

Composition chimique du nététu, condiment alimentaire produit par fermentation des graines du caroubier africain *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth.

Babacar Ndir ⁽¹⁾, Georges Lognay ⁽²⁾, Bernard Wathelet ⁽³⁾, Colette Cornelius ⁽⁴⁾, Michel Marlier ⁽²⁾, Philippe Thonart ^(4,5)

⁽¹⁾ Institut de Technologie alimentaire. BP 2765. Dakar. Sénégal.

⁽²⁾ Unité de Chimie générale et organique. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2. B–5030 Gembloux. Belgique.

⁽³⁾ Unité de Chimie biologique industrielle. Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. Passage des Déportés, 2. B–5030 Gembloux. Belgique.

⁽⁴⁾ Service de Technologie microbienne. Centre wallon de Biologie industrielle (CWBI). Université de Liège. B–4000 Liège. Belgique.

⁽⁵⁾ Unité de Bio-industries. Centre wallon de Biologie industrielle (CWBI). Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. B–5030 Gembloux. Belgique.

Reçu le 16 décembre 1999, accepté le 24 février 2000.

Les lipides et les protéines de nététu de différentes origines et disponibles sur le marché traditionnel sénégalais ont été étudiés dans l'optique d'évaluer les potentialités alimentaires de ce condiment largement utilisé dans de nombreux pays africains. La teneur en matières grasses varie de 141 à 349 g·kg⁻¹. Des investigations réalisées par chromatographie gazeuse et par CG-SM (chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) ont révélé l'occurrence de sept acides gras principaux parmi lesquels l'acide linoléique (41,9–46,8 %), l'acide oléique (12,6–14,6 %), l'acide palmitique (10,2–11,3 %), l'acide stéarique (10,0–13,4 %) et l'acide béhénique (12,6–13,4 %). Des différences significatives ont été observées entre les graines fermentées et non-fermentées aussi bien qu'entre les nététu de différentes origines. La teneur en tocophérols est très faible (17,7 à 30,6 mg·100g⁻¹ de matières grasses). Les protéines brutes représentent de 331 à 540 g·kg⁻¹. Elles sont caractérisées par des taux intéressants en acides aminés essentiels, cependant le tryptophane, la cystine, la méthionine et la thréonine sont largement déficients.

Mots-clés. *Parkia biglobosa*, nététu, acide gras, acide aminé, assaisonnement.

Chemical composition of netetu, a food condiment from fermented *Parkia biglobosa* seeds. The seed oils and cakes of netetu of different origins available on the Senegalian market have been studied to evaluate the nutritional potentialities of this important food condiment used in many African countries. The total oil content ranged from 141 to 349 g·kg⁻¹. Careful gas chromatography and GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) investigations revealed seven major fatty acids among which linoleic (41.9–46.8% of the total fatty acids), oleic (12.6–14.6%), palmitic (10.2–11.3%), stearic (10.0–13.4%), and behenic (12.6–13.4%) predominate. Significant differences were observed between fermented and non-fermented seeds as well as between netetu of different origins. The tocopherol content was found very low (17.7 to 30.6 mg·100g⁻¹ fat). The total amino acid patterns showed that beside high level of proteins (331 to 540 g·kg⁻¹) and interesting levels of essential constituents, there is an important deficiency of tryptophane, cysteine, methionine and threonine.

Keywords. *Parkia biglobosa*, netetu, fatty acids, amino acids, condiments.

1. INTRODUCTION

Les condiments issus de la fermentation de graines oléagineuses sont largement utilisés dans l'alimentation traditionnelle des pays de la côte ouest de l'Afrique et particulièrement au Sénégal. Ils font l'objet de très nombreuses transactions commerciales entre différents pays et se retrouvent sur tous les marchés locaux. Parmi ces condiments végétaux, figure le *netétu* (aussi appelé *dawa-dawa* ou *iru* au Nigéria ou encore *soumbala* au Mali), produit aromatique préparé à partir de graines de caroube africaine *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth. et dont la fabrication varie selon les pays et les ethnies. Son élaboration est longue (4 à 5 jours) et comprend trois étapes essentielles : une double cuisson des graines, une fermentation des cotylédons et ensuite un séchage du produit fermenté. La préparation finale est souvent salée, ce qui contribue significativement à sa conservation. Au Sénégal, les trois *netétu* disponibles sur les marchés locaux proviennent de la Casamance, de la Guinée et du Mali. Ils varient en qualité comme en prix.

Dans le cadre d'un programme de recherche visant à maîtriser la production locale de *netétu*, nous avons été préalablement amenés à évaluer les caractéristiques microbiologiques, biochimiques et organoleptiques de ce produit. Ces travaux ont montré que la microflore associée à la fermentation des graines de caroube africaine est essentiellement constituée de germes sporulés du genre *Bacillus* et que la flore productrice de H₂S est la principale responsable du développement de saveurs désagréables (Ndir *et al.*, 1997). D'autre part, nous avons montré que la conservation de cet aliment est, entre autres, liée à la production de lipopeptides antifongiques (iturine A et surfactine) par diverses souches de bacilles isolées après le processus de fermentation (Ndir *et al.*, 1994 ; Ndir *et al.*, 1999). La caractérisation chimique des graines de diverses espèces appartenant au genre *Parkia* a été rapportée notamment par Girgis et Turner (1972) et Ofunda et Adesomoju (1985). Dans une étude comparative de deux *Parkia* d'origine nigériane (*P. biglobosa* et *Parkia bicolor*), Aiyelaagbe *et al.* (1996) identifient par CG-SM (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) cinq acides gras majoritairement saturés mais ne décèlent pas d'acide oléique.

Le présent travail vise à la caractérisation chimique des trois *netétu* commercialisés au Sénégal. Il propose une étude comparative de la composition en acides gras constitutifs. Dans cette optique, l'analyse qualitative par CG-SM a été réalisée en vue de préciser la nature exacte des molécules détectées et de proposer une révision des identifications préalablement publiées par Aiyelaagbe *et al.* (1996). L'étude complète de la composition en acides aminés est également réalisée.

2. MATERIEL ET MÉTHODES

Les graines non fermentées de *Parkia biglobosa* et les *netétu* étudiés proviennent de marchés locaux (Dakar-Sénégal). Avant d'être soumis à l'analyse, ils ont été homogénéisés puis finement broyés avec un moulin de type Ika (Janke & Kunkel, Type A10). Toutes les déterminations ont été effectuées en double.

La teneur en lipides totaux a été déterminée par gravimétrie après extraction au chloroforme/méthanol (2:1 v/v) selon Folch *et al.* (1957) ou par extraction Soxhlet à l'aide de n-hexane pendant 8 heures. En vue d'identifier les diverses classes glycéridiques constitutives, les extraits lipidiques bruts ont été analysés par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaques de gel de silice G60 (épaisseur 0,2 mm - Macherey Nagel) avec pour éluant un mélange éther de pétrole (température d'ébullition : 60–80 °C) / éther diéthylique / acide formique (60:40:1,5 v/v/v). Les plaques ont été révélées à l'aide d'une solution éthanolique à 0,2 % de 2,7-dichlorofluorescéine puis examinées sous UV à 254 nm. Les spots ont été identifiés sur base de leurs R_f comparés à ceux de produits purs utilisés comme références.

Les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) ont été préparés par transestérification en présence de méthanol/ BF₃ selon la norme IUPAC 2.301 (1979). Ils ont ensuite été analysés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil Hewlett-Packard HP5880a équipé d'un injecteur "on-column" et d'un détecteur à ionisation de flamme maintenu à 250 °C. Les conditions analytiques ont été fixées comme suit :

- colonne CP-Wax (FFAP) 58 CB (Chrompack – Middelburg; The Netherlands) 25m × 0,25 mm (df = 0,2 µm) ;
- programme de température : 50 °C à 150 °C (30 °C/min) puis de 150 °C à 230 °C (5 °C/min) ;
- gaz vecteur : hélium 70 KPa (1 ml/min).

Les EMAG ont été identifiés par comparaison de leurs données de rétention avec celles de produits de référence. Les identifications ont été confirmées par analyse CG-SM dans des conditions analogues à l'aide d'un spectromètre de masse Hewlett-Packard HP5989 couplé à un chromatographe HP5890 Series II. Les spectres de masse ont été interprétés puis comparés à ceux de la bibliothèque NBS75K.L.

Les tocophérols ont été dosés par chromatographie liquide à haute performance selon la norme AOCS Ce 8–89 (1997).

La matière sèche (MS) a été déterminée après séchage de 24 heures à 110 °C. Les protéines brutes ont été déterminées par la méthode de Kjeldahl modifiée à l'aide d'une unité Tecator (Digester System 20 et Kjeltac Auto 1030).

Les acides aminés (AA) obtenus après hydrolyse ont été dosés par la méthode de Moore *et al.* (1958) sur un appareil de type Pharmacia LKB Alpha Plus. Les acides aminés ont été quantifiés après une hydrolyse de 24 heures à 110 °C, sous azote, dans HCl 6N contenant 0,1 % de phénol. Par contre, les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) ont été dosés après oxydation à l'acide performique (Lewis, 1966) (transformation en acide cystéique et méthionine sulfone respectivement) et hydrolyse acide de 24 heures à 110 °C en présence de HCl 6N contenant 0,1% de phénol. Le tryptophane a été déterminé après une hydrolyse de 15 heures à 110 °C, sous azote, dans une solution de Ba(OH)₂.8H₂O à 8,4g/16ml selon Leterme et Monmart (1990).

Les index chimiques ont été calculés sur base des données FAO/OMS (1990). Ils correspondent à 100 fois le ratio entre la teneur en un AA de l'échantillon et celle reconnue comme favorable par FAO/OMS. Ce sont des estimateurs de la qualité nutritionnelle d'une source protéique.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Les analyses CCM des lipides extraits de nététu ont révélé que ces derniers contiennent majoritairement des triglycérides. Cependant, l'occurrence d'acides gras libres et de mono- et diglycérides est attribuable à une activité hydrolytique due à la présence de lipases produites par les micro-organismes fermentaires.

Les résultats de l'analyse des trois principaux nététu commercialisés sur les marchés traditionnels sénégalais sont colligés au **tableau 1**. Les profils en acides gras y sont comparés à celui d'un extrait lipidique de graines de caroube africaine non fermentées.

L'examen des résultats appelle divers commentaires tant du point de vue qualitatif que quantitatif.

L'étude CG-SM des EMAG de la graine oléagineuse de *P. biglobosa* révèle dix acides gras différents. La mesure des temps de rétention des EMAG et des esters de référence, l'observation des ions moléculaires caractéristiques, l'étude des spectres de masse et leur comparaison avec les fragmentations de la bibliothèque

Tableau 1. Composition en acides gras des graines non fermentées de *P. biglobosa* et de divers nététu vendus au Sénégal (résultats en % poids matières grasses)—*Fatty acid composition of P. biglobosa unfermented beans and different commercial types of netetu (weight %)*.

				Graines non fermentées		Nététu			
				Nos résultats	Aiyelaagbe <i>et al.</i> (1996)	Guinée (G1)	Guinée (G3)	Casamance (C3)	Mali (M3)
Matières grasses brutes (% MF)				31,3 ^b	12,4	14,1 ^c	29,1 ^b	16,2 ^b	34,9 ^b
N°	EMAG	Ion moléculaire	t'r						
1	Palmitique	270	1,000	11,2	8,8	11,3	10,2	10,8	10,4
2	Stéarique	298	1,231	10,5	11,7	13,1	10,0	13,4	10,4
3	Oléique ^a	296	1,253	14,8	0,0	14,6	14,1	14,1	12,6
4	Linoléique	294	1,310	44,7	8,9	42,3	46,8	41,9	45,4
5	Linoléinique	292	1,375	0,6	0,0	0,5	0,5	0,5	0,6
6	Arachidique	326	1,454	3,2	40,5	3,6	3,1	3,7	3,1
7	Eicosénoïque (C20:1 cis 11)	324	1,477	0,7	0,0	tr	0,6	0,6	0,6
8	Béhénique	354	1,690	13,9	28,8	13,3	12,9	13,4	12,6
9	Lignocérique	382	2,010	0,4	0,0	1,4	1,9	1,6	1,8
Indice d'iode (calculé) ^d				92	15	87	94	86	91
Acides saturés (%)				39,2	89,8	42,7	38,0	42,9	38,3
Acides monoinsaturés (%)				15,5	0,0	14,6	14,8	14,6	13,2
Acides polyinsaturés (%)				44,7	8,9	42,3	46,8	41,9	45,4
Tocophérols totaux (mg/100g MG)				nd	nd	24,0	30,6	17,7	nd

^a = somme des isomères C18:1 cis 9 et cis 11 (en très faible proportion ; < 0,5 %) ; ^b = extraction selon Folch *et al.*, 1957 ; ^c = extraction au Soxhlet ; ^d = valeurs calculées selon formule AOCS : indice iode = % C18:1 × 0,860 + % C18:2 × 1,732 + % C18:3 × 2,616 ; t'r = temps de rétention relatif (référence : acide palmitique) ; nd = non détecté.

spectrale NBS75K.L. conduisent aux identifications données au **tableau 1**. Une mise en parallèle de nos résultats avec ceux de Aiyelaagbe *et al.* (1996) révèle des divergences notables. En effet, alors que nous décelons de manière indubitable l'ester méthylique de l'acide oléique – molécule ubiquiste dans le règne végétal – et un octadénoate isomère de position de la double liaison (l'acide cis-vaccénique ; octadécène-11c-oïque), ces auteurs ne les détectent pas. Cette divergence majeure entre nos investigations et les travaux de Aiyelaagbe *et al.* apparaît également au niveau des valeurs calculées d'indice d'iode : 92 contre 15. Dans leur étude, ces auteurs utilisent une colonne remplie garnie d'une gomme de type OV-101 peu résolutive pour les acides gras de même longueur de chaîne et d'insaturation différente. Des co-élutions sont dès lors à craindre. Dans le cas présent, la performance de la chromatographie sur colonne capillaire liée à l'efficacité de la phase polaire utilisée conduisent à une séparation optimale ; des résultats identiques ont été observés pour tous les échantillons de nététu étudiés. Les lipides extraits des graines non fermentées de *P. biglobosa* et des produits de fermentation qui en sont issus se caractérisent à la fois par des teneurs importantes en acide linoléique (41,9 % à 46,8 %) et en acide docosanoïque (2,9 % à 13,9 %). Dans tous les échantillons analysés, les teneurs en tocophérols sont faibles ; seuls les isomères a- et g- ont été décelés.

Le profil en acides aminés (AA) des divers lots de nététu est repris au **tableau 2**. L'acide diaminopimélique (Dmp) indique la présence de parois cellulaires bactériennes provenant de la fermentation des graines. Le tryptophane est l'acide aminé déficient de ce type de préparation. Il fait tomber les index chimiques (rapport teneur en AA de l'échantillon / teneur en AA dans la protéine de référence FAO/OMS) autour de 60. Sans tenir compte du tryptophane, ce sont les échantillons de Guinée (G3) et de Casamance (C3) qui donnent le meilleur équilibre d'acides aminés (**tableau 2**). Si nous comparons les index chimiques (**tableau 3**) des nététu avec ceux du pois ou du haricot, les graines de nététu possèdent moins de thréonine et plus de tyrosine + phénylalanine, histidine et lysine que ces deux protéagineux. Après le tryptophane, les acides aminés soufrés (comme dans la plupart des protéagineux) ainsi que la thréonine sont déficients. La déficience en cet acide aminé est très marquée dans les graines de nététu originaire du Mali (Index chimique de 64). La composition en acides aminés du nététu se rapproche de celle d'autres légumineuses mais le contenu protéique est supérieur, spécialement pour les graines originaires de Guinée (G1) et du Mali (M3).

D'un point de vue nutritionnel, le nététu, produit de fermentation de la graine de *P. biglobosa*, contribue significativement à l'alimentation des populations de

Tableau 2. Composition en acides aminés totaux des divers nététu — *Amino acid composition of commercial types of netetu.*

	Guinée (G1)	Guinée (G3)	Casamance (C3)	Mali (M3)
% MS	90,55	87,23	82,86	86,3
% N	8,64	6,1	5,14	8,32
% protéine	54,0	38,1	32,1	52,0
g d'acide aminé/100g de protéine				
Asp	9,442	10,266	10,898	8,092
Thr	2,854	3,162	3,183	2,176
Ser	3,040	4,105	3,985	2,562
Glu	15,917	18,707	18,914	15,195
Pro	4,419	5,121	4,488	3,175
Gly	4,427	4,649	4,723	3,477
Ala	4,528	4,892	5,043	4,620
Cys-Cys	1,474	1,618	1,460	0,992
Val	5,904	6,267	5,961	4,878
Met	0,939	0,643	0,573	0,758
Ile	4,942	5,171	4,699	3,907
Leu	7,578	7,850	7,057	6,058
Tyr	4,640	4,697	5,664	5,692
Phe	5,899	5,752	5,442	4,584
His	3,285	3,466	3,283	2,133
Lys	8,087	7,642	8,192	8,267
Trp	0,696	0,700	0,699	0,644
Arg	5,118	6,114	4,862	3,425
Orn	1,405	1,036	2,370	2,109
Dpm	0,372	0,352	0,418	0,649

Dpm = acide diaminopimélique.

Tableau 3. Index chimiques des divers types de nététu sur base des valeurs FAO/OMS (1990) — *Netetu chemical index based on FAO/WHO (1990) values.*

	Guinée (G1)	Guinée (G3)	Casa- mance (C3)	Mali (M3)	Riz	Pois	Hari- cot
Thr	84	93	94	64	103	118	135
Val	169	179	170	139	169	131	171
Met +							
Cys-Cys	97	90	81	70	176	108	104
Ile	177	185	168	140	146	154	193
Leu	98	102	92	79	95	91	113
Tyr +							
Phe	167	166	176	163	143	103	151
His	173	182	173	112	111	126	163
Lys	139	132	141	143	60	126	117
Trp	63	64	64	59	100	82	91

En gras figurent les index chimiques des acides aminés limitants.

l'Ouest africain. Il est parfois utilisé par les familles pauvres comme substitut de la viande (Ofunda, Adesomoju, 1985) mais trouve principalement sa place comme condiment dont les propriétés organoleptiques sont très appréciées. L'analyse du nététu à l'aide de protocoles fiables a permis de lever diverses ambiguïtés trouvées dans la littérature (identification rigoureuse des acides gras constitutifs, quantification précise des acides aminés parmi lesquels la cystine, la méthionine et le tryptophane) et rend compte de la relative variabilité des teneurs en acides gras et en acides aminés. La présente mise au point s'inscrit dans une perspective plus générale qui vise à évaluer les caractéristiques des nététu du commerce afin d'en mieux "maîtriser" la fermentation. L'utilisation de starters sélectionnés devrait contribuer à contrôler la saveur et l'arôme de ce produit. Cet aspect de la recherche est en cours de développement.

Remerciements

B. Ndir a bénéficié d'une bourse de la Communauté française de Belgique. Les auteurs remercient le CGRI et la Direction générale des Relations extérieures du Ministère de la Région Wallonne qui ont facilité ce travail réalisé à la Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux .

Bibliographie

- Aiyelaagbe O., Ajaiyeoba E., Ekundayo O. (1996). Studies on the seed oils of *Parkia biglobosa* and *Parkia bicolor*. *Plant Foods Hum. Nut.* **49**, p. 229–233.
- AOCS (1997). Determination of tocopherols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography Ce 8-89. D. Firestone ed. *In Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society*. 5th. Ed. Champaign, Illinois.
- FAO/WHO (1990). *Report of the joint expert consultation on protein quality evaluation*. FAO, Rome 4–8 December 1989.
- Folch J., Lees M., Sloane Stanley G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, p. 497–509.
- Girgis P, Turner T. (1972). Lesser known Nigerian edible oils and fats. III Fatty acid compositions as determined by Gas-liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.* **23**, p. 259–262.
- IUPAC (1979). IUPAC method 2.301. *In Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, Pergamon Press.
- Leterme P., Monmart T. (1990). Importance du tryptophane en alimentation et son dosage dans les aliments. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* **25** (3), p. 329–344.
- Lewis O. (1966). Short ion-exchange column method for the estimation of cystine and methionine. *Nature* **209**, p. 1239–1241.
- Moore S., Spackman D., Stein W. (1958). Chromatography of amino acids on polystyrene sulfonated resins. *Anal. Chem.* **30**, p. 1185–1200.
- Ndir B., Hbid Ch., Cornelius C., Roblain D., Jacques Ph., Vanhentenryck F., Diop M., Thonart Ph. (1994). Propriétés antifongiques de la microflore sporulée du nététu. *Cah. Agric.* **3**, p. 23–30.
- Ndir B., Gningue RD., Keita Nd. G., Souane M., Laurent L., Cornelius C., Thonart Ph. (1997). Caractéristiques microbiologiques et organoleptiques du nététu du commerce. *Cah. Agric.* **6**, p. 229–304.
- Ndir B., Keita N., Laurent L., Gningue R., Cornelius C., Diop M., Thonart Ph. (1999). Procédé traditionnel de fabrication du Nététu. Composition microbienne et détermination des points critiques de contrôle. *Cerevisia* **24**, p. 45–50.
- Ofunda S., Adesomoju A. (1985). Effects of fermentation on the free fatty acids of African locust bean during iru production. *J. Plant Foods* **6**, p. 111–115.

(13 réf.)