

## **Influence of soaking, germination, fermentation and phytase on iron and zinc bioavailability in millet flours**

Icard-Vernière<sup>1\*</sup> Christèle, Greffeuille<sup>1</sup> Valérie, Caporiccio<sup>2</sup> Bertrand, Trèche<sup>1</sup> Serge, Besançon<sup>2</sup> Pierre

<sup>1</sup> UR 106 «Nutrition, Alimentation, Sociétés», IRD, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

<sup>2</sup> Laboratoire de Nutrition, GBSA, UM II, Place Eugène Bataillon, 34060 Montpellier, France

\*Corresponding author: [christele.verniere@mpl.ird.fr](mailto:christele.verniere@mpl.ird.fr)

**Introduction:** Complementary foods of young children contain few iron and zinc. The bioavailability of these minerals is reduced by phytates who bind them. The improvement of the nutritional quality of these foods goes with a reduction of phytate content and the possibility to evaluate mineral bioavailability.

**Methods:** Millet flours are prepared using different manufacturing processes: soaking of the seeds (15h, 30°C), fermentation (24h, 30°C), germination (96h, 30°C), soaking with phytase (17h, 55°C). The bioavailability of iron and zinc in these flours was estimated according three *in vitro* methods in order to compare them: HCl extractability, *in vitro* digestions followed by dialysis («dialyzed» mineral) or by a centrifugation («soluble» mineral). An attempt with the *ex vivo* method of cell cultures was realized: determinations of ferritin and zinc absorbed in *Caco-II* cells were realized for the respective evaluation of iron and zinc bioavailability. Phytate (IP6) contents were determined by ionic chromatography and minerals by atomic spectrophotometry after dry ashing.

**Results:** Reduction of IP6 contents, in percents, compared to whole seeds were respectively after soaking, germination, fermentation or phytase adding: <1, 63, 99 and 95%. In the same way, highest HCl extractabilities of iron were obtained after phytase adding (47%) and fermentation (40%), when it was only of 11 and 20% after soaking and germination, and 9% in whole seeds. For zinc, similar results were obtained: HCl extractabilities were respectively 82, 92, 67 and 71% for the above-cited processes and 70% in whole seeds. After *in vitro* digestions, dialyzed or soluble iron and zinc after soaking were the same in flours and in whole seeds (respectively 5 and 19% for iron, 5 and 16% for zinc). The most important quantities of dialyzed or soluble minerals were obtained after fermentation (25 and 31% for iron, 34 and 33% for zinc) and after phytase adding (21 and 26% for iron, 25 and 32% for zinc). The effects of germination were less important: 14 and 22% for iron, 19 and 27% for zinc. The estimates of iron and zinc bioavailability after cells cultures gave analogous results. The 4 *in vitro* or *ex vivo* methods have similar and small repeatability.

**Conclusion:** This work confirms that mineral bioavailability is strongly linked to phytate content. Mineral bioavailability is significantly improved after fermentation, phytase adding and germination. The estimate of iron and zinc bioavailability after *in vitro* digestions followed by a centrifugation is a method with a good repeatability, easy-to-use and adapted to technological process studies. Cell cultures could be a more accurate tool, but its use is limited by the cost and the time needed for its implementation.

**Key words:** Traditional processes – Phytates – Iron – Zinc – Bioavailability

**Acknowledgment:** This work was performed in the frame of the Cerefer project funded by the European Commission ([www.mpl.ird.fr/cerefer/](http://www.mpl.ird.fr/cerefer/)), contract N° ICA4-CT-2002-10047.

# Influence du trempage, de la germination, de la fermentation et de l'ajout de phytases sur la biodisponibilité du fer et du zinc dans les farines de mil

Icard-Vernière<sup>1\*</sup> Christèle, Greffeuille<sup>1</sup> Valérie, Caporiccio<sup>2</sup> Bertrand, Trèche<sup>1</sup> Serge, Besançon<sup>2</sup> Pierre

1 UR 106 «Nutrition, Alimentation, Sociétés», IRD, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France.

2 Laboratoire de Nutrition, GBSA, UM II, Place Eugène Bataillon, 34060 Montpellier, France

\*Auteur correspondant: [christele.verniere@mpl.ird.fr](mailto:christele.verniere@mpl.ird.fr)

**Introduction:** Les aliments de complément du jeune enfant contiennent peu de fer et de zinc, minéraux dont la biodisponibilité est diminuée par des chélatants comme les phytates. L'amélioration de la qualité nutritionnelle de ces aliments nécessite donc une réduction des teneurs en phytates et la possibilité d'estimer la biodisponibilité des minéraux.

**Méthodes:** Des farines de mil ont été préparées après trempage des graines (15h, 30°C), fermentation (24h, 30°C), germination (96h, 30°C), trempage en présence de phytase (17h, 55°C). La biodisponibilité du fer et du zinc dans ces farines a été estimée selon plusieurs méthodes *in vitro* dans le but de les comparer: extractabilité HCl, digestions *in vitro* suivies d'une dialyse (minéral «dialysé») ou d'une centrifugation (minéral «soluble»). Un essai avec la méthode *ex vivo* en cultures cellulaires a également été réalisé (dosages de la ferritine ou du zinc absorbé par des cellules *Caco-II*). Les phytates (IP6) ont été dosés par chromatographie ionique, les minéraux par spectrométrie d'absorption atomique.

**Résultats:** Les pourcentages de réduction de la teneur en IP6 par rapport aux graines brutes sont respectivement, après trempage, germination, fermentation ou ajout de phytase de <1, 63, 99 et 95%. Les extractabilités à l'HCl du fer les plus importantes sont obtenues après ajout de phytase (47%) et fermentation (40%), le trempage et la germination ne permettant d'obtenir que des extractabilités de 11 et 20%, contre 9% dans les graines brutes. Pour le zinc, des résultats similaires sont obtenus: les extractabilités après les opérations technologiques précédentes étant, respectivement, de 82, 92, 67 et 71% pour 70% dans les graines brutes. Après digestions *in vitro*, les pourcentages de fer et de zinc dialysés ou solubles après trempage sont équivalents à ceux des graines brutes (respectivement 5 et 19% pour le fer, 5 et 16% pour le zinc). C'est après fermentation (25 et 31% pour le fer, 34 et 33% pour le zinc) et après ajout de phytase (21 et 26% pour le fer, 25 et 32% pour le zinc) que les pourcentages de minéraux dialysés ou solubles sont les plus importants. Les effets de la germination sont beaucoup moins marqués: 14 et 22% pour le fer, 19 et 27% pour le zinc. L'estimation de la biodisponibilité du fer et du zinc en utilisant la méthode en cultures cellulaires donne des résultats analogues. Les 4 méthodes *in vitro* ou *ex vivo* ont des répétabilités proches mais faibles.

**Conclusion:** Cette étude confirme que les biodisponibilités du fer et du zinc sont très liées à la teneur en phytates. Elles sont améliorées significativement après fermentation, ajout de phytase et germination. L'estimation de la biodisponibilité des minéraux après digestions *in vitro* puis centrifugation est une méthode répétable, facile à mettre en œuvre et applicable au suivi d'opérations technologiques. Les cultures cellulaires pourraient constituer un outil de diagnostic plus fin, mais leur utilisation est limitée par leur coût et par le temps nécessaire à leur mise en œuvre.

**Mots-clés:** Procédés traditionnels - Phytates - Fer - Zinc – Biodisponibilité

**Remerciements :** Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet "Cerefer" financé par la Commission Européenne ([www.mpl.ird.fr/cerefer](http://www.mpl.ird.fr/cerefer)), contrat N° ICA4-CT-2002-10047.