

ACADEMIE DE MONTPELLIER  
UNIVERSITE DE MONTPELLIER II

ETUDE CHIMIQUE DES PHYTATES DANS LES  
FARINES DE GRAINES DE COTONNIERS

Mémoire

présenté pour l'obtention du D.E.S.S.  
NUTRITION ET ALIMENTATION DANS LES PAYS EN DEVELOPPEMENT  
par

HOMBEK - RAVONINTSOA Josiane

le 29 Septembre 1989

devant la Commission d'Examen

Président : P. BESANCON

Examineurs : M. ALLAYA  
R. BAYLET  
J.L. CUQ  
F. DELPEUCH  
D. RIEU

## REMERCIEMENTS

A Monsieur BOURELY pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et guidé avec patience et amabilité tout au long de mon travail.

A tout le personnel du laboratoire, pour son soutien moral et technique durant ma période de stage.

## PLAN

### I) Introduction

### II) Le cotonnier

- 2.1 La plante
- 2.2 Une nouvelle ressource alimentaire
- 2.3 La farine de coton dans l'alimentation
- 2.4 Situation et objectif du travail

### III) Les phytates

- 3.1 Généralités
- 3.2 Structure
- 3.3 Actions sur le plan nutritionnel

### IV) Matériel et méthodes

- 4.1 Introduction
- 4.2 Dosage des phytates par la méthode de HOLT (1955)
  - 4.2.1 Réactifs
  - 4.2.2 Procédé
    - 4.2.2.1 Etablissement de la courbe étalon
    - 4.2.2.2 Dosage des phytates de l'échantillon
- 4.3 Dosage des phytates par la méthode de LATTA et ESKIN (1980)
  - 4.3.1 Introduction
  - 4.3.2 Réactifs
  - 4.3.3 Procédé
    - 4.3.3.1 Etablissement de la courbe étalon
    - 4.3.3.2 Dosage des phytates de l'échantillon
- 4.4 Dosage colorimétrique du phosphore phytique par la méthode de BAGHERI
  - 4.4.1 Principe de la méthode

## V) RESULTATS

- 5.1 Dosage des phytates par la méthode de HOLT (1955)
- 5.2 Dosage des phytates par la méthode de LATA et ESKIN (1980)
- 5.3 Dosage des phytates par la méthode de BAGHERI
- 5.4 Interprétation des résultats
- 5.5 Etude de la solubilité des phytates à différents pH.
- 5.6 Dosage des phytates par HPLC
  - 5.6.1 Principe de la HPLC
  - 5.6.2 Appareillage
  - 5.6.3 Méthode de GRAF et DINTZIS (1982)
  - 5.6.4 Réactifs

## VI) Elimination des phytates

- 6.1 Par dégradation enzymatique
- 6.2 Par traitements chimiques
- 6.3 Selon divers traitements

## VII) Conclusion

Annexes

Bibliographie

## I) INTRODUCTION

Le cotonnier est universellement connu pour sa fibre cellulosique, qui demeure la première matière textile consommée par l'Homme. Par contre, on ignore généralement que c'est aussi une plante oléoprotéagineuse de la plus grande importance. Triturées industriellement dans les huileries traditionnelles, les graines du cotonnier fournissent, en effet, 19% d'huile et 36% de tourteaux, riche de 40% à 45% de protéines.

Les graines des variétés ordinaires de cotonnier renferment un polyphénol toxique, le gossypol, auquel les animaux monogastriques sont très sensibles. Ce poison est contenu dans les glandes que l'on trouve dans tous les organes végétatifs de la plante, y compris les graines. En 1954, un chercheur américain découvrit un cotonnier mutant, dépourvu totalement de glandes à gossypol et créa les premières variétés sans glande à partir de ce premier cotonnier "glandless". Du fait qu'elles ne contiennent pas de gossypol, les variétés dérivées de la trituration des graines "glandless" sont utilisables pour l'alimentation de tous les animaux... y compris celle de l'homme.

Conscient du potentiel considérable que représentent les protéines des graines des cottonniers glandless pour lutter contre la malnutrition dans le monde, l'IRCT (Institut de Recherches du Coton et des Textiles exotiques) a lancé un vaste programme de recherche, financé par la C.E.E (Communauté Economique Européenne) dans le but de développer l'utilisation alimentaire des protéines qu'elles contiennent.

Ce programme inclut notamment la recherche de méthodes pour éliminer les facteurs antinutritionnels des farines de coton et améliorer ainsi leur valeur diététique et les possibilités de leur utilisation, surtout en alimentation infantile.

## II) LE COTONNIER

### 2.1 La plante

Le cotonnier appartient à la famille des Malvacées ; il en existe plus de 600 espèces dont 4 seulement sont cultivées : Gossypium herbaceum (fig.1), G. arboreum (fig.2), G. barbadense (fig.3) et G. hirsutum (fig.4) ; ces quatre espèces étant caractérisées par la présence sur la graine de poils cellulosiques, utilisés par l'industrie textile .

Chez un cotonnier bien développé, la tige principale est érigée, la hauteur de la plante peut dépasser 2 mètres, selon le climat et les méthodes de culture . Cette tige se continue par une racine pivotante de longueur variable selon le sol (0,60 m généralement, mais pouvant atteindre 1,20 voire 3 mètres quelquefois). Des racines latérales partent du pivot et progressent horizontalement, constituant des étages successifs, elles peuvent se diviser.

Sur un même plant, les feuilles varient en forme, dimension, texture et pilosité d'une manière très irrégulière

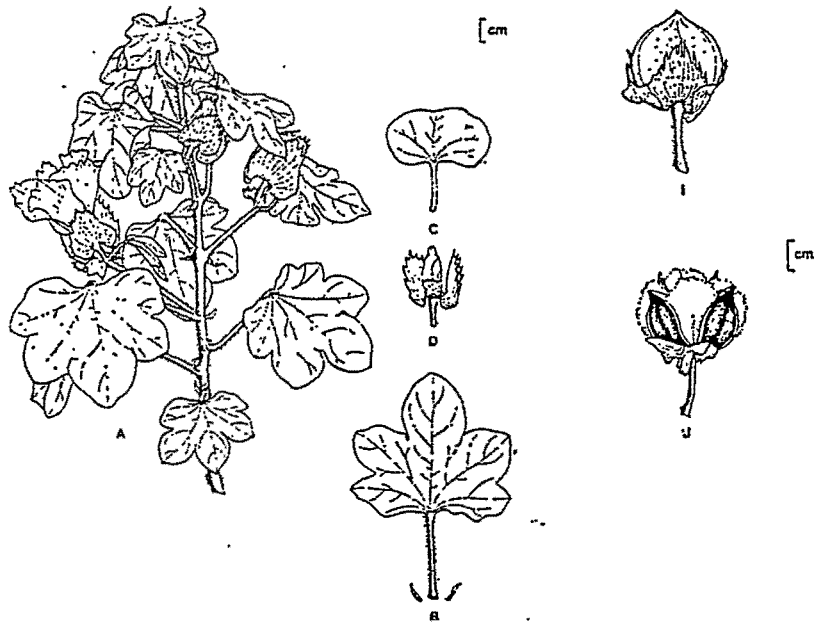


fig.1 : *Gossypium herbaceum* L. A: plante. B: feuille. C: cotylédon. D: bouton floral. I: capsule verte. J: capsule mûre

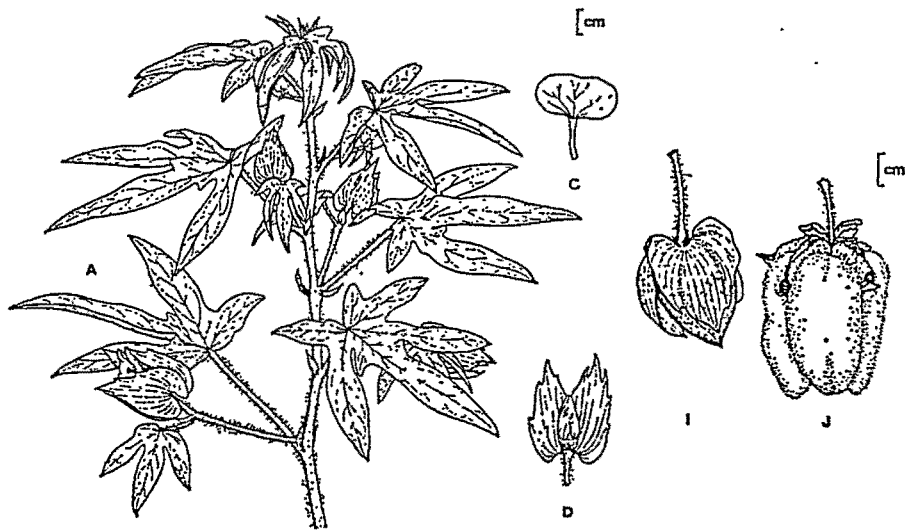


fig.2 : *Gossypium arboreum* L. A: plante. C: cotylédon. D: bouton floral. I: capsule verte. J: capsule mûre.

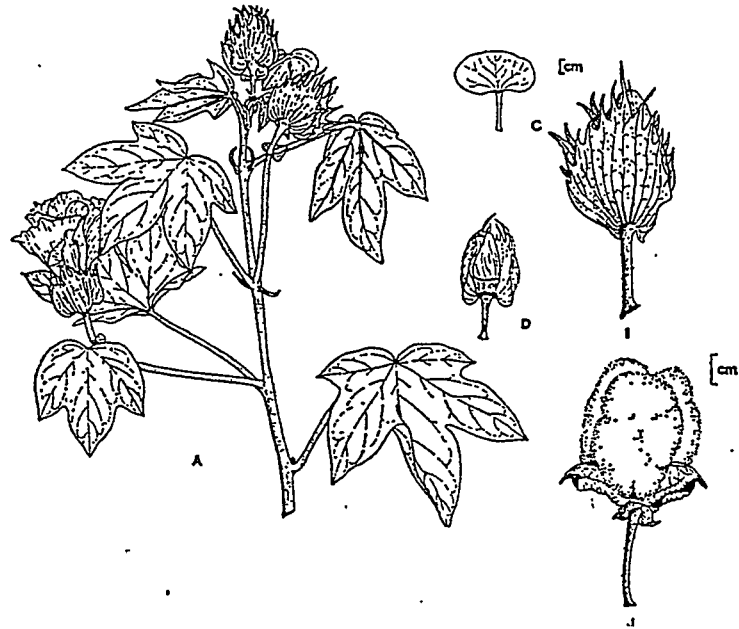


fig.3 : *Gossypium barbadense* L.  
 A: plante. C: cotylédon. D: bouton floral. E: capsule verte. J: capsule mûre.



fig.4 : *Gossypium hirsutum* L.  
 A: plante. C: cotylédon. D: bouton floral. E: capsule verte. J: capsule mûre.



Le cotonnier renferme deux sortes de glandes (fig.5)

- Des glandes externes qui secrètent un liquide sucré

- Des glandes internes, densément distribuées dans le plant entier. Ces glandes contiennent le gossypol et d'autres pigments colorés tels que le diaminogossypol (jaune), le gossypurpurine (pourpre), la gossyfluvine (orange), la gossycaeruleine (bleu), la gossyverdurine (vert) .

Les branches végétatives se trouvent habituellement près de la base de la plante, et les branches fructifères se situent plus en hauteur sur la tige ; leur floraison indéterminée fait que l'on peut voir à la fois sur un même plant des boutons floraux, des fleurs et des capsules (fruits) à divers degrés de maturation (fig.7 et 8).

Le fruit des cotonniers cultivés est une capsule de forme variable, ovoïde, allongée ou sphérique, de couleur verte plus ou moins tachée de rouge . Il est constitué de graines sur lesquelles croissent les fibres . Une capsule peut contenir 8 à 45 graines assez volumineuses. Le produit de la récolte est le "coton graine".

Après l'opération industrielle d'égrenage qui consiste à séparer la fibre textile, la graine est constituée de 3 parties distinctes :

- Le duvet ou linter ( 5 à 15% du poids de la graine)
- La coque ou tégument ( 40% du poids de la graine)
- L'amande ( 50 à 55% du poids de la graine) (fig.10)

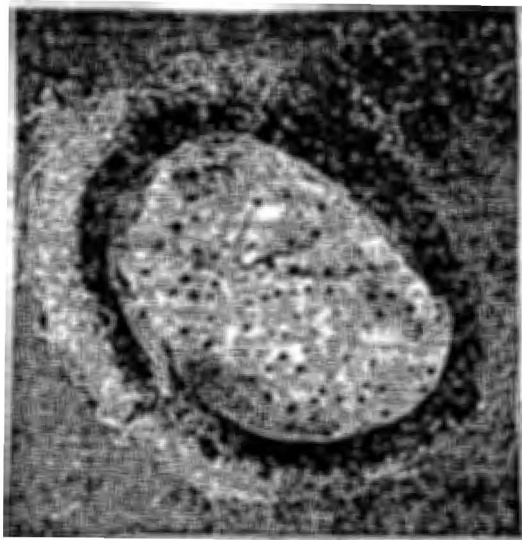


fig.5 : Glandes à gossypol dans l'amande des graines.

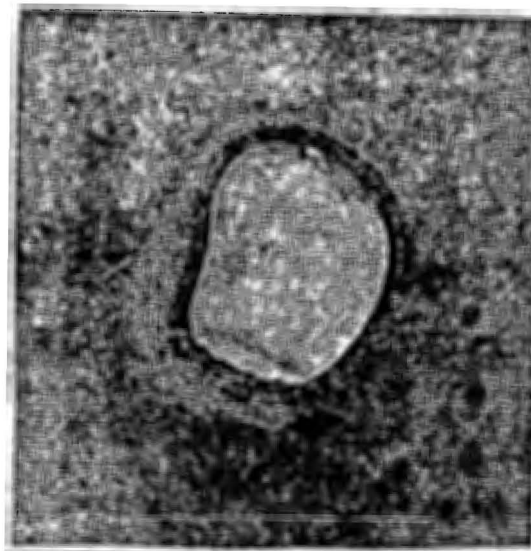


fig.6 : Variété sans gossypol : Amande sans glande.

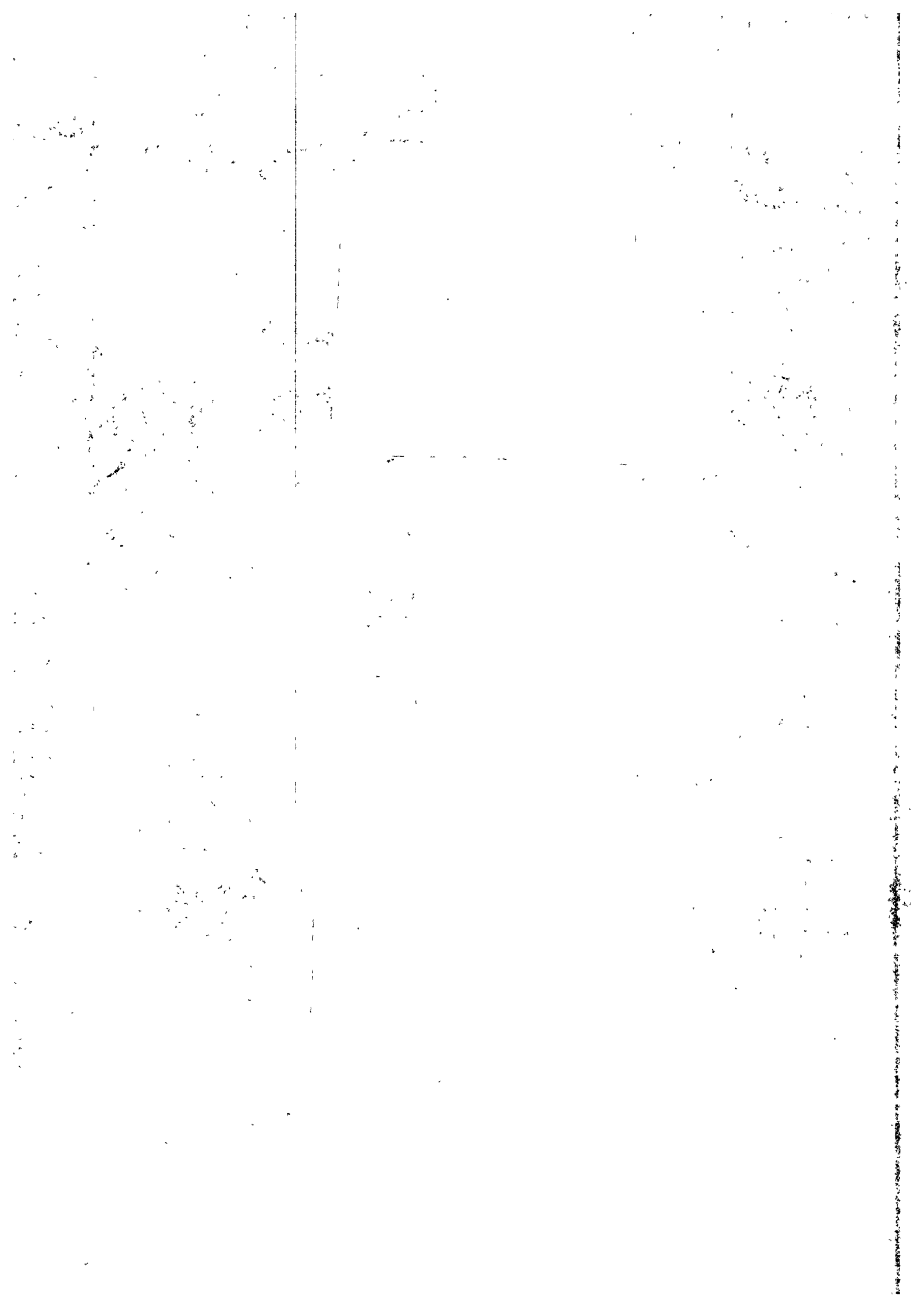




fig.7 : Jeune capsule de la variété Acala, *G. hirsutum*.L.

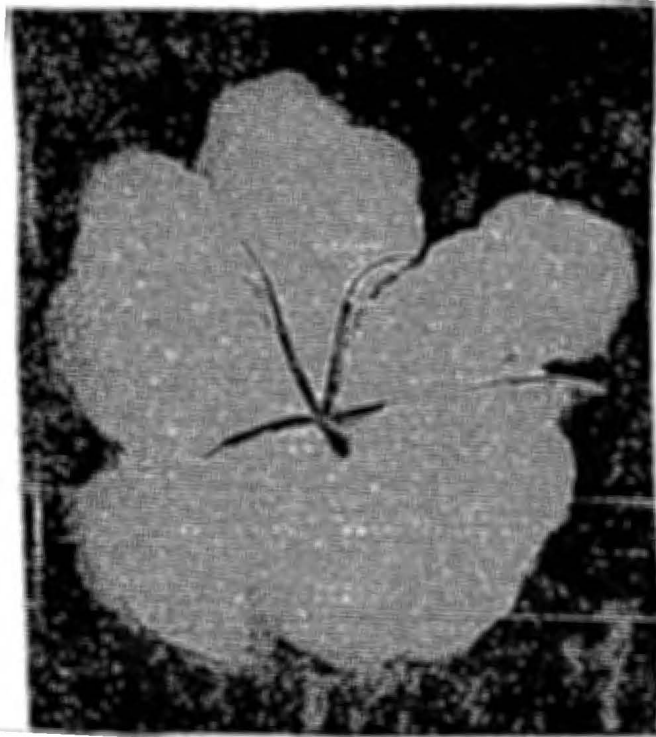


fig.8 : Capsule mûre d'Acala.

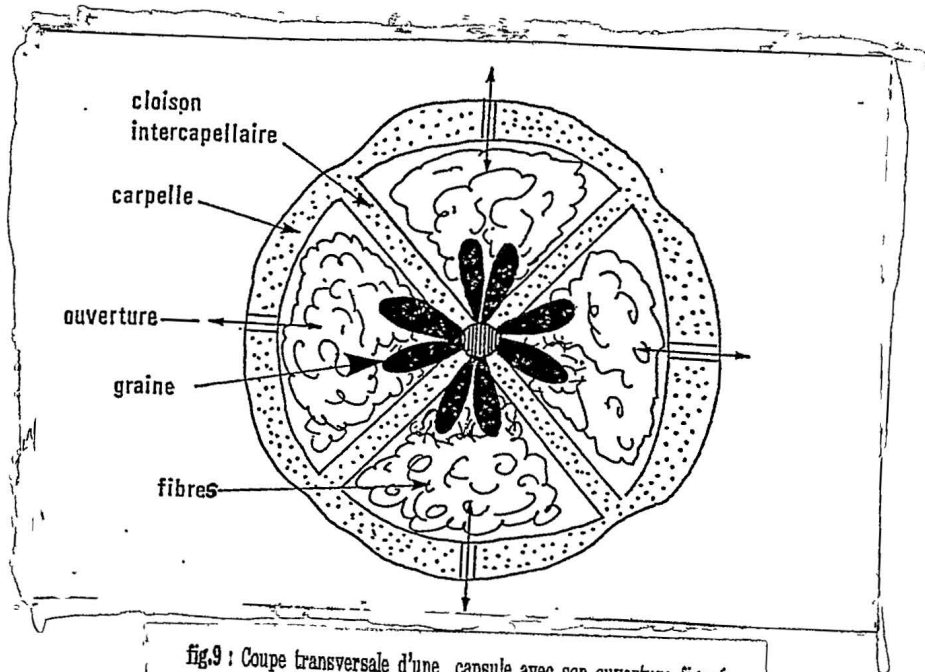
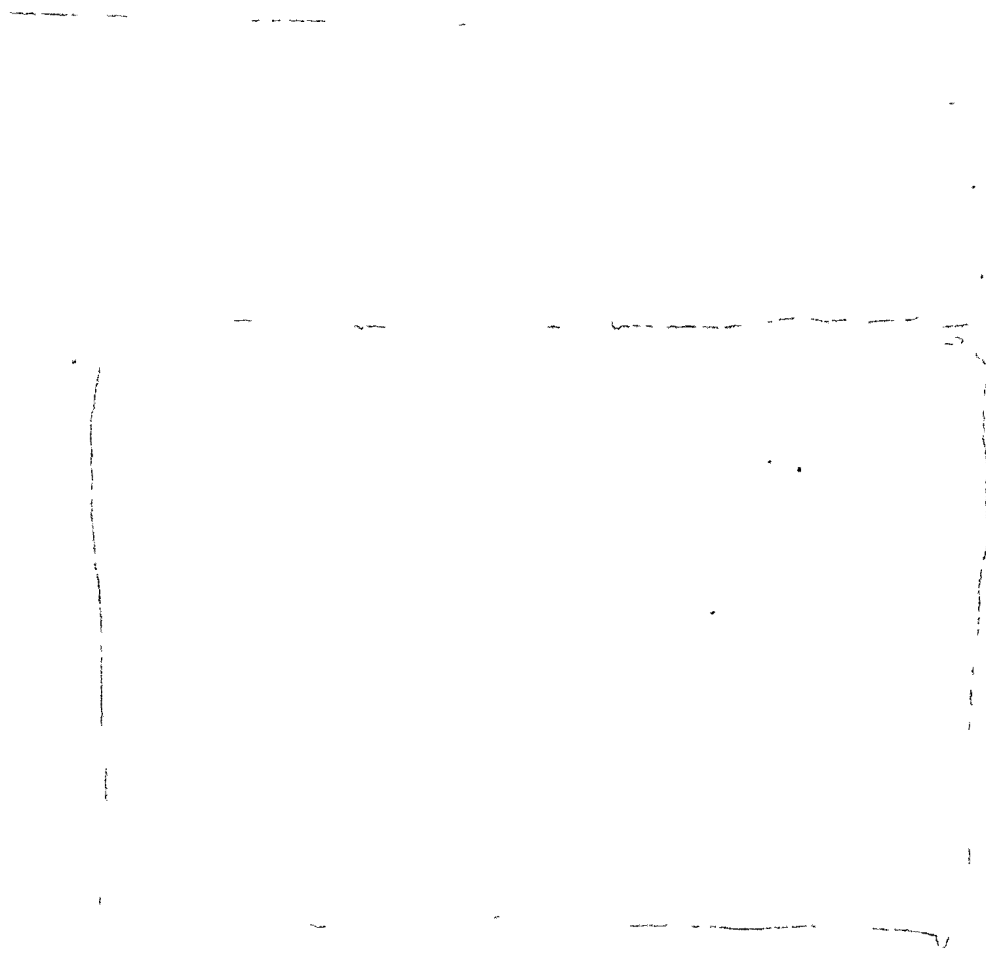


fig.9 : Coupe transversale d'une capsule avec son ouverture figurée.



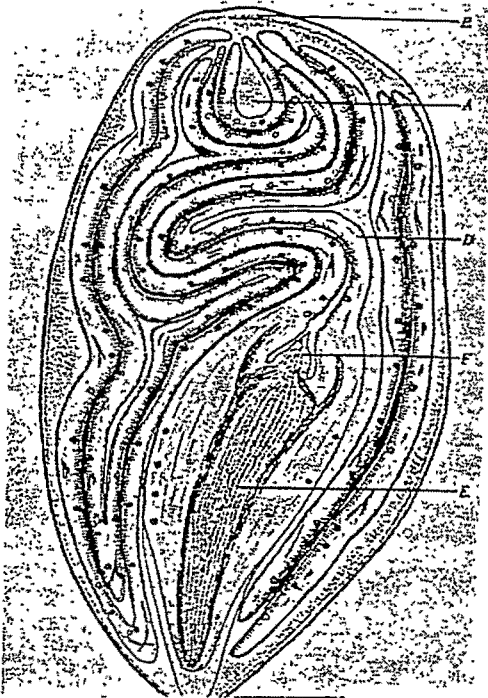


fig.10 : Section longitudinale d'une amande mûre de coton. A: endosperme. B: nucelle. D: cotylédon. E, F: Embryon (d'après BAILLY).

## 2.2 Une nouvelle ressource alimentaire

La graine des cotonniers a été longtemps considérée comme sous-produit du coton - fibre intervenant dans la fabrication textile ; actuellement, elle pourrait pourtant constituer une nouvelle source alimentaire du fait des protéines et des lipides qu'elle contient.

Le cotonnier constitue la cinquième plante oléagineuse du monde, après le soja, le palme, le tournesol et le colza, avec plus de trois millions de tonnes d'huile alimentaire produite annuellement, et la deuxième ressource mondiale de protéines végétales, après le soja, avec plus de onze millions de tonnes de tourteaux, utilisés essentiellement pour l'alimentation des bovins .

Avec ces onze millions de tonnes de tourteaux, on pourrait produire cinq millions de tonnes de protéines, de quoi satisfaire l'équivalent des besoins protéiques de 200 millions d'êtres humains sur la base d'une ration quotidienne de 65 grammes .

On imagine l'intérêt que présenterait l'utilisation alimentaire de ces protéines dans certains pays, précisément producteurs de coton, et qui souffrent de malnutrition. Jusqu'à présent, cette utilisation pour l'Homme était difficilement envisageable à cause de la présence du gossypol. Cependant, une nouvelle perspective est actuellement offerte avec les variétés "glandless", très performantes, disponibles dans plusieurs pays africains.

### 2.3 La farine de coton dans l'alimentation

L'absence de gossypol dans les amandes glandless autorise en effet leur consommation directe ou sous forme de farines issues d'amandes délipidées :

- Les farines de coton peuvent être mélangées à des céréales pour préparer des pains de régime de hautes qualités nutritives et des biscuits : Le laboratoire de Mr. Bourely, à l'IRCT de Montpellier, fabrique par exemple des biscuits en remplaçant 50% de la farine de blé par de la farine de coton sans gossypol :

## COMPOSITION DES BISCUITS

Biscuit témoin	Biscuit coton
Farine de blé : 250 g	Farine de coton : 125 g
Sucre : 125 g	Farine de blé : 125 g
Beurre : 125 g	Sucre : 125 g
Oeufs : 3	Beurre : 125 g
Levure et sel	Oeufs : 4
	levure et sel
	(Essai IRCT)

Ces gâteaux sont aussi bien appréciés que ceux qui ne contiennent pas de farine de coton bien que les deux préparations aient des saveurs différentes. Ce même laboratoire a pu également obtenir des biscuits relativement bien expansés et croustillants contenant 18,34% de farine de coton grâce à l'application du procédé de cuisson-extrusion effectué au laboratoire de technologie alimentaire de l'USTL de Montpellier :

## FABRICATION DE BISCUITS PAR CUISSON EXTRUSION

Composition

Farine de coton.....	18,34 %
Farine de blé.....	35,03 %
Amidon de maïs.....	15,59 %
Noix de coco rapé.....	3,67 %
Sucre.....	18,34 %
Sel.....	0,73 %
Humidité.....	8,3 %



Fiche technique

Temp. du 3ème fourneau.....180 °C  
 Temp. aliment (sortie).....166 °C  
 Eau rajoutée.....1,9 %  
 Débit au niveau de  
 l'alimentation.....39 Kg/h  
 Vitesse de rotation.....150 tr/mn

(Laboratoire de Biochimie et de Technologie Alimentaire du  
 professeur Cheftel, USTL Montpellier)

- Les farines de coton peuvent, par ailleurs, être facilement incorporées dans la cuisine africaine : Dans une étude réalisée en milieu rural au Mali en 1973, LAURE, nutritionniste de l'ORSTOM, montre l'utilisation de la farine de coton pour la préparation de plats traditionnels (voir annexe) . Des expériences comparables ont été menées au Tchad en 1974 par CORNU, DELPEUCH et FAVIER :

Boules de sorgho ou mil :

1 volume de farine de coton  
 2 volumes de mil ou sorgho

Boullie de mil :

3 volumes de farine de coton  
 1 volume de mil

Beignets de blé ou mil :

1 volume de farine de coton  
 1 volume de blé ou de mi

Lotorios de blé :

1 volume de farine de coton  
 2 volumes de blé

Sauces :

Sans limitation

Enfin, compte tenu de leur richesse en protéines, les farines de coton peuvent compléter tous les régimes alimentaires nécessitant de hautes teneurs en protéines, notamment les aliments de sevrage . Ainsi, le service de pédiatrie de l'hôpital Le Dantec à Dakar ( Sénégal ) met au point, en 1967, un aliment de sevrage dont la composition est donnée dans le tableau suivant :

Farine de mil.....	450 g
Farine de coton.....	250 g
Lait demi écrémé en poudre.....	100 g
Sucre.....	200 g

Ce même hôpital montre l'efficacité de l'incorporation de la farine de coton glandless dans deux mélanges correspondant aux mélanges A et B du tableau suivant pour le traitement du Kwashiorkor.

FORMULE A

Farine de coton.....	140 g
Sucre.....	100 g
Lait reconstitué.....	1 litre

FORMULE B

Farine de coton.....	140 g
Sucre.....	100 g
Lait reconstitué.....	0,75 litre
Eau.....	0,25 litre

Les enfants étaient encore porteurs d'oedèmes au début du traitement, on constate leur fonte en 4 à 8 jours d'alimentation avec ces régimes à base de farine de coton ; ces délais étant les mêmes qu'avec les farines hyperprotéinées utilisées habituellement.

## 2.4 Situation et objectif du travail

Bien qu'elle soit exempte de gossypol, la farine de coton glandless n'est pas encore dépourvue de constituants impropres à la consommation : elle contient en particulier des phytates qui constituent un facteur antinutritionnel à dose élevée, que les équipes du laboratoire de Microbiologie du Pr. Galzy de l'ENSAM (Ecole Nationale supérieure d'Agronomie de Montpellier) se proposent d'éliminer, en collaboration avec le laboratoire de Chimie des Plantes Textiles de l'IRCT (Institut de Recherche du Coton et des Textiles) à Montpellier au sein duquel j'ai effectué mon stage.

Dans cette optique, nous avons essayé de mettre au point, dans un premier temps, des méthodes de dosage des phytates contenus dans la farine de coton à partir de travail bibliographique reprenant les méthodes qui ont été utilisées par les différents auteurs.

Puis, nous nous sommes servis de ces méthodes pour étudier la solubilité des phytates à différents pH, afin d'évaluer quel pourrait être leur état tout au long du tube digestif, lors de leur absorption par l'organisme, ou pour une éventuelle élimination lors de la préparation d'isolats ou de concentrats protéiques.

Nous avons également dosé les autres constituants de la farine de coton (sucres, protéines, minéraux) extraits à ces différents pH pour voir lesquels interfèrent éventuellement sur le dosage des phytates en réagissant avec ces phytates ou avec le réactif de dosage.

Enfin, nous avons amorcé l'étude du dosage des phytates par HPLC, méthode d'analyse beaucoup plus perfectionnée et performante de par son excellente reproductibilité, sa rapidité et sa spécificité.

### III) Les phytates

#### 3.1 Généralités

Les phytates constituent une forme de réserve de Phosphore, d'Inositol et de cations .

Les phytates de la graine du cotonnier sont répartis dans l'amande, au niveau des grains d'aleurone (fig.11). Ceux-ci sont concentrés dans des substructures (cristalloïdes ou globoïdes) à l'intérieur de protéines membranaires SAIO et al. (1977) ; LUI et ALTSCHUL (1967) rapportent que ces globoïdes de grains d'aleurone (fig.11) contiennent 60% d'acide phytique, et 10% de métaux.

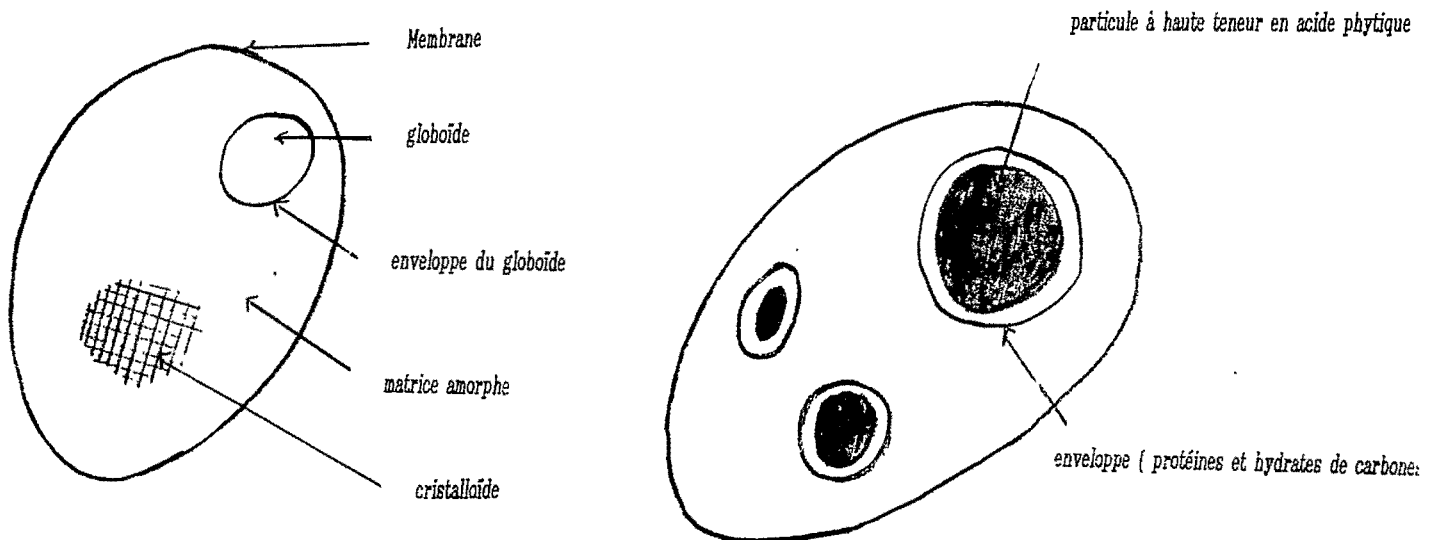


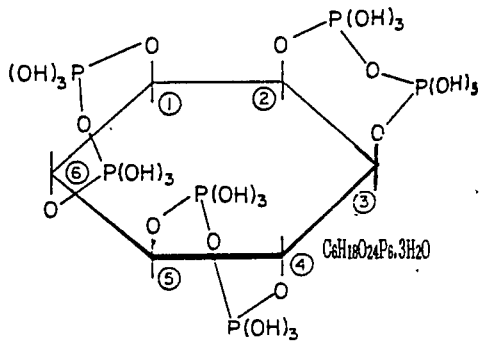
fig.11 : Schéma d'un corps protéique. (REDDY et al.)

fig.12 : Schéma d'un grain d'aleurone avec des inclusions (riz). (REDDY et al.)

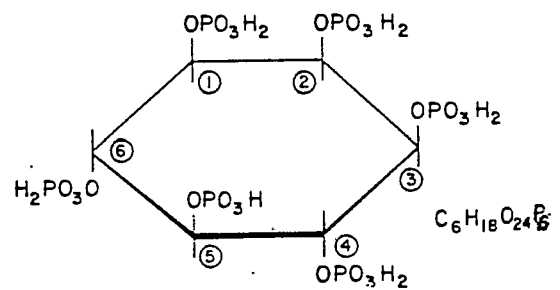
Le contenu en acide phytique des graines oléagineuses varie de 2 à 5,20% ; cette proportion dépend des variétés de plantes, des conditions climatiques et de l'endroit où la plante est cultivée : REDDY et al. (1982). Plus particulièrement, la farine de coton contient 4,42% à 4,43% de phytates selon BESANCON et al, 1985, et 4,4% selon HAN, 1988.

### 3.2 Structure

De nombreux auteurs ont proposé une structure pour l'acide phytique mais celles qui sont généralement admises sont celles de NEUBERG (1908) et d'ANDERSON (1914) :

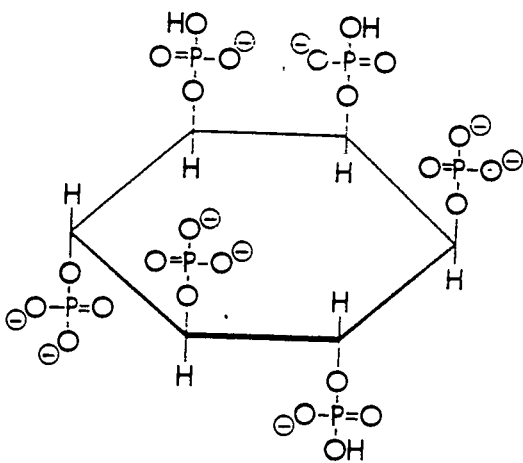


NEUBERG

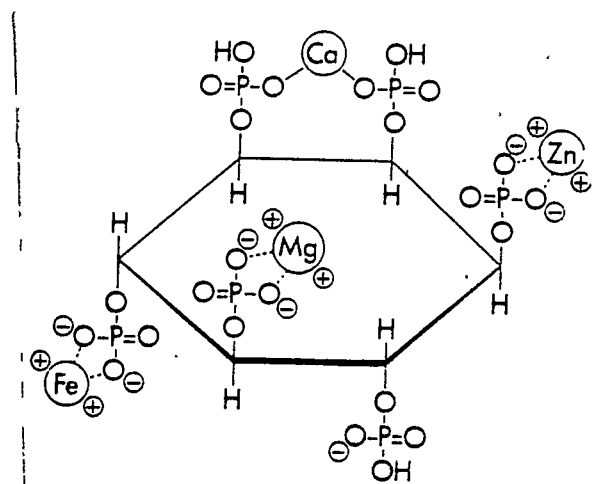


ANDERSON

Plus récemment, ERDMAN (1979) propose les structures de l'acide phytique et de l'acide phytique chélaté à pH neutre basées sur celle d'Anderson :



ACIDE PHYTIQUE



ACIDE PHYTIQUE CHELATE

### 3.3 Actions sur le plan nutritionnel

Plusieurs études effectuées sur des animaux ont conduit à la conclusion que l'acide phytique et ses dérivés peuvent lier les minéraux essentiels de l'alimentation tels que le calcium, le fer, le zinc, le magnésium, les rendant ainsi partiellement disponibles voire même indisponibles lors de l'absorption intestinale. Ce problème devient d'autant plus important quand on est en présence de deux cations pouvant produire un effet synergique croissant dans la précipitation du sel de phytate ; ceci est démontré pour le zinc et le calcium sur le porc et le rat par OBERLEAS et ses collaborateurs en 1962 et 1966 : de fortes quantités de calcium liées aux phytates diminuent la biodisponibilité du zinc. Des interactions similaires ont été également trouvées avec le zinc et le cuivre ; KLEVAY et DAVIES (1973). ERDMAN (1979) rapporte que le plus grand impact des phytates sur la nutrition humaine est de réduire la biodisponibilité du zinc. Cependant, il faut remarquer que le phytate n'est pas le seul composé responsable de la réduction de l'absorption des minéraux ; d'autres composants sont également impliqués, c'est le cas notamment des fibres alimentaires GORDON et al.(1984).

Le mécanisme par lequel les phytates affectent la nutrition minérale n'est pas encore clairement défini. La plupart des recherches suggèrent la formation d'un complexe phytate-métal, pH dépendant et insoluble dans le milieu du tractus intestinal, empêchant ainsi l'absorption du métal. RAKIS et ANDERSON (1977) rapportent que cette réduction de la disponibilité des minéraux par les phytates dépend également de plusieurs autres facteurs tels que :

- La capacité de transporteurs endogènes, situés dans la muqueuse intestinale, à absorber les minéraux liés au phytate ou à d'autres substances.

- La concentration en acide phytique et en minéraux des aliments.

- La digestion ou l'hydrolyse des phytates par la phytase, enzyme présente dans l'intestin , capable de libérer du phosphore inorganique à partir de composés tels que les phytates, contenant du phosphore .

D'après ces observations, on pourrait essayer d'en déduire les effets négatifs des phytates :

- Leur complexation avec le calcium leur confère un rôle décalcifiant susceptible, à l'extrême, d'empêcher la calcification osseuse s'effectuant sous forme de cristaux d'hydroxyapatite dont le rapport fixe est donc perturbé par le piégeage du calcium par les phytates.

- La diminution de la biodisponibilité du zinc, qui, si elle est trop importante, pourrait entraîner une carence en zinc et donc un retard de croissance.

- La complexation du phytate avec le fer empêche l'absorption de celui-ci par la muqueuse intestinale, donc, sa liaison avec ses transporteurs (transferine ou ferritine) l'empêchant ainsi d'accomplir ses différentes fonctions, constituant de l'hémoglobine ; fer fonctionnel, sous forme de myoglobine ou d'enzyme telles que les catalases ; réserve sous forme de ferritine ou d'hémosidérine.

Par ailleurs, le phytate peut aussi former un complexe avec les protéines diminuant ainsi leur solubilité et leurs propriétés fonctionnelles ; Le calcium réagit avec le complexe protéine - phytate pour diminuer encore plus leur solubilité ; BOURDILLON (1951) ; WOLF et BRIGGS (1959) et SAIO et al. (1967). La complexation des phytates avec les protéines rend également ces dernières moins sujettes aux dégradations protéolytiques ; BARRE (1956).

Les phytates pourraient ainsi inhiber l'action de certaines protéases digestives ; CAMUS et LAPORTE (1976) ; SINGH et KRIKORIAN (1982), et notamment celle de l'amylase ; YOON et al. (1983) ; THOMPSON et YOON (1984).

Malgré tout ceci, quelques effets positifs des phytates ont quand même été mis en évidence, sans certitude qu'ils en soient les seuls responsables :

- Ils auraient une propriété de protection contre les maladies cardiovasculaires telles que l'infarctus du myocarde et l'athérosclérose : Le dépôt de cholestérol sur les parois artérielles entraîne la formation d'athérome, base pathologique de ces maladies. L'acide phytique provoque une diminution du taux de cholestérol du sérum sanguin ; SHARMA (1980).

- Ils préviennent la formation des cristaux d'hydroxyapatite dans les urines et protègent ainsi l'organisme contre la formation de calculs rénaux ; WISE et al. (1961) ; KAUFMAN (1986).



- Ils protègent contre le cancer du colon grâce à leur grande affinité pour le fer : Le fer libre catalyse la transformation des cellules épithéliales du colon et du rectum en cellules néoplasiques, en favorisant la génération de radicaux oxygène libres par des réactions d'oxydation. Ce sont ces radicaux qui vont causer la peroxydation des lipides et l'activation de procarcinogènes ainsi que la destruction des membranes biologiques et des composants intracellulaires ; GRAF et al. (1984, 1985).

- En se liant au calcium des dents, ils forment un émail résistant pouvant être utilisé dans la protection contre la carie dentaire ; Mc.CLURE (1963) ; ISBRANDT et al. (1980).

## IV Matériel et méthodes

### 4.1 Introduction

L'estimation des phytates dans tous les matériaux nécessite une extraction initiale. L'acide chlorhydrique et l'acide trichloroacétique sont les produits les plus utilisés à cet effet.

Il n'y a pas de réactifs qui identifient spécifiquement les phytates ; leur détermination dépend, soit de l'estimation de leurs constituants (inositol ou phosphates), soit de l'établissement d'une relation stoechiométrique entre le phytate et certains ions qui lui sont liés et qui peuvent être mesurés facilement .

La méthode la plus utilisée pour déterminer l'acide phytique est basée sur le principe que le phytate forme un complexe insoluble et stable avec le fer ferrique dans une solution acide diluée et qu'il est présumé être le seul composé phosphaté ayant cette propriété ; le phosphore inorganique du phytate n'est pas précipité dans ces conditions et l'on pense également que celui des autres composés reste toujours sous forme soluble .

Cette méthode de précipitation est divisée en deux catégories :

- La méthode directe dans laquelle le précipité stable et insoluble d'inositol-hexaphosphate ferrique est récupéré, et on détermine son contenu en phosphore ou en inositol .

- La méthode indirecte dans laquelle une quantité standard connue de chlorure ferrique est additionnée à l'extrait, et la concentration en fer ferrique qui n'a pas précipité est mesurée par une méthode colorimétrique standardisée appropriée. Cette méthode est plus pratique et reproductible que la précédente. Cependant, la présence d'agents réducteurs tels que l'acide ascorbique ou l'acide chlorhydrique dans le milieu, transformant le fer ferrique en fer ferreux pourrait entraîner des valeurs plus fortes pour l'estimation du contenu en phytates.

A l'issue de l'inventaire de ces méthodes décrites dans la bibliographie, après modification et adaptation au dosage de la farine de coton, nous avons mis au point deux protocoles expérimentaux .

La farine utilisée pour tous nos dosages est issue de graines provenant de culture de cotonniers "glandless" en Côte d'Ivoire : Les graines sont décortiquées par l'usine TRITURAF de Bouake (Côte d'Ivoire) et les amandes, acheminées au GERDOC, à Pessac (France) où elles subissent les traitements industriels pour fournir une farine alimentaire (voir annexe).

#### 4.2 Dosage des phytates par la méthode de HOLT (1955)

Le principe de la méthode repose sur la précipitation de complexes phytate ferrique et ferro cyanate :



Le complexe  $\text{Fe} (\text{SCN})_3$  a une couleur orangée caractéristique ayant une absorption spectrophotométrique maximale à 460 nm (fig.13).

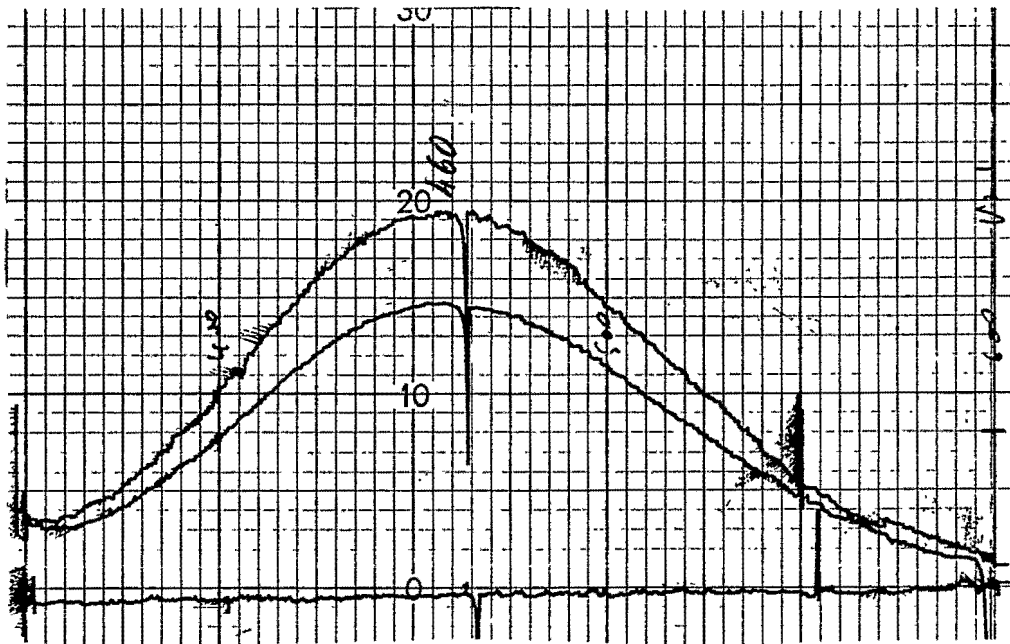


fig.13 : Spectre d'absorption maximale du reactif de HOLT.

Comme il existe une compétition entre la formation des deux complexes, la concentration en phytates d'une solution donnée est inversement proportionnelle à la couleur, mesurée par la densité optique.

#### 4.2.1 Réactifs

- Solution standard d'acide phytique à 40% .
- Solution mère de fer, obtenue en dissolvant 1g de fer pur dans 25 ml d'acide nitrique concentré, complétée à 1 litre avec de l'eau distillée .
- Solution diluée de fer, obtenue en diluant 1 volume de solution stock de fer dans 25 volumes d'eau distillée .

- Solution d'acide nitrique 0,5 N, obtenue en diluant 18,11 ml d'acide nitrique concentré dans 500 ml d'eau distillée.

- Solution de thiocyanate d'ammonium à 1% .

#### 4.2.2 Procédé

##### 4.2.2.1 Etablissement de la courbe étalon (fig.14)

- Mettre dans des tubes à essais des solutions standards contenant de 256 $\mu$ g à 512 $\mu$ g d'acide phytique (allant de 0,5 ml à 1 ml ) .

- Additionner suffisamment d'acide nitrique 0,5N pour obtenir un volume final de 10 ml .

- Additionner alors : 9 ml d'eau distillée  
5 ml de solution diluée de fer

- Mélanger et mettre les tubes dans un bain-marie d'eau bouillante pendant 30 secondes .

- Refroidir immédiatement à  $20^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  .

- Additionner 1ml de thiocyanate d'ammonium à 1% .

- Mélanger et lire la densité optique à 460 nm .

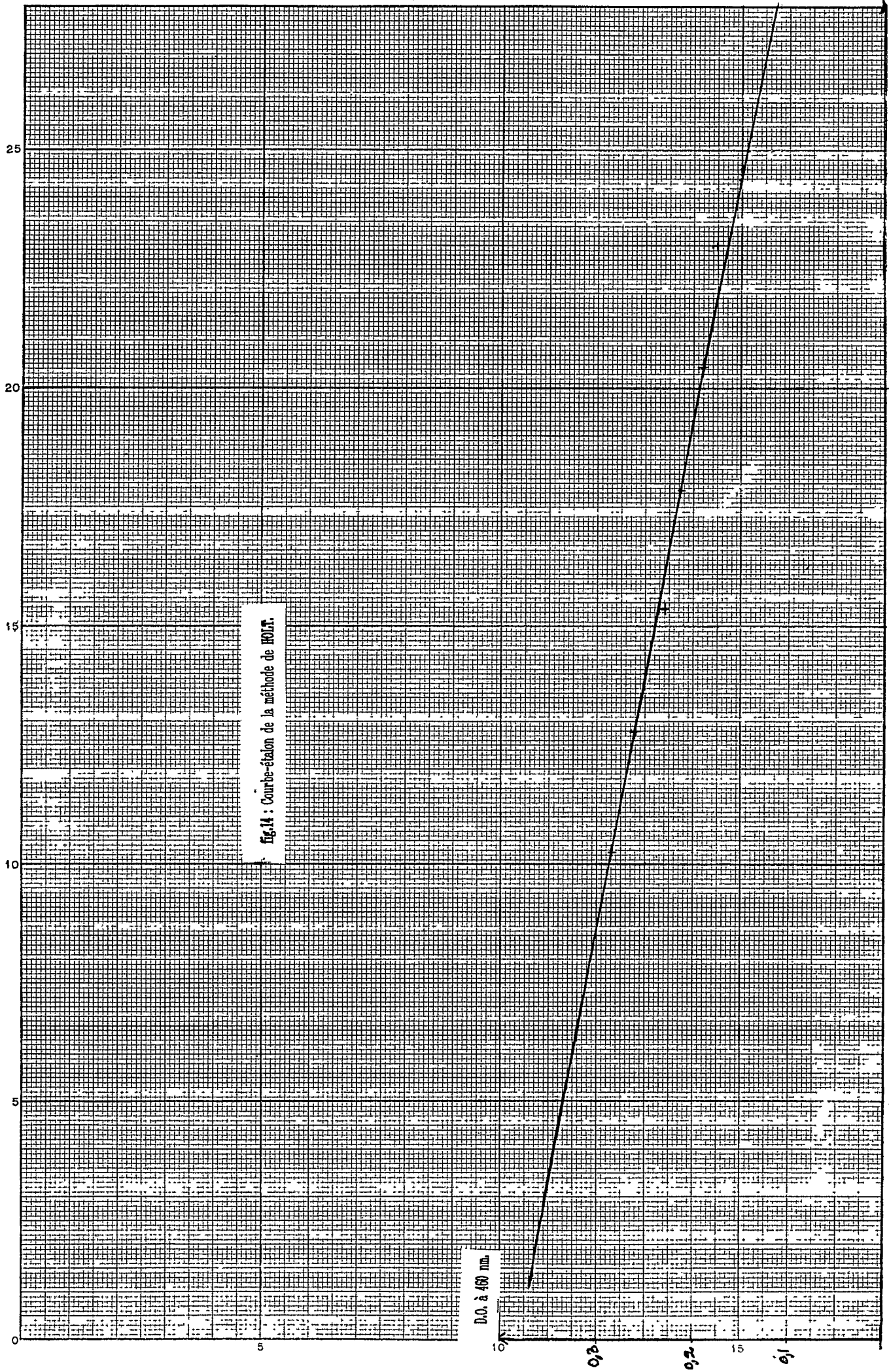


fig.14 : Courbe-étalon de la méthode de ROUJ.

D.O. à 460 nm.

0 5 10 15

#### 4.2.2.2 Dosage des phytates de l'échantillon

- Peser 5g de farine de coton .
- Mélanger avec 50 ml d'acide nitrique 0,5N .
- Agiter pendant 1 heure .
- Centrifuger le tout pendant 10 mn .
- Recueillir le surnageant , et le compléter à 200 ml avec de l'eau distillée .
- Diluer cet extrait 4 ou 5 fois .
- Prendre 2 ml d'extrait dilué dans un tube à essais .
- Additionner : 9,5 ml d'acide nitrique 0,5N  
7,5 ml d'eau distillée  
5ml de solution diluée de fer
- Mélanger et mettre le tout dans un bain-marie d'eau bouillante pendant 30 secondes .
- Refroidir à  $20^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$  .
- Additionner 1ml de thiocyanate d'ammonium à 1% .
- Lire la densité optique de la solution à 460 nm .
- Reporter la valeur trouvée à la courbe étalon pour en déduire la quantité de phytates contenue dans l'échantillon .

### 4.3 Dosage des phytates basé sur la méthode de LATA et ESKIN (1980)

#### 4.3.1 Introduction

La méthode standard de précipitation de complexes phytate-ferrique ne permet pas de déceler des concentrations en phytates inférieures à 0,1% . Afin d'améliorer la sensibilité des mesures, les auteurs publient des méthodes introduisant l'utilisation d'une colonne de séparation échangeuse d'ions, suivie par une hydrolyse acide libérant du phosphore inorganique qui pourra être mesuré spectrophotométriquement .

Entrant dans cette catégorie, la méthode de LATA et ESKIN est basée sur la dissociation du complexe sulfosalicylate- $Fe^{+++}$  (réactif de WADE) par les phytates après purification de l'extrait et séparation du phosphate inorganique par chromatographie échangeuse d'ions .

#### 4.3.2 Réactifs.

##### 4.3.2.1 HCl 2,4%

On prélève 54,5 ml d'une solution-mère de HCL concentrée à 37 % et de densité 1,19 que l'on complète à un litre avec de l'eau distillée.



#### 4.3.2.2 Réactif de WADE

Il est constitué de 0,03% de  $\text{FeCl}_3$ , de 6  $\text{H}_2\text{O}$  et de 0,3% d'acide sulfosalicylique dans de l'eau distillée, et obtenu en effectuant le mélange :

On mélange 0,3g de  $\text{FeCl}_3$  à 3g d'ac. sulfosalicylique. Le tout complété au volume de 1 litre avec de l'eau distillée. La réaction entre le fer ferrique et l'acide sulfosalicylique donne une couleur rose-mauve caractéristique ayant un spectre d'absorption maximum à 500nm (fig.15).

#### 4.3.2.3 NaCl 0,1 M

NaCl 0,7 M

#### 4.3.3 Procédé

##### 4.3.3.1 Etablissement de la courbe étalon (fig.16)

Le protocole utilisé peut se définir ainsi :

- Préparer une série de solutions standards d'acide phytique contenant 5 à 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dans de l'eau distillée .

- Pipeter 3ml de ces solutions dans un cône de centrifugation .

- Additionner 1ml de réactif de WADE dans chaque cône .

- Agiter énergiquement .

- Centrifuger 10 minutes .

- Lire la densité optique à 500nm .

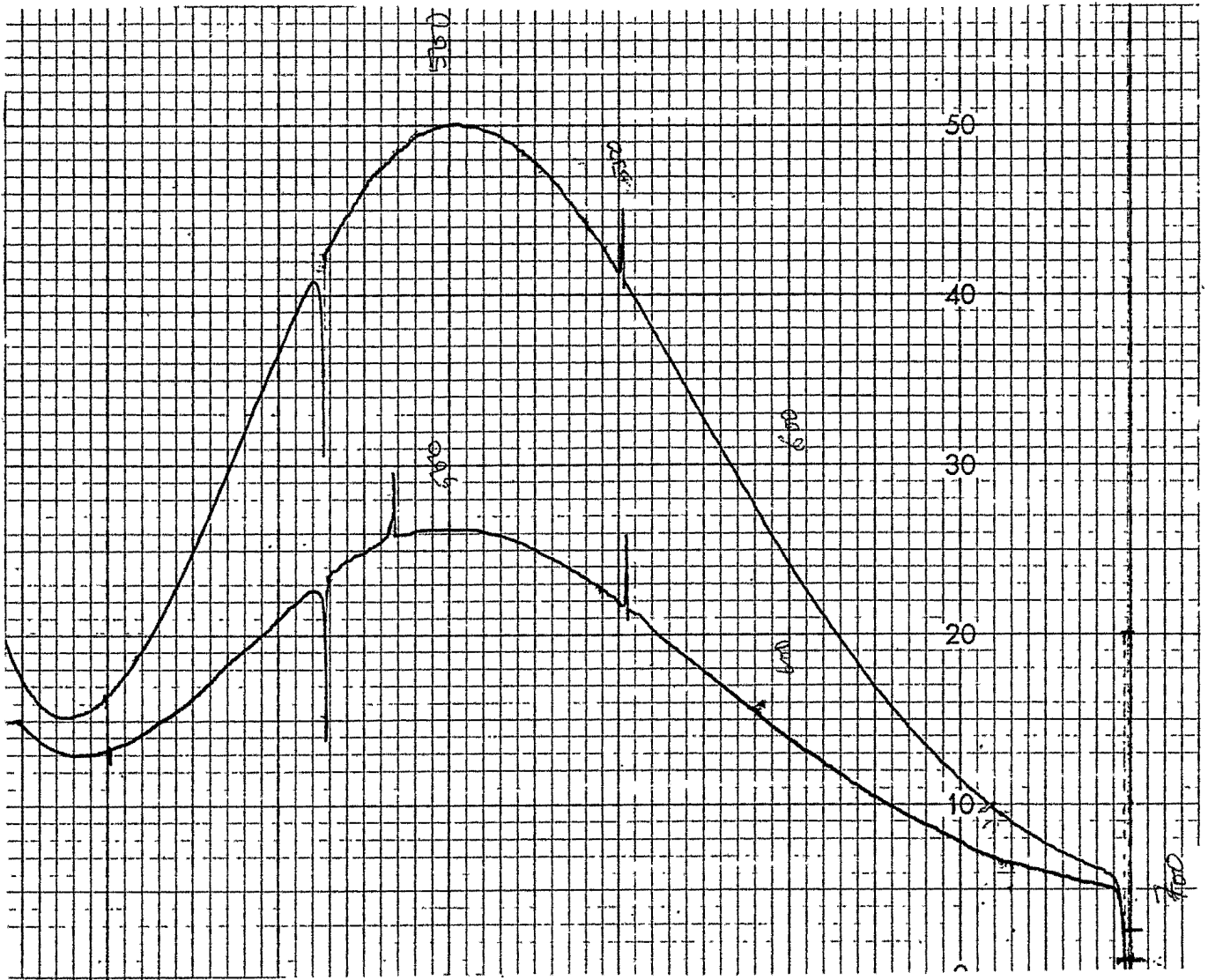


fig.15 : Spectre d'absorption maximal du réactif de WADE.

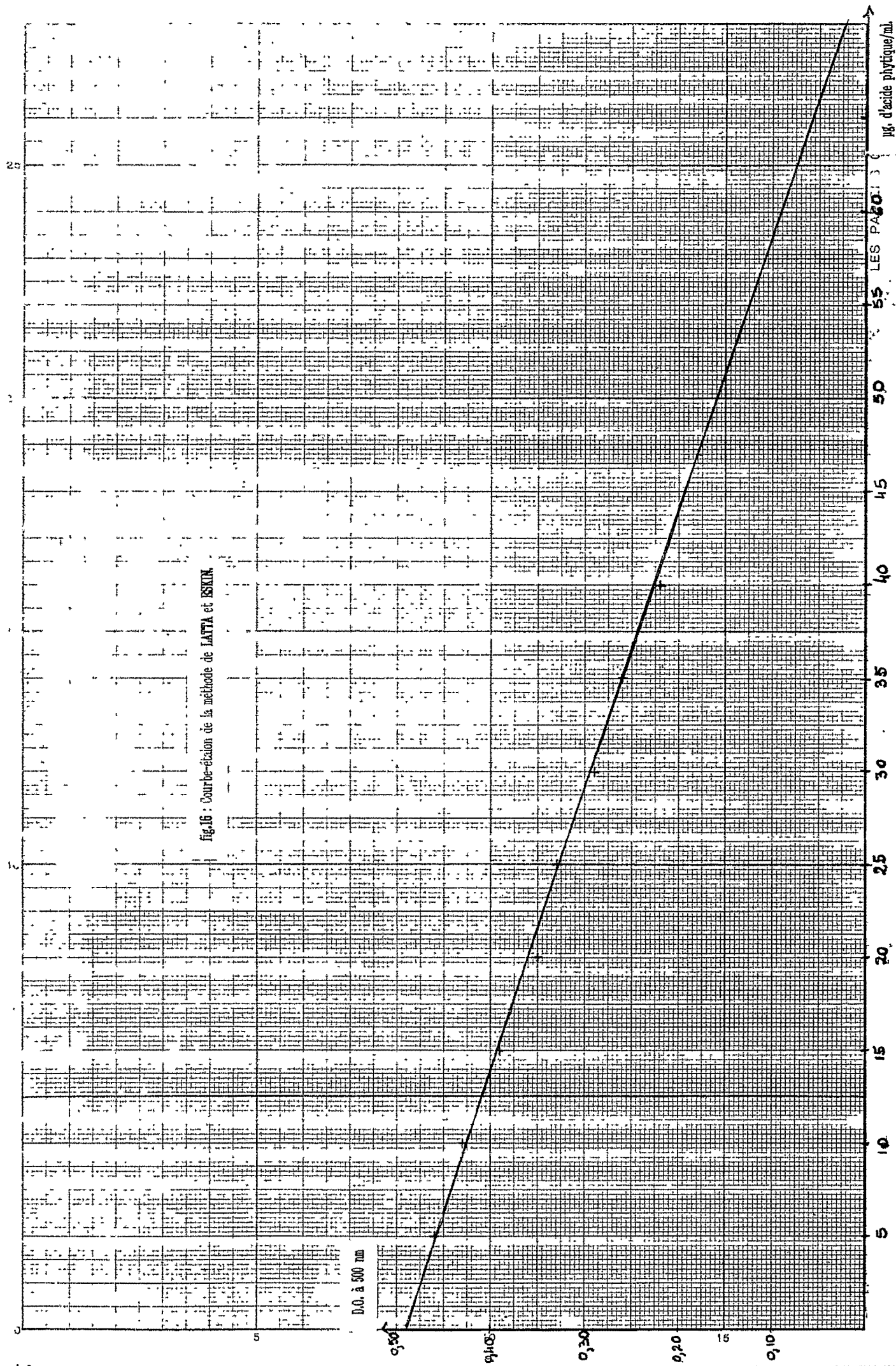


fig.16 - Courbe-étalon de la méthode de LATTA et BSKIN.

#### 4.3.3.2 Dosage des phytates de l'échantillon

- Peser 5g de farine.
- Ajouter 100ml de HCL 2,4%.
- Agiter à température ambiante pendant 1heure.
- Centrifuger 10mn.
- L'extrait acide (le surnageant) est repris et complété à 100ml avec de l'eau distillée.
- Prélever 0,5ml de cet extrait dans une fiole de 25ml et le compléter avec de l'eau distillée. On obtient ainsi l'extrait dilué 50 fois ayant un pH = 2,1.
- Faire passer 10 ml de cet échantillon dilué dans une colonne de résine AG1-X8 échangeuse d'anions.
- Eluer le phosphore inorganique avec 15 ml de NaCl 0,1M.
- Puis éluer les phytates avec 15 ml de NaCl 0,7M.
- Additionner 1ml de réactif de WADE à 3ml de l'extrait contenant les phytates dans un cône de centrifugation.
- Agiter énergiquement.
- Centrifuger 10 mn.
- Lire la densité optique à 500nm.

- Rapporter les valeurs obtenues à la courbe étalon pour en déduire la quantité de phytates.

Après avoir appliqué cette méthode colorimétrique sur de nombreux échantillons, nous avons constaté que l'étape de purification préliminaire par chromatographie échangeuse d'ions n'est pas nécessaire. En effet, l'omission de cette étape réduit considérablement le temps de détermination de la quantité de phytates de l'échantillon étudié, en donnant des résultats comparables à ceux obtenus après une purification, tout en permettant de faibles limites de détection .

Une méthode de dosage colorimétrique récente nous a été communiquée par la station de recherches de nutrition CNRZ, INRA de Jouy en Josas :

#### 4.4 Dosage colorimétrique du phosphore phytique par la méthode de BAGHERI

##### 4.4.1 Principe de la méthode.

L'acide phytique est extrait par l'acide trichloroacétique (T.C.A) et ensuite précipité par le chlorure ferrique. Après minéralisation du précipité, on dose le phosphore dans la solution obtenue. On en déduit la quantité d'acide phytique en se basant sur le fait qu'une molécule d'acide phytique contient 6 molécules de phosphore.

## V) RESULTATS

Voir le détail des calculs en annexe

### 5.1. Dosage des phytates par la méthode de HOLT (1955)

- Moyenne = 4,40 g de phytates pour 100g. de farine.
- Déviation standard = Pour un risque de 1% =  $\pm 0,197$   
Pour un risque de 5% =  $\pm 0,291$

### 5.2. Dosage des phytates par la méthode de LATTA et ESKIN (1980)

- Moyenne = 4,60 g de phytates pour 100 g. de farine.
- Déviation standard = Pour un risque de 1% =  $\pm 0,366$   
Pour un risque de 5% =  $\pm 0,234$

En supprimant l'étape de purification, nous trouvons :

- Moyenne = 4,50 g de phytates pour 100 g. de farine.
- Déviation standard = Pour un risque de 1% =  $\pm 0,195$   
Pour un risque de 5% =  $\pm 0,136$

Comparaison des deux moyennes :

- t calculé = 0,95
- t théorique pour un risque de 5%, avec un degré de liberté égal à 14 est de 2,145

(t = coefficient de STUDENT)

Comme la valeur de  $t$  calculé est inférieure à celle de  $t$  théorique, la différence entre les deux moyennes est non significative ; les deux moyennes sont comparables. Ces résultats prouvent bien que l'étape de purification sur colonne échangeuse d'ions n'améliore en rien la précision de la méthode.

### 5.3. Dosage des phytates par la méthode de BAGHERI

Nous trouvons une quantité de phytates moyenne de 4,6 g de phytate pour 100 g. de farine, ce qui est comparable aux résultats que nous obtenons en utilisant les deux méthodes (HOLT et LATTA ESKIN).

### 5.4. Interprétation des résultats

Les méthodes de dosage de HOLT et de LATTA et ESKIN que nous avons utilisées pour les farines de coton s'avèrent être à la fois simples et reproductibles. La méthode de LATTA et ESKIN modifiée en supprimant l'étape de purification sur colonne échangeuse d'ions présente l'avantage d'être nettement plus rapide et plus sensible à de faibles concentrations en phytates que celle de HOLT. C'est elle qui fournit la déviation standard la plus faible.

Toutefois, ces deux méthodes simples ne peuvent être utilisées que pour une estimation globale, et non pour une quantification précise des phytates. En effet, les phytates peuvent exister sous formes libre ou liée à d'autres constituants de l'extrait. Par conséquent, la proportion en fer ferrique du milieu, que l'on dose colorimétriquement, peut varier. En outre, l'extrait peut contenir des agents réducteurs qui réduisent le fer ferrique en fer ferreux, ce qui surévalue légèrement les résultats. Ceci pourrait être le cas avec la méthode de LATTA et ESKIN, à cause de l'utilisation de l'acide chlorhydrique.

La méthode de BAGHERI semble beaucoup plus fiable puisqu'elle évalue directement la quantité de phosphore à partir de laquelle on déduit la teneur en acide phytique du milieu; à condition toutefois que l'extrait ne contienne pas beaucoup de phosphore inorganique non lié à l'acide phytique. Par ailleurs, il faudrait aussi tenir compte, pour cette méthode, du fait que la précipitation des phytates par le fer ferrique peut ne pas être complète à cause de l'affinité des phytates à former également des complexes avec les autres cations bi-ou trivalents du milieu.



### 5.5 Etude de la solubilité des phytates à différents pH .

Nous avons utilisé les méthodes de HOLT et de LATTA et ESKIN pour obtenir l'ensemble des résultats que nous présentons ici :

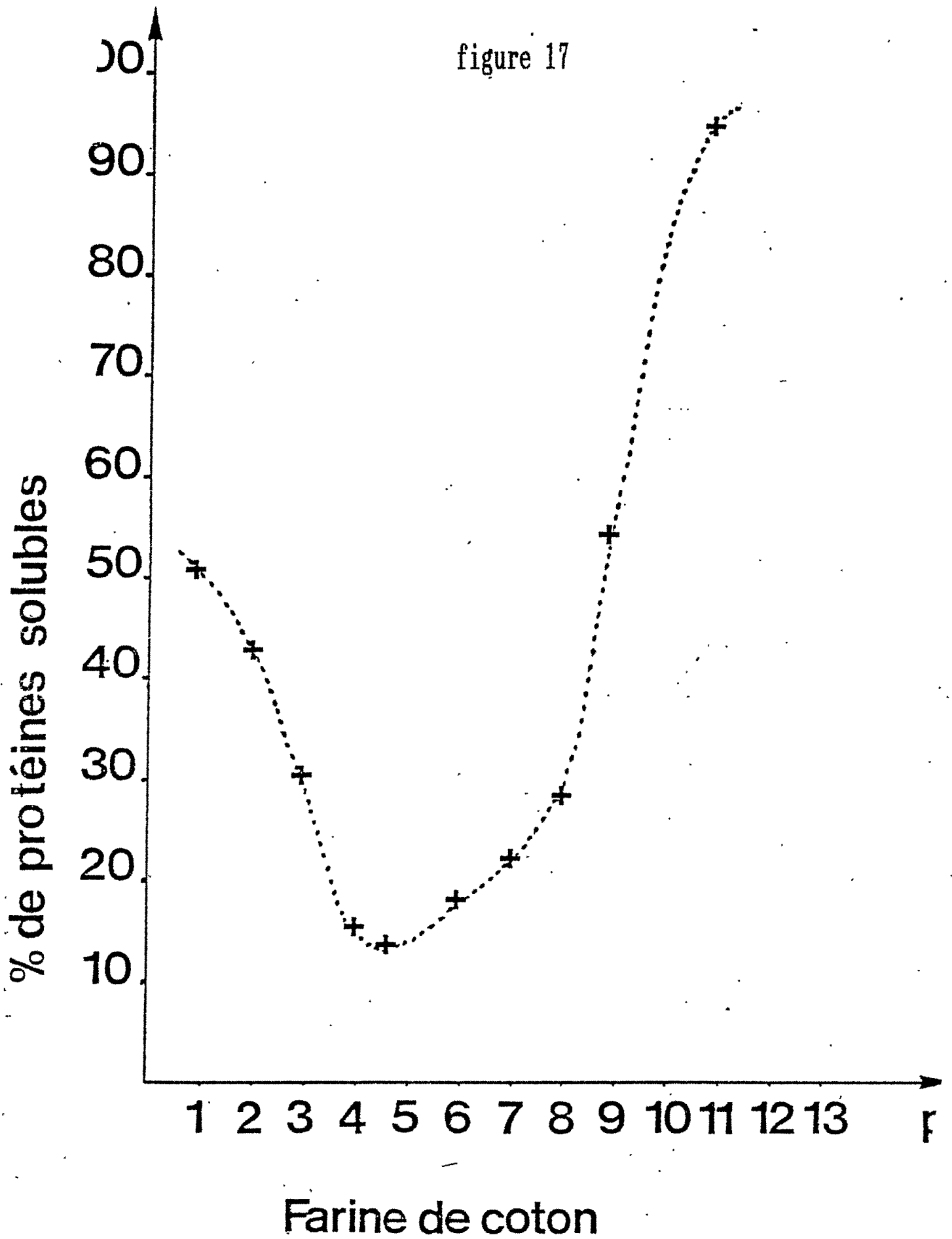
L'addition de l'un ou l'autre des réactifs de chacune des deux méthodes aux différents extraits donne des solutions très troubles dues à une précipitation des protéines; ceci interfère énormément sur le dosage. En effet, la farine de coton contient des protéines précipitables à différents pH, notamment entre les pH 3 et 6. Les protéines fonctionnelles sont solubles à des pH proches de la neutralité, tandis que les protéines de réserve sont solubles à des pH acides et alcalins (fig.17).

Afin de pallier ce problème, nous avons effectué pour chaque . extrait, des précipitations puis éliminations successives par centrifugation des protéines aux pH 6, 4 puis 3. En ramenant le pH final de chaque extrait à 2 pour le dosage, nous obtenions les courbes de solubilité représentées figure 18 et 19.

Notre courbe laisse supposer que le fait de précipiter et d'éliminer les protéines successivement aux pH 6, 4 puis 3, entraîne également l'élimination d'une partie des phytates qui peuvent former des complexes avec les protéines. De ce fait, au lieu d'être maximale aux pH basiques, comme le montrent des travaux américains antérieurs ; CHOI et RHEE (1980), fig.20, la solubilité des phytates que nous obtenons est minimale.

Nous avons alors utilisé l'acide trichloroacétique à la place de l'acide chlorhydrique ou de l'acide nitrique pour extraire les phytates, afin d'éviter de conserver les protéines en solution en même temps que les phytates, avec lesquels elles interfèrent dans le dosage.

figure 17



Solubilité des protéines à différents pH

g. de phytates pour 100 g. de farine.

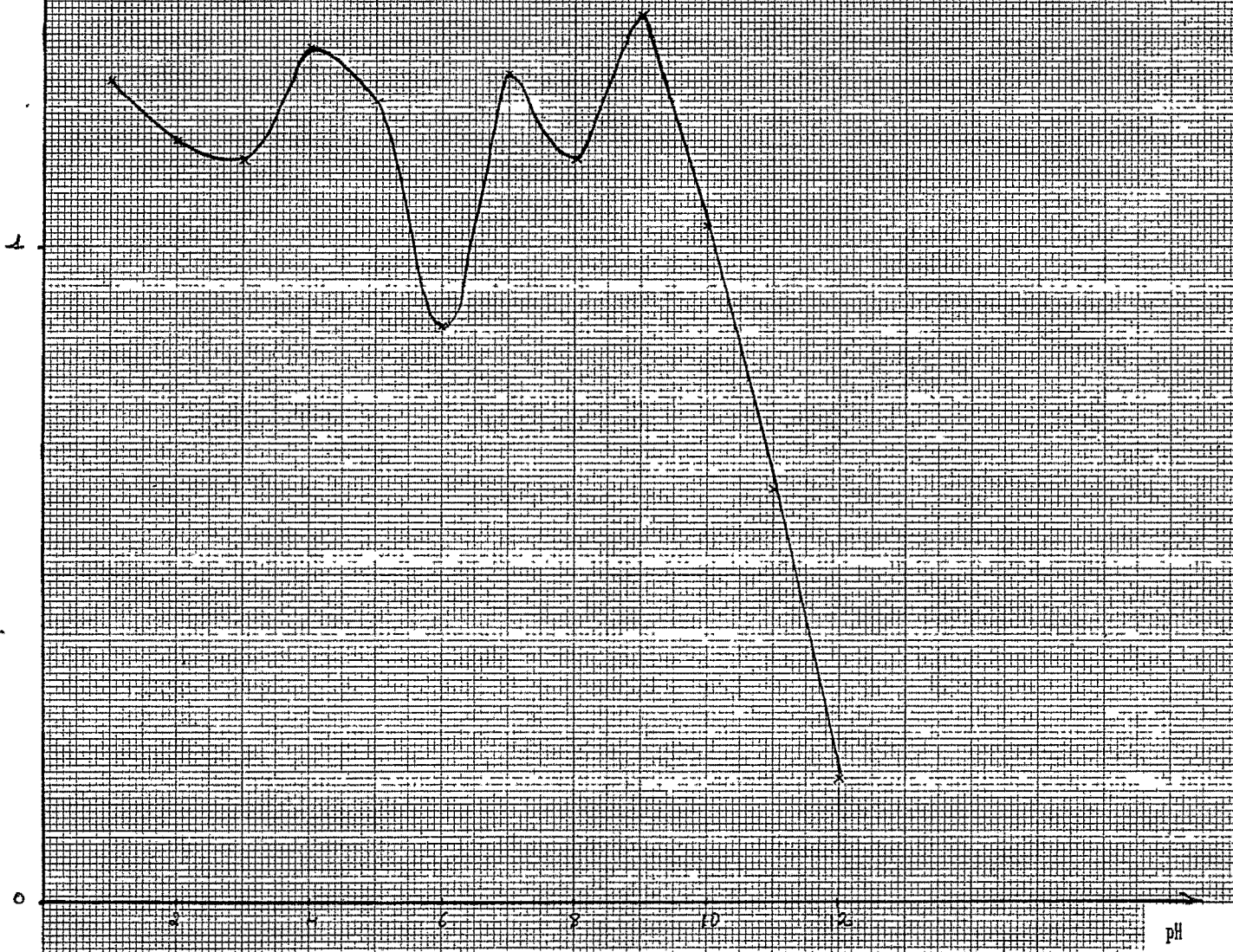
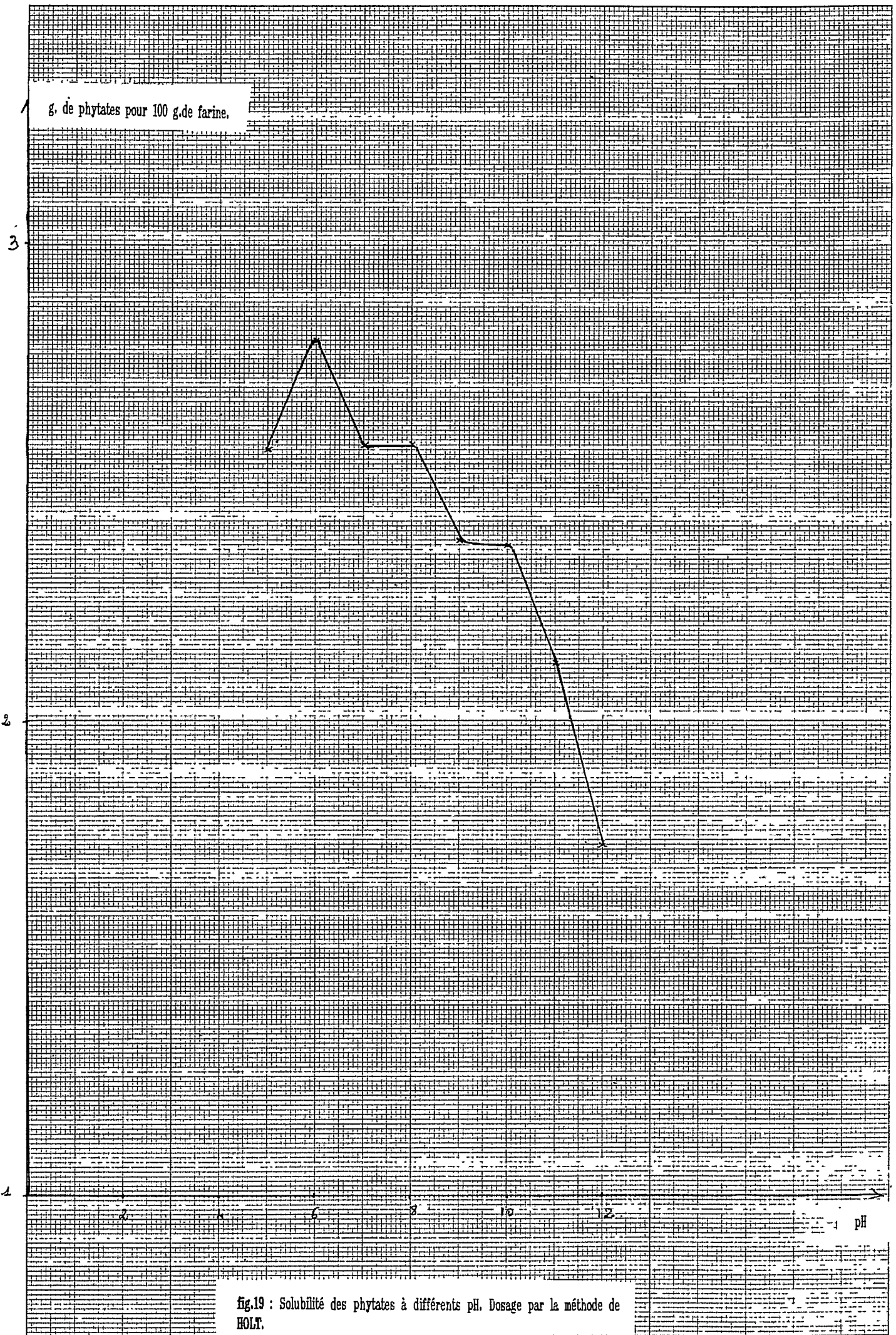


fig.18 : Solubilité des phytates à différents pH. Dosage par la méthode de LATTA et ESKIN.



g. de phytates pour 100 g.de farine.

pH

fig.19 : Solubilité des phytates à différents pH. Dosage par la méthode de HOLT.

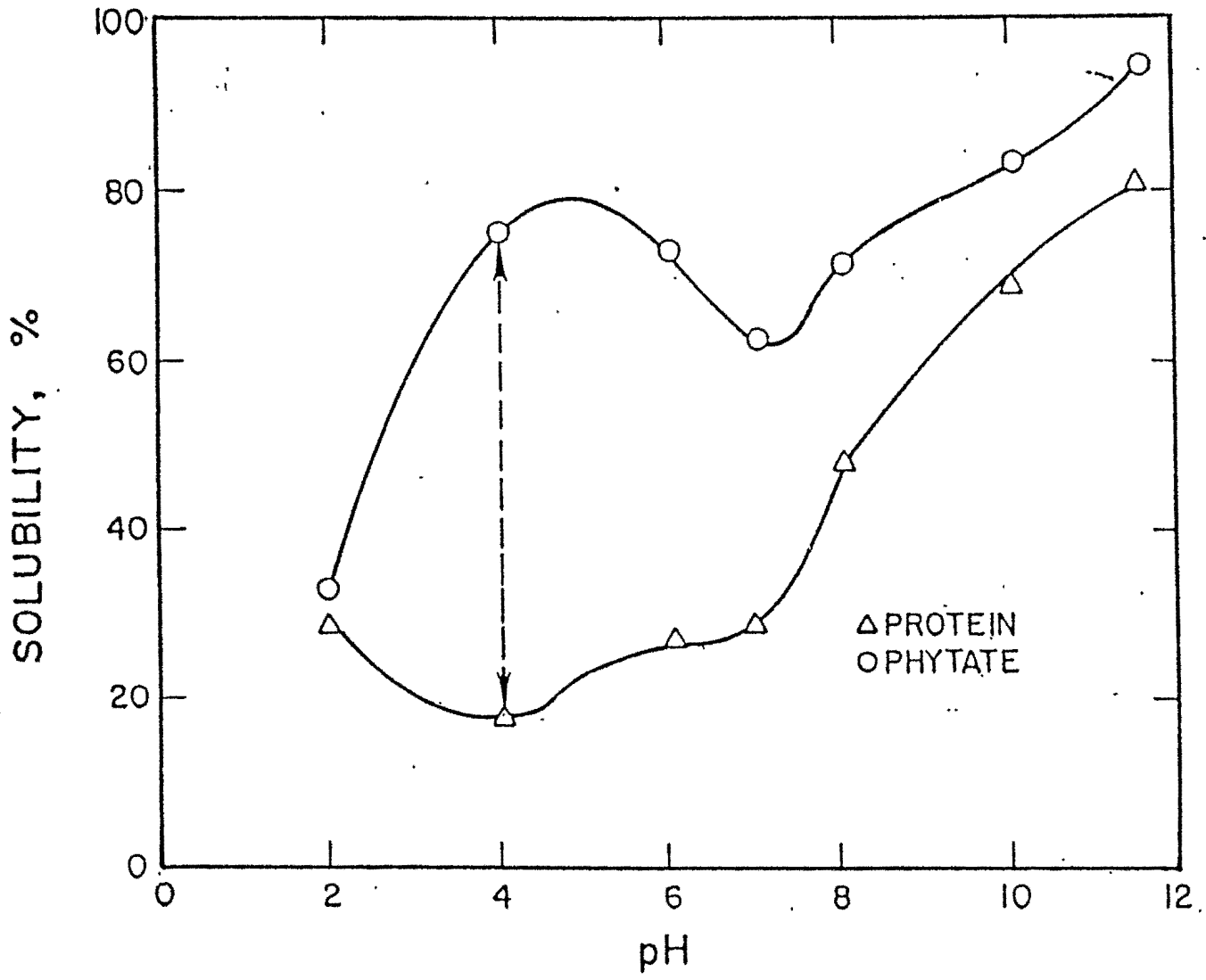


fig.20 : Effet du pH sur les solubilités des protéines et phytates de farine délipidée de coton. (CHOI, BHK, 1980).

Dans ces conditions, en utilisant la méthode de HOLT avec le T.C.A, nous trouvons une quantité de phytates égale à 3,44% au lieu de 4,4 % si l'extraction est effectuée avec l'acide nitrique). Avec la méthode de ESKIN et LATTA, nous trouvons une quantité de phytates égale à 4,05% avec le T.C.A au lieu de 4,5% si l'extraction est effectuée avec l'acide chlorhydrique.

Par conséquent, ces résultats montrent que l'on perd également une partie des phytates du fait que le T.C.A extrait les protéines, mais les précipite ensuite avec une partie des phytates.

Nous pouvons donc avancer que les deux méthodes de dosage que nous avons retenues ne conviennent pas pour étudier la solubilité des phytates à différents pH, à cause d'une trop grande interférence exercée par les protéines, et probablement d'autres constituants de l'extrait, sur les dosages .

C'est la raison pour laquelle, nous avons été amené à entamer l'étude du dosage des phytates par H.P.L.C (Chromatographie Liquide à Haute Pression), méthode d'analyse beaucoup plus perfectionnée, réputée être performante de par son excellente reproductibilité, sa rapidité et sa spécificité.

## 5.6 Dosage des phytates par HPLC

### 5.6.1 Principe de la HPLC

De manière générale, la chromatographie est une méthode physique de séparation dans laquelle les composants à séparer sont répartis entre deux phases. L'une d'entre elles, est constituée d'un lit de matériau stationnaire disposé sur une colonne et au travers duquel s'infiltrer la seconde phase, la phase mobile.

La Chromatographie en Phase Liquide classique est une technique utilisée depuis 1903 et qui fonctionne suivant le principe d'une séparation par gravité, des différents composants de l'échantillon.

La Chromatographie Liquide à Haute Pression (HPLC) s'effectue selon une propriété particulière des constituants à doser. L'éluant est pompé dans la colonne sous haute pression et à une vitesse contrôlée d'une manière précise.

#### 5.6.2 Appareillage (fig.21)

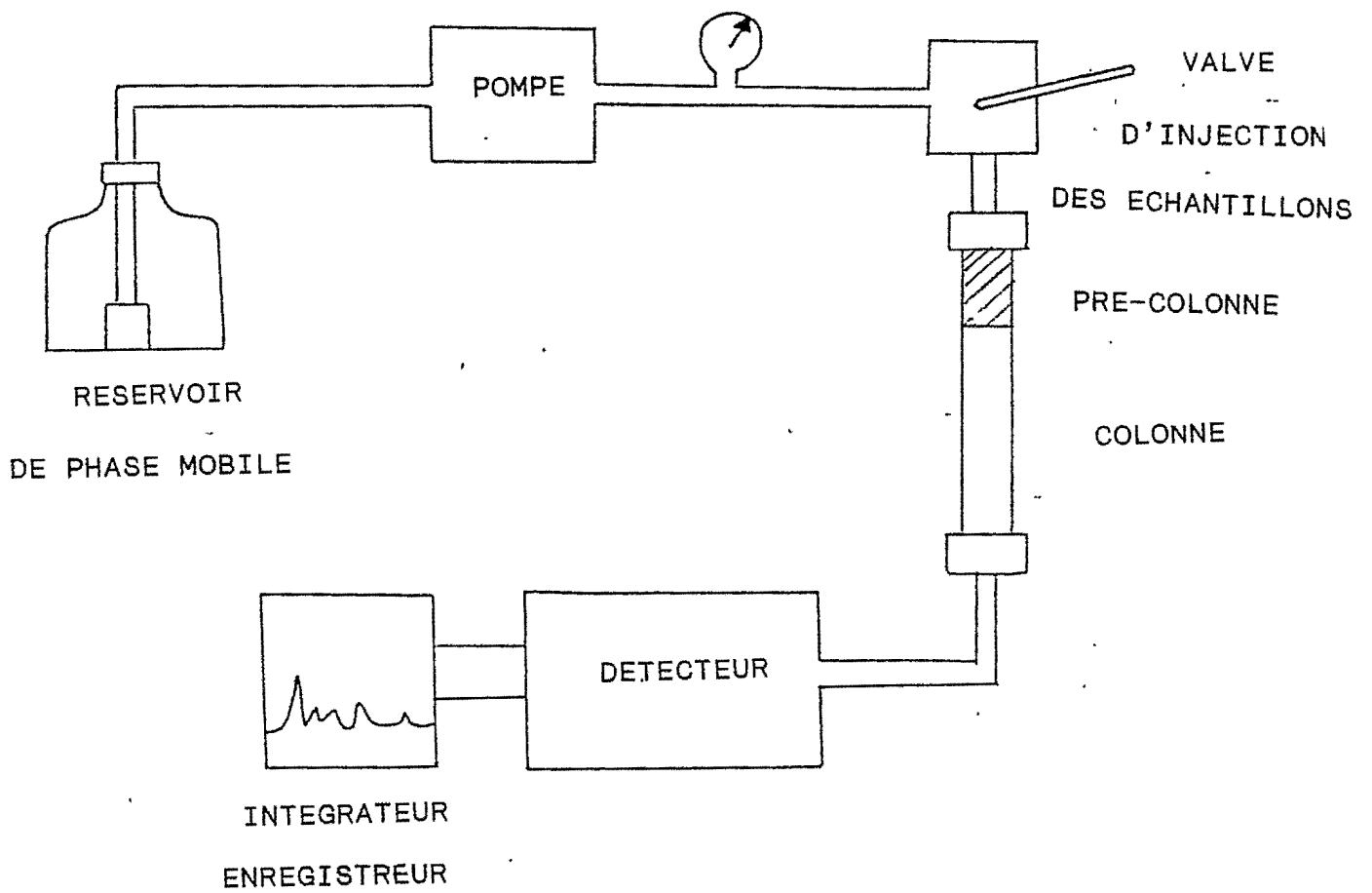
Il comprend :

- Une pompe qui permettra d'établir un débit d'élution de la colonne.
- Une colonne de séparation de type C 18, munie d'une précolonne garnie du même remplissage.
- Un détecteur constitué d'un réfractomètre.
- Un intégrateur qui analysera et sortira les pics correspondant à l'indice de réfraction des différents composants de l'échantillon .

#### 5.6.3 Méthode de GRAF et DINITZIS (1982)

Les phytates sont extraits avec HCl 0,5N puis purifiés et concentrés sur une colonne de résine échangeuse d'anions. L'extrait purifié est séché sous vide, puis analysé par HPLC. L'index de réfraction des phytates donne un pic spécifique dont la surface est proportionnelle à la concentration en phytates de l'échantillon étudié.

Afin d'identifier le pic correspondant aux phytates, nous avons injecté, dans un premier temps, une solution standard d'acide phytique.



**fig.21 : Schéma du dispositif HPLC.**



Les pics que nous avons obtenus à l'issue de ces analyses, et plus particulièrement celui correspondant aux phytates n'ont pas pu être identifiés à cause de la présence d'une grande quantité d'impuretés dans l'eau bidistillée utilisée pour diluer nos échantillons.

La manipulation et la mise au point d'une telle méthode dépassait en temps le cadre de mon stage, il ne me fut donc pas possible de poursuivre les travaux d'HPLC. Il serait en effet souhaitable de reprendre l'étude de l'ensemble des variables en fonction du matériel mis à disposition.

#### 5.6.4 Réactifs

- Solution d'acide phytique à 40%.
- Solution d'acétate de sodium à 5 mM (phase mobile).
- Solution de méthanol (pour le rinçage de la colonne).
- Solution d'acide chlorhydrique 0,5N.
- Eau bidistillée.

Avant utilisation, tous les solvants sont filtrés à travers un filtre Millipore Sartorius de 0,45  $\mu\text{m}$ , et dégazés.

## VI) Elimination des phytates

Différents moyens ont été envisagés pour essayer d'éliminer les phytates :

### 6.1 Elimination par dégradation enzymatique

L'enzyme responsable est la phytase = myoinositol hexaphosphate phosphohydrolase. L'Union Internationale de Chimie pure et appliquée, et l'Union Internationale de Biochimie appliquée reconnaissent deux sortes de phytases :

- La 3-phytase, hydrolyse en premier l'ester en position 3 de l'acide phytique. Elle existe généralement dans les microorganismes tels que les champignons, notamment l'Aspergillus sp. ; DOX et al. (1911) ; IRVING et COSGROVE (1974), les levures ; NAYINI et al. (1984) ; la microflore du rumen ; RAUN et al. (1956).

- La 6-phytase, commence la déphosphorylation de l'acide phytique en position 6. Elle est présente généralement dans les tissus des plantes. Son activité augmente particulièrement dans les graines pendant la période de germination ; une grande quantité des phytates de la graine de cotonnier disparaît après 6 jours de germination ; ERGLE et GUIN (1959).

BITAR et REINHOLD (1972) notent la présence de phytase dans le tractus intestinal humain, mais l'importance de cette activité n'est toutefois pas encore connue.

- La  $\alpha$ -phytase, commence la déphosphorylation de l'acide phytique en position 6. Elle est présente généralement dans les tissus des plantes. Son activité augmente particulièrement dans les graines pendant la période de germination ; une grande quantité des phytates de la graine de cotonnier disparaît après 6 jours de germination ; ERGLE et GUIN (1959).

BITAR et REINHOLD (1972) notent la présence de phytase dans le tractus intestinal humain, mais l'importance de cette activité n'est toutefois pas encore connue.

## 6.2 Elimination par traitements chimiques

- Des méthodes de solubilité différentielle permettent de précipiter et d'éliminer les phytates par centrifugation ou filtration. Elles ont été utilisées pour le soja ; Mc. KINNEY et al.(1949) ; GOODNIGHT et al. (1976 et 1978) ; RHAM et JOST (1979).

- L'ultrafiltration a été employée pour le soja par OKUBO et al.(1975).

- Des méthodes d'incubation dépendant du pH du milieu, de la température, du temps d'incubation ont permis à CHANG et al. (1977) d'étudier l'autolyse des phytates d'une variété de haricots.

- Par acétylation ou succinylation THOMPSON et al.(1987) réduisent les teneurs en phytates des farines de colza et de "navy-bean" .

- REDDY et al. (1988) obtiennent des résultats similaires par dialyse avec une variété de haricot .

- La teneur en phytate de la farine de coton ou de soja est réduite par lavage avec de l'eau ou du HCl 1N ; HAN (1988). L'auteur trouve, par ailleurs, que l'incubation de la farine de coton en présence d'eau à des températures allant de 30°C à 60°C s'avère être efficace pour réduire significativement le contenu en phytates de la farine de coton.

### 6.3 Elimination selon divers traitements

- REDDY et al.(1982) ; SALUNKE et SATHE (1984) ont revu les études relatives à l'élimination des phytates des haricots secs. Les traitements sont : le trempage, la cuisson, l'autoclave et le décorticage.

- Dans certains cas, l'acide phytique peut être éliminé selon des procédés mécaniques tels que le broyage ; O'DELL et al. (1972) ; REDDY (1976) ; DONNELLY et TABEKHIA (1977), ou le polissage pour le riz ; TABEKHIA et LUH (1979).

- Une approche génétique pour la sélection de variétés de blé à faible contenu en phytates a été effectuée par BASSIRI et NAHAPETIAN en 1977, mais celle-ci n'a pas encore obtenu du succès à cause de la longueur des processus engagés.

## CONCLUSION

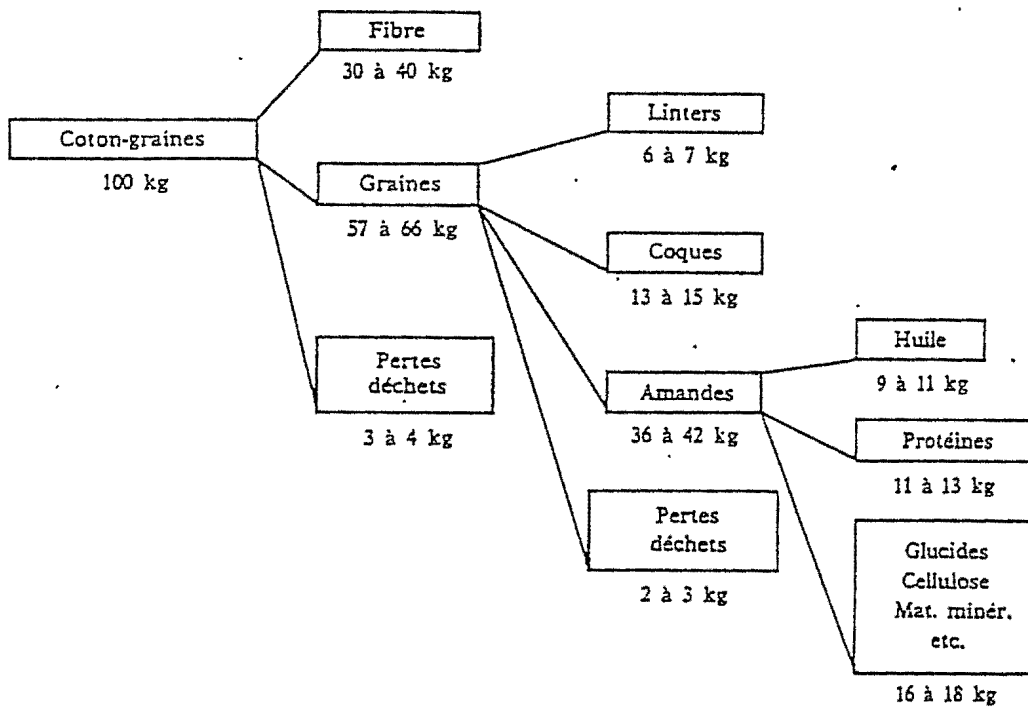
Très peu d'études ont été effectuées sur l'élimination ou la réduction du taux de phytates de la farine de coton. Le laboratoire de chimie des plantes textiles de l'I.R.C.T (Mr. BOURELY) se propose de travailler sur ce sujet, en collaboration avec le laboratoire de microbiologie de l'E.N.S.A.M (Pr.GALZY), en utilisant des microorganismes du fait des enzymes naturelles, notamment les phytases, qu'ils contiennent.

Pour optimiser ce travail, il est donc primordial de mettre au point des méthodes de dosage des phytates de la farine de coton qui soient à la fois simples, pratiques et fiables. Nous avons sélectionné deux méthodes de dosage colorimétrique simples et rapides, qui permettent une évaluation convenable des phytates dans des conditions normalisées, et amorcé l'étude d'une méthode HPLC. La durée limitée du stage ne nous a pas permis de poursuivre les recherches. Il serait souhaitable de reprendre l'ensemble des paramètres intervenant dans ces méthodes en fonction du matériel mis à disposition, en se penchant sur des procédés analytiques spécifiques, réduisant les interférences avec des constituants des farines, en particulier les protéines, qui peuvent créer des complexes avec les phytates.

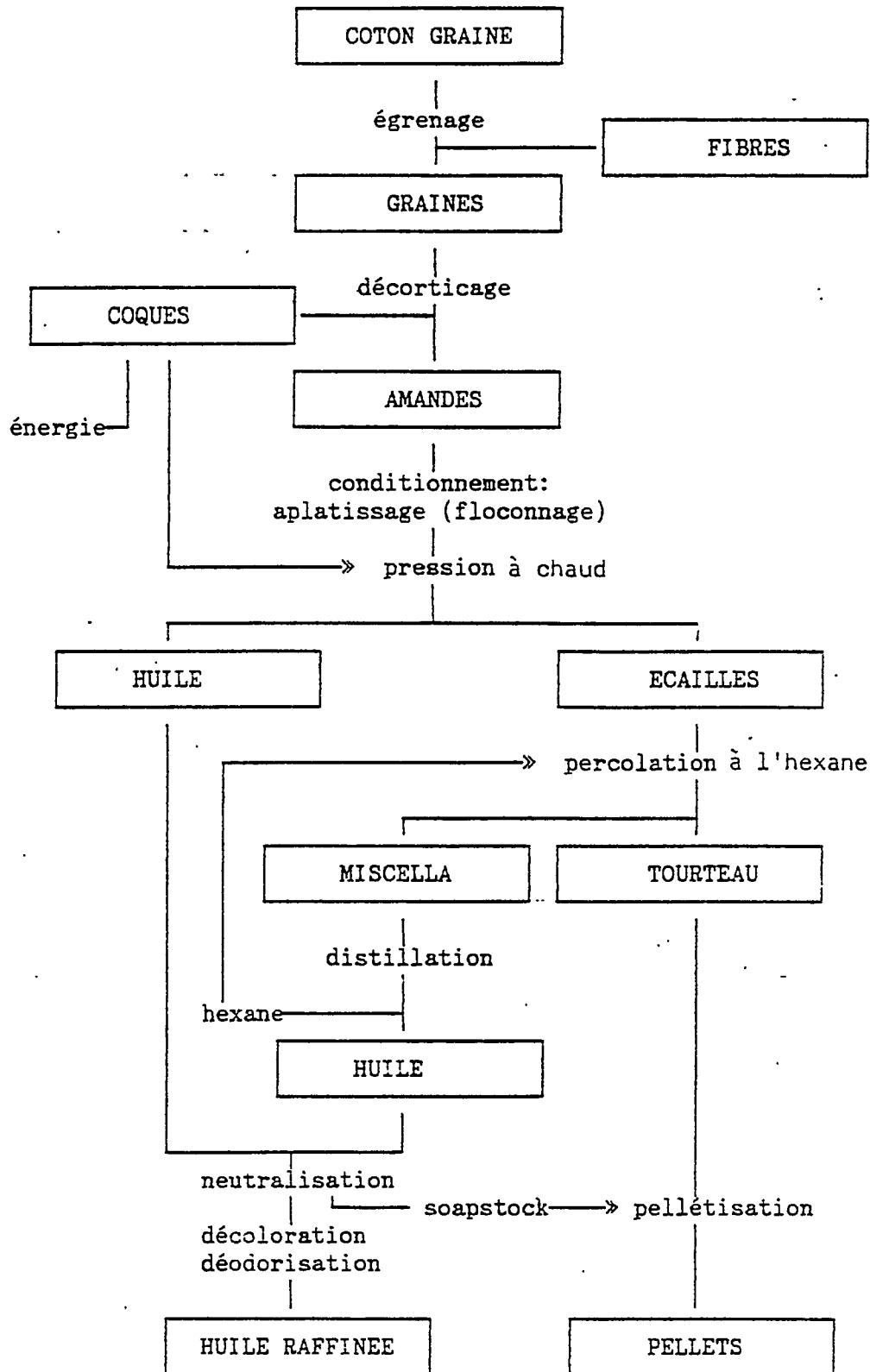
## **ANNEXES**

- 1) Utilisation des coton-graines.
- 2) Technologie traditionnelle de trituration des graines de cotonnier.
- 3) Technologie des graines de coton sans gossypol.
- 4) Influence du traitement technologique sur la valeur nutritionnelle des farines.
- 5) Teneurs en acides aminés des préparations protéiques de coton.
- 6) Composition des amandes grillées de coton sans gossypol .
- 7) Composition chimique de concentrat et d'isolat obtenus à partir d'une farine de coton.
- 8) Quelques utilisations de farine de coton pour la préparation de plats traditionnelles.
- 9) Expérimentations nutritionnelles en alimentation humaine
- 10) Calculs statistiques.

## UTILISATION DES COTON-GRAINES

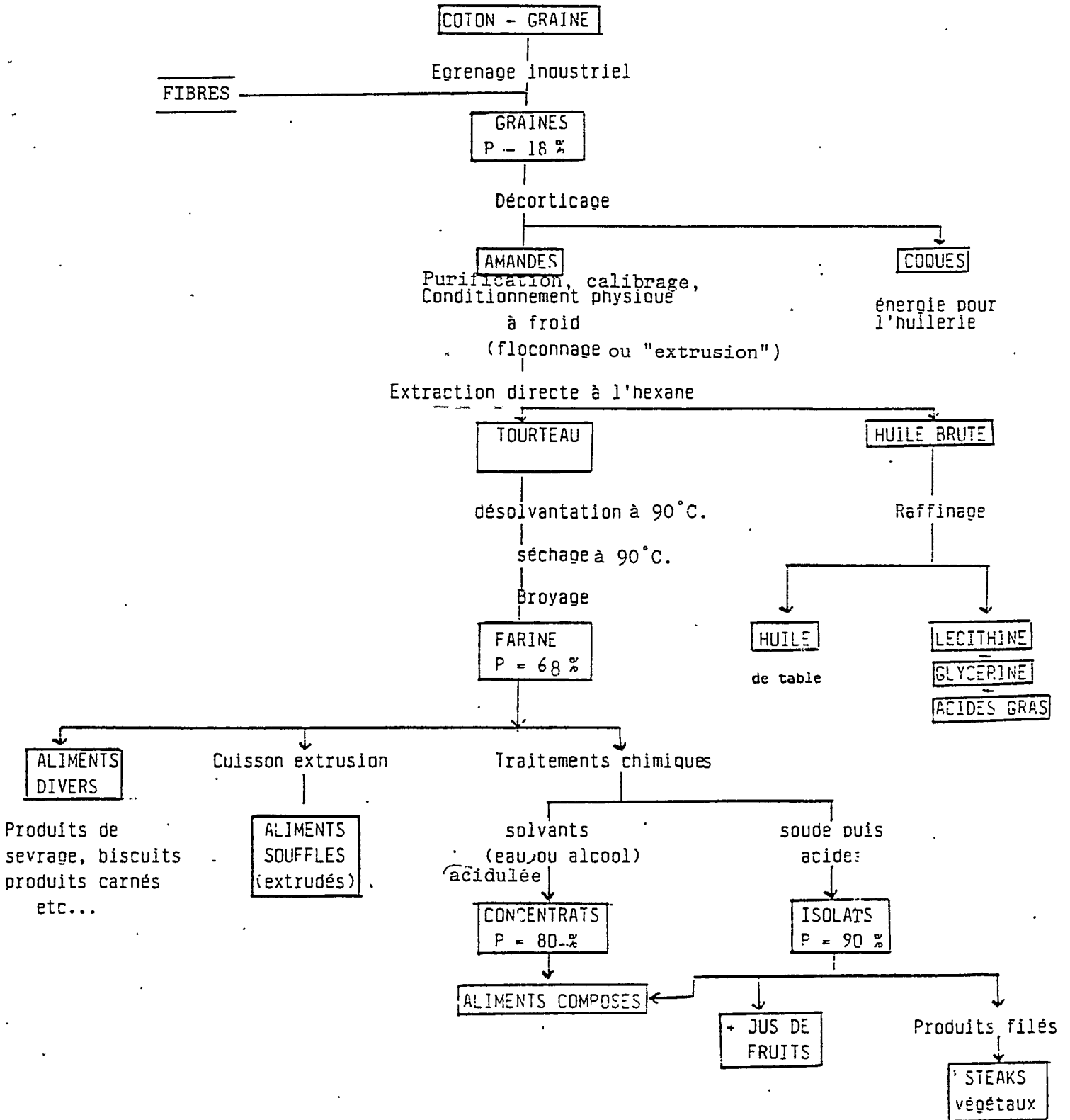


Technologie traditionnelle de trituration des graines de cotonniers





TECHNOLOGIE DES GRAINES DE COTON SANS GOSSYPOL



P = Protéines = N x 6,25

# INFLUENCE DU TRAITEMENT TECHNOLOGIQUE SUR LA VALEUR NUTRITIONNELLE DES FARINES

(Résultats en grammes pour cent grammes de matière sèche)

	Procédé traditionnel "Prépression-solvant"  PELLETS	Extraction directe de l'huile à l'hexane FARINES ALIMENTAIRES	* Normes P.A.G. 1975
Humidité	7 à 9	7 à 9	max. 10
Matières grasses	1 à 3	0,5 à 1,5	max. 6
Protéines totales (N x 6,25)	41 à 45	60 à 68	min. 50
Protéines solubles % protéines totales	78	97	
Cendres	7 à 8	7 à 8	
Cellulose brute	10 à 13	3 à 5	max. 5
Gossypol libre	traces	traces	max. 0,06
Gossypol total	0,02 %	0,01	max. 1,2
Sucres solubles totaux dont :	6 à 8	6 à 10	
Saccharose	1 à 2	1 à 2	
Raffinose	5 à 6	5 à 8	
Stachyose	traces	traces	
Lysine disponible 9/16 g d'azote	3,6	4,16	min. 3,6
Aflatoxine	néant	néant	min. 30 meq/kg

\* : Protein Advisory Group of World Health Organization.

Ces normes sont données à titre indicatif car elles ne sont plus en vigueur actuellement.

Teneurs en acides aminés des préparations protéiques de coton  
(acides aminés pour g/16 g d'azote)

Acides aminés	Farines délipidées : moyenne des 3 farines	Concentré protéique	Isolat protéique
	(1)		
Aspartique	9,35 (0,34)	7,78	9,66
Thréonine	2,80 (0,10)	2,89	3,03
Sérine	3,91 (0,18)	4,16	4,52
Glutamique	20,9 (0,44)	20,7	20,9
Proline	3,60 (0,20)	3,69	2,94
Glycine	3,47 (0,06)	3,49	3,67
Alanine	3,56 (0,04)	3,72	4,02
Valine	3,81 (0,86)	4,05	4,38
1/2 Cystine	1,44 (0,69)	2,14	1,90
Méthionine	0,81 (0,19)	0,96	1,06
Isoleucine	2,86 (0,03)	3,33	3,68
Leucine	4,98 (0,11)	5,48	5,97
Tyrosine	2,58 (0,11)	2,58	2,90
Phénylalanine	4,85 (0,23)	5,36	6,13
Lysine	3,66 (0,06)	3,36	3,25
Histidine	2,39 (0,05)	2,71	2,87
Arginine	10,2 (0,57)	9,59	10,09
Somme des acides aminés:	85,17	85,99	90,97

(1) écart-type

**COMPOSITION DES AMANDES DE COTON SANS GOSSYPOL GRILLEES**  
 (Food Protein Research and Development Center, Texas A and M  
 University College station, Tx 77843)

Proteines.....	39 %
Huiles.....	32 %
Carbohydrates.....	17 %
Cendres.....	5 %
cellulose brute.....	4 %
Humidité.....	2 %
Calories pour 100 g.....	510

**COMPOSITION CHIMIQUE DE CONCENTRAT ET D'ISOLAT OBTENUS  
 A PARTIR D'UNE FARINE DE COTON.**

	Concentrat	Isolat
Humidité	6	1
*Proteines totales (N*6,25)	80	97
Proteines solubles,		
% proteines totales	98	99
*Cendres	2,47	2,12
Lysine disponible pour		
16 g d' azote	4,63	3,53
Lysine disponible,		
% Lysine totale	96	83

\* résultats exprimés en gramme pour cent grammes de matière  
 à 0 % d'humidité.

12

**QUELQUES UTILISATIONS DE FARINE DE COTON  
POUR LA PREPARATION DE PLATS TRADITIONNELS.**

(Laure J. : Acceptabilité du tourteau de coton sans gossypol au Sénégal et au Mali, doc. interne IRCT, p.70. 1973).

**Beignets et galettes** : Les graines sont grillées, décortiquées et broyées. On y ajoute de la farine de sorgho, du mil et du maïs à raison d'un volume de farine de coton pour 2 volumes de céréales et des haricots (niébé). Les beignets et les galettes sont frits dans du beurre de karité.

**Laro** : Bouillie de céréales épaisse composée à partir de deux volumes de farine de sorgho et d'un volume de farine de coton.

**Fari** : Il est composé de haricots (niébé) et d'un tiers en volume de farine de coton. Les haricots sont pilés avec de l'eau pour séparer l'enveloppe des graines par vannage. La pâte obtenue est enroulée dans des feuilles, cuite à la vapeur puis arrosée d'huile chaude contenant des oignons.

**Ndégué** : Cuisson à la vapeur d'un mélange de deux volumes de sorgho blanc et d'un volume de farine de coton. On ajoute ensuite du lait frais non caillé et des condiments. Ce plat est consommé de préférence par les personnes devant effectuer des travaux physiques importants.

## Expérimentations nutritionnelles en alimentation humaine.

L'intérêt des farines de coton glandless dans l'alimentation humaine est d'apporter une supplémentation protéique de haute valeur nutritionnelle et dénuée de toute toxicité à des régimes riches en glucides. Par exemple, lorsque l'enfant passe du lait maternel aux aliments traditionnels qui généralement en Afrique sont à base de céréales donc riches en glucides, il se trouve démuné en protéines indispensables pour assurer son complet développement. La farine de coton constitue par conséquent un aliment de sevrage et de transition de grande qualité du fait de sa teneur extrêmement élevée en protéines. En outre, ce pourrait être un aliment de complément de la femme allaitante du fait qu'elle renferme des molécules qui stimulent la sécrétion lactée (SAWADOGO, 1987).

### Travaux antérieurs.

Les premiers essais nutritionnels réalisés avec de la farine de coton glandless fournie par l'I.R.C.T. ont débuté à l'hôpital le Dantec à Dakar en 1966.

La farine de coton a été utilisée selon 3 formules différentes : les deux premières, composées de farine de coton et de lait ont été données à des enfants atteints de Kwashiorkor ou dénutris (Tableau XXVI). 49 enfants ont été soumis à ces régimes dont l'efficacité s'est trouvée comparable au régime standard constitué par du "Nesmida" du commerce. Les oedèmes de kwashiorkor ont rétrocedé après 4 à 7 jours de traitement, aussi rapidement qu'avec le Nesmida, le gain de poids des enfants variant de 42 à 200 g par jour.

Dans la troisième formule, utilisée comme aliment de sevrage, la farine de coton constituait 25 % du mélange, le mil 45 %, le lait 1/2 écrémé 10 % et le sucre 20 %.

Au Mali, en 1967, une expérimentation fut conduite dans des centres médicaux près de Bamako pendant 6 mois sur des enfants âgés de 4 ans qui furent alimentés avec un produit contenant 30 % de farine de coton glandless et du sorgho. Toujours au Mali, le Ministère de la Santé réalisa de juin à octobre 1970 un essai nutritionnel sur un groupe d'enfants de 1 à 3 ans.

27 enfants d'un village Bambara furent alimentés pendant 4 mois avec un régime contenant 80 % de farine de millet et 20 % de farine glandless sur la base de 200 g d'aliment par jour (correspondant à 36 g de protéines/jour). Sur 18 des 27 enfants, les gains de poids furent supérieurs de 100 à 1.000 g à ceux d'enfants d'un village voisin qui n'avaient pas consommé de farine de coton.

Une enquête réalisée au Tchad en 1974-1975 a montré que 53 % des 2.507 personnes interrogées avaient déjà consommé de la farine de coton au moins une fois dans leur vie. Des essais nutritionnels ont été réalisés pendant 6 mois en 1975 sur des enfants âgés de 5 à 6 mois avec un aliment qui contenait 70 % de farine de coton glandless et qui était distribué en supplément de la nourriture familiale. Les enfants qui recevaient ce régime présentèrent un gain de poids supérieur à ceux qui n'avaient reçu que des bouillies sucrées isocaloriques à base de millet.

Des adolescents volontaires ont consommé 40 g de farine de coton glandless en moyenne par jour dans des sauces et des bouillies. Un autre essai réalisé sur 14 familles de cultivateurs tchadiens sur une période de 6 semaines a eu le même succès.

Toujours au Tchad, 4,5 tonnes d'amandes de coton glandless ont été vendues en 1975 très rapidement au même prix que le sorgho et consommées aussitôt, preuve de l'intérêt des consommateurs tchadiens pour ce nouveau produit.

Travaux effectués par l'Institut National de  
Santé Publique de Côte d'Ivoire (Rapport INSP, 1985-1987).

L'objet de ce travail était de montrer les possibilités d'utilisation de la farine de coton glandless pour la réhabilitation nutritionnelle d'enfants souffrant de malnutrition protéino-calorique grave et de la comparer aux préparations habituellement utilisées en Côte d'Ivoire. Ce travail s'inscrit dans la préoccupation constante de recherche de nouvelles sources de protéines locales, peu coûteuses, dans la complémentarité de l'alimentation des enfants, et en particulier de ceux qui sont atteints de malnutrition.

L'étude globale porte sur l'action comparée de préparations à base de farine de coton glandless et de régimes à base de lait ou de protéines de lait dans la réhabilitation nutritionnelle d'enfants atteints de Kwashiorkor-marasme.

REHABILITATION NUTRITIONNELLE D'ENFANTS MALNUTRIS

Expérimentation I.N.S.P. 1985-1987.

Composition des aliments (g %)	Pour la fonte des oedèmes	Pour la supplémentation
<u>Régime standard</u>		
Hyperprotidine (caséine)	8	
Lait en poudre	20	30
Sucre	16	12
Farine de riz		20
<u>Régime glandless</u>		
Farine de coton	15	20
Lait en poudre	15	
Sucre	12	16
Farine de riz	5	20
Huile		5



REHABILITATION NUTRITIONNELLE D'ENFANTS MALNUTRIS  
RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES

(I.N.S.P., 1985 - 1987)

Résultats	Régime témoin	Régime à base de Farine de Coton
Temps pour la fonte des oedèmes (jours)	6,8	6,4
Protéines (g/l)	67,7	68,9
Albumine (g/l)	35,8	36,8
Préalbumine (mg/l)	135,7	127,2
Pseudocholinestérase (UI/ml)	6,90	6,47
Hémoglobine (g/100 ml)	10,1	9,2
Poids/âge (%)	97,7	97,2
Gain de poids mensuel (kg)	1,03	0,96
Taille/âge (%)	92,13	92,25

CALCUL DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE  
DE LA MOYENNE DES QUANTITES DE PHYTATES  
CONTENUES DANS LA GRAINE DE COTON

Méthode de HOLT

Quantités (x) observées :

4,57	4,28	4,19
4,88	4,22	4,50
4,22	4,38	

$$T1 = \sum x = 35,24 \quad T2 = \sum x^2 = 165,62$$

$$m = \frac{T1}{n} = \frac{35,24}{8} = 4,405$$

$$S^2 = \frac{1}{n-1} (T2 - \frac{T1^2}{n}) = \frac{1}{8-1} (165,62 - \frac{1241,85}{8})$$

$$S^2 = 0,0554$$

$$\frac{S^2}{n} = \frac{0,0554}{8} = 0,006925$$

$$\frac{S}{\sqrt{n}} = 0,0832$$

Pour une ddl = 7

\* Avec un risque de 5 % : t = 2,365

Intervalle de confiance :

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{S}{\sqrt{n}} &= 4,405 \pm 2,365 * 0,0832 \\ &= 4,405 \pm 0,197 \end{aligned}$$

\* Avec un risque à 1 % : t = 3,499

Intervalle de confiance :

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{S}{\sqrt{n}} &= 4,405 \pm 3,499 * 0,0832 \\ &= 4,405 \pm 0,291 \end{aligned}$$

CALCUL DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE  
DE LA MOYENNE DES QUANTITES DE PHYTATES  
CONTENUES DANS LES GRAINES DE COTON

Méthode de LATTÀ et ESKIN

Quantités (x) observées :

4,77 ; 4,42 ; 4,95 ; 4,62 ; 4,42 ; 4,42

$$T1 = \sum x = 27,7 \quad T2 = \sum x^2 = 761,76$$

$$m = \frac{T1}{n} = \frac{27,6}{6} = 4,6$$

$$S^2 = \frac{1}{n-1} (T2 - \frac{T1^2}{n}) = \frac{1}{5} (127,209 - \frac{761,76}{6})$$

$$\frac{S^2}{n} = \frac{0,0498}{6} = 0,0083$$

$$\frac{s}{\sqrt{n}} = 0,091$$

Pour une ddl = 5

\* Avec un risque de 5% t = 2,571

Intervalle de confiance :

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}} &= 4,6 \pm 2,571 * 0,091 \\ &= 4,6 \pm 0,234 \end{aligned}$$

\* Avec un risque de 1 % : t = 4,030

Intervalle de confiance :

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}} &= 4,6 \pm 4,032 * 0,091 \\ &= 4,6 \pm 0,366 \end{aligned}$$

CALCUL DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE  
DE LA MOYENNE DES QUANTITES DE PHYTATES  
CONTENUES DANS LES GRAINES DE COTON

Méthode modifiée de LATTA et ESKIN

Quantités (x) observées :

4,77 ; 4,42 ; 4,80 ; 4,42 ; 4,62  
4,33 ; 4,30 ; 4,42 ; 4,55 ; 4,42

$$T1 = \sum x = 45,05 \qquad T2 = \sum x^2 = 2029,5$$

$$m = \frac{T1}{n} = \frac{45,05}{10} = 4,505$$

$$S^2 = \frac{1}{9} \left( 203,224 - \frac{2029,5}{10} \right) = 0,036$$

$$\frac{S^2}{n} = \frac{0,036}{10} = 0,0036$$

$$\frac{s}{\sqrt{n}} = 0,06$$

Pour une ddl = 9

\* Avec un risque de 5 % :  $t = 2,262$

Intervalle de confiance :

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}} &= 4,405 \pm 2,262 * 0,06 \\ &= 4,405 \pm 0,135 \end{aligned}$$

\* Avec un risque de 1 % :  $t = 3,25$

$$\begin{aligned} \text{moy.} \pm t * \frac{s}{\sqrt{n}} &= 4,405 \pm 3,25 * 0,06 \\ &= 4,405 \pm 0,195 \end{aligned}$$

## BIBLIOGRAPHIE

ANDERSON R.J. :

In : J. Biol.Chem. 17:171. 1914.

BACKER E.C. et al. :

Préparation de produits du soja à différents taux de phytate natif pour des études de biodisponibilité en Zinc. JAOCs pp. 541-543. Avril 1981.

BAGHERI :

Dosage colorimétrique du phosphore phytique. Communication personnelle, 1989.

BARRE M.R. :

Influence de l'acide phytique sur la digestion de différentes protéines. Ann. Pharm. Fr. 14:182. 1956.

BESANCON P., HENRY O., ROUANET J.M. :

Valeur nutritionnelle comparée de farines délipidées de coton glandless et de soja. C.R. Colloque IDESSA - CIDT - TRITURAF : Le cotonnier sans gossypol : Une nouvelle ressource alimentaire. Abidjan, pp.63-79. 1985.

BITAR et REINHOLD :

Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf, and man. Bioch. Biophys. Acta 268, 442. JG 1972.

BOURDILLON J. :

In : J. Biol. Chem. 189, 65. 1951.

BOURELY J. :

Développement des cotonniers sans gossypol en Afrique. Aspects technologiques et nutritionnels. I.R.C.T.C.I.R.A.D., Montpellier. Conférence Cotonnière, Lomé, Togo. 1989.

**BOYD L., O'DELL :**

Effets des composés alimentaires sur la disponibilité en Zinc. in American Journal of Chemical Nutrition. 22:10, pp. 1315-1322. 1969.

**BOYD L., O'DELL, ANA de BOLAND :**

Complexation du phytate avec les protéines et cations dans les graines de céréales et plantes oléagineuses. In J. Agr. Food Chem. 24:4. 1976.

**BROOKS J.R., MORR C.V. :**

Elimination du phytate des protéines du soja. JAOCs. 61:6, pp. 1056-1059. 1984.

**CAMIRE A.L., CLYDESDALE F.M. :**

Analyse de l'acide phytique des aliments par HPLC. J. Food Sci., vol. 47, pp. 575-578. 1982.

**CAMUS M.C., LAPORTE J.D. :**

Inhibition de la protéolyse in vitro du blé : Rôle de l'acide phytique des issues. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. 16:719. 1976.

**CHANG et al. :**

Phytate : removal from whole dry beans by enzymatique hydrolyse and diffusion. J. Food. Sci. 42, 1098. 1977.

**CONDET F. :**

Etudes des propriétés fonctionnelles de trois préparations protéiques du coton. Mémoire de maîtrise des sciences et techniques en industries alimentaires. USTL Montpellier III. 1985.

**CORNU A., DELPEUCH F., FAVIER J.C. :**

Utilisation en alimentation humaine de la graine de coton sans gossypol. Institut de Recherches du Coton et des Textiles exotiques, Paris. 1975.

**DAVIES Br. :**

Dosage des phytates. J.Nutr., n°41, pp. 579-589. 1979.

**DAVIES N.T., HILARY REID :**

Evaluation du contenu en phytate, Zn, Fe, Cu, Mn et de la disponibilité du Zn des protéines végétales provenant du soja de substituts alimentaires. J.Nutr, n° 41, pp. 579-589. 1979.

**DAVIES N.T., NIGHTINGALE R. :**

Effet du phytate sur l'absorption et la sécrétion intestinale de Zinc, rétention du Zinc, Fer, Magnésium chez le rat. in Br. J. Nutr. 34:243. 1975.

**DONNELLY et TABEKHIA :**

Durum wheat and its milled products effect of variety and environment on the phytic and content. Cereal foods world. 22, 483. 1977

**DUMAY E., CONDET F., CHEFTEL J.P. :**

Préparations protéiques de graines de coton glandless : Caractérisation des constituants protéiques et propriétés fonctionnelles. Laboratoire de Biochimie et Technologies Alimentaires, USTL Montpellier III. 1986.

**ELLIS R., MORRIS E.R. :**

Résine de sélection appropriée pour l'analyse rapide de phytate par chromatographie échangeuse d'ions. Cereal Chemistry, 63:1, pp. 58-59. 1986.

**ERDMAN J.W. :**

Oil seeds phytates : Nutritional implications. JAACS. 55:371. 1979.

**ERGLE D.R., GUINN G. :**

Phosphorus compounds of cotton embryos and their changes during germination. Plant Physiol., 34,476 - 481, 1959.

**FAJON O. :**

Utilisation des protéines de coton dans l'alimentation humaine. Mémoire de DESS de Nutrition et Alimentation dans les pays en Développement. USTL, Montpellier III. 1984.

**GOODNIGHT, HARTMAN and MARQUARDT :**

Aqueous purified soyprotein and beverage. U. S. Patent 3,995,071 . 1976.

**GOODNIGHT, HARTMAN, MARQUARDT :**

Low phytate, isoelectric precipitated soybean protein isolate. U. S. Patent 4,072,670. 1978.

**GORDON C. BALLAM, CALMADGE S. NELSON, LINDA K. KIRBY :**

L'effet des sources de fibres et de phytate sur l'hydrolyse du phytate et la disponibilité des minéraux chez le rat. Nutrition reports international. 30:5, pp. 1089-1097. 1984.

**GRAF E. :**

Phytic acid, Chemistry and Applications. Edited by E. GRAF Pilatus Press, Minneapolis. 1986.

**GRAF E., DINTZIZ F.R. :**

Performance liquid Chromatographic method for the determination of phytates. in : Annal. Biochem. 119 n° 2, pp. 413-417. 1982.

**HAN :**

Removal of phytates from soybean and cotton seed. J. of Agric. and Food Chem. 36,6. pp.1181-1183. 1988.

**HARLAND B., OBERLEAS D. :**

Méthode de détermination du phytate par échange d'anions : Etude collective. J. Ass. Off. Anal. Chem. 69:4, pp. 667-670. 1986.

**HOLT R. :**

Studies of dried peas. I. The determination of phytate phosphorus. J. Sci. Food Agric. 6, pp. 136-142. 1955.



KAUFMAN H. :

In : Phytic acid chemistry and applications. Edited by E. GRAF  
Pilatus Press, Minneapolis. 1986.

KNUCKLES B.E., KUZMICKY D.D., BETSCHART A.A. :

Effets du phytate et du phytate partiellement hydrolysé sur la  
digestibilité des protéines in vitro. In : Journal of Food  
Sciences. 50:1081. 1985.

LAGIERE R. :

Le cotonnier. G.P. Maisonneuve et Larose. 1982.

LATTA M., ESKIN M.J. :

A simple and rapid colorimetric method for phytate  
determination. J. Agric. Food Chem. 28, 1313-1315. 1980.

LAURE J. :

Acceptabilité du tourteau de coton sans gossypol au Sénégal et  
au Mali. Doc interne IRCT. 1973.

LIPSCHITZ D.A., SIMPSON K.M., COOD J.D., MORRIS E.R. :

Absorption of monoferric phytate by dogs. 1154 - 1160, 1979.

LUI N.S.T., ALTSCHUL A.M. :

Arch. Biochem. Biophys. 121:678. 1967.

MAGA J.A. :

Phytate : its chemistry, occurrence, food interactions,  
nutritional significance, and methods of analyses. J. Agr.  
Food. Chem. 30, 1, 1 - 9. 1982.

Mc KINNEY, SOLLARS :

Extraction of soybean protein with sulfurous acid. Ind. Eng.  
Chem. Anal. Ed. 41, 1058. 1949.

Mc KINNEY, SOLLARS and SETZ :

Studies on the preparation of soybean protein free from  
phosphorous. J. Biol. Chem. 178, 117. 1949.

**MARQUIE C. :**

Utilisation alimentaire des dérivés des cotonniers "glandless".  
C.R. Colloque IDESSA. CIDT. TRITURAF : Le cotonnier sans  
gossypol : Une nouvelle ressource alimentaire. Abidjan. 166-  
186. 1985.

**MORRIS E.R., REX E. :**

Isolation of monoferric phytate from wheat bran and its  
biological value as an iron source to the rat. 753-760.

**OBERLEAS D., MUHRER M.E., O'DELL B.L. :**

J. Anim. Sci. 21, 57. 1952.

**OBERLEAS D., MUHRER M.E., O'DELL B.L. :**

Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the  
rat. J. nutr. 90:56-62. 1966.

**O'DELL, BURPO, SAVAGE :**

Evaluation of Zinc availability in foodstuffs of plant and  
animal origin. J.Nutr. 102, 653. 1972.

**OKUBO, WALDROP, IACOBUCCI and MYERS :**

Preparation of low phytates soybean protein isolated and  
concentrated by ultrafiltration. Cereal Chem. 52, 263. 1975.

**PARRY G. :**

Le cotonnier et ses produits. G.P. Maisonneuve et Larose. 1982.

**PLATT S.R., NADEAU D.B., GIFFORD S.R., CLYDESDALE F.M. :**

Effets protecteurs du lait sur la concentration des minéraux  
par Na-Phytate. J. Food Sci. 52:1. 1987.

**RACKIS J.J., ANDERSON R.L. :**

In : Food Prod. Dev. 11(10):38. 1977.

**RAUN, CHENG and BURROUGHS :**

Phytates phosphorus hydrolysis and availability to rumen  
microorganisms. J.Agric.Food Chem. 4, 869. 1956.

REDDY N.R. :

Milling and biochemical characteristics of tritival. M.S. Thesis, Alabama A. and M. University. 1976.

REDDY N.R., SATHE S.K., PIERSON N.D. :

Removal of phytate from great northern beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its combined density fraction. J. of Food Science. 53:1, pp. 107-110. 1988.

REDDY N.R., SATHE S.K., SALUNKHE :

Phytate in cereals and legums. in : Adv. Food Res. 28, pp.1-92. 1982.

REDDY N.R. and PIERSON M.D.:

Isolation and partial characterization of phytic acid rich particles from great northern beans(*Phaseolus vulgaris*). J. of Food Science. 52:1, pp. 109-112. 1987.

REINHOLD J.G. :

Destruction du phytate par fermentation par les levures de la farine de blé entier. In : Journal of the American Dietetic Association. 1975.

RUSSELL J., ALLEN L. :

Estimation of phytate. Biochemical Journal, n° 34, pp. 858-865. 1940.

SAIO K. et al. :

In : Cereal Chem. 54:1171. 1977.

SATHE S.K., SALUNKHE D.K. :

Technology of removal of unwanted components of dry beans. CRC Critical Rev. in : Food Sci. and Nutr. Vol. 21, issue 3, 263-287. 1981.

**SIMO P. :**

Etude des facteurs physico-chimiques qui produisent une coloration des aliments renfermant de la farine de coton. Mémoire de D.E.S.S. Nutrition et Alimentation dans les Pays en Développement. USTL Montpellier III. 1987.

**SINGH M., KRIKORIAN A.D. :**

In : J. Agric. Food Chem. 30, 799-800. 1982.

**TABEKHIA M.M.and LUH B.S.:**

Effect of germination, cooking and canning on phosphorous and phytate retention in dry beans. J. of Food Science. 45, pp. 406-408. 1980.

**TAHA F.S., FAHMY M., SADEK M.A. :**

Proteine-Phytate à faible concentration isolée à partir de graines de sésame. J. Agri. Food Chem. 35:3, pp. 289-292. 1987.

**TANGENDJAJA B., BUCKLE K.A., WOOTTON M. :**

Analyse de l'acide phytique par chromatographie liquide à haute pression. J. of Chromatography, n° 197, pp. 274-277. 1980.

**THOMPSON L.U. :**

Réduction de la concentration d'acide phytique dans les isolats protéiques par les techniques d'acylation. JAOCS 64:12, pp. 1712-1717. 1987.

**THOMPSON L.U., YOON J. :**

In : J. Food Sci. 49:1228. 1984.

**UPPSTROM B., SVENSSON R. :**

Détermination de l'acide phytique dans la farine de colza. J. Sci. Food Agric, n° 31, pp. 651-656. 1980.

**VAINTRAUB I.A., LAPTEVA N.A. :**

Détermination colorimétrique du phytate dans des extraits non purifiés de graines et les produits de leur transformation. Analytical Biochemistry n° 175, pp. 227-230. 1988.

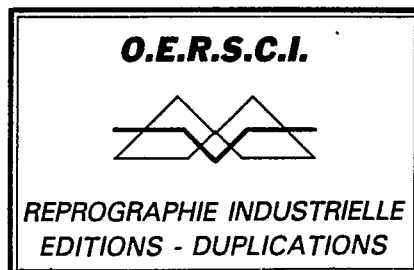
WHEELER E.L., FERREL R.E. :

Méthode de détermination de l'acide phytique dans le froment et dans les fractions de froment. American Association of Cereal Chemistry, vol. 48, pp. 312-320. 1971.

WOLF W.J., BRIGGS D.R. :

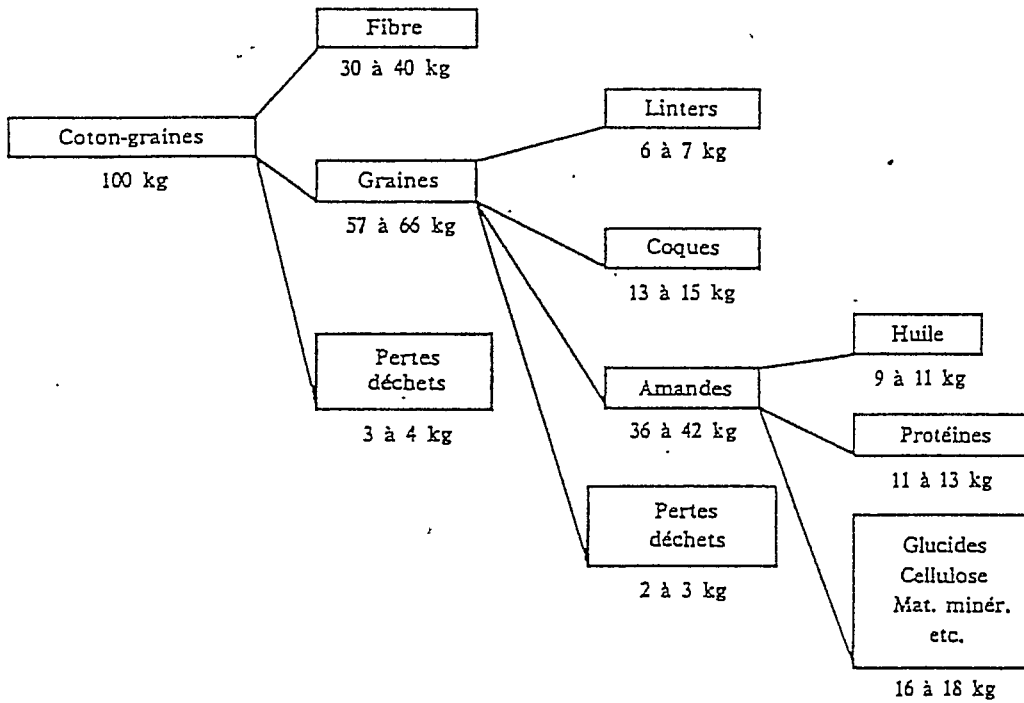
In : Arch. Biochem Biophys. 186,85.1959

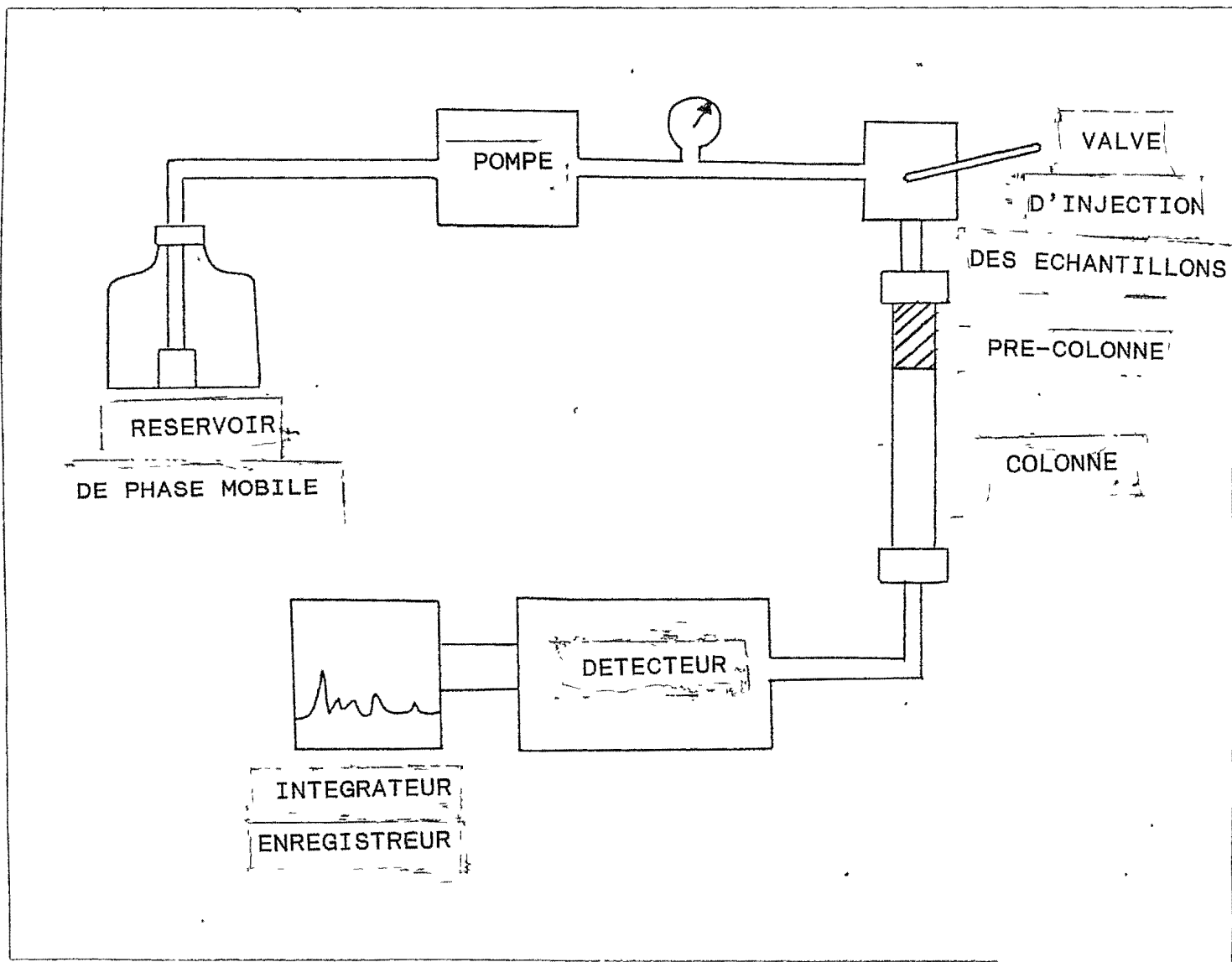
*Office d'Édition de la Recherche Scientifique  
et Coopération Internationale*



*Parc Modulopolis H 1 Zone Euromédecine  
Montpellier 67.52.20.05*

## UTILISATION DES COTON-GRAINES.





**fig.21 : Schéma du dispositif**

**HPLC.**



Handwritten scribbles and lines at the bottom of the page, possibly representing a signature or a set of initials.

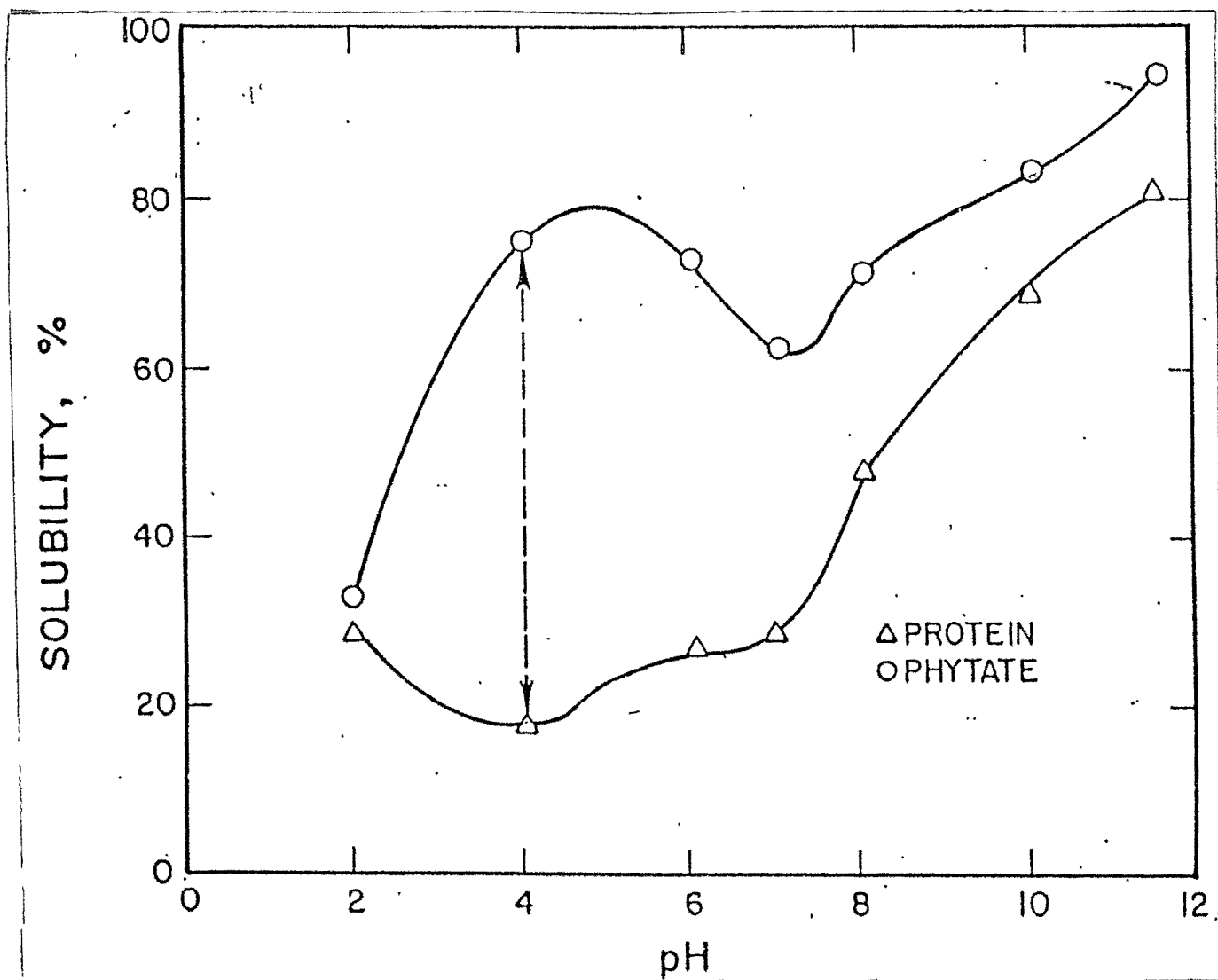


fig.20 : Effet du pH sur les solubilités des protéines et phytates de farine délipidée de coton. (CHOI , RHEE, 1980).



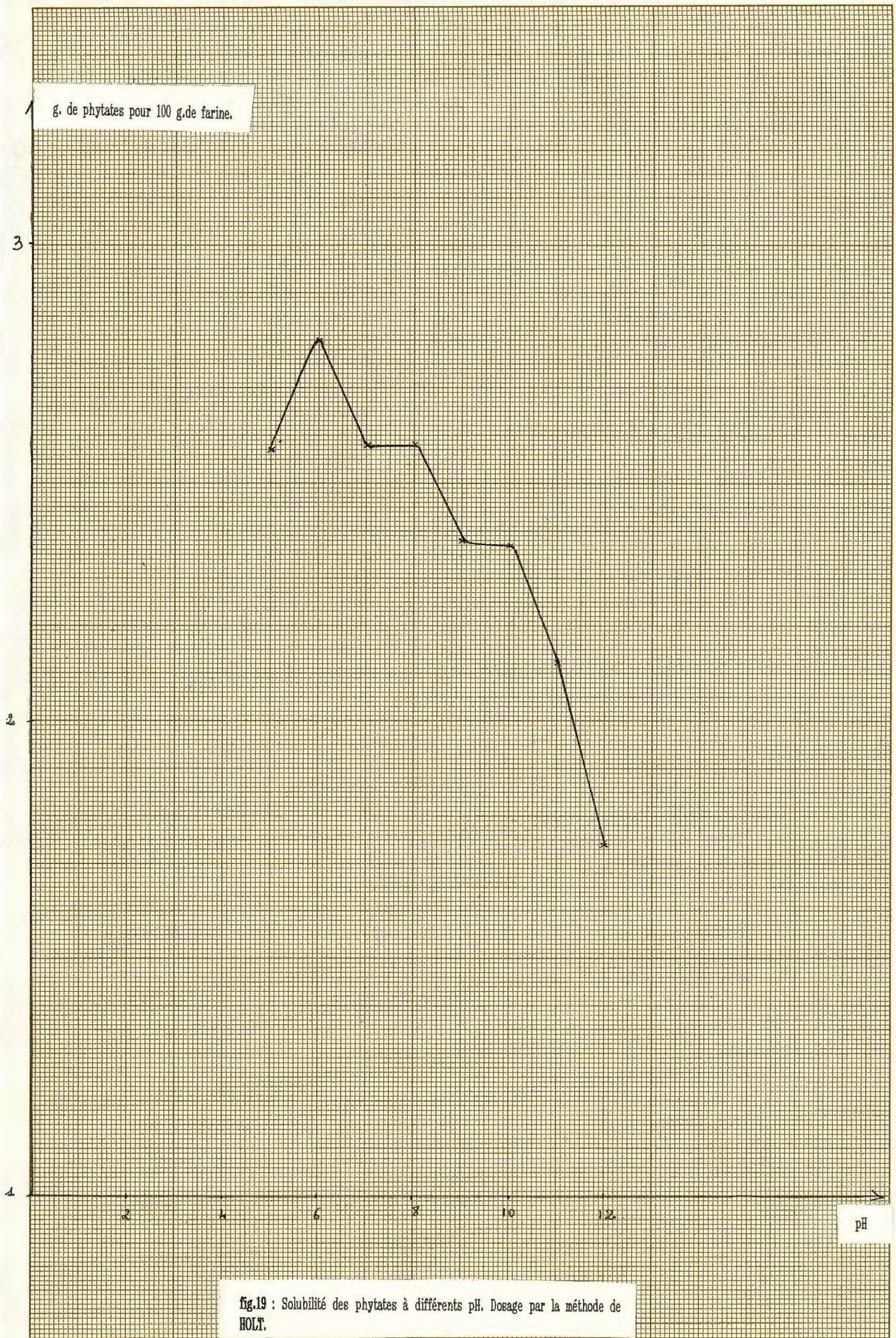


fig.19 : Solubilité des phytates à différents pH. Dosage par la méthode de HOLT.

Fig. 19.

solubilité des phytates à  
différents pH. Dosage  
par la méthode de HOLT.

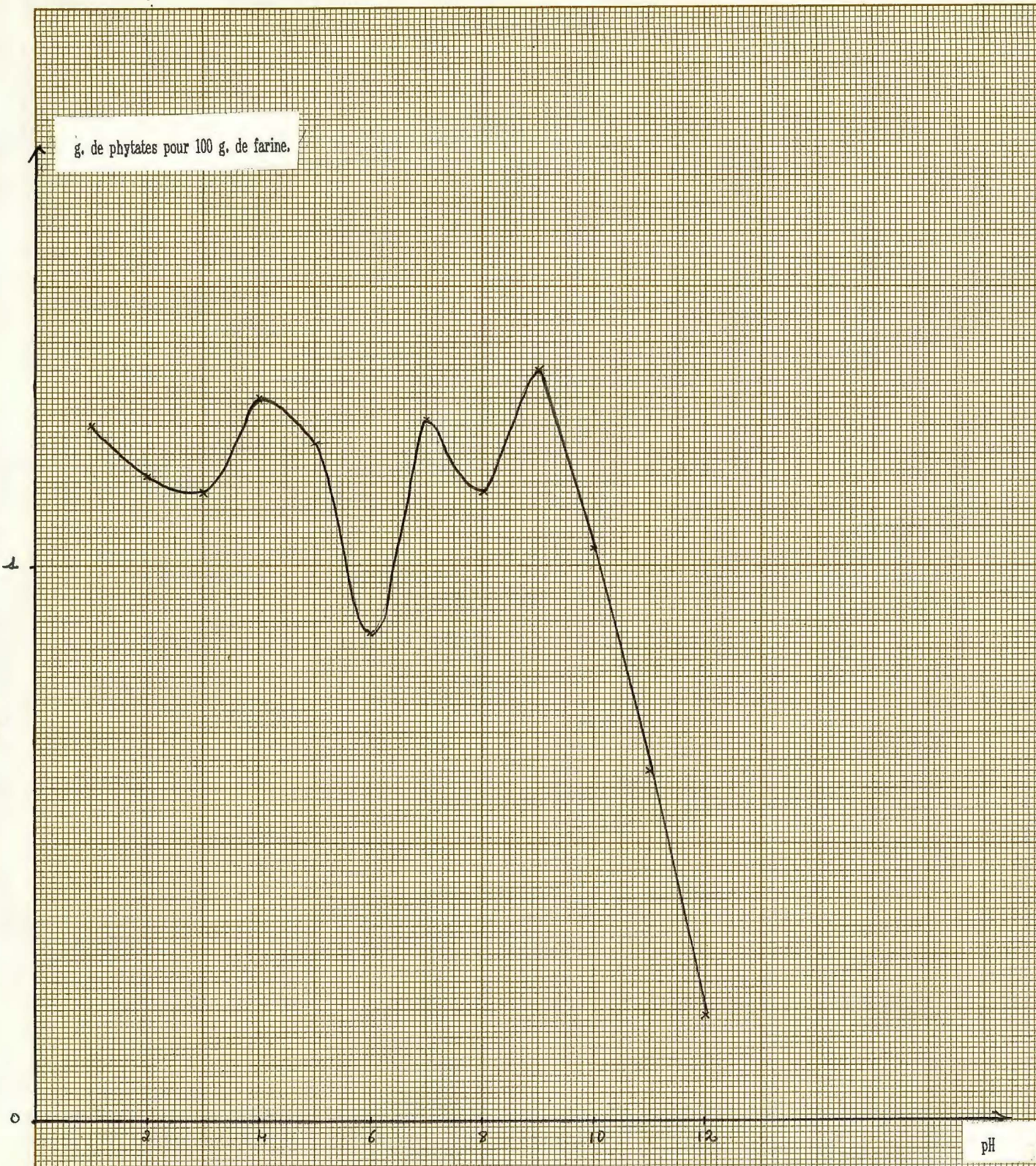


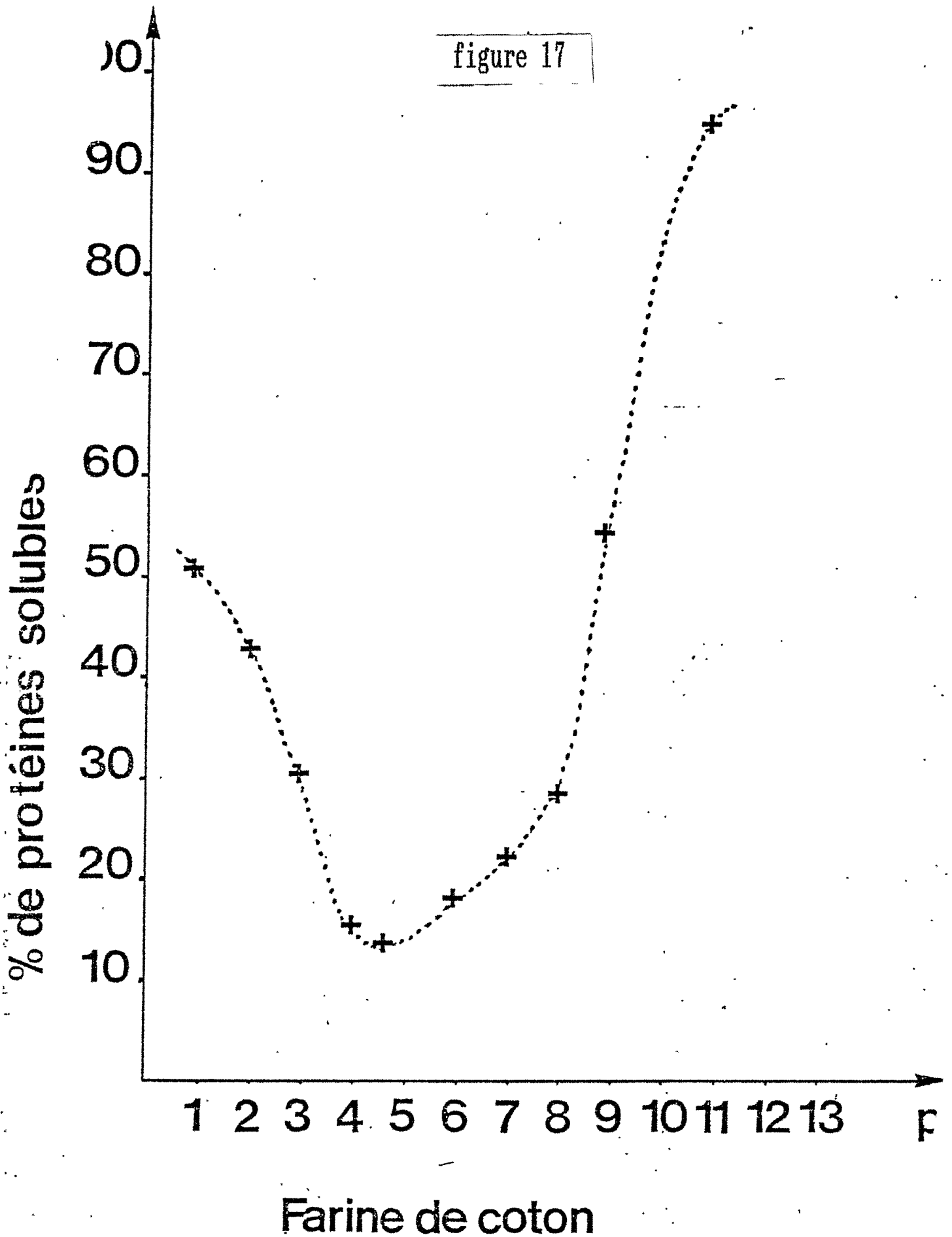
fig.18 : Solubilité des phytates à différents pH. Dosage par la méthode de LATA et ESKIN.

Fig. 18.

Solubilité des phylates  
à différentes pH

Dosage par la méthode  
de LATTA et ESKIN.

figure 17



### Solubilité des protéines à différents pH



fig.16 : Courbe-étalon de la méthode de Latta et Eskin.

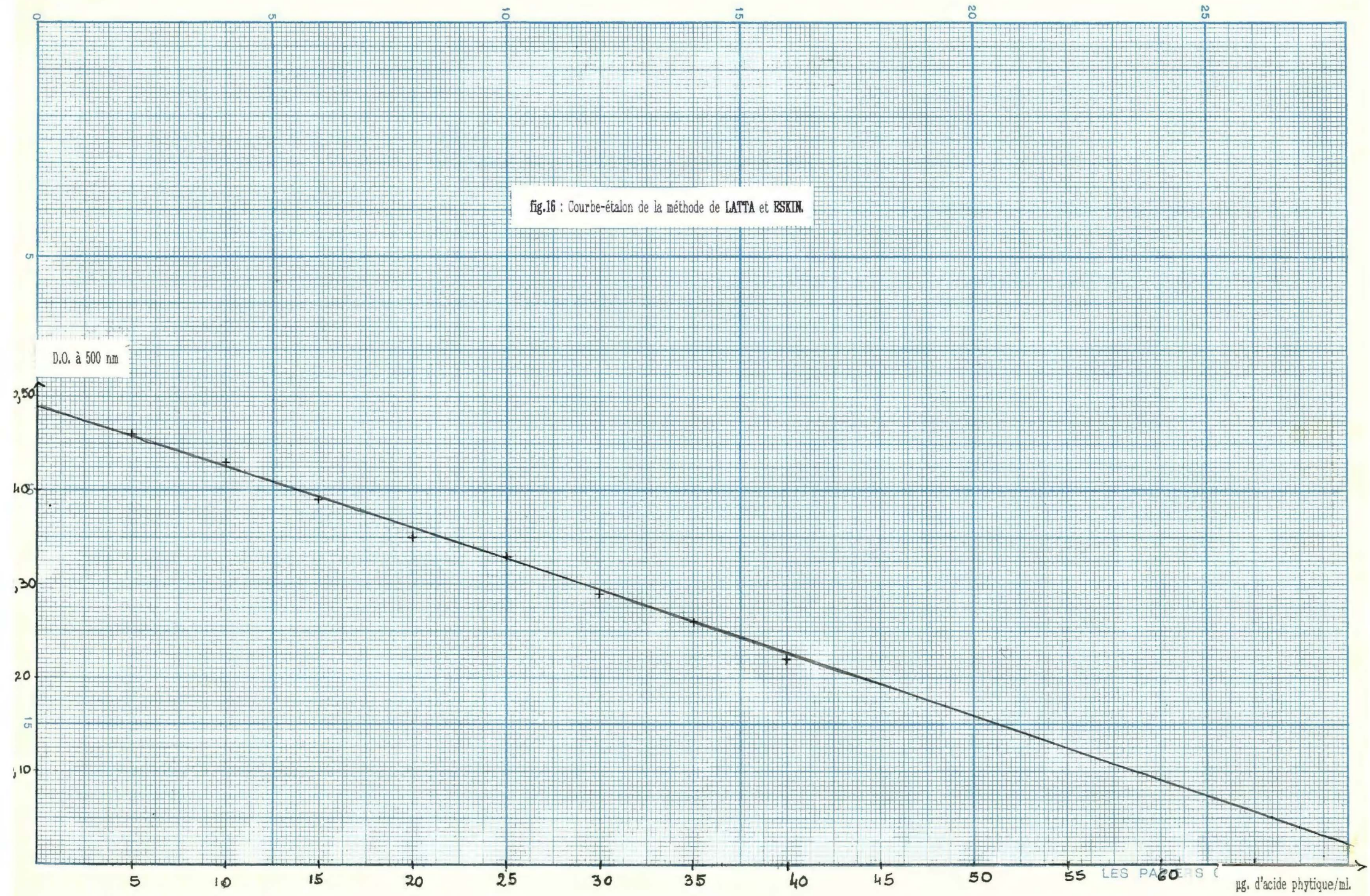


Fig 16

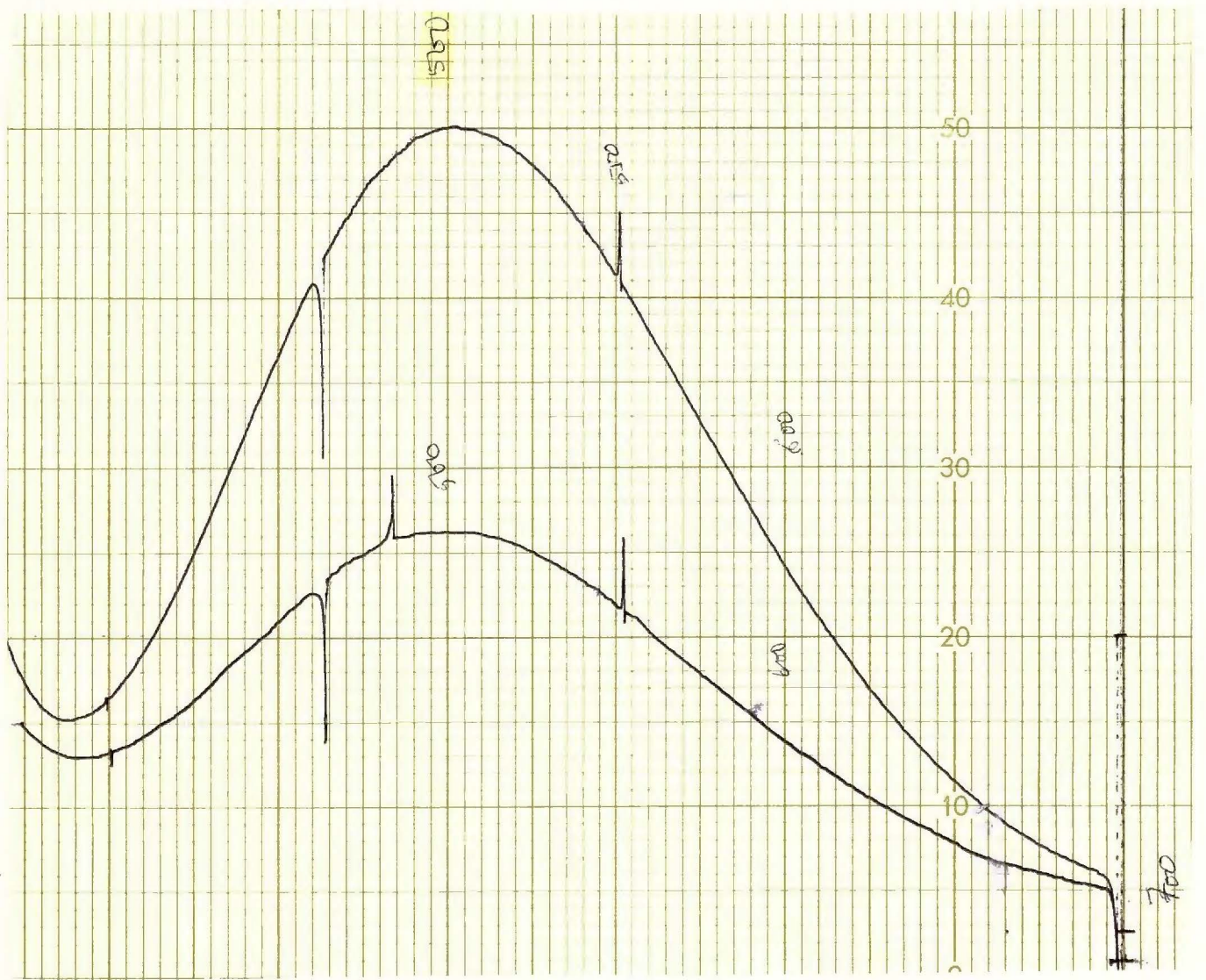


fig.15 : Spectre d'absorption maximal du réactif de WADE.

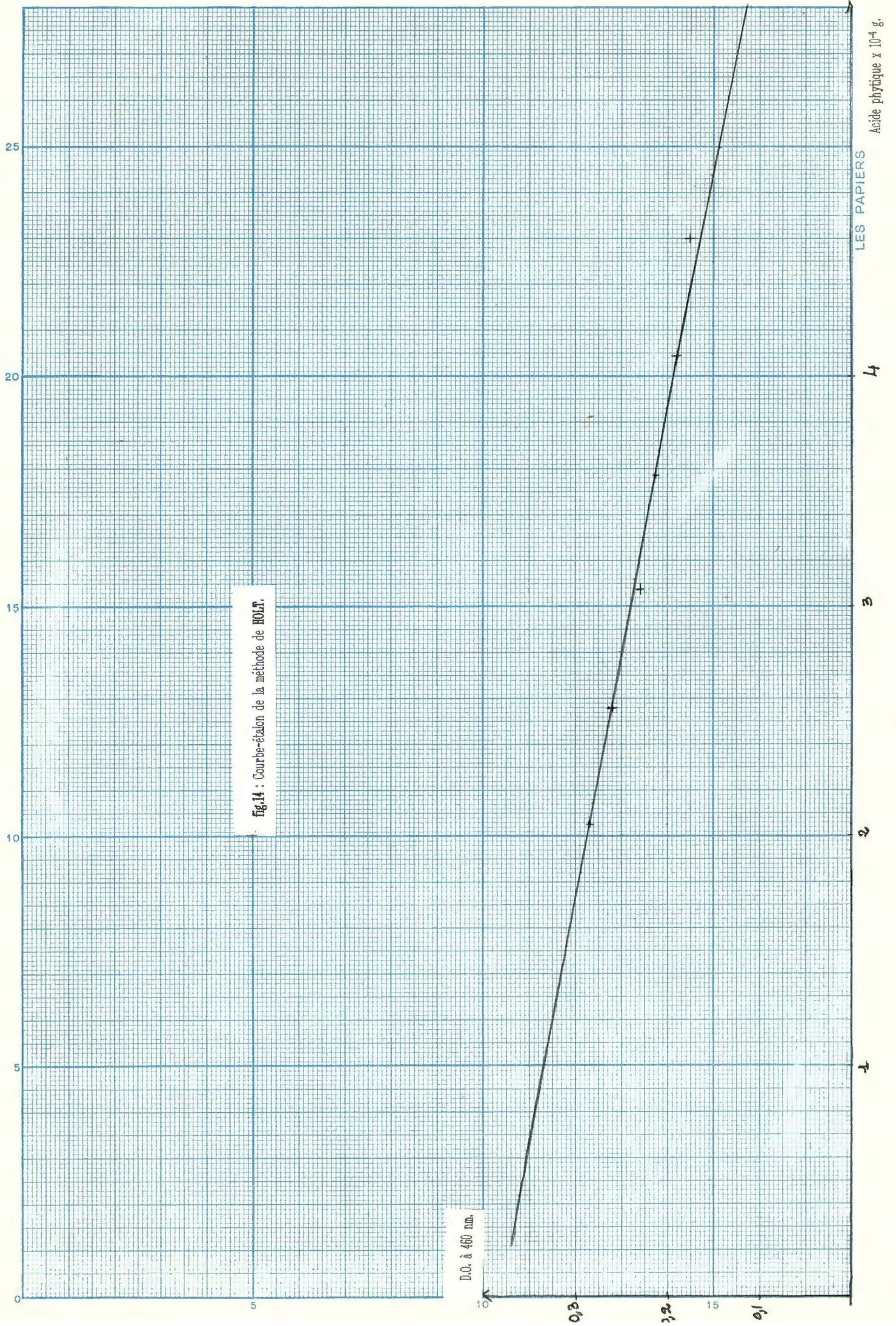


fig.14 : Courbe-étalon de la méthode de HOLT.

Fig. 14.

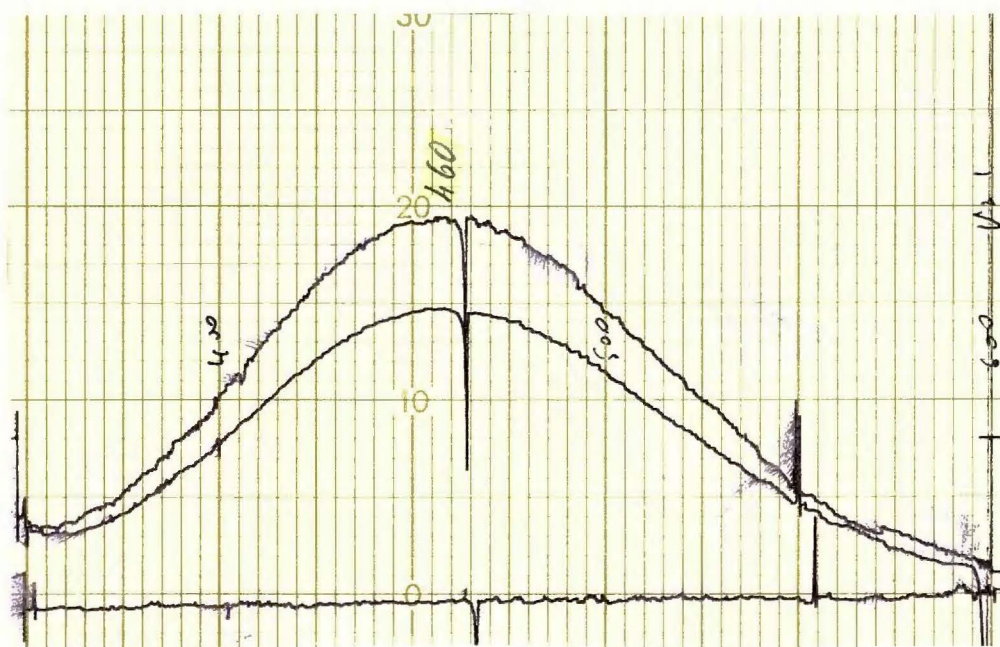


fig.13 : Spectre d'absorption maximale du reactif de HOLT.

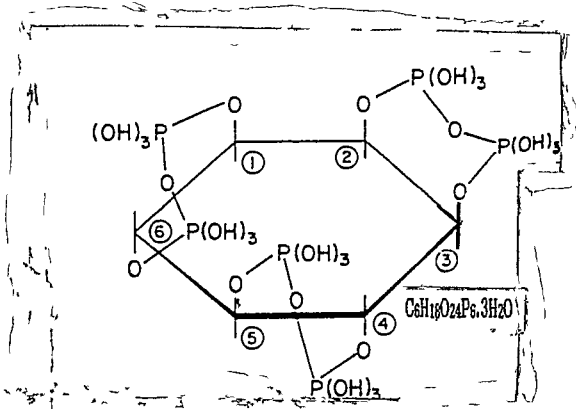
Comme il existe une compétition entre la formation des deux complexes, la concentration en phytates d'une solution donnée est inversement proportionnelle à la couleur, mesurée par la densité optique.

#### 4.2.1 Réactifs

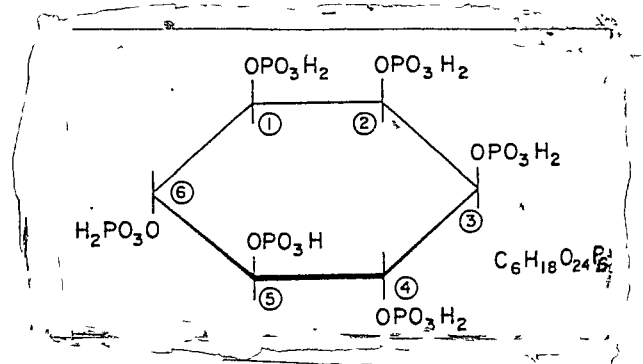
- Solution standard d'acide phytique à 40%
- Solution mère de fer, obtenue en dissolvant 1g de fer pur dans 25 ml d'acide nitrique concentré, complétée à 1 litre avec de l'eau distillée .
- Solution diluée de fer, obtenue en diluant 1 volume de solution stock de fer dans 25 volumes d'eau distillée .

### 3.2 Structure

De nombreux auteurs ont proposé une structure pour l'acide phytique mais celles qui sont généralement admises sont celles de NEUBERG (1908) et d'ANDERSON (1914) :

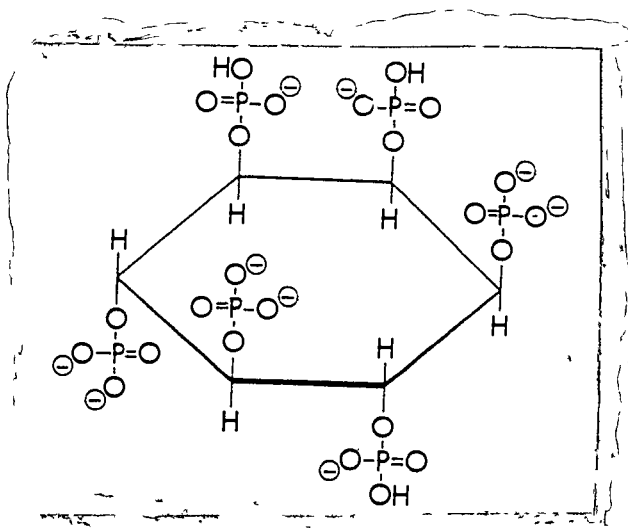


NEUBERG

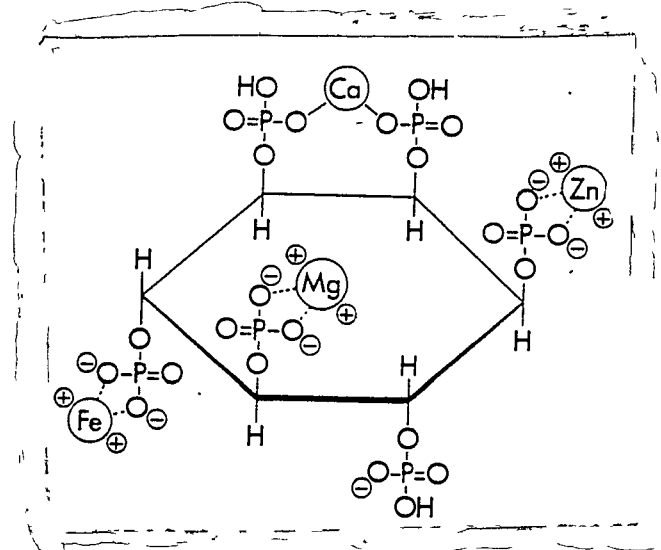


ANDERSON

Plus récemment, ERDMAN (1979) propose les structures de l'acide phytique et de l'acide phytique chélaté à pH neutre basées sur celle d'Anderson :



ACIDE PHYTIQUE



ACIDE PHYTIQUE CHELATE

### III) Les phytates

#### 3.1 Généralités

Les phytates constituent une forme de réserve de Phosphore, d'Inositol et de cations .

Les phytates de la graine du cotonnier sont répartis dans l'amande, au niveau des grains d'aleurone (fig.11). Ceux-ci sont concentrés dans des substructures (cristalloïdes ou globoïdes) à l'intérieur de protéines membranaires SAIO et al. (1977) ; LUI et ALTSCHUL (1967) rapportent que ces globoïdes de grains d'aleurone (fig.11) contiennent 60% d'acide phytique, et 10% de métaux.

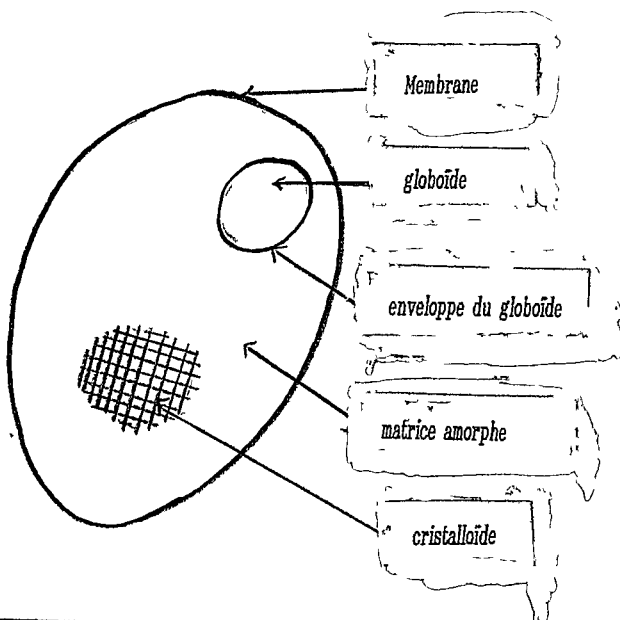


fig.11 : Schéma d'un corps protéique. (REDDY et al.)

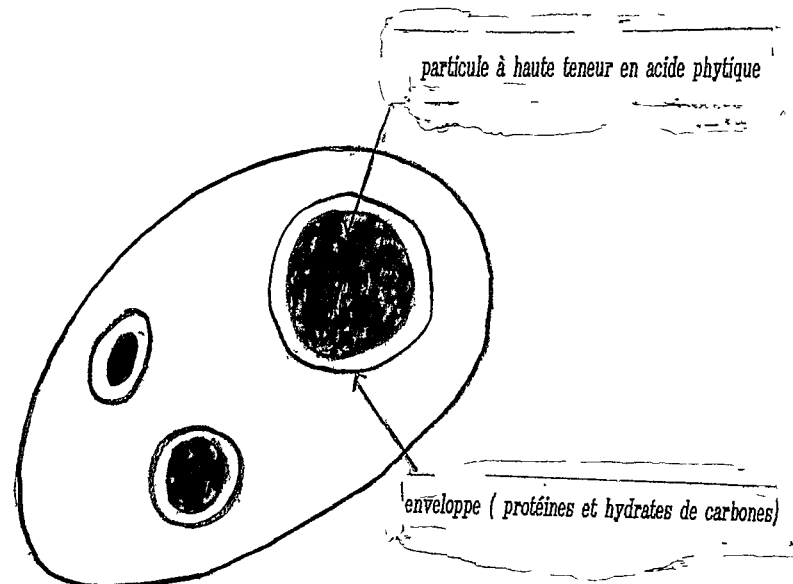


fig.12 : Schéma d'un grain d'aleurone avec des inclusions (riz). (REDDY et al.)

Le contenu en acide phytique des graines oléagineuses varie de 2 à 5,20% ; cette proportion dépend des variétés de plantes, des conditions climatiques et de l'endroit où la plante est cultivée ; REDDY et al. (1982). Plus particulièrement, la farine de coton contient 4,42% à 4,43% de phytates selon BESANCON et al, 1985, et 4,4% selon HAN, 1988.



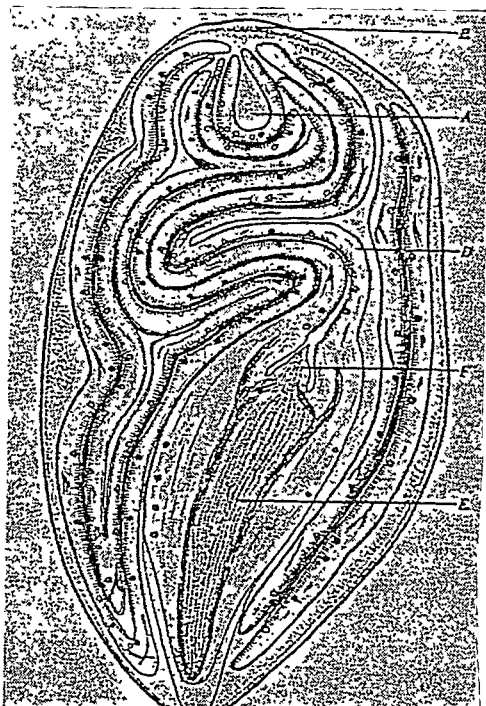


fig.10 : Section longitudinale d'une amande mûre de coton. A: endosperme. B: nucelle. D: cotylédon. E, F: Embryon (d'après BAILEY).

## 2.2 Une nouvelle ressource alimentaire

La graine des cotonniers a été longtemps considérée comme sous-produit du coton - fibre intervenant dans la fabrication textile ; actuellement, elle pourrait pourtant constituer une nouvelle source alimentaire du fait des protéines et des lipides qu'elle contient.

Le cotonnier constitue la cinquième plante oléagineuse du monde, après le soja, le palme, le tournesol et le colza, avec plus de trois millions de tonnes d'huile alimentaire produite annuellement, et la deuxième ressource mondiale de protéines végétales, après le soja, avec plus de onze millions de tonnes de tourteaux, utilisés essentiellement pour l'alimentation des bovins .



fig.3 : *Gossypium barbadense* L.  
 A: plante. C: cotylédon. D: bouton floral. E: capsule verte. J: capsule mûre.

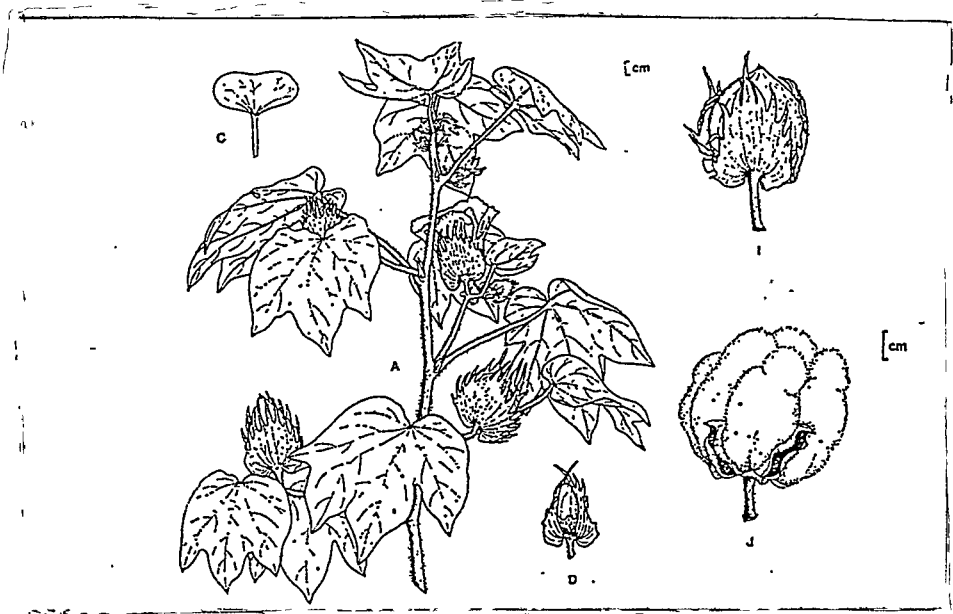


fig.4 : *Gossypium hirsutum* L.  
 A: plante. C: cotylédon. D: bouton floral. E: capsule verte. J: capsule mûre.

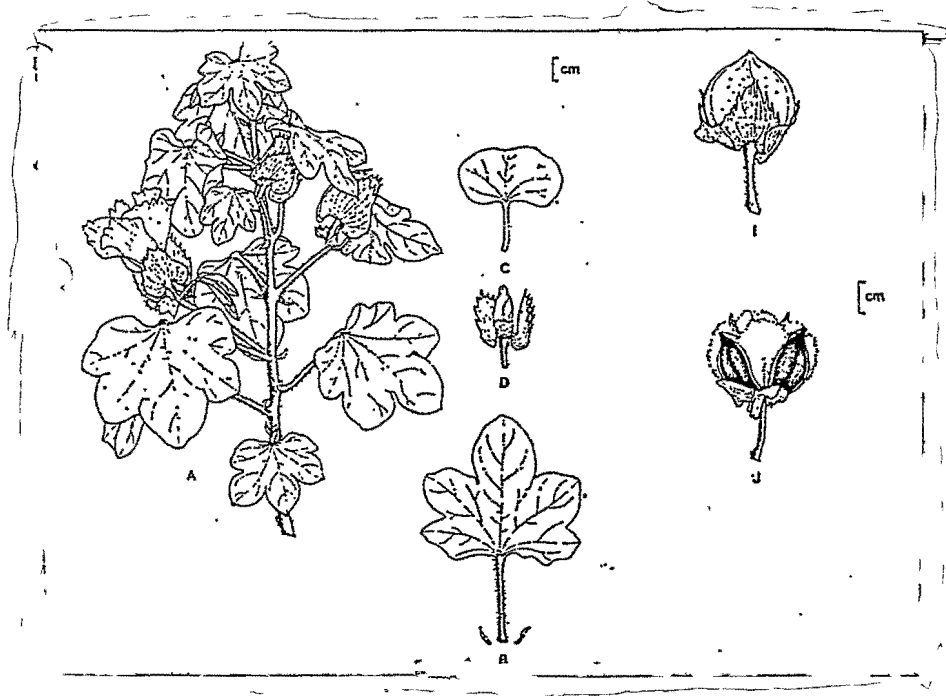


fig.1 : *Gossypium herbaceum* L. A: plante, B: feuille, C: cotylédon, D: bouton floral, E: capsule verte, J: capsule mûre

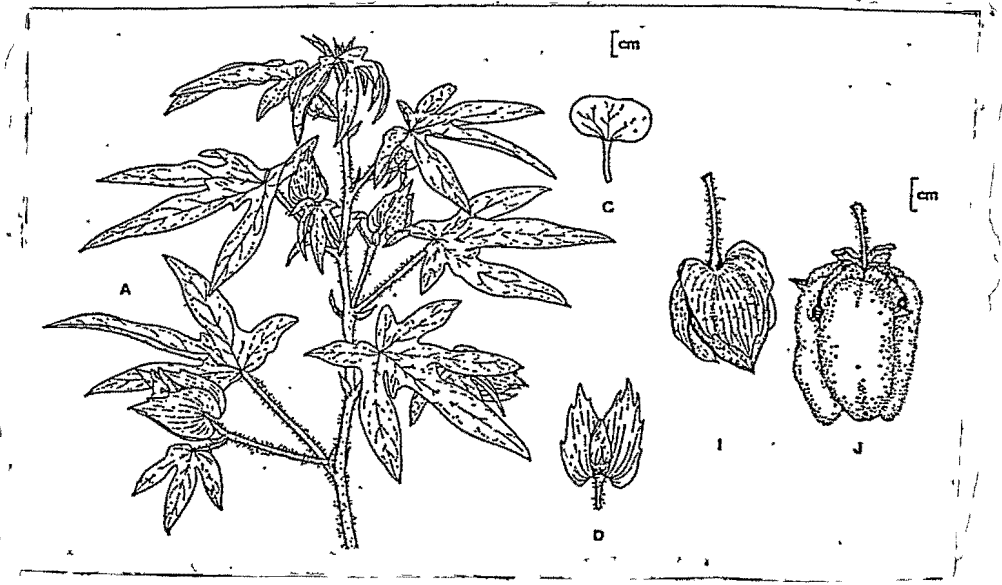


fig.2 : *Gossypium arboreum* L. A: plante, C: cotylédon, D: bouton floral, E: capsule verte, J: capsule mûre.

1944  
1945  
1946  
1947  
1948  
1949  
1950  
1951  
1952  
1953  
1954  
1955  
1956  
1957  
1958  
1959  
1960  
1961  
1962  
1963  
1964  
1965  
1966  
1967  
1968  
1969  
1970  
1971  
1972  
1973  
1974  
1975  
1976  
1977  
1978  
1979  
1980  
1981  
1982  
1983  
1984  
1985  
1986  
1987  
1988  
1989  
1990  
1991  
1992  
1993  
1994  
1995  
1996  
1997  
1998  
1999  
2000  
2001  
2002  
2003  
2004  
2005  
2006  
2007  
2008  
2009  
2010  
2011  
2012  
2013  
2014  
2015  
2016  
2017  
2018  
2019  
2020  
2021  
2022  
2023  
2024  
2025