of these equipments. Their performances on raw material available in the country, such as millet, cowpea or groundnut, have also to be evaluated and adapted. In addition, owing to the poor hygienic quality of water used for gruel preparation, it should be preferable to formulate an infant flour to cook for a short time (boiling for 2 or 3 minutes) rather than an instant flour.

Under these conditions, the implementation of the very low-cost extrusion cooking process for the production of infant flour in Burkina Faso could allow to put on the market a cheap and attractive product based on local raw material, offering all the qualities needed to meet infant nutritional requirements, in addition to breastmilk.

Key words: Extrusion cooking - Infant flour - Young children – Gelatinisation – Dextrinisation.

INTRODUCTION

Le procédé de cuisson-extrusion est un des procédés technologiques utilisés pour la production de farines infantiles. Classé parmi les procédés HTST (high temperature-short time), il consiste à pousser une matière première, ou un mélange de matières premières, à l'aide d'une (ou de deux) vis sans fin tournant à grande vitesse dans un étroit fourreau, puis à travers une filière de très petite section (figure 1). Les très fortes pressions et le cisaillement intense engendrés par ce traitement entraînent un autoéchauffement des matières premières qui atteignent en quelques secondes des températures de l'ordre de 120-160°C. En sortie de filière, le retour brutal à la pression atmosphérique entraîne la vaporisation instantanée de l'eau contenue dans le produit et son expansion. Il s'ensuit des modifications biochimiques très importantes ayant des conséquences sur les plans nutritionnel et organoleptique, ainsi qu'une destruction de la flore microbienne et de toute forme de parasites.

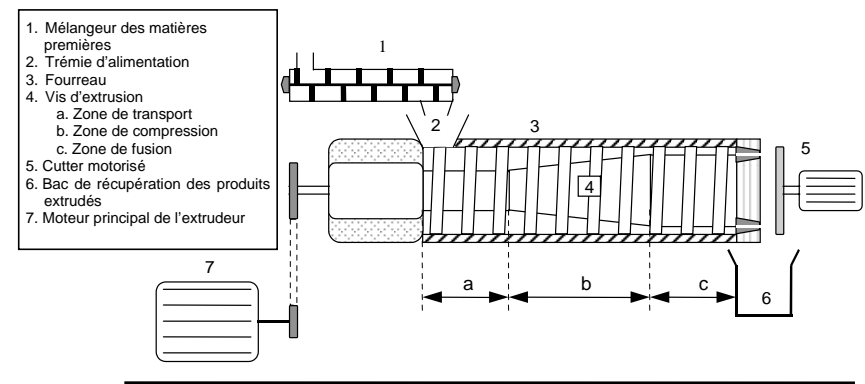


Figure 1: Représentation schématique d'un cuiseur-extrudeur monovis.

Durant la seconde moitié du XX^{ème} siècle, ce procédé intéressant a fait l'objet de nombreuses recherches qui ont abouti à la conception d'équipements extrêmement sophistiqués et performants, variant de par les multiples formes que peuvent prendre les pièces maîtresses que sont la vis, le fourreau et la filière. Au fur et à mesure de leur évolution, les équipements se sont vus dotés d'une seconde vis, tournant ou non dans le même sens que la première, permettant un meilleur contrôle du procédé. D'une capacité de production toujours plus grande (plusieurs tonnes/heures), ils ont finalement atteint un prix très élevé (de l'ordre de 300 000 €, soit 200 millions de Fcfa). De plus, leur niveau de complexité est devenu tel que leur fonctionnement et leur maintenance doivent être confiés à une main-d'œuvre de plus en plus qualifiée. Tout ceci fait que l'utilisation de ces équipements est, à l'heure actuelle, réservée à des entreprises industrielles de taille importante.

Cependant, vers 1970, l'organisme de coopération américain USAID a proposé la mise en œuvre d'un procédé de cuisson-extrusion dit «à faible coût» (*low-cost extrusion cooking*) pour fabriquer, essentiellement à base de maïs et de soja, des aliments pour les jeunes enfants dans les pays en développement¹. L'équipement recommandé est alors un cuiseur-extrudeur monovis simple, autogène (chaleur produite par autoéchauffement des matières premières), permettant l'extrusion de mélanges à faible teneur en eau (inférieure à 20%). Des usines ont été mises en place dans divers pays: Sri Lanka, Costa Rica, Mexique. Actuellement, il en existe

également un certain nombre en Afrique, notamment au Kenya, en Afrique du Sud, et en Ethiopie, entreprises essentiellement créées pour la production d'aliments destinés à l'aide d'urgence en réponse à la demande d'ONG ou d'organismes internationaux. En Afrique de l'Ouest, hormis deux entreprises en Côte d'Ivoire et au Sénégal, le développement du procédé de cuisson-extrusion sur ce modèle reste très limité. La raison principale en est que même pour les équipements dits «à faible coût», l'investissement initial reste très important (environ 50 000 €, soit 33 millions de Fcfa pour le seul cuiseur-extrudeur) et la capacité de production élevée (de 300 kg à 1 tonne/heure), ce qui nécessite des réseaux d'approvisionnement et de distribution bien organisés et un marché bien établi.

Pourtant le procédé de cuisson-extrusion offre de nombreux avantages décrits par plusieurs auteurs^{2,3} parmi lesquels l'inactivation de certains facteurs antinutritionnels tels que les facteurs antitrypsiques, la gélatinisation et la dextrinisation des amidons qui permet la fabrication de produits précuits ou instantanés, la destruction de la flore bactérienne initiale, etc.

Dès lors, la mise au point de cuiseurs-extrudeurs de petite capacité (de l'ordre de 50 kg/h) simplifiés et robustes, devrait constituer une solution intéressante pour la fabrication locale de farine infantile bon marché ayant de bonnes qualités nutritionnelle, organoleptique et sanitaire.

LE CUISEUR-EXTRUDEUR TRÈS FAIBLE COÛT

Historique et description

Il existe en Asie de petits cuiseurs-extrudeurs rudimentaires destinés à la fabrication de gaines et de divers objets en plastique. Les Vietnamiens utilisent ces équipements pour la fabrication de gâteaux de soja ou de nouilles de riz précuites, commercialisés dans la rue. Le GRET et l'IRD, dans le cadre du projet Fasevie⁴ visant à l'amélioration de l'alimentation infantile au Vietnam, ont proposé des modifications et des adaptations des machines vietnamiennes existantes pour la production de farines infantiles à base de matières premières locales, instantanées et bon marché. Le premier équipement de cuisson-extrusion à très faible coût (TFC) mis au point a été décrit de manière détaillée⁵. Une photo des pièces maîtresses (fourreau, vis et filière) est donnée sur la figure 2. Il s'agit d'un cuiseur-extrudeur monovis, autogène, ayant une capacité de production de 30 à 50 kg/h. La longueur du fourreau est de 200 mm, le pas de vis est constant, mais le diamètre du noyau de la vis est croissant afin de permettre une augmentation progressive des forces de friction et, par conséquent, de la température à l'intérieur du fourreau. L'entrefer vis-fourreau se réduit ainsi à 2 mm dans la partie terminale de l'extrudeur. Le rapport longueur du fourreau/diamètre de la vis est de 5. La filière, cylindrique et centrale, est longue de 9 mm et a un diamètre de 5 mm. La vis tourne à une vitesse maximum de 500 tours par minute, mue par un moteur d'une puissance de 10,5 kW.

Cet équipement permet l'extrusion de mélanges ayant une teneur en eau inférieure à 15%, et une teneur en lipides inférieure à 6%. Le temps de séjour à l'intérieur de l'appareil est inférieur à 5 secondes.

Le coût de fabrication au Vietnam du cuiseur-extrudeur TFC est inférieur à 1 500 € (1 million de Fcfa) pour une capacité de production de 40 kg/h. Pour une capacité de production rapportée à 1 tonne/heure, l'investissement initial serait d'environ 30 000 € (20 millions de Fcfa), contre 54 000 € (36 millions de Fcfa) pour les cuiseurs-extrudeurs faible coût, avec la même capacité de production.



Figure 2: Pièces maîtresses du cuiseur-extrudeur très faible coût: 1. Fourreau; 2. Vis; 3. Filière.

PERFORMANCES DU CUISEUR-EXTRUDEUR TFC POUR LA PRODUCTION DE FARINES INFANTILES

Le cuiseur-extrudeur TFC a été expérimenté au Vietnam, pour la fabrication de farines infantiles à base de matières premières produites localement. Différents essais ont été réalisés avec des mélanges formulés à partir de riz, soja et sésame à des teneurs en lipides croissantes (tableau 1).

Tableau 1: Composition et teneurs en lipides des mélanges avant cuisson-extrusion.

	Composition (g/100 g MS)			Teneur en lipides ¹ (g/100 g MS)
	Riz	Soja	Sésame	
Riz	100,0	0,0	0,0	0,7
Mélange A riz/sésame	91,4	0,0	8,6	5,5
Mélange B riz/soja/sésame	64,5	28,1	7,4	11,2

¹ Calculée à partir de la table de composition de Souci et al.⁶

L'évaluation de ses performances a porté sur ses capacités à:

- gélatiniser l'amidon et donner des farines instantanées reconstituables sous forme de bouillie par simple addition d'eau chaude;
- dextriniser l'amidon pour permettre la préparation de bouillies de haute densité énergétique (teneur en matière sèche élevée) à une consistance semi-liquide adaptée au jeune enfant;
- réduire l'activité antitrypsique des mélanges comportant du soja.

Les bouillies sont préparées de façon standardisée, soit selon le mode instantané (addition d'eau à 75°C), soit par cuisson (chauffage puis maintien à ébullition pendant 5 min). La teneur en matière sèche finale des bouillies est déterminée par dessiccation à l'étuve à 105°C jusqu'à poids constant. La consistance des bouillies est

évaluée par la mesure de leur viscosité apparente à 83 s^{-1} et 45°C , selon la méthode recommandée par Mouquet et Trèche⁷.

Le taux de gélatinisation a été calculé comme le ratio de l'amidon endommagé par le traitement sur l'amidon total du mélange. Les teneurs en amidon endommagé et total ont été déterminés par dosages colorimétriques^{8,9}.

Le taux de réduction de l'activité antitrypsique a été calculé comme le ratio des activités antitrypsiques des échantillons avant et après cuisson-extrusion, déterminées par la méthode colorimétrique de Kakade et al. modifiée^{10,11}.

Pour vérifier le caractère instantané de la farine obtenue à partir du mélange extrudé avec le cuiseur-extrudeur TFC, le comportement rhéologique (viscosité apparente en fonction de la concentration) des bouillies préparées selon le mode instantané a été comparé à celui des bouillies préparées par cuisson (figure 3). Pour le riz et le mélange A, on constate que les bouillies préparées par cuisson ont, à viscosité apparente égale, soit la même concentration, soit une concentration supérieure à celles des bouillies préparées par simple addition d'eau chaude: les farines peuvent dans ce cas être considérées comme instantanées. Pour le mélange B en revanche, à viscosité égale, la bouillie préparée par cuisson a une concentration très inférieure à celle de la bouillie selon le mode instantané, ce qui signifie que le traitement de cuisson-extrusion n'a pas permis d'obtenir la gélatinisation totale de l'amidon. Il s'ensuit que la consistance de la bouillie dépend fortement du traitement thermique mis en œuvre pour sa préparation. L'amidon n'étant pas totalement précuit après cuisson-extrusion, cette farine ne peut pas être qualifiée d'instantanée.

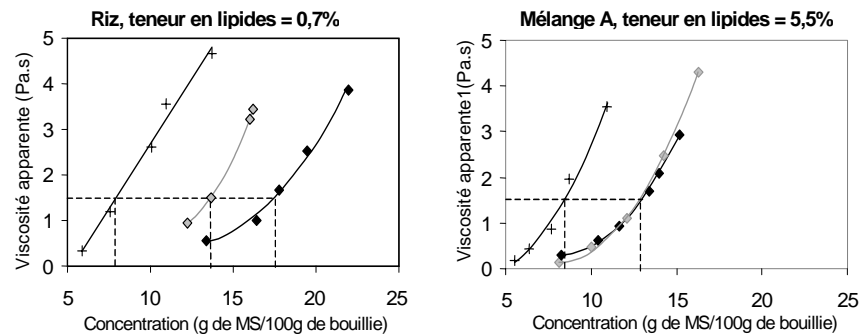


Figure 3: Evolution de la viscosité apparente (83 s^{-1} , 45°C) en fonction de la concentration de bouillies préparées à partir de différents mélanges. (+) bouillies préparées à partir de farines non extrudées par cuisson à ébullition pendant 5 minutes ; (●) bouillies préparées à partir de farines extrudées (avec le cuiseur-extrudeur TFC) par simple addition d'eau à 75°C ; (◆) bouillies préparées à partir de farines extrudées (avec le cuiseur-extrudeur TFC) par cuisson à ébullition pendant 5 min.

La mesure du taux de gélatinisation de l'amidon confirme ces résultats, indiquant un taux de gélatinisation d'environ 100% pour le riz et le mélange A extrudés, et seulement 57% pour le mélange B extrudé.

L'importance de la dextrinisation de l'amidon a ensuite été évaluée en mesurant les gains de concentration obtenus entre deux bouillies préparées à partir des produits crus et extrudés, à une viscosité apparente à 83 s^{-1} égale à $1,5 \text{ Pa.s}$, limite supérieure d'acceptabilité pour un jeune enfant⁵. Les gains sont de + 6,0; + 4,6 et + 1,2 g de MS pour 100 g respectivement pour les bouillies à base de riz et pour les bouillies préparées avec les mélanges A et B. Si, pour les deux premiers produits, ce gain semble satisfaisant (car la farine est ensuite complétée par un pré-mix apportant notamment soja, sucre et complément minéral et vitaminique), il reste insuffisant pour le mélange B.

Il apparaît donc que l'intensité de l'effet du traitement de cuisson-extrusion à l'aide d'un équipement TFC est dépendant de la teneur en lipides du mélange extrudé. En effet, les lipides jouent un rôle de lubrifiant à l'intérieur de l'extrudeur, diminuant ainsi le cisaillement et l'échauffement du produit. Ainsi, l'extrusion du mélange à 11,2% de lipides ne permet pas de conférer au produit les propriétés requises pour une farine infantile et il est préférable d'extruder des mélanges ayant des teneurs en lipides plus faibles et d'ajuster ensuite la teneur en lipides et en protéines des mélanges par addition de farine de soja torréfié après extrusion.

L'intensité du traitement de cuisson-extrusion TFC sur la réduction de l'activité antitrypsique des mélanges est également fortement dépendante de la composition du mélange et des conditions d'extrusion. En comparant les taux de gélatinisation de l'amidon et les taux de réduction de l'activité antitrypsique (AAT) de mélanges extrudés ayant différentes teneurs en lipides et différentes humidités initiales, nous avons mis en évidence une relation entre ces deux paramètres, qui traduisent tous deux, l'intensité thermique, et par conséquent l'efficacité du traitement (figure 4).

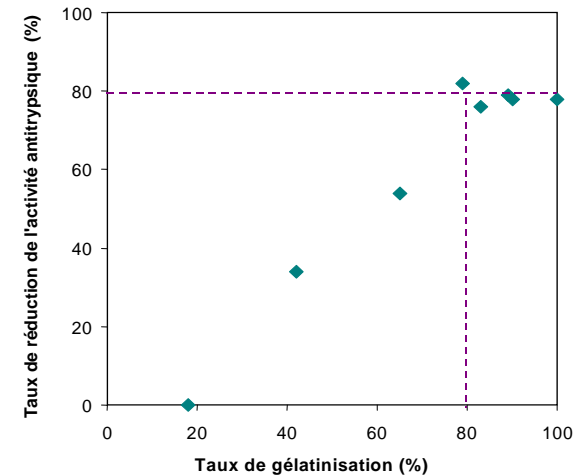


Figure 4: Relation entre le taux de gélatinisation et le taux de réduction de l'activité antitrypsique dans les mélanges contenant du soja avant et après extrusion.

Le taux de réduction de l'AAT augmente avec le taux de gélatinisation de l'amidon jusqu'à atteindre un maximum d'environ 80%. Les teneurs en eau ou en lipides

initiales élevées entraînent une diminution de la température à l'intérieur du cuiseur-extrudeur TFC et donc une moindre performance du procédé. Les conditions optimales de traitement à déterminer sont les conditions minimales permettant d'obtenir une gélatinisation totale (100%), une réduction de l'AAT maximale (environ 80%). Un traitement plus sévère, sans effet bénéfique sur la gélatinisation ni sur l'AAT, risquerait d'engendrer des effets néfastes sur la valeur nutritionnelle tels que l'indisponibilisation de la lysine, dus à des réactions de Maillard trop poussées.

Ces résultats montrent néanmoins que dans les conditions appropriées, le traitement à l'aide du cuiseur-extrudeur TFC permet d'obtenir des produits ayant les qualités requises (précuisson, dextrinisation de l'amidon et diminution de l'AAT) pour la préparation de farines infantiles de bonnes qualités nutritionnelles.

INTÉRÊTS ET CONTRAINTES DE LA MISE EN ŒUVRE DE CUISEURS-EXTRUDEURS TRÈS FAIBLE COÛT DANS LE CONTEXTE BURKINABÈ

Une étude récente du marché des farines infantiles commercialisées dans les principales villes Burkina Faso (résultats non publiés) montre que l'offre est majoritairement constituée de farines infantiles importées fabriquées par de grands groupes agro-alimentaires tels que Danone, Nestlé ou Numico (Nutricia). Cependant ces farines sont excessivement chères (entre 3500 et 8000 Fcfa/kg) et hors de portée de la majorité des ménages burkinabè. Les farines infantiles de fabrication locale ne représentent qu'une faible part de l'offre et seuls 6 producteurs de type PME ou groupements communautaires ont pu être identifiés. Les principaux aliments de complément donnés aux jeunes enfants restent de simples bouillies de céréales, fermentées ou non, très pauvres sur le plan nutritionnel.

Le premier intérêt de la mise en œuvre de cuiseurs-extrudeurs TFC au Burkina Faso serait de permettre la production de farines infantiles attractives à bas prix, accessibles à une large frange de la population ayant de faibles revenus. Un autre atout essentiel pour la réussite d'un projet de production de farines infantiles à l'aide de cuiseurs-extrudeurs TFC est leur faible capacité de production, adaptée au contexte burkinabè, où les approvisionnements en matières premières restent incertains, où les réseaux de distribution sont peu structurés et restreints à de courtes distances et où le marché doit être créé car peu de gens sont encore conscients de la nécessité de donner aux jeunes enfants des aliments de complément formulés spécifiquement. La petite capacité des équipements de production permet ainsi d'envisager la mise en place de plusieurs unités dans les principales villes du pays, afin de situer la production au plus près de la demande et de réduire les délais de distribution.

Ces farines présenteraient en outre les nombreux avantages liés au procédé de cuisson-extrusion:

- excellente qualité bactériologique grâce aux températures élevées mises en œuvre;
- destruction des insectes et parasites ainsi que de leurs œufs sous l'effet combiné des hautes températures et du cisaillement intense du produit dans le fourreau; cet avantage, s'il se vérifie avec les cuiseurs-extrudeurs TFC, serait considérable, car le développement de larves et d'insectes au cours du stockage est un problème récurrent pour tous les produits céréaliers au Burkina et conduit à des dépréciations rapides et importantes de l'aspect et des qualités organoleptiques des produits;
- meilleure qualité nutritionnelle (i) grâce à la destruction des facteurs antitrypsiques présents dans les graines de légumineuses ou de soja, susceptibles de compléter

de façon adéquate les apports en acides aminés des céréales, (ii) grâce à la dextrinisation partielle de l'amidon qui permet de préparer des bouillies de haute densité énergétique;

- meilleure digestibilité due à la gélatinisation de l'amidon et à une solubilisation partielle des fibres;
- meilleure qualité organoleptique du fait de la formation de composés aromatiques due aux réactions de Maillard se produisant au cours du procédé.

Toutefois, deux contraintes importantes doivent être prises en compte. D'une part, l'alimentation en électricité au Burkina Faso est peu fiable même dans les principaux centres urbains où l'on observe de fréquentes coupures. Or, lors d'une coupure même très brève, l'arrêt de la vis à l'intérieur du fourreau brûle le produit ce qui entraîne l'arrêt de la production et l'ouverture de la machine pour le nettoyage. La mise en place d'un système de régulation de l'alimentation électrique (onduleur, groupe électrogène) doit donc être envisagée. D'autre part, en raison de la mauvaise qualité sanitaire de l'eau de consommation utilisée par les ménages, il n'est pas recommandé de mettre sur le marché des farines infantiles instantanées. La production devrait alors se tourner vers des farines «à cuisson rapide» qui permettrait la préparation de bouillies après seulement 2 à 3 minutes d'ébullition. Cette courte durée d'ébullition devrait être suffisante pour assurer de bonnes qualités hygiéniques à la bouillie et devrait constituer un gain de temps pour les mères par rapport à la préparation des farines à cuire traditionnelles qui nécessitent une cuisson plus longue. De plus, pour la plupart des produits extrudés (voir le cas du riz, figure 3), la préparation par cuisson entraîne une fluidification secondaire des bouillies, ce qui permet à viscosité apparente égale, d'augmenter encore la concentration donc la densité énergétique à laquelle la bouillie peut être préparée.

Enfin, le transfert de la cuisson-extrusion TFC au contexte du Burkina Faso nécessite encore un travail important de recherche-développement pour déterminer les conditions optimales d'extrusion de mélanges de matières premières locales (mil, maïs pour les produits amylicés et niébé, arachide, sésame ou soja pour les produits riches en protéines et/ou en lipides) ainsi qu'une étude des possibilités de maintenance et de construction locale du cuiseur-extrudeur TFC ou tout au moins des principales pièces d'usure que sont la vis et le fourreau.

CONCLUSION

Dans le cadre du projet Fasevie, trois petites entreprises de production de farine infantile par cuisson-extrusion TFC ont été mises en place et commercialisent actuellement des produits de bonne qualité et très bon marché au Vietnam.

Le transfert du procédé au Burkina Faso semble prometteur en raison notamment de la petite capacité de production et du faible prix du cuiseur-extrudeur TFC, bien adaptés aux caractéristiques du contexte burkinabè. Toutefois, un travail préalable de mise au point des conditions d'extrusion sur des mélanges de matières premières produites localement et de recherche des possibilités de maintenance et construction locales doit être réalisé.

RÉFÉRENCES

1. Harper J, Jansen G. Production of nutritious precooked foods in developing countries by low-cost extrusion technology. *Food Rev Int* 1985;1:27-97.

2. Björck I, Asp N. The effects of extrusion cooking on nutritional value - A literature review. *J Food Eng* 1983;2:281-308.
3. Camire M, Camire A, Krumhar K. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1990;29:35-56.
4. Monvois C, Trèche S. Quelles stratégies pour l'amélioration de l'alimentation des jeunes enfants en Afrique ? Leçons tirées de projets menés à Madagascar et au Vietnam. Communication orale présentée au 2^{ème} Atelier International «Voies alimentaires d'amélioration des situations nutritionnelles en Afrique de l'Ouest: Le rôle des technologues alimentaires et des nutritionnistes». Ouagadougou : Univ. Ouagadougou / Univ. Wageningen / IRD / FAO, 23-28 novembre 2003.
5. Mouquet C, Salvignol B, van Hoan N, Monvois J, Trèche S. Ability of a "very low-cost extruder" to produce instant infant flours at a small scale in Vietnam. *Food Chem* 2003;82:249-55.
6. Souci S, Fachman W, Kraut H. Food composition and nutrition tables. London: Medpharm Scientific Publisher & CRC Press, 2000.
7. Mouquet C, Trèche S. Viscosity of gruels for infants: a comparison of measurement procedures. *Int J Food Sci Nut* 2001;52:389-400.
8. Batey IL. Starch analysis using thermostable α -amylase. *Starch* 1982;4:125-8.
9. Chiang CJ, Johnson JA. Measurement of total and gelatinized starch by glucoamylase and o-toluidine reagent. *Cereal Chem* 1977;54:429-35.
10. Kakade ML, Rackis JJ, MacGhee JE, Puski G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem* 1974;51:376-82.
11. Smith C, van Megen W, Twaalfhoven L, Hitchcock C. The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs. *J Sci Food Agric* 1980;31:341-50.

Impact de l'innovation technologique sur l'amélioration des systèmes alimentaires du Nord Cameroun

Ndjouenkeu^{1*} Robert, Cerdan² Claire

¹ ENSAI, Université de Ngaoundéré, B.P. 455, Ngaoundéré, Cameroun.

² CIRAD TERA, Avenue Agropolis, 34398, Montpellier, Cedex 5, France.

*Auteur correspondant: rndjouenkeu@yahoo.fr

- Résumé -

Les systèmes agroalimentaires du Nord Cameroun, en raison de leur place importante dans l'alimentation des villes et de leur contribution à la valorisation des ressources agricoles locales, ont suscité des efforts d'innovation et d'adaptation technologique traduits à travers divers projets de recherche et de développement. Le présent article présente, à partir d'un diagnostic des structures de transformation alimentaire des trois principales villes de la région (Ngaoundéré, Garoua et Maroua), les besoins en innovation de ce secteur d'activité, et montre, à travers 3 études de cas (valorisation de l'igname, développement de produits laitiers et production de jus de fruits), comment l'introduction d'innovation a contribué à améliorer les systèmes. Les innovations introduites ont consisté principalement à favoriser un échange de savoir-faire entre paysans (cas de la valorisation de l'igname) et à former les acteurs à des procédés améliorés de production (lait et jus de fruits). Les effets positifs des innovations portent à la fois, et selon les cas, sur la sécurité alimentaire, la diversification alimentaire, la qualité des produits, la création de nouvelles niches de marché, la professionnalisation et l'organisation des acteurs. L'analyse des processus mis en œuvre dans l'introduction des innovations et des effets induits, permet de tirer des enseignements sur les difficultés relatives à la construction de la qualité des produits de l'artisanat alimentaire, et montre la nécessité d'une démarche systémique pour l'amélioration de ces systèmes alimentaires.

Mots-clés: Systèmes agroalimentaires – Innovation – Igname – Lait – Jus de fruits.

- Abstract -**Effect of the technological innovation on improvement of the North Cameroon agro-food systems**

The North Cameroon agro-food systems, because of their importance in feeding the towns and their contribution to develop local agricultural resources, have created innovation efforts and technological adaptation through various research and development projects. This article presents from the diagnosis of food processing structures of the three main towns (Ngaoundéré, Garoua and Maroua) of the region, innovation needs of this sector of activities, and shows, through 3 studies (yam valorisation, development of dairy products, and fruit juice production), how introducing innovations has contributed to improve the systems.

These innovations have consisted to favour a know-how exchange between farmers (yam valorisation case) and to train the actors to improved processes of production (milk and fruit juice). The positive effects of innovations, according the cases, deal with food security, food diversification, product quality, creation of new markets, and professionalization and organization of the actors. The analysis of the implemented methods to introduce innovations and of induced effects allows to learn lessons on difficulties associated to product quality building in food cottage industry and to show the necessity of a systematic approach for the improvement of these food systems.

Key words: Agro-food systems – Innovation – Yam – Milk – Fruit juice.

INTRODUCTION

L'un des traits caractéristiques des villes africaines, en raison de leur croissance rapide, est la multiplication d'activités informelles qui, la plupart du temps, constituent la base des systèmes économiques populaires urbains. Ce secteur informel est constitué de petits métiers parmi lesquels l'artisanat alimentaire occupe une place importante. Le caractère informel de la majorité de ces structures agro-alimentaires explique la rareté des données statistiques afférentes. Les quelques données disponibles concernent les capitales. La situation des villes secondaires, qui constituent pourtant la matrice des dynamiques rurales est largement méconnue.

Au Nord-Cameroun, zone de savanes dont le développement s'appuie sur 3 villes secondaires (Ngaoundéré, Garoua et Maroua), le secteur artisanal agroalimentaire s'est développé autour de la transformation des principales productions agricoles de la région (céréales, arachides, fruits et légumes, lait). Un inventaire des structures de transformation, mené en 1999, a contribué à évaluer la place de ce secteur dans l'économie locale des villes de la région et à relever des contraintes. Celles-ci sont liées au système de construction de la qualité dans les structures, ou mettent en évidence un besoin en innovation technologique et en renforcement des capacités des acteurs.

La levée de ces contraintes, condition première de l'émergence des structures du secteur, a conditionné et justifié l'implication de la recherche dans un certain nombre d'actions de développement et d'innovation technologiques locales.

Le présent papier fait le point sur quelques actions d'innovation ayant contribué à améliorer le statut alimentaire et économique des acteurs et de la population. Il s'appuie sur la présentation succincte de la démarche d'innovation mise en œuvre, et insiste, à partir de trois études de cas, sur la contribution de ces innovations à l'amélioration des systèmes agro-alimentaires du Nord Cameroun.

ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES DES INNOVATIONS

La mise en œuvre d'une démarche d'innovation dans un système donné suppose, au préalable, le constat de l'existence d'une contrainte importante justifiant le besoin d'apporter une amélioration au système. Sur le plan alimentaire, le besoin de garantir la sécurité alimentaire d'une population sans cesse croissante et de réduire les pertes post-récolte servent souvent de prétexte au lancement d'innovations impliquant la diversification des produits, l'amélioration des procédés, la mise en marché, etc...

L'observation des systèmes agricoles offre, le plus souvent, le constat d'une disponibilité de ressources agricoles exploitables et de ressources techniques endogènes valorisables. Par ailleurs, l'augmentation de la population urbaine offre un marché à l'écoulement des produits de l'agriculture. Dans le contexte du Nord Cameroun, la croissance des villes (Ngaoundéré, Garoua et Maroua) a été favorisée, au cours de ces 15 dernières années, d'une part, par le renforcement des structures administratives (création de nouvelles provinces) qui a drainé une population constituée en majorité de fonctionnaires; d'autre part par une relative amélioration des moyens de communication (bitumage de la route Ngaoundéré – Garoua – Maroua – N'Djamena). Cette évolution a évidemment remodelé le paysage urbain de la région, avec de nouvelles habitudes et exigences de consommation: afflux de produits alimentaires divers, en provenance du Sud du pays et de N'Djamena (Tchad), développement des circuits de distribution, apparition de nouvelles formes de consommation. Face à ces nouvelles exigences, et eu égard à la fois aux pertes post-récolte pouvant quelquefois affecter plus de 50% de la production, et à la concurrence

des produits extérieurs, les systèmes agroalimentaires locaux ont besoin de s'adapter pour y répondre, voire pour survivre.

Ce constat justifie la valorisation technologique et commerciale des ressources alimentaires locales sur la base de leur adaptation aux exigences du marché. Dès lors, l'innovation consiste à favoriser la rencontre entre les acteurs concernés par ces ressources techniques et les exigences du marché. Cependant, la diversité des acteurs et des techniques implique des interactions entre les mouvements d'innovation et les connaissances scientifiques et techniques qu'il convient de gérer au mieux, en termes d'opportunité et d'impact sur les systèmes alimentaires concernés. Ce besoin interpelle la recherche technologique dans la mesure où celle-ci contribue à l'identification et à la mise en œuvre des innovations. La démarche adoptée à cet égard sera déterminante pour l'appropriation de l'innovation et/ou le développement des savoir-faire plus ou moins améliorés.

La formulation de cette hypothèse sur le rôle de la recherche technologique, justifie alors une démarche de valorisation que Chuzel et Muchnik¹ dénomment «recherche technologique de terrain», et qu'ils formulent en 4 étapes (figure 1). Cette démarche de recherche-action implique: *i*) l'identification des ressources techniques de la région; celles-ci doivent servir de repères au choix des innovations à mettre en place; *ii*) le diagnostic du système, dans le but d'en comprendre le fonctionnement et les contraintes, et choisir les innovations à introduire; *iii*) l'expérimentation et la diffusion des innovations; *iv*) et enfin leur évaluation en termes d'impact sur le développement ou l'amélioration du système. Les auteurs de la démarche insistent sur la nécessité, pour sa mise en œuvre, de constituer, au préalable, «un groupe opérationnel d'innovation» intégrant aussi bien les acteurs de la recherche technologique que les agents économiques du système à étudier. Par ailleurs, cette démarche théorique n'est pas obligatoirement linéaire dans ses séquences, les objectifs de recherche et les séquences du processus pouvant évoluer ou se confondre aussi bien dans leur concept qu'en fonction de l'appréciation des résultats intermédiaires.

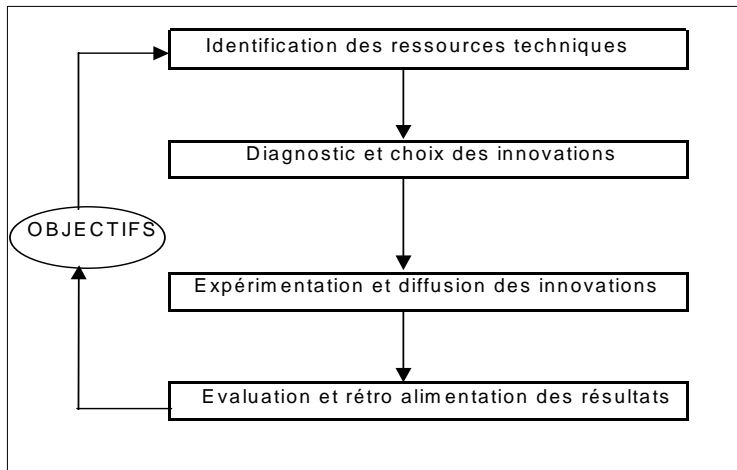


Figure 1: Démarche de recherche technologique de terrain pour la valorisation de ressources techniques locales (Chuzel, Muchnik, 1993).

Cette démarche de recherche technologique de terrain a été mise en œuvre, avec quelques variantes conjoncturelles, dans des actions destinées à améliorer les systèmes agro-alimentaires du Nord Cameroun. Ces actions ont été menées par un groupe opérationnel constitué, d'une part de l'IRAD (Institut de la Recherche Agronomique pour le Développement), station de Garoua, et de l'ENSAI (Ecole Nationale Supérieure des Sciences Agro-Industrielles) de Ngaoundéré; d'autre part des services publics spécialisés (Ministère de la Condition Féminine, Ministère des Affaires Sociales), d'ONG et des opérateurs impliqués dans les filières concernées. La base de départ du travail reposait sur les diagnostics des systèmes menés par l'IRAD et l'ENSAI.

LES SYSTÈMES AGROALIMENTAIRES DU NORD CAMEROUN: DIAGNOSTIC ET IDENTIFICATION DES BESOINS EN INNOVATION

Le diagnostic des activités marchandes de stockage et de transformation des produits alimentaires en milieu urbain dans la zone des savanes^{2,3,4} a permis de dénombrier près de 4600 unités agroalimentaires dans l'ensemble des 3 villes du Nord Cameroun (tableau 1). Ces 3 villes totalisent une population d'environ 550.000 habitants et devraient dépasser le million à l'horizon 2010. Sur la base de 6 personnes en moyenne par famille, cela signifie qu'environ 1 foyer sur 25 a une source de revenu d'origine agroalimentaire.

Tableau 1: Recensement des unités de transformation agroalimentaires à Garoua, Maroua et Ngaoundéré.

Denrées	Garoua (230 000 hab.)	Maroua (200 000 hab.)	Ngaoundéré (110 500 hab.)
Arachide	221	305	55
Boissons non alcoolisées	312	138	65
Boissons alcoolisées	162	690	68
Viandes et poissons	129	215	101
Beignets	288	284	126
Restauration	350	364	172
Céréales décortiquées et farines	169	125	77
Autres	16	81	4
Produits stockés	73	51	45

Les principaux produits concernés par ces activités portent sur la transformation des céréales et de l'arachide, avec cependant des différences entre les villes. On note à cet égard, une prédominance de la production de bière à Maroua, contre une forte implantation de structures de boissons non alcoolisées à Garoua, alors qu'à Ngaoundéré, la production et la transformation de viande et de poisson tiennent la vedette. On note également le développement, dans des proportions semblables, du secteur de la restauration et des snacks (beignets, bouillies), ce qui confirme une évolution des modes de consommation en milieu urbain où le recours à des mets préparés et la restauration extérieure prennent une part de plus en plus importante dans la consommation des ménages. La variabilité de ces activités, d'une ville à l'autre, tient principalement de la variabilité des ressources agricoles locales. Face à l'enclavement des zones agricoles qui impose des contraintes à la distribution efficace des produits en frais, les paysans ont mis à profit l'abondance du soleil dans la région pour développer des filières de produits séchés, distribués sur la quasi-totalité des

marchés de la sous-région. Cette activité de séchage a contribué à développer et à valoriser la filière poudre de tomate dont plus de 90% de la production est séchée au soleil, et écoulee sous forme de poudre sur la plupart des marchés de la zone des savanes d'Afrique Centrale, avec des plus-values substantielles dans certains secteurs de la filière⁵.

L'analyse du fonctionnement de ces systèmes met en évidence des contraintes technologiques, d'organisation et de valorisation commerciale qui constituent autant de problèmes à résoudre pour la construction de la qualité des produits et des systèmes de production.

Les activités de transformation sont généralement conduites sur la base des acquis technologiques traditionnels, transmis de père en fils ou de mère en fille. La mise en œuvre de ces technologies peut être variable entre différents producteurs, voire d'une production à l'autre au sein d'une même unité, ce qui indique un manque de rationalisation des procédures qui peut être préjudiciable à la rentabilité des structures. A ceci s'ajoute les conditions d'hygiène des structures de production et de distribution, et le conditionnement des produits qui représentent autant de facteurs limitants vis-à-vis de leur qualité. Ces facteurs technologiques peuvent, dans certains cas, contribuer à limiter la valorisation commerciale des produits en termes d'accès à un marché plus ouvert et plus concurrentiel. Il en est ainsi de la poudre de tomate - séchée au soleil et vendue en vrac - qui présente un attrait commercial limité en raison de sa couleur sombre et de sa charge élevée en poussière. De même, des efforts de valorisation, par les paysans, de l'abondance des fruits (mangue, goyave, citron, etc...) de la région, à travers leur transformation en jus, restent limités par les formes de présentation non hygiéniques et non attractives des produits⁶. Par ailleurs, la faible diversification alimentaire et nutritionnelle de certains produits tels que l'igname et le lait, représentatifs d'une valeur culturelle forte des populations endogènes, constitue une contrainte à la sécurité alimentaire de ces populations, dans la mesure où leur faible niveau de transformation fait le lit des pertes post-récolte et occulte leur potentiel de conversion en produits à forte valeur ajoutée (produits laitiers divers, farines de tubercules, etc.).

Le développement des structures de l'artisanat alimentaire repose le plus souvent sur des dynamiques familiales, tribales, voire régionales, et s'appuient sur des stratégies endogènes des acteurs, variables d'une région à l'autre ou d'un produit à l'autre, et qu'il convient d'étudier. Des exemples de ces dynamiques se rencontrent, par exemple, dans le système de transformation du *kilishi*, le circuit de distribution de la tomate dans les savanes du bassin du Lac Tchad.

Au-delà de leur variabilité, les activités agroalimentaires urbaines possèdent des caractéristiques communes fondées sur: *i*) leur caractère artisanal et décentralisé, car elles sont réparties selon les quartiers et les marchés, avec des phénomènes fréquents de concentration spatiale; *ii*) leur autonomie, car elles sont le plus souvent individuelles et fonctionnent sans assistance officielle, financière ou technique; *iii*) leur appui sur le système agricole qui concourt à la valorisation des ressources agricoles locales; *iv*) leur aptitude à rechercher en externe, dans des réseaux de proximité sociaux ou géographique, les solutions à leurs problèmes techniques, financiers, commerciaux, de main-d'œuvre.

La réhabilitation du rôle de ces microstructures agroalimentaires dans le développement local, a contribué à des innovations aussi bien techniques qu'organisationnelles dans ce secteur d'activité: différenciation des produits, et nouveaux produits, mécanisation de certaines opérations, organisations collectives des transformateurs⁶. Ainsi, quelques filières ont vu émerger des entreprises de taille un peu supérieure aux activités artisanales individuelles, voire des PME, qui

proposent des produits locaux aux présentations similaires à celles des produits industriels classiques (stabilisation et conditionnement).

La mise en place de projets de développement adaptés a contribué à cette dynamique, avec un appui significatif de la recherche technologique dans la construction de la qualité des systèmes concernés et des produits. Trois exemples portant sur la valorisation de l'igname pour les marchés urbains, le système de transformation laitière, et la valorisation commerciale de jus de fruits locaux servent d'étude de cas pour illustrer cette implication de la recherche technologique dans le processus de développement des systèmes agro-alimentaires locaux.

IMPLICATION TECHNOLOGIQUE DES INNOVATIONS: ÉTUDE DE CAS

L'opportunité offerte par le développement des marchés urbains signifie, entre autres, d'adapter l'offre en aliments aux conditions de vie et aux attentes des consommateurs citadins. A cet égard, l'intégration des structures de recherche technologique a consisté à développer des processus d'innovation visant, d'une part à améliorer la qualité et l'utilisation des produits, d'autre part à diffuser des savoir-faire auprès des acteurs.

La valorisation de l'igname pour les marchés urbains

La province de l'Adamaoua, et plus particulièrement la région de Mbé, située à 80 km de Ngaoundéré, apparaît, au Cameroun, comme la principale zone de production d'ignames. Les variétés produites, de type *rotundata*, généralement de grande taille, alimentent les marchés de Ngaoundéré et des principales villes du pays. Le principal frein au développement de cette activité agricole repose sur la pénibilité de la culture qui exige de grosses buttes élaborées manuellement, et la vente exclusive en frais des tubercules. Cette forme unique de distribution, bien que correspondant aux besoins des consommateurs, ne permet pas une disponibilité permanente du produit, eu égard au fait que le système de culture ne permet qu'une seule production sur l'année, pendant une période limitée (Septembre – Décembre). Par ailleurs, les structures de conservation ne permettent pas de maintenir la distribution des tubercules au-delà de la période de récolte. Le système de production de l'igname pose ainsi un problème faisant appel, à la fois à un besoin de réduire la pénibilité de la culture, et de pouvoir effectuer des récoltes à des moments différents, à défaut d'assurer la conservation des tubercules.

Parti du constat d'une dynamique endogène de transformation traditionnelle de l'igname en cossettes pour l'approvisionnement des villes du Bénin, ainsi que de l'analyse des avantages et des problèmes inhérents au système de production et de transformation de l'igname dans ce pays, un projet de développement a été initié, avec l'appui financier du Ministère Français des Affaires Etrangères, dans les buts, entre autre: *i*) de diffuser le savoir-faire béninois vers d'autres pays producteurs et consommateurs d'igname, mais ne connaissant pas les techniques de production et d'utilisation des cossettes; *ii*) de concevoir, d'optimiser et de diffuser de nouveaux produits à base de cossettes d'igname, afin de diversifier son utilisation et d'ouvrir ainsi de nouveaux marchés; l'alimentation des marchés urbains étant, ici, la principale cible.

La mise en œuvre du projet au Cameroun, centrée sur la partie septentrionale du pays, et impliquant l'IRAD et l'ENSAI, a permis de mener une étude d'acceptabilité de la farine d'igname dans la région, de former des opérateurs à la transformation de l'igname en cossettes et en farine, et de développer des recettes à base de farine d'igname.

L'étude d'acceptabilité de la farine, outre le fait qu'elle permettait aux populations locales de découvrir un nouveau produit, a suscité, auprès des opérateurs paysans et des consommateurs un intérêt particulier lié à la possibilité de consommer un produit local autrement. En effet, les populations enquêtées, consommatrices de farine de céréales (maïs, sorgho) sous forme de pâte cuite (*boule*), ont rapidement intégré l'opportunité d'une autre forme de préparation de la boule. Cette appropriation a été d'autant plus significative auprès des producteurs d'igname que ceux-ci sont exclusivement consommateurs de boule.

L'impact, à priori positif de la farine d'igname a permis d'identifier et d'évaluer la demande réelle des populations en savoir-faire, et a servi ainsi de phase préparatoire à l'introduction du système cossettes au Nord Cameroun, et à la formation des acteurs concernés.

Dès lors, une démarche de formation au système cossettes a été élaborée et mise en œuvre. Celle-ci consistait en:

- un échange de savoir-faire entre paysans et transformateurs Béninois et Camerounais;
- une formulation et une démonstration de produits à base de cossettes et de farine d'igname, suivie d'essais de production et de transformation par les paysans;
- une phase pilote de transformation et de commercialisation des cossettes par les acteurs, avec l'appui des structures de recherche.

L'ensemble de ces étapes de formation et d'introduction du système cossettes a été mis au point par la recherche, tout en privilégiant, dans leur mise en œuvre, l'implication des acteurs paysans.

L'appropriation des innovations par les acteurs s'est réalisée de façon différentielle entre la ville et les villages. Les acteurs et consommateurs urbains ont apprécié la possibilité d'intégrer la farine d'igname dans diverses recettes culinaires (pâtisserie, bouillies...), mais n'ont pas accepté la couleur sombre du produit, résultant d'un brunissement au cours des procédés de transformation de l'igname en cossettes. Ce critère n'a par contre pas constitué un handicap dans les villages, où les habitudes de consommation, notamment pendant les périodes de soudure, sont centrées sur la boule préparée à partir de la farine de mil rouge; cette dernière présente un aspect relativement comparable à la farine d'igname. Dans les villages, l'innovation s'est traduite par une tendance à la reconversion des producteurs de tubercules vers une consommation de farine d'igname à l'échelle familiale, au détriment du mil rouge en particulier. Le frein au développement du système repose toutefois sur le système agricole qui, en raison des disponibilités semencières, reste contraint à la production exclusive des variétés d'igname locales à gros tubercules, plus pénibles à la culture et moins convenables à la transformation en cossettes. Cette contrainte révèle une réorientation de la demande du monde paysan qui souhaiterait disposer de semences de la variété *kokoro*, cultivée au Bénin, et plus convenable à la transformation en cossettes. Cette demande interpelle aussi bien les structures de recherche et de développement que les politiques et les pouvoirs publics, et réoriente les objectifs initiaux de la recherche technologique. Il s'agit désormais, vis-à-vis des marchés urbains, de résoudre la contrainte technologique inhérente au brunissement des cossettes; et, vis-à-vis de la production paysanne, de rechercher les conditions de vulgarisation du *kokoro* dans la région, ou mieux, d'adapter la culture des variétés locales à la transformation en cossettes. Les recettes culinaires (bouillies, produits de panification, snacks ...) développées par les ménagères à partir de la farine d'igname, et présentant un potentiel de commercialisation, sont autant d'éléments qui militent en faveur d'un développement de variétés d'igname convenable au système cossettes.

Le projet de développement laitier

La tradition pastorale des populations du Nord Cameroun a favorisé, en marge de l'élevage bovin pour la viande, une activité de production et de transformation laitière, intégrée de façon significative, aussi bien dans les habitudes alimentaires locales que dans l'artisanat alimentaire de la région. Le caractère marginal et informel de cette activité a contribué à ignorer le niveau de sa contribution réelle à la couverture de la demande en produits laitiers de la région.

À l'échelle paysanne, l'activité de production et de transformation laitière, qui propose différents produits (*kindirmou*, *pendidam*, *bol*, etc...) distribués de façon ambulante ou sur quelques places de marché, s'appuie sur une structure exclusivement familiale qui offre à la ménagère, principale intervenante dans la filière, une source de revenus subsidiaires pour les besoins de la famille. Les conditions ménagères de production et de transformation, avec des moyens techniques précaires, constituent l'une des principales contraintes au système paysan, et contribuent notamment à limiter la qualité hygiénique des produits⁷.

Les volumes cumulés de lait frais déclarés par les producteurs paysans laissent entrevoir le potentiel de cette activité par rapport à la demande en produits laitiers qui, au demeurant, présentait en 1995, un déficit de 200.000 tonnes pour les seules villes de Garoua et Maroua⁸. Ce déficit semble avoir justifié le développement, par les femmes des centres urbains, d'une production et d'une commercialisation de produits laitiers (yaourts notamment) fabriqués dans des conditions artisanales à partir de laits reconstitués d'importation.

Le besoin de combler ce déficit par un développement de la production locale a certainement justifié, au début des années 90, la mise en place d'un projet de développement laitier, basé dans la région de Ngaoundéré, zone leader de l'activité pastorale nationale.

L'interpellation des structures de la recherche technologique dans ce projet a porté d'une part sur l'amélioration des races bovines par insémination artificielle, d'autre part sur l'amélioration des techniques de traite et de traitement du lait.

Si les essais d'insémination artificielle n'ont pas donné les résultats escomptés, l'amélioration technologique des systèmes de production et de transformation a contribué à valoriser l'image de la filière.

La démarche d'amélioration technologique adoptée a consisté en trois composantes:

- formation primaire des acteurs locaux de la filière aux bonnes pratiques d'hygiène et aux techniques modernes de traitement du lait;
- contribution à la mise en œuvre d'une unité pilote moderne de traitement et de transformation du lait;
- formation du personnel de l'unité pilote (personnel issu; pour la plupart, des formations primaires) aux techniques de production, à l'utilisation des équipements et au contrôle de la qualité des produits.

L'implantation et le démarrage de l'unité de pilote a eu pour impact:

- la structuration de la filière de production de lait, avec pour conséquence une organisation du circuit de collecte auprès des fermiers à un prix garanti;
- la disparition des réseaux ambulants de distribution de lait et produits laitiers paysans dans des cales, et dans des conditions peu hygiéniques;
- la disparition des réseaux ménagers de production et de distribution de yaourts à base de lait reconstitué;
- l'amélioration, voire la standardisation de la qualité des laits et produits laitiers proposés sur le marché;

- le développement d'un réseau de distribution du lait et des produits laitiers issus de l'unité pilote.

Ce dernier impact est couplé à la prise de conscience des acteurs de la filière sur le potentiel réel de leur activité. Un nombre significatif de ceux-ci, travaillant initialement pour le compte de l'unité pilote, a ainsi décidé de valoriser lui-même sa production laitière. Ceci s'est traduit par une multiplication de microstructures plus ou moins modernes de production de lait et des produits laitiers. La conséquence immédiate en a été la réduction significative des volumes de lait frais livrés à l'usine pilote, d'où l'arrêt de ses activités et des négociations de rachat ou de contrôle par les opérateurs de la filière.

Si, au plan individuel, en milieu urbain, le développement des activités de l'usine pilote a créé un manque à gagner pour les femmes distributrices de yaourt ménagers, l'amélioration de la qualité des produits offerts aux consommateurs constitue, à cet égard un argument suffisant, en raison notamment du peu d'intérêt manifesté désormais par les consommateurs de ces produits ménagers de qualité non garantie. Par ailleurs, l'amélioration du revenu net des paysans producteurs de lait peut être présenté comme le principal acquis positif du projet de développement.

La valorisation technologique et commerciale des jus de fruits locaux

Des études menées dans le Nord Cameroun sur la consommation des boissons^{2,4,9} ont montré une forte représentativité des boissons rafraîchissantes. Ce secteur concerne essentiellement 3 types de produits⁶: les boissons industrielles (Coca Cola, Fanta, Top, Njino ...) fabriquées par les unités industrielles nationales, les jus de fruits importés, conditionnés en sachet Doypack ou en bouteilles plastiques, les jus locaux (citron, oseille, sucettes ...), fabriqués par les ménagères et distribués en vente ambulante dans des sachets plastiques fins noués, dans des gobelets ou dans des bouteilles de récupération.

Plusieurs limites entravent la valorisation commerciale des boissons du secteur artisanal. La production est essentiellement familiale et très saisonnière, avec une activité très intense en saison sèche. Mais cette intensité chute de près de 60% en saison de pluies ou les vacances scolaires, ou encore pendant le ramadan^{4,10}. Par ailleurs, les consommateurs sont face à plusieurs incertitudes sur la qualité des produits: composition des produits, origine de la matière première, conditions de production. Ces boissons artisanales sont pourtant les plus consommées par le grand public, notamment les élèves, en raison de leur bas prix: environ 100 FCFA/litre. Les boissons industrielles et d'importation sont, quant à elles, vendues à un prix moyen variant entre 475 FCFA et 950 FCFA le litre, ce qui, notamment pour les boissons importées, leur donne une image de produit de luxe.

Le constat de cet écart de prix et la disponibilité des ressources végétales transformables, laissent penser à la possibilité de garantir un marché aux jus locaux si les conditions de production (hygiène notamment) sont améliorées, de manière à en sortir un produit de qualité à un prix abordable⁶. L'innovation à introduire est alors, sur la base des ressources techniques locales, un nouveau produit répondant, au moins en partie, aux incertitudes des consommateurs. Une action a ainsi été mise en place pour accompagner et appuyer l'émergence de petites entreprises dans ce secteur. La démarche d'action consistait à élaborer, avec les opérateurs, le concept du produit, à en construire la qualité et à mettre au point une stratégie commerciale pour sa mise en marché⁶.

A la suite d'une série de réflexions concertées entre chercheurs et opérateurs, le concept du nouveau produit met en avant les caractères naturel, sain, hygiénique, bon marché et disponible toute l'année, considérés comme un atout par rapport à la

concurrence. La construction de cette qualité s'est alors appuyée sur la formation des opérateurs aux bonnes pratiques d'hygiène et aux techniques améliorées de production. La halle de technologie de l'IRAD de Garoua, équipée pour réaliser diverses opérations de transformation (broyage, dépulpage, pressage, mélange, chauffage, séchage, cuisson ...) et de contrôle (pH, a_w ...) a servi de lieu de formation et d'expérimentation pour la recherche, mais aussi de lieu de production où chaque opérateur débutant pouvait fabriquer ses produits tout en recevant les conseils des techniciens et des chercheurs.

La stratégie de mise en marché a mobilisé plusieurs éléments qui contribuent à renforcer l'image définie dans le concept du produit:

- la standardisation du conditionnement: conditionnement des produits pasteurisés en sachet plastique épais (120 μ m), transparent et thermosoudé. La transparence du sachet permet de porter un jugement sur la couleur du produit (photo);
- l'attribution d'un nom au produit, faisant référence au caractère naturel et sain du jus de fruit (*Natura*, *Fruitana*, *Nectana*, *Nectar plus*), à son caractère local (*Africa jus*) ou à son effet vitalisant (*Tonus*);
- le prix du produit, moins cher que les productions industrielles: 100 et 150 FCFA;
- un lieu de vente soigné: boutique, pousse-pousse ou bicyclette propre (photo).



Exemples de renforcement de l'image commerciale et de la qualité des produits.

Plusieurs opérateurs offrent sur le marché, aujourd'hui, une grande variété de jus de fruits (mangue, goyave, oseille de guinée, gingembre, citron) naturels, avec une certaine garantie de qualité microbiologique, et répondant à une bonne partie des incertitudes relevées par les consommateurs. Ces jus s'écoulent en ville, sur les routes, au niveau des péages routiers, et même sur les marchés ruraux.

EFFETS POSITIFS DES INNOVATIONS

D'une manière générale, les principaux effets positifs générés par les innovations ci-dessus, en termes d'amélioration des systèmes, portent, selon le cas, sur la sécurité alimentaire, la structuration des filières et le positionnement sur des niches de marchés spécifiques.

L'implication des acteurs de la transformation alimentaire dans une démarche qualité s'est traduit par une amélioration de la qualité hygiénique des produits consommés, notamment les jus de fruits et produits laitiers, dont la consommation pose moins d'inquiétudes pour les consommateurs. La multiplication des formes de transformation, résultant d'une adaptation ou d'une acquisition technologique, offre sur le marché, de nouveaux produits et de nouvelles formes de consommation, contribuant ainsi à une diversification alimentaire. La disponibilité et l'accessibilité de ces aliments renforcent leur contribution à la sécurité alimentaire. En effet, les jus de fruits et les produits laitiers, initialement soumis au rythme saisonnier des récoltes et des collectes, sont aujourd'hui présents, à longueur d'année, sur les marchés. Leurs prix, abordables pour le grand public, contribuent à une fidélisation de la clientèle et à un maintien de la consommation.

En ce qui concerne la transformation de l'igname, la production des cossettes ne connaît pas encore de développement commercial, en raison de la faible disponibilité des tubercules. Toutefois, à l'échelle familiale, en milieu paysan, certains producteurs d'igname valorisent les rebuts de récolte (tubercules d'igname blessés à la récolte) en les transformant en cossettes? Ceci permet à la famille de disposer de l'igname tout au long de l'année, et de diversifier la forme de consommation de la boule ou de la bouillie.

Sur le plan économique, l'effet induit le plus significatif de l'amélioration de la qualité des produits aura été l'accès à des parts plus importantes du marché. Ceci s'est traduit par la multiplication de petites entreprises plus ou moins structurées pour alimenter ce marché. Il en est ainsi particulièrement des petites entreprises laitières à Ngaoundéré, et des unités de transformation des jus de fruits à Garoua. Ces petites entreprises contribuent à créer des emplois et à limiter, dans une certaine mesure, la pression du chômage.

La création et la structuration des petites entreprises de transformation vont de pair avec une certaine professionnalisation des acteurs et une certaine structuration des filières. On peut, à cet égard, noter le regroupement de certains acteurs, en associations, voire en coopératives. Ces regroupements, notamment les associations de femmes, sont fondés plus sur une logique d'entraide que de maximisation des gains, offrant ainsi au consommateur une image positive d'une production tournée vers la recherche de la qualité, du travail bien fait et d'une conscience professionnelle¹¹. Ces regroupements offrent, par ailleurs, l'opportunité de s'appuyer sur des réseaux de connaissance pour collecter les matières premières, diffuser les produits et en faire connaître la qualité.

Enfin, l'amélioration du système de transformation des jus de fruits et des produits laitiers a contribué à réduire, de façon significative, les pertes post-récolte de ces denrées. Il est, en effet, de moins en moins courant de rencontrer des fruits pourris en période de récolte, ou des Calebasses de lait périmé par ce qu'ils n'ont pas pu être vendus ou consommés. On assiste plutôt, et de façon courante, à un transfert quasi permanent des produits frais vers les unités de transformation, ce qui, d'un autre côté, crée quelquefois, des tensions sur les marchés des produits frais. C'est ainsi qu'il est de plus en plus difficile de trouver à Ngaoundéré, du lait frais de traite sur le marché, car les petits transformateurs ratissent large pour collecter les produits dès la ferme.

Par rapport à la démarche de mise en œuvre pour l'introduction des innovations, la prise en compte de l'environnement socio-économique et culturel dans lequel s'intègrent les innovations, peut être considérée comme la raison majeure de la réussite des actions d'accompagnement des acteurs. Les innovations auraient pu être pensées uniquement en termes d'introduction de procédés de transformation «adaptés» pour réduire les pertes post-récolte et offrir des produits finis de bonne

qualité. Une telle démarche, utilisant de façon exclusive les seuls outils et démarches technologiques présenterait le risque d'être impersonnelle et hors de portée des acteurs qui constituent la trame du système. Ceux-ci ont souvent des intérêts très diversifiés. Certains ont en tête des produits, voire des techniques bien arrêtés qu'ils veulent développer, d'autres sont simplement à la recherche d'opportunités économiques⁶. Connaître ces acteurs afin de mieux cerner leurs motivations et leurs attentes, et s'appuyer sur cette compréhension pour construire leurs connaissances et compétences sont autant d'éléments ne relevant pas de la seule science des procédés. Les démarches en termes de systèmes techniques qui mettent en relation l'outil (équipement, procédés), la matière et l'Homme¹², prend ici toute leur importance, car elles révèlent le caractère pluridisciplinaire du processus d'introduction de l'innovation, et permet d'en évaluer le résultat sous forme d'impact à la fois technologique et social, voire culturel.

Dans les études de cas ci-dessus, les innovations ont contribué à améliorer ou à introduire des procédés, mais également, et surtout, elles ont réveillé les consciences culturelles locales sur le potentiel de valorisation des ressources techniques localement disponibles. C'est ainsi, par exemple, que le *kindirmou* (lait fermenté, encore appelé yaourt traditionnel), le *pendidam* (lait caillé, utilisé comme supplément protéique dans la bouillie) et le *dakkéré* (semoule précuite de céréale ou de tubercule, consommé en association avec le *pendidam*) ont pu passer du statut traditionnel et local, à un produit de grande consommation, porteur des valeurs culturelles d'une région.

ENSEIGNEMENTS ET LIMITES DES INNOVATIONS

Au-delà des aspects positifs des innovations introduites, celles-ci présentent quelques limites relatives notamment à la durabilité des résultats.

L'amélioration des systèmes, et plus particulièrement le développement des marchés, a eu un effet d'entraînement sur la création de nouvelles structures de transformation. Cette multiplication des acteurs ne signifie pas nécessairement une garantie de la qualité. L'apparition de nouveaux acteurs sur le marché, attirés par l'opportunité économique, mais n'ayant pas, au contraire des premiers acteurs, bénéficié d'une formation, ni d'un accompagnement, augmente le risque de nouvelles inquiétudes pour le consommateur. Celui-ci a en permanence besoin d'une garantie de la qualité des produits qui lui sont proposés. Or l'absence d'organisme de suivi de la qualité risque de fragiliser les systèmes, en laissant la porte ouverte aux fraudes diverses.

Par ailleurs, l'accompagnement des acteurs dans la construction de la qualité des produits s'est réalisé sur un plan individuel. De ce fait, les acteurs, sur le terrain, ont privilégié un comportement de concurrence, refusant, pour la plupart, d'engager des actions collectives. Les quelques groupements et associations qui se sont constitués, l'ont été de façon isolée, sans démarche d'ensemble sur la profession. Or seule une démarche collective peut permettre de fixer les règles de la profession, contrôler la qualité des produits, et assurer leur valorisation commerciale. Les organisations professionnelles ont, dans de nombreux cas, montré qu'elles pouvaient jouer ce rôle.

Si cette lacune révèle une des limites essentielles de la démarche d'innovation initialement engagée, elle constitue, en même temps, une nouvelle interpellation de l'institution de recherche et de développement qui doit mettre en œuvre une démarche permettant au système de passer de la reconnaissance individuelle des acteurs à une reconnaissance collective. Cette reconnaissance collective est le gage d'une représentativité auprès des pouvoirs publics, et constitue, en même temps, le meilleur moyen de pression pour une évolution vers l'établissement des normes de qualité.

Dans cette dynamique, l'institution technologique et de recherche devra contribuer à l'élaboration de réglementations en proposant des indicateurs de différenciation des produits et d'assurance de leur qualité.

RÉFÉRENCES

1. Chuzel G, Muchnik J. La valorisation des ressources techniques locales: l'amidon aigre de manioc en Colombie. In: Muchnik J, ed. Alimentation, techniques et innovations dans les régions tropicales. Paris: L'Harmattan, 1993:307-37.
2. Ferré T, Mayaka. Recensement des activités de transformation dans la ville de Garoua. Garoua: IRAD-PRASAC, 1999.
3. Feze F. Diagnostic sectoriel des activités de transformation des produits agroalimentaires dans la ville de Maroua (Cameroun). Mémoire fin d'études Ingénieur. Ngaoundéré: Université de Ngaoundéré, IRAD/CIRAD/PRASAC, 1999.
4. Talom B. Diagnostic sectoriel des activités de transformation des produits agroalimentaires dans la ville de Ngaoundéré (Cameroun). Mémoire fin d'études Ingénieur. Ngaoundéré: Université de Ngaoundéré, IRAD/CIRAD/PRASAC, 1999.
5. Kenfack H, Ndjouenkeu R, Ngongang D, Ferré T, Koumaro M. Evaluation de la production et de la commercialisation de la poudre de tomate au Nord Cameroun et au Tchad. In: Kapseu C, Kayem J, eds. Séminaire International sur le séchage et la valorisation du *karité* et de l'*aiélé*. Ngaoundéré, 1999:381-7.
6. Cerdan C, Hamadou L, Ferré T, Doassem J. Qualité et valorisation commerciale des produits sur les marchés urbains: les jus de fruits pasteurisés au Nord Cameroun. Communication présentée à l'atelier «Promotion et structuration socioprofessionnelle des petites entreprises agroalimentaires en Afrique de l'Ouest». Réseau AVAL, Cotonou, Bénin, 29 janvier – 1^{er} février, 2002.
7. Ndjouenkeu R. Diagnostic des structures marchandes et de transformation des produits laitiers dans la région de Garoua (Nord Cameroun). Communication présentée à l'atelier international: «Les petites industries agroalimentaires pour une nutrition saine en Afrique de l'Ouest». Ouagadougou, Burkina Faso, 1999.
8. Mbanga J, Vabi M, Mfi A, et al. Report of survey on peri-urban dairy production in Maroua and Garoua. Garoua: IRAD, 1995.
9. Kaldapa H. Etude de marché des boissons dans la ville de Garoua. IRAD/CIRAD/PRASAC, 1996.
10. Piveteau S. Diagnostic sectoriel des activités de transformation des produits agroalimentaires dans la ville de Garoua (Cameroun). Mémoire de stage d'initiation à la recherche. Cameroon: IRAD/CIRAD/PRASAC, 1999.
11. Cheyns E. La qualification des produits artisanaux: du marché de proximité à l'échange à distance. Le soubala au Burkina Faso. Etud Rech Syst Agraire Dév 2001;32:65-78.
12. Muchnik J, Ferré T. Technologie organique, idées et méthodes. In: Muchnik J, ed. Alimentation, techniques et innovations dans les régions tropicales. Paris: L'Harmattan, 1993:235-62.

Genomic characterization and functional properties of *Bacillus* species isolated from *okpehe*, a traditional fermented condiment

Oguntoyinbo^{1*} Folarin A, Sanni² Abiodun I, Holzapfel³ Wilhelm H, Franz³ Charles MAP

¹ Department of Botany and Microbiology, University of Lagos, Akoka, Lagos, Nigeria.

² Department of Botany and Microbiology, University of Ibadan, Nigeria.

³ Institut für Hygiene und Toxikologie / BFE, Engesserstrasse 20, D-76131 Karlsruhe, Germany.

*Corresponding author: foguntoyinbo@yahoo.com

- Abstract -

The *Bacillus* species associated with the fermentation of *Prosopis africana* seeds during *okpehe* production were characterized, their functional and virulence properties investigated. A total of 124 bacilli were studied, the combined RAPD M13 and OPR 13 produced the UPMGA dendrogram with six major distinct clusters identified and put in groups 1-6. RAPD established the degree of heterogeneity among the diverse strains. Majority of the strains belongs to the *Bacillus subtilis* group with the *Bacillus cereus* group identified. The strains were further discriminated in ARDRA analysis in a PCR reaction that amplified the conserved 16S rDNA of the strains, ARDRA pattern obtained from three restriction enzymes Sau3A, Hha 1 and Hinf 1 generated a reliable UPMGA dendrogram that differentiate the strains. The API 50 CHB combined with API 20E determined the phenotypic characteristics of the strains. The strains exhibited differences in desirable properties such as proteolytic activity (100%), amylolytic activity (64%), polyglutamic acid production (65%) and pectin hydrolysis (69%). Virulence characteristics such as hemolysis on blood agar plate were observed in all the strains of the *B. cereus* cluster, while *hblA*, *hblC* and *hblD* virulence genes were detected in some of the strains in the *B. subtilis* and *B. cereus* groups. Selected strains were used as starter cultures in the pilot plant fermentation of *Prosopis africana* seeds for *okpehe* production. *B. subtilis* BFE 5301 and *B. subtilis* BFE 5372 were chosen as the starter cultures.

Key words: *Okpehe* – *Prosopis africana* – *Bacillus* – Condiment – Fermentation.

- Résumé -**Caractérisation génomique et propriétés fonctionnelles d'espèces de *Bacillus* isolées de l'okpehe, un condiment fermenté traditionnel**

L'okpehe est un condiment fermenté traditionnel utilisé dans la région centrale et le Sud Est du Nigeria comme agent d'assaisonnement des soupes et des sauces, il contribue aux apports en protéines et en acides gras essentiels. L'utilisation de l'okpehe comme substitut bon marché de la viande réduit la malnutrition protéino-calorique et les déficiences en acides gras essentiels. La production du condiment se fait par fermentation spontanée au cours de laquelle différentes espèces de bactéries, surtout des espèces de *Bacillus*, ont été signalées. Afin de sélectionner des cultures starter appropriées pour la production des condiments en Afrique de l'Ouest, les espèces de *Bacillus* associées à la fermentation des graines de *Prosopis africana* au cours de la production de l'okpehe ont été caractérisées et leurs propriétés fonctionnelles et de virulence examinées.

Un total de 124 bacilles a été étudié et l'utilisation de techniques combinées d'amplification de l'ADN (RAPD M13 et OPR 13) ont permis d'obtenir un dendrogramme UPMGA distinguant six groupes principaux distincts. Le RAPD a permis d'établir le degré d'hétérogénéité entre les différentes souches. La majorité des souches appartiennent au groupe des *Bacillus subtilis*, tandis que le groupe *Bacillus cereus* a aussi été identifié. Les souches ont été par la suite distinguées en utilisant la technique ARDRA dans une réaction PCR qui amplifie le 16S rDNA des souches. Le modèle ARDRA obtenu à partir de trois enzymes de restriction *Sau3A*, *Hha 1* et *Hinf 1* a généré un dendrogramme UPMGA qui a différencié les souches. Les dendrogrammes UPMGA combinés des RAPD et les empreintes ARDRA ont également mis en évidence six groupes de différentes souches d'espèces de *Bacillus* présents dans le produit fermenté. Les caractéristiques phénotypiques des souches ont été déterminées en utilisant une galerie API 50 CHB combiné avec une galerie API 20E. Les données combinées du typage génomique et des caractéristiques phénotypiques ont été utilisées pour identifier des souches du groupe *Bacillus subtilis* se composant de souches de *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, tandis que le groupe *Bacillus cereus* comprenait des souches telles que *B. cereus* et *B. mycoïdes*. Les souches ont présenté des différences au niveau des propriétés souhaitables telles que l'activité protéolytique (100%), l'activité amylolytique (64%), la production acide polyglutamique (65%) et l'hydrolyse des pectines (69%). Les caractéristiques de virulence telles que l'hémolyse sur plaque agar/sang ont été observées pour toutes les souches du groupe *B. cereus*, tandis que des gènes de virulence *hblA*, *hblC*, *hblD* et *bceT* ont été détectés dans certaines souches du groupe *B. subtilis*. Les souches sélectionnées ont été utilisées comme cultures starter en fermenteur avec des graines de *Prosopis africana* pour la production de l'okpehe. Le *B. subtilis* BFE 5301 et le *B. subtilis* BFE 5372 ont été choisis comme cultures starter, à cause de leur capacité à produire des bactériocines pour BFE 5301 et des activités amylolytiques et protéolytiques élevées ainsi que du PGA pour BFE 5372 et en raison de l'absence de propriétés de virulence dans les deux souches. Une culture mixte avec ces deux souches a permis de produire de l'okpehe ayant des caractéristiques acceptables et exempt de *B. cereus*.

Mots-clés: Okpehe – *Prosopis africana* – *Bacillus* – Condiment – Fermentation.

INTRODUCTION

The use of fermented vegetable proteins as seasonings are widespread in Africa and Asia^{1,2,3}. Okpehe is a traditional fermented soup condiment produced from *Prosopis africana* seeds, which serves as tasty, low cost protein source among the people of Eastern and Mid Western Nigeria⁴.

Production of this condiment is by spontaneous fermentation carried out in homes using rudimentary utensils²; as a result of which, different microorganism should be expected in the fermentation. Although there is a general agreement that aerobic spore forming bacteria, most especially *Bacillus* species are the dominant microflora during the fermentation⁹ proteolytic activity leading to release of amino acid, ammonia and other volatile compounds⁵ is the major biochemical changes during the fermentation⁹. The actual strains that can bring about the desirable biochemical changes are not yet selected, while pathogenic and spoilage strains of *Bacillus* cannot be totally ruled out in some fermentation batches⁷. Variation in the quality of the condiments from one region to the other is expectedly imminent.

The conventional phenotypic characterization of *Bacillus* species have not been able to distinguish between different species in the genus due to similarity in the phenotypic characteristics leading to ambiguous identification⁸. Many workers reported *Bacillus subtilis* as the most important during the fermentation⁹, although most of the strains reported were only phenotypically identified. *Bacillus subtilis* group comprises different species of *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* etc that are phenotypically related and are often difficult to differentiate. Nakamura et al.¹⁰ has earlier reported the diversity among strains of *Bacillus subtilis*. Similar observation has also been reported for the *B. cereus* group that comprises species of *B. cereus*, *B. mycoïdes*, *B. anthracis* and *B. thuringensis*. Different genomic typing techniques have been used in different laboratories to differentiate between *Bacillus* species and strains¹¹.

The relative abundance of *Bacillus* species in the condiments and their high enzymatic activity even among the known pathogenic species needs adequate investigation. In addition, the virulence properties that appear to be widespread in the genus *Bacillus*¹² even among the *Bacillus subtilis* group earlier regarded as GRAS need to be elaborated. However, the presence of enterotoxin gene *BceT* and haemolysin gene *HblA*, *HblC* and *HblD* genes has been used to detect virulence characteristics among the different strains of *Bacillus*¹². DNA based techniques such as RAPD-PCR and ARDRA have also proved useful in the typing of *Bacillus* species. RAPD is a powerful technique for differentiating large number of strains, and has been used to estimate the diversity among *Bacillus* species¹³. ARDRA identify strains more specifically to different species based on their conserved 16SrDNA. It is a reliable typing technique and has been applied to typing of *B. cereus* group¹⁴.

The phylogenetic classification of *Bacillus* spp. is important not only to classify the strains to species and sub species but also to aid the assessment of their technological properties such as enzymes, antimicrobes and amino acid for starter cultures selection. Up to date, no previous studies have used both the phenotypic, genotypic and the functional properties to characterize large number of *Bacillus* strains isolated from traditional fermented condiment. Therefore, in this paper, we describe phenotypic, genomic (RAPD and ARDRA), virulence characteristics and functional properties of *Bacillus* strains isolated from okpehe, a Nigerian fermented condiment.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection

Fifty samples of *okpehe* were collected randomly from retail markets in Lagos, Nsukka, Ankpa, Makurdi and Ibadan, Nigeria. They were transported to the laboratory in sterile polyethylene bags and stored at 4°C. Microbiological analyses were conducted immediately on the samples.

Phenotypic characterization

Pure cultures of the isolated strains, typed and reference strains obtained from Deutsche Sammlung von Mikroorganismen (DSM) were observed under the phase contrast microscope. Strains were Gram's stained using the method of Collins and Lyne¹⁵. Catalase test was performed on 24 h old culture, while hydrolysis of starch, casein and gelatin were determined as described by Seeley and Van Demark¹⁶. Growth at different pH values, temperature and NaCl, Voges Proskauer test, methyl red test, nitrate reduction, gas from glucose, citrate utilization, propionate utilization, sugar fermentation using microtiter plates and anaerobic growth were carried out as described by Claus and Berkeley¹⁷. API 50 CHB combined with API 20 E systems (bio Merieux, France) were used following the manufacturers instructions to study the sugar fermentation and the biochemical characteristics of selected strains representing each cluster obtained in the RAPD PCR analysis. UPMGE was developed using the bionumeric analysis for the sugar fermentation and the growth characteristic profile of the strains.

Genotypic characterization

Bacillus isolates and the reference strains were grown overnight in Tryptone soya broth (BBL) in an Ehlrmeyer flask and incubated at 37°C on a rotary shaker at 100rpm. The Guanidium extraction method described by Pitcher et al.¹⁸ was used to isolate DNA from all the strains. Two sets of RAPD-PCR analysis were conducted, each reaction mixture contained 5µl buffer (30mMMgCl₂); 6µl dNT's, 5µl primer (**M13** (5'-GAG GGT GGC GGT TCT- 3') in the first RAPD-PCR; **OPR 13** (5'-GGA CGA CAA G- 3') for the second RAPD-PCR), 0.3µl Taq polymerase (Almasham Pharmacia), 23.8µl MilliQ water and 10µl DNA. The PCR reaction was carried out in a thermal cycler (WG-Biotec Primus) in 35 cycles of 94°C for 1 min; 40°C for 20s, ramp to 72°C at 0.6°C for 2min and 72°C for 2min. The PCR product were separated on 1.6% agarose gel electrophoresis running at 48 volts overnight, gels patterns were visualized by ethidium bromide staining and the photograph taken under UV transillumination. Photonegatives were scanned and analysed using bionumerics. The similarities between RAPD clusters generated were evaluated using the Pearson product correlation coefficient (r) and the Unweighted Pair Group Algorithm with arithmetic average (UPGMA). The two sets of RAPD were combined to obtain a unique dendrogram.

Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA)

The DNA of the selected strains earlier extracted was used in this experiment. The conserved 16srDNA gene for the strains was amplified using Heterofermentative F Hef 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3' as forward primer and 16Srv2 (5'-GCT GAT CCG CGA TTA CTA GC- 3') as the reverse primer. The PCR reaction mixture contained 5µl buffer (POW komplett); 5µl dNTPs Almasha Pharmacia); 2.5µl forward primer (Lhet16f) and 2.5µl reverse primer (16Srv2), 0.5µl POW enzyme and 23.5µl Milli Q water. The PCR reaction was carried out in a thermal cycler (Eppendorf 53001)

under the following conditions: in 35 cycles of 94°C for 2 min.; 58°C for 1 min. 30 S, ramp to 68°C for 2 min. and 68°C for 6 min. The PCR products were cleaned using the Quantum Prep PCR clean spin Columns (BIO RAD). The amplified PCR product was applied gently on the column bed without touching the resin and centrifuge at 3100 for 2 minutes. The purified product was collected at the bottom of the 1.5ml tubes. The clean amplified PCR product was divided into three 1.5ml eppendorf tube such that each tube contained 15µl of the product. Hinf I, Sau3A and Hha I (New England; Bio Lab) were the three-restriction enzymes used. Different master mix was prepared for each enzyme. In Hinf I restriction, each 5µl master mix contains 2µl buffer 2, 0.3µl enzyme and 2.7µl MQ, while each 5µl Sau3A and Hha I restriction master mix contained 2µl buffer (4); 2µl BSA 0.3µl enzyme and 0.7µl MQ, respectively. Master mix was spin down before adding 5ul to the amplified product. The tubes were incubated for 2.30 min at 37°C. The products were run in 1.8% Agarose gel (Eurobio) at 105 volts for 4 hours in 1x TBE electrophoresis buffer (Tris, Boric acid and EDTA). The similarities between ARDRA clusters generated were evaluated using the Pearson product correlation coefficient (r) and the Unweighted Pair Group Algorithm with arithmetic average (UPGMA). The combined RAPD and ARDRA profile was also created and the UPGMA dendrogram was generated.

Lecithinase reaction

All the strains were streaked on Egg yolk agar and incubated at 30°C for 24 h. Positive reaction was recorded by ability of the strain to produce a cloudy creamy zone around the colony.

Haemolysis on blood agar

All the strains were grown on Colombia agar supplemented with 10% sheep blood (BD) and incubated at 30°C for 24 h. Positive reaction was recorded for strain that produce a clear zone around distinct colonies

Molecular determination of Virulence genes

DNA of all the *Bacillus* strains was amplified in a PCR reaction to detect *HblA* gene, *HblC* gene, *HblD*, and *BceT* genes as earlier described¹⁹. The sequences, amplicon size and target gene designation for PCR primers used to screen the strains are given in table 1.

Table 1: Sequences, amplicon size and target gene for PCR primers used to screen the strains.

Primer designation	Sequence	Amplicon size	Target
HBLA-N	5'-GCT AAT GTA GTT TCA CCT AGC AAC-3'	873bp	<i>hblA</i>
HBLA-C	5'-AAT CAT GCC ACT GCG TGG ACA TAT AA-3'		
HBLC-N	5'-AAT AGG TAC AGA TGG AAC AGG-3'	399bp	<i>hblC</i>
HBLC-C	5'-GGC TTT CAT CAG GTC ATA CTC-3'		
HBLD-N	5'-AAT CAA GAG CTG TCA CGA AT-3'	429bp	<i>hblD</i>
HBLD-C	5'-CAC CAA TTG ACC ATG CTA AT-3'		

Bacteriocin screening assay

All the *Bacillus* strains 124 were screened for antagonistic potential against indicator strains by agar sport test method²⁰. The bacterial used as indicator strains were *Enterococcus faecalis* DSM 20380, DSM 20477, *Lactobacillus casei* DSM 20011, *Pediococcus acidilactici* DSM 20333, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* DSM 10 T, DSM 1092, *Bacillus cereus* DSM 2301, *Listeria innocua* DSM, *Listeria monocytogene* DSM, *Enterococci* species isolated from *okpehe* and selected strains of *Bacillus* from *okpehe*.

Hydrolysis of starch

Strains were streaked on 1% starch agar and incubated at 37°C for 5 days after which they were flooded with iodine solution. A clear zone around the line of streak demonstrated a positive reaction.

Hydrolysis of Casein

Strains were streaked on 10% casein agar and incubated at 37°C for 5 days. A clear zone around the line of streak demonstrated a positive reaction.

Polyglutamic acid production

Strains were grown on phyton agar Nagai *et al.*²¹, and development of a sticky colony consistency upon lifting with an inoculation loop, demonstrated release of PGA into the medium.

Pilot Plant Production of *Okpehe*

Preparation of inoculum

The strains were grown in an *okpehe* broth, which was prepared by wet milling boiled *Prosopis africana* cotyledon and re-suspended in water, filtered and sterilized in an autoclave. The filtrate was used to grow the strains. The ability of the strains to grow in the broth was determined by checking the viable count on nutrient agar and MRS at 0, 12 and 24 h.

Pilot Plant Fermentation

Six fermentation batches were set up in a beaker. Each batch contains 100g of cooked *Prosopis africana* cotyledon inoculated with starter cultures. Uninoculated samples served as control. The sets were incubated at 37°C for 48 h samples were taken at 0, 12, 24 and 48 h.

RESULTS

Phenotypic characterization

One hundred and twenty four *Bacillus* isolates (Gram's and catalase positive rods) were randomly isolated from the samples. All the strains and some of the reference strains obtained from DSM and CECT cultures collection were tested for their different biochemical properties. The growth characteristics and the micro titer sugar fermentation profile showed the phenotypic diversity of the strains. The groups of strains that grows phenotypically and that can utilise propionate as sole source of carbon were distinguished as *Bacillus cereus* and *B. licheniformis* group. While other strains were grouped as *B. subtilis* group, majority of the strains in the *B. subtilis* group

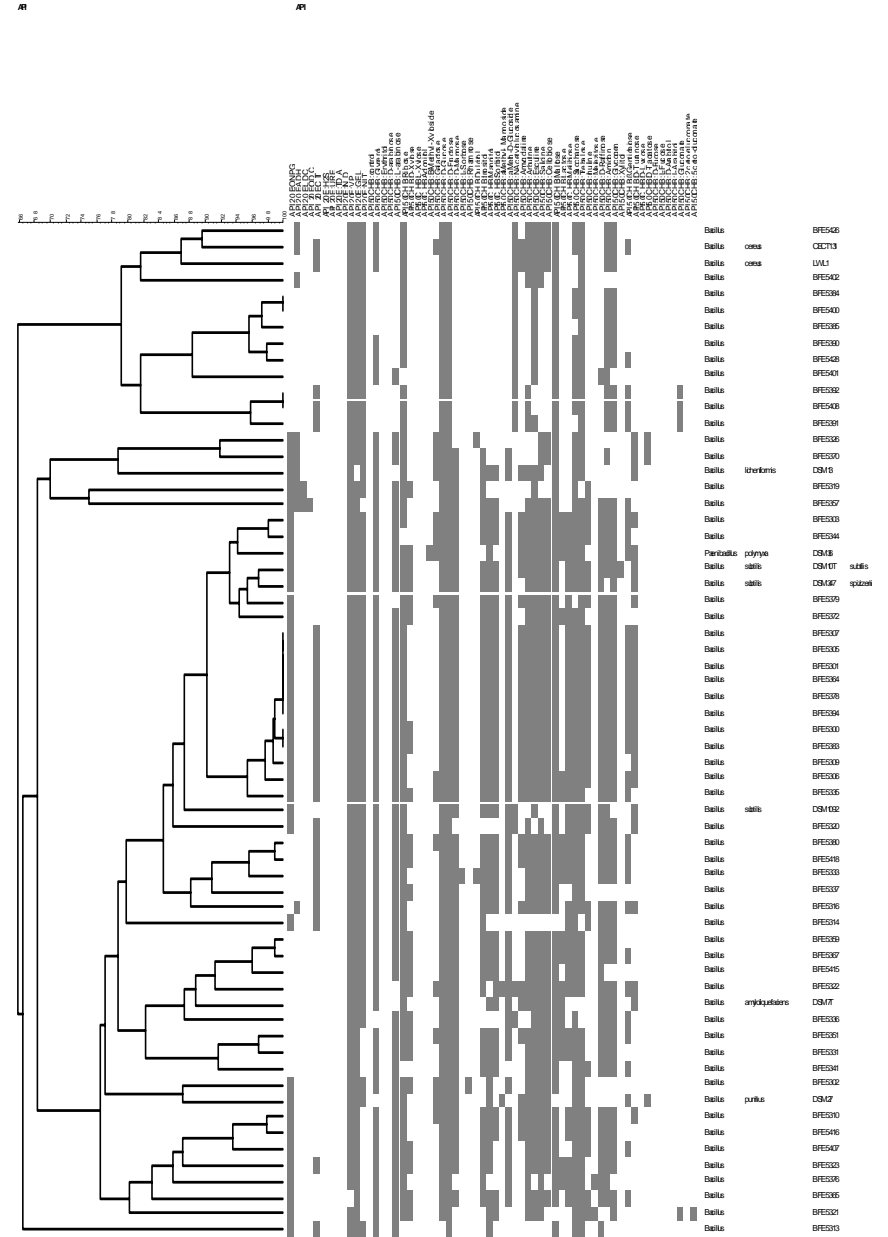


Figure 1: API 50 CHB combined with API 20 E and growth characteristics UPMGA dendrogram of selected *Bacillus* strains.

did not grow anaerobically. The positive hemolytic and lecithinase reaction further discriminate *B. cereus* from *B. licheniformis* group. All the *Bacillus* isolates did not ferment erythritol, D-arabinose, L-xylose, adonitol, L-sorbose, rhamnose, dulcitol, a methyl-manoside, melezitose, xylitol, D-xylose, D-fucose, L-fucose, D-arabitol, L-arabitol, gluconate, 2 ceto- gluconate, 5 ceto- gluconate as shown in the API cluster analysis (figure 1). The diversity of the strains was observed in the cluster analysis of the combined growth characteristics and API results (figure 1). Phenotypically, it appears that many variant of *Bacillus subtilis* exist in the samples. Some of the strains grow at 50°C, but no growth was however observed at 60°C. Therefore the possibility of *B. stearothersophilus* in *okpehe* is doubtful although API computer soft ware identified some of the strains as *B. steaothermophilus*. Several workers have reported the difficulty in identifying *Bacillus* species phenotypically.

Functional properties

The performance of the strains supported their phenotypic characteristics: all the strains hydrolysed casein (100%), starch (63%), production of PGA (63.5%), and pectin hydrolysis (69.8%), while only one strain produced bacteriocin. None of the strains in the *Bacillus cereus* group hydrolysed pectin nor produce PGA. *B. subtilis* BFE 5301 produced bacteriocin but did not produce PGA figure 2, and its bacteriocin was active against *B. cereus* strains most especially the ones isolated from *okpehe*.

Virulence characterization

The result showed that the virulence characteristics is widespread among the strains, The UPMGA dendrogram for the virulence properties (figure 3), showed the distribution of virulence characteristics among the *B. cereus* group. All the strains demonstrated positive haemolysis, lecithinase test and harbours virulence genes most especially *hbC* and *hbD*. *B. cereus* BFE 5426 harbour all the virulence genes tested except *hbA* gene (table 2). Although we found out that virulence genes *hbD* was harboured by some strains of *B. subtilis* group.

Table 2: Detected virulence genes among *Bacillus okpehe* strains.

Strain	HbA	HbC	HbD
<i>B. subtilis</i> BFE 5372	-	-	-
<i>B. subtilis</i> BFE 5302	-	-	-
<i>B. subtilis</i> BFE 5301	-	-	-
<i>B. licheniformis</i> BFE 5326	-	-	-
<i>B. licheniformis</i> BFE 5370	-	-	-
<i>B. cereus</i> BFE 5303	-	+	+
<i>B. subtilis</i> BFE 5310	-	-	-
<i>B. subtilis</i> BFE 5357	-	-	-
<i>B. subtilis</i> BFE 5415	-	-	+
<i>B. subtilis</i> BFE 5416	-	-	-
<i>B. subtilis</i> BFE 5359	-	-	-
<i>B. cereus</i> BFE 5383	-	-	+
<i>B. cereus</i> BFE 5401	-	+	+
<i>B. cereus</i> BFE 5426	-	+	+

+ = detected, - = not detected.

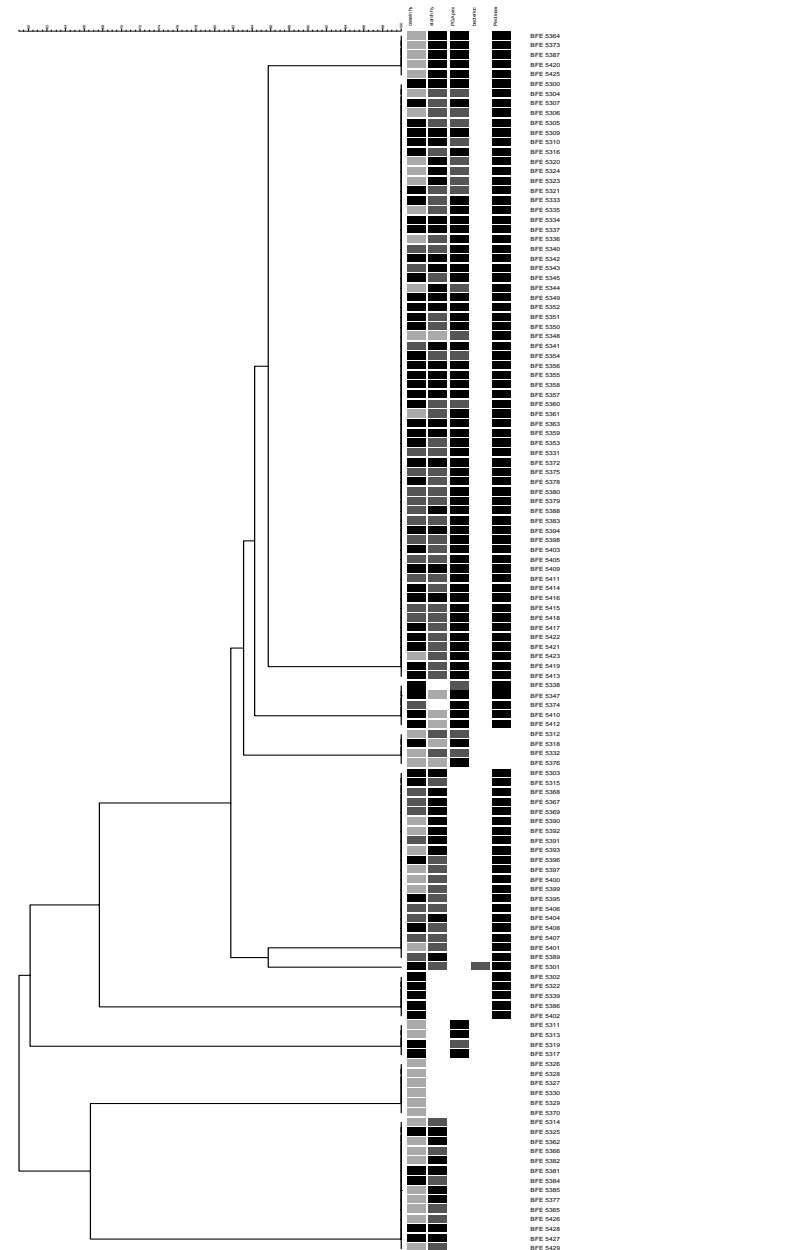


Figure 2: Functional properties of *Bacillus* strains isolated from *okpehe* UPMGA dendrogram.

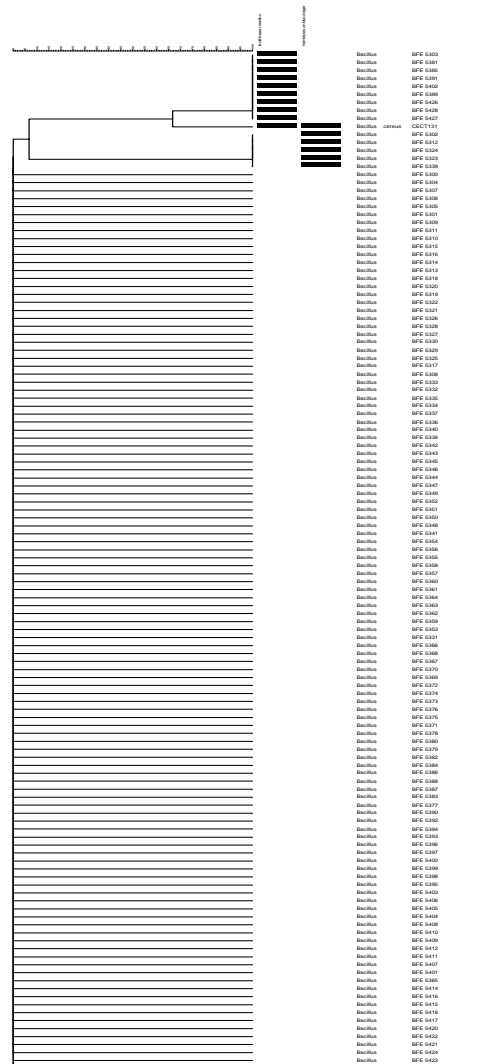


Figure 3: UPMGA dendrogram of virulence characteristics of “okpehe” *Bacillus* species.

Genotypic characterization

In the two RAPD, the degree of diversity among the reference and typed strains also confirmed the reproducibility and the discriminating potential of the method. The combined RAPD M13 and OPR 13 produced the UPMGA dendrogram shown in figure 4. The diversity of the strains isolated from *okpehe* is reflected in the six major distinct clusters identified and grouped as follows: Group 1 consists of 9 strains that

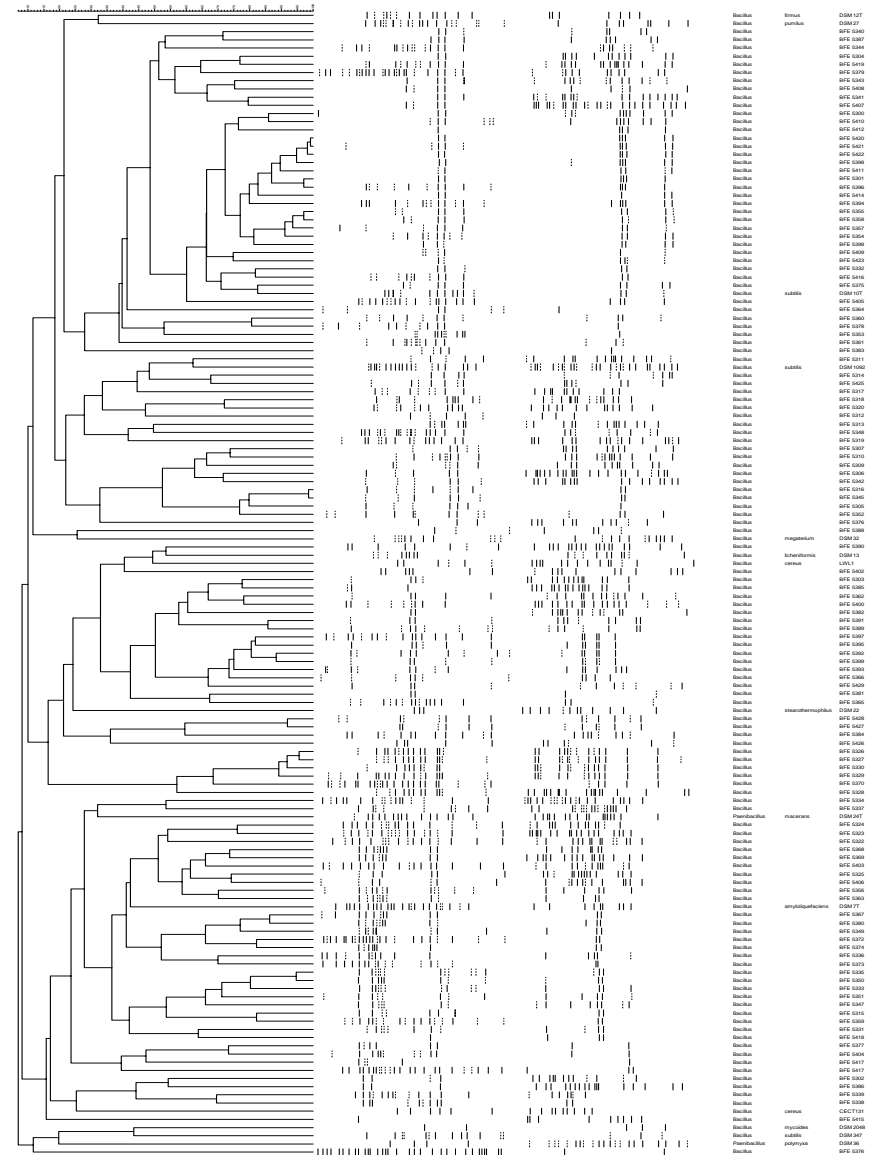


Figure 4: RAPD-PCR M13 combined with OPR 13 UPMGA dendrogram clusters of *okpehe* *Bacillus* species, typed and reference strains.

represent about 7% of the total *Bacillus* population. The strains clustered with *Bacillus subtilis* DSM 1092 with 35-90% coefficient correlation. Group 2 consists of 50 strains representing about 40% of the total *Bacillus* species in the fermented *okpehe*. The strains clustered with *B. subtilis* sub species *subtilis* DSM 10T with a correlation coefficient of 40-95%. Group 3 consists of 26 strains, which represent about 40 % of the total *Bacillus* population in the fermented *okpehe*. The strains clustered with *B. cereus* CECT131 and LWL1, *Peanibacillus macerans* DSM 24T, *B. licheniformis* DSM 13, *B. stearothermophilus* DSM 22, although strains BFE 5338, BFE 5339, BFE 5302 and BFE 5386 formed a separate subcluster. Group 4 consists of 24 strains representing about 19% of the total *Bacillus* strains with correlation of 70-95%. Majority of the strains in the cluster were identified as *B. subtilis* by the API computer software. Group 5 with 6 strains represent about 4% of the total *Bacillus* population with correlation of 75-95%. They were phenotypically identified as *B. stearothermophilus* by API system. Group 6 consists of 9 strains representing about 7% of total *Bacillus* strains in *okpehe* with correlation of 65-80%. The degrees of heterogeneity among the strains were also revealed by ARDRA analysis. The band pattern for each of the enzyme differs; higher numbers of bands were produced in the Sau3A and Hind I while the band patterns were specific for each cluster in the HhaI. Five clusters were identified (figure 5). Some strains in the *Bacillus cereus* group clustered with the *B. mycooides*, while the *Bacillus subtilis* cluster consist of strains that are phylogenetically diverse. Strains BFE 5370 and BFE 5326 clustered with *B. licheniformis* in the ARDRA analysis with similarity coefficient of 65%. The fermentation batch E containing the bacteriocin producing strain *B. subtilis* BFE 5301 and high PGA producing, enzymatic *Bacillus subtilis* BFE 5372 produced the most desirable *okpehe* that was free of *Bacillus cereus* growth.

DISCUSSION AND CONCLUSION

The dominance of *Bacillus* species during *okpehe* production was evident, in that the strains were constantly isolated in all the samples tested. All the isolated strains were endospore-forming rods with diverse phenotypic characteristics. The ability of some of the strains to grow at 50°C shows the exothermic nature of the fermentation. Although the phenotypic tests differentiated the different groups of *Bacillus*, most especially the *Bacillus cereus* group from the *B. subtilis* group in the growth and the sugar fermentation pattern.

The diversity of the strains was however revealed in the RAPD analysis, although the combination of the two RAPD profiles gave distinct clusters and the four major clusters shows that the strains were heterogenous and the partial identification of the strains was determined. RAPD also showed the dominance of *B. subtilis* in the fermented samples. From our results, we noted the hydrolytic potentials of *B. subtilis*. All the strains hydrolyzed starch and casein readily; they produce PGA with the highest activity noted in *B. subtilis* BFE 5372. The bacteriocin producing strain belongs to this group. Based on the presence of subtilin gene possessed by the *B. subtilis* BFE 5301 we proposed that the bacteriocin my likely be subtilin. Virulence properties were not specifically demonstrated by the strain on culture plate, but the possibility that some of the strains can be pathogenic cannot be totally ruled out, because we detected virulence gene *hblD* in some of the strains. Such strains will make the product unacceptable.

The study established a clear distinction between the *Bacillus cereus* cluster and the remaining clusters with the aid of RAPD. However, we used ARDRA to identify some of the strains as *B. mycooides* hence the RAPD discriminating potentials of this group is limited. The combination of RAPD and ARDRA analysis clearly differentiate *B. cereus*

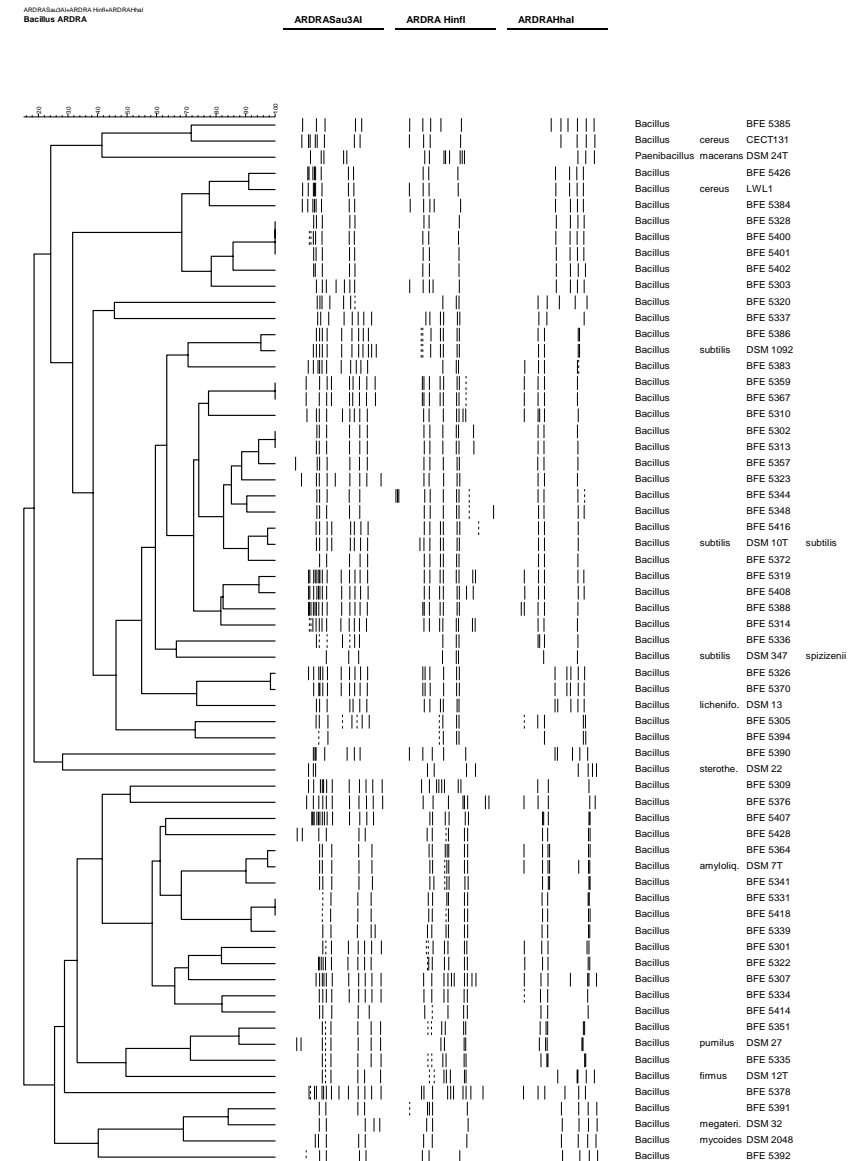


Figure 5: Combined ARDRA Sau3AI, Hinf I and Hha I UPMGA dendrogram clusters of *Bacillus* species ("*okpehe*" isolates, typed and reference strains).

from *B. mycooides*, while the API clustering analysis revealed that *B. mycooides* can ferment 5-ceto gluconate and also demonstrated weaker hemolytic activities on blood agar. The species may however depend on the hydrolytic activities of other *Bacillus* group. RAPD analysis of the strains identified by API profile as *B. stearothermophilus* showed high similarity among the strains, but ARDRA analysis clustered the strains with *B. licheniformis* DSM 13. Phenotypic characteristics of the strains were also similar to that of *B. licheniformis*. However, further molecular differentiation of the strains most especially 16SrRNA will be very useful in typing of these strains.

From our results on the functional properties, phenotypic and genotypic characterization of the different strains of *Bacillus* isolated from different samples of *okpehe* in Nigeria. the following conclusions can be made (1) Although, phenotypic characterization of *Bacillus* species provides information about their biochemical properties, it is inadequate for valid identification of the strains (2) RAPD analysis combined with ARDRA provided useful information about the diversity of the *Bacillus* species isolated from traditional fermented *okpehe* (3) virulence characteristic is widespread among the *Bacillus* species, and the strains in the *Bacillus subtilis* group are not totally free of virulence properties (4) *Bacillus* strains from *okpehe* has enormous technological properties such as bacteriocin, enzymes and amino acid production potentials (5) Two strains identified as *Bacillus subtilis* BFE 5301 and *B. subtilis* BFE 5372 were selected as the best starter cultures for condiment production.

REFERENCES

- Partwardhan VN. Pulses and beans in human nutrition. *Am J Clin Nutr* 1962;11:12-5.
- Odufa SA. African fermented foods in Microbiology of fermented foods. Wood BJB, ed. London New York: Elsevier Applied Science Publisher, 1985:2:155-91.
- Steinkraus KH. Indigenous fermented foods involving an alkaline fermentation. In: Steinkraus KH, ed. Handbook of Indigenous Fermented foods. New York: Marcel Decker Inc, 1995.
- Sanni AI. Biochemical changes during production of *okpehe*, a Nigerian fermented soup condiment. *Chem Mikrobiol Technol Lebensm* 1993;15:97-100.
- Leejerajumean A, Ames JM, Owens JD. Effect of ammonia on the growth of *Bacillus* species and some other bacteria. *Lett Appl Microbiol* 2000;30:385-9.
- Aderibigbe EY, Odufa SA. Growth and extracellular enzyme production by strains of *Bacillus* species isolated from fermenting African locust beans, iru. *J Appl Bacteriol* 1990;69:662-71.
- Sanni AI, Onilude AA, Oguntoyinbo FA. Optimization of process conditions for *owoh*, a fermented cotton seed condiment. *Adv Food Sci* 1998;20:163-7.
- Stephan R, Schraft H, Untermann F. Characterization of *Bacillus licheniformis* with the RAPD technique (randomly amplified polymorphic DNA). *Lett Appl Microbiol* 1994;18:260-3.
- Odufa SA. Dawadawa. In: Reddy NR, Pierson MD, Salunkhe DK, eds. Legume Based Fermented Foods. Boca Raton, FL, USA.: CRC Press, 1986:173-89.
- Nakamura LK, Roberts MS, Cohan FM. Relationship of *Bacillus subtilis* clades associated with strains 168 and W23: a proposal for *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* nov. and *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* subsp.nov. *Int J Syst Bacteriol* 1999;49(3):1211-5.
- Brousseau R, Saint Onge A, Prefontaine G, Masson L, Cabana J. Arbitrary primer polymerase chain reaction, a powerful method to identify *Bacillus thuringiensis* serovars strains. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:114-9.
- Phelps RJ, Mckillip JL. Enterotoxin production in Natural Isolates of *Bacillaceae* outside the *Bacillus cereus* group. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:3147-51.
- Sarkar PK, Hasenack B, Nout MJR. Diversity and functionality of *Bacillus* and related genera isolated from spontaneously fermented soyabean (Indian *Kinema*) and locust bean (African *Soumbala*). *Inter J Food Microbiol* 2002;77:175-86.
- te Giffel MC, Beumer RR, Klijn N, Wagendrop A, Rombouts FM. Discrimination between *Bacillus cereus* and *B. thuringiensis* using specific DNA probes based on variable regions of 16SrRNA. *FEMS Microbiol Lett* 1997;146:47-51.
- Collins CH, Lyne PM. Staining methods. In: Collins CH, Lyne PM, eds. Microbiological Methods. London: Butterworths, 1972.
- Seeley HW Jr, van Demark JP. Microbes in action. A laboratory Manual of Microbiology. San Francisco, CA: Freeman WA and Co., 1972;2:361.
- Claus D, Berkeley RCW. Genus *Bacillus* Cohn 1872, 174. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG, eds. Bergeys Manual of systematic Bacteriology. Baltimore, MD: Willams and Wilkins, 1986:2;1105-39.
- Pitcher DG, Saunders NA, Owen RJ. Rapid extraction of bacterial genomic DNA with the guanidium thiocyanate. *Lett Appl Microbiol* 1989;8:151-6.
- Rowan NJ, Deans K, Anderson J, Gemmell CG, Hunter IS, Chaithong T. Putative virulence factor expression by clinical and food isolates of *Bacillus* spp/. After growth in reconstituted infant milk formulae. *Appl Envir Microbiol* 2001;67:3873-81.
- Schillinger U, Lucke FK. Antibacterial activity of the *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl Env Microbiol* 1989;55:1901-6.
- Nagai T, Nishimura K, Suzuki H, Banba Y, Sasaki H, Kiuchi K. Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* strain producing natto with strong Umami-taste and high viscosity. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 1994;41:123-8.

Acknowledgements: Oguntoyinbo FA is grateful to ICSC Worldlaboratory Lausanne Switzerland, for the award of scholarship to visit IHT/BFE, Karlsruhe, Germany and Professor W. H. Holzapfel for hosting the research.

Conception de chips riches en protéines à base de céréales et de légumineuses

Osseyi^{1*} Elolo SG, Lamboni² Courdjo, Lawson¹ Latré

¹ Département des Sciences et Technologies Alimentaires, ESTBA, Université de Lomé, BP. 1515 Lomé, Togo.

² Département de Biochimie/Nutrition, Faculté des Sciences, Université de Lomé, BP. 1515 Lomé, Togo.

*Auteur correspondant: elosseyi@yahoo.com

- Résumé -

Les chips sont des snacks ou amuse-gueules produits à partir de matières premières de nature glucidique qui varient selon les régions. Il existe des chips de pomme de terre en Europe, des *tortilla chips* de maïs en Amérique Latine et des chips de banane plantain en Afrique. Ce sont donc des produits plutôt énergétiques prêts à être grignotés tout au long de la journée.

Dans la présente étude, les procédés technologiques utilisés pour la production de *tortilla chips* de maïs ont été légèrement modifiés pour concevoir et réaliser des chips riches en protéines végétales à partir des farines de céréales (maïs) et de légumineuses (niébé, soja) locales. Différentes formulations contenant soit des farines pures de maïs, de niébé ou de soja (50%), soit des mélanges de deux types de farines (24 à 26% de chaque type), soit des mélanges des trois farines (14 à 20% de chaque type) ont été réalisés.

Les analyses de composition chimique des différents types de chips obtenus, ont mis en évidence la richesse en protéines des chips de légumineuses. Des tests de préférence et de notation de caractéristiques ont été utilisés pour l'étude des propriétés organoleptiques (apparence, texture, couleur, goût et appréciation globale) des chips. Il ressort de l'ensemble de ces évaluations que les chips les plus appréciées sont celles à base de soja, suivies de celles préparées à partir des mélanges de farines et des chips à base de maïs. Les chips de haricot viennent en dernière position. Cette étude a clairement montré que les légumineuses, tout comme les céréales, peuvent se prêter à la confection des chips. De telles chips de valeur nutritionnelle élevée, peuvent contribuer à l'amélioration du statut protéino-énergétique déficient et précaire des jeunes dans les pays en développement. Elles peuvent également servir de véhicule pour d'importants nutriments (vitamines et sels minéraux) si les farines sont au préalable fortifiées.

Mots-clés: Chips – Tortilla – Céréales – Légumineuses.

- Abstract -

Development of chips rich in protein from cereals and legumes

Chips are snack foods made from starchy raw materials, which vary from place to place. Potato chips are found in Europe, maize *tortilla-chips* in Latin America and plantain chips in Africa. Chips are therefore energy-yielding products ready to eat all day long.

In this study, technological processes used in *tortilla chips* making, were slightly modified to design and prepare from local cereal (maize) and leguminous seeds (soybean and common bean) flour, chips rich in plant proteins. Soybean grains were roasted whereas maize and cowpea grains were treated in an alkali solution (1% lime or sodium bicarbonate) in order to soften and loosen the teguments and make easier their removal. After the removal of the husks, the kernels were cooked (2 hours) and then soaked overnight to allow their hydration and starch gelatinisation. The treated kernels were rinsed, sun dried and milled into fine white flour. Different formulations were tested and these consisted of either pure flour of maize, cowpea and soybean (50% flour) or combinations of two types of flour at different ratios (24 – 26% of each type of flour) or combinations of the three types of flour (14–20% of each type of flour). The other ingredients were water, margarine, starch, baking powder, yeast extract, salt, sugar and spices. The resulting product from the blending of all ingredients was processed into homogeneous dough that was kneaded, flattened and cut into tiny disks. Both sides of the latter were simultaneously baked and fried in a thin layer of oil in the oven (170°C, 4 min) to give chips.

The proximate analysis of the different types of chips produced showed obviously the high protein content of chips prepared with leguminous seeds. Hedonic preference tests (ranking) and notation tests were performed to evaluate organoleptic attributes (appearance, texture, taste and overall acceptability) of the chips. It resulted from this sensory analysis that the soybean chips followed by the chips prepared from combined flour and the maize chips were ranked high compared to the cowpea chips.

This study clearly indicated that, like cereals, leguminous seeds could be good candidates for chips production. Such chips with high nutritional value can contribute to improving the deficient and precarious protein-energy nutritional status of young children in developing countries. They can also serve as vehicles for important nutrients (vitamins, minerals) by prior supplementation or fortification of flour.

Keys words: Chips – *Tortilla* – Cereals – Leguminous seeds.

INTRODUCTION

Les chips font partie de la catégorie de mets appelés amuse-gueules qui sont généralement servis avec les apéritifs ou consommés entre deux repas. Ces produits croustillants et délicieux présentent également l'avantage d'être conditionnés en petites quantités à emporter avec soi, offrant ainsi l'opportunité d'en disposer à tout moment. Toutes ces caractéristiques font le succès de ces produits auprès des consommateurs de tous les âges. Les chips sont particulièrement appréciées par les jeunes car elles constituent pour eux de petits repas à leur disposition en permanence pour apaiser les fringales de la journée.

Les chips de pomme de terre et les *tortilla chips* ou chips de maïs sont les plus populaires occupant une bonne place dans le circuit commercial international. Cependant, il existe dans les régions africaines des galettes et tranches rôties de racine, tubercule et banane plantain qui font office de chips. Ces snacks chips sont généralement fabriqués à base de matières premières glucidiques et sont alors de nature énergétique. L'engouement des jeunes pour les chips fait de ces dernières un produit indiqué pour servir de support à un apport complémentaire de protéines et de véhicule pour d'importants nutriments dans les régimes alimentaires des populations des pays d'Afrique où la malnutrition sévit¹. Dans la région ouest africaine où les sources de protéine d'origine animale sont difficilement accessibles à toutes les classes sociales à cause de leur coût élevé, les légumineuses constituent un excellent complément protéique pour les régimes à bases de céréales². Les graines de légumineuses, sources végétales les plus riches en protéines et dont la valeur est complémentaire à celle des céréales, amélioreraient l'équilibre de la ration alimentaire en Afrique, si leur consommation était accrue et permettraient de combattre les effets de la malnutrition protéique notamment chez les groupes vulnérables que constituent les enfants et les femmes enceintes et allaitantes^{3,4}. Toutes ces considérations ont été à la base de l'idée de concevoir, par transfert de technologie, des chips à base de maïs et de légumineuses (niébé, soja) qui sont des denrées abondamment disponibles dans la sous-région ouest africaine. D'autre part, certains auteurs⁵ ont pu utiliser la farine de niébé combinée avec de l'amidon pour fabriquer des chips ayant des textures diverses, prouvant ainsi que les légumineuses peuvent bien être utilisées pour la confection des chips.

L'objectif de la présente étude est de contribuer à la mise au point, en s'inspirant des procédés de production des *tortilla chips* et en utilisant des matières premières locales, un produit nouveau de qualité nutritive améliorée et bien adapté aux exigences de la vie moderne d'une société en pleine mutation. C'est également une forme de valorisation des ressources locales et de promotion d'une alimentation meilleure et variée des populations défavorisées, en particulier les enfants souffrant de malnutrition dans la sous-région.

MÉTHODOLOGIE

Le matériel biologique utilisé est constitué de maïs, niébé et soja achetés sur les marchés locaux. Les chips ont été fabriquées selon le procédé traditionnel de production des *tortilla chips* de maïs^{6,7,8} auquel quelques modifications ont été apportées.

Traitement et transformation des grains

La transformation débute par le traitement à l'alkali ou "nixtamalisation" des grains de maïs et des graines de légumineuses. Les grains et graines, après nettoyage, sont cuits dans une solution de bicarbonate de sodium (NaHCO₃) ou de chaux éteinte

Ca(OH)₂ de 1% de concentration à 100°C pendant 1 heure. Après refroidissement jusqu'à 40-45°C, elles sont trempées pendant 10 heures pour permettre le ramollissement des téguments. Après essorage et séchage solaire durant 12 heures, elles subissent une mouture pour donner de la farine "nixtamalisée".

Formulation et fabrication des chips

Les farines issues des grains ou graines traitées ont été utilisées pour la formulation des chips. Différentes formulations (tableau 1) contenant soit des farines pures de maïs, de niébé ou de soja (50%), soit des mélanges de deux types de farines (24 à 26% de chaque type), soit des mélanges des trois farines (14 à 20% de chaque type) ont été testés. Les autres ingrédients entrant dans les formules sont de l'eau, de l'huile végétale, de l'amidon, de la levure chimique (baking powder), des extraits de levure, du sel de cuisine, du sucre et des épices.

Les étapes de la fabrication consistent tout d'abord à peser la farine et à la mélanger avec les autres ingrédients. Puis, le mélange est pétri manuellement dans un bol pour obtenir une pâte homogène. L'étalement et le laminage de la pâte se font à l'aide d'un rouleau à pâtisserie entre feuilles plastiques. La pâte est ensuite découpée en rondelles de 6 cm de diamètre qui sont simultanément cuites et frites avec exposition des deux faces de chaque pièce dans une mince couche d'huile au four à 170°C pendant 4 minutes pour donner des chips.

Tableau 1: Formulation des chips.

Ingrédients	Farines pures			Combinaisons binaires de farines			Combinaisons ternaires de farines		
	Essai 1 (%)	Essai 2 (%)	Essai 3 (%)	Essai 1 (%)	Essai 2 (%)	Essai 3 (%)	Essai 1 (%)	Essai 2 (%)	Essai 3 (%)
Farine de maïs				24	25	26	20	17	20
Farine de soja	50	50	50				16	17	14
Farine de niébé				26	25	24	14	16	16
Eau	26	28	30	28	28	28	28	28	28
Huile végétale	12	7	2	7	7	7	7	7	7
Amidon	3	6	9	6	6	6	6	6	6
Sucre	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sel de cuisine	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Mél. aromates	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Levure chimique	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Extrait de levure	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Analyses chimiques des chips

Les analyses de la composition chimique des différents types de chips produites et achetées dans le commerce ont été effectuées afin de déterminer la teneur en eau, protéines, lipides, glucides et cendres. La teneur en eau est obtenue en mesurant par pesée la perte en eau après passage en étuve. La teneur en protéines a été déterminée par la méthode de Kjeldahl (AOAC Method 945.01)⁹. Le dosage des lipides a été réalisé par la méthode Soxhlet (AOAC Method 920.39C)⁹. Les cendres ont été obtenues après incinération à 550°C (AACC Method 08-01)¹⁰. Dans chaque cas, les déterminations ont été réalisées en triple.

Evaluation sensorielle des chips

Les propriétés organoleptiques des différents types de chips obtenus ont été évaluées et orientées par comparaison avec des chips du commerce par un panel de 21 étudiants. Les deux méthodes complémentaires d'analyse sensorielle utilisées ont été le "test de préférence" et celui "d'échelle ou de notation de qualité"¹¹ portant sur les caractéristiques organoleptiques des produits tels que l'apparence, la texture, la couleur, le goût et l'appréciation globale.

Analyses statistiques

Les différences entre les moyennes des teneurs en nutriments et entre les mesures des caractéristiques des diverses chips ont été évaluées par l'analyse de variance à un facteur en calculant les plus petites différences significatives de Fisher (ppds). Ces différences sont considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

RESULTATS ET DISCUSSION

Traitement des grains à l'alcali

Le traitement à l'alcali ou «nixtamalisation» facilite l'enlèvement des enveloppes et provoque également l'hydratation et la gélatinisation de l'amidon, l'amélioration de la texture et l'augmentation de la disponibilité des vitamines B des grains de maïs⁶. Cependant, il a été constaté que ce traitement, appliqué tel quel aux légumineuses, n'a pas donné les résultats escomptés. La nixtamalisation suivie de la cuisson des graines du niébé aboutit à une pâte difficile à sécher pour en faire de la farine. Ce même traitement appliqué aux graines de soja ne ramollit que partiellement les téguments. Plusieurs essais de mise au point de la technique de traitement des graines de légumineuses ont conduit à l'adoption du procédé qui consiste à faire subir aux graines de niébé un blanchiment à 100°C dans une solution de chaux éteinte Ca(OH)₂ à 1% pendant 5 minutes pour ramollir l'enveloppe. Après essorage, l'enlèvement des pellicules s'effectue par frottement des graines entre les mains. Les graines décortiquées sont ensuite trempées pendant 10 heures. Elles sont rincées puis séchées au soleil pendant 12 heures et moulues pour produire de la farine nixtamalisée qui est légèrement torréfiée ultérieurement pour atténuer sa saveur persistante.

La trituration des graines de soja, plus dures à cuire, a nécessité une torréfaction. Les graines sont d'abord bouillies pendant 5 minutes dans l'alcali, essorées et séchées pendant 12 h puis torréfiées à 180°C. Elles sont ensuite débarrassées de leurs téguments qui se détachent aisément par un léger pilonnage et vannage suivis d'une mouture pour donner une farine nixtamalisée. La torréfaction permet d'éliminer partiellement ou totalement certains des facteurs anti-nutritionnels ou toxiques et le décollement des enveloppes.

Le procédé traditionnel de production des *tortilla chips* transforme par mouture les grains de maïs traités à l'alcali ou *nixtamal* en pâte ou *masa* à partir de laquelle les chips sont produites. La méthode adoptée dans la présente étude aboutit plutôt à une farine qui peut être stockée et utilisée au moment opportun. Elle s'apparente au procédé industriel de production des *tortilla chips* qui, de nos jours, est devenu mécanisé et produit les chips à partir de différents types de farine de maïs nixtamalisée.

Formulation des chips

Les formules types retenues à l'issue des différents essais de formulation sont consignées dans le tableau 1. La reconstitution de la pâte *masa* se fait par mélange de la farine avec l'eau et les autres ingrédients qui sont ceux habituellement utilisés pour la fabrication des *tortilla chips*. L'utilisation de proportions variables de farines nixtamalisées et autres ingrédients a permis de retenir celles ayant donné le plus de satisfaction (essai 2 pour farines pures; essai 1 pour mélanges binaires et essai 1 pour mélanges tertiaires).

Cuisson et friture des chips

Compte tenu du matériel disponible et pour éviter une trop grande rétention d'huile, il a été adopté à l'issue des essais, une méthode qui consiste à faire cuire et frire simultanément avec exposition des deux faces de chaque pièce dans une mince couche d'huile au four à 170°C pendant 4 minutes. Contrairement à ce qui précède, le procédé traditionnel a recours à la cuisson au four (190–205°C; 40 s) des pièces de la pâte *masa* pour obtenir les *tortillas*, suivie d'un temps de refroidissement pour permettre l'homogénéisation de l'humidité dans les pièces avant la friture dans l'huile (185–200°C; 60 s).

Composition chimique des chips

Les analyses de composition chimique des chips (tableau 2) ont confirmé la richesse en protéines des chips de légumineuses. En effet, les teneurs en protéines des chips de soja, de haricot et des mélanges de farines sont de 3 à 9 fois plus élevées que celles des chips de maïs produites et du commerce. Ces constatations confèrent aux chips de légumineuses un caractère de produits à haute teneur en protéines.

Tableau 2: Composition chimique des différents types de chips (g / 100 g MB).

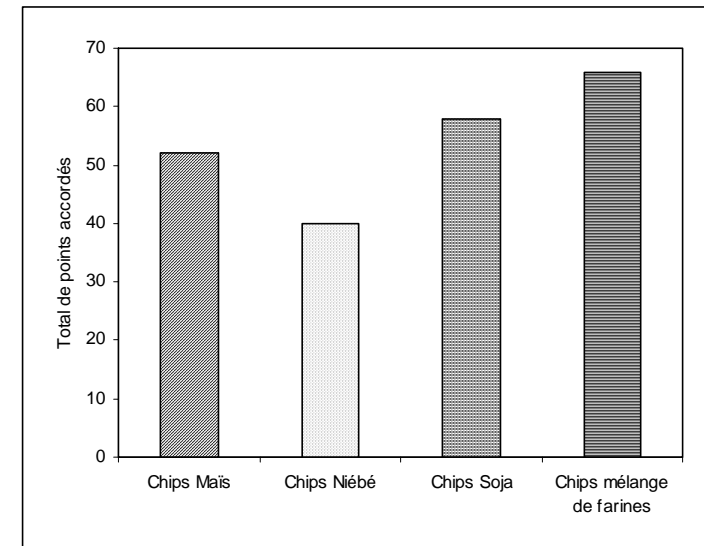
Produits	Teneur en eau	Protéines	Lipides	Glucides totaux	Cendres totales
<i>Tortillas</i> ¹²	47,8	5,4	1,2	44,8	0,8
<i>Tortilla chips</i> Poco Loco*	4,7 ± 0,5	3,4 ± 0,2 ^a	20,5 ± 0,6 ^a	67,5 ± 1,2	3,9 ± 0,9 ^a
Chips de maïs	7,4 ± 0,5	5,1 ± 0,1 ^b	13,2 ± 0,1 ^b	66,8 ± 1,2	7,5 ± 1,1 ^{ab}
Chips de soja	7,3 ± 0,2	28,6 ± 0,2 ^c	25,8 ± 0,1 ^c	34,3 ± 0,7	4,0 ± 0,7 ^a
Chips de niébé	10,0 ± 0,1	15,8 ± 0,2 ^d	13,8 ± 0,1 ^d	51,7 ± 1,3	8,7 ± 0,5 ^b
Chips de combinaison de farines (maïs, niébé, soja)	6,7 ± 0,6	12,8 ± 0,5 ^e	25,1 ± 0,1 ^e	47,7 ± 1,4	7,7 ± 1,1 ^{ab}

*Chips de maïs du commerce. Dans une même colonne, les moyennes non suivies de la même lettre sont significativement différentes ($p < 0,05$);

Evaluation sensorielle

Le test de préférence a permis de recueillir auprès des panélistes un classement par ordre de préférence des différents échantillons analysés (figure 1). Il ressort que les échantillons les plus appréciés sont les chips à base de mélange de farines, suivies de celles à base de soja et de maïs. Les chips à base de niébé viennent en dernière position. Les tests d'échelle de qualité ont apporté un peu plus de précision sur certaines caractéristiques organoleptiques soumises à l'appréciation des panélistes. Ces derniers tests ont montré que les différents types de chips présentent des

différences significatives au niveau de la couleur et du goût (figure 2). Toutes les chips paraissent croustillantes et agréables à mastiquer. Dans l'ensemble, les chips de soja, de mélange de farines et de maïs sont celles qui regroupent les qualités organoleptiques les plus appréciées par les dégustateurs. Le goût des chips à base de niébé a été moins apprécié.



(Les échantillons sont notés de 0 à 4 selon le degré de préférence par 21 panélistes soit un total de points de 0 à 84).

Figure 1: Comparaison des notes obtenues par les différentes formules de chips.

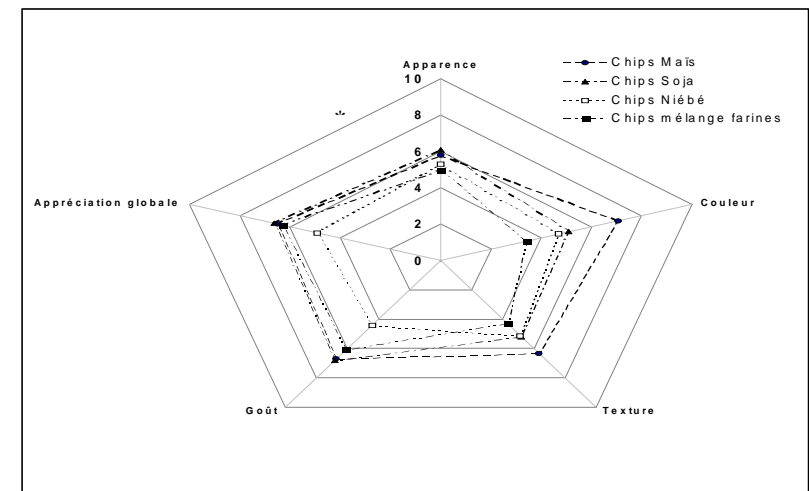


Figure 2: Notes moyennes (sur un total de 10 points) obtenues pour différentes caractéristiques organoleptiques par les différentes formules de chips retenues.

CONCLUSION

Cette étude a clairement montré que les graines de légumineuses, tout comme les grains de céréales, peuvent bien se prêter à la confection des chips. Le premier facteur important reste la nixtamalisation des grains qui est fondamentale pour obtenir des chips de bonne qualité. Cependant, ce traitement nécessite certaines adaptations selon le type de graines de légumineuse utilisé. Les chips des légumineuses ont une teneur en protéines élevée et mériteraient plus d'attention dans la mesure où elles peuvent contribuer à l'amélioration du statut protéino-énergétique déficient et précaire des jeunes dans les pays en développement.

RÉFÉRENCES

1. Almeida-Dominguez NG, Valencia ME, Higuera-Cipara I. Formulation of corn-based snacks with high nutritive value: biological and sensory evaluation. *J Food Sci* 1990;55(1):228-31.
2. Besançon P. La valeur nutritionnelle des légumes secs et des protéines de légumineuses. *Rev Fr de Diététique* 1978;84:5-17.
3. Stanton WR, Doughty J, Orraca-Tetteh R, Steele W. Légumineuses à grains en Afrique. Rome: FAO, 1970.
4. Bressani R. Productivity and improved nutritional value in basic food crops. In: Anonyme. Improvement of the Nutrient Quality of Cereals. Report of the 2nd Workshop on Breeding and Fortification. Washington, DC, 1976:265-87.
5. Kerr WL, Ward CDW, McWatters KH, Resurreccion AVA. Milling and particle size of cowpea flour and snack chips quality. *Food Res Int* 2000;134:39-45.
6. Khan MN, DesRosiers MC, Rooney LW, Morgan RG, Sweat VE. Corn Tortillas: Evaluation of Corn Cooking Procedures. American Association of Cereal Chemists, Inc. *Cereal Chem* 1982;59:279-84.
7. Sahai D, Mua JP, Surjewan I, Buendia MO, Rowe M, Jackson DS. Alkaline processing (Nixtamalization) of white mexican corn hybrids for tortilla production: Significance of corn physico-chemical characteristics and process conditions. *Cereal Chem* 2000;178(2):116-20.
8. Sahai D, Buendia MO, Jackson DS. Analytical techniques for understanding nixtamalized Corn flour: Particle size and functionality relationships in a masa flour sample. *Cereal Chem* 2001;78(1):14-8.
9. Association of official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington, DC: AOAC, 1990.
10. American Association of Cereal Chemist. Approved Methods. 10th ed. St. Paul, MN: AACC, 2000.
11. Stone H, Sidel LJ. Sensory Evaluation Practices. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press, Inc., 1993.
12. Bressani R, Paz y Paz R, Scrimshaw NS. Chemical changes in corn during preparation of tortillas. *J Agric Food Chem* 1958;6:770-4.

Challenges facing the food industries in Nigeria: the role of food technologists

Sanni Lateef O

Department of Food Science and Technology University of Agriculture, P. M. B. 2240, Abeokuta, 110001, Nigeria.

*Corresponding author: lateef_2@yahoo.com or losanni@infoweb.abs.net

- Abstract -

The paper looks into various definitions and scope of food processing. The levels of poverty in Nigeria and its effect on the food environment are discussed. Various opportunities such as changes in food consumption patterns, human population, income growth, increase in the demand for variety of products (like low calorie foods, fortified foods, nutraceuticals etc) and innovative processes are highlighted. Current challenges such as globalization, export earnings, improving rural household incomes, changing consumer taste, raw material sourcing, appropriate technology, food information management, cash flow, food policy and marketing as well as extension strategy are discussed. The level of food safety practices in Nigeria and various roles played by government, regulatory bodies, private organization, the consumers, and the food technologists are discussed. Issues on non-implementation of previous regulatory strategy are highlighted and suggestions on how to attain the ideals of food safety are enumerated. The contributions of the food technologists as exemplified by the current roles (such as stakeholders meetings, seminars, symposia, training and workshops on food processing and preservation) of the Nigerian Institute of Food Science and Technology in Nigeria towards adequate food processing practices are discussed. Various institutional innovations in ensuring effective and safe food processing practices in Nigeria are highlighted. One of the positive developments is the establishment of three universities of Agriculture in the three different geographical zones in Nigeria. As a case study, the paper enumerated the achievement of the University of Agriculture, Abeokuta in the establishment of small and medium scale processing factories for cassava products and cashew-nut. In conclusion, the paper suggests various strategies (such as review of academic curricula, research networking, capacity building, consumer education and awareness, infrastructural facilities, access to credits, government policies for viable business environment) towards ensuring adequate food processing practices in Nigeria.

Key words: Challenges – Opportunities – Food Processing – Nigeria – Food Technologists.

- Résumé -**Défis et opportunités des industries agroalimentaires au Nigeria: le rôle des technologues alimentaires**

Cette contribution examine diverses définitions et domaines de la transformation alimentaire. Les niveaux de pauvreté au Nigeria et leurs effets sur l'environnement alimentaire sont discutés. Par ailleurs, l'état de l'agriculture et des industries agroalimentaires nigérianes ainsi que l'environnement économique sont pris en compte, faisant apparaître divers facteurs déterminants au niveau physique, culturel, socio-politique, réglementaire, technologique et même psychologique. Diverses opportunités telles que les changements aux niveaux des modèles de consommation alimentaire, de la population, de la croissance des revenus, de l'augmentation de la demande pour une variété de produits (aliments à faible contenu énergétique, aliments fortifiés, nutraceutiques etc.) et des processus innovateurs sont soulignés. Les défis actuels tels que la globalisation, les recettes de l'exportation, l'amélioration des revenus des ménages ruraux, le changement des préférences des consommateurs, l'origine des matières premières, les technologies appropriées, la gestion de l'information relative aux aliments, le cash-flow, la politique alimentaire et le marketing aussi bien que les stratégies d'extension sont examinés. Le niveau des pratiques de sécurité sanitaire des aliments au Nigeria et les divers rôles joués par le gouvernement, les institutions réglementaires, les organisations privées, les consommateurs, et les technologues sont examinés. Les problèmes relatifs à la non mise en place des stratégies réglementaires précédentes sont abordés et des suggestions sur la manière d'atteindre les idéaux de la sécurité sanitaire des aliments sont données. Sont également discutées et illustrées par les rôles actuels (réunions de décideurs, séminaires, symposia, formation et ateliers sur la transformation et la conservation alimentaires) de l'Institut nigérian des sciences et des technologies des aliments, les contributions des technologues alimentaires au Nigeria en faveur de pratiques adéquates dans le domaine de la transformation des aliments. Diverses innovations institutionnelles pour assurer des pratiques de transformation efficaces et sûres au Nigeria sont soulignées. Un des développements positifs est l'existence de trois universités d'Agriculture dans les trois différentes zones géographiques du Nigeria. Comme étude de cas, la contribution a relevé la réussite de l'Université d'Agriculture d'Abeokuta dans l'établissement d'usines de petite et moyenne taille pour la transformation les produits du manioc et des noix de cajou. En conclusion, la contribution suggère différentes stratégies (telles que la revue des programmes académiques, la création de réseaux dans le domaine de la recherche, le renforcement des capacités, la sensibilisation et l'éducation du consommateur, les infrastructures, l'accès au crédit, les politiques gouvernementales en faveur d'un environnement viable pour les entreprises) permettant de favoriser des pratiques adéquates pour la transformation alimentaire au Nigeria.

Mots-clés: Défis – Opportunités – Transformation alimentaire – Nigeria – Technologues alimentaires.

INTRODUCTION

Food contributes to our physical, mental and emotional health¹. Food processing can be defined as the application of scientific principles to the preservation or modification of foods to make safe, appealing products with a uniformly high quality².

All food processes are made up of a series of steps (sometimes called unit operations), which have to be followed in a particular sequence in order to make the food. Food Processing involves cleaning, size reduction, sorting, grading, parboiling, dehulling, polishing, soaking, fermentation, drying, threshing or shelling, and fortification, enrichment or restoration.

Globally, there is enough food for all, but more than 780 million people are chronically undernourished². Poverty is a problem affecting many people all over the world. It is considered one of the symptoms or manifestations of underdevelopment. Poverty is the main cause of hunger and malnutrition, which are aggravated by rapid population growth, policy inadequacies, inconsistencies or weak administrative capabilities and poor food storage and processing techniques². Millions of people in the developing world simply cannot obtain the food of the right quality and quantity that they need for a healthy and productive life.

POVERTY LEVEL IN NIGERIA

Nigeria is the most populous country in Africa with an estimated population of about 120 million and growth rate of 3% per annum⁴. About 30% of the population (26 million) live in urban areas and depend on the rural populations, who are subsistence smallholder farmers, for some of their food requirements. Nigeria is blessed with abundant land with an area of 98.3 million hectares out of which 72% is considered suitable for cultivation. Only about 30 million hectares are estimated to be currently under cultivation.

The concept of poverty reflects numerous visible attributes of multi-dimensional nature. Attributes of poverty may be classified into structural, economic, social, cultural and political deprivations³. The structural dimension appears more permanent and manifests a vicious cycle, reflecting limited productive resources, lack of skills for gainful employment, location disadvantage and inadequate income to obtain the basic necessities of life. The social dimension of poverty is largely a gender issue since the greatest weight of poverty is borne by women, household-heads and children from poor homes. However, the conventional notion depicts poverty as a condition in which people are below a specified minimum income level and are unable to provide or satisfy the basic necessities of life needed for an acceptable standard of living⁵. Often, the poor are known to have inadequate level of consumption and they are limited in growth and brain development³.

The causes of poverty have been traced in the literature, partly to adverse developments on the international scene, world economic recession, foreign debt burden and a series of economic reforms undertaken by developing countries, which make them not to carry out poverty prevention programmes². But the far-reaching causes are domestically based. These include inadequate production and income, lack of access to employment opportunities, poor quality of labour force, low level of technology, inefficient use of resources, locational disadvantage, wars and natural disasters and the lack of access to credit and other productivity resources⁶.

In Nigeria, the economy had contended since the late 1970s with adverse economic environment created by oil shocks, world economic recession, deteriorating terms of trade, excessive importation or import dependency and debt overhang^{3,5}. These

difficulties were compounded by inappropriate and inconsistent domestic policies that aggravated macro economic imbalances apart from mismanagement and /or corruption. A Structural Adjustment Programme (SAP) was adopted in 1986 to correct some of the policy distortions and structural imbalances. But the economic reform further increased production costs, decreasing food availability, severely increasing the rate of inflation, grossly reducing the purchasing power of the vast majority of Nigerians, increasing poverty and economic inequalities and reducing access to food³.

As observed by Aworh³, the Nigerian food and agriculture situation is epitomized by:

- serious food shortages as evidenced by increase in food imports and escalating food prices to the extent that many Nigerians are malnourished. According to Igene (1997) as quoted by Sanni², the proportion of food insecure Nigerians were close to 60% as at 1996. Energy and protein intake, especially animal protein, fall short of recommended levels. Nutritional deficiency diseases such as protein-energy malnutrition, xerophthalmia (vitamin A deficiency), nutritional anemia's and goiter (iodine deficiency) continue to constitute serious public health problems;
- severe shortage of agricultural raw materials: The government backward integration programme aimed at accelerating local sourcing of raw materials and increasing the contribution of agro-industries to the modernization of agriculture, had little chance of success, *ab initio*, because of the problems associated with large-scale farming in Nigeria⁵;
- a decline in the contribution of agricultural sector to the Gross domestic product;
- a decline of the food safety and food security;
- a collapse of the country' agricultural export trade.

FOOD INDUSTRIES AND THE ENVIRONMENT

Rapidly changing world; the local environment, more than the global economy, is in fact more uncertain. The Nigerian business environment is a complex interplay of physical, cultural, socio-political, legal, technological and even psychological factors⁷. Over the last five decades, these factors have dictated the focus of industrialization in the food sector, yet no individual or organization often has direct control (table 1).

Market opportunities are enormous in the Nigeria environment. However, constraints of transportation and infrastructures especially communication facilities as well as vast urban-rural distances inhibit accessibility of products/services⁷. Thus, agro-industrial activities are still predominantly at cottage levels.

Very little emphasis is being paid to intermediate/raw materials food industries. This must be reversed. Small-scale plants for manufacture of enzymes, colours, flavours and other intermediate raw materials rather than final consumer products will achieve greater impact. Food Scientists and Technologists should show more interest in the food sector of Nigeria.

FOOD SAFETY PRACTICES

The essence of good manufacturing practice demands that food must be good and safe for human consumption within the period it is expected to be wholesome, and that whatever additives and preservatives are added have been certified as generally safe⁸. In Nigeria, food processors, food marketers and handlers as well as the consumers are important stakeholders in ensuring food safety⁸.

Table 1: Trends in the Nigerian Food Sector.

Period	Food Industries	Operations	Sources of materials	Characteristics of the environment/economy
Late 50s - Early 60s	Cottage bakeries Satis Lipton Coca-cola Cadbury Breweries	Bread making Meat processing Tea packing Mixing/bottling Packing (Food) Brewing/Bottling	Importation Local/Importation Importation Importation Importation	- Predominantly Rural agrarian life - Primary dependence on exportation of agricultural produce - Food Sector activities led by Multi-nationals.
Mid 60s - Mid 70s	Bakeries Lipton Satis Cadbury Coca-cola seven-up Pepsi cola	Bread/biscuits/pastries Tea packing Meat proc/pastries Cocoa bev/Confec/canned condiments Mixing/Bottling	Importation Importation Local/Import Local/Import Import	- Oil boom begins with attendant consumerism - Gradual shift from agriculture to construction industry - Food sector activities still led by Multi-Nationals but emergence of few /local initiatives - Civil war and later the three Rs - Significant increase in number of food sector industries
Late 70s - Mid 80s	As above with slightly marginal increase in number	Same as above	Same as above	Import licensing era, cottage industries developed, exponential increase in packaging industries due to liquidity but led by Asians, High level food importation, low agric output, & accelerated rate of price inflation with emergence of recession in 1981.
Late 80s - till date	Same as above	Same as above	Same as above	Collapse of oil wealth, poor convertibility of naira, SAP effect, interest rate deregulation, collapse of cottage Industries, development of survival of strategies by small/medium enterprises.

Source: Ogunmoyela G⁷.

Food safety is a major public health problem that causes considerable morbidity and mortality worldwide most especially developing countries like Nigeria⁸ given her literacy level and political instability and policy inconsistencies. Government, in an attempt to check this menace and ensure food security has promulgated food Standards and control laws⁹. However, partly due to the downturn of the economy, the proliferation of unregistered and unmonitored food processing and handling establishments has been a matter of great concern in Nigeria, especially as they failed to conform to approved standard specifications and handling for safety.

Our markets where these foods are displayed for sale are usually dirty and unsanitary and constitute a veritable source of microbial contamination. Environmental, as well as

poor domestic and industrial effluent disposal system, have caused the pollution of our rivers, lakes and ground water resources, thereby impacting negatively on our ability to produce water of acceptable or potable quality for food producers and consumers. Thus, the challenge to manufacturers, handlers, vendors and agencies for standardization and quality control is how to ensure that the food we eat and the water we drink are safe and wholesome.

For its part, the Nigerian government has enacted several laws and schemes as that prescribes standards for food manufacture and distribution. It has also established agencies (such as National Agency for Food and Drug Administration & Control, Decree No. 15, 1993; Standards Organization of Nigeria, Act No. 56, 1971 with amendments in 1976, 1984 and 1990 to mention a few) to enforce these laws and monitor their practices in Nigeria. Also, the Nigeria government, through its agencies, has embarked on the education of food handlers and vendors on health consciousness in the sales of food. It was in this regard that the National Council on Health, formulated a National Policy on Food Hygiene and Safety in 1999, which established specific or general limits to which food, food products, processes, procedures, practices and other stakeholders must comply to ensure safety of food and food products. This has been passed into law as at 2000¹⁰.

There are quite a few non-governmental and community-based organizations and associations that regulate the practice of food safety among their members through, sometimes, by-laws. Such organizations include cooperative societies, food vendors associations, food sellers union, restaurants operators associations, etc.

Consumers are equally being sensitized on their choice of wholesome foods. This enabled an individual to insist on certain standards in a food supply, or resist the purchase or consumption of contaminated or sub-standard food. This should in no time send unscrupulous producers out of business.

Food processing industries have been encouraged to establish GMP management systems based on the principles of Hazards Analysis Critical Control Points (HACCP). HACCP system can be applied at any stage, from raw material to consumption of food. It permits a systematic approach to the identification and assessment of hazards and risks associated with the production, distribution and use of processed¹. International bodies, such as the Codex Alimentarius Commission, have advocated a harmonized approach for the introduction of the HACCP system in the food Sector. This has become the code of practice for all food manufacturing industries in Nigeria.

However, many food processors in both formal and informal economic sector of Nigeria are yet to adopt this code of practice⁸, which may be as a result of lack of necessary skills by the food processors/handlers coupled with the unstable environment.

CHALLENGES

Major challenges facing food processing practices in Nigeria include:

- Urbanization: urbanization is associated with changes in food consumption patterns; together with human population and income growth. This growth in urban populations and the subsequent increase in the demand for food in urban areas are certainly one of the great challenges of the near future. Amongst others, the food sector has a role to play in providing reliable, accessible and nutritious food for urban areas at affordable prices.

- Products: consumers now require variety of products like low calorie foods, fortified foods, nutraceuticals and herbs, convenience/prepared foods, biotech products etc.
- Process: quality systems development, flexible manufacturing, innovation, business restructuring in an activity sequence and;
- People: as the resources that are ready to build core competencies, investing their intellectual and emotional commitment in the food industry and creating 'leadership' products; realizing vision via perseverance and sustainability of efforts and acknowledging the challenges of multi-skilling. Above all, the age of the new information order and the opportunities it offers food processing practitioners and professional food scientists and technologists are enormous.
- Increase globalization: implications for convenience, quality and safety of the novel or improved foods.
- Export earnings: implications for quality, safety and ethical trading of our foods.
- Improving rural incomes: processing to add value.
- Changing consumer needs: implications for new curricula and collaborative research works.
- Raw material sourcing: implications on quality, economic rate, adaptation, consistency in supply, and quantity to be supplied.
- Appropriate Technology: the technological challenge of the Nigerian Food processing has always been how to make the right choice to technology, which will be appropriate to a given purpose within a particular pattern for factor endowment that is time specific. This challenge is of particular significant in Nigeria because incorrect choice of technology has been identified as a major factor in the failure of industrial programme¹¹.
- Food Information Management: needs to manage the enormous volume of research data available in Nigeria. Focus on existing and new knowledge for our development.
- Cash flow/Food policy: the idea of collateral security coupled with insincerity amongst bankers' especially new generation banks dampens the acceleration of food processing in Nigeria. The exchange rate also remained high and this surely affects the productivity of the food processing sectors. The incessant change in government policy on food imports and exports also dampens the morale of major indigenous food industries.
- Marketing/Extension Strategy: the greatest inhibition of our professional practice in Nigeria is the absence of an organized and regulated extension service. Yet many beginning entrepreneurs need assistance in food safety, quality control, sources of ingredients and equipment or locating a contract partner; developing business and marketing plans, determining if their product fills a need or meets consumer wants, finding financial assistance, as well as laboratory and legal considerations. There is insufficient awareness today on many of these information requirements and availability of such services, especially giving room to a situation where professionals are exploited, public safety is at risk and at the mercy of all manner of 'quacks' and regulatory agencies cannot keep track. The examples of 'pure water' and 'cocoa beverages' suffice in driving home this menace and the enormous challenge before us as professionals.

ROLE OF FOOD TECHNOLOGISTS IN ENSURING EFFECTIVE FOOD PROCESSING PRACTICES IN NIGERIA

Academic Curricula

The present industrial training system in Nigeria calls for attention. The existing curricula in our tertiary institutions are not sufficiently flexible or relevant to the changing consumer needs and challenges of today. At a time when the introduction of food science into high school curriculum is the focus in other countries, our programs, as presently exist, produce graduates who can find no ready employment and yet are not sufficiently business-oriented to pursue their entrepreneurial spirit successfully. This is why Ogunmoyela¹² proposed what is appropriately described as a D.I.E.T (Dynamic Impactful Enterprise Total) programme in re-evaluating existing curricula, re-orientating same to prepare graduates for the realities of today and assist them in fitting to the emerging world of food processing practices. This may, involve a critical evaluation of the concept of working on projects in 'teams' that optimize the energy and talents of individual team members to prepare them for life outside the classroom.

Computer-aided food processing/research and food biotechnology are, undoubtedly, two of the most exciting developments in food processing and research that may have major impacts on new breed of food scientists and technologists. Computer applications in food processing include process control, process design and simulation, computerized food inspection system, computerized nutrient analysis and information storage and retrieval. The new curricula should focus more on acquisition of these tools by the new breed of our professionals.

Institutional innovations

The Universities of Agriculture were established in 1988 by the Nigerian government with a tripodial mandate to produce skilled manpower that is adequately furnished with the comprehensive information required for engaging in economic agricultural production as well as accelerate the pace of transfer of technology to the farmers and industrial communities through the development of an effective linkage between training, research and extension. It is therefore part of the tasks of these universities to accelerate food production in order that the national food problem might be solved.

Within fifteen years of existence, my university (UNAAB) has proved the relevance of its mandate in catalysing agricultural production and productivity in Nigeria in the areas of food crop production, livestock production, industrial crop production, and extension activities². In 1992 the concept of UNAAB FOODs started in the department of Food Science and Technology. Through cottage level processing, UNAAB has been able to package *gari* and cashew fruit juice for sale to members of the community and the immediate environs.

Today, the university is blessed with a Cashew-nut processing factory courtesy the Federal Ministry of Agriculture and the Education Tax Fund. The Cashew Implementation Committee of the university that has a mandate to recruit, purchase and process well over 50 tons of raw cashew-nut daily for the factory. With continuous support by Government and Donor Agencies, Food Technologists in my university are committed to ensuring wide distribution of cashew-nut products both at National and International levels thereby ensuring food security and employment generation for Nigerians.

Presently, Food Technologists in my university are to develop selected cassava based foods (fermented *fufu*, pounded *fufu*, *kokonte*, cassava grits and local "starch") to meet the changing and growing urban demand through the manufacture of products that are convenient, of high quality and are safe, courtesy the European Union funding.

Previous experiences in Ghana and Nigeria have indicated that the development of the SME sector is key to providing the linkage between rural producers and the urban market courtesy Department for International Development and the Natural Resources Institute, Kent UK. This project takes a holistic approach to provide "best practice" tools and technologies to develop the chain from production to consumption. The approach is holistic because it takes into account market demand and consumer preferences, the needs of rural products and processors and the needs of newly emergent or established SMEs. Issues of technology development, market economics, business development and social development are addressed in an integrated manner.

One hopes that such International Collaborative research work will ensure adequate food processing practices in Nigeria.

The Nigerian Institute of Food Science and Technology in Nigeria

According to Denenu¹³, prior to the attainment of political independence in 1960, the Nigerian economy was geared towards the production of agricultural raw materials for use by the British colonial powers. It was therefore not unexpected that the use of science and technology as tools of national development was given a low profile in the colonial educational system. Although, the Nigerian economy was principally agriculture-based, the discipline of Food Science and Technology was ironically hardly appreciated even after a decade of independence.

The formal emergence of the modern profession of Food Science and Technology in Nigeria closely parallels the commencement of degree programmes in the discipline at tertiary institution soon after the Nigerian Civil war in 1970. The pioneer degree programme in Food and Technology was started at the University of Ife (now Obafemi Awolowo University) at Ile-Ife, Nigeria in 1970. Coupled with this emergence of food professionals in academia was the corresponding emergence of a fledgling but nevertheless significant and distinctive modern industrial sector that could be termed food industry.

This awareness of a body of skills and knowledge in post-harvest food problems stimulated the desire to form an organized body of professionals to cater for its specialized need. After series of consultations, the nucleus of NIFST was formed on 5 June 1976 with adoption of the draft constitution of the Institute at Federal Institute of Industrial Research, Oshodi, Lagos, Nigeria with 45 people in attendance. Today, we have over 5000 Membership which cut across private sector, tertiary institutions, research institutes, and government parastatals.

The Institute has been the vanguard for food safety, being a body of professionals in food science and processing and quality control.

Our cardinal objectives for setting up NIFST are:

- to propagate, promote and further the knowledge, science, technique and development of, in or the application of science and technology to food and allied products;
- to disseminate information amongst food scientists and technologists by sponsoring, organizing, coordinating, and participating in research, workshops, symposia, seminars and publications, designed or relevant to food science or allied subjects and government policies there on.

Our vision: good and abundant food for all through service to humanity and country resulting in food security and well being of Nigerians.

Our mission: to harness the abundance of talent and knowledge amongst food professionals in Nigeria towards food sufficiency and good nutrition of the masses in the next five years.

Our tactical approach:

- creating awareness for the existence and works of the institute and getting appropriate recognition (charter);
- training and education of food practitioners and professionals;
- providing professional support for the food industry through research, scientific and regulatory activities, workshops, seminar, etc.
- providing the required rallying point for the membership;
- providing information and library service for the total membership (private and corporate) and the Nigerian public;
- organizing annual conferences:
 - to expose new opportunities in the area of food processing and technology,
 - to provide a good professional platform for interactions,
 - to conduct annual general meetings for reflecting on the institute's past activities and channel the way forward,
 - to elect officers to run the affairs of the institute,
- bringing about greater interactions amongst members and participation in the institute's affairs by breaking into chapters and zones for geographical convenience;
- producing and providing publications of interest for use by professionals and the general public;
- constituting the council of the institute to periodically review progress, proffer solutions to issues and map out way forward for the institute;
- employing the services and experience of its senior members (Fellows and Past Presidents) for the greater good of the institute on and on going basis.

NIFST members help to propagate, promote and advance the knowledge in application of science and technology in the resolution of problems of food and allied industries. NIFST has been a member of the International Union of Food Science and Technology (IUFOST) for the last 20 years.

Strategies for ensuring effective food processing practices

In conclusion, the paper suggests various strategies (review of academic curricula, Networking at National & Regional level, Capacity building amongst food processors and experts, Consumer education and awareness, well-maintained infrastructure, good management, access to credits, genuine government positive policy and viable business environment) towards ensuring adequate processing practices in Nigeria.

For effective food processing practices, there must be effective strategies. Priority areas for action include:

- access to planning information, access to credit, access to raw materials and proper research/transfer will ensure effective food processing practices;
- an effective food processing, distribution and marketing system will require an appropriate and well-maintained infrastructure, including markets, road networks and extension services to advise farmers on improved storage techniques or on how to bulk their produce as a group to reduce marketing costs;
- supportive research and technology transfer and technical assistance will increase effectiveness of food processing practices;
- credit facilities and good management are also vital points towards effective food processing practices;

- with regard to the special needs of the many women involved in food processing and marketing, governments can assist by providing information and training on the use of appropriate processing technology and by providing extension support for marketing of fresh and processed produce.

CONCLUSION

The Challenges are enormous, the opportunities are astonishing. The future belongs to those who will be Quality Conscious and whatever, they do, they will do it quality way. That is, right first time and every time, zero defect, error free work, total commitment to provide wholesome, safe and healthy foods to the consumers at affordable prices. The current trends provide opportunities for Food Technologists who will have innovative thinking and orientation, transparency and honesty taking due advantage of the 'global village' not to waste time 're-inventing the wheel'. We need to free the entrepreneurial spirit in all of us as food professionals. To successfully do this, we need sharp implements (such as initiative and creativity) to cut through the thickest of uncertainties, inertia and dependency-psychosis prevailing in the developing countries like Nigeria.

REFERENCES

1. Sanni LO. Quality Assurance in the Food Industry. Abeokuta, Nigeria: Jedidiah Publishers, 1997:146.
2. Sanni LO. Agricultural development without Post harvest system: Any hope for success? University of Agriculture, Abeokuta: Alumni Association Lecture Series, 2000;2:23.
3. Aworh OC. Food Security and the survival of food and agro-allied industries in the next millennium. Keynote address delivered at the 22nd Annual Conference of the Nigerian Institute of Food Science and Technology. Abeokuta, Nigeria, 23-27 Nov 1998.
4. Sanni LO. Food in the life of a Nation: the food science and Technology in the next millennium. Paper presented at the Raw Materials and Development Council. Abuja, Nigeria, 26th October 1999:10.
5. Okuneye PA. Rising cost of food prices and food insecurity in Nigeria and its implication for poverty reduction. CBN Economic & Financial Review 2003;39(4):15.
6. Okuneye PA. "Employment Generating Potentials of Agricultural Processing and Storage Technology: Additional Gain in Increased Food Availability Pursuit". Paper presented at the Workshop for Local Government Officials in Lagos State. Lagos, April 2000.
7. Ogunmoyela G. Food sector industrialization in Nigeria: the impact of the business environment. Paper presented at the 10th Annual Symposium of the Nigerian Institute of Food Science and Technology (Western Chapter). Moshood Abiola Polytechnic. Abeokuta, 5th May 1995:8.
8. Okon EU. Food Safety Practices in Nigeria. Invited paper presented at a symposium on food safety and quality management in Africa. Kenya: IUFoST, 2002:12.

9. Osuide GE. Food control laws and regulations. Proceedings of Workshop on Food Safety in manufactured and packaged foods organized by the Nigerian Institute of Food Science and Technology. Oshodi, Lagos, Nigeria, 1997:36-41.
10. National Policy on Food Hygiene and Safety. Nigeria: Federal Ministry of Health, 2000.
11. Ngoddy PO. Local manufacture of food processing equipment and spare parts: a challenge to engineers & fabricators. Plenary paper presented at the 20th Annual Conference of the Nigerian Food Science and Technology (NIFST). Lagos, Nigeria, 29th October, 1996
12. Ogunmoyela G. Food Science and Technology: Challenges and Opportunities. In: Denenu EO, ed. Perspectives. Vanguard, 1999:7.
13. Denenu EO. 15 years of the Nigerian Institute of Food Science and Technology. Niger Food J 1991;9:1-3.

Physico-chemical and quality characteristics of fish sauce produced from tuna processing wastes

Soyiri^{1,2*} Ireneous N, Tano-Debrah¹ Kweku, Amoa-Awuah² Wisdom A

¹ Department of Nutrition and Food Science, P. O. Box LG 134, University of Ghana, Accra.

² Food Research Institute, Microbiology Division, (Council for Scientific and Industrial Research) P. O. Box M20, Accra.

*Corresponding author: soyiriin@hotmail.com

- Abstract -

The use of fish-processing by-products in the manufacture of fish sauce is a common practice in Southeast Asia. In Ghana, fish processing by-products abound. In a typical tuna canning industry, 60-70% of the fish received end up as waste after the canning process. In Post-harvest management, they might be considered as losses. This study investigates the potential use of Tuna processing wastes as raw materials for the production of fish sauce. Tuna processing wastes from a typical tuna processing industry in Ghana were characterized physically (bone, soft tissues and scales/fins), physico-chemically (moisture, total ash, crude fat, crude protein and carbohydrate) and microbiologically (aerobic mesophiles, facultative anaerobes, yeasts and coliforms). Soft tuna tissues were blended with glucose (10% w/w) as a substrate for microbial fermentation and then sodium chloride (10% w/w) as an ingredient to prevent petrification. The blend was then incubated in partially aerated plastic jars (1000g per jar) at 37.0°C for 49 days. The physico-chemical and quality characteristics of the sauce produced in the 7-week fermentation were determined using standard analytical procedures. The sauce produced was dark brown in colour and had 16.0% sodium chloride, 18.0% crude protein, 36.6% free amino nitrogen, 3.3% total fat, a TBA number of 3.3 and a pH of 4.4. Histamine and heavy metal (Cadmium, Selenium, Mercury and Arsenic) levels were below maximum acceptable limits and the sauce was free of food borne pathogens. Generally the physico-chemical quality of the product was comparable to fish sauces reported by earlier authors. This paper provides an alternative approach to maximizing the utilization of fish for human consumption whilst limiting the waste generated during processing. The technology can be applied and exploited at household and community levels to supplement nutrient needs for fish intake.

Key words: Tuna processing wastes – Fish sauce – Fermentation.

- Résumé -

Caractéristiques physico-chimiques et qualité de la sauce de poisson produite à partir des déchets de transformation du thon

L'utilisation des sous-produits du poisson pour la fabrication de sauce de poisson est une pratique courante en Asie du Sud-Est. Au Ghana, les sous-produits du poisson abondent. Dans les conserveries classiques de thon, 60-70% des poissons reçus finissent comme déchets après les procédés de mise en conserve. En terme de management «après récolte», ils pourraient être considérés comme des pertes. Cette étude explore les possibilités d'utilisation des déchets de transformation du thon comme matière première pour la production de sauce de poisson.

Les déchets de transformation du thon d'une conserverie classique de thon du Ghana ont été caractérisés au niveau physique (arêtes, tissus mous et écailles/nageoires), physico-chimique (humidité, cendres totales, protéines brutes et glucides) et microbiologique (bactéries aérobies mésophiles, aérobies facultatives, levures et coliformes). Les tissus mous du thon ont été mélangés avec du glucose (10% m/m) en guise de substrat pour une fermentation microbienne et, par la suite, du chlorure de sodium (10% m/m). Le mélange a ensuite été incubé dans des bocaux en plastique partiellement aérés (1000 g par bocal) à 37.0°C pendant 49 jours. Les caractéristiques physico-chimiques et qualitatives de la sauce produite pendant les 7 semaines de fermentation ont été déterminées en utilisant les procédures d'analyses standard.

La sauce produite était de couleur brune sombre et contenait 16.0% de chlorure de sodium, 18.0% de protéines brutes, 36.6% d'azote aminé libre, 3.3% de matières grasses totales, un nombre de T.B.A de 3.3 et un pH de 4.4. Les teneurs en histamine et en métaux lourds (cadmium, sélénium, mercure et arsenic) étaient en-dessous des limites maxima acceptables et la sauce était dépourvue de bactéries pathogènes. Le plus souvent, la qualité physico-chimique du produit était comparable à celle des sauces de poisson déjà décrites par d'autres auteurs.

Cette contribution propose une approche alternative pour optimiser l'utilisation du poisson en alimentation humaine tout en limitant les déchets générés au cours de la transformation. La technologie peut être appliquée et exploitée au niveau des ménages et des communautés pour compléter les apports en nutriments à partir des poissons. La prochaine phase de ce travail va essentiellement se consacrer aux aspects sensoriels et culinaires.

Mots-clés: Déchets de transformation du thon – Sauce de poissons – Fermentation.

INTRODUCTION

Waste generation and its management are important issues all over the world. Food processing is one of man's activities, which contributes considerably to waste in general¹. The choice of waste re-use in a fish industry in Ghana presents the opportunity to turn out new products by channeling waste as a raw material through novel processes. Bioconversion is a low cost process in which biotechnology is applied to transform organic materials into desired products² Fish sauce is an important fermented fish product in some parts of the world. It is in the likeness of soy sauce, and it is used as a condiment in meal preparations. It is more popular in Southeast Asia³. A typical fish sauce contains various nutritionally important hydrolyzed protein products and other macromolecules of fish⁴. The main raw material for its preparation is fish wastes and other small whole fishes and/or fish by-products from fish-smoking houses (e.g. guts)³. In oriental traditional fish sauce processing, the fish product is mixed with a predetermined amount of salt and a fermentable sugar source and fermented for long periods (Ref). Several authors have reported the presence of a wide range of microorganisms during the fermentation of fish sauce^{5,6,7,3,8,9}. Salt-tolerant bacteria (*Micrococcus*, *Staphylococcus* and *Bacillus*) and lactic acid bacteria (*Pediococcus* and *Lactobacillus*) play important roles in the fermentation¹⁰. Fish sauce is apparently not known in Ghana, unlike soy sauce. The practice of fish fermentation is however an old business, as in the production of products like *koobi* and *momone*¹¹. The use of fish processing wastes in such processes is however not practiced even though fish waste generation in Ghana is undoubtedly high. It is estimated that wastes in the canning of tuna *Thunnus spp* are about 60-70% of the fresh fish at the beginning of processing⁹. While such wastes are sometimes directly used in animal feed production and aquaculture, they are considered as losses in post-harvest management terms. To maximize the utilization of the fish produce (protein), it is worthwhile to consider processes that would convert these wastes into products for direct human consumption. The main objective of this work was to investigate feasibility of producing fish sauce from wastes and to evaluate some of the quality characteristics of both the raw material (tuna processing wastes) and the fish sauce.

MATERIALS AND METHODS

Sample acquisition and Preparation

Tuna processing wastes

This was obtained from Pioneer Food Cannery, a tuna canning industry in Tema, Ghana. This industry has two major processing lines: one for the raw packaging of tuna into cans – generating raw tuna waste and the other for the packaging of pre-cooked (steamed) tuna and this line generates mostly pre-cooked waste. Samples of both 'Raw' and 'Pre-cooked' tuna wastes were aseptically packaged in sterile polythene bags on site and transported to the laboratory in an ice chest.

Sugar and sodium chloride

Glucose and sodium chloride that were all laboratory grade chemicals (AnalaR), were used. The raw and precooked tuna fish wastes were separated into bone, fins, gills and muscles. The meat portions of the raw and precooked samples were mixed (1:1) using a Hobart bowl chopper (Model No. 84142PED, Spec. No. 8163, The Hobart Mfg. Co. Ltd., Ontario, Canada) for 3 min.

Fish (Tuna) Waste Characterization

Physical characterization

The raw tuna processing wastes were hand-sorted into their various components of bone, fins and scales and soft tissues.

Proximate analyses

Protein, crude fat, moisture, and total ash contents of the samples were determined using standard AOAC (1990) methods described¹².

Microbiological characterization

Plate Count Agar (PCA) and Tryptone Soy Agar (TSA) were used to determine the bacterial populations in the fish processing wastes. Also, deMan Rogosa and Sharpe (MRS) agar was used to determine the population of lactic acid bacteria (Facultative anaerobes) whilst the coliforms were determined using an overlay of TSA on Violet Red Bile Agar (VRBA) in Petri dishes. Malt Agar (MA) containing 100 ppm of chloramphenicol selective supplement was used in the isolation of yeasts.

Production of fish sauce

The process flow chart for the production of fish sauce is shown in figure 1. Fish sauce was produced using deboned fish waste, 10% salt and 10% glucose as carbon source to facilitate the growth of microorganisms. The blended deboned fish waste was packed into fermenting jars (1000 g per jar) and then placed in an incubator at 37.0°C for fermentation. Fermentation was allowed to proceed over seven weeks. Control experiments were set up in which no carbohydrate source and salt were added to the fish waste.

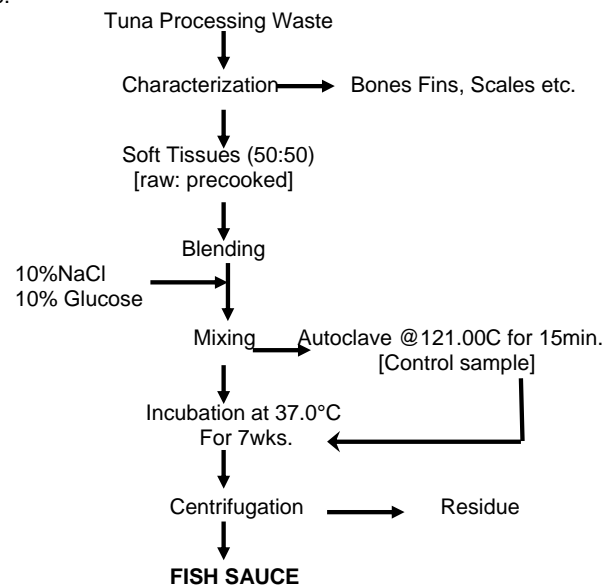


Figure 1: A typical flow diagram for the laboratory processing of fish sauce.

Physico-chemical analyses of fish sauce (Liquid Extract)

The physico-chemical changes associated with the fermentation of the fish sauce were monitored on the extracts of sauce collected at various stages of the fermentation. Samples of the extracts were filtered through Whatman No. 4 filter paper (Whatman Co. USA) and the filtrate used for the following determinations. Moisture content, Sodium Chloride (NaCl) content, pH, Titrable acidity, Total lipid, Free fatty acids (FFA), Total nitrogen protein and Free amino nitrogen (FAN) were analyzed using standard methods¹.

Determination of heavy metals and other safety parameters of fish sauce

The Ramanathan and Das method¹³ was used to determine the Thiobarbituric acid number. The heavy metals were determined by Atomic Absorption Spectrum method using a Perkin Elmer (Model 3110, PERKIN ELMER – AAS, USA) equipment following the method described by Vinas et al¹⁴. The following metals were determined: Cadmium, Selenium, Mercury and Arsenic. The condition and assay settings of the instrument were set in accordance with the Operators manual. Standard curve for each metal was prepared using standard solutions obtained from the Ghana Standards Board.

Determination of histamine in fish sauce was by Colorimetric method involving the reaction of histamine with a diazo aromatic compound to form a colour complex, which enabled histamine to be estimated by column chromatographic technique as described by Rogers and Staruszkiewicz¹⁵. In this test a 4.0 ml sample of fish sauce (4.0 ml) was blended with 100 ml of 2.5% Trichloroacetic acid solution and filtered. The filtrate was then neutralized to a pH 7.0 with 1N Potassium hydroxide and 0.75 ml applied to a column of Amberlite (1 g of resin in 10 ml of 0.2 N acetate buffer - pH 4.63). The column was then washed with 100 ml buffer to remove all interfering substances after which Histamine was eluted with exactly 25 ml of 0.2 N hydrochloric acid. A blank was performed using a similar volume of 2.5% TCA. A 2.0 ml of chilled diazo reagent (0.894 g p-bromoaniline in 9 ml concentrated HCl and diluted with distilled water to 100 ml plus 5% Sodium nitrite) was added to the mixture and allowed to stand at 0°C for 10 min. prior to the measurement of absorbance. 1 ml of the eluent HCl eluate was added to 15 ml of 5% Sodium carbonate in a stoppered test tube previously chilled in ice water bath and the absorbance determined at 495 nm using distilled water as reference in a Double beam Uvikon Spectrophotometer (UVIKON 940, Kontron instruments, Tegimenta AG CH-6343, Switzerland). A standard curve was prepared using 0-80 µg histamine/ml 0.2N HCl and the concentration of histamine calculated as:

$$\text{Concentration in ppm} = K \times (F/E) \times \text{Conc. } \mu\text{g/ml.}$$

Where $K = (25\text{ml HCl} / 75\text{ml 1N KOH}) \times 4\text{ml of sample taken} = 1.3$; $F = \text{Volume after neutralization}$; $E = \text{Volume of extract after filtration}$.

Microbiological analysis of fish sauce (Liquid Extract)

Sampling for microorganisms and incubation

Samples of the fermenting fish extract were taken from three different depths (surface middle and bottom) of the fermenting jar for the determination of total plate count. These samples (1.0 ml each) were serially diluted with peptone water (0.1% peptone, 0.85% NaCl pH: 7.2±0.2) and then plated for aerobic counts on PCA and TSA; yeast counts on MA; Facultative anaerobes on MRS and then for coliforms on TSA/VRBA as described for the microbial characterization of the fish waste above. These

inoculated agar plates were thus incubated at 35°C for 72 hours and 30°C for 72 hours respectively for PCA and TSA plates. MA plates were incubated at 30°C for a period of 3 to 5 days. The MRS plates were incubated for 5 days at 30°C. Samples of the fermenting fish extract were taken on predetermined days (0, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 35, 42 and 49), for the isolation and identification of the dominant microorganisms.

Isolation and characterization of microorganisms

The isolation of dominant microorganisms was done for each category using their respective broth cultures. Thus from the plate count dilutions, colonies numbering 15 to 20 per plate were selected for sub-culturing into the broth. The grown broth cultures were subsequently streaked onto agar plates until pure colonies were obtained.

In the characterization and identification of isolates, the Aerobic mesophiles and lactic acid bacteria were tested for the following: Gram reaction, Catalase test, Oxidase test, Casein hydrolysis, Starch hydrolysis, Acid Production from carbohydrate and Hugh & Leifson test. These species of the isolates were identified by determining their pattern of carbohydrate fermentation, together with other characteristics described above and comparing these to known carbohydrate fermentation profile¹⁶.

Yeasts were identified by their colony and cell morphology as well as their assimilation and fermentation of carbohydrates as described by Kreger Van Rij¹⁷ and Kurtzman and Fell¹⁸.

Test for food borne pathogens

In the test for Food Borne Pathogens, classical microbiological methods and selective media were used in the test for the detection of the following pathogens.

Detection of *Staphylococcus* spp.

A 10 ml aliquot of the fish sauce/extract was serially diluted and plated (0.1ml) on Baird-Parker agar plates (containing: g/L Distilled water; 63 g, Baird-Parker Medium [Oxoid CM275]; 50 ml, SR54 supplement all at a pH 6.8 ± 0.2) using the spread technique. The plates were incubated for a total of 48 ± 4 h at 37.0 ± 1.0 °C for the observation of typical colonies, which would be confirmed biochemically for the production of coagulase using the coagulase test.

Detection of *Bacillus cereus*

As a pretreatment, 10 ml of fish sauce was incubated in a water bath for 30 min. at 30.0 ± 1.0°C prior to inoculation. Serial dilutions were made and 01 ml of each was plated onto Bacillus Cereus Agar Base plates (containing: g/L, Distilled water; 20.5 g, Bacillus Cereus Agar Base [Oxoid CM617]; 2 ml, SR99 supplement; 25 ml, SR47 supplement; pH 7.2 ± 0.2). The plates were incubated at 30.0 ± 1.0°C for 24 ± 3 h, and typical colonies numbering 10 to 100 were examined physically and microscopically for *Bacillus cereus*.

Detection of *Clostridium Perfringens*

A sample of fish sauce (10 ml) was serially diluted as described above and inoculated (1 ml) into Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) agar (containing: g/L, distilled water; 46 g, TSC [Oxoid CM587]; pH 7.6 ± 0.2) after which the inoculum was overlaid with 3/4 of the quantity of the TSC initially inoculated upon at a temperature 45 ± 1°C. The petri dishes were incubated anaerobically at 37.0 ± 1.0°C for 24 ± 3 h. The black colonies numbering 10 to 100, were counted and further identified using Blood-free Pyruvate Clostridium Perfringens (BCP) agar according to the method described by

Hood et al.¹⁹

Detection of *Salmonella* spp.

Samples of fish sauce weighing 2.22g were put in a pre-enrichment medium containing g/L, distilled water; 20g, Buffered Peptone Water [Oxoid CM509]; pH 7.2 ± 0.2). This was incubated at 37.0 ± 1.0°C for 18 ± 2 h. The pre-enrichment broth was then mixed prior to removal and 0.1 ml transferred to 10 ml Rappaport-Vassiliadis Soy peptone (RV) broth (containing: g/L, distilled water; 30g, RV [Oxoid CM669]; pH 5.2 ± 0.2), which had been pre-warmed to the incubation temperature. Incubation was done in a water bath at 42.0 ± 0.2°C for 23 ± 3 h. The contents of the enrichment broth was plated onto Xylose Lysine Decarboxylase (XLD) agar plate (containing: g/L, distilled water; 53.5 g, XLD [LAB M 048395]; 4.5 g, Agar [LAB M Q 21767/184]; pH 7.4 ± 0.2) and then incubated at 37.0 ± 1.0°C for 24 ± 3h. Typical colonies were expected to have slightly transparent zone of reddish colour and a black centre.

Detection of coliform bacteria

Fish sauce was serially diluted and 1.0 ml of each diluent was pour plated with 5 ml of TSA (containing: g/L, distilled water; 40 g, TSA [Oxoid CM131]; 2.5 g; Agar [LAB M Q 21767/184]; pH 7.3 ± 0.2), previously temperate to 45.0 ± 1.0°C and mixed with inoculum. This was then pre-incubated at 20 – 25°C for 2 h, and overlaid with 10–15 ml molten VRBA (containing: g/L, distilled water; 38.5 g, VRBA [Oxoid CM107]; 5.5 g, Agar [LAB M Q21767/184]; pH 7.4 ± 0.2) previously held at 45.0 ± 1.0°C. The dishes were incubated at 37.0 ± 1.0°C for 24 ± 3 h. Typical Coliform bacterial colonies were identified as dark red colonies surrounded by a red precipitation zone. These colonies were further confirmed using Brilliant Green Bile Lactose Broth (BGLB) containing g/L, distilled water; 52 g, BGLB (LAB M 049084); pH 7.2 ± 0.2 and incubated at 37.0 ± 1.0°C for 24 ± 3h for the production of gas.

RESULTS AND DISCUSSION

Physical Characterisation and Proximate Composition of Tuna Processing Wastes.

According to figures 2 and 3, the fish muscles (soft tissues) constituted a major portion of the waste generated during the canning process. The raw tuna processing waste had more of these soft tissues than the pre-cooked waste. It was however generally observed that 80-94% of the waste comprised fish muscles, 4.2-18.9% was bone and the fins comprised 1.2-1.6%. The proximate composition of tuna wastes obtained from the two separate process lines described earlier is presented in table 1 and it shows a high content of protein and relatively low fat content in both samples (the raw and pre-cooked tuna processing wastes). The ash content was relatively high for the pre-cooked sample and it reflects a rather high bone proportion of the latter whose mineral content is higher. Generally however, the compositions of the raw and pre-cooked samples were similar. The proximate composition of the samples suggests the suitability of the waste samples as raw material for a bioconversion process, since considerable portions of the waste (fish muscles) constitutes protein (21 to 23%) which is usually hydrolyzed during fermentation to yield a liquid (fish sauce). The tuna processing wastes has great potential since a greater portion consists of fish muscle (soft tissues) and a large quantity of the waste is produced daily by several industries in Ghana. This is of value in the production of fish sauce since fermentation leads to the hydrolysis of the tissue proteins into smaller molecular weight proteins, peptides

and amino acids. These components make up the fish sauce. The protein content of tuna wastes is quite significant in relation to other nutrients and can be exploited to supplement the protein intake of man.

Table 1: Proximate composition of tuna processing wastes collected from two process lines in a tuna canning industry in Ghana.

Analyses (%)	Pre-cooked sample	Raw sample
Moisture	67.09 ± 1.57	76.81 ± 0.95
Total Ash	9.24 ± 1.12	3.76 ± 1.76
Crude Fat	2.54 ± 0.12	2.17 ± 0.04
Crude Protein	21.24 ± 0.80	23.41 ± 0.03
Carbohydrate	<1.0	<1.0

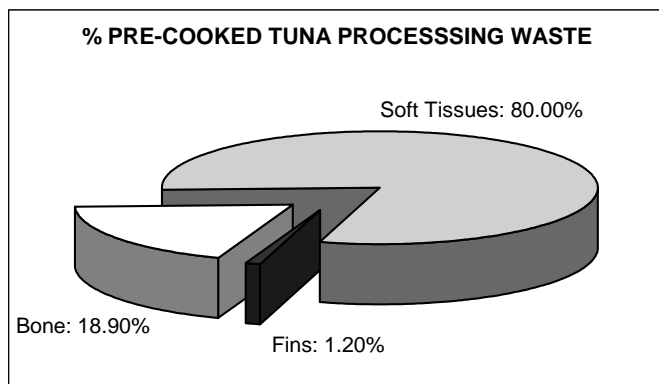


Figure 2: Percentage pre-cooked tuna processing waste.

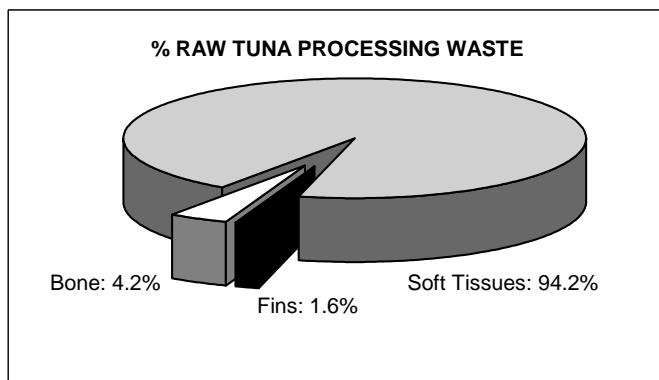


Figure 3: Percentage raw tuna processing waste. **Physico-chemical changes during bioconversion of tuna processing waste into fish sauce**

Table 2 shows the quality characteristics of fish sauce produced from tuna processing wastes using glucose as additional substrate for fermentation. In the fermentation process, the sauces produced from fermentation (involving the use of glucose as added sugar) had pH's ranging from 4.6 to 5.7 pH units over the fermentation period (table 3). The pH of the samples remained fairly constant at about pH 5.5 during the first 21 days of fermentation. After 21 days there was a significant drop in pH in fish extract containing glucose as the source of carbon whilst in the control sample which no carbohydrate was added showed an increase in pH to about 8.0 by the end of the 42nd day of fermentation. This sample had gone extremely bad and had an odour of deteriorated fish. The increase in pH of the control sample was due to putrefaction leading to the formation of basic nitrogenous compounds. In the sample to which glucose had been added as carbon source for microbial growth bioconversion into fish sauce was successful. The drop in pH was attributed to the production of acids during bioconversion. According to Frazier and Westhoff²⁰ the trend in pH reduction may be explained as due to the involvement of lactic acid bacteria that were able to ferment sugars (glucose in particular) to produce lactic acid, which then resulted in the lowering of the pH. The differences in pH between the two samples could be attributed to the availability of fermentable sugars coupled with the population of lactic acid bacteria at the time, as well as the presence of enzymes inherent in the raw material used or produced by microbes. Lee et al.²¹ have also indicated such an inverse relationship between pH and lactic acid; and also pH and acid forming bacteria/yeast in a lactic fermented fish product called *Sikhae*. The acidity, which was measured with reference to lactic acid over the period of fermentation, ranged from 0.9-1.0 to 1.2-2.5% (table 3). There was a gradual rise in acidity of the fish extract in sample. This indicated acidic fermentation in the sample. In the control sample no such increase in acidity was observed.

The moisture content varied from 72.6-74.5% to about 79.6-83.0% over 49 days of fermentation (table 3). There was an increase of over 10% in moisture content in all samples during the first 3 days of bioconversion. However after this, slight decrease in the moisture content of all samples was observed till the end of bioconversion.

The variations of salinity of the extract over the period of fermentation ranged from 10.1% to between 16% (table 3). The absence of fluctuations in salinity is a reflection of the inherent homogeneity of the fermentation systems set up in the laboratory. A similar situation was also reported²².

The total protein of the extract at the beginning of fermentation was 11.2% and this increased over the period of fermentation to about 16.7-18.0% (table 3). Free Amino Nitrogen ranged between 5.0% to 36.6 mg/ml (table 3). The sample showed increases in protein content and free amino nitrogen of the fish extracts during bioconversion. This could be explained by the combined effect of autolysis and microbial degradation of the fish muscle, which is usually associated with fish sauce production. According to Ijong³ increases in total free amino nitrogen and total soluble nitrogen occur concurrently during the production of fish sauce.

Total lipids in the sauces ranged between 2.3 and 4.0% over the period (table 3). There was a gradual increase in % total lipid. The lipids in the fish were very labile due to the high number of unsaturated fatty acids²³. Some hydrolyses took place and this led to the formation of free fatty acids.

The volume of extract produced over the fermentation period ranged between 144 ml and 295 ml (table 3). There was gradual but consistent liquefaction of the fish tissue during the 42 days of bioconversion with a slight increase in the rate of hydrolysis after 21 days of bioconversion.

The Thiobarbituric acid number (TBA) number which is an indication of the differential lipid oxidation occurring in the sauces produced was considerably high compared to traditional Southeast Asian fish sauces (table 2). The histamine level of the sample was below the maximum acceptable level set by the US FDA (5mg/g of fish) to regulate fishery products; as a result of its medical importance²⁴ and therefore considered safe. Mercury was not detected in any of the samples tested whilst the levels of all the other heavy metals measured; Cadmium, Selenium and Arsenic were below the maximum acceptable levels set (table 2).

Table 2: Key quality characteristics of the fish sauce produced from tuna processing waste using glucose as an additional substrate for fermentation.

Quality Index of sample	Characteristics of fish sauce (Lab. Sample)
Colour	Dark Brown
Moisture (%)	72.61 ± 1.15
Salt (%)	16.03 ± 0.05
Total Protein N (%)	18.01 ± 0.10
Total FAN mg/ml	36.59 ± 0.10
Total lipid (%)	3.28 ± 0.19
Free Fatty Acid	38.07 ± 1.78
pH	4.43 ± 0.12
Acidity as (w/w) Lactic acid%	2.43 ± 0.01
TBA Number	3.31 ± 0.01
Histamine (ppm)	13.95 ± 0.05
Cadmium (Cd)	0.21 ± 0.00
Selenium (Se)	5.4 ± 0.2
Arsenic (As)	4.16 ± 0.23
Mercury (Hg)	0

Table 3: The transitional changes of some physico-chemical parameters observed during the fermentation period.

Duration (Days)	pH	NaCl (%)	Acidity (w/w lactic acid)	Moisture (%)	Protein (%)	FAN (mg/ml)	Lipids (%)	Yield (ml)
0	5.67	10.16	-	62.12	11.22	-	2.24	-
3	5.27	10.25	0.92	74.52	11.22	-	2.25	140
7	5.43	10.49	0.82	74.81	11.23	5.02	2.31	146
14	5.48	13.34	1.02	73.8	12.49	4.28	2.6	156
21	5.42	14.85	1.21	73.54	12.23	4.87	2.6	170
28	5.41	14.98	1.58	73.67	13.72	6.66	2.74	216
35	4.98	15.49	1.94	73.14	17.85	39	3.02	250
42	4.59	16.03	2.43	72.62	18.01	36.58	3.98	284

Microbiological studies

Microbial population of tuna wastes

Growth on Plate Count Agar (PCA), and Tryptone Soy Agar (TSA) referred to as aerobic mesophiles showed the presence of the different types of microorganisms in the fish waste (table 4). Both the pre-cooked and raw samples have all the category of microbes. As expected the microbial population in the raw uncooked waste was higher than with the pre-cooked samples. Growth on de-Man Rogosa and Sharp (MRS) plates referred to as Gram positive and facultative anaerobes were also present but these had a slightly lower count compared to the Aerobic mesophiles. The Aerobic mesophiles and facultative anaerobes were however more predominant than other microorganisms. It was observed that the pre-cooking of the tuna reduced the population of aerobic mesophiles and counts on the MRS by about 100 fold (table 4). The dominant microbial types were the aerobic mesophiles, which were present at levels of about 6.6×10^9 cfu/g in the uncooked tuna waste, and about 2.6×10^7 cfu/g in the cooked tuna waste. The growth on the Malt Agar (MA) and Violet Red Bile Agar (VRBA) were recognised as yeasts and Coliforms respectively. The population of yeasts and coliforms were fairly low, as shown in table 4.

Table 4: Microbial population in colony forming units/g of tuna processing wastes.

Microorganism	Precooked sample	Raw sample (uncooked)
Aerobic Mesophiles ^a	$(1.0 \times 10^7)^m$	5.4×10^9
Aerobic Mesophiles ^b	2.6×10^7	6.6×10^9
Counts on MRS Agar	5.1×10^6	8.5×10^8
Yeasts ^c	1.0×10^3	9.3×10^3
*Coliform	1.6×10^3	1.4×10^3

^a Counts on Plate Count Agar; ^b Counts on Tryptic Soy Agar; ^c Counts on Malt Agar supplemented with chloramphenicol (100ppm). ^m Enumerated on VRBA; ^m Mean value.

The total population of microflora in the wastes as received was quite high particularly for the raw tuna wastes (table 4). This is important, as it will provide a good source for the selection of important species, which are relevant to the production of fish sauce through spontaneous fermentation. Even though lower counts were observed for yeasts, it was not very significant as yeasts and moulds are known to play little role in the traditional fish sauce fermentation²⁵.

Microbial populations of fish sauce from tuna waste

Counts for this sample were quite high at levels $1.1 \times 10^8 - 2.0 \times 10^8$ cfu/ml for TSA, PCA and MRS at the beginning of the bioconversion process. The pattern of distribution was similar as their numbers generally decreased with time. Representative colonies of the MRS plates were mostly Gram-positive, catalase-negative rods, coccobacilli and cocci. They were also found to be oxidase negative and non-sporing, suggesting they were largely lactic acid bacteria. The PCA and TSA plates had representative colonies consisting of both gram-positive and gram-negative bacteria. The Yeasts and Coliforms were fewer in numbers at the start, 7.4×10^3 and 1.4×10^3 cfu/ml, but the Yeasts survived up to the 21st day (table 5). The counts of Aerobic mesophiles and Yeasts that require salt for survival as shown as Halo-TSA and Halo-MA were not observed at all after the 5th day of bioconversion.

Of the 162 strains of aerobic mesophiles isolated from TSA plates, 155 were Gram-positive. They were put under 7 different groupings based on their colony and cell morphology. The Characteristics of typical forms fall under the following species: *Micrococcus*, *Planococcus*, *Corynebacterium*, *Peptococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* and *Bacillus* spp. Out of the 162 bacterial strains isolated only 7 were Gram negative. These were also grouped accordingly as *Moraxella* spp. and *Branhamella* spp. These two species are known to be parasitic on the mucous membranes of man and other warm-blooded animals²⁶. Furthermore, the presence of human pathogens on the fish is related to heavy human pollution of the environment. These Gram-negative bacteria; from their nature, must have been contaminants resulting from the handling of the tuna processing waste. Even though they are of public health importance, they did not survive the fermentation period for the first week. This was largely due to the composition of the fermenting medium, which was unsuitable for their survival. In the case of the yeasts, the following were identified: *Pichia capsulata*; *Candida vaccinii*; *Rhodotorula becarum*; *Rhodotorula pustula* and *Sporobolomyces roseus*.

Table 5: Total microflora counts in cfu/ml of fish fermenting extract.

Duration of Fermentation (Days)	Aerobic Meso-philic on TSA ^a	Aerobic Meso-philic on PCA ^b	Facultative Anaerobes on MRS ^c	Yeasts on MA ^d	Coliform bacteria VRBA ^e	Salt tolerant Meso-philic (Halo-TSA) ^f	Salt tolerant Yeasts (Halo-MA ^g)	Control Exp. ^h
0	(2.0x10 ⁸) ^m	1.8x10 ⁸	1.1x10 ⁸	7.4x10 ³	1.4x10 ³	5.2x10 ⁴	5.2x10 ⁴	0
3	6.4x10 ⁶	3.2x10 ⁶	6.8x10 ⁶	3.9x10 ³	1.0x10 ³	3.3x10 ³	2.0x10 ³	0
5	1.9x10 ⁵	4.3x10 ⁵	4.7x10 ⁵	2.4x10 ³	6.8x10 ¹	2.1x10 ³	8.2x10 ²	0
7	3.6x10 ⁵	2.7x10 ⁴	1.3x10 ⁴	1.8x10 ³	3.1x10 ¹	0	0	0
14	1.5x10 ⁷	7.5x10 ⁶	1.3x10 ⁶	1.5x10 ³	0	0	0	0
21	1.6x10 ⁴	5.6x10 ⁴	6.7x10 ³	1.9x10 ²	0	0	0	0
28	1.4x10 ³	2.8x10 ³	5.8x10 ⁴	0	0	0	0	0
35	3.1x10 ²	3.5x10 ²	1.2x10 ⁶	0	0	0	0	0
42	4.8x10 ²	1.7x10 ²	0	0	0	0	0	0
49	2.0x10 ²	7.1x10 ¹	0	0	0	0	0	0

^a Aerobic mesophile counts on Tryptic Soy Agar.

^b Aerobic mesophile counts on Plate Count Agar.

^c Facultative anaerobe counts on MRS Agar (Gram-positive, catalase-negative rods, coccobacilli and cocci).

^d Yeasts counts on Malt Agar supplemented with chloramphenicol (100ppm).

^e Enumerated on VRBA.

^f Enumerated on TSA supplemented with 10% NaCl for halotrophic microorganisms.

^g Enumerated on MA supplemented with 10% NaCl for halotrophic microorganisms.

^h Control sample was autoclaved at 121oC for 15 min prior incubation.

^m Mean value.

CONCLUSION AND RECOMMENDATIONS

Both pre-cooked and raw tuna wastes obtained from Pioneer Food Cannery had 80 – 94% soft tissues and was considered to be suitable for the production of fish sauce. The tuna waste had 66 – 77% moisture, 4 – 9% total ash, 2% fat, 21 – 23% protein and less than 1% carbohydrate. Carbohydrate sources apart from sucrose, which could be used successfully to produce fish sauce, are, Malt from maize, Pineapple, Mango, Banana, and Plantain because they also contain considerable amounts of fermentable sugars and would be cheaper to come by.

During the bioconversion process, moisture decreased from 83 to 73%. Total protein and free amino nitrogen of the sauce increased from 11 to 18% and 5.02 to 36.6mg/ml respectively. Similarly total lipid and volume of sauce produced per kilogram respectively increased tremendously from 2 to 4.0% and 144 to 295ml. pH dropped from 5.7 to 4.6 whilst titrable acidity increased from 0.96 to 2.5%. The initial strong odour characteristic of fish wastes was greatly reduced in the residue. This would certainly enhance its use in the animal feed industry, as the fermentation process is known to enhance bioavailability of nutrients.

Undoubtedly inoculation of fish wastes with these groups of microorganisms appropriately will hasten the fermentation and degradation of the wastes. The fish sauce produced was found to be safe since it contained no pathogens and low levels of heavy metals and histamine which, with reference to the US FDA standards are far below the maximum permissible levels.

Thus this study sets the impetus for Ghanaian food (fish) processing industries to consider the option of waste reuse through bioconversion to meet some of the challenges of cutting down on the ultimate quantity of waste produced. It does not also limit the exploitation of other microorganisms found to promote biodegradation of certain wastes particularly from the agribusiness sector. The socioeconomic gains of reducing the pollution potential of such wastes prior their discharge into the environment will be immeasurable.

REFERENCES

1. Nemerow NL. Zero Pollution Industry – waste minimization through industrial complexes. New York: Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons Inc., 1995.
2. Atlas RM. Principles of microbiology. 2nd ed. Boston: WCB-McGraw-Hill, 1997:171-3,788-804,1207.
3. Ljong TG. A study on the production of an Indonesian Traditional Fish Sauce (*Bakasang*). Doctoral Thesis. Graduate School of Biosphere Sciences, Hiroshima University, 1996:11,54-5.
4. Ljong TG, Ohta Y. Characteristics of *bakasang* fermented with lactic acid bacteria – mixed culture. J Fac Appl Biol Sci 1995;34:1-10.
5. Dyett EJ, Hughes RB, Jones CRV. Meat and meat products. London & New Jersey: Appl Sci Publisher, 1981.
6. Lopez GS Jr. Microbial ensilage of trash fish for animal feed. Proceedings of the workshop on postharvest technology, preservation and quality of fish in Southeast Asia (Nov. 13-17, 1989). Stockholm, Sweden: IFS, 1989:189–91.
7. Olympia SDM, Valenzuela AG, Takano M. *Burong Bangus*, a traditional fermented fishery product in the Philippines. Proceedings of the workshop on postharvest technology, preservation and quality of fish in Southeast Asia (Nov 13-17, 1989) Stockholm, Sweden: IFO, 1989:67–76.
8. Morzel M, Fransen GN, Arendt EK. Defined starter cultures used for fermentation of Salmon fillets. J Food Sci 1997;62(6):1214-7.
9. Soyiri IN. Bioconversion of tuna wastes into fish sauce. Master of Philosophy Thesis. Legon, Ghana: University of Ghana, 2002.
10. Campbell-Platt G. Fermented foods of the World, a Dictionary and Guide. London, England: Butter worth's, 1987.

11. Nerquaye-Tetteh G, Eyeson KK, Tete-Marmon J. Studies on *Bomone*, a Ghanaian fermented fish product. Ghana J Agric Sci 1978;11:21-6.
12. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 15th ed. Arlington, VA: AOAC, 1990.
13. Ramanathan L, Das NP. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. J Agric Food Chem 1992;40:17-21.
14. Vinas P, Campillo N, Lopez Garcia L, Cordaba MH. Flow injection flame atomic absorption spectrometry for slurry atomization. Determination of calcium magnesium, iron, zinc and manganese in vegetables. Anal Chim Acta 1993;283:393-400.
15. Rogers PL, Staruszkiewicz WF. Histamine test kit comparison. J Aquatic Food Product Technol 2000;9(2):5-17.
16. Claus D, Berkeley RCW. The genus *Bacillus*. In: Sneath PHA, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986;2:1105-39.
17. Kreger-Van Rij NJW. The yeasts: A taxonomic study. Amsterdam: Elsevier, 1984: 1081.
18. Kurtzman PC, Fell JW. The Yeasts, a taxonomic study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 1998: 3, 296-7, 565-6, 825-6, 836-7.
19. Hood AM, Tuck A, Dane CR. Blood-Free-Pyruvate Clostridium Perfringens (BCP) Agar. J Appl Bact 1990;69:359-72.
20. Frazier WC, Westhoff DC. Food Microbiology. New York, USA: McGraw Hill Book Co., 1988.
21. Lee CH, Lee EH, Lim MH, et al. Characteristics of Korean fish fermentation technology. Korean J Diet Culture 1986;3:267-79.
22. Thongthai C, Siriwongpairat M. Changes in the viable bacterial population, pH and chloride concentration during the first month of *Nam Pla* (fish sauce) fermentation. Thailand J Sci Soc 1978;4:73-78.
23. Huss HH. Fresh Fish – quality and quality changes. A training manual prepared for the FAO/DANIDA. Training programme on Fish Technology and Quality Control. Rome: FAO, 1988.
24. Collette RL. Industry practice of HACCP to prevent histamine in tuna and other seafoods. Arlington, VA: Food Regulatory Affairs, National Fisheries Institute, 2001.
25. Thongthai C, Siriwongpairat M. The sequential quantitation of micro-organisms in traditionally-fermented fish sauce (*nam-pla*). In: Reilly PJA, Parry RW, Barile LE, eds. Post harvest technology, preservation and quality of fish in Southeast Asia. Stockholm, Sweden: IFS, 1990:51-9.
26. BØvre K. Gram-negative bacteria. In: Krieg NR, Holt JG, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986:296-303.

Acknowledgements: We wish to acknowledge the logistic support of the Department of Nutrition and Food Science of the University of Ghana and the DANIDA project for capability building in African Fermented Foods through the Food Research Institute (CSIR) Ghana, in this research work.

Selection, use and the influence of starter cultures in the nutrition and processing improvement of *ogi*

Teniola^{1*} Olakunle D, Odunfa² Sunday A, Holzapfel³ WH

¹ Biotechnology Division, Federal Institute of Industrial Research, Oshodi (FIRO), P. M. B. 21023, Ikeja, Lagos, Nigeria.

² Botany and Microbiology Department, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria.

³ Institute of Hygiene and Toxicology, Bundesforschungsanstalt für Ernährung (BFE), D-76131 Karlsruhe, Germany.

*Corresponding author: olakunleteniola@yahoo.com

- Abstract -

Starter cultures for *ogi* production were selected with the aim of improving processing technique, lysine and methionine levels of *ogi*, a traditional lactic acid fermented West African weaning food. Microorganisms from fermenting raw materials were screened for lysine, methionine, bacteriocin and biogenic amine productions, pH reduction, oligosaccharides and phytate degradations. *Lactobacillus brevis* XO43 and *Saccharomyces cerevisiae* OY4 were selected and used as starter cultures in a pilot plant study. Changes in pH, titratable acidity, lysine and methionine were monitored during fermentation. Samples produced with the selected starter cultures compared very well with the traditional fermented sample product as indicated by the sensory analysis. *ogi* fermentation process with the use of starter culture will improve *ogi* production technique and create a new avenue towards product nutritional improvement.

Key words: *Ogi* – Starter culture – Lysine – Methionine – Lactic acid fermentation.

- Résumé -

Sélection, utilisation et effets de cultures starters pour l'amélioration de la transformation et de la valeur nutritionnelle de l'*ogi*

L'amélioration nutritionnelle de l'*ogi* était précédemment basée sur la fortification du produit avec des légumineuses pour accroître les teneurs en acides aminés déficients. Après que cela a été fait, le nouveau produit était différent de l'*ogi*. Ce travail vise à choisir et démontrer la capacité de cultures starters productrices de lysine et méthionine pour améliorer les teneurs en acides aminés et la transformation de l'*ogi*.

Des micro-organismes isolés de matières premières fermentées ont été sélectionnés pour produire de la lysine, de la méthionine, des bactériocines et des amines biogènes ainsi que pour abaisser le pH et dégrader des oligosaccharides et phytates.

Des substrats de fermentation pré-inoculés avec *Lactobacillus brevis* XO43 et *Saccharomyces cerevisiae* OY4 choisis comme cultures starters lors d'une étude à l'échelle pilote présentaient un pH constant de 3,35 et une acidité plus élevée après fermentation que celle de l'*ogi* obtenu par fermentation spontanée. Des analyses de l'*ogi* fermenté ont montré que l'utilisation des cultures starters augmentaient les teneurs en lysine et méthionine disponibles. La fermentation de grains de maïs décortiqués avec du glucose (2% sec p/p) et des cultures starters donne de meilleures qualités pour tous les paramètres. Après séchage au four, il est de 24% supérieur à la farine d'*ogi* obtenue par fermentation traditionnelle et 11% supérieur aux grains de maïs entiers non transformés. La teneur en méthionine de l'échantillon de cette fermentation était plus élevée de 92% et de 77% respectivement que l'échantillon d'*ogi* préparé traditionnellement et que les grains de maïs entiers non fermentés. La teneur totale en acides aminés de l'échantillon était de 32% supérieure à celle de la farine d'*ogi* fermentée traditionnellement et de 55% supérieure à celle des grains de maïs. Les échantillons produits avec les cultures starters sélectionnées sont comparables à l'échantillon du produit traditionnel fermenté spontanément comme l'indique l'analyse sensorielle. Les teneurs en acides aminés et la transformation de l'*ogi* sont améliorées par l'utilisation de cultures starters bien choisies. L'utilisation de grains de maïs décortiqués comme substrat permet de procéder à une fermentation en milieu solide et d'éviter le tamisage humide de la méthode traditionnelle; elle réduit l'espace nécessaire, les besoins en eau et les pertes nutritionnelles durant le séchage.

L'utilisation des cultures starters pour la production d'*ogi* est une bonne base pour l'amélioration future du produit par la mise en œuvre de techniques biotechnologiques modernes.

Mots-clés: Lysine – Méthionine – Production d'acides aminés – Cultures starters – *Ogi*.

INTRODUCTION

Ogi is a common West African lactic acid fermented staple food from corn, sorghum, or millet¹. The popularity and general acceptance of *ogi* has encouraged various works on the microbiology^{2,3,4}, nutrition⁵⁻⁹ and the production techniques¹⁰⁻¹³. Onyekwere et al.¹ gave a detailed description of cottage and the industrial production techniques presently used. Despite all the attentions, only few works have been carried out on the use of starter cultures^{11,13}.

The Federal Institute of Industrial Research, Oshodi (FIIRO), Lagos, Nigeria, developed a pilot processing plant for *ogi* production based on the traditional procedure that requires spontaneous fermentation¹. Although, this has encouraged a better product presentation, packaging, increased shelf life and increased output, the fermentation requires improvement for better efficiency and nutritional improvement. Products resulting from the present spontaneous fermentation process are not likely to be reproducible worldwide due to varying microflora and the environmental conditions. The spontaneous fermentation been used has also discouraged the potential use of modern biotechnology techniques to improve the product quality.

Attempts at the nutritional improvement of *ogi* in the past has been based on product fortification with legumes such as groundnut, pinto, soyabean and cowpea to boost the deficient amino acid levels^{7,8,14}; while this has been achieved, a different product emerged that is different from *ogi* in flavour, aroma, and general acceptability^{1,15}. The daily replacement of the sour water on *ogi* to prolong the shelf life is cumbersome and may reduce the nutritional value through lost of water-soluble nutrients. The use of starters in controlled *ogi* fermentation has the advantage of utilizing the vast potentials of the lactic acid bacteria and other useful micro-organisms present in the natural fermentation to improve *ogi* and solve various health problems. Olukoya et al.¹³ developed an improved *ogi* named *DogiK* with potential use in the prevention and treatment of diarrhoea by using *Lactobacillus* starter cultures with antagonistic activity against diarrhoeagenic bacteria (and also possessing amyolytic activity). The product is active against pathogens in cooked and uncooked form and at neutral pH. Lactic acid bacteria and yeast from *ogi* and other related sources have been identified with important features such as production of antimicrobial substances against major pathogens and spoilage microorganisms^{16,17,18}, production of amino acids such as lysine and methionine^{19,20} as well as various enzymes that are capable of degrading anti-nutritional factors like phytate, protease inhibitors and oligosaccharides^{21,22}.

This work is aimed at selection and demonstrating the ability of the selected lysine- and methionine- producing starter cultures to improve the amino acid levels of *ogi* in a pilot plant study. The implication of certain steps employed during processing and their effects on the final product will also be investigated.

MATERIALS AND METHODS

Screening of starter culture

Isolates of yeasts and lactic acid bacteria (LAB) cultures obtained during *ogi* processing as previously described¹ were screened to obtain *ogi* starter cultures. Isolates were screened for such important features as pH reduction ability²³, acid production from oligosaccharides²², lysine and methionine production^{20,24}, phytate degradation²¹, bacteriocin production^{25,26} and biogenic amine production²⁷. Promising isolates were further tested and selected for use as *ogi* starter cultures.

Selected starter cultures

Saccharomyces cerevisiae OY4 and a heterofermentative *Lactobacillus brevis* XO43 identified as *ogi* starter cultures with lysine and methionine producing capabilities²⁸ isolated in an earlier work were used for the fermentations.

Inoculum production for fermentation

Twenty-four hours cultures of *S. cerevisiae* OY4 and *L. brevis* XO43 on agar slants were prepared according to the method of Teniola and Odunfa²⁸.

Fermentation experiment

The raw materials used for the laboratory studies include maize and soyabean flour which were purchased at Idi-Oro market, Mushin, Lagos. Fifteen kilograms (15kg) of dehulled maize grains was used for each fermentation. The substrates were made up of substrates: (A) Dehulled maize grains alone; (B) Dehulled maize grains and glucose (2%w/w); (C) Dehulled maize grains, glucose (2%w/w), and soyabean flour (1%w/w). These were each mixed with 32 litres of tap water and inoculated with 1.6 litres of well mixed equal proportions of *L. brevis* XO43 and *S. cerevisiae* OY4 prepared inoculum above [10^7 - 10^8 c. f. u. /ml confirmed by microbial plate count using MRS agar (Oxoid CM 361) and SDA (Oxoid CM 41)]. An uninoculated spontaneously fermented sets from the substrates described above were used as the control; while whole maize grains spontaneously steeped and fermented as done traditionally was used as a reference control¹. After 24 h of steeping, the fermented grains were wet-milled using a double grinding mill (Model: Asiko A11, Addis Engineering, Nigeria). The wet-milled mash was further fermented for 48 h. The traditionally prepared reference control from whole maize grains was wet-sieved before further fermentation. After fermentation, the pH and percentage total titratable acidity of the fermented mash samples were measured. *Lactobacillus brevis* XO43 and *Saccharomyces cerevisiae* OY4 used as starter cultures were isolated and confirmed with the stock cultures using various morphological and biochemical tests. The representative samples of each of the fermentation sets were freeze-dried at -40°C temperature using a Labconco freeze-dryer (Lyph-Lock 6, Labconco Co., Kansas City, USA)²⁸. The water of the fermented mash samples was each removed and the water extract kept at -20°C temperature for subsequent analyses. The wet-cakes were oven-dried using a Mitchell tray oven-drier (L. A. Mitchell Ltd. Drying Engineers, Ref. No. 008404/63/Exp, Manchester, England) at 55°C to obtain *ogi* flakes. These flakes were milled into powder in a disk mill (Apex-Mill, Apex Construction Ltd., England) and packaged in polyethene bags. The final samples were stored at -20°C temperature prior to analyses. The experiments were set-up in duplicates.

Chemical analyses

The pH and total titratable acidity (TTA) were determined directly from the fermentation mash prior to drying according to the method of Oyewole²⁹. Total amino acids assessment was according to Rosen³⁰ while the method of Lowry et al.³¹ was used for the total soluble protein determination.

Determination of lysine, methionine and niacin

Test materials were prepared according to A.O.A.C.³² methods. The samples were analysed for availability of lysine, methionine, and niacin by microbiological assays³²⁻³⁴.

Organoleptic (sensory) evaluation test

A 7-man trained panel who were familiar with *ogi* were asked to assess the qualities of the 48 h fermented samples considering the colour or appearance, aroma, taste, sourness after taste, mouth feel consistency and overall acceptability as reported by Teniola and Odunfa²⁸. This was then analysed statistically as described by Cass³⁵.

Statistical analysis

This was done by analysis of variance (ANOVA) using the Duncan's Multiple Range Test (0.05 level) as described by Cass³⁵.

RESULTS

Natural lysine and methionine production study of *Lactobacillus* and yeast in batch fermentation of *ogi* showed that 43% of the *Lactobacillus* and 83% of the yeast isolates tested were capable of lysine production while 25% of the *Lactobacillus* and 88% of the yeast isolates produced methionine. Other important characteristics of the screened LAB isolates vary depending on LAB groups as shown in tables 1.

Table 1: Characteristics of lactic acid bacteria screened as *ogi* starter cultures.

Lactic acid bacteria groups	Number of isolates	Cell morphology	Reduction of MRS pH<4.0	Phytate degradation	Bacteriocin production	Acid from oligosaccharides	
						Stachyose	Raffinose
Homo-fermentative <i>Lactobacillus</i>	35	Rods	32	20	0	16	33
Hetero-fermentative <i>Lactobacillus</i>	25	Rods	2	4	0	4	12
<i>Pediococcus</i>	65	Cocci	63	24	0	29	59
<i>Lactococcus</i>	24	Ovoids	1	9	3	6	8
<i>Leuconostoc</i>	1	Ovoids	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i>	20	Ovoids	4	1	0	9	13

The changes in the pH and the percentage total titratable acidity (%TTA) of the fermented mash after 3 days of fermentation are presented in table 2. Fermentation substrates pre-inoculated with starter cultures showed similar pH level of 3.35 after fermentation in contrast with the variable pH readings for the spontaneously fermented. The pH 3.35 level was slightly lower but close to the pH 3.40 observed in the traditional fermented reference *ogi* sample from whole maize grains. Fermentation with starter cultures gave products with higher acidity (%TTA) than the spontaneous fermentations (table 2). Addition of sugar and soyabean flours also increased the acid levels during fermentation.

Table 2: Changes in pH and percentage total titratable acidity (%TTA) of 3-day fermented *ogi* gruel*.

Substrate used	Fermentation type	pH	Percentage total titratable acidity (%TTA)
Whole maize grains	Spontaneous	3.40	0.934
Dehulled maize grains alone	Spontaneous	3.25	0.937
	Starter culture	3.35	0.991
Dehulled maize grains and glucose (2%w/w)	Spontaneous	3.45	0.973
	Starter culture	3.35	1.262
Dehulled maize grains, glucose (2%w/w) and soyabean flour (1%w/w)	Spontaneous	3.50	1.000
	Starter culture	3.35	1.297

Spontaneous= traditional method

*Stated values are means of two trials.

Nutrients such as lysine, methionine, total amino acids, soluble protein and niacin reduced when whole maize grains were dehulled (tables 3 and 4).

Table 3: Lysine and methionine contents of pilot-plant produced *ogi* sample.

Samples used	Fermentation type	Lysine (mg/g)		Methionine (mg/g)	
		Oven dried	Freeze dried	Oven dried	Freeze dried
Whole maize grains (WMG)	Unfermented	16.26 ^{ch}	nd	2.19 ^{ch}	nd
Dehulled maize grains (DMG)	Unfermented	9.07 ^{ah}	nd	1.56 ^{bh}	nd
Traditionally produced <i>ogi</i> from WMG	Spontaneous	14.54 ^b	26.63 ^d	2.02 ^c	5.83 ^c
<i>Ogi</i> from DMG alone	Spontaneous	7.39 ^a	8.73 ^a	1.54 ^b	3.01 ^a
	Starter cultures	13.27 ^b	20.65 ^c	2.77 ^c	4.12 ^b
<i>Ogi</i> from DMG and glucose (2% w/w)	Spontaneous	7.35 ^a	12.61 ^a	0.96 ^a	3.42 ^a
	Starter cultures	18.08 ^c	29.28 ^d	3.88 ^d	7.38 ^d
<i>Ogi</i> from DMG, glucose (2% w/w) and soyabean (1% w/w)	Spontaneous	12.23 ^b	16.74 ^b	2.50 ^c	4.84 ^b
	Starter cultures	15.53 ^c	18.15 ^d	3.76 ^d	5.48 ^c

^{a-d} Values in the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$). Stated values are means of two trials; ^h Results for unprocessed raw material samples; nd, not determined.

Freeze-dried *ogi* analyses indicated that the use of starter cultures increased the levels of the available lysine and methionine. The total amino acids and soluble protein also increased more after fermentation when compared with spontaneously fermented freeze-dried controls and the unfermented dehulled maize grains used as

the substrates (table 4). Fermentation of dehulled maize grains fortified with glucose (2%w/w) alone by starter cultures shows the best quality in all the parameters considered except the available niacin (tables 3 and 4). It is 24% higher than oven-dried *ogi* flour from the traditional fermentation and 11% higher than unprocessed whole maize grains. The methionine level of the sample from this fermentation fortified with added glucose and fermented with starter cultures was 92% and 77% higher than the traditionally prepared *ogi* sample and unfermented whole maize grains, respectively. The total amino acids level of the sample was 32% more than the traditionally fermented *ogi* flour and 55% more than maize grains. Although, the soluble proteins level was 23% lesser than the unfermented whole maize grains, it was still 12% more than the dehulled maize substrate and *ogi* from traditional process. The reduced lysine and methionine levels when maize substrate added with glucose (substrate B) was further fortified by adding 1% (w/w) soyabean flour as additional nitrogen source (substrate C) was against our expectation based on earlier physiological studies on the starter cultures (tables 3 and 4). The results show that fermentation of corn into *ogi* led to losses in the initial quantity of niacin that is available in the raw materials. All the fermentation products show lesser quantities of niacin than the unprocessed whole maize grains. There were higher levels of available lysine, methionine, total amino acids, soluble proteins and niacin in the freeze dried than the oven dried samples (tables 3 and 4).

Table 4: Total amino acids, soluble protein and niacin contents of pilot-plant produced *ogi* samples.

Samples used	Fermentation type	Total amino acids content (mg/g)		Soluble protein content (mg/g)*		Niacin content (µg/g)*	
		Oven dried <i>ogi</i>	Freeze dried <i>ogi</i>	Oven dried <i>ogi</i>	Freeze dried <i>ogi</i>	Oven dried <i>ogi</i>	Freeze dried <i>ogi</i>
Whole maize grains (WMG)	Unfermented	45.87 ^{bf}	nd	23.04 ^{df}	Nd	20.34 ^{ch}	nd
Dehulled maize grains (DMG)	Unfermented	38.32 ^{af}	nd	15.78 ^{bf}	Nd	12.47 ^{bf}	nd
Traditionally produced <i>ogi</i> from WMG	Spontaneous	53.70 ^c	71.84 ^b	15.72 ^b	20.52 ^b	7.85 ^a	19.50 ^e
<i>Ogi</i> from DMG alone	Spontaneous	48.72 ^b	64.94 ^a	9.18 ^a	14.64 ^a	6.07 ^a	8.27 ^a
	Starter cult.	52.25 ^c	72.95 ^b	13.84 ^b	20.92 ^b	6.37 ^a	13.00 ^b
<i>Ogi</i> from DMG and glucose (2% w/w)	Spontaneous	45.32 ^b	60.93 ^a	11.22 ^a	18.18 ^b	5.40 ^a	8.07 ^a
	Starter cult.	70.88 ^d	81.79 ^c	17.68 ^c	24.64 ^c	7.38 ^a	12.50 ^b
<i>Ogi</i> from DMG, glucose (2% w/w) and soyabean (1%w/w)	Spontaneous	49.46 ^b	65.21 ^a	9.90 ^a	23.04 ^c	7.33 ^a	9.94 ^a
	Starter cult.	53.61 ^c	73.57 ^b	15.76 ^b	25.72 ^c	7.77 ^a	17.27 ^c

^{a-d} Values in the same column with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$). Stated values are means of two trials; ^h Results for unprocessed raw material samples; nd, not determined.

Organoleptic or sensory study of the products of the pilot-plant produced *ogi* as shown in table 5 confirmed the earlier report of good quality *ogi* product from dehulled maize grain substrate and starter cultures²⁸. There is no significant difference between the traditionally produced *ogi* and all other prepared samples considering the appearance, aroma, taste and sourness (table 5).

Table 5: Organoleptic (sensory) assessment of ready to eat pap from pilot-plant produced *ogi* flour samples^a.

Substrate used	Fermentation type	Organoleptic (sensory) characteristics								
		Colour / Appearance	Aroma	Taste	Sourness	After taste	Flavour	Mouth feel	Consistency	Overall Acceptability
Traditionally produced <i>ogi</i> from whole maize grains	Spontaneous	3.33±0.49	3.17±0.17	3.17±0.17	2.33±0.56	3.17±2.67	2.67±0.42	3.83±0.17	4.00±0.37	3.67±0.33
<i>Ogi</i> from dehulled maize grains alone	Spontaneous	3.66±0.49	2.5±0.43	2.67±0.42	2.50±0.43	2.33±0.33*	2.50±0.22	2.67±0.33*	3.33±0.21	3.17±0.31
	Starter culture	4.00±0.26	3.50±0.34	3.17±0.17	2.67±0.42	3.33±0.21	3.00±0.26	3.17±0.31	3.83±0.31	3.67±0.21
<i>Ogi</i> from dehulled maize grains and glucose (2% w/w)	Spontaneous	4.00±0.26	2.83±0.60	3.17±0.48	2.17±0.40	3.50±0.22	2.83±0.31	3.33±0.33	3.33±0.21	3.00±0.37
	Starter culture	3.83±0.31	3.33±0.49	3.50±0.22	3.33±0.21	3.17±0.17	3.00±0.26	3.33±0.42	3.00±0.26	3.33±0.33
<i>Ogi</i> from dehulled maize grains glucose (2% w/w) and soya bean (1%w/w)	Spontaneous	2.33±0.33	2.50±0.50	2.17±0.40	1.33±0.33	2.17±0.31*	2.33±0.33	2.83±0.48	2.67±0.21*	2.17±0.31*
	Starter culture	2.50±0.56	2.83±0.60	2.33±0.21	3.17±0.48	2.67±0.49	2.50±0.50	3.00±0.37	2.67±0.33*	2.67±0.33

^a Values are means of the seven-man taste panel ± S.D.

* Values are significantly different ($P>0.01$) from the traditionally fermented sample from whole maize grains (control).

DISCUSSION / SUMMARY

The selection of lysine and methionine producing starter cultures as reported is a cheap and safer way of improving *ogi* value without changing the sensory features and product acceptability. Other features such as no biogenic amine production further confirm the safety³⁶. Bacteriocinogenic isolates have been linked with *ogi* products^{13,16}, the isolation of three *Lactococcus* isolates producing bacteriocin as demonstrated in this study emphasised the potential of the product hygiene improvement by using starter cultures. Starter cultures application as also demonstrated a unique ability to stabilize fermentation bringing about homogeneity within fermented batches when compared with spontaneous fermentation. The varying pH levels observed in the spontaneously fermented controls may be attributed to the different modifications in the substrate compositions and the various types of the micro-organisms present in these fermentations^{2,3,5}. Dominant *L. brevis* activity in the fermenting mash enhanced by the presence of *S. cerevisiae* may be responsible for the high acid production during starter culture fermentation³⁷. This indicate a better product shelf life since organic acids produced by lactic acid bacteria has inhibitory effect against many spoilage and pathogenic organisms^{17,18}.

Lysine and methionine producing capabilities of the starter cultures used conform to the results of Newman and Sands²⁰ on the possibility of improving food nutrients by microbial fermentation with nutrient hyper-producing microorganisms. Chung and Fields³⁸ reported a decrease in the available lysine level of cornmeal fermented with *Bacillus megaterium* ATCC 13639 and *Enterobacter aerogenes*, although a significant increase in the available methionine and tryptophan was not observed. The fermentation liquor removal prior to drying and the heat applied during oven drying are major factor responsible for nutritional losses during *ogi* processing. Although low, the various quantities of the nutrients observed in the discarded fermentation liquor gives

credence to this view (data not shown) as well as the difference observed between the nutritional status of oven- and freeze- dried samples.

Difference after taste observed in the two spontaneously fermented samples from dehulled maize alone and that from substrate fortification with glucose and soyabean may indicate that more strange metabolites have been produced by other microorganisms in the spontaneous fermentation that are different from that from *ogi* starter cultures. Bacteria such as *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* and *Staphylococcus* spp. with unknown contributions during *ogi* fermentation have been largely isolated in various soyabean related products³⁹. The lower acceptability of *ogi* produced from soyabean fortified raw materials agreed with past reports¹⁵. Better improvement in the product quality as reflected by the overall acceptability when *ogi* is fermented with selected microorganisms confirmed the ability to impact good feature on the final products as starter cultures (table 5).

CONCLUSION

In conclusion, the present result shows that:

- the current pilot plant process can be improved nutritionally by the use of a well-selected starter cultures and the modification of the traditional whole maize grains used as the fermentation substrate.
- dehulling of whole maize grains prior to use as fermentation substrate has the advantage of avoiding the wet-sieving stage of the traditional process and its associated problems.
- dehulling also allows easy regulation or control of water usage during fermentation and reduces nutritional losses from longer period of heat exposure during drying or the discarding of the excess fermentation liquor prior to drying.
- a solid-state fermentation used help to reduce space and production cost as observed in *kenkey*, a related Ghanaian fermented product from maize^{40,41,42}.
- although, grain dehulling reduces the substrate nutrient, the use of well-selected starter cultures with valuable nutrient producing capability will remove the disadvantage during fermentation. The removed hull and germs from the grains will have a good value in the livestock industry as a food supplement.
- the use of starter cultures for the pilot plant production of *ogi* and product nutritional enhancement is a good foundation for the future *ogi* product improvement by modern biotechnological techniques.

REFERENCES

1. Onyekwere OO, Akinrele IA, Koleoso OA. Industrialization of *ogi* fermentation. In: Steinkraus KH, ed. Industrialization of indigenous fermented foods. New York: Marcel Dekker, 1989:329-61.
2. Akinrele IA. Fermentation studies on maize during preparation of a traditional African starch-cake food. J Sci Food Agric 1970;21:619-25.
3. Odufa SA, Adeyeye S. Microbiological changes during the traditional production of '*ogi-baba*', a West African fermented sorghum gruel. J Cereal Sci 1985;3:173-80.
4. Adegoke GO, Babalola AK. Characteristics of microorganisms of importance in the fermentation of *fufu* and *ogi* -two Nigerian foods. J Appl Bacteriol 1988;65:449-53.

5. Akinrele IA, Bassir O. The nutritive value of *ogi*, a Nigerian infant food. *J Trop Med Hyg* 1967;70:279-80.
6. Oniwinde AB, Akinrele IA. Toxicological evaluation of *soy-ogi*, a new infant protein food in Nigeria. *West African Biol Appl Chem* 1973;16:29-34.
7. Ojofeitimi EO, Afolabi OA, Fapojuwo OO, Grissom FE, Oke OC. The use of black-eyed cowpea maize gruel mixture *ewa-ogi* in the treatment and prevention of infantile protein malnutrition. *Nutr Rep Int* 1984;30:841-52.
8. Salami IL. An assessment of the nutritional value of corn-pinto bean, *ogi-pinto* porridge as a food. *J Arid Agric* 1988;1:107-19.
9. Ezeagu IE. Nitrate and nitrite contents in *ogi* and the changes occurring during storage. *Food Chem* 1996;56:77-9.
10. Banigo EOI, Muller HG. Manufacture of *ogi* (a Nigerian fermented cereal porridge): Comparative evaluation of corn, sorghum and millet. *Canadian Inst Food Sci Technol J* 1972;5:217-21.
11. Banigo EOI, de Man JM, Duitschaever CL. Utilisation of high-lysine corn for the manufacture of *ogi* using a new improved processing system. *Cereal Chem* 1974;51:559-72.
12. Adeyemi A. *ogi* quality of sorghum flour dry-milled from fermented sorghum grains. *J Food Sci* 1988;53:641-2.
13. Olukoya DK, Ebigwei SI, Olasupo NA, Ogunjimi AA. Production of *Dogik*: an improved *ogi* (Nigeria fermented weaning food) with potential for use in diarrhoea control. *J Trop Pediatrics* 1994;40:108-13.
14. Akinrele IA, Edwards CCA. An assessment of the nutritive value of a maize-soyabean mixture, *soy-ogi*, as a weaning food in Nigeria. *Br J Nutr* 1971;26:177-85.
15. Mensah P, Ndiokwelu CI, Uwaegbute A, et al. Feeding of lactic acid fermented high nutrient density weaning formula in paediatric settings in Nigeria and Ghana acceptance by mothers and infant and performance during recovery from acute diarrhoea. *Int J Food Sci Nutr* 1995;46:353-62.
16. Olasupo NA, Olukoya DK, Odunfa SA. Studies on bacteriocinogenic *Lactobacillus* isolates from selected Nigerian fermented foods. *J Basic Microbiol* 1995;35:319-24.
17. Sanni AI, Fapohunda EM, Onilude AA. Characteristic properties of lactic acid bacteria isolated from the rumen of Maladi goats. *Chem Mikrobiol Technol Lebensm* 1995;17:99-104.
18. Kingamkono R, Shogren E, Svanberg U, Kaijser B. Inhibition of different strains of enteropathogens in a lactic-fermenting cereal gruel. *World J Microbiol Biotechnol* 1995;11:299-303.
19. Morzycka E, Sawnor-Korszynska D, Paszewki A, Grabski J, Raczynska-Bojanowska K. Methionine over-production by *Saccharomyces lypolytica*. *Appl Environ Microbiol* 1976;3:125-30.
20. Newman RK, Sands DC. Nutritional values of corn fermented with lysine excreting lactobacilli. *Nutr Rep Int* 1984;30:1287-93.
21. Sreeramulu G, Srinivasa DS, Nand K, Joseph R. *Lactobacillus amylovorus* as a phytase producer in submerged culture. *Lett Appl Microbiol* 1996;23:385-8.
22. Oda Y, Tonomura K. α -Galactosidase from yeast *Torulaspora delbrueckii* IFO 1255. *J Appl Bacteriol* 1996;80:203-8.
23. Wood BJB, Holzapfel WH. The genera of lactic acid bacteria. London: Blackie academic and professional press, 1995:398-407.
24. Brigidi P, Mattauzzi D, Fava F. Use of protoplast fusion to introduce methionine overproduction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 1988;28:268-71.
25. Schillinger U, Lucke FK. Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiol* 1987;4:199-208.
26. Franz CMAP, Du Toit M, Von Holy A, Schillinger U, Holzapfel WH. Production of nisin-like bacteriocins by *Lactococcus lactis* strains isolated from vegetables. *J Basic Microbiol* 1997;37:187-96.
27. Babu S, Chander H, Batish VK, Bhatia KL. Factors affecting amine production in *S. cremoris*. *Food Microbiol* 1986;3:359-62.
28. Teniola OD, Odunfa SA. The effects of processing methods on the levels of lysine, methionine and the general acceptability of *ogi* processed using starter cultures. *Int J Food Microbiol* 2001;63:1-9.
29. Oyewole OB. Optimization of cassava fermentation for *fufu* production: effects of single starter cultures. *J Appl Bacteriol* 1990;68:49-54.
30. Rosen HA. Modified ninhydrin colourimetric analysis of amino acids. *Arch Biochem Biophys* 1957;67:10-5.
31. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Fazz AL, Randal RJ. Protein measurement with folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
32. Association of Official Analytical Chemists. *Methods of Analysis*. 13th ed. Washington, DC: AOAC, 1980.
33. Anon A. *Difco manual of dehydrated culture media and reagents for science microbiology and clinical laboratory procedures*. Detroit, Michigan, USA : Difco Laboratories, 1984:232-3.
34. Wright A, Orman B. Rapid screening procedure for methionine levels in maize and soyabean. *Crop Sci* 1995;35:584-6.
35. Cass T. *Statistical methods in management*. London WCIR: Casel Ltd., 1980;2:1-255.
36. Holzapfel WH. Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* 1997;8:241-58.
37. Leroi R, Pidoux M. Detection of interactions between yeast and lactic acid bacteria isolated from sugary kefir grains. *J Appl Bacteriol* 1993;74:48-53.
38. Chung HJ, Fields ML. Production of riboflavin and vitamin B12 by *Bacillus megaterium* ATCC 13639 and *Enterobacter aerogenes* in corn meal. *J Food Sci* 1986;51:1514-7.
39. Subaru HA, Akinyanju JA. Starter culture for the production of *soyiru*. *World J Microbiol Biotechnol* 1996;12:403-4.
40. Nyako KO. *Kenkey* -a fermented staple in Ghana. Symposium on indigenous fermented foods. Bangkok, Thailand, 1977.

- 41 Halm M, Lillie A, Sorensen AK, Jakobsen M. Microbiological and aromatic characteristics of fermented maize doughs for *kenkey* production in Ghana. Int J Food Microbiol 1993;19:135-43.
- 42 Kpodo K, Sorensen AK, Jakobsen M. The occurrence of mycotoxins in fermented maize products. Food Chem 1996;56:147-53.

Innovation et transfert de technologie: cas du contrôle de la fermentation du mil par l'utilisation d'un starter lactique

Totté^{1,2*} Anne, Tine¹ Emmanuel, Seye³ Ndeye, Mathiam⁴ Jean-Michel, Roblain Dominique⁵, Thonart⁵ Philippe

- ¹ Laboratoire de Microbiologie et de Génie Industriel (LMAGI), Ecole Supérieure Polytechnique (ESP), Université Cheikh Anta Diop, BP 5085, Dakar Fann - Sénégal.
- ² Association pour la Promotion de l'Education et de la Formation à l'Etranger (APEFE), Communauté Wallonie Bruxelles, BP 6279, Dakar - Sénégal.
- ³ Institut de Technologie Alimentaire (ITA), BP 2765, Dakar Hann – Sénégal.
- ⁴ Programme des Femmes en Milieu Urbain (PROFEMU), Unité de Transformation des Céréales, Dakar – Sénégal.
- ⁵ Centre Wallon de Biologie Industrielle (CWBI), Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, 5030 Gembloux– Belgique.

*Auteur correspondant: magi@ucad.sn

- Résumé -

Au Sénégal, les recherches sur le contrôle de la fermentation du mil par l'utilisation d'un starter lactique (*Lactobacillus plantarum* 308a) ont permis de mettre au point un procédé s'intégrant dans les habitudes de production traditionnelles des unités de transformation urbaines de produits fermentés granulés à base de mil. Les objectifs de ces recherches étaient les suivants: étudier le rôle des micro-organismes dans la fermentation traditionnelle du mil, identifier les agents de fermentation, mettre au point un ferment permettant l'acidification de la farine de mil et le contrôle des contaminants, former une équipe universitaire dans le domaine des biotechnologies et établir une banque de souches tropicales utiles en biotechnologie alimentaire ou susceptibles d'améliorer la qualité sanitaire des aliments. Le screening et l'identification de plusieurs souches lactiques ont permis la mise au point d'un starter constitué par une souche (*Lactobacillus plantarum*), dont la biomasse produite en fermenteur est conditionnée sur le substrat d'origine (farine de mil). Ce starter présente une durée de vie d'au moins 1 an à 4°C. La forme lyophilisée, plus coûteuse, a l'avantage de présenter une plus grande viabilité et des propriétés d'acidification plus stables à long terme.

Le transfert de technologie est en cours de discussion avec les producteurs. Une seule unité de production a émis le souhait de participer aux essais de transfert, proposés sous forme d'une convention signée par les partenaires. L'intégration du starter permet un contrôle de la fermentation du mil, la mise sur le marché d'un produit plus digeste et de meilleure qualité microbiologique, et présentant des degrés d'acidité stabilisés en fonction des goûts locaux. Des perspectives nouvelles s'ouvrent dans le secteur de la boulangerie pour une farine de mil acidifiée utilisée comme adjuvant de panification (arômes et goût).

Mots-clés: Fermentation – Mil – Produits locaux – Transfert – Bactéries lactiques.

- Abstract -**Innovation and technology transfer: the millet fermentation control case by use of a lactic acid starter**

Studies on millet fermentation control in Senegal, by use of a lactic starter (*Lactobacillus plantarum* 308a), permitted the development of a new process integrated in the traditional production customs of small urban processing units of granulated fermented millet products. The main objectives were to study the micro-organisms role in the traditional fermentation of millet, identify the fermentation agents, develop a starter for the millet flour acidification and for contamination control, train a university research team in biotechnology and create a tropical strain bank for food biotechnology uses and for sanitary food control.

Lactic strains screening and identification lead to the development of a starter containing one strain (*Lactobacillus plantarum*), whose biomass produced in reactor is conditioned on its native substrate (millet flour). This starter offers a shelf life of minimum one year at 4°C. The lyophilised form, more costly, has the advantage to present a higher viability and more stable acidification properties in a long term.

The technology transfer is in discussion with producers. Only one processing unit wish to participate to the transfer tests, specified in a common convention signed by the partners. The use of the starter allows a control of the millet fermentation, offers a more digest product with a better microbiology quality, and permits to present various degrees of stabilised acidity to meet the local flavour wishes. New perspectives appear in bakery trade for the use of an acidified millet flour as a bread making additive (for aroma and taste).

Key words: Fermentation – Millet - Local products – Transfer - Lactic bacteria.

INTRODUCTION

Le mil, céréale traditionnelle au Sénégal, est utilisé pour préparer différents produits plus ou moins fermentés, de différentes granulométries. La farine et les brisures de mil (*sankhal*) sont utilisées pour des bouillies; le *cere* (couscous fin) est consommé avec de la viande ou du poisson; le *ciakri* (couscous moyen) est utilisé avec du lait caillé sucré, le *arraw* (gros granules de mil) permet la fabrication de bouillies épaisses consommées avec du lait caillé ou de la pâte d'arachide.

Dans le cadre de la politique de valorisation des produits locaux céréaliers au Sénégal, le développement des produits roulés fermentés à base de farine de mil (*céré, ciakri, arraw*^a) est une alternative intéressante à la consommation du riz et du blé du point de vue alimentaire et économique depuis la dévaluation du franc CFA (1994). Une vingtaine de groupements d'intérêt économique (GIE) de type semi-industriel se sont développés pour proposer ces produits sous forme séchée et emballée, mais les volumes de production sont encore faibles. La consommation de céréales locales à Dakar (1998) se situerait autour de 50.000 tonnes/an¹, dont 2.500 tonnes provenant des unités semi-industrielles (produits roulés, *sankhal*, farine de mil ou de maïs).

Parmi les techniques utilisées pour l'amélioration de la qualité des aliments à base de céréales, la fermentation est une des plus économiques². Ce procédé permet une certaine conservation des aliments, détruit les facteurs anti-nutritionnels inhérents au mil³, améliore la digestibilité et rehausse la valeur nutritive⁴ tout en améliorant l'aspect et le goût. Cette valorisation par fermentation nécessite une maîtrise et une connaissance approfondie des agents responsables de cette fermentation. Les opérateurs de cette filière sont les premiers concernés par l'utilisation des micro-organismes comme agents de transformation pour l'obtention de produits fermentés de qualité: d'où l'importance des recherches sur les ferments ("starters") à base de micro-organismes sélectionnés localement.

Cet article présente quelques réflexions sur l'expérience d'une approche de recherche appliquée relative à la mise au point et au transfert d'un starter lactique tropical, adapté au contrôle de la fermentation du mil. L'introduction d'un ferment dans un procédé traditionnel chargé de significations sociales, culturelles et religieuses est vue comme une innovation importante. Le transfert de technologie a été le plus simple possible pour ne pas introduire de modifications coûteuses dans le procédé actuellement utilisé par les GIE. L'intégration d'un ferment n'est pas évidente, autant pour des raisons liées aux habitudes alimentaires que pour des raisons économiques et structurelles relatives à la filière mil, à la formation des opérateurs, et à l'organisation du système national de contrôle de la qualité au Sénégal.

La qualité des produits roulés fermentés et séchés en milieu urbain

Les produits alimentaires des marchés et des GIE ne sont que rarement soumis à un contrôle de qualité. Le Programme de Promotion des Céréales Locales (PPCL, 1993-2002) exécuté par Enda-graf^b et le Gret^c avec le financement de l'Union Européenne, a permis aux transformateurs urbains (GIE) de cette filière mil, organisés en association, d'avoir accès entre autres à un suivi au niveau gestion et qualité: les productions ont été contrôlées du point de vue composition chimique et analyse microbiologique, pendant 5 ans (1997-2002). Des conseils en qualité ont été fournis, ainsi que divers appuis (formation procédé, crédit gestion, marketing, etc.). Ce

^a *Arraw, ciakri et céré: noms en langue wolof des produits roulés (granulés) à base de mil.*

^b *Enda-Graf: Environnement et développement - groupe de recherche action formation.*

^c *Gret: Groupe de recherches et d'échanges technologiques.*

programme a confirmé le potentiel de développement des produits roulés à base de mil, séchés, et conditionnés en sachet¹.

L'arraw sec en particulier est très demandé, mais il est hygrosopique et présente une durée de conservation plus limitée que les couscous. Un problème de goût se pose souvent au-delà de 3 mois: produit rance, qualité microbiologique peu satisfaisante. Nous observons une fréquence plus élevée de contamination par les insectes: ce produit non précuit est dépendant de la qualité de la matière première. Sa consommation est évaluée à 10-15 tonnes /mois à Dakar et il coûte 400-500 Fcfa/kg.

Le couscous sec en sachet se positionne sur un marché important, mais il est en concurrence avec le couscous frais, en préparation domestique ou artisanale. Les consommateurs sont exigeants sur le goût: l'acidité est plus ou moins recherchée selon les ethnies. La ménagère préfère le faire elle-même ou le confier à quelqu'un de sa famille ou à une artisanne de confiance. Les petites entreprises vendent maintenant le couscous en vrac à un prix compétitif (250 Fcfa/kg au lieu de 800 Fcfa/kg en sachet). L'intérêt pour un contrôle de la fermentation et pour la reproduction d'un goût acide apprécié a été noté auprès des petites entreprises dont la production augmente.

Les objectifs de la recherche

Les objectifs visés par cette recherche sont les suivants (1997-2000): étudier le rôle des micro-organismes dans la fermentation traditionnelle du mil, identifier les agents de fermentation, mettre au point un ferment permettant l'acidification de la farine de mil, former une équipe universitaire capable de répondre localement aux besoins des producteurs et établir une banque de souches africaines utiles en biotechnologie alimentaire⁵. La valorisation de la recherche (2001 à aujourd'hui) s'est focalisée sur 2 points: a) le transfert et l'utilisation du ferment lactique par au moins une unité de transformation du mil; b) la réflexion sur l'amélioration de la phase finale de séchage des produits fermentés.

Stratégie de partenariat

Cette recherche appliquée a nécessité un partenariat (figure 1) englobant des chercheurs des universités (Sénégal et Belgique), des opérateurs de terrain (les transformateurs de céréales), ainsi qu'une institution chargée du transfert de technologie agro-alimentaire au niveau national (l'Institut de Technologie Alimentaire de Dakar – ITA).

Le Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel (LMAGI) de l'Ecole Supérieure Polytechnique (ESP) et la Faculté des Sciences et Techniques (FST), deux institutions de l'Université Cheikh Anta Diop (UCAD) de Dakar étudient depuis 1997 les micro-organismes impliqués dans la fermentation du mil. Les recherches sont réalisées en partenariat avec une Université belge (Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux) qui accueille le Centre Wallon de Biologie Industrielle (CWBI).

Le financement est assuré par l'Association pour l'éducation et la formation à l'étranger (Apefe), la Commission universitaire pour le développement (CUD) et la Région Wallonne de Belgique. L'AUPELF est intervenue partiellement à travers une jeune équipe de recherche (JER 6014). Une sous-traitance est effectuée avec l'ITA en terme d'essais de production de produits roulés à base mil (section Céréales), fermentés sous contrôle du starter et séchés dans des conditions contrôlées. L'ITA est également le partenaire capable d'assurer la production de ferments (unité de Biotechnologie) à une échelle répondant aux besoins des transformateurs de céréales.

Les chercheurs du partenariat ESP/FST/CWBI/ITA ont souhaité se rapprocher des transformateurs du mil à travers des associations existantes ou des ONG bien implantées en terme d'action de formation ou de suivi de cette filière. Le choix des unités de transformation (La Vivrière, Free Work Service) ou des groupements féminins (Profemu) producteurs de produits fermentés à base de mil s'est donc fait avec l'aide du programme PPCL, en ce qui concerne le milieu urbain (Dakar et Thiès). En milieu rural, les produits roulés à base de mil sont produits au niveau familial et les quantités traitées ne posent pas le même problème de contrôle et de qualité qu'en milieu urbain.

Les restitutions de résultats ont eu lieu soit à travers le PROCELOS^d sous forme de réunions des transformateurs, soit à travers le ROCAFREMI^e, au sein des forums organisés dans le cadre du programme P5 "amélioration des technologies" coordonné par l'ITA.

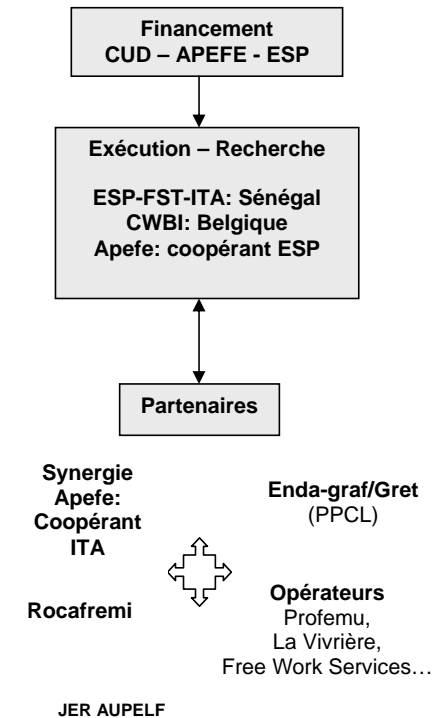


Figure 1: Relations de partenariat.

^d Programme Céréales Locales du Sénégal, association regroupant les transformateurs de céréales locales.

^e Réseau Ouest et Centre africain de Recherche sur le Mil (actuellement regroupé avec le Réseau Sorgho sous l'appellation Initiative Mil-Sorgho).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'origine du starter: méthodologie de recherche/développement

En 1997 et 1998, les conditions de fermentation traditionnelle du mil ont été suivies à Dakar et à Thiès pour le milieu urbain, dans le Sine-Saloum et dans le Nord du Sénégal à Saint-Louis en milieu rural. La zone Nord ne procède pas à une fermentation et les produits roulés à base de mil sont directement cuits et consommés.

C'est donc dans la zone de Dakar et du Sine-Saloum que les micro-organismes responsables de la fermentation du mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) ont été isolés sur les variétés traditionnelles telles que la *Souna* et la *Sanio*. Les micro-organismes responsables de la fermentation sont des bactéries lactiques (productrices d'acide) et des levures (source d'arômes)⁶. Des "screening" ont été réalisés au cours des différentes étapes de transformation, en incluant le séchage final.

Parmi ces micro-organismes, les bactéries lactiques ont été sélectionnées pour leur capacité à acidifier rapidement la farine de mil. L'une de ces souches sénégalaises s'est avérée bonne productrice d'acide lactique et elle résiste au conditionnement sous forme de "starter": elle est identifiée⁷ comme *Lactobacillus plantarum*, code 308a.

En 1999, le "starter mil" est mis au point avec la collaboration de l'Unité de Biotechnologie de l'Institut de Technologie Alimentaire qui le conditionne sur son substrat d'origine: de la farine de mil préalablement stérilisée. Ce mode de conditionnement permet de produire le starter localement et de le rendre économiquement accessible.

Ce starter est viable pendant plus de 1 an à 4°C, donc conservé au réfrigérateur. Par contre, sa capacité d'acidification diminue au-delà de 6 mois de stockage. Il doit alors être utilisé à concentration plus élevée. Son utilisation est définie sous forme de fiches de vulgarisation⁸ adaptées au niveau artisanal.

Restitution des résultats de la recherche et essais de transfert

En l'an 2000, les résultats de ces recherches sont restitués aux unités. Le transfert du starter sur le terrain, dans les conditions de production des unités, va être effectué sur demande des intéressés, à la condition qu'un protocole d'accord soit signé entre les partenaires en vue d'impliquer les bénéficiaires. Une seule unité dakaroise en fera le souhait (transfert 2001) au sein du PROFEMU (Programme des Femmes en Milieu Urbain), suite à un contrôle de routine de leurs produits. Paradoxalement, la plupart des unités présentes lors des restitutions et se disant intéressées n'ont pas sollicité l'équipe de chercheurs pour effectuer ces essais.

Le protocole d'accord garantit la démonstration de l'utilisation du starter dans les conditions de transformation de l'unité, et la formation du personnel à la fermentation contrôlée. Le procédé de transformation est étudié (schéma de production, flux, paramètres, adéquation du matériel et de l'infrastructure), ainsi que l'organisation générale de l'unité. Des points critiques de contrôle⁹ sont identifiés et des analyses microbiologiques effectuées (tableaux 1 et 2). L'unité s'engage à mettre à disposition le matériel et le personnel nécessaire aux essais, ainsi que toute information utile à l'étude du procédé. Elle s'engage aussi, en cas d'adoption du starter, à l'utiliser de manière exclusive pendant 5 ans (contrainte possible).

Objectifs du transfert

Les objectifs des deux partenaires sont résumés ci-dessous:

Objectifs Profemu:

- Evaluer le starter en terme de mode de fonctionnement, goût ...
- Diagnostiquer les points faibles du procédé traditionnel
- Avoir l'avis de spécialistes en microbiologie et en contrôle de procédés alimentaires ainsi que les recommandations nécessaires à l'amélioration du fonctionnement de l'Unité
- Réaliser conjointement des fiches de suivi de la production

Objectifs projet:

- Tester le mode d'utilisation du starter sur le terrain
- Comparer son effet avec la fermentation traditionnelle (acidité, microbiologie, goût)
- Recueillir l'avis du GIE sur l'utilisation du starter
- Suivre la production des produits fermentés (capacité de production du GIE, rendements en produits finis)
- Repérer les points critiques en vue de l'élaboration future d'une procédure HACCP adaptée.

Tableau 1: Acidités titrables (en g d'acide lactique/100g de produit) et taux d'humidité des grains de mil, de l'*arraw* et du *ciakri* (couscous).

Produit	Humidité (%)	Acidité titrable (% base hum.)	Acidité titrable (% base sèche)
Grains de mil brut	9,67	Nd	nd
Grains de mil décortiqués ou gros mil ou petit mil	8,95	nd	nd
Farine humide après mouture (F0)	31,00	1,25	1,81
Farines fermentées et roulées:			
Farine fermentée avec starter dès le début du procédé (F1)	41,51	1,73	<u>2,96</u>
Farine fermentée avec starter pendant le roulage (F2)	41,74	1,64	<u>2,81</u>
Farine fermentée traditionnellement (Ft)	40,55	1,59	2,67
Arraw secs			
Arraw F1 séché (starter la veille)	7,38	1,90	<u>2,05</u>
Arraw F2 séché (starter le matin)	7,82	1,50	1,63
Arraw « Ft » séché au soleil. (Majoritaire)	8,64	1,61	<u>1,76</u>
Arraw « Ftt » séché sous tente	<u>9,67</u>	1,58	1,74
Produit cuit: exemple du ciakri			
Ciakri avant cuisson	41,03	0,94	1,59
Ciakri après cuisson	38,10	0,35	0,56
Ciakri sec (le cere est équivalent)			
Ciakri sec	<u>3,55</u>	0,53	0,54

nd: non déterminé

F: farine

t: traditionnel

Ciakri et cere: couscous moyen et fin

arraw: granules grossiers non précuits

NB: les chiffres soulignés sont des résultats qui entraînent certaines recommandations pour le contrôle des paramètres du procédé.

Tableau 2: Qualité microbiologique des produits à base de mil (fermentation contrôlée et traditionnelle) : produits humides, puis séchés au soleil (direct ou sous tente).

Produits: ↓	Temps de Fermentation	Nombre de germes UFC/g de produit (base sèche)			
		Germes désirés	Germes à limiter		Germes non désirés
		Lactiques	Mésophiles totaux	Levures	Strepto-coques
Farine humide	0	4.10 ⁹	1.10 ¹¹	2.10 ⁶	3.10 ⁵
Arraw humide + Starter (F1)	1 nuit + 1 matinée	1.10¹¹	7.10 ⁸	3.10 ⁶	4.10 ⁶
Arraw humide + starter (F2)	1 nuit + starter la matinée	5.10 ⁹	3.10 ¹¹	8.10 ⁵	9.10 ⁷
Arraw traditionnel (Ft)	1 nuit + 1 matinée	3.10¹⁰	3.10 ¹¹	7.10 ⁶	3.10 ⁸
Arraw F1 séché (starter présent)		<100	6.10 ⁶	<100	5.10 ⁴
Arraw F2 séché (starter présent)		<100	8.10 ⁵	<100	2.10 ⁴
Arraw traditionnel (Ft) séché		<100	8.10 ⁵	<100	2.10 ⁵
Arraw traditionnel séché sous tente (Ftt)		3.10 ⁶	1.10⁷	10⁶	2.10 ⁵
Ciakri avant cuisson		8.10⁹	5.10 ⁸	5.10 ⁵	3.10 ⁷
Ciakri après cuisson et refroidissement		1.10 ⁶	3.10 ⁵	3.10⁵	<100
Ciakri sec		6.10 ⁴	2.10 ⁶	7.10⁴	5.10 ³

Produits: ↓	Nombre de germes UFC/g de produit (base sèche)			Remarques
	Germes non désirés			
	Staphylo-coques	Coliformes totaux	Coliformes résistants	
Farine humide	4.10 ⁶	2.10 ⁵	1.10 ⁴	<i>Staphylococcus aureus</i> absent, streptocoques non fécaux présents, présumés lactiques. Coliformes résistants limités aux normes.
Arraw humide + Starter (F1)	<100	<10	<10	Effet de la fermentation (acidité) sur les contaminants. Streptocoques toujours présents (lactiques thermophiles)
Arraw humide + starter (F2)	<100	<10	<10	Idem F1
Arraw traditionnel (Ft)	<100	<10	<10	Germes lactiques bien développés, mais non contrôlés. Streptocoques lactiques plus nombreux. Pas de contaminants à risques.
Arraw F1 séché (starter présent)	<100	<10	<10	Les streptocoques résistent au séchage. Des moisissures apparaissent parmi les germes mésophiles
Arraw F2 séché (starter présent)	<100	<10	<10	<i>S. aureus</i> absent, même remarque que ci-dessus
Arraw traditionnel (Ft) séché	<100	<10	<10	Idem ci-dessus
Arraw traditionnel séché sous tente (Ftt)	<100	<10	<10	Survie des lactiques et des levures. Viabilité dépendante de l'activité de l'eau (et du temps de stockage du produit sec)
Ciakri avant cuisson	<100	<10	<10	Flore similaire à Ft (même produit sauf granulométrie)
Ciakri après cuisson et refroidissement	<100	<10	<10	Produit à surveiller au cours du refroidissement, contaminé à l'air libre après cuisson
Ciakri sec	<100	<10	<10	Les streptocoques réapparaissent pendant le séchage, donc sont présents dans l'environnement. Attention aux levures durant stockage.

UFC: Unité Formant Colonie

F: farine

t: traditionnel

Méthodologie et analyses: fermentation contrôlée et témoin traditionnel

La production par fermentation contrôlée ou traditionnelle est présentée au schéma 2.

Le starter est inoculé à raison de 10⁷ germes lactiques/g de farine (base humide)¹⁰. L'inoculum est introduit de 2 manières différentes dans de la farine de mil préhumidifiée:

- inoculation la veille du roulage, soit une fermentation de 1 nuit + une matinée;
- inoculation le matin sur une farine humide ayant subi une nuit de repos (procédé traditionnel) et roulée au cours de la matinée.

Les 2 produits sont séchés au soleil et comparés avec le *arraw* traditionnel (fermentation de 1 nuit et 1 matinée). Des prélèvements sont effectués entre chaque opération unitaire.

Les farines obtenues ont pour code: F1 et F2 (farine avec starter); et Ft (farine traditionnelle, séchage à l'air libre ou sous tente). Les analyses effectuées sont les suivantes: teneur en eau, acidité titrable (exprimée en acide lactique/100g de farine) et analyses microbiologiques¹¹. Ces dernières concernent les bactéries lactiques (milieu MRS), les bactéries aérobies totales mésophiles (milieu PCA), les levures et moisissures (milieu Sabouraud), et certains contaminants: les streptocoques fécaux (milieu BEA à 45°C, puis Chapman), l'absence de *Staphylococcus aureus* (sur Baird Parker, suivi des tests de coagulase et Dnase), les coliformes totaux (DCL, 37°C) et les coliformes résistants (DCL, 44°C).

RÉSULTATS DU TRANSFERT À L'UNITÉ DE PROFEMU

L'unité de transformation de céréales locales (UTCL) du Profemu (Programme des femmes en milieu urbain) existe depuis 1999. Elle est basée à Dakar au sein d'une petite villa d'un quartier populaire (Thiaroye).

La première rencontre avec PROFEMU a eu lieu lors d'une restitution du mode de fonctionnement du "starter mil" en juillet 2000. Un questionnaire à l'intention des formateurs du mil avait été distribué. Le chargé de programme de Profemu souhaitait réaliser des analyses puis évaluer l'efficacité du starter par rapport à la durée de vie du produit fini (*arraw*, *ciakri* ou *cere*) et la qualité finale du produit séché.

En juin 2001, suite à la présence de contaminants tels que *Staphylococcus aureus*, des essais ont été formalisés après signature du protocole d'accord. Le personnel du GIE a participé au test du starter sur l'*arraw* (produit délicat dont la fermentation n'est pas stoppée par cuisson), et aux calculs de rendements de production. Huit femmes ouvrières et deux meuniers ont fabriqué les différents produits à base de mil. Les recommandations¹² ont été élaborées en utilisant l'approche participative.

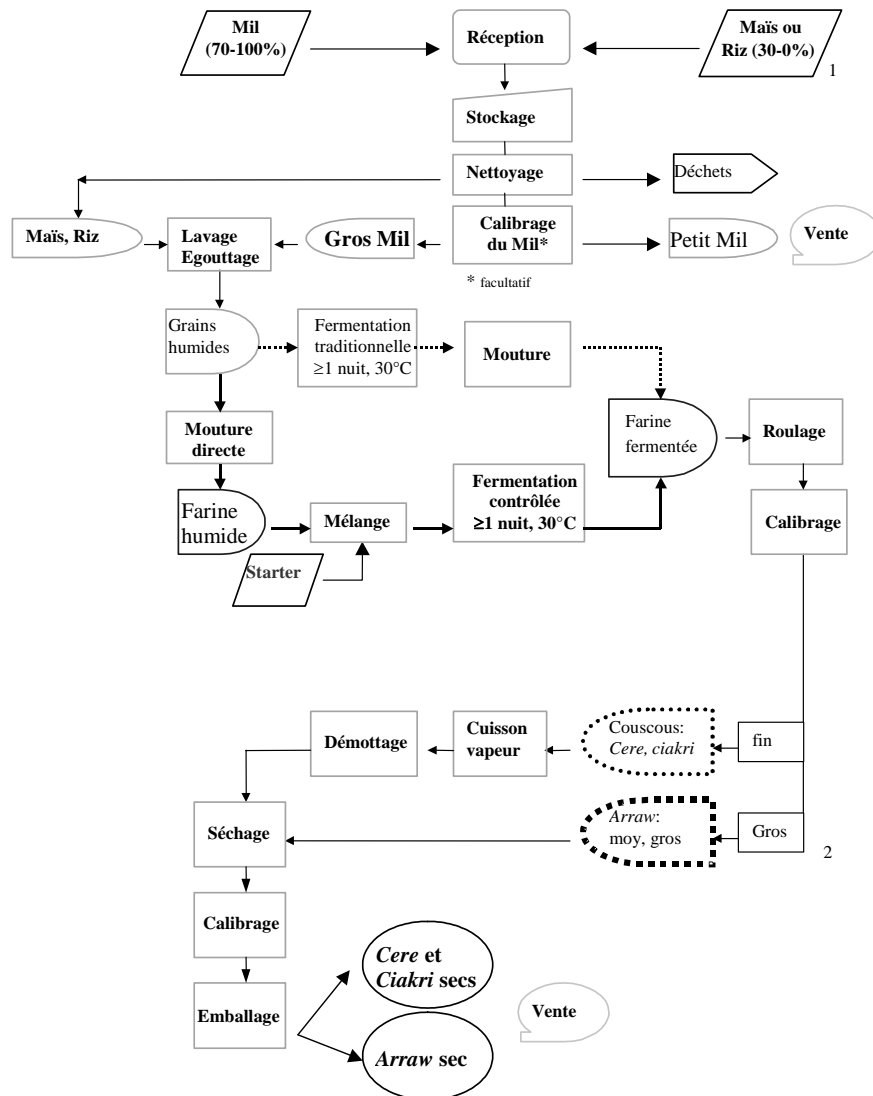
Résultats

Les analyses microbiologiques ont été effectuées une seule fois, après échantillonnage et mélange de 3 lots du produit pour analyse.

a) Acidité du *arraw* fermenté avec starter et du *arraw* traditionnel, produits secs:

- Le *arraw* fermenté une nuit avec starter présente un taux d'acidité titrable plus stable et plus élevé (2,05% ± 0,10) que le *arraw* fermenté traditionnellement (1,76% ± 0,15) ou inoculé tardivement dans la matinée (tableau 1);
- Le *arraw* fermenté avec starter a été dégusté sous forme de *fondé* (bouillie à gros grumeaux) et il présente un goût un peu plus acide que le produit habituel (pH de 4 au lieu de 4,5). Certains consommateurs ajoutent du jus de citron ou de tamarin dans leur plat. Le goût acide dépend des clients. Le produit "habituel" consommé

"frais" est très variable en fonction des ethnies et des habitudes urbaines ou rurales. Le produit sec fourni par les GIE présente généralement un pH de 4,5 après fermentation traditionnelle. Les produits contrôlés par starter peuvent atteindre un pH de 4 après 20h de fermentation à 30°C.



1: les trois céréales (mil, riz et maïs) sont traitées séparément avant mouture
2: la fabrication des 3 produits (cere, ciakri, arraw) est généralement séparée dans le temps

Figure 2: Diagramme de fabrication des produits fermentés roulés, à base de mil (fermentation traditionnelle et fermentation contrôlée par starter).

b) Qualité microbologique des produits fermentés et des produits séchés:

Les analyses microbiologiques (tableau 2) montrent qu'en fin de procédé, les produits secs fermentés ou non avec starter, respectent les normes⁹. La fermentation en présence du starter est plus rapide en terme de biomasse (et d'acidité). Par contre le *arraw* fermenté traditionnellement et séché sous tente n'a pas une qualité satisfaisante du point de vue microbologique. Le taux de germes mésophiles totaux, au-delà des normes acceptées pour les produits transformés séchés (maximum 10^6 germes/g de produit), est lié à la survie des bactéries lactiques et des levures de par un séchage plus lent qu'en exposition solaire directe. Ce produit n'étant pas précuit, il est nécessaire de contrôler la fermentation et le séchage en vue d'obtenir un produit stable, reproductible. L'utilisation du starter est donc nécessaire dans le cas du séchage sous tente. Après séchage, la survie partielle des bactéries lactiques diminue rapidement en 2 mois de stockage à 30°C.

Il faut aussi prendre en compte l'évolution de la flore microbienne au cours du stockage. Le stock du GIE dépasse rarement plus de 15j. et concerne uniquement le *arraw*, produit moins demandé que les couscous. La durée de conservation ne pose pas de problème actuellement. Un suivi de la qualité microbologique des produits secs stockés dans les conditions ambiantes (chaleur et humidité) serait nécessaire pour établir leur durée de vie maximale, en prévision d'une augmentation de la production.

c) Les effets du séchage et de la cuisson à la vapeur:

La cuisson à la vapeur diminue fortement l'acidité des couscous alors que le séchage a un effet moins important sur l'acidité des produits finis. Le *arraw* est donc un produit fini qui présente une acidité supérieure à celle des couscous. Les consommateurs ne s'en rendent pas compte car ils le consomment sous forme de bouillie.

d) Les supports pour le suivi de la production:

Les supports suivants ont été réalisés et sont utilisés par le GIE:

- des fiches de suivi de la production de *arraw*, de *ciakri* et de *cere*, sont mises au point;
- les données de production obtenues sur une semaine, pour les 3 produits, ont été complétées sur 1 mois pour le calcul du prix de revient;
- les tableaux de calcul de rendements en *arraw*, *ciakri* et *cere*, sont utilisés par le personnel

Les documents suivants sont accessibles pour les besoins du système HACCP:

- la liste du personnel et la description des produits fabriqués
- le diagramme de fabrication des 3 produits fermentés à base de mil
- une fiche récapitulante les besoins en matières premières en terme de mil brut, de gros mil, de maïs, etc.;
- un tableau présentant l'organisation de la fabrication des produits fermentés, sur 5 jours ouvrables (1 semaine)

Ces données et les recommandations émises ont été utilisées par PROFEMU pour calculer le prix de revient exact des différents produits. Une réorientation de l'organisation a été décidée en 2002.

Conséquences indirectes du transfert et de la formation

La restructuration de l'unité

La détermination des Points Critiques de Contrôle et les solutions proposées ont

mené l'unité à reconstruire une partie de l'infrastructure pour respecter la marche en avant et les normes d'hygiène. La construction a eu lieu en 2002 (12 millions de Fcfa), avec une terrasse de séchage à l'étage, séparée des zones de réception et de nettoyage de la matière première.

L'acquisition du starter

Après les travaux précités, l'utilisation du starter a été rediscutée de manière informelle. Le GIE n'a pas réagi mais le coût du ferment ne semble pas en cause d'après les responsables. L'urgence de la reprise de la production et un certain attentisme du personnel est une réalité. Cette introduction ne semble pas être une priorité pour le moment: la très faible production vers l'export (commandes ponctuelles vers l'Italie), la quasi-absence de contrôle qualité sur le marché local n'incite pas à l'amélioration. La demande reste très élevée localement et la production actuelle est entièrement écoulee dans le quartier de production ou les environs.

Un an et demi après ces essais, quelques unités restent intéressées en terme d'appui-conseil au niveau organisationnel et bonnes pratiques d'hygiène ou de fabrication. Le système HACCP⁹ en partie appliqué au sein de l'unité "test" apporte plus de résultats directs (et visibles) au producteur en terme d'organisation que la seule introduction d'un starter pour le contrôle de la fermentation du mil. L'amélioration qui découle de l'introduction du ferment n'est pas "visible": seules des analyses confirment la qualité du produit fini. Or ces dernières sont rarement exigées pour la commercialisation locale. Par contre, l'exportation entraînera une mise en conformité de la qualité, en particulier au niveau microbiologique.

DISCUSSION

Acquisition du ferment

Plusieurs questions se posent sur la non acquisition du starter par les producteurs:

- la vulgarisation des résultats n'était pas suffisante (une vulgarisation plus personnalisée au niveau de chaque GIE intéressé aurait pu être réalisée). Dans ce cas, d'autres moyens auraient dû être prévus pour accompagner le transfert de la recherche, avec du personnel local supplémentaire (partenariats avec les structures concernées);
- les gérants d'unité doivent être convaincus en même temps que les propriétaires pour susciter l'intérêt; l'introduction de nouvelles "façons de faire" est parfois perçue comme une perte de temps;
- certains responsables attendaient un ferment "instantané" qui aurait permis d'obtenir une acidité moyenne en 1 ou 2 heures en vue d'accélérer la production, alors que la fermentation (nécessaire à l'aromatisation) nécessitait environ une nuit, comme dans le procédé traditionnel;
- l'option choisie de laisser les producteurs rappeler le laboratoire était trop souple;
- le starter apparaît comme un produit nouveau de type additif malgré les informations sur son origine;
- la signature d'un protocole d'accord a poussé certaines unités à se rétracter, surtout s'il y avait des incidences financières.

Il faut noter que les unités les plus ouvertes aux nouvelles technologies sont par ailleurs sollicitées par divers projets pour participer à des études, échantillonnages, essais de nouveaux équipements, etc. Leurs responsables ne bénéficient pas toujours de retombées financières et les incidences sur la qualité (s'il y en a) ne sont souvent visibles qu'après un certain temps (minimum 1 an) et à la suite de contrôles répétés. Le choix de la stratégie de "transfert" est délicat et l'agro-alimentaire se prête

difficilement à l'utilisation de "modèles" d'approches¹³ étant donné la diversité de l'environnement économique et humain. L'adoption de nouvelles technologies ne peut se faire que progressivement.

Les contraintes du procédé traditionnel

Le problème de maîtrise de la qualité s'avère plus complexe que le simple contrôle de la phase de fermentation: si celle-ci peut être maîtrisée par l'utilisation d'un starter qui "occupe le terrain" et dirige l'acidification, les problèmes liés à la phase finale du procédé - le séchage - ne sont toujours pas résolus, en particulier pour les unités urbaines qui traitent de plus grandes quantités.

Les risques de contamination par le milieu ambiant apparaissent lors du refroidissement des couscous et pendant le séchage des produits. La figure 2 présente le procédé de fabrication des produits roulés fermentés à base de mil, en incluant la fermentation contrôlée par starter. Cette dernière ne modifie pas le schéma traditionnel de production: elle maintient une nuit de fermentation de la farine de mil, et s'intègre bien dans le timing de transformation journalier. Le starter ne fonctionne pas sur des grains de mil lavés et égouttés, le substrat n'étant pas accessible.

Le procédé traditionnel présente plusieurs contraintes à lever, indépendantes de la fermentation: l'émottage des couscous après cuisson à la vapeur, le séchage dans les meilleures conditions d'hygiène pour maintenir les bénéfices acquis; et le problème du séchage rapide des gros granules de *arraw* dont la fermentation se poursuit partiellement au cours du séchage tant que l'activité de l'eau n'est pas assez faible. Il faut donc répondre à un besoin d'équipement qui corresponde à une production semi-industrielle et qui garantisse une hygiène adéquate.

La sous-traitance effectuée avec l'ITA a permis d'utiliser le séchoir ATESTA (origine Burkina Faso) amélioré pour les produits à base de mil. Ce séchoir à gaz, comportant 2 compartiments de claies, permet d'obtenir des produits de bonne qualité, mais la capacité reste encore faible pour les producteurs urbains (70 kg /10 h de fonctionnement). Le séchage solaire vient encore en première place avec tout ce qu'il entraîne comme risques de contaminations. En période humide, il n'est pas adéquat.

Les opérateurs ont donc accès à une offre technologique qui se complète et où les différents partenaires proposent maintenant des solutions pour certaines étapes:

- un nettoyeur à mil, progressivement vulgarisé dans le cadre de réseaux tel que le ROCAFREMI;
- le contrôle de la fermentation par starter (partenariat ESP/ITA/CWBI);
- un rouleur mécanique existe à l'ITA mais sa capacité est jugée faible par les opérateurs par rapport aux besoins;
- un séchoir à gaz ATESTA modifié par l'ITA, modulaire et donc utilisable en batterie, et quelquefois en fin de séchage après un pré-séchage solaire pour optimiser la production;
- un séchoir à gaz rotatif (recherche ROCAFREMI-ENDA-ESP) adapté au *arraw* (le mouvement permet un séchage plus homogène et évite le brunissement en surface des granules de *arraw*).

Certaines de ces solutions ne répondent pas complètement aux besoins des opérateurs en terme de capacité et le coût des prototypes reste encore élevé pour les petites entreprises. Le matériel existe à l'échelle industrielle, mais les coûts et les capacités sont disproportionnés par rapport aux besoins et aux moyens financiers. Le produit concerné est un produit alimentaire de base pour lequel une plus-value trop élevée ne permettra pas de concurrencer les produits traditionnels du marché

artisanal. Une autre optique se dessine en visant l'exportation pour laquelle la qualité devra être assurée.

CONCLUSION

La mise au point d'un starter pour le contrôle de la fermentation du mil n'est qu'une étape d'amélioration d'un procédé traditionnel. Ce starter garantit l'occupation directe du substrat par les bactéries lactiques nécessaires à l'acidification. Mais le transfert de cette technologie ne réside pas seulement dans l'adéquation coût/effet de ce starter sur le produit en terme de goût et de qualité: les autres contraintes du procédé doivent être résolues pour que les bénéfices du contrôle par ferment soient maintenus.

Un Pôle de Séchage a été créé entre l'ITA, l'ESP et le CWBI depuis 2002, en vue de répondre aux besoins de nouvelles technologies de séchage pour l'amélioration de la qualité des produits locaux. La farine de mil acidifiée est séchée par atomisation après dilution. L'atomisation, à des températures de sorties entre 60 et 80°C, maintient une certaine viabilité des bactéries lactiques issues de la fermentation. En fonction des objectifs visés, l'effet des températures d'entrée et de sortie sont en cours d'étude. Grâce à l'étape d'acidification par fermentation, le produit final est plus clair (couleur crème) par rapport au mil non fermenté (couleur grise), et de longue conservation. Ce type de farine acide peut être utilisé en tant qu'adjuvant de panification (arômes et goût).

L'accompagnement législatif est une autre raison d'immobilisme dans l'adoption de nouvelles technologies: si les contrôles de qualité ne sont pas réalisés, pourquoi introduire un ferment (évalué à 5% maximum du prix de revient total des produits secs), alors que la production actuelle n'arrive pas à suivre la demande? Les avantages nutritionnels ne suffisent pas. Il n'y a pas de norme nationale relative aux produits roulés fermentés à base de mil. Une faible production est pourtant exportée vers la diaspora sénégalaise (Italie, USA). Dans le cas d'une exportation importante, les normes internationales devront être respectées et l'utilisation d'un ferment pourra se justifier.

La création d'une structure adaptée à réaliser des technologies de transformations plus sophistiquées devient nécessaire pour favoriser l'émergence de nouveaux produits de qualité. Le problème est la création d'un véritable tissu industriel qui sera obligé de monter le niveau technologique local tout en assurant un prix concurrentiel sur le marché international et/ou local.

RÉFÉRENCES

1. Broutin C, Sokona K. Innovations pour la promotion des céréales locales. Reconquérir les marchés urbains. Programme de promotion des céréales locales du Gouvernement du Sénégal et de l'Union européenne. Série Etudes et recherches. Enda-graf, Gret, Dakar, 1999;206-207:147.
2. Asiedu JJ. La transformation des produits agricoles en zone tropicale. Paris : CTA, KARTHALA, 1992.
3. Khetarpaul N, Chauhan BM. Effect of fermentation by pure cultures of yeasts and lactobacilli on phytic acid and polyphenols content of pearl millet. J Food Sci 1989b;54(3):780-1.

4. Khetarpaul N, Chauhan BM. Improvement in HCL extractibility of minerals from pearl millet (*Pennisetum typhoides*) by fermentation with yeasts and lactobacilli. J Sci Food Agric 1989a;49:117-21.
5. Thonart Ph, Roblain D, Leite N, Tine E. Etude des communautés microbiennes des fermentations traditionnelles et des milieux protégés au Sénégal. Rapport d'activité 1997-1998. Gembloux : Centre Wallon de Biologie Industrielle, FUSAGX, 1998:70.
6. Diop M. Etude de la fermentation traditionnelle du mil au Sénégal: aspects microbiologiques et biochimiques. DEA en Chimie & Biochimie des Produits Naturels. Université Cheikh Anta Diop (Dakar), Faculté des Sciences et Techniques, 23 janvier 1999:70.
7. David H. Bergey's Manual of systematic Bacteriology. Baltimore, USA: Williams & Wilkins, 1984-1986:vol.1 et vol.2.
8. Diop-Sow O. Elaboration d'un procédé de contrôle de la fermentation du mil par l'utilisation d'un starter lactique. Mémoire d'Ingénieur de Conception. Université Cheikh Anta Diop (Dakar), Ecole Supérieure Polytechnique, juillet 2001:70.
9. Quittet C, Nelis H. Normes HACCP pour PME et artisans. Tome 1: Secteurs alimentaires autres que viandes, poissons, produits laitiers. Gembloux : Presses Agronomiques, 1999:455-97.
10. Marico Diop R. Etude de la viabilité et transfert d'un starter lactique adapté à la fermentation du mil au Sénégal. DEA en Chimie & Biochimie des Produits Naturels. Université Cheikh Anta Diop (Dakar), Faculté des Sciences et Techniques, 28 mai 2002:67.
11. Galzy P, Guiraud J. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. 2^{ème} édition. Collection Génie Alimentaire. Paris: Les Editions de l'Usine Nouvelle, 1980.
12. Totté A. Transfert de technologie, GIE Profemu. Rapport final. Projet CUD "Etude de communautés microbiennes africaines des fermentations traditionnelles". Dakar: Laboratoire LMAGI /ESP/UCAD, 2001:18.
13. Treillon R. L'innovation technologique dans les pays du Sud. Le cas de l'agro-alimentaire. Collection Economie et développement. Paris: ACCT, CTA, KARTHALA, 1992:260.

Remerciements: Le projet "Etude de Communautés Microbiennes des Fermentations Africaines traditionnelles" (Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel – ESP - Dakar) remercie la CUD (Commission universitaire pour le développement) et l'Administration Générale de la Coopération pour le Développement (ex AGCD, Belgique), la Communauté française de Belgique et l'Apéfe (Association pour la promotion de l'éducation et de la formation à l'étranger), ainsi que la Région Wallonne pour leur appui financier et technique. Cette recherche appliquée n'aurait pu avoir lieu sans le soutien scientifique du CWBI (Centre Wallon de Biologie Industrielle) et l'expérience de terrain de nos collègues de la Faculté des Sciences et Techniques, de l'Ecole Supérieure Polytechnique de l'Université Cheikh Anta Diop, et de l'Institut de Technologie Alimentaire de Dakar.

Effets du mûrissement, du séchage et de la conservation après séchage sur la teneur en caroténoïdes des mangues

Zagré^{1,2*} Noël M, Somé³ Issa T, Ouédraogo¹ Hermann, Sawadogo¹ Boubacar, Ouattara⁴ Awa

¹ UR de Nutrition, Institut de Recherches en Sciences de la Santé (IRSS), CNRST, 03 BP 7192 Ouagadougou, Burkina Faso.

² Helen Keller International, Bureau du Niger, BP 11728, Niamey, Niger.

³ Laboratoire de Chimie analytique et de toxicologie, UFR Sciences de la santé, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso.

⁴ CRSBAN/UFR-SVT, Université de Ouagadougou, 03 BP 7021, Ouagadougou, Burkina Faso.

*Auteur correspondant: nzagre@hki.ne

- Résumé -

Introduction: La carence en vitamine A (VA) constitue un problème majeur de santé publique au Burkina Faso. Les apports alimentaires inadéquats de VA représentent la cause principale de cette carence. Une meilleure utilisation des mangues, denrée locale riche en β -carotène, pourrait contribuer à une amélioration des apports. L'objectif de cette étude était de suivre l'évolution de la teneur en caroténoïdes lors du mûrissement, du séchage, puis de la conservation des mangues séchées.

Méthodologie: Les échantillons de mangue ont été prélevés dans une unité industrielle de séchage. Pour chaque variété (Brooks et Amélie), un échantillon de mangues semi-mûres et un échantillon de mangues mûres ont été prélevés avant séchage et ont été stockés à -32°C , à l'abri de l'air et de la lumière. A la fin du séchage, deux autres échantillons de mangues semi-mûres ont été prélevés, l'un immédiatement mis à congeler et l'autre emballé et conservé 6 mois dans les conditions habituelles de vente avant d'être analysé. Le séchage a été réalisé au four à gaz à une température de départ de 80°C progressivement diminuée à 40°C en 24 heures. La détermination des caroténoïdes a été effectuée par HPLC

Résultats: La zéaxanthine et le β -carotène ont été identifiés dans les mangues. Les teneurs en β -carotène des variétés Amélie et Brooks étaient, respectivement, de 700 ± 18 et 633 ± 19 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ de matière sèche (MS) pour les mangues mûres et de 183 ± 11 et 189 ± 10 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ MS pour les mangues semi-mûres. La zéaxanthine était surtout présente dans les mangues mûres (69 ± 3 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ MS pour Amélie et 75 ± 5 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ MS pour Brooks). Après séchage, les teneurs des mangues semi-mûres sont passées respectivement à 160 ± 19 et à 151 ± 34 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ MS. Les teneurs des mangues semi-mûres séchées ont baissé à 97 ± 18 et 88 ± 47 $\mu\text{gEAR}/100\text{g}$ MS pour les 2 variétés après 6 mois de conservation.

Conclusion: La teneur en β -carotène des mangues analysées est similaire à celles rapportées ailleurs. Les pertes de β -carotène observées au cours du séchage puis de la conservation des mangues séchées sont importantes et suggèrent que des précautions soient prises pour les réduire.

Mots-clés: Mangues – Mûrissement – Séchage – Conservation – β -carotène.

- Abstract -**Effects of ripening, drying and storage after drying on the carotenoid content of mangoes**

Introduction: Vitamin A deficiency remains a major public health problem in Burkina. Inadequate vitamin A intake appears to be its main causal factor. Mangoes are extensively produced in Burkina Faso and have a very good acceptability by children and adults. A better management of this speculation may greatly contribute to improve VA intake.

Objective: The objective of this study is to measure changes in carotenoid content during ripening, drying and storage of dried mangoes for 6 months.

Methods: Mangoes samples were collected from a small dryer unit in Ouagadougou. For each variety (Amélie and Brooks), four samples were collected: a first sample of half-ripened mangoes and a second of ripened mangoes were collected prior to drying and stored at -32°C, protected from light and air. At the end of the drying process, we collected two samples from the half ripened lot, one was immediately frozen and stored in a freezer while the second was packed and kept at sales conditions for 6 months, till analysis. Carotenoids were determined in triplicate by HPLC and content was expressed on a crude and dry matter basis. Drying was performed in a gas oven, starting at 80°C. Temperature in the oven was progressively decreased to 40°C after 24 hours.

Results: Only zeaxanthine and β -carotene were found in mangoes. β -carotene content of Amélie and Brooks varieties were respectively $700 \pm 18 \mu\text{g RAE}/100\text{g}$ and $633 \pm 19 \mu\text{g RAE}/100\text{g}$ for fresh ripened mangoes. For half ripened mangoes, content were respectively $183 \pm 11 \mu\text{g RAE}/100\text{g}$ and $189 \pm 10 \mu\text{g RAE}/100 \text{g}$ for Amélie and Brooks. Zeaxanthine mostly found in ripened mangoes but the amount was low ($69 \pm 3 \mu\text{g}/100\text{g}$ for Amélie and $75 \pm 5 \mu\text{g}/100\text{g}$ for Brooks). After drying, the β -carotene content of half-ripened mangoes respectively decreased to $160 \pm 19 \mu\text{g RAE}/100\text{g}$ and $151 \pm 34 \mu\text{g RAE}/100\text{g}$ (expressed as dry matter). Content dropped to 97 ± 18 and $88 \pm 47 \mu\text{g}/100\text{g}$ (expressed as dry matter) after 6 months of storage.

Conclusion: β -carotene content of mangoes in our study was similar to those published elsewhere. Decrease in β -carotene content following drying and storage of dried mangoes are high and suggest that actions should be taken against.

Key words: Mangoes – Ripening – Drying – β -carotene – Storage.

INTRODUCTION

La carence en vitamine A (VA) constitue un problème important de santé publique dans les pays en développement. Les stratégies de lutte contre les troubles dus à la carence en VA comprennent la supplémentation par les capsules de VA, les approches alimentaires incluant l'enrichissement d'aliments vecteurs adéquatement choisis, certains procédés technologiques la diversification alimentaire¹ et enfin certaines mesures de santé publique. La supplémentation à la fois avec le β -carotène et les fortes doses de rétinyl palmitate entre dans le 21^{ème} siècle avec une réputation d'innocuité quelque peu ternie, alors que les caroténoïdes pro vitaminiques A sont jugés d'efficacité insuffisante et sans danger d'un point de vue de santé publique². Cependant, des connaissances supplémentaires sur les caroténoïdes pro vitaminiques A pourraient participer à la pleine réalisation de leur potentiel comme une source efficace et saine de VA alimentaire pour les populations exposées. Les progrès technologiques concernant la conservation des aliments et la production végétale constituent une des stratégies participant à la diversification alimentaire³.

Les mangues sont des fruits riches¹ en caroténoïdes provitaminiques A. Le manguiier (*Mangifera indica*), originaire du Nord-Est de l'Inde, a été progressivement introduit dans le monde tropical⁴. La maturation ultérieure des mangues cueillies est possible en quelques jours à température ambiante, à l'éthylène, ou encore par trempage dans une solution d'éthylène⁵. Les fruits peuvent être conservés pendant deux semaines si les conditions sont bonnes, c'est-à-dire à une température moyenne de 13°C, à 90% d'humidité relative et avec une bonne ventilation. La mangue est consommée fraîche, en jus ou en nectar. Elle peut être séchée ou transformée en confiture ou sous forme marinée. Le but du séchage est de déshydrater la mangue et de stabiliser sa qualité pendant la durée nécessaire pour la commercialiser durant toute l'année⁶.

Au Burkina Faso, les mangues sont produites dans la région ouest. La récolte est saisonnière et des procédés de conservation sont nécessaires pour minimiser les pertes et rendre le produit disponible tout au long de l'année et dans les régions qui n'en produisent pas suffisamment. Les mangues séchées peuvent être transportées plus facilement, et conservées plus longtemps. Cependant une altération des caroténoïdes provitaminiques A peut intervenir au cours du séchage ou de la conservation.

L'objectif de cette étude était de mesurer l'évolution de la teneur en caroténoïdes lors du mûrissement et du séchage des mangues, puis lors de la conservation des mangues séchées.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'unité de séchage qui a collaboré à cette étude traite deux variétés de mangues, à savoir la variété Amélie et la variété Brooks qui sont deux variétés largement répandues au Burkina et dans la plupart des pays africains au sud du Sahara.

Description des techniques utilisées pour le séchage des mangues

Les mangues sont récoltées à l'état semi-mûr dans la région Ouest du pays, puis transportées à l'unité de séchage où un mûrissement provoqué est réalisé grâce à l'utilisation du carbure (éthylène). Lorsque les mangues sont semi-mûres, elles sont lavées, épluchées et découpées en tranches d'environ 1 cm d'épaisseur avant d'être étalées sur des claies par des travailleuses manuelles. Le séchage se fait dans un four à gaz, à une température de départ de 80°C progressivement diminuée à 40°C en 24 heures. Après le séchage, les mangues séchées sont conditionnées dans des

sachets (de 500 g ou de 1kg) transparents en polyéthylène de faible densité. Le diagramme de séchage des mangues est illustré sur la figure 1.

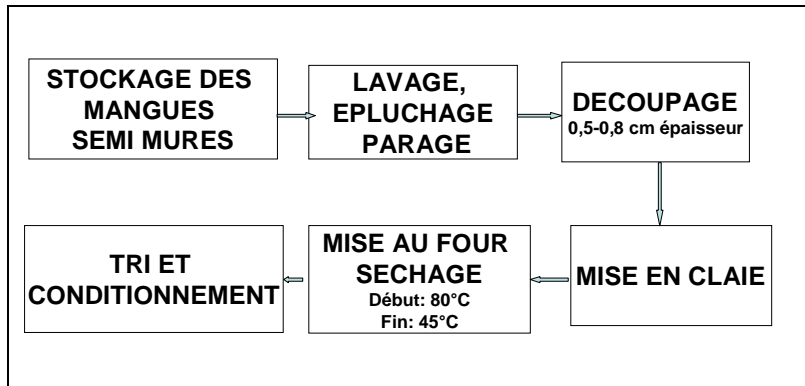


Figure 1: Diagramme de séchage des mangues.

Prélèvement et conditionnement des échantillons

Les échantillons de mangues avant séchage ont été directement prélevés par nos soins dans l'atelier de séchage, après que les mangues aient été lavées, épluchées et étalées sur les claies juste avant la mise au four.

Pour chaque variété, un 1^{er} échantillon de 200 g de mangues semi-mûres a d'abord été constitué par prélèvement direct à partir des claies, avant la mise au four et a servi de témoin avant séchage. Deux autres échantillons de 100 g de mangues semi-mûres séchées ont été ensuite prélevés sur les mêmes claies, à la sortie du four. L'un de ces deux échantillons, de même que celui prélevé avant séchage ont été stockés à -32°C, à l'abri de l'air et de la lumière, immédiatement après le prélèvement. Le 3^{ème} échantillon a d'abord été emballé par l'unité, puis conservé dans son emballage pendant 6 mois dans des conditions semblables à celles des magasins de vente (emballage plastique transparent, stockage dans des cartons fermés, à température ambiante). Au bout des 6 mois de stockage, cet échantillon a été conservé dans les mêmes conditions que les deux précédents jusqu'aux analyses au laboratoire. Un 4^{ème} échantillon, constitué de mangues mûres, a été obtenu à partir des mêmes lots exposés au carbu pendant une période plus longue.

Méthodes d'analyses

La teneur en matière sèche a été estimée avec un humidimètre de marque Scaltex au laboratoire du Centre de Recherches en Sciences Biologiques, Alimentaires et Nutritionnelles de l'Université de Ouagadougou. Une quantité d'au moins 5g de l'échantillon à analyser est déposée dans un récipient en aluminium et introduite dans l'appareil. L'appareil sèche complètement l'échantillon à une température de 100°C et affiche le taux d'humidité exprimé en pourcentage d'eau.

La détermination des teneurs en caroténoïdes a été réalisée par HPLC, au laboratoire de Biochimie de l'Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (Université de Ouagadougou) selon la méthode décrite par Epler et al⁷. Les analyses sont effectuées à l'aide d'une chaîne de chromatographie liquide haute performance constituée d'une pompe de type JASCO PU-980 (Tokyo, Japon) équipée d'une boucle

d'injection de 20 µL, d'une colonne chromatographique SUPELCO LC-18 (Bellefonte, USA.) de 25 cm de longueur, 4,6 mm de diamètre; la taille particulière étant de 5 µm.

Les standards analytiques de lycopène (LYCO), de zéaxanthine (ZEA), de cryptoxanthine (CRYP), d'échinonone (ECHI) d' α -carotène (ACAR) et de β -carotène (BCAR) ont été soit obtenus auprès de SIGMA (Allemagne), soit reçus à titre de dons gracieux de Hoffman-La Roche (Bâle, Suisse). Le méthanol (CARLO ERBA, Italie), l'acétonitrile (CARLO ERBA, Italie), le dichlorométhane (SIGMA, France) et l'hexane (ACROS, France) sont de qualité CLHP.

Après un broyage de la mangue de manière à obtenir une pâte homogène, une prise d'essai de 1 à 2 g environ de pâte est prélevée dans un tube à essai. Les caroténoïdes sont extraits par agitation au vortex par 2 fois 2 mL d'hexane en présence d'échinonone (standard interne), à une concentration de 0,6 pmol/µL. Après agitation vigoureuse, le mélange a été centrifugé à basse température, puis les phases hexaniques ont été réunies et évaporées sous flux d'azote. Le résidu ainsi obtenu a été repris dans 800 µL d'acétonitrile pour obtenir une solution contenant 15 pmol/20µL du standard interne. Vingt µL ont été injectés. Trois essais ont été faits pour chaque échantillon.

Les teneurs en β -carotène ont été exprimées en µg d'équivalent rétinol (EAR) pour 100g de matière brute et de matière sèche. Toutes les teneurs exprimées en µg EAR ont été obtenues en considérant un taux de conversion de 12 µg de β -carotène pour 1 µg EAR. Quant à la zéaxanthine, les teneurs ont été exprimées en µg de zéaxanthine par 100 g de matière sèche.

RÉSULTATS

Le tableau 1 présente les taux d'humidité des mangues mûres et semi-mûres, à l'état frais, séché, puis séché et conservé pendant une période de 6 mois. On constate que le taux d'humidité est élevé dans les produits frais, et qu'ils sont plus élevés au niveau des mangues mûres que des mangues semi-mûres. Ces taux ont été ramenés à environ 13% suite au séchage et à une valeur encore plus faible après la période de conservation à température ambiante.

Tableau 1: Teneur en eau des mangues "Amélie" et "Brooks" mûres à l'état frais et semi-mûres à l'état frais, séchées ou conservées après séchage (en g/100g de mangue).

Etat des mangues	Mangues mûres fraîches	Mangues semi-mûres		
		fraîches	séchées	conservées 6 mois après séchage
Variété Amélie	85,1±5,9	67,6±4,6	12,5±0,5	3,5±0,4
Variété Brooks	80,3±2,6	59,0±1,9	13,3±0,6	5,0±0,1

Les analyses CLHP ont révélé que les deux variétés de mangues étudiées ne contiennent que deux types de caroténoïdes, à savoir le β -carotène et la zéaxanthine, cette dernière n'ayant pas de pouvoir provitaminique A. Le tableau 2 présente, pour les deux variétés, les teneurs en ces deux caroténoïdes sur la base de la matière sèche. Il apparaît que la teneur en caroténoïdes est beaucoup plus élevée dans les mangues mûres que dans celles semi-mûres (700±18 contre 183±11 et 633±19

$\mu\text{gEAR}/100\text{g MS}$ pour les mangues mûres contre $189\pm 10 \mu\text{gEAR}/100\text{g MS}$ pour les mangues semi-mûres respectivement pour les variétés "Amélie" et "Brooks"). On y remarque également la faible présence de la zéaxanthine au regard du β -carotène.

Tableau 2: Variation des teneurs en caroténoïdes des mangues "Amélie" et "Brooks" au cours du mûrissement.

	Teneur en β -Carotène ($\mu\text{g EAR}/100\text{g de MS}$)		Zéaxanthine ($\mu\text{g} /100\text{g de MS}$)	
	Semi-mûres	Mûres	Semi mûres	Mûres
Amélie	183 \pm 11	700 \pm 18	5	69 \pm 3
Brooks	189 \pm 10	633 \pm 19	3	75 \pm 5

MS= Matière sèche.

L'effet du séchage sur l'évolution des teneurs en β -carotène est présenté au tableau 3. On observe un accroissement des teneurs de β -carotène exprimées par rapport à la matière brute qui vont de 58 ± 6 à $135\pm 18 \mu\text{g EAR}/100\text{g MB}$ et de 78 ± 9 à $132\pm 26 \mu\text{g EAR}/100\text{g}$, respectivement, pour les variétés "Amélie" et "Brooks". Lorsque ces mêmes résultats sont exprimés par rapport à la matière sèche, on constate plutôt une baisse des teneurs en β -carotène.

Tableau 3: Evolution des teneurs en β -carotène des mangues semi-mûres au cours du séchage.

	En $\mu\text{g EAR}/100\text{g de matière brute}$		En $\mu\text{g EAR}/100\text{g de matière sèche}$	
	Avant séchage	Après séchage	Avant séchage	Après séchage
Amélie	58 \pm 6	135 \pm 18	183 \pm 11	160 \pm 19
Brooks	78 \pm 9	132 \pm 26	189 \pm 10	151 \pm 34

Concernant l'effet de la conservation des mangues séchées, les résultats présentés au tableau 4 montrent une diminution des teneurs en β -carotène à l'issue des 6 mois de stockage dans les conditions habituelles de vente.

Tableau 4. Evolution des teneurs en β -carotène des mangues semi-mûres séchées au cours de 6 mois de conservation (en $\mu\text{g EAR}/100\text{g de MS}$).

	Avant stockage	Après stockage
Amélie	160 \pm 19	97 \pm 18
Brooks	151 \pm 34	88 \pm 47

DISCUSSION

Les teneurs en β -carotène des mangues mûres Amélie et Brooks se situent dans la fourchette des valeurs rapportées par d'autres auteurs. En effet, les teneurs en β -carotène, rapportées au gramme de matière brute sont respectivement de $12,6 \mu\text{g/g}$ ($1,05 \mu\text{g EAR/g}$) et $11,4 \mu\text{g/g}$ ($0,95 \mu\text{g EAR/g}$) pour les variétés "Amélie" et "Brooks". Sungpuag a rapporté des teneurs en β -carotène allant de $0,5$ à $10 \mu\text{g/g}$ ($0,04$ à $0,83 \mu\text{g EAR/g}$) de mangue⁸ sur la base de la matière brute, tandis que Mumtaz⁹ a trouvé une gamme de variation de 20 à $130 \mu\text{g/g}$ ($1,6$ à $10,8 \mu\text{g EAR/g}$). Les teneurs trouvées dans les variétés ayant fait l'objet de notre étude sont élevées comparativement à celle de la variété Tommy Atkins qui est de $5,8 \mu\text{g/g}$ ¹⁰ ($0,48 \mu\text{g EAR/g}$). Par ailleurs, alors que la zéaxanthine a été retrouvée dans les mangues lors de notre étude, Sungpuag n'a pas trouvé d'autre caroténoïde que le β -carotène⁸. Cependant, étant donné que les sources ne donnent aucune information sur les échantillons à partir desquels ces valeurs ont été obtenues, la prudence devra être observée lorsqu'on souhaite porter une appréciation ou classer ces valeurs. En effet, certains facteurs peuvent expliquer ces différences observées entre nos résultats, facteurs souvent liés à la variété, au stade de maturité, au climat ou au site géographique de production, à la partie de mangue considérée, aux techniques culturales, aux techniques de transformation et aussi aux méthodes d'analyse^{10,11}. La comparaison est également rendue difficile lorsque les teneurs sont exprimées en $\mu\text{g EAR}$, car le taux de conversion du β -carotène en EAR utilisé par les autres auteurs est rarement mentionné. A l'occasion d'un essai réalisé en Gambie¹², les auteurs ont rapporté une teneur des mangues de variété «Amélie» mûres et séchées au soleil de $1,9 \mu\text{g EAR/g}$, lorsqu'un facteur de conversion de 12 est utilisé.

Le mûrissement des fruits s'accompagne d'une augmentation de la biosynthèse des carotènes^{11,13}. Cela a été retrouvé dans notre étude pour les mangues Amélie et Brooks dont la teneur en β -carotène sur la base de la matière brute, s'accroît de 80% et 39% respectivement, au cours du mûrissement. Les mangues devraient être consommées à l'état mûr pour optimiser la contribution des mangues aux apports en β -carotène. L'accroissement réel de la teneur en β -carotène est encore plus élevé car le mûrissement s'accompagne en même temps d'une augmentation de la teneur en eau.

La rétention du β -carotène lors du séchage a été de 87,4% pour la variété Amélie et de 79,8% pour la variété "Brooks". Ces taux sont comparables à celui obtenu en utilisant les séchoirs solaires améliorés. En effet, lors d'une expérience menée au Kenya, la déshydratation des mangues au séchoir solaire, avec obscurcissement jusqu'à une humidité de 15 à 20%, a permis une rétention^{6,11} du β -carotène de 81%. Cependant, des étapes préliminaires avaient, contrairement à notre étude, précédé la phase de séchage proprement dite. En effet, les mangues avaient d'abord subi un blanchiment à l'eau bouillante ainsi qu'un trempage dans une solution d'acide citrique et de saccharose pour maximiser la rétention du β -carotène. Il est bien connu qu'un blanchiment préalable au traitement thermique, détruit les enzymes d'oxydo-réduction et réduit les pertes ultérieures en β -carotène^{13,14}.

Les pertes en β -carotène lors de la conservation des mangues séchées sont importantes puisque les pertes sont de l'ordre de 39,9% et 41,7% par rapport aux valeurs initiales, respectivement, pour les variétés "Amélie" et "Brooks". Ces pertes élevées peuvent être liées aux réactions d'oxydation des caroténoïdes qui peuvent survenir lors du stockage. En effet, les sachets (polyéthylène basse densité) ayant servi pour le conditionnement d'échantillons sont reconnus pour leur forte perméabilité à l'oxygène¹⁵, ce qui favorise la dégradation du β -carotène. Il est important de noter que la diminution de teneur en β -carotène exprimée sur la base de la matière

sèche survient alors que le taux d'humidité baisse, ce qui supporte l'hypothèse d'une action oxydative sur les caroténoïdes, comme certains auteurs¹⁶ l'ont rapporté. Des solutions devraient s'orienter vers l'amélioration du conditionnement et des conditions de conservation afin de réduire ces pertes.

Au plan de la santé publique, les mangues peuvent être considérées comme une bonne source d'apports en VA. En effet, dans une étude menée au centre nord du Burkina, des auteurs ont établi la liste des sources de VA de la région et ont cherché à identifier les meilleures sources¹⁷. A cet effet, ils ont attribué des cotes de teneur tenant compte de la teneur et de la taille de la portion habituellement consommée par les enfants, ainsi qu'une cote de bio-efficacité des caroténoïdes de tous les aliments répertoriés. Ils ont ensuite calculé un score VA, qui a permis de classer les aliments sources de VA. Les mangues ont été classées parmi les huit meilleures sources, au même rang que les patates douces orangées et la pulpe de néré et après le foie, l'HPR, et les œufs. L'utilisation des mangues et en particulier des mangues séchées comme source de VA chez les enfants constitue donc un complément important aux autres sources alimentaires, et s'est montrée aussi efficace que la capsule à améliorer la rétinolémie chez des enfants de 2 à 7 ans. Les mangues sont généralement bien appréciées par les enfants et la forte production de cette denrée dans bon nombre de pays africains devrait inciter à une meilleure valorisation sous forme de produits divers tels que les mangues séchées, les confitures, les jus. Les technologues alimentaires pourraient même envisager la mise au point de techniques permettant de produire de la poudre de mangues, ce qui rendrait les mangues éligibles pour un usage en mélange aux farines de complément pour des enfants plus jeunes.

CONCLUSION

La teneur en β -carotène des mangues Amélie et Brooks produites au Burkina Faso est similaire à celles rapportées ailleurs. La biosynthèse du β -carotène se poursuit au cours du mûrissement des mangues. Le séchage accroît la concentration du β -carotène dans la mangue rapportée à la matière brute, mais se traduit par une baisse de teneur lorsqu'elle est exprimée par rapport à la matière sèche. Au-delà de l'évolution de la teneur du β -carotène lors du séchage, d'autres facteurs tels que la biodisponibilité du β -carotène, les qualités organoleptiques et l'acceptabilité des mangues séchées sont importants à considérer.

RÉFÉRENCES

1. FAO. International Conference on Nutrition. World Declaration and Plan of Action for Nutrition. Rome: FAO, 1992.
2. Solomons NW. Carotenes as dietary precursors of vitamin A: their past and their future. Sight and Life Newsletter 2002;3:87-98.
3. UN/ACC/SCN. Controlling vitamin A deficiency. Nutrition policy paper. Geneva: SCN-United nations, 1994;14.
4. Arbonnier M. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Montpellier: CIRAD/MNHN/UICN, 2000.
5. Laville E. La protection des fruits tropicaux après récolte. Montpellier: CIRAD, FLHOR, 1994.
6. Gomez MI. Les effets du séchage sur la valeur nutritionnelle des produits alimentaires au Kenya. Compte rendu du colloque d'Ottawa sur le séchage des produits alimentaires. Ottawa: 1983:31-5.
7. Epler KS, Ziegler RG, Craft NE. Liquid Chromatography methods for the determination of carotenoids, retinoids and tocopherols in human serum and in food J Chromatogr Biomed App 1993;619:37-48.
8. Sungpuang P. Development of database for vitamin A and β -carotene in Thai foods and establishment of simplified dietary assessment of retinol equivalent consumption. Mahidol: Mahidol University, 1988.
9. Mumtaz KI. Mango, the king of fruits. Internet: <http://www.bawarchi.com/health/index.html> (accessed 3 December 2003).
10. Rodriguez-Amaya DB. Enhancing the carotenoids level of foods through agricultural and food technology. Internet: <http://www.foodafrica.nri.org> (accessed 10 November 2003).
11. Rodriguez-Amaya DB. Carotenoids and food preparation: The retention of provitamin A carotenoids in prepared, processed, and stored foods. Arlington VA: John Snow Inc/OMNI Project, 1997.
12. Drammeh SB, Marquis SG, Funkhouser E, Bates C, Eto I, Stephensen BC. A randomized, 4 months mango and fat supplementation trial improved vitamin A status among young Gambian children. J Nutr 2002;132:3693-99.
13. Rodriguez-Amaya DB. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. Arch Latinoam Nutr 1999;49:38S-47S.
14. Rodriguez-Amaya DB. Effects of processing and storage on food carotenoids. Sight and Life Newsletter 2002;3:25-35.
15. CNCED/OMC. Emballage de produits alimentaires: centre international du commerce pour les formateurs. Genève: OMC, 1992.
16. Grandall PG, Kesterson JW, Denis S. Storage stability of carotenoids in orange oil. J Food Sci 1993:924-7.
17. Zagré NM, Delisle H, Delpeuch F. L'huile de palme rouge au Burkina: un pas pour la diversification alimentaire dans la stratégie nationale de lutte contre la carence en vitamine A. Communication orale au 2^{ème} Atelier international sur les voies alimentaires d'amélioration des situations alimentaires en Afrique de l'Ouest: le rôle des nutritionnistes et des technologues alimentaires". Ouagadougou, 23-28 novembre 2003.

Remerciements: Les auteurs remercient la Directrice de l'atelier de séchage "Sonny-Séchage" de Ouagadougou pour son aimable collaboration à la réalisation de cette étude.

Nixtamalization, a Mesoamerican technology to process maize at small-scale with great potential for improving the nutritional quality of maize based foods

Wacher Carmen

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, 04510 México, D. F. México.

Corresponding author: wacher@servidor.unam.mx

- Abstract -

"Nixtamalization" is the process of cooking maize grains in a lime solution, soaking and washing them, to obtain "nixtamal". Then it is stone-ground to obtain nixtamal dough or *masa*. A variety of products are obtained from it and *tortilla* (flat pancakes cooked in a griddle) is the most popular one. Although maize became a staple crop in numerous African countries, this process has not been commonly adopted in Africa. This paper reviews the technology of nixtamalization and highlights its benefits for possible adoption in African countries.

This technology improves the quality of maize in different ways. From the technological point of view, lime-cooking improves the rheological properties of the dough (elasticity, resistance to tearing and cracking), conferring desired organoleptic characteristics. It significantly increases its calcium content, releases bound niacin and makes it available. Insoluble dietary fibre decreases from raw to nixtamalized maize; however the relatively high levels that remain in the dough are of nutritional significance. Total fat content decreases, but the lime cooking process does not cause changes in fatty acid distributions. Protein quality, as shown by higher protein efficiency ratios (PER) of nixtamal, compared to maize increases. In addition to these nutritional benefits, lime-cooking has also been found to reduce significantly the amount of mycotoxins that are present in maize. Fermentation of nixtamal further enhances its nutritional properties. Being simple and inexpensive, conditions to transfer this ancient technology to Africa could be assessed to contribute to improve the nutritional quality of maize based foods.

Key words: Maize – Nixtamal.

- Résumé -

La nixtamalisation: un procédé mésoaméricain de transformation du maïs à petite échelle présentant un grand potentiel pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle d'aliments à base de maïs

La Méso-Amérique est fort probablement le berceau du maïs où il fut domestiqué et devint un aliment de base. Au Mexique, le maïs représente la moitié des aliments consommés et contribue à environ 50% des ingrédients énergétiques, cette proportion étant supérieure pour les populations à bas revenus.

La nixtamalisation est le procédé qui consiste à cuire les grains de maïs dans une solution de chaux, à les tremper et à les laver pour obtenir le «nixtamal». Il est ensuite broyé pour obtenir une pâte de «nixtamal» ou *masa*. De nombreux produits peuvent en être dérivés dont la *tortilla* (fine galette cuite sur une plaque chauffée) qui est le plus populaire. Bien que le maïs soit aussi devenu un aliment de base dans de nombreux pays africains, ce procédé n'a pas été communément adopté en Afrique.

Cette technologie améliore la qualité du maïs de différentes façons. D'un point de vue technologique, la cuisson à la chaux facilite l'élimination du péricarpe et l'hydrolyse alcaline libère des gommes du péricarpe et saponifie les lipides du germe, ce qui améliore les propriétés rhéologiques de la pâte (élasticité, résistance au déchirement et au craquelage). La cuisson altère la structure cristalline de l'amidon, et la réassociation des molécules constitutives de l'amidon durant le trempage est importante pour développer les propriétés rhéologiques de la pâte de nixtamal. L'intensité de la couleur, l'odeur et la saveur sont affectées par la chaux, conférant ainsi des propriétés organoleptiques désirées. La teneur en calcium est significativement augmentée, ce qui est important car les apports de calcium par les produits laitiers sont limités dans les pays en développement en raison de leurs coûts et des problèmes liés à l'intolérance au lactose. Le traitement alcalin libère la niacine et la rend disponible, c'est la raison pour laquelle les civilisations pré-colombiennes ne souffraient pas de pellagre. La teneur en fibres insolubles diminue du maïs brut au maïs nixtamalisé; toutefois les niveaux relativement élevés encore présents dans la pâte sont encore d'intérêt nutritionnel. La teneur totale en lipides diminue, mais la cuisson alcaline n'altère pas la distribution en acides gras. Les protéines du maïs sont de mauvaise qualité à cause de leur concentration limitée en lysine et tryptophane. La nixtamalisation améliore la qualité des protéines, comme l'indique la valeur plus élevée du coefficient d'efficacité protéique (CEP) dans le nixtamal que dans le maïs. Outre ces bénéfices nutritionnels, il a été aussi montré que la cuisson à la chaux réduit significativement la quantité de mycotoxines présentes dans le maïs.

La fermentation du nixtamal améliore ses propriétés nutritionnelles. La fermentation naturelle d'une pâte de nixtamal pour obtenir du *pozol* (une boisson préparée par suspension de la pâte fermentée dans de l'eau) entraîne une amélioration de la qualité des protéines. Dans la mesure où elle est simple et peu coûteuse, il semble intéressant d'étudier les conditions du transfert de cette ancienne technologie en vue d'améliorer la qualité nutritionnelle des aliments à base de maïs.

Mots-clés: Maïs – Nixtamal.

INTRODUCTION

Mesoamerica (a region from Northern Mexico to Honduras and Nicaragua) is very likely the origin of maize¹. It was cultivated throughout the American continent, but it was only consumed as the main food by the Mesoamerican cultures and at the Southeast of the United States². Maize is capable of adapting to the most diverse ecological conditions, but is not capable of self-reproduction, so it depends on man to perpetuate. It is Mesoamerica where it was domesticated and consumed as a staple food¹. Maize was also consumed in South America; however its role was never as important as in Mesoamerica². In Mexico, half of the total volume of food that is consumed is maize, which provides approximately 50 percent of the energy intake and this proportion is even greater for lower income groups. A great culinary tradition includes about 605 different foods made with maize³.

Maize has several nutritional limitations, especially the quantity and quality of its essential amino acids and niacin⁴. It is thought² that unless it is prepared by specific techniques, its nutritional value is marginal and any human population that depends on it as a major staple would suffer some degree of malnutrition. Alkali cooking was the main technique used to improve its nutritional value.

Presently, alkaline cooking or "nixtamalization" is widely used in Mexico and Central America to process maize. The traditional process, which is still widely used, consists of cooking maize grains in a lime solution, soaking for 8 to 16 hours and washing them by hand to remove the pericarp. This nixtamal is then stone-ground to obtain nixtamal dough or *masa*. A variety of products (*tortilla* chips, *tamales*, *tostadas*, *tacos*, *enchiladas*, *panuchos*, *sopes*, *atoles*, etc.) are obtained from it and *tortilla* (flat pancakes cooked in a griddle) is the most popular one (figure 1). According to Paredes-López and Saharópulos⁵, in rural areas *tortillas* provide 50% of the proteins and 70% of de calories consumed daily.



Figure 1: *Tortilla* baking at San Cristóbal de las Casas, Chiapas, Mexico.

In the American continent, the societies that cultivate and consume large amounts of maize, use the alkali treatment as a way of softening the outer kernel². The alkali used for cooking can include lime (Ca(OH)₂), wood ashes (KOH) and lye (NaOH). Lime use is restricted to Mesoamerica; North American producers use wood ashes and it is not used in South America, except for one community in Venezuela². Although maize became a staple crop in numerous African countries, this process has not been commonly adopted in Africa.

Nixtamalization improves the quality of maize in different ways:

CHANGES IN THE MICROSTRUCTURE OF MAIZE DURING NIXTAMALIZATION

From the technological point of view, lime-cooking alters the microstructure of the outermost layers of maize pericarp, which shows a corrugated-like structure⁵. Surface materials dissolve partially and this facilitates pericarp removal during washing. The aleurone layer remains attached to the endosperm; it behaves as a semi-permeable envelope and might contribute to reduce protein losses. Most of the germ is retained during nixtamal and *tortilla* making process and contributes to the overall nutritional properties of the product. Boiling in lime causes removal of starch granules, so that the soft (inner) endosperm is greatly altered: starch arrangement becomes irregular and some fibrils connect the dispersed starch granules⁵. Important structural alterations, caused by heat denaturation of proteins, cross-linkages produced by unusual aminoacids and disruption of the tertiary structure of proteins occur. The endosperm proteins remain attached to the starch granules; lime cooking changes the physical appearance of protein bodies⁶. Improved digestibility of nixtamal proteins may be due to a better accessibility to them caused by starch gelatinization and changes in the protein matrix⁵.

LIME COOKING ALTERATIONS THAT RESULT IN TECHNOLOGICAL IMPROVEMENTS

Alkaline cooking and the steeping step cause water and calcium to be taken up by the grain⁷. The role of lime is important, as it allows faster water absorption and distribution throughout the grain components and it modifies the outer layers, so that the pericarp fraction becomes gummy and sticky⁷. The alkaline treatment degrades and solubilizes cell wall components and this facilitates pericarp removal. Alkaline hydrolysis releases gums from the pericarp and saponified lipids from the germ that improve the rheological properties of the dough (elasticity, resistance to tearing and cracking). Alkali-soluble non-cellulosic wall polysaccharides (mainly arabinoxylan) show interesting functional properties as adhesives, thickeners, stabilizers, emulsifiers and film formers⁷. According to these authors, the presence of germ, which is not lost during nixtamalization, gives more machinability to the *masa*, with a higher tolerance to mixing and less susceptibility to breakdown. So, the traditional process results in *masa* with desirable properties of cohesiveness and adhesiveness. This is attributed to swelling of starch granules, to the presence of fibre gums from the nixtamalized pericarp and of saponified lipids from the germ.

During **steeping**, the grains absorb water and are softened due to the distribution of water⁷. Cooking alters starch crystallinity and reassociation of starch molecules during steeping is important to develop the rheological properties of nixtamal dough. **Grinding** disrupts the grain structure, dispersing cellular components and starch polymers. *Masa* can be considered to be a network of solubilized starch polymers with dispersed, uncooked and swollen starch granules, cell fragments and lipids⁸.

According to Gómez et al.⁹, swollen and partially gelatinized starch granules in a network of dispersed starch polymers, allows *tortilla* shaping during kneading and gas retention (puffing) during baking. Protein bodies swell, lose their shape and in some cases are physically destroyed during baking or drying⁶. After **baking**, starch granules and endosperm pieces are glued together by amylose, protein, lipids and cell wall components. During the 45-60 sec of baking time, water evaporates from the *tortilla* surface. Granules on the surface are partially gelatinized and more dehydrated; those in the middle are more gelatinized⁹. This results in stretchable and elastic *tortillas* that are resistant to tearing and cracking.

Organoleptic changes brought about by nixtamalization are probably the most important for consumers. Colour intensity, smell and flavour are affected by lime, conferring desired organoleptic characteristics. Lime affects *tortilla* colour and its intensity is related to carotenoid pigments, flavonoids and pH. The development of colour during nixtamalization is more complex, as calcium hydroxide reacts with different pigments¹⁰. *Tortilla* flavour is enhanced by Maillard browning reactions occurring between reducing sugars and peptides and unsaturated fatty acids.

LIME-COOKING ALTERATIONS THAT RESULT IN NUTRITIONAL IMPROVEMENTS

Dry matter losses occur during lime cooking and steeping and this is a drawback of nixtamalization. Total dry matter losses in commercially processed corn have been reported to be 2.8 to 10.7% between cooking and steeping and 1.6-2.0% during washing. The average composition of the suspended solids in "nejayote" (the cooking, steeping and washing water, which is discarded) was: 64% non-starch polysaccharides (mainly pericarp fiber), 20% starch and 1.4% solids washing¹¹. However, the alkaline process induces some significant favourable compositional changes in maize:

Changes in protein content and quality

According to Bressani et al.¹², the protein content of raw maize varies from 9.4 to 10.2%, of cooked maize from 10.0 to 10.6% and of *tortillas* from 9.5 to 11.0%. Regarding lysine and tryptophan, which are the two most limiting aminoacids in maize, the same authors reported that lysine content does not change significantly due to processing (158-166 mg/g N in raw maize to 152-165 mg/g N in cooked maize, to 145-175 mg/g N in *tortilla*), but lime cooking and *tortilla* baking decrease tryptophan content in maize from an average value of 38 mg/g of nitrogen in raw maize to 26 mg/g of N in *tortillas*. Another report², indicates that there are considerable losses of total nitrogen during the cooking process, but the relative amount of lysine in nixtamal is increased 2.8 times, tryptophan is increased slightly and the isoleucine/leucine ratio increases 1.8 times.

Regarding protein quality, Bressani et al.¹² showed that rats fed a casein diet showed weight gain, food intake and protein efficiency ratio (PER) significantly greater than those for rats fed diets on raw and processed maize, confirming other reports on the low quality of maize protein. However, the beneficial effect of lime cooking was demonstrated, as animals consuming diets made from maize dough and *tortillas* showed a weight gain and PER significantly ($p < 0.01$) greater than animals fed raw maize diets.

Nixtamalization alters the solubility patterns of maize proteins. Lime cooking and *tortilla* baking decrease the solubility of albumins and globulins (salt-water-soluble) and prolamins (alcohol-soluble). This alters the molecular weight distribution of the different protein fractions¹³. Bressani and Scrimshaw¹⁴ showed that cooking with lime

selectively enhances the nutritional quality of corn and that this probably results from a relative decrease in the solubility of the zein portion (deficient in lysine and tryptophan) of the corn proteins. This procedure selectively enhances the quality of the corn protein that is available for enzymatic digestion.

Minerals

One of the most important contributions of nixtamalization is the increase in the calcium content of *tortillas*. Serna-Saldivar et al.¹³ reported it increases 750%, which is over 85% available¹⁵. This is relevant, as calcium intake from dairy products in developing countries is limited by their high cost and problems associated with lactose intolerance. Low calcium intake also causes osteoporosis, which affects mainly post- and premenopausal women and elderly men. Nixtamalization also improves the calcium/phosphorus ratio¹⁶. Martínez-Flores et al.¹⁷ studied the effect of calcium absorption on physical properties and composition of rat femurs, comparing rats fed with raw whole corn (RC), *tortillas* made from extruded *masa* with 0.25% lime content (TEWL) and without lime (TE), and nixtamal *tortillas* (NT). The femurs of rats fed with TEWL and NT were heavier, thicker, and longer, showed greater crystallinity and were more resistant to fracture than the femurs of rats fed with RC and TE.

Phytic acid (*myo*-inositol hexaphosphoric acid), which reduces the bioavailability of minerals, is found in relatively high concentrations in the germ (which is not eliminated during nixtamalization). This is reduced from 8% (when low calcium concentration, 0.4%, is used to nixtamalize maize) to 30-45% (when high, 1.2% calcium concentration is used). This reduction can be attributed to its lability to heat¹⁶. The same authors reported that the amount of calcium in nixtamal is considerably greater than the amount of phytic acid in the grain, so that this could be easily saturated by calcium. This would prevent iron from binding to it and be available for absorption. They showed that higher calcium concentrations used for nixtamalization led to higher increments in ionizable iron. Soaking time did not affect these parameters.

Bressani et al.¹⁸ evaluated the composition of *tortillas* made by 5 different families and the maize used to prepare them. Besides the increase in calcium content (from 48.3 ± 12.3 in maize to 216.6 ± 41.5 in *tortilla*), Ca:P balance improved and Fe (4.8 ± 1.9 in maize to 7.0 ± 4.8 in *tortilla*), Cu (1.3 ± 0.2 in maize to 2.0 ± 0.5 in *tortilla*) and Zn (4.6 ± 1.2 in maize to 5.4 ± 0.4 in *tortilla*) concentrations increased. They proposed these minerals come from the lime or from the containers used to nixtamalize maize.

Vitamins

Maize is deficient in niacin, so a population whose diet consists mainly on maize would be likely to develop pellagra if other dietary constituents were not present². The alkaline treatment releases bound niacin and makes it available¹⁹; this is the reason why pre-Columbian civilizations did not suffer pellagra. On the other hand, Cravioto et al.²⁰ reported small losses of thiamin, riboflavin and niacin and a 40% loss in yellow corn *tortillas* carotene during nixtamalization.

Dietary fiber and fat

The nixtamalization process helps to eliminate the pericarp, so insoluble dietary fiber decreases from raw to nixtamalized maize; however the relatively high levels that remain in the dough are of nutritional significance. According to Bressani et al.¹², who studied chemical changes during rural *tortilla* production in Guatemala, dietary fiber of nixtamal dough (9.3 - 9.6%) is lower than that of raw maize (12.2 - 12.8%); however total dietary fiber content of *tortillas* is higher (10.3 - 11.7%), possibly due to the development of insoluble compounds when the maize dough is placed in the hot plate

to bake *tortilla*. The same authors reported that total fat content decreases from 4.7% (w/w) in raw maize to 2.8 (w/w) in *tortillas*, but the lime cooking process does not cause changes in fatty acid distributions.

Mycotoxins

The maize grain is frequently invaded by moulds of the genera *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. In addition to the nutritional benefits mentioned earlier, lime-cooking has also been found to reduce significantly the amount of mycotoxins that are present in maize^{21,22}. *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* are capable of producing fumonisins and frequently found in corn. Apart from causing animal diseases, human esophageal squamous cell carcinoma has been linked with consumption of fumonisin-contaminated corn. Dombink-Kurtzman et al.²¹ reported that *tortillas* made with naturally contaminated maize contained 18.5% of the initial concentration.

The traditional nixtamalization process has been reported to reduce levels of aflatoxin B1 by 94% and aflatoxin M1 by 90%²².

INDUSTRIALIZATION OF TORTILLAS

Tortilla elaboration has gone beyond the home-made procedure to become an artisanal process, with small "nixtamal mills" and "tortillerias". About 100,000 establishments are dedicated to *tortilla* elaboration¹. These are small family-type shops, where most of the population goes everyday to get fresh *tortillas*. These places are very important, because of the high preference for ready-made *tortillas*. Important agroindustries have also developed to obtain dry nixtamal flour. In 1996, Torres Salcido²³ reported about 34% of *tortillas* was made in Mexico from nixtamal flour.

Although the use of maize in Mexican cooking has received international recognition, its daily consumption for an important part of the population is a monotonous diet of *tortillas* and beans, which does not provide enough nutrients for a good physical and mental development. Fortification of foods that are generally consumed, as *tortillas*, can benefit most of the undernourished population. In 1997 Mexico established the addition of 7 micronutrients in nixtamal flour: vitamins A and C, riboflavin, niacin, folic acid, iron and zinc, to counteract deficiencies in the diet of the rural population especially. For this reason, fortified nixtamal flour is distributed by the government at subsidized prices²⁴.

NIXTAMAL FERMENTATION

Fermentation of nixtamal further enhances its nutritional properties. According to Cravioto et al.²⁵, after natural fermentation of nixtamal dough to obtain *pozol* (a beverage prepared by suspending in water this acidified dough), riboflavin, niacin and protein concentrations increase. Tryptophan and lysine concentrations increased from 0.46 g/100 g protein in maize to 0.71 g/100g in *pozol* and 3.05 g/100 g in maize to 3.96 g/100 g in *pozol*, respectively. The calculated biological value of *pozol* proteins was 66.75%, compared to that of maize (55.60). In accordance with this, protein efficiency ratio values for *pozol* and maize were 1.52 and 1.05 weight increase of rats/g consumed protein, respectively.

CONCLUSION

The quality of maize is greatly improved by the ancient technology of nixtamalization. It induces favourable modifications in its organoleptic attributes, rheological properties and nutritional value. Being simple and inexpensive, conditions to promote the use of this ancient technology to Africa could be assessed to contribute to improve the nutritional quality of maize based foods. Furthermore, it would be interesting to investigate if such a technology could apply for some other cereals (e.g. sorghum) widely consumed in Africa.

REFERENCES

- Museo Nacional de Culturas Populares. El maíz, fundamento de la cultura popular mexicana. Mexico: Dirección General de Culturas Populares, SEP, 1987.
- Katz SH, Hediger ML, Valleroy LA. Traditional maize processing techniques in the new world. *Science* 1974;184:765-73.
- Lomeli Escalante A. El consumidor ante la controversia sobre la *tortilla*. In: Torres F, Moreno E, Chong I, Quintanilla J, eds. La industria de la *masa* y la *tortilla*, desarrollo y tecnología. México: UNAM, 1996:81-93.
- Mertz ET. Nutritive value of corn and its products. In: Inglett GE, ed. Corn: culture, processing, products. Westport, Connecticut: The AVI Pub Co Inc, 1970:350-62.
- Paredes-López O, Saharópulos ME. Scanning electronmicroscopy studies on limed corn kernels for *tortilla* making. *J Food Technol* 1982;17:687-93.
- Gómez MH, McDonough CM, Rooney LW, Waniska RD. Changes in corn and sorghum during nixtamalization and *tortilla* baking. *J Food Sci* 1989;54:330-6.
- Martínez-Bustos F, Martínez-Flores HE, Sanmartín-Martínez E, et al. Effect of the components of maize on the quality of *masa* and *tortillas* during the traditional nixtamalization process. *J Sci Food Agr* 2001;81:1455-62.
- Gómez MH, Waniska RD, Rooney LW. Effects of nixtamalization and grinding conditions on starch in *masa*. *Starch* 1990;42:475-82.
- Gómez MH, Lee JK, McDonough M, Waniska RD, Rooney LW. Corn starch changes during *tortilla* and *tortilla* chip processing. *Cereal Chem* 1992;69:275-9.
- Gómez MH, Rooney LW, Waniska RD, Pflugfelder RL. Dry maize *masa* flours for *tortilla* and snack production. *Cereal Foods World* 1987;32:372-7
- Pflugfelder RL, Rooney LW, Waniska RD. Dry matter losses in commercial corn *masa* production. *Cereal Chem* 1988;65:127-32.
- Bressani R, Benavides B, Acevedo E, Ortiz MA. Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality-protein maize during rural *tortilla* preparation. *Cereal Chem* 1990;67:515-8.
- Serna-Saldívar SO, Gomez MH, Rooney LW. Technology, Chemistry and nutritional value of alkaline-cooked corn products. In: Watson SA, Ramstad PE, eds. Corn: chemistry and technology. St. Paul Minnesota: AACC, 1987:243-95.
- Bressani R, Scrimshaw NS. Effect of lime treatment on in-vitro availability of essential aminoacids and solubility of protein fractions in corn. *J Agr Food Chem* 1958;6:774-7.
- Poneros AG, Erdman JW Jr. Bioavailability of calcium from *tofu*, *tortillas*, nonfat dry milk and mozzarella cheese in rats: effect of supplemental ascorbic acid. *J Food Sci* 1988;53:208-10.
- Urizar Hernández AL, Bressani R. Efecto de la nixtamalización del maíz sobre el contenido de ácido fólico, calcio y hierro total y disponible. *Arch Latinoam Nutr* 1997;47:217-23.
- Martínez-Flores HE, Figueroa JDC, Martínez-Bustos F. Physical properties and composition of femurs of rat fed with diets based on corn *tortillas* made from different processes. *Int J Food Sci Nutr* 2002;53:155-62.
- Bressani R, Breuner M, Ortiz MA. Contenido de fibra ácido- y neutro-detergente y de minerales menores en maíz y su *tortilla*. *Arch Latinoam Nutr* 1989;39:382-91.
- Bressani R, Gómez-Brenes R, Scrimshaw NS. Effect of processing on distribution and *in vitro* availability of niacin of corn (*Zea mays*). *Food Technol* 1961;15:450-4.
- Cravioto RO, Anderson RK, Lockhart EE, Miranda FP, Harris RS. Nutritive value of the Mexican *tortilla*. *Science* 1945;102:91-3.
- Dombrink-Kurtzman MA, Dvorak TJ, Barron ME, Rooney LW. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of *masa* and *tortillas*. *J Agr Food Chem* 2000;48:5781-6.
- Elías-Orozco R, Castellanos-Nava A, Gaytán Martínez M, Figueroa-Cárdenas JD, Loarca-Pina G. Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Addit Contam* 2002;19:878-85.
- Torres Salcido G. Aspectos Sociales de la industria de la *masa* y la *tortilla*. In: Torres F, Moreno E, Chong I, Quintanilla J, eds. La industria de la *masa* y la *tortilla*, desarrollo y tecnología. México: UNAM, 1996:63-79.
- Carión Hernández O. Harina enriquecida de maíz nixtamalizado. In: Torres F, Moreno E, Chong I, Quintanilla J, eds. La industria de la *masa* y la *tortilla*, desarrollo y tecnología. México: UNAM, 1996:115-8.
- Cravioto RO, Cravioto OY, Massieu HG, Guzmán GJ. "El pozo", forma indígena de consumir el maíz en el sureste de México y su aporte de nutrientes a la dieta. *Ciencia Mex* 1955;15:27-30.