

QUALITE DES GRAINS DE NERE COMME SOURCE DE PROTEINES

M. K. Bab*, S. Baldé***, A.S. Diallo**, M. Y. Eropkine**, I. Boiro****.

* Laboratoire de biochimie I.R.B.A.G Kindia B.P 146 Rép. de Guinée

** Laboratoire de biochimie, Fac. des Sciences, Université de Conakry B.P 1147, Rép. de Guinée

*** Laboratoire de Chimie Organique, Fac. des Sciences, Université de Conakry B.P. 1147, Rép. de Guinée

**** Centre d'Etudes et de Recherche en Environnement Université de Conakry B.P. 1147, Rép. de Guinée

(Reçu le 26 novembre 1997 - Révisé le 03 mars 1999)

Summary

The quality of African Locust bean (*Parkia biglobosa*) seeds as source of proteins is presented under the medico-biological aspect, especially the impact of the traditional technology of transformation of these seeds into "Sumbara" on their composition, their nutritional value and the degree of their harmlessness for human and/or animal based on chemical data

The concerned parameters are proteins, lipids, phenolic compounds (coumarins, flavonoids) and anti nutritional factors including phytohemagglutinins (PHA) and protease inhibitors (IP).

The crude seeds of *Parkia* are characterised by a controversy, implying a good level of nutrients (proteins and lipids) and anti nutritional factors (PHA, IP) which could cause a bad utilisation of nutrients by other organisms (micro-organisms, insects, higher animals including man).

Compared to crude seeds of *Parkia*, "Sumbara" is characterised by a higher level of proteins and lipids, lack of PHA and IP. On the contrary, the lipids of crude seeds, relatively on the degree of their oxidation, are in better position. By the way, the rate of peroxide of lipids rises along with a process of transformation of seeds and conservation of "sumbara"

Among phenolic compounds, only the coumarins are present simultaneously in the crude seeds of *Parkia* and "sumbara". Apparently, according to the CCM results, the "sumbara" contains more coumarins

PHA and IP are no more actives after the first boiling. The IP have proven to be resistant to boiling after an hour and after a long conservation of the whole seeds. They (IP) could be utilised as an indicators of the degree of thermal treatment of the seeds of *Parkia*.

The final results justify the necessity of the use of traditional technology and determine its advantages and deficiencies relatively to the nutritional qualities and to the physiological consequences related with the utilisation of the seeds of *Parkia* under various forms in the foods.

Key words : *Parkia* seed, sumbara, protein, lipid, protease inhibitor, phytohemagglutinin, flavonoid, coumarin, safety

INTRODUCTION

Dans le but de résoudre le problème de déficit alimentaire dans les pays en développement, une des solutions consiste en l'exploitation des ressources végétales peu ou mal utilisées dans l'alimentation. Les grains de néré fermentés (sumbara) sont consommés quotidiennement en petites quantités par les populations d'Afrique de l'Ouest [1, 2, 3]. Certains auteurs voient au grain de néré une source potentielle de protéines [4, 5, 6].

La composition en nutriments des grains de néré et du "Sumbara" a fait l'objet de nombreuses études [7]. Cependant les aspects de qualité n'ont pas été suffisamment abordés. Sur le plan toxicologique et anti-alimentaire, les acides oxalique, phytique et cyanhydrique, les phyto-hémagglutinines non spécifiques ont été signalés dans les grains de néré crus [7, 8].

Les propriétés du grain de néré et du "Sumbara" reconnues en médecine traditionnelle ne sont pas explorées du point de vue de la composition chimique.

Dans ce présent travail, il est question de se doter d'une vue sur :

- l'influence de la technologie traditionnelle sur les nutriments des grains de néré ;
- les substances antinutritionnelles et composés physiologiquement actifs des grains de néré et du "Sumbara" ;
- l'évaluation de l'effet global des grains de néré traités thermiquement sur l'organisme du cobaye afin de dégager les possibilités de leur utilisation dans l'alimentation humaine.

MATÉRIEL ET MÉTHODES D'ANALYSE

a) *Matériel.*

Les études ont porté sur les cotylédons aux différents stades de traitement, les régiments et le "Sumbara" vendu sur le marché, la poudre de grains soumis préalablement à des traitements thermiques par voies humide et sèche.

b) *Méthodes d'analyse:*

- Humidité : méthode pondérale ; - protéines : méthode de Kjeldahl / ou de Biuret ; - lipides : méthode de Folch ; - Indice de peroxyde : méthode de

Vervach : - inhibiteurs de protéases : méthode basée sur la mesure de l'inhibition de l'hydrolyse trypsique du N-Benzoyl-Arginyl-p-nitroaniline (BAPNA) par l'extrait 0,9% NaCl de grains de néré; Phytohemagglutinines : méthode de Salk ; - Coumarines : Mise en évidence dans les extraits alcooliques et révélation après séparation par CCM respectivement par la potasse alcoolique 10%, l'UV et les réactifs de diazotation ; - Flavonoïdes : mise en évidence dans les extraits alcooliques et révélation après séparation par CCM par la réaction à la cyanidine, la potasse alcoolique et la lumière UV ; - préparation de la poudre de grains de néré : les grains de néré sont soumis à une cuisson pendant 3 heures, puis débarrassés de leurs téguments; les cotylédons obtenus sont séchés à l'étuve à 105°C pendant 2 heures et moulus.

Expérimentation sur les animaux : l'expérimentation a porté sur 20 cobayes mâle âgés de 6 semaines repartis en deux lots de 10. Le lot n°1 a reçu ad libitum un régime dont les protéines sont à 50% issues de la poudre de grains de néré pendant 45 jours. Le lot n°2 (lot témoins) a été soumis une diète dont les protéines sont à 50% issues de la caséine. Les cobayes ont été nourris quotidiennement et pesés régulièrement à intervalle de 5 jours pendant 45 jours. Au 45^e jour, les cobayes ont été sacrifiés et les paramètres sanguins suivants ont été déterminés : taux d'hémoglobine, cytologie, cholestérol, glucose, bilirubine et transaminases.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

1. Influence de la technologie traditionnelle sur la teneur en protéines et les lipides des grains de néré

1.1. Fabrication traditionnelle du "Sumbara".

En Guinée, le "Sumbara" est préparé dans les régions naturelles de la Haute et Moyenne Guinée à dominante culturelle Maninka et Peul respectivement. La technologie traditionnelle de préparation du "Sumbara" diffère légèrement dans ces deux régions comme le montre la description ci-dessous.

De manière générale, la fabrication du "Sumbara" comprend les étapes suivantes :

□ *Trempage des grains* : les grains sont trempés dans deux volumes d'eau pendant 24 – 36 heures puis égouttés.

□ *Cuisson des grains* : les grains, après trempage, sont soumis à la cuisson dans deux ou trois volumes d'eau à grand feu pendant 24 – 36 heures.

□ *Décorticage et lavage*: les grains cuits sont mélangés à de la cendre et décortiqués au mortier, lavés ensuite à grande eau au marigot ou à la rivière, loin de toute source d'eau de boisson afin de séparer les cotylédons des enveloppes et d'éviter de donner à l'eau un arrière goût désagréable.

□ *Cuisson des cotylédons* : elle consiste à soumettre les cotylédons à ébullition pendant 1 – 2 heures et de les égoutter à chaud.

□ *Fermentation* : les cotylédons chauds sont entassés dans un van ou panier tressés et recouverts immédiatement et manière étanche de feuilles de *Mitrogyna stipulosa* ou de bananier. La fermentation dure de 48 à 72 heures selon que la saison soit chaude et humide ou froide et sèche.

□ *Séchage et conditionnement* : les cotylédons fermentés sont, soit séchés directement au soleil et conditionnés sous forme de boulettes et conservés dans des récipients fermés (technologie utilisée en Moyenne Guinée), soit transformés en pâte et conditionnés en boulettes fuselées et séchées au soleil (technologie courante en Haute Guinée).

Tableau 1 : Teneurs en protéines et en lipides des grains de néré tout au long de leur transformation en "Sumbara".

Echantillons	Humidité g%	Protéines (N06,25) g%	Lipides Totaux g%
cotylédons crus	12,72	28,75	20,95
cotylédons séchés à l'étuve	9,94	38,6	24,17
cotylédons 1 ^{er} e cuisson	30,30	26,5	18,80
cotylédons 2 ^{ème} e cuisson	31,33	22,32	18,40
cotylédons fermentés séchés	18,75	39,7	31,02

1.2. Teneur en lipides et protéines. Les résultats obtenus attestent que la technologie traditionnelle d'obtention du "Sumbara" influence les teneurs en lipides et protéines aux différentes étapes de transformation des grains de néré. Les cuissons répétées abaissent la teneur en protéines et lipides des grains de 12% et 22% respectivement. Le produit de fermentation (sumbara) est plus riche en protéines et lipides que les grains de néré crus de 38% et 8% respectivement. En guise d'explications relatives à l'élévation en nutriments du produit final, deux hypothèses sont envisageables :

1^{re} hypothèse: les glucides des grains de néré sont entièrement dégradés au cours de la fermentation. Cette hypothèse est appuyée par Odunfa [7] qui rapporte une forte diminution des oligosaccharides, sucrose raffinose, stachyose au cours de la fermentation. A cet égard la fermentation a un effet bénéfique car le raffinose et le stachyose sont indigestes pour l'Homme.

2^e hypothèse : les lipides et les protéines du "Sumbara" sont essentiellement d'origine microbienne étant donné qu'au début de la fermentation, une quantité importante d'acides aminés, d'ammoniac et de peptides sont libérés sous l'action de *B. subtilis* et de *B. licheniformis*, souches principales de la fermentation riches en protéases alcalines thermostables [7, 9].

1.3. Qualité des lipides.

L'indice de peroxyde des lipides varie de 112 à 1200 µg/g de lipides (Tableau II). Dans les échantillons de "Sumbara", l'indice de peroxyde varie du simple au double. Les lipides les plus oxydés proviennent d'échantillons issus de la variante technologique qui consiste à piler le "Sumbara" dès après la fermentation avant le séchage au soleil. Ces résultats concordent avec ceux obtenus sur des échantillons de «Sumbara» au Nigeria [10].

Tableau II : Indice de peroxyde des lipides des grains de néré et produits dérivés

Paramètres	Cotylédons crus de GN	"Sumbara" fraîchement préparé	"Sumbara" vendu au marché
Indice de peroxyde (µg/g)	112	224	624-1200

Les conséquences de l'oxydation des lipides sont, entre autres :

- la baisse de leur qualité nutritionnelle ;
- la diminution de la digestibilité de l'azote protéique et la biodisponibilité des acides aminés [10] ; en effet des données de Nielson attestent que le methyloléate oxydé réduirait la bio disponibilité des acides aminés Lysine, méthionine, histidine des protéines du blé de 24, 14, 11 et 18% respectivement.

Sur la base des données ci-dessus, on peut s'attendre à ce que la valeur biologique des protéines du "Sumbara" traditionnel soit diminuée à cause de l'indice de peroxyde élevé des lipides.

2. Les substances antinutritionnelles et physiologiquement actives

2.1. Les phytohémagglutinines (PHA) et les Inhibiteurs de protéases (IP).

Les PHA et IP sont présents dans les grains crus; cependant, ils sont inactivés par la cuisson (Tableau III).

Tableau III : Substances antialimentaires et physiologiquement actives des grains de néré et des produits dérivés.

Echantillons	Phytohémagglutinines (Titre)	Inhibiteurs de protéases (EI)	Coumarines	Flavonoïdes
grains crus	1/1280	8,2	++	-
grains cuits	-	-	Ind	Ind
grains fermentés séchés (sumbara)	-	-	+++	-

Légende:

"+++ " Fortement positif

" - " résultats négatifs

Ind. = non déterminé

EI = Relation entre la concentration en ($\mu\text{g/ml}$) de protéines de grains de néré (E) nécessaire pour une inhibition totale de l'activité de $16 \mu\text{g/ml}$ de trypsine (I) sur le BAPNA.

L'étude de l'activité des IP par la méthode de titrage de la trypsine (Figure 1) par des extraits obtenus en fonction du milieu, de la durée de

conservation et de la température a conduit aux résultats présentés dans le tableau IV et illustrés par les figures 2 et 3. Ces résultats attestent que :

- l'inhibiteur de protéases (IP) des grains de néré est stable en solution 0,9% NaCl à 4-5°C pendant 3 semaines et dans les grains conservés pendant quatre ans ;
- l'inhibition de l'activité des IP est inversement proportionnelle à la diminution de la solubilité des protéines des grains de néré ;
- le temps de cuisson pour inhiber totalement l'activité des IP à 100°C varie en fonction de la pression ; cette activité est nulle après une heure de cuisson dans une cocotte minute, alors qu'elle est légèrement modifiée pour le même temps de cuisson à la pression atmosphérique ordinaire.

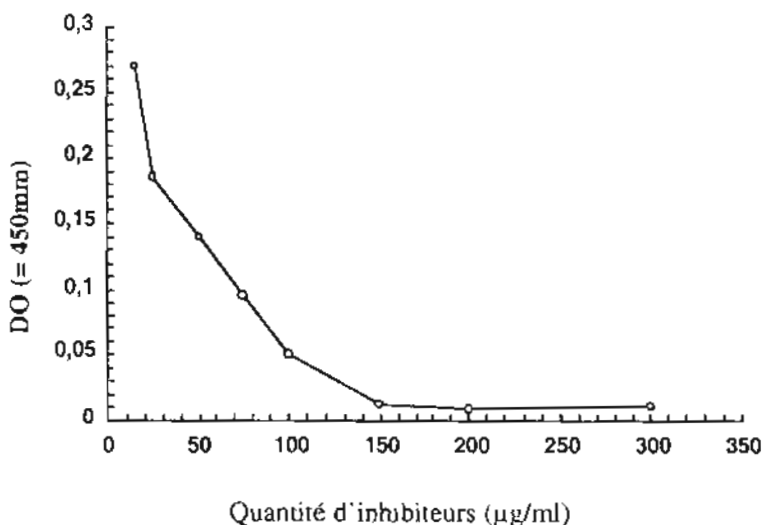


Figure 1 : Tirage de la solution de trypsine (16 µg/ml) par des concentrations croissantes d'inhibiteurs de protéases des grains de néré frais.

Les IP sont très importants en nutrition et en santé humaine [12, 13, 14], dans la défense des végétaux contre les parasites (insectes,

microorganismes, et virus) [15, 16, 17]. D'abord considérés comme facteurs anti-nutritionnels dans la pratique alimentaire, il fallait inactiver les IP dans les aliments qui en contiennent dans le but d'améliorer leur digestibilité [18]. Sur le modèle animal, il a été prouvé que les IP dépriment la croissance, provoquent une hypertrophie du pancréas [19]. Par ailleurs, des régimes contenant des IP naturels et de synthèse ont démontré des propriétés inhibitrices du développement de tumeurs ; ce qui ouvre la possibilité d'utilisation de régimes contenant des IP dans la prévention contre une grande variété de types de cancers [20].

2. 2. Les flavonoïdes et les coumarines :

Les recherches préliminaires ont été réalisées sur les extraits alcooliques. Les résultats présentés dans le tableau V indiquent que les flavonoïdes sont absents dans les grains de néré

Tableau IV : La variation de l'activité des inhibiteurs de protéases des grains de néré en fonction des conditions de traitement.

Echantillon	Teneur en protéine des échantillons (mg/ml)	E ($\mu\text{g/ml}$)	E/T
1	23	132	8,25
2	23	132	8,25
3	15	169	10,6
4	10	175	11
5	6	>>	>>

Légende :

- 1 - Extrait 0,9% NaCl frais de grains de néré
 2 - Extrait 0,9% NaCl conservé pendant 3 semaines au réfrigérateur à 4 - 5°C
 3 - Extrait 0,9% NaCl de grains conservés pendant 4 ans.
 4 - Extrait 0,9% NaCl de grains entiers et cuits pendant une heure à 100°C à pression ordinaire
 5 - Extrait 0,9% NaCl de grains entiers cuits pendant une heure sous pression dans une cocotte minute
- T = 16 $\mu\text{g/ml}$ de trypsine.

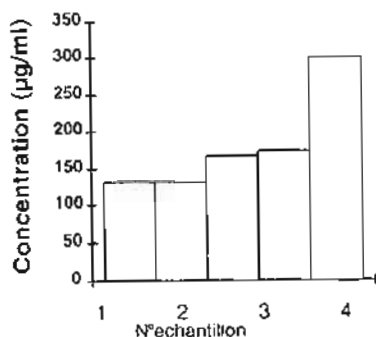


Figure 2. Variation de la concentration protéique efficace pour inhiber 16µg/ml de trypsine en fonction des conditions de traitement.

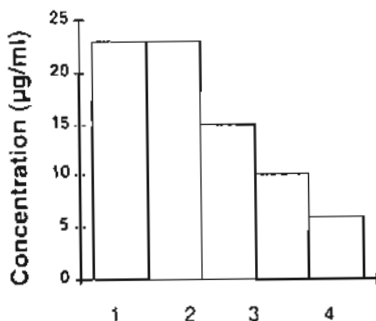


Figure 3. Variation de la concentration en protéines dans les extraits 0.9% NaCl en fonction des conditions de traitement.

et le "Sumbara" (réaction à la cyanidine négative). La réaction de diazotation et l' U.V. indiquent la présence des coumarines dans tous les échantillons analysés mais avec une plus grande netteté dans le "Sumbara" (Tableau V). La faible réaction des extraits alcooliques de cotylédons s'expliquerait par l'existence de combinaisons complexes de coumarines avec d'autres substances telles que les lipides. La réaction franche des extraits de cotylédons préalablement délipidés par l'éther de pétrole confirme cette hypothèse.

Tableau V: Résultats des recherches préliminaires des coumarines et flavonoïdes

REACTIFS	SUMBARA		COTYLEDONS		TEGUMENT
	Délipidé (SD)	non délipidé (S)	Délipidés (CD)	Non délipidé	
Potasse alcoolique + UV	++	++	++	++	++
Cyanidine	-	-	-	-	-
Diazotation	+++	+++	++	+	+

Légende :

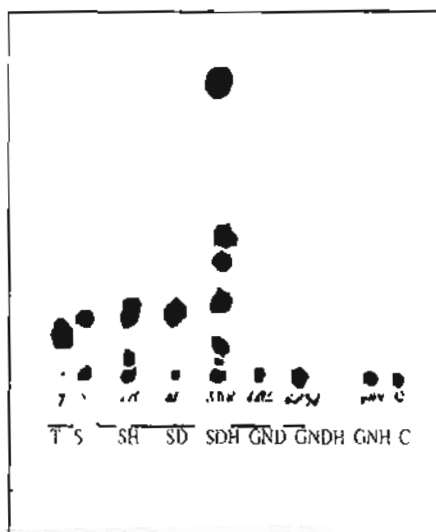
"-" réaction négative
 "+" réaction faiblement positive

"++" réaction positive
 "+++ " réaction très positive.

En CCM (fig. 4), le système acétate d'éthyle-éther de pétrole 1:2 sépare mieux les substances contenues dans les extraits d'échantillons de "Sumbara" que celles des extraits de cotylédons dont les composants sont concentrés au niveau du point de dépôt. L'hydrolyse acide des extraits alcooliques de "Sumbara" préalablement délipidé par l'éther de pétrole libère six (6) substances coumariniques.

La présence des coumarines dans le "Sumbara" suscite un intérêt certain sur le plan pharmacologique et toxicologique. En effet, la coumarine et ses dérivés ont démontré des propriétés anticoagulantes, antitumorales et immunostimulantes [20]. Sur le plan toxicologique, les études conduites sur l'homme ont montré une faible évidence de l'effet des coumarines sur les perturbations hépatiques [21]. Cependant, des recherches antérieures sur le rat avaient conduit à classer la coumarine et ses dérivés comme cancérogènes et hépatotoxiques [22,23].

Figure 4 Chromatographie sur couche mince des extraits d'échantillons de sumbara et de grains de néré



Système : Acétate d'éthyle- éther de pétrole 1:2.
Révélateurs: lumière U.V., réactifs de diazotation.
Plaque: silufol 0,05mm (15cm x 15cm

Légende :

T : Témoins; S : Extrait Et-OH de Sumbara; SH : Extrait Et-OH hydrolysé de sumbara; SD : Extrait Et-OH de sumbara délipidé, SDH : Extrait Et-OH hydrolysé de sumbara délipidé, GND : Extrait Et-OH de grain de néré délipidé; GNDH, Extrait Et-OH hydrolysé de grain de néré délipidé; GNH : Extrait Et-OH hydrolysé de grain de néré; C : Extrait Et-OH des téguments (enveloppes du grain).

On peut espérer que la présence de substances coumariniques dans un aliment traditionnel comme le "Sumbara" présente plutôt des effets bénéfiques au regard des quantités quotidiennement utilisées. Néanmoins, dans la perspective de l'utilisation des grains de néré comme source de protéines, les coumarines pourraient constituer un obstacle qu'il faut surmonter par des solutions technologiques.

3. Détermination de l'innocuité

Les grains de néré cuits et séchés, dont la composition est indiquée dans le tableau VI, introduits comme source de protéines dans la ration du cobaye ont conduit aux résultats consignés dans le tableau VII.

Le gain en poids et la dynamique de croissance sont identiques pour les deux groupes. Les paramètres hématologiques et biochimiques des cobayes d'expérience présentent un profil plus bas, exception faite pour les transaminases et le cholestérol lesquels ont tendance à s'élever ; la glycémie varie fortement à l'intérieur de ce même groupe sans pour autant présenter une différence significative. Pour l'ensemble des paramètres les différences ne sont significatives que pour le taux de bilirubine ($p \leq 0,01$) et celui des hématies ($p \leq 0,05$).

Nutriments	Teneur g%
Humidité	9,94 4,1
Protéines (N*6,25)	38,6 2
Lipides	24,2 0,1
Glucides	17,0
Cellulose	7,4 0,6
Cendres totales	3,0 0,1

Paramètres	Cobayes témoins	Cobayes d'expérience
Gain de poids (g)	157 ± 16	141 ± 4,2
Hémoglobine g%	13,3 ± 0,42	12,7 ± 0,4
Hématies/mm ³	4,3.10 ⁶ ± 59.10 ³	4,0.10 ⁶ ± 75.10 ³ *
Leucocytes/mm ³	5,8.10 ⁶ ± 5,5.10 ²	4,4.10 ³ ± 254
Cholestérol mg/dl	33,09 ± 4,36	38,2 ± 5,6
Glucose mg/dl	118,9 ± 3,13	69,7 ± 22,4
Bilirubine mg/dl	0,23 ± 0,01	0,09 ± 0,01
ASAT UI	41,4 ± 4,1	67,6 ± 16,6
ALAT UI	40,3 ± 3,0	69,7 ± 15,7

Légende : * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

La cuisson n'élimine que les inhibiteurs de protéases et les PHA; d'autres substances gênantes, comme les coumarines pourraient être à l'origine des variations observées. Palo et col [24], ont rapporté une baisse de la croissance de poulets de chair et de la performance des pondeuses par une ration isoprotéique contenant 10 à 15% de grains de néré crus ou autoclavés. Traoré [25], a montré que le "nététou" ou "Sumbara" pourrait contenir des substances toxiques exerçant une activité de destruction tissulaire de la glande thyroïde du rat. Les activités hypotensives et antagoniques de l'agrégation des plaquettes des grains de *Parkia speciosa* et de *Parkia biglobosa* ont été démontrées respectivement par Yeoh [26] et Rendu [27]. Des acides aminés soufrés non habituels (acide DL dihydrostachinique et l'acide DL djenkolique), l'acide thiazolidine-4-carboxilique [28] et des composés polysoufrés (hexathionane, pentathionane et trithiolane [29] ont été identifiés respectivement dans les grains de *Parkia speciosa* en Malaisie. Les modifications des paramètres hématologiques et biochimiques peuvent être transitoires pour des raisons d'adaptation à une nouvelle source protéique ou permanentes, se traduisant plus tard par des manifestations pathologiques [30, 31]

CONCLUSION

Le grain de néré est une source potentielle de protéines. Cependant, son utilisation en tant que source importante de protéines dans l'alimentation humaine ou animale est limitée par la présence : a) d'inhibiteurs de protéases des phytohémagglutinines non spécifiques qui sont des moyens de défense élaborés génétiquement d'un côté, et des facteurs anti-nutritionnels pour les organismes utilisateurs de l'autre ; b) de coumarines dont les effets bénéfiques dans les aliments ne sont pas définitivement établis.

La technologie traditionnelle de transformation du grain de néré en "Sumbara" permet d'élever la concentration en nutriments (protéines et lipides) et d'inactiver les inhibiteurs de protéases et les phytohémagglutinines dans le produit final. Par contre, les lipides sont fortement oxydés ; ce qui peut contribuer à diminuer la qualité des protéines du

"Sumbara". Les coumarines sont influencées par la technologie traditionnelle dans le sens de leur libération de leurs combinaisons, mais pas de leur élimination.

Les résultats systématiques obtenus permettent de suggérer des efforts de recherche en direction de technologies qui épargneront les lipides du grain de néré tout en ramenant au niveau le plus bas possible les inhibiteurs de protéases, les phytohémagglutinines et autres substances naturelles spécifiques à l'espèce *Parkia biglobosa* ou au Genre *Parkia* sans influencer négativement la disponibilité des acides aminés de ses protéines. Les connaissances traditionnelles en la matière fourniront-elles d'autres sources d'inspiration ?

BIBLIOGRAPHIE

[1]- HOPKINS H. C. The taxonomy, reproductive biology and economic potential of *Parkia* (Leguminosaeae, Mimosoideae) in Africa and Madagascar.

Bot. J. Linn. Soc. (1983), 87, 2, 135-167

[2] - BONKOUNGOU E. G. Monographie du néré *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth, espèce agroforestière à usages multiples, IRBET/ CNRST OUAGADOUGOU 1987.

[3] - SERAPHIN OLIE. Etude de faisabilité technique sur la mise au point et le conditionnement de produit à base de néctou (grains fermentés de *Parkia biglobosa*). CIRAD -SAR, Montpellier (1992).

[4] - *NUTR. REVIEWS*. A new protein food from a traditional process (1981) 31, 1.

[5] - GERVIN V. Industrial use of solid substrate fermentation. *Biotechnology and Development monitor* (1993), 16.

[6] - ANONYMOUS. Fermentation technics and food security in rural Sudan. *Biotechnology and development monitor*. (1993) 16, 16.

[7] - ODUNFA S A. Dawadawa. *Legume-based fermented food*. CRC Press (1986) 173-190.

[8] - WALLIE S. Preliminary studies of some biological compounds from *Parkia speciosa* seeds. Abstracts 3rd congress of the federation of Asian and Oceanian Biochemists (1993) Bangkok, Thailand.

- [9] - ODUNFA S.A , ADEWUYI E. Y. Optimization of process conditions for fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) . II- Effect of starter cultures. *Chem.mikrobiol. technol. Lebensm.*(1985) 9, 118 -122.
- [10] - OMALOLU & al. Nature of lipids in African locust beans and changes occurring during process and storage. *J. Agricul. Chem.*(1986).
- [11] - NIELSON H.K. Reactions of protein with oxidizing lipids .*Brit. J.Nutr* (1985), 53, 1
- [12] - POKROVSKY A.A & al. Metabolic aspects in pharmacology and toxicology of food Moscou, Meditsina (1979) 184 -188 .
- [13] - LIENER I E Toxic factors associated with legumes proteins.*The Ind. J. Nutr. Dietet.* (1973) 10, 303- 308.
- [14] - LIENER I. E. Factors affecting the nutritional quality of soya products. *J.A.O.C.S.*. (March 1981)
- [15] - NAVAREZ J., C. A RYAN. Proteinase inhibitor gene transfer for improving insect resistance in plant. *Biotechnology enhancing research on tropical crops in Africa* (1992). CTA/ITA. 307-312.
- [16] - CLARENCE A. RYAN. Proteinase inhibitor gene families strategies for transformation to improve plant defense against herbivores. *Bio Essays* (1989) 10, 1 pp5
- [17] - KONAREV A. V. Systèmes des inhibiteurs d'hydrolyases chez les graminées : organisation, fonction, variabilité évolutive. *Résumé de Thèse de Doctorat d'Etat*. Institut de Biochimie Bach. Moscou (1992), 25 - 38.
- [18] - G. SARWAR, D W F SHANNON, and J.P. BOWLAND. Effect of processing conditions on the availability of amino-acids in soybean and rapeseed proteins when fed to rats. *Can. Inst. of food Sc. and Techn. J.* (1975) Vol. 8, 3
- [19] - WRIGHT K.N Soybean meal processing and quality control *J.A.O.S.C* (1981) 294-300.
- [20] - BIRK YBHUDITH. Protease inhibitors of plant origin and rôle of inhibitors in human. *Protease inhibitors as cancer chemopreventive agents*, edited by Walter Troll and Ann Kennedy, Plenum Press, N. Y. 1993. 97- 106.
- [21] - DENISE EGAN, RICHARD O'KENNEDY, ELIZABETH MORAN et al. The pharmacology, metabolism, analysis and applications of coumarin and coumarin-related compounds. *Drug Metabolism reviews*(1990), 22, 5. 503-529.
- [22] - IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC RISKS OF CHEMICALS TO MAN(1975).Coumarin. Vol. 10, 113-119

[23] - IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF THE CARCINOGENIC RISKS TO MAN (1987). Overall evaluation of carcinogenicity. Vol I to 42. Suppl 7.

[24]- PALO P. E., YAMEOGO V M. C., NIANOGO A.J.. Observations préliminaires sur l'utilisation des grains de *Parkia biglobosa* (Jacq) Benth. pour l'alimentation de poudeuses et de poulets de chair au Burkina Fasso. *Revue Elev. Méd Pays Trop.* (1991) 44, 2, 179-184.

[25] - TRAORE ELHADJ. Etude des différents facteurs de goitrogénèse chez le rat ; modèle biologique du goitre endémique au Sénégal (Velungara). *Thèse de DEA, UCAD, DAKAR, 1993, pp87*

[26] - YEOH P.N. Cardiovascular effect of Ptaí (*Parkia speciosa*). *Southeast Eastern Pacific regional meeting of pharmacologists, Singapore, May 11 - 14, 1976 abstract pp36.*

[27] - FRANCINE RENDU, SYLVIE SALEUN, JACQUES AUGER. *Parkia biglobosa* seeds possess antiplatelet activity. *Thrombosis research 1993, 71 ; 505 - 508.*

[28] - GEMLIN R., SUSILO R.. Precursors of cyclic polysulphids in seed of *Parkias peciosa* Hassk. *Z. Naturforsch Ser C. 37, 1982 584 - 586.*

[29] - GEMLIN R., SUSILO R., FENWICK G. R. Cyclic polysulphids from *Parkia speciosa* Hassk. *Phytochemistry, 1981, 20 ; 2521 - 2523.*

[30] - VISOTSKY V.G Problèmes méthodologiques de détermination de la qualité de nouvelles sources de protéines. *Moscou "serie hygiène", (1987) 23-27*

[31] - PAG (protein advisory group) of the United Nations system *Guideline n°15 (1974) 236 - 250.*