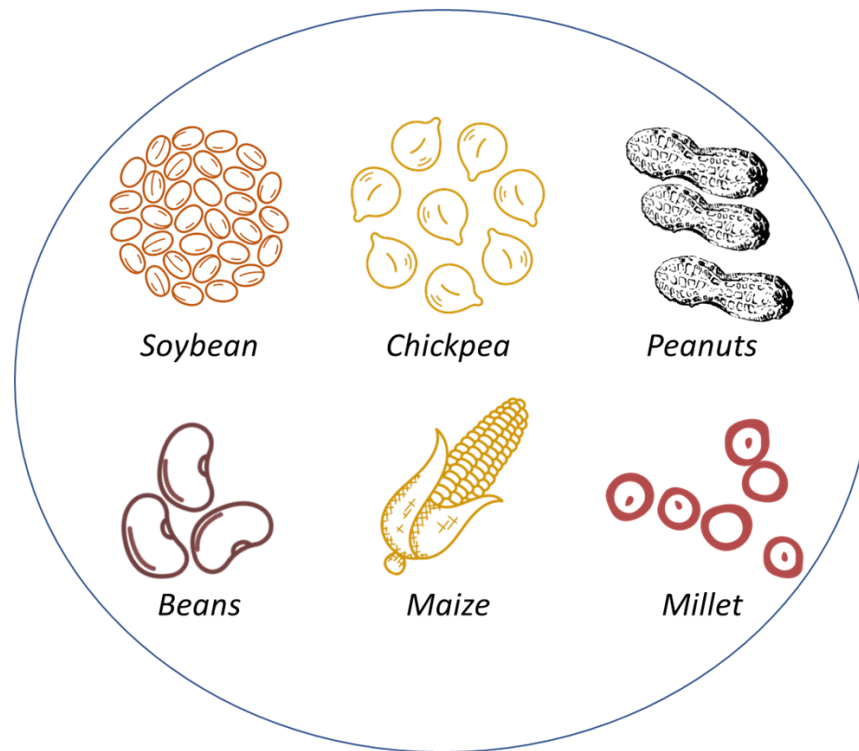


Restitution des travaux de recherche : Facteurs antinutritionnels (FAN)



Facteurs antinutritionnels : Quels composés et sources

Facteurs antinutritionnels (FAN)	Sources
Composés phénoliques 1. Tannins 2. Isoflavones	Légumineuses (Soja, lentilles, pois chiche, arachide, haricots)
Protéines 3. Inhibiteur de trypsine 4. Lectines 5. Inhibiteur d'alpha-amylase, 6. Index uréase	Céréales (Blé, Orge, avoine, mil, maïs, sorgho) Pseudo-céréales (quinoa, teff, amarante)
Glycosides 7. Saponines 8. Alpha-galactosides	Noix (Amandes, Cajou, pistache,
Autres molécules 9. Phytates 10. Cyanide 11. Oxalates 12. Goitrigènes	Graines oléagineuses (sésame, tournesol, lin, courge) Tubercules (patate douce, manioc, igname...) Solanacées (tomate, pomme de terre, piment, aubergine)



FAN prioritaires - NUTRISET

① Priorité établie par UNICEF

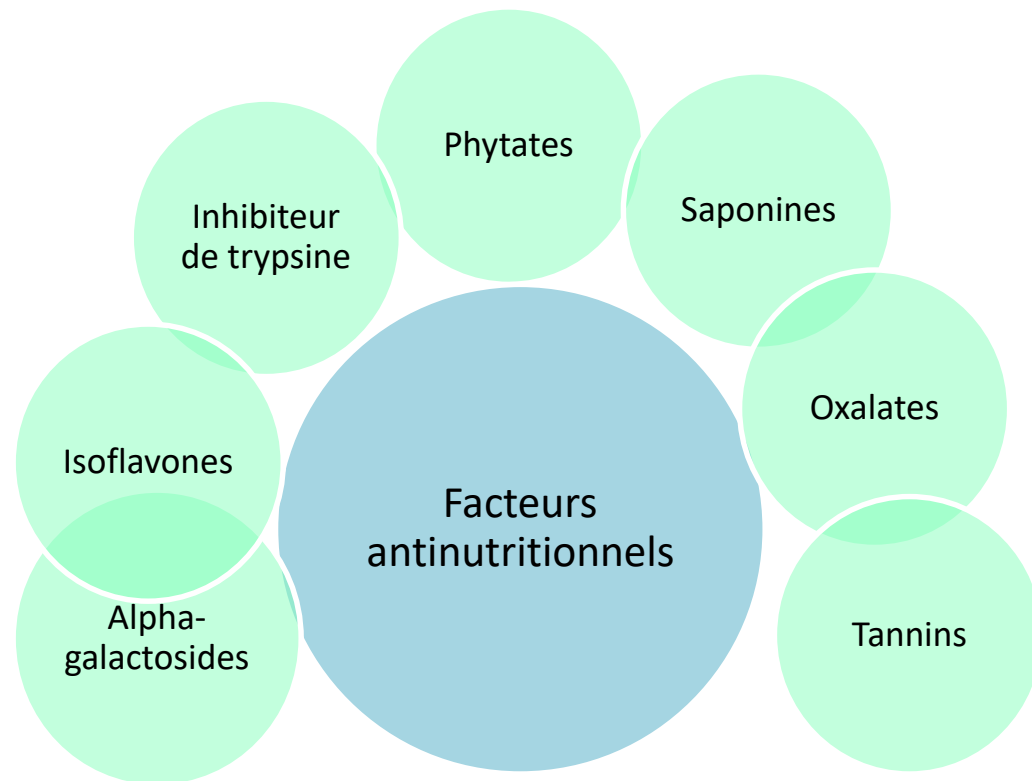
PRIORITÉ
N°1

- Facteurs anti-trypsiques
- Saponines
- Phytates
- Tanins
- ~~Glucosides cyanogènes~~
- Oxalates
- ~~Index uréase~~
- Isoflavones
- **Alpha-galactosides**

PRIORITÉ
N°2

- Lectines
- Inhibiteurs de l' α -amylase
- ~~Alpha-galactosides~~
- Goitrigènes
- **Glucosides cyanogènes**

③ Liste des FAN prioritaires retenus (7 FANs)



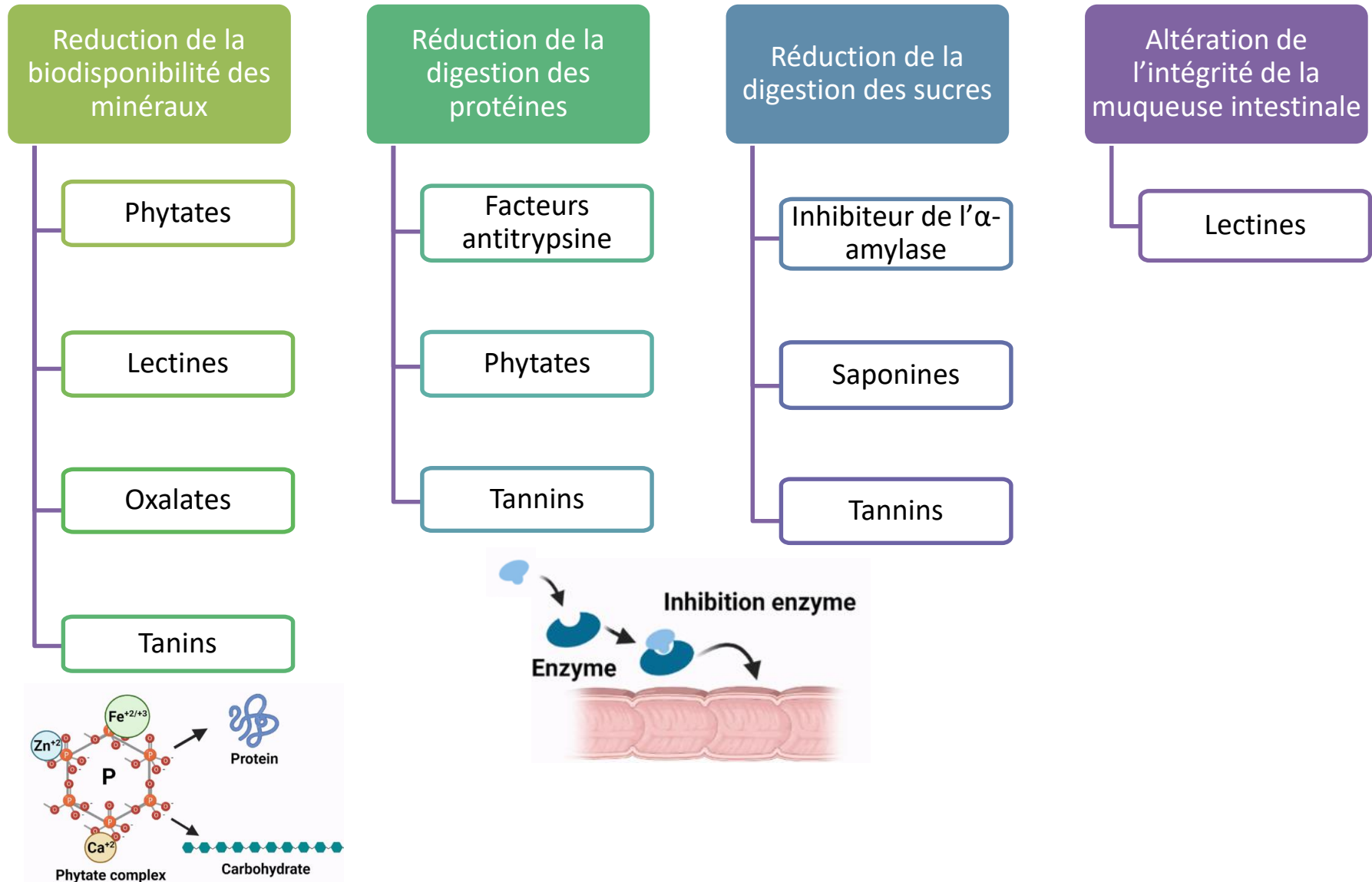
② Réorientation de l'ordre de priorité de certains FAN (R&D NUTRISET)

☐ **Glucosides cyanogènes** : non retrouvés dans le soja et les arachides

☐ **Alpha-galactosides** : manque d'information teneurs, seuils maximum et impact procédé

☐ **Index uréase** : pas un FAN mais indicateur de l'intensité d'un traitement thermique

Facteurs antinutritionnels : Impact physiologique



Problématique de recherche

❑ Résultats fournis par différents laboratoires : Exemple phytates

Echantillons	Phytates*	Méthode	Laboratoire
Mil (Gambie)	150	Enzymatic kit (total phytates)	NUTRISET (intern lab)
	509	Ferric precipitation (total phytates)	Victor Raboy
Mil (Niger)	56	HPLC-MS (IP6)	Murcia University (Spain)
	467 ± 90	Enzymatic kit (total phytates)	NUTRISET (intern lab)
	487	HPIC (IP6)	JFRL (Japan)
SQ-LNS + phytase	125	HPIC (IP6)	JFRL (Japan)
	262	Ferric precipitation (total phytates)	Victor Raboy

*mg/100g MS

① *Problème de fiabilité des méthodes d'analyses*

❑ Seuils de consommation sans effet nocif

FAN	Seuil
Phytates	Ratio molaire :
	Phy/Fe < 1
	Phy/Zn < 5
	Phy/Ca < 0,17
Autres FANs	Seuil fixé par des études cliniques
	(Problème de consensus)

② *Manque d'information sur les seuils maximums de consommation*

Problématique de recherche

❑ Stratégies de réduction des facteurs antinutritionnels

Décortilage

- Tannins

Toastage

- Inhibiteur de trypsine
- Glycosides cyanogènes
- Oxalates
- Lectines
- Alpha-galactosides

Autoclavage

- Inhibiteur de trypsine
- Lectines

Trempage

- Phytates
- Oxalates
- Isoflavones
- Lectines

Germination

- Phytates
- Alpha-galactosides

Fermentation

- Phytates
- Tannins
- Glycosides cyanogènes
- Lectines
- Alpha-galactosides

Hydrolyse enzymatique

- Phytates
- Alpha-galactosides

Cuisson - Ebullition

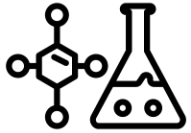
- Inhibiteur de trypsine
- Oxalates
- Isoflavones
- Lectines
- Alpha-galactosides

Cuisson à vapeur

- Oxalates

③ *Quelle est l'efficacité des procédés*

Axes de recherche sur les FAN



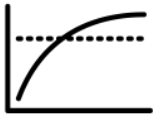
Utiliser des méthodes d'analyse des FAN fiables

Axe 1 :
Méthodes
analytiques



Evaluer l'impact des procédés sur certains
FAN dans les matières premières

Axe 2 : Procédés
de réduction



Comblar le manque de connaissance sur les
seuils maximum des FAN

Axe 3 : Seuils de
consommation

Historique des travaux : NUTRISET



Proposition de collaboration
avec GAIN et l'université de
Copenhague

Projet LNS phytase

Note technique d'un comité
d'experts initié par UNICEF en
2019

Evaluation des teneurs en FAN :
Aliments consommés (Afrique
et Asie), RUF et céréales
infantiles

Reduction des phytates dans le
SQ-LNS et dans l'**aliment de
complément** (bouillie de mil) par
ajout phytase pour améliorer
l'absorption du zinc.

Demande aux producteurs de
RUTF de quantifier des FAN –
Utilisation de ses valeurs comme
seuils à ne pas dépasser

Projet non démarré

2010

2011-
2014

2015-
2018

2020

Projet Marguerite :

Etude de l'impact de ≠ procédés pour réduire les FAN*
(soja, mil, maïs, riz, lentilles corail) :

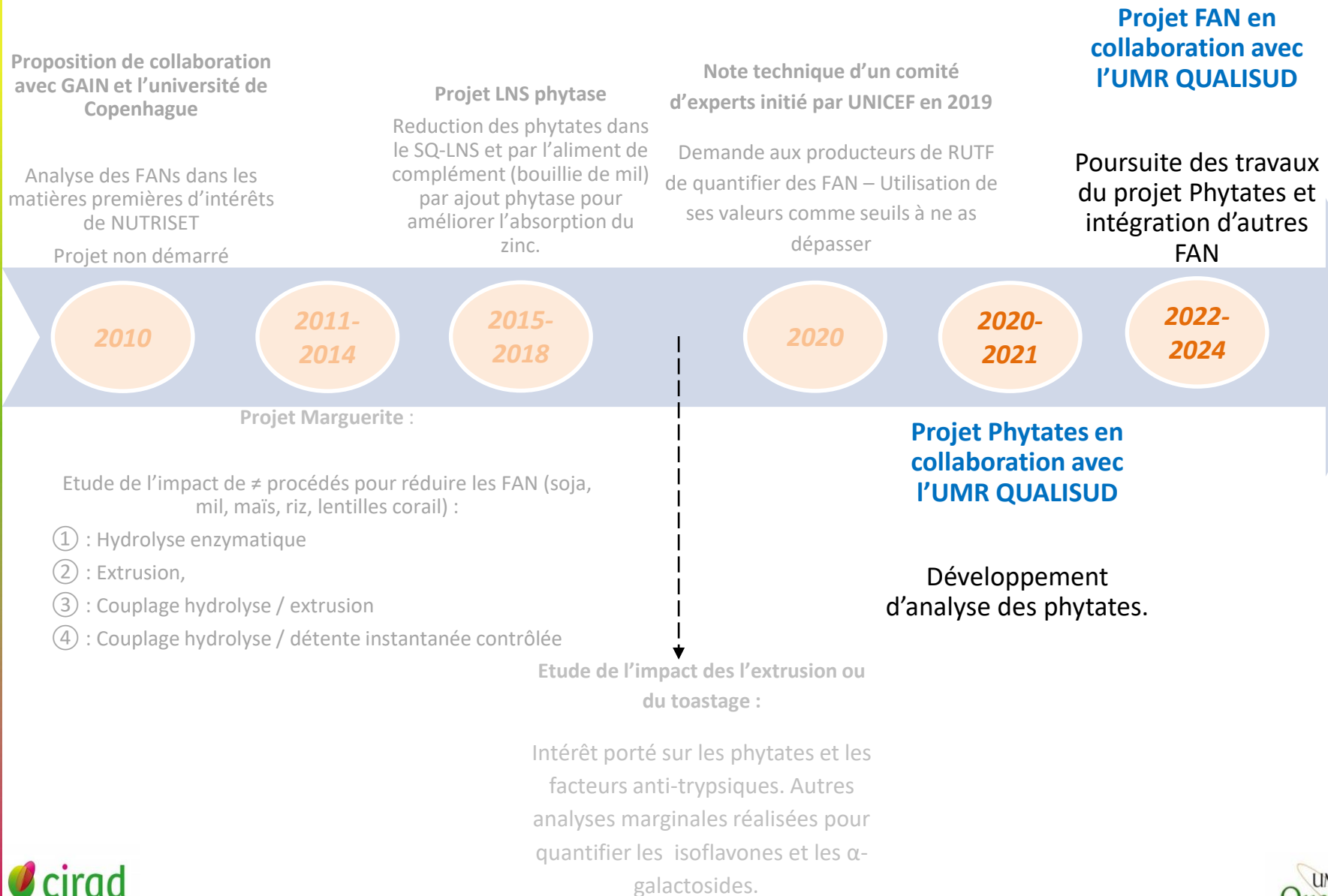
- ① : Hydrolyse enzymatique
- ② : Extrusion,
- ③ : Couplage hydrolyse / extrusion
- ④ : Couplage hydrolyse / détente instantanée contrôlée.

*phytates, inhibiteur de protéase ...

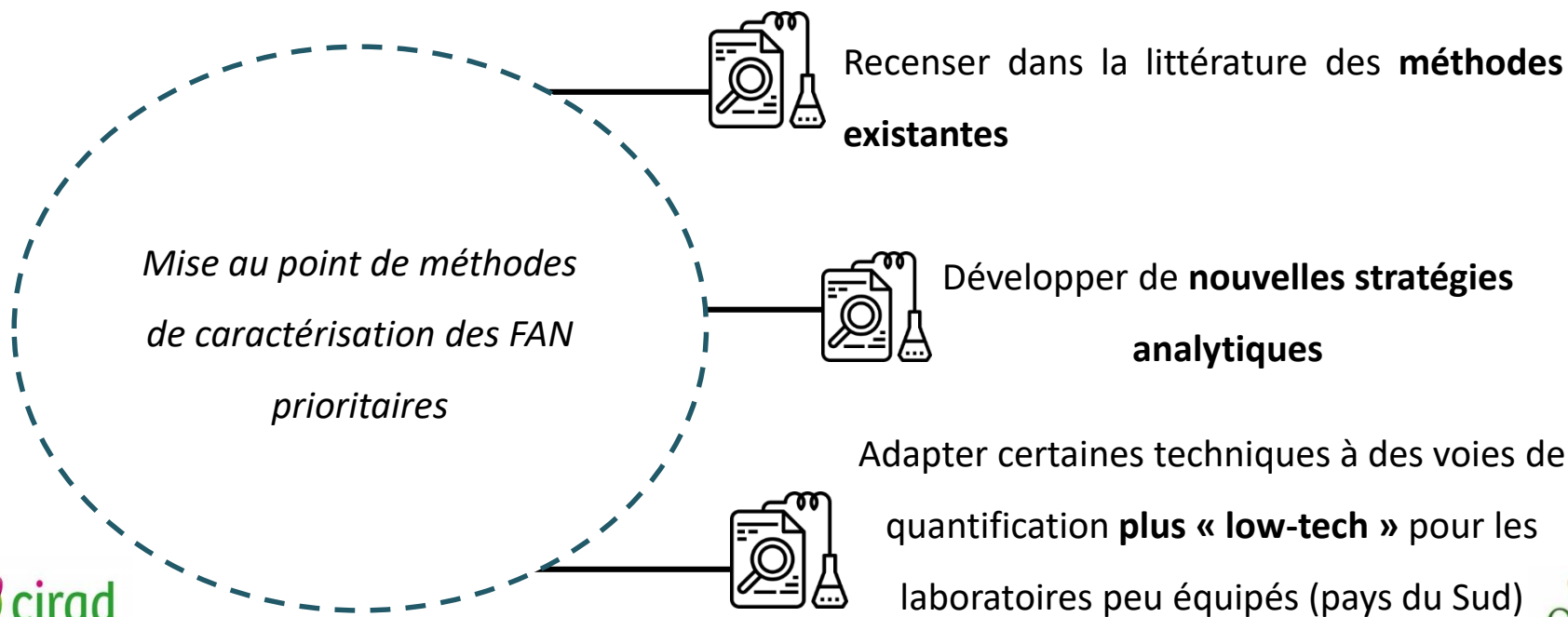
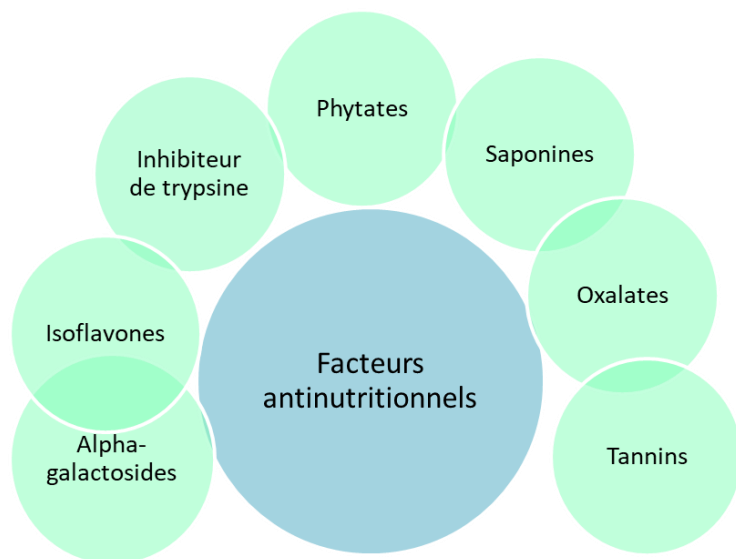
Etude de l'impact des l'extrusion ou
du toasting :

Intérêt porté sur les **phytates et les
facteurs anti-tryptiques**. Autres
analyses marginales réalisées pour
quantifier les **isoflavones et les α-
galactosides**.

Historique des travaux : Collaboration CIRAD-NUTRISET



Activités des projets PHYTATES et FAN





Méthode d'analyse des phytates dans les matières premières et produits finis

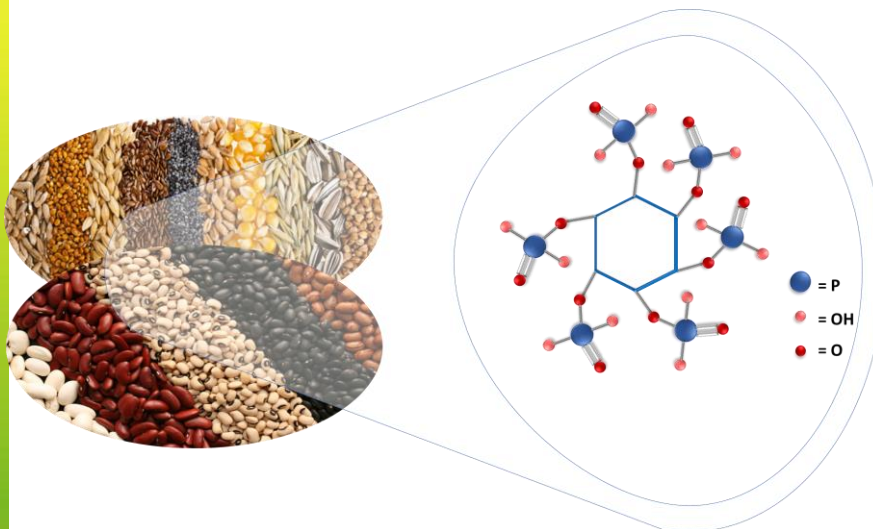
*Lorène Akissoe^{1,2}, Adrien Servent^{1,2}, Christian Mertz^{1,2},
Pascale de Saint Priest³, Maxime Bohin³*

¹ Qualisud, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier SupAgro, Université d'Avignon, Université de La Réunion, Montpellier, France.

² CIRAD, UMR QualiSud, F-34398 Montpellier, France

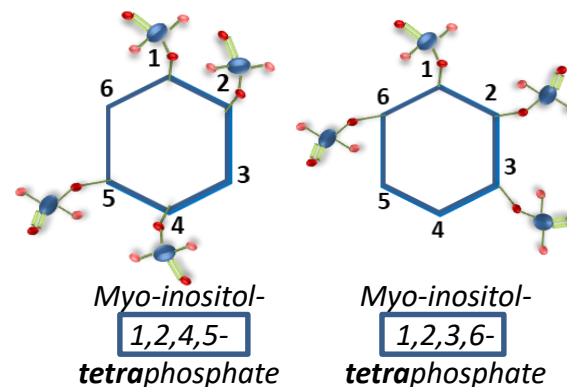
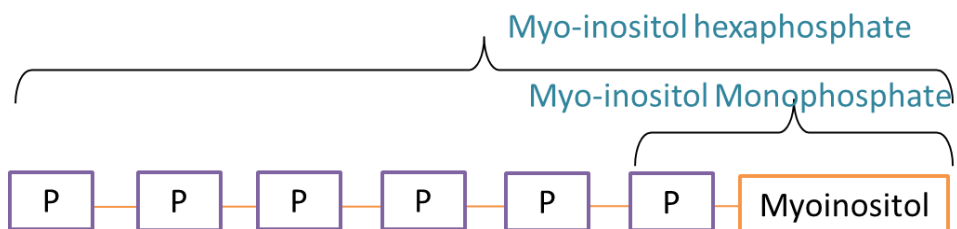
³ Nutriset S.A.S., Malaunay, France

Structure et types de phytates



- **Myo-inositol hexaphosphate (IP6)** : Acide phytique
- **Myo-inositol mono à pentaphosphate (IP1 à IP5)**
- **IP1 à IP5** : plusieurs isomères, **63 au total** (*Chen and Li, 2003*))

Phytates : 60–80% des phosphates totaux



16 méthodes HPLC recensées dans la littérature et testées

Méthodes	Phases Mobile	Détecteur	Température colonne (°C)	Débit (mL · min ⁻¹)	Volume d'injection (μL)	Référence
Méthode avec colonne C18	0.05M CH ₂ O ₂ : MeOH (49: 51) + 1.5% TBA-OH pH 4.3 adjusted with H ₂ SO ₄ 9M	UV (220 nm, 280 et 360 nm)	30	0.7	20	(Fredlund et al., 1997; Sandberg & Ahderinne, 1986)
	0.012M CH ₂ O ₂ : MeOH (48.5: 51.5) + 0.8% TBA-OH pH 4.3 adjusted with H ₂ SO ₄ 9M		45	0.7	20	(Burbano et al., 1995; Centeno et al., 2001)
	H ₂ O : ACN (90: 10) + 0.1% TBA-OH pH 4.3 adjusted with CH ₂ O ₂		45	0.7	20	
	H ₂ O : MeOH (49: 51) + 0.1% TBA-OH pH 4 adjusted with CH ₂ O ₂		45	0.7	20	
	0.02M CH ₂ O ₂ : ACN (53: 47) + 0.4% TBA-OH pH 4.3 adjusted with H ₂ SO ₄		25	1	20	(Lehrfeld, 1994)
	(A) ACN (B) H ₂ O + TBA-OH 2% pH 5.4 (C) H ₂ O + TBA-OH 0.5% pH 5.5 (D) H ₂ O + TBA-OH 0.01% pH 4.4		25	1	20	
HILIC	(A) H ₂ O and (B) ACN	UV (220 nm, 280 et 360 nm)	25	0.7	10 or 2	(Patel et al., 2016)
	(A) H ₂ O pH 4 adjusted with H ₂ SO ₄ 9M and (B) ACN		25	0.7	10 and 2	
	(A) ACN and (B) H ₂ O		25	0.4	10 and 2	
	(A) H ₂ O and (B) ACN		25	0.4	10	
	CH ₂ O ₂ 0.2% (A) et ACN (B)		25	0.4	10	
	(A) H ₂ O + TBA-OH 10 Mm + 0.5% CH ₂ O ₂ (B) H ₂ O:ACN (30:70) + TBA-OH 10 Mm + 0.5% CH ₂ O ₂		25	0.4	10	
par échange d'anions	(A) Tampon carbonate de sodium pH 9 à 0.015 M (B) MeOH:H ₂ O (5:95)	Réfractométrie (RID)	25	0.4	10	(Lee & Mitchell, 2019)
	(A) Tampon carbonate de sodium pH 9 à 0.2 M (B) MeOH:H ₂ O (5:95)		25	0.4	10	
par appariement d'ions	0.035M CH ₂ O ₂ : ACN (57: 43) + 0.4% TBA-OH pH 4.3 adjusted with H ₂ SO ₄	Réfractométrie (RID)	25	0.6	20	(Lehrfeld, 1994)
	0.035M CH ₂ O ₂ : MeOH (44: 56) + 0.4% TBA-OH pH 4.3 adjusted with H ₂ SO ₄ 72%	Réfractométrie (RID)	40	0.6 et 0.7	20	(Lehrfeld, 1994)

Influence du pH des phases mobiles

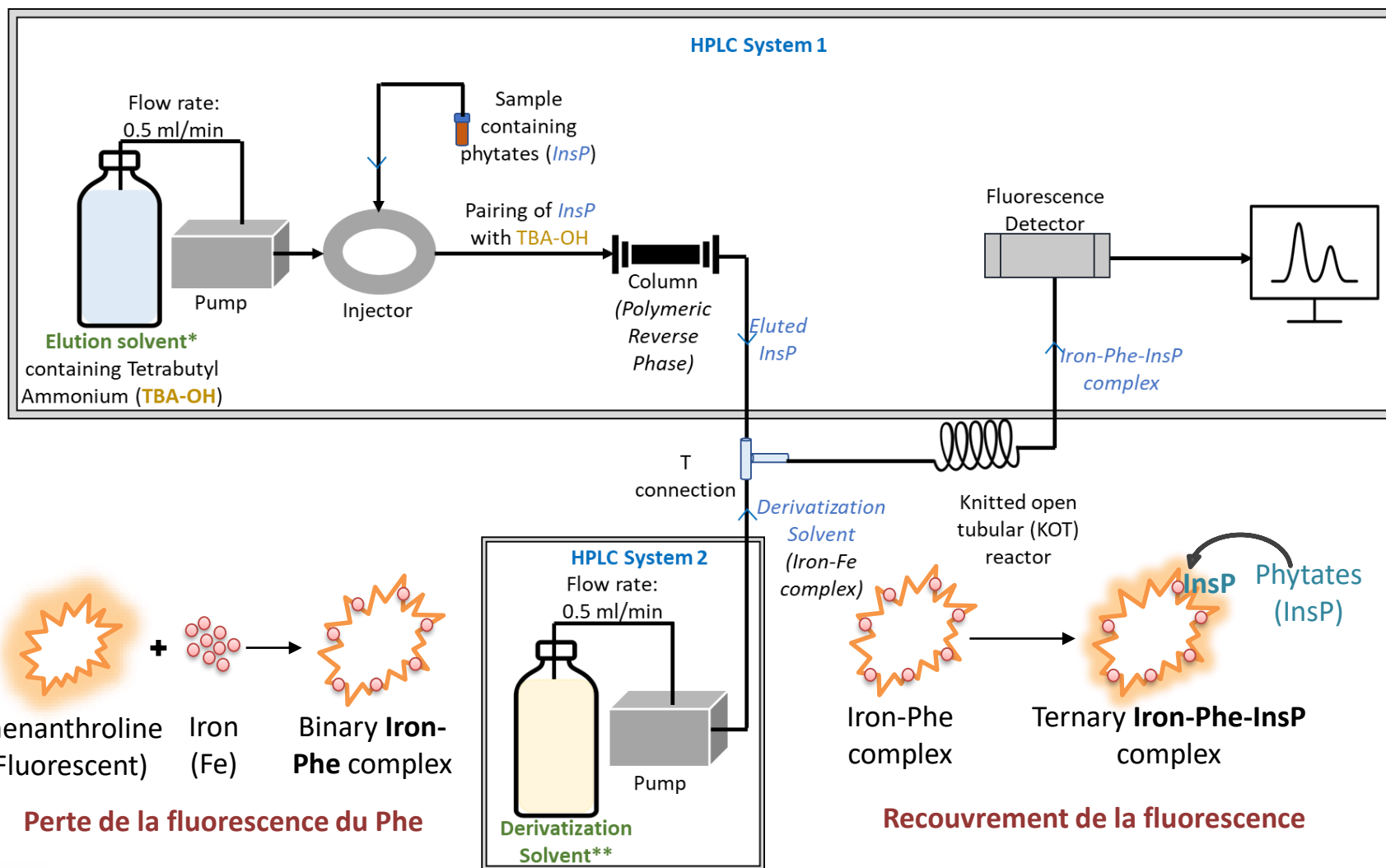
Problème d'élution des phytates

Méthode choisie

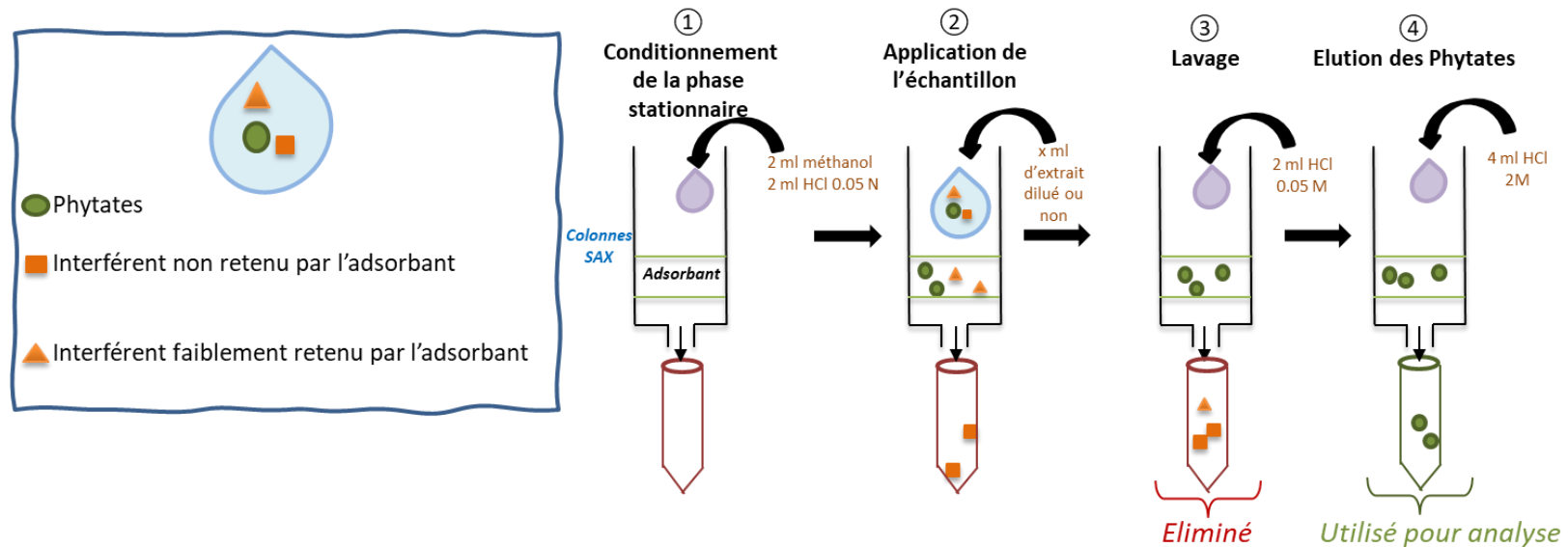


Chromatographie par appariement d'ions- Dérivatisation post-colonne (Détection par Fluorescence, HPLC-FLD)

Modification de la méthode spectrophotométrique avec le complexe **Fer-Phenanthroline (Fe-Phe)** Chen et al. (2009)



☐ Analyse échantillons : Extraction acide + Nécessité de purification sur cartouche SAX



☐ Analyse des phytates par d'autres méthodes existantes : Comparaison

HPLC-RID (Chromatographie par appariement d'ions)

- Chromatographie liquide par appariement d'ions
- Détection par réfractométrie

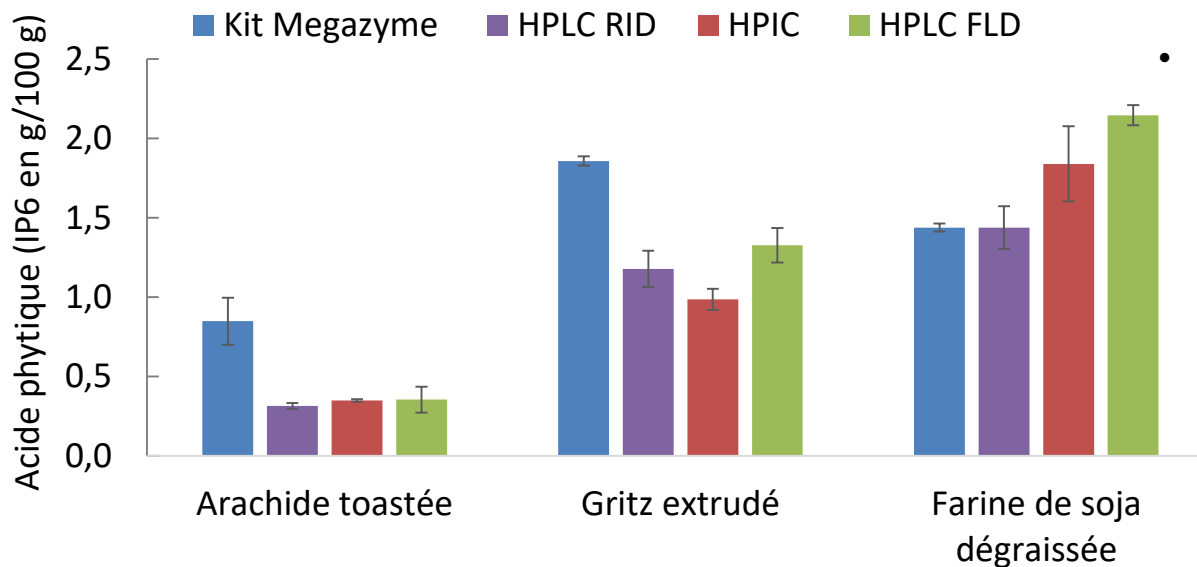
HPIC (Chromatographie ionique)

- Chromatographie ionique
- Détection par conductimétrie

Kit MEGAZYME (méthode spectrophotométrique)

- Dégradation enzymatique des phytates en phosphates
- Réaction colorimétrique à 655 nm

☐ Teneurs en acide phytique (IP6) déterminées par toutes les méthodes



- Sur/sous-estimation kit vs méthodes HC
=> **Même procédé d'extraction** mais
étape de purification de l'échantillon
supplémentaire pour méthodes HC,

- Méthodes HC plus
spécifiques

- Résultats significativement corrélés entre les méthodes
chromatographiques (**HPLC-FLD** vs HPLC-RID + **HPLC-FLD** vs HPIC)

- Faible corrélation entre les données obtenues avec la méthode
spectrophotométrique et la nouvelle méthode (**HPLC-FLD** vs kit
Megazyme)

Avantages et limites des méthodes



Kit MEGAZYME

Données
reproductibles

- Durée d'analyse
- **Non spécifique :**
Dégradation de
tous les phytates
en phosphate
- **Risque de
sur/sous
estimation**

HPIC

- Résolution du pic
d'IP6
- Sensibilité

- Séparation
d'autres
composés
- **Identification
des isomères de
IP1 à IP5**
- Forte variabilité
avec échantillons
non purifiés

HPLC-RID

Simple et rapide

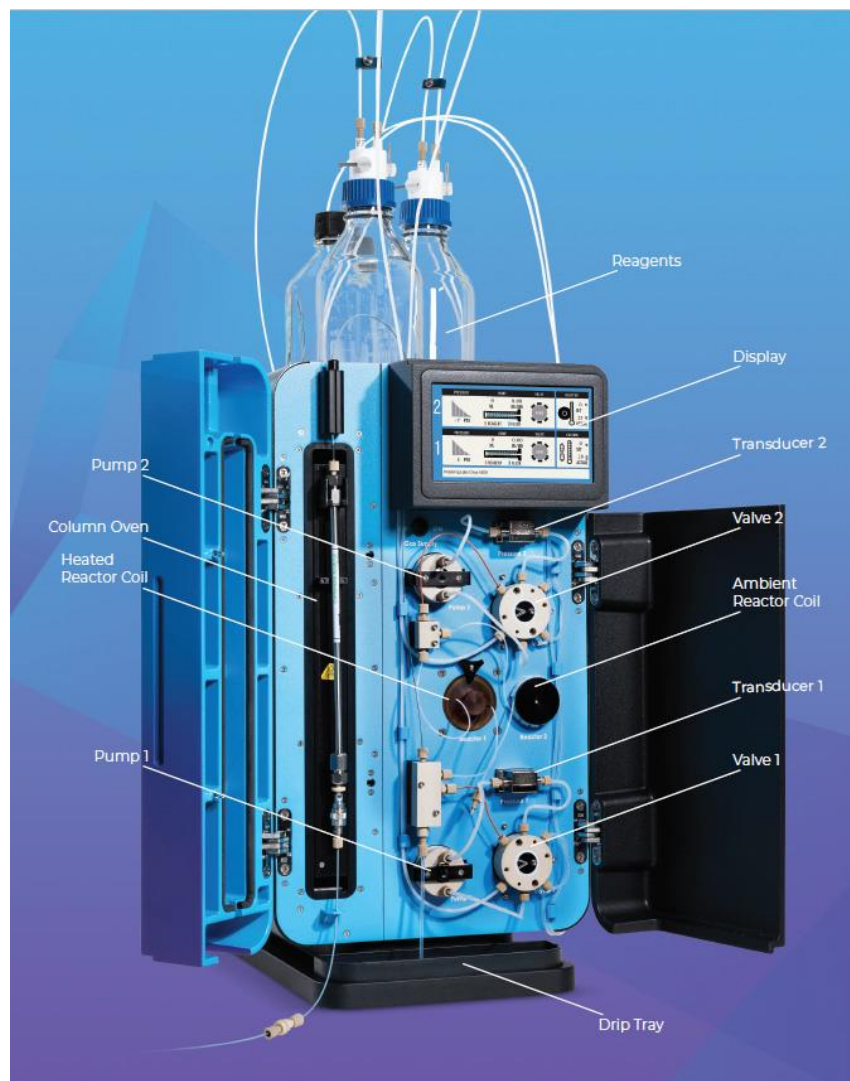
- **Présence de pics
parasites (Ex
Sucres)**
- **Pics négatifs**
- Limite de
détection élevée
par rapport au
HPLC-FLD

HPLC-FLD

- **Spécifique aux
phytates**
- **Pas de pics
parasites**

Système interne
nécessitant un
contrôle pendant
l'analyse

Système de dérivation commercialisé



<https://www.pickeringlabs.com/products/analysis-products/post-column-instruments/>

Système de dérivation automatique
type Pickering (entre 5 et 10 K€)

Données tous les échantillons (nouvelle méthode HPLC-FLD)

Type échantillon	Echantillons	IP6* obtenu	IP6 théorique*
Matières premières	Arachide toastée – fournisseur 1	0,35 ± 0,08	
	Arachide toastée – fournisseur 2	0,35 ± 0,08	
	Arachide toastée – fournisseur 3	0,39 ± 0,01	
	Farine de soja dégraissée - 13/11/2018	2,00 ± 0,10	
	Farine de soja dégraissée – fournisseur 1	1,63 ± 0,05	
	Farine de soja dégraissée – fournisseur 2	2,15 ± 0,06	
	Farine de soja dégraissée – fournisseur 3	2,09 ± 0,54	
Produits finis (RUTF)	ENB+	ND	0,07
	Plumpy'Mum (MISAME)	0,04 ± 0,01	0,453
	Plumpy Nut	0,03 ± 0,0	0,08
Produits non extrudés	Gritz de soja – 17/11/22	1,38 ± 0,16	
	Mix Soja/maïs	1,25 ± 0,02	
Produits extrudés	Gritz extrudé – 31/01/23	1,06 ± 0,16	
	Mix Soja/maïs extrudé	1,21 ± 0,03	

* : IP6, g/100 g

Valeurs obtenues ne seraient pas adéquation avec valeurs théoriques

- Phytates dégradés au cours du procédé industriel ? *Bilan matière : Suivi de teneurs en phytates*
- Influence du premix sur la méthode d'analyse ? *Analyse RUTF avec/sans premix prévue*

Suite projet -Identification de composés à analyser

FAN	Echantillons	Mérieux	Up Sciences	Phytocontrol	Eurofins FR	CIRAD
Inhibiteur de trypsine TIU/g	Arachides		600	500	< 1000	
	Soja		3400	3200	< 1200	
	Pois chiches	X	11100	12300		X
	Maïs		1000	1500	X	
Saponines en mg/g	Arachides			1,5	1,6 ± 0,3	
	Soja			6,5	4,6 ± 0,6	
	Pois chiches	X	X	4,3	3,4 ± 0,03	X
	Maïs			4,2	3,3 ± 0,3	
Tanins en mg/kg	Arachides	1160 ± 120		1220	2810 ± 661	
	Soja	2090 ± 210		2180	3960 ± 916	
	Pois chiches	721 ± 72	X	1110	1880 ± 451	X
	Maïs	345 ± 35		383	1740 ± 420	
Oxalates en mg/kg	Arachides		1003 ± 201		856 ± 171	
	Soja		373 ± 75		300	
	Pois chiches	X	71 ± 14	X	<200	X
	Maïs		219 ± 44		200	
Isoflavones	Arachides	0,451	< 0,5	ND	106	
	Soja	1823,6 ± 141,6	3020,69	0,112	2930	
	Pois chiches			ND	32,3	X
	Maïs	X	X	ND	38	
Alpha-galactosides raffinose (en %)	Arachides		< 0,1	0,084	0,06	
	Soja		1,39 ± 0,11	1,79	1,39	
	Pois chiches	X	0,4	0,46	0,35	X
	Maïs		0,13 ± 0,01	0,164	0,1	
Alpha-galactosides stachyose (en %)	Arachides		0,56	0,583	0,62	
	Soja		4,38 ± 0,35	6,1	5,2	
	Pois chiches	X	1,67	1,78	1,86	X
	Maïs		< 0,10	< 0,001	< 0,05	
Phytates en g/100g MS	Arachides					0,35
	Soja					1,55
	Pois chiches	X	X	X		
	Maïs					

Activités réalisées chez NUTRISET

- ☐ Revue de littérature méthodes analytiques : Oxalates
- ☐ Revue de littérature méthodes analytiques : Tannins
- ☐ Rédaction article scientifique : Méthode analytique phytates
- ☐ Recensement données FANs : Tableau de scoring des matières premières - NUTRISET

Scoring MP 2023.xlsx - Excel

Rechercher

Lorene AKISSOE LA

Fichier Accueil Insertion Mise en page Formules Données Révision Affichage Développeur Aide XLSTAT Conception de la table Partager

B1 : Matière première

	A	B	AS	AT	AU	AV	AW
	Type de MP	Matière première	NUT - FAN - Facteurs anti-trypsiques (UTI/g)	NUT - FAN - alphagalactosides (raffinose + stachyose, en g/100g)	NUT - FAN - Phytates (totaux, en g/100g)	NUT - FAN - Lectines (HU/ mg)	NUT - FAN - Saponines (mg/g)
16	Végétal	Soja entier (graine, sèche, dry seed)	8570-83700	3.35	0,478-2,01	692.82	43
17	Végétal	Soja dégraissé (farine, flour)	3300	5.77	1.72	1600-3200	5.55
18	Végétal	Soja farine grasse (ou flocons or flakes)			1.84		
19	Végétal	Soja, isolat PROD2020 (ALLIX)			1.62		
20	Végétal	Haricot mungo/ mungbean (graine sèche)		4,5-8,89	0.69		28.48
25	Végétal	Pois jaunes (graine sèche)	3160	4.75	0.993	5.64	
26	Végétal	Pois carré (graine sèche)	19640		0.303		
27	Végétal	Pois commun (graine sèche)	800-8400	2,26-6,34	0,28-0,71		
31	Végétal	Niébé	1113	4.417	0.979	2.4E-07	27,5-35,7
35	Végétal	Féverole	2240-4470	1,35-3,27	0,112-1,281	49.3	4.3
38	Végétal	Blé (grain entier)	31,48-40,28	0.34	1.346		
39	Végétal	Blé (farine type 405/45)			0.0306		
40	Végétal	Blé (farine type 812/150-160)					
41	Végétal	Avoine (grain entier déglumé)		0.25	0.9		
42	Végétal	Avoine (flocon)/ rolled oats					
43	Végétal	Avoine (farine)/ oat meal			0,89-2,4		
44	Végétal	Sorgho		0,1-0,39	0.57		7.08
45	Végétal	Orge (déglumé grain entier)	5440	0.49	1.01		
47	Végétal	Mil/millet (grain décortiqué)			0.85		
48	Végétal	Millet (farine)	7810		0.96		
51	Végétal	Sesame (graine sèche)			3.15		
52	Végétal	Sesame (graine décortiquée)			0.03	nd	
53	Cecile6+C	Pois Chiche (graine sèche)	10430	2,4-4,8	0.338	2.73	
54	Végétal	Pois Chiche (farine)					
55	Végétal	Riz (naturel)		nd	0.80		

Suite du projet : Analyse des Oxalates et Tannins

Travaux à réaliser

Tester en laboratoire les méthodes recensées

Faire une analyse critique des méthodes d'analyse des oxalates et tannins (identification des verrous analytiques)

Identifier pour chacun des deux FAN la méthode adéquate

Valorisation travaux

☐ Poster réalisé lors du congrès ICEF 14 (Nantes, Juin 2023)



☐ Correction de l'article « méthode analytique phytates » + Soumission

☐ Valorisation de la méthode analytique phytates avec l'ITERG

Merci!