

RESUME.....	1
ABSTRACT .....	2
RESUMEN.....	3
LISTE DES TABLEAUX.....	6
LISTE DES FIGURES.....	7
INTRODUCTION.....	8
CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE .....	11
<b>I-SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>13</b>
1-1 GENERALITES SUR LE COCOTIER.....	13
1-1.1 Origine .....	13
1-1.2 Botanique .....	13
1-1.3 Variétés de cocotier.....	14
1-1.4 Conditions de Culture et environnement .....	14
1-1.5 Récolte .....	15
1-1.6 Utilisations .....	15
1-1.7 Quelques statistiques.....	16
1-2 CARACTERISTIQUES PHYSIQUES DE LA NOIX DE COCO .....	17
1-2.1 Comparaison noix fraîche (noix immature) et noix mûre.....	17
1-2.2 La maturité et les paramètres physiques des noix fraîches .....	18
1-3 L'EAU DE COCO .....	19
1-3.1 Obtention et valorisation de l'eau de coco.....	19
1-3.2 Caractéristiques de qualité de l'eau de coco des noix fraîches .....	21
1-3.3 Comparaison eau de coco et boissons pour sportifs .....	21
1-3.4 La maturité et les constituants physico-chimiques de l'eau de coco .....	22
1-3.5 La variété et les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de coco .....	23
1-4 ACTIVITES ENZYMATIQUES DANS L'EAU DE COCO .....	24
1-4.1 Le brunissement enzymatique.....	24
1-4.2 Détermination de l'activité enzymatique .....	27
1-4.3 Prévention du brunissement.....	29
1-5 PROCEDES DE STABILISATION DE L'EAU DE COCO .....	31
1-5.1 Procédés de fabrication de boissons d'eau de coco .....	31
1-5.2 Autres traitements de stabilisation .....	32
<b>II MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>33</b>
<b>2-1 MATERIEL VEGETAL .....</b>	<b>33</b>
2-1.1 Echantillonnage.....	33

2-1.2 Les mesures morphologiques (ou morphométriques).....	34
2-2 LA LYOPHILISATION .....	35
2-3 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU DE COCO .....	36
2-3.1.....	37
Mesure de l'acidité titrable (NF-V05-101) .....	37
Dosage de l'activité enzymatique : étalonnage .....	37
2-4 SUIVI DE DEGRADATION DE L'EAU DE COCO.....	38
2-5 ANALYSE DES DONNEES.....	39
III RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	41
3-1 INFLUENCE DE LA VARIETE ET DE LA MATURITE SUR LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA NOIX A LA RECOLTE .....	41
3-1.1 Masse des noix entières .....	41
3-1.2 Circonférences polaire et équatoriale.....	42
3-1.3 Volume total de l'eau de coco et masse de l'amande .....	43
3-1.4 Pourcentages d'eau et d'amande par rapport à la masse de la noix entière .....	45
3-1.5 Epaisseur de la coque.....	45
3-1.6 Masses de la bourre et de la noix débourrée.....	46
3-1.7 Composition chimique de l'eau de coco .....	47
CONCLUSION PARTIELLE.....	48
3-2 ETUDE DE DEGRADATION DE L'EAU DE COCO EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES .....	50
3-2.1 Suivi de l'activité des polyphénoloxydases de l'eau de coco .....	50
3-2.2 Suivi de la qualité microbiologique de l'eau de coco .....	53
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	56
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	58
ANNEXES.....	62

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau montrant les différences physiques entre noix mûre et noix fraîche .....	P 18
Tableau 2 : Evolution des paramètres physiques avec la maturité des noix variété <i>Arsikere Tall</i> (Chikkasubanna et al, 1996).....	P 19
Tableau 3: Comparaison eau de coco et boisson pour sportifs.....	P 22
Tableau 4: Influence de la maturité sur la composition chimique de l'eau de coco variété <i>Tall</i> (Jayalekshmy et al, 1986).....	P 23
Tableau 5: Influence de la variété sur les constituants physico-chimiques de l'eau de coco (Nadanabapathy et al, 1999) .....	P 24
Tableau 6: Principales classes des composés phénoliques (d'après Macheix et al, 1990) ....	P 25
Tableau 7: Teneur en polyphénols de l'eau de coco, selon l'âge de la variété <i>tall</i> des philippines (Baldiviano et al, 1999).....	P 26
Tableau 8: Technique montrant le dispositif expérimental d'extraction et de dosage des PPO et POD .....	P 28
Tableau 9: Echantillonnage des arbres et prélèvement des noix.....	P 354
Tableau 10 : Paramètres mesurés sur l'eau de coco.....	P 36
Tableau 11 : Récapitulatif des facteurs et leurs modalités ainsi que les paramètres étudiés. Les cases cochées indiquent que le paramètre est mesuré à ce niveau du facteur. L'analyse microbiologique des noix de 8 mois des NVE est effectuée seulement au t0.....	P 40
Tableau 12 : Evolution des circonférences polaire et équatoriale (en mm) : moyennes et écart-types calculés sur 18 noix à chaque niveau de maturité.....	P 43
Tableau 13 : Pourcentages d'eau et d'amande par rapport à la masse de la noix entière...p	45
Tableau 14 : Evolution des masses (en g) des noix débourrées et de la bourre de NVE et de PB121+. Moyennes et écart-types obtenus à partir de 18 noix à chaque stade .....	P 49
Tableau 15 : Evolution de quelques caractéristiques chimiques avec la maturité des noix et la variété de cocotiers (NVE et PB121+). Les valeurs sont les moyennes calculées sur 18 noix .....	P 47
Tableau 16 : Résultats des analyses microbiologiques sur l'eau des noix immatures à t0 (noix de 7, 8 et 9mois) et suivie pendant 27 heures (noix de 7 mois) jusqu'à 49 heures (noix de 9 mois) de la variété NVE de Côte d'Ivoire.....	P 54

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1: Schéma explicatif de la coupe longitudinale d'une noix .....p 14
- Figure 2: Zones et évolution de la production (en millions de tonnes) de noix de coco (FAOSTAT, 2006).....p 16
- Figure 3: Exportation de noix de coco (en milliers de tonnes) dans le monde (FAOSTAT, 2006) .....p 17
- Figure 4: Différents types de produits de transformation de l'eau de coco (Joson, 1989)...p 20
- Figure 5: Régime de noix fraîches et noix de coco ouvertes .....p 21
- Figure 6: Structure de base de quelques polyphénols .....p 25
- Figure 7: Illustration des réactions se déroulant au cours du brunissement des fruits et légumes .....p 27
- Figure 8: Diagramme de fabrication de boissons gazeuses et non gazeuses d'eau de coco (Gonzales et al, 1983) .....p 31
- Figure 9 : Photo montrant la mesure de la circonference équatoriale de la noix .....p 34
- Figure 10 : Procédé utilisé pour extraire l'eau de coco de la noix ..... p 36
- Figure 11 : Photographie du dispositif (spectrophotométrique) utilisé pour la lecture de l'absorbance.....p 38
- Figure 12 : Dispositif monté pour le suivi de dégradation de l'eau de coco .....p 39
- Figure 13 : Evolution de la masse de la noix entière (en g) avec la maturation chez les NVE et PB121+.....p 42
- Figure 14 : Evolution du volume d'eau avec la maturation.....p 43
- Figure 15: Evolution du volume (en ml) d'eau et de la masse (en g) de l'amande aux différents stades de maturité des NVE..... p 44
- Figure 16 : Evolution du volume (en ml) d'eau et de la masse (en g) de l'amande aux différents stades de maturité des PB121+..... p 44
- Figure 17: Evolution de l'épaisseur (en mm) de la coque en fonction de la maturité.....p 46
- Figure 18: Rendement de production des parties comestibles des noix des variétés NVE et PB121+. Les pourcentages sont les valeurs moyennes obtenues avec 18 noix traitées par niveau de maturité. Ils sont arrondis à  $\pm 1\%$  près, selon que la partie décimale est supérieure ou égale à 0,5 ou inférieure ou égale à 0,5. Les pertes notées sont estimées à 1,5%.....p49

- Figure 19 : Comparaison des activités enzymatiques des PPO (en U/ml) dans l'eau des noix de coco de la variété NVE (7 et 9 mois) de Côte d'Ivoire et d'une variété inconnue du Costa Rica ..... p 51
- Figure 20 : Evolution de l'activité PPO dans l'eau de coco de 9 mois de NVE de Côte d'Ivoire en fonction de la teneur en oxygène dissous ..... p 52
- Figure 21 : Evolution de l'activité PPO dans l'eau de coco de 7 mois du NVE de Côte d'Ivoire en fonction de la teneur en oxygène dissous ..... p 52
- Figure 22 : Mesure de la conductivité au cours du suivi cinétique ..... p 53
- Figure 23 : Evolution du pH au cours de la cinétique de dégradation (température 30°C) de l'eau de coco des noix de la variétés NVE de Côte d'Ivoire et d'une variété du Costa Rica ..... p 55

## INTRODUCTION

La production de noix de coco a atteint 50 millions de tonnes dans le monde (FAOSTAT, 2006). Cette production est concentrée en Asie et au Pacifique pour 91%. Cette noix peut être transformée en huile (62% de la production), lait, crème, en boissons alcoolisées et en boissons rafraîchissantes.

L'eau de coco que l'on obtient de la noix de coco immature, est une boisson naturelle qui a une saveur délicate et une valeur nutritionnelle intéressante. Cette boisson est très appréciée dans les pays tropicaux (Amérique Latine, Asie, Afrique). Fraîche et douce, elle a en plus les caractéristiques fonctionnelles propres à une boisson pour sportifs.

Selon le site <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg>, (consulté le 17/05/07), depuis les années 60, les industries des boissons pour sportifs ont connu un développement accru et aujourd'hui un tiers au moins des adultes américains en consomment régulièrement. En effet en 1994, le marché des boissons pour sportifs a atteint 10 milliards de dollars dans le monde, et d'après une étude récente, ces boissons pour sportifs existent en plus de 30 saveurs, dont pomme, banane, cerise, gingembre, ginseng, litchi et mangue. Jusqu'ici aucune n'avait le goût de l'eau de coco. On considère l'eau de coco alors comme un produit naturel ayant un fort potentiel pour le marché des boissons pour sportifs.

L'eau de coco est utilisée dans le traitement des troubles gastriques (Nanda Kumar, 1995) et à cause de sa richesse en facteurs de croissance elle est utilisée comme milieu de culture cellulaire (Jayalekshmy et al, 1986). Symbole d'exotisme, on trouve aujourd'hui des noix de coco « à boire » sur les marchés internationaux et elle est en passe de conquérir les marchés européens et anglo-saxons.

Mais il a été perçu que l'encombrement de la noix (grand volume) et la dégradation au cours du temps de ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles sont les facteurs limitants pour l'exportation après la récolte (Maciel et al, 1992). Pour contourner ce problème, il faudrait extraire l'eau. Mais une fois au contact de l'air, l'eau se dégrade rapidement et perd ses qualités organoleptiques et nutritionnelles. Le brunissement enzymatique constitue une des causes de dégradation de l'eau de coco après la récolte.

Les tentatives pour prévenir cette détérioration et stabiliser l'eau de coco en vue de la commercialisation ont donné des résultats très peu satisfaisants : la conservation par conditionnement dans des films (Srivatsa et al, 1999) alourdit la facture du transport, la réfrigération et la pasteurisation dénaturent le produit et la microfiltration pour l'instant, reste trop onéreuse surtout pour les pays en développement (Diop, 2005).

En plus l'eau de coco joue un rôle important dans la germination et la maturation du fruit. Ainsi sa qualité varie avec le stade physiologique de la noix [[www.navimpex.com/index.hph](http://www.navimpex.com/index.hph) (consulté le 06/07/07)], la variété (Nadanabapathy et al, 1999), les conditions de culture et de récolte.

Notre travail consiste à mieux comprendre les phénomènes à l'origine de la dégradation de la qualité de l'eau de coco après la récolte. La démarche est de chercher si les facteurs variété, maturité ou les conditions de traitements technologiques ont une incidence notable, et si la maîtrise de ces facteurs de variation permettrait de prolonger le maintien de la qualité de l'eau de coco et faciliter son transport et sa distribution.

Dans ce but, nous allons, au cours de nos travaux, mesurer les caractéristiques morphologiques des noix, et les teneurs en composés physico-chimiques de la partie liquide, l'eau de coco, évaluer les potentialités de brunissement de l'eau de coco par le dosage des activités enzymatiques, faire la cinétique de dégradation et le dénombrement des microorganismes responsables de l'altération de l'eau de coco.

Ainsi une partie du travail se déroulera dans les laboratoires du CIRAD (Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement) à Montpellier et un deuxième volet se fera en Côte d'Ivoire sur la station de recherche Marc Delorme, CNRA (Centre National de la Recherche Agronomique).

Le document que nous présentons est la suite de travaux effectués sur l'eau de coco en Océanie et en Amérique Centrale, et représente le début du travail amorcé sur des variétés de cocotiers de Côte d'Ivoire. Ainsi la synthèse bibliographique qui constitue sa première partie, traitera des généralités sur le cocotier, des processus d'obtention et de transformation de l'eau de coco, du brunissement enzymatique dans les aliments et de la qualité de l'eau de coco. La deuxième partie sera consacrée à décrire le matériel végétal et les méthodes ainsi que les dispositifs expérimentaux mis au point pour réaliser les essais. La dernière partie traitera de la présentation et de la discussion des résultats obtenus.

## CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE

Notre travail n'est pas une action d'étude isolée. Il s'inscrit dans un projet de recherche de stabilisation de l'eau de coco et de sa transformation en boisson. Le volet que nous abordons sur les variétés de cocotiers de Côte d'Ivoire sera réalisé en partenariat avec les chercheurs du CNRA dans le cadre de la coopération technique entre cette institution et le CIRAD (France).

En effet, le CNRA de Port Bouët est une station ayant pour mission de mener des recherches et d'en diffuser les résultats. Le programme de recherche comprend les volets des cultures d'exportation (cotonnier, palmier à huile, cocotier, cacao, café, canne à sucre, etc) et des cultures vivrières (maïs, riz, mil, plantes à racines et tubercules, etc). Mais c'est en 1964 que les responsables ivoiriens en charge de l'agriculture ont décidé de développer la culture du cocotier et du palmier à huile pour diversifier l'économie (essentiellement basée sur le café et le cacao) et pour mettre en valeur les terres peu utilisées. La station de recherche sur le cocotier "Marc Delorme" créée en 1952 par l'Institut de Recherche des Huiles et Oléagineux (IRHO) a érigé les bases techniques suffisantes pour lancer le programme d'extension de cette culture sur les terres allant de la frontière Ouest à la frontière Est, favorables à la culture du cocotier. Le cocotier est la principale culture pérenne de rente des populations du littoral de la Côte d'Ivoire et en 1969, la réalisation du plan cocotier menée par l'Institut de Recherche des Huiles et Oléagineux a conduit à la création de 580 ha de plantations industrielles. Pendant ce temps les plantations villageoises sont estimées à 20 000 ha. Aujourd'hui la station dispose de 1000 hectares de plantation de cocotiers destinés à la recherche alors que la superficie totale qu'occupe la nuciculture (y comprises les plantations villageoises) dans cette région atteint 60.000 ha (41% de plantations industrielles et 59% de plantations villageoises). La production moyenne est de 34000 tonnes de noix par an, et les plantations en production ont en moyenne 35 ans d'âge. Le programme de recherche sur le cocotier du CNRA compte 53 variétés dont 24 ont été reproduites. Dans sa stratégie de promotion de la nuciculture, la station a développé des relations de partenariat avec le CIRAD.

Le CIRAD dans sa mission de contribuer au développement rural des pays tropicaux et subtropicaux surtout dans les secteurs agronomique et agroalimentaire participe à l'étranger à l'élaboration des politiques publiques d'aide au développement en mettant à contribution des compétences qui s'orientent en : recherche, expertise, diagnostic et services, transfert de technologie, formation et appui institutionnel, diffusion de produits et de procédés. Ainsi, il est organisé en départements regroupant une soixantaine d'unités de recherches et de services. Le département "Performances des Systèmes de Production et de Transformation Tropicaux" (PERSIST) intervient, entre autres, dans les réalisations expérimentales et techniques des projets dans les programmes européens d'aide au développement des pays du Sud et dans les programmes bilatéraux. Il est ainsi impliqué dans la prise en compte de l'enjeu de redynamisation de la filière cocotier en Côte d'Ivoire.

Dans ce cadre, les objectifs de l'étude que nous avons la mission de mener sont:

1. Déterminer parmi deux variétés de cocotier de Côte d'Ivoire (Nain Vert de Guinée Equatoriale et hybride PB121+) celle(s) qui présente(nt) les caractères suivants : le maximum de pourcentage d'eau par noix, le maximum de composés nutritifs dans l'eau, minimum de brunissement enzymatique.
2. Déterminer un stade optimal de récolte qui permette de prolonger, dans le temps, le maintien de ces caractères.

3. Etudier les mécanismes de dégradation de l'eau de coco après récolte par de techniques analytiques standards et une technologie plus récente, la spectrophotométrie proche infra-rouge.

## I-SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### **1-1 GENERALITES SUR LE COCOTIER**

#### **1-1.1 Origine**

L'origine du cocotier n'est pas encore déterminée avec certitude. On imagine que, dotés de la faculté de flotter, les fruits du cocotier se seraient disséminés à travers le monde par la mer à partir du Sud-Est Asiatique <[www.navimpex.com/index.hph](http://www.navimpex.com/index.hph)> (consulté le 19/07/07). Il a atteint par la suite, l'Océan Indien et l'Afrique, puis l'Amérique. L'homme serait aussi un des vecteurs de cette dissémination.

#### **1-1.2 Botanique**

Le cocotier est une monocotylédone. De la famille des Arecaceae, il appartient à l'ordre des Palmales et au groupe des cocosoïdes. Le genre est *Cocos*. Celui-ci n'a qu'une seule espèce: *Cocos nucifera L.*

Le cocotier a un système racinaire fasciculé (Fremond et al, 1966). Il est une grande herbe avec un tronc non ramifié (stipe) pouvant atteindre une hauteur variant entre 5 et 30 m. Il se termine par des feuilles formant une couronne au sommet du stipe. Les feuilles peuvent atteindre 4 à 8 mètres de long, elles sont pennées et faites de folioles sessiles au nombre de 200 à 250.

La plante est monoïque, les deux sexes sont séparés mais se trouvent sur la même inflorescence. Les inflorescences ou spadices sont fermées dans une grande bractée ou spathe. Les fleurs femelles sont disposées sur la base et les fleurs mâles en haut de l'inflorescence.

La floraison se fait chaque mois et dure toute l'année (Prades, 2005). Les fleurs mâles mesurant 8 mm de long sont groupées et se composent de 3 sépales, 3 pétales et 6 étamines. Elles s'ouvrent après l'ouverture de la spathe, souvent le matin, et tombent le soir. Les fleurs femelles sont soit isolées, soit groupées par 2 à 5. Elles se composent de 3 sépales, 3 pétales, un ovaire à 3 loges avec un ovule dans chaque loge dont un seul est généralement fertile.

Les fruits sont des drupes. Après la fécondation ils se développent en régimes de 10 à 15 fruits. On peut aussi trouver 100 fruits par grappe, mais sur des variétés très rares. Chacune des drupes de forme ovoïde se compose d'une graine, la noix de coco et d'une enveloppe fibreuse qui se dessèche et durcit à l'approche de la maturité (bourre). Selon Woodrooff (1979), le fruit comporte les compartiments suivants :

- Une peau mince et lisse: l'épicarpe;
- Le mésocarpe fibreux et épais de 4 à 8 cm : la bourre ;

Ces deux parties, solidaires, forment 35% en masse de la noix (Grimwood, 1976) ;

- L'endocarpe est une coque dure: 12% en masse de la noix ;
- L'endosperme comporte une partie solide (l'amande) et une partie liquide (l'eau de coco) ; respectivement 28% et 25% en masse de la noix.

C'est l'amande, qui après dessiccation constitue le coprah, à partir duquel on extrait l'huile. L'huile de coprah est le débouché principal de la culture du cocotier.

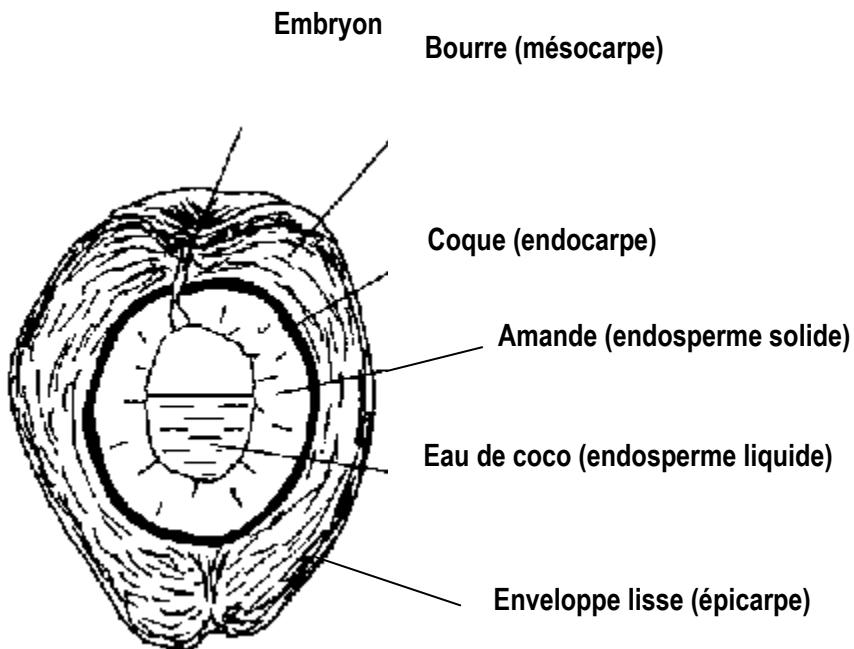


Figure 1 : schéma explicatif de la coupe longitudinale d'une noix  
 (www.slekfreak.ath.cx:81/3wdev/CD/Foodproc)

### 1-1.3 Variétés de cocotier

La FAO, citée par Byron, a rapporté en 1970 qu'il y a environ 80 variétés de cocotier, réparties dans le monde. Mais on distingue généralement 2 grands groupes de cocotiers (De Taffin et al, 1994) en prenant pour critère majeur, le mode de reproduction:

- "Les cocotiers grands", qui sont allogames, et d'une croissance en hauteur rapide, mais peu précoces. C'est dans ce groupe qu'on trouve le *Grand Ouest Africain*, le *Grand du Vanuatu*, le *Grand Rennell*, le *Grand de Thaïlande* et le *Grand de Polynésie*.
- "Les cocotiers nains" qui sont autogames, caractérisés par une plus faible croissance en hauteur et un stipe plus mince, mais précoces. Ils donnent un plus grand nombre de noix par an. On peut y distinguer: les *Nains Verts* (exemple des *Nains Verts de Philippines et de Guinée Equatoriale*), les *Nains Jaunes* (exemple des *Nains Jaunes de Malaisie*), les *Nains Rouges (Oranges)* et les *Nains Bruns*.

Dans les plantations industrielles, destinées à la production d'huile de coprah, les cocotiers sont généralement des hybrides de "Grands" et de "Nains", permettant une exploitation économiquement plus rentable.

### 1-1.4 Conditions de Culture et environnement

Traditionnellement la terre de prédilection du cocotier est le sable côtier. Mais il s'adapte aussi à d'autres types de sol. Il suffit qu'il soit meuble (10% d'argile) et profond (De Taffin et al, 1994) et peu hydromorphe (50 à 100 cm constamment sain). Le cocotier demande une température optimale de 27 à 28°C (Prades, 2005), aussi constante que possible. Il lui faut au minimum 1500 à 1700 mm d'eau de pluie par an bien répartie. L'eau peut être légèrement salée, le cocotier n'en souffre pas trop, au contraire il aime le chlore. L'air doit avoir une

humidité minimale de 60% et le bord des mers, qui est l'habitat naturel des cocotiers, montre un taux d'humidité de 80 à 90%. Les altitudes maximales correspondent à 200 à 400 m au dessus de la mer (De Taffin et al, 1994). Un ensoleillement de 2000 à 2200 heures par an est nécessaire.

La culture du cocotier requiert qu'on plante peu profondément la noix de coco dans un sol bien aéré, riche en éléments minéraux avec une bonne quantité de sable bien salé, 1.5 à 2 % de matière organique, un pH moyen de 6 et d'attendre quelques années avant la production des fruits : 3 ans pour les variétés de Nains et 7 ans les variétés de Grands. Les hybrides produisent assez tôt : 5 ans en moyenne.

### 1-1.5 Récolte

Un régime de noix de coco met 12 à 14 mois pour arriver à maturité. Le cocotier émet une feuille par mois, à l'aisselle de laquelle vient se positionner le futur régime de noix de coco. La couronne d'un cocotier compte une trentaine de feuilles en moyenne. Autrement dit, sur un même arbre, on observe tous les stades de maturité en même temps.

On distingue deux méthodes de récolte : le ramassage au sol, essentiellement, pour les noix mûres (12 à 14 mois) et la cueillette (Grimwood, 1976). Mais selon l'usage auquel elle est destinée, le stade de développement de la noix au moment de la récolte est important. Pour la consommation directe (boisson) à l'état frais, on récolte entre le 6<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> mois (De Taffin, 1994). Pour le coprah, la récolte est faite à partir du 11<sup>e</sup> mois. Si l'objectif est d'obtenir des semences, on récoltera à pleine maturité c'est-à-dire entre 12 et 13 mois. Le nombre de noix varie avec l'âge des cocotiers : 3 à 5 noix par arbre de 6 à 7 ans, 15 à 30 noix par arbre entre 10 et 15 ans, 40 à 70 entre 15 et 40 ans, à partir de 60 ans la production diminue. Il faut environ 10 noix pour obtenir 1 kg de coprah (amande sèche à 6% d'humidité). Le rendement varie entre 0,5 à 2 tonnes de coprah par an par hectare, parfois 4 tonnes à l'hectare dans certaines régions du monde.

### 1-1.6 Utilisations

Le cocotier est reconnu sous les tropiques comme un arbre aux mille usages. Il est vu ainsi car toutes ses parties sont utilisées:

- Le tronc sert dans la charpente des maisons
- Les feuilles trempées dans l'eau de mer pendant quelques jours, deviennent imputrescibles et servent dans la couverture des toits, tissage des paniers, des chapeaux et des nattes
- Les nervures secondaires font des balais et des brosses, tout comme les fibres de la bourre
- La sève, recueillie, donne du sucre brut, dont on peut faire du vin (local), de la boisson alcoolisée (locale), et du vinaigre
- Les racines servent en pharmacopée traditionnelle
- Le bourgeon terminal est utilisé comme légume (chou palmiste)
- La coque sert de bol. Le charbon que l'on fabrique à partir de la coque présente une grande régularité de tailles de pores et sert à séparer les impuretés de l'or dans les fonderies entre autres

- L'amande est consommée comme telle. Elle fournit de l'huile comestible et est utilisée en savonnerie. On en obtient également de la margarine, du beurre de coco, du coco râpé, du lait de coco etc...
- Les sous produits de la fabrication de l'huile, comme le tourteau, sont utilisés dans l'alimentation des animaux
- L'eau de coco est une eau bactériologiquement stérile. Elle prévient aussi le choléra, combat les vers intestinaux et soulage les douleurs d'estomac. Elle est également utilisée en microbiologie et culture in vitro comme milieu de culture.

### 1-1.7 Quelques statistiques

Selon les données statistiques de la FAO (Food Agricultural Organization) en 2006, l'Indonésie, les Philippines l'Inde et la Malaisie, sont les plus importants producteurs de noix de coco de la planète avec 72% de l'ensemble de la production mondiale (figure 2). Dans la même année l'exportation dans le monde de noix de coco a atteint les 60 millions de tonnes.

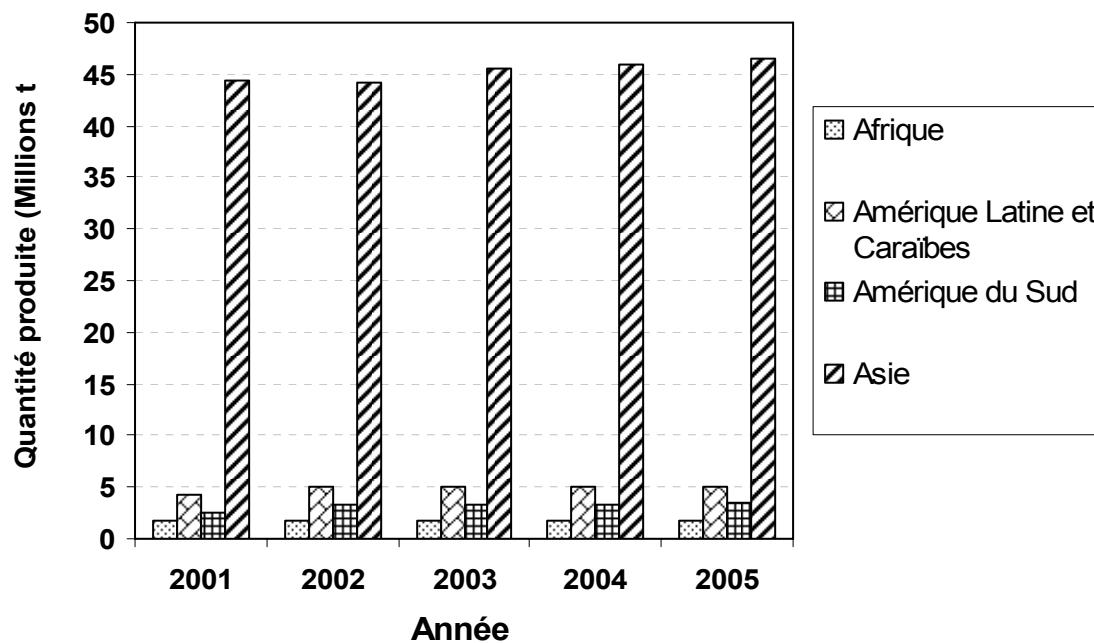


Figure 2 : Zones et évolution de la production (en millions de tonnes) de noix de coco (FAOSTAT, 2006)

L'Indonésie et les Philippines sont les plus gros exportateurs de noix de coco (figure 3). La Côte d'Ivoire est bien placée, notamment pour ses exportations sous forme de noix de bouche vers le marché européen. Les Philippines ont un marché national très captif et exportent peu de noix de coco. Ces dernières sont consommées localement en noix fraîches et pour la production d'huile de coprah et de ses dérivés.

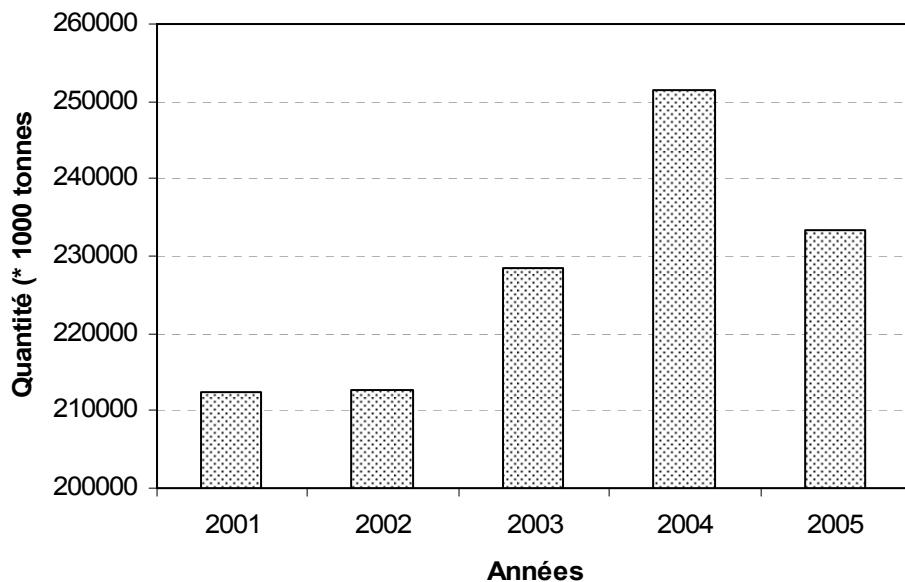


Figure 3 : Exportations de noix de coco (en milliers de tonnes) dans le monde (FAOSTAT, 2006)

Dans les années 60, les noix de coco sont produites principalement dans le but de la production d'huile de coco ou d'huile de coprah. Mais depuis quelques années, l'exportation des noix de coco dans le monde a perdu son élan et stagne (figure 3) à cause de la concurrence de la noix de palme dont le coproduit qui est l'huile de palmiste, est aussi riche en acide gras en C12. Fort heureusement de nouveaux débouchés commencent à se développer pour la noix de coco notamment au Brésil, en Asie. Il s'agit de l'utilisation de la noix de coco comme boisson rafraîchissante. En effet, l'eau de coco attire de plus en plus de consommateurs et elle est très consommée dans les zones côtières surtout des régions tropicales. Toutefois, ce débouché reste pour l'instant des marchés locaux et nous n'avons pas pu obtenir de chiffres précis relatifs à la part que représente l'eau de coco dans le commerce mondial. Mais le marketing entrevoit, quand on considère ses caractéristiques nutritionnelles, d'importants marchés en Occident (marchés européens et américains) parmi les jus de fruits exotiques.

## **1-2 CARACTERISTIQUES PHYSIQUES DE LA NOIX DE COCO**

### **1-2.1 Comparaison noix fraîche (noix immature) et noix mûre**

Dans les cocoteraies, les noix que l'on peut ramasser sous les arbres sont souvent des noix mûres et dépourvues de leur pédoncule. Mais lorsqu'on recherche les noix immatures, on doit pouvoir monter l'arbre et savoir les distinguer par des critères physiques que nous avons essayé de décrire dans le tableau 1.

Tableau 1 : Tableau montrant les différences physiques entre noix mûre et noix fraîche

Caractéristiques physiques	Noix mûre (11 à 14 mois)	Noix fraîche (6 à 9 mois)
densité	Plus faible	Plus importante
Peau (épicarpe)	Couleur brune à 11 mois, jaune orange, vert	Couleur verte
Bourre (mésocarpe)	Aspect léger, spongieux, couleur brune	Aspect compact, couleur blanchâtre
Amande (endosperme solide)	Plus épaisse, dure et blanchâtre	Faible épaisseur, gélatineux, blanchâtre
Eau de coco (endosperme liquide)	Peu importante en volume et d'aspect plus gras après la récolte	Plus importante en volume, claire
Coque (endocarpe)	Plus épaisse, dure, couleur brune	Tendre et beige

La variation de ces différents caractères au cours de la maturité des noix fraîches a fait l'objet de plusieurs études menées par Chikkasubbanna et *al* (1990), Jayalekshmy et *al* (1986), Duarte et *al* (2002) pour ne citer que ceux-là.

### 1-2.2 La maturité et les paramètres physiques des noix fraîches

Dans la phase de formation de la noix de coco, il y a différenciation d'une cavité dans l'endosperme à partir du deuxième mois après la pollinisation. Cette cavité se remplit progressivement d'eau de coco à partir de 3 mois, et l'eau atteint son volume maximal à environ 7 à 8 mois (Pilai et *al*, 1959 ; Chikkasubbanna et *al*, 1990 ; Diop, 2005). L'épaisseur de l'amande augmente aussi avec la maturité de la noix, par exemple, sur la variété *Nain Vert des Philippines* de Costa Rica utilisée par Diop (2005). La masse totale de la noix, selon cet auteur, augmente jusqu'à 7 mois, puis décroît. Mais ces différents stades varient en fonction des variétés.

L'eau de coco est un liquide légèrement trouble, qui représente 25% de la masse de la noix. La noix en contient en moyenne 420 ml (Maciel, et *al*, 1992), la saveur est douce et légèrement astringente. Jackson et *al* (2004), ont travaillé sur 4 variétés, et tout en confirmant avec Jayalekshmy et *al* (1986) que le volume de l'eau dans la noix évolue avec la maturité (tableau 2), ils ont pu préciser que l'eau, après avoir atteint son volume maximal entre le 7<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> mois, entame une régression entre 9 et 10 mois. Il a été supposé que, c'est l'eau qui participe progressivement à la formation de l'endosperme solide (Jayalekshmy et *al*, 1986). Selon ces mêmes auteurs, cette diminution de l'eau dans la noix est accentuée par l'évaporation et aucune relation n'a pu être établie entre la cavité dans l'endosperme et cette régression du volume de l'eau. Il a été expliqué que plus la maturité du fruit avance, plus il grossit augmentant ainsi le volume et la capacité de contenir l'eau (Jackson et *al*, 2004).

Tableau 2 : Evolution des paramètres physiques avec la maturation des noix, variété *Arsikere Tall* (Chikkasubanna et al, 1996)

Age des noix (mois)	Masse des noix (g)	Volume de l'eau (ml)	Masse de l'amande (g)	Masse de la coque (g)	Masse de la bourre (g)	Densité de l'eau
6	980	204,5	15,0	107,3	640	1,02
7	1380	363,0	28,0	158,4	870	1,02
8	1850	315,6	69,6	163,4	1260	1,03
9	2050	202,8	183,6	325,6	1160	1,03

Dans la suite de notre rapport, nous nous intéresserons essentiellement à la partie liquide de la noix de coco immature ou noix fraîche : l'eau de coco. L'eau de coco est le liquide contenu à l'intérieur de la cavité de la noix. On l'appelle parfois « jus », ce qui crée une confusion avec le lait de coco qui lui, est extrait de l'amande après pressage.

### **1-3 L'EAU DE COCO**

#### **1-3.1 Obtention et valorisation de l'eau de coco.**

Sur la station de recherche du Centre National de la Recherche Agronomique (CNRA) en Côte d'Ivoire, on compte 53 variétés de cocotier et la récolte est essentiellement destinée à la production de coprah. L'exploitation de la production pour la fabrication de boisson d'eau de coco est une idée qui est en gestation consécutive au fait que les autorités du CNRA remarquent la présence sur les marchés ivoiriens d'eau de coco en boîte provenant de la Thaïlande. La population ivoirienne a une bonne appréciation de l'eau de coco, notamment des variétés Nain Jaune de Malaisie et Nain Vert de Guinée Equatoriale à cause de leur goût sucré. Le principal produit de transformation de l'eau de coco est la production de boisson rafraîchissante gazeuse ou non, mais il y a aussi bien d'autres produits et de sous produits qu'on peut obtenir de l'eau de coco. Les voies d'obtention de ces différents produits sont décrites par Joson (1989) selon le diagramme suivant (figure 4).

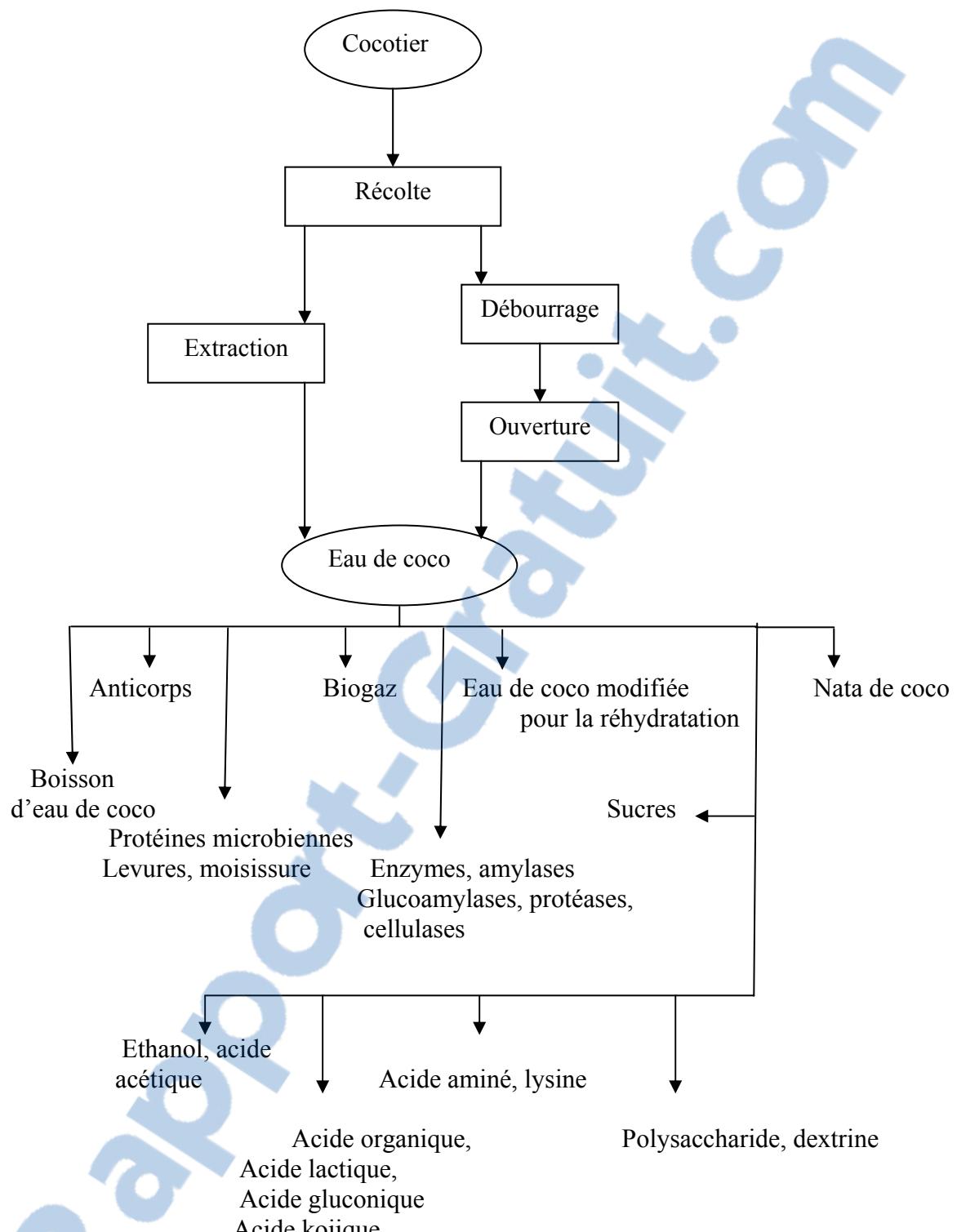


Figure 4: Différents types de produits de transformation de l'eau de coco (Joson, 1989 modifié)

Ces produits de transformation de l'eau de coco sont obtenus à partir de l'eau de noix fraîches (boisson d'eau de coco, biogaz, sucre, polysaccharide, etc.) et de l'eau des noix mûres utilisées dans l'industrie du coprah (biogaz, éthanol, acide acétique).

### 1-3.2 Caractéristiques de qualité de l'eau de coco des noix fraîches

Une recherche financée par la FAO (<http://www.fao.org/> consulté le 06 juillet 2007) propose quelques critères de qualité pour l'eau de coco. Elle doit être limpide et incolore, avec un pH de 5 à 5,4 et un extrait sec soluble (ESS) -mesure de la concentration de sucre- de 5 à 6,5 °Brix. Elle devrait avoir une numération microbiologique totale par millilitre inférieure à 5 000, moins de 10 bactéries coliformes, et zéro coliforme fécal.

Pour les petits transformateurs n'ayant pas accès à un laboratoire pour les essais microbiologiques, il est recommandé quelques mesures simples, comme vérifier que le produit ne présente pas de traces de fermentation ou d'objets étrangers, et utiliser son odorat pour déceler, par exemple, une odeur rance qui indique que la petite quantité de matières grasses dans le liquide est oxydée.



Figure 5 : Régime de noix fraîches et noix de coco ouvertes (copyright [www.colonicsla.com/rawfood.htm](http://www.colonicsla.com/rawfood.htm) consulté le 15/10/07)

Les agents pathogènes ne peuvent pas proliférer dans les fruits à cause de leur faible pH. Même pour certains fruits comme la banane, le melon, la papaye, la figue, la noix de coco etc., qui ont un pH élevé si les levures, tout comme les moisissures, sont présentes en grand nombre sur leurs surfaces, elles ne possèdent pas pour autant les mécanismes permettant d'envahir les tissus végétaux, et sont, de ce fait, des agents d'altération secondaires [(Alzamora et al., 1995) cité par le site <http://www.awigp.com/default.asp?numcat=coco> consulté le 05/07/07]. Ainsi, les affections liées aux aliments causées par des agents pathogènes ou des toxines bactériennes de fruits (exemple des salmonelles que l'on trouve sur les fruits frais) ont été surtout attribuées à la contamination produite par le matériel de transformation ou par l'exposition aux déchets humains ou animaux.

### 1-3.3 Comparaison eau de coco et boissons pour sportifs

Le tableau 3 montre qu'en plus de son goût naturel, l'eau de coco contient des électrolytes et des sels minéraux à un taux largement suffisant pour compenser les pertes dues aux efforts physiques intenses.

Tableau 3 : Composition de l'eau de coco et d'une boisson pour sportifs ([www.saveursdumonde.net](http://www.saveursdumonde.net), consulté le 20/09/06)

Paramètres	L'eau de coco	Boisson pour sportifs
	en mg/100 ml	
Glucides	2 100	5 800
Calcium	60	1
Phosphore	10	9
Sodium	41	25
Potassium	2	8
Magnésium	10	3
Chlorure	118	39

L'eau de coco joue un rôle important dans la germination et la maturation du fruit, c'est pourquoi sa composition varie au cours de ces processus physiologiques. Elle varie également selon les variétés de cocotier.

#### 1-3.4 La maturité et les constituants physico-chimiques de l'eau de coco

La composition chimique de l'eau de coco a été suivie aux différents stades de développement du fruit par divers auteurs (tableau 5).

Ainsi, il a été démontré que l'acidité est faible dans les trois premiers mois de la maturité. Elle augmente au cours des 3 mois suivants. Ensuite elle décroît. Le pH augmente dès les deux premiers mois de la formation de l'eau (Jayalekshmy, et al, 1986). Selon Pue et al (1992), le pH croît de 4.70 à 5.58 avec la maturation. Généralement, l'acidité titrable diminue au fur et à mesure de la maturation (Chikkasubbanna et al, 1990). L'acidité dans l'eau de coco serait due à la présence d'acides organiques, d'acides aminés libres, et même du CO<sub>2</sub> impliqué dans le phénomène de la respiration, et cette présence de CO<sub>2</sub> est observable par l'effervescence qui se produit lorsqu'on ouvre une noix fraîche récoltée à un stade bien particulier (Jayalekshmy et al, 1986).

Les sucres montrent une évolution plus importante que tout autre composé dans l'eau de coco. La maturation de la noix implique d'intenses activités de synthèse. Ces activités biochimiques ont besoin pour être accomplies d'énergie que fournissent les sucres contenus dans l'eau de coco (Jayalekshmy et al, 1986). Les teneurs en sucres réducteurs et non réducteurs augmentent entre 6 et 7 mois de maturité. Puis elles diminuent au cours des étapes suivantes du développement de la noix (Chikkasubbanna et al, 1990). Les sucres réducteurs (glucose, fructose) et non-réducteurs (saccharose) atteignent leur teneur maximale dans le 9<sup>e</sup> mois du développement de la noix et la chute de leur taux par la suite pourrait être expliquée par leur intégration dans la synthèse des matières grasses (Chikkasubbanna et al, 1990). Il est intéressant de noter que l'eau de la noix contient plus de sucres réducteurs que de sucres non réducteurs. Mais ce rapport varie parfois avec la maturité. Dans le 6<sup>e</sup> mois du développement

du fruit, quand commence la formation de l'endosperme solide, les sucres invertis et les acides aminés prédominent. Ensuite les sucres non réducteurs apparaissent, mais la teneur en sucres totaux diminue [Pandalai, 1958 cité par Chikkasubbanna et *al* (1990)]. A maturité, 90% des sucres totaux ont disparu alors que les sucres réducteurs n'existent plus qu'à l'état de traces (Child et *al*, 1950).

La matière sèche totale est ce qui reste quand on a évaporé l'eau. Dans les 4 variétés de coco étudiées par Jayalekshmy et *al* (1986), cette matière sèche totale augmente avec la maturité. Mais entre 8 et 9 mois de maturité, la teneur en matière sèche reste presque constante au niveau de certaines variétés que les auteurs n'ont pas précisées.

Les cendres, éléments minéraux, n'ont évolué dans aucune des variétés étudiées au cours de la maturation comme on peut le constater dans le tableau 4.

Les teneurs en protéines et en matières grasses augmentent avec la maturité.

**Tableau 4:** Influence de la maturité sur la composition chimique de l'eau de coco variété *Tall* (Jayalekshmy et *al*, 1986)

<b>Stade de maturité (mois)</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
pH	4,80	4,95	5,09	4,50	4,45	4,55	4,65	5,10
Acidité titrable (mg d'acide citrique/100g d'eau)	112	118	118	144	144	144	80	64
Matière sèche totale (g/100g d'eau)	5,8	6,5	6,5	6,0	5,5	5,9	5,7	5,4
Sucres totaux (g/100g d'eau)	4,80	5,7	4,6	3,8	3,1	2,8	2	2
Sucres non réducteurs (%) de sucres totaux)	16,7	22,9	30,4	36,5	35,5	78,6	90	90
Sucres réducteurs (%) sucres totaux)	83,3	77,1	69,6	63,4	64,5	21,4	10	10
Protéines (mg/100g d'eau)	11,3	18,1	22,5	39,4	45,6	79,4	82,5	75,6
Lipides (mg/100g d'eau)	4,5	1,5	7,2	12,6	28,7	53,6	/	83
Cendres (mg/100 g d'eau)	580	530	560	550	560	650	540	/
K (mg/100g d'eau)	324	291	290	272	282	275	247	/
Na (mg/100 g d'eau)	21	42	42	52	52	52	48	/
Cl (mg/ 100g d'eau)	100	75	91	85	72	130	108	/
Ca (mg/100g d'eau)	48	44	53	54	57	51	40	/

### 1-3.5 La variété et les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de coco

Nadanabapathy et Kumar (1999) ont travaillé sur 5 variétés de cocotier: Chowghat Green Dwarf, Chowghat Orange Dwarf, Malaysian Yellow Dwarf, Malaysian Orange Dwarf et Tiptur Tall. Les résultats de leurs travaux ont permis de connaître la composition moyenne en éléments constitutifs de l'eau de coco que nous présentons dans le tableau 5. En effet, le tableau montre de manière globale que la composition physico-chimique de l'eau de coco varie avec la variété de cocotier.

Tableau 5: Influence de la variété sur les constituants physico-chimiques de l'eau de coco (Nadanasabapathy et al, 1999)

Caractéristiques physico-chimiques	Variétés de cocotiers				
	Chowghat Green Dwarf	Chowghat Orange Dwarf	Malaysian Yellow Dwarf	Malaysian Orange Dwarf	Tiptur Tall
Volume moyen (ml)	320	390	480	240	350
pH	5.17	4.94	5.02	4.83	4.89
Acidité totale (mg de KOH)	0.049	0.071	0.065	0.092	0.084
Sucres totaux (%)	5.12	4.86	4.72	4.54	4.48
Sucres réducteurs (%)	4.86	4.41	4.32	3.86	3.74
Sucres non-réducteurs (%)	0.26	0.45	0.40	0.68	0.74
Extrait sec soluble (%)	5.1736	4.9060	4.7652	4.6226	4.5676
Cendres (mg/100 ml)	349.9	289.1	282.7	281.6	312.8

La maturité et la variété ne sont pas les seuls facteurs de variation de la qualité de l'eau de coco. Il y a aussi des facteurs intrinsèques comme la composition en polyphénols qui s'oxydent au contact de l'oxygène de l'air. Cette réaction d'oxydation est accélérée par la présence des enzymes endogènes telles les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD).

## **1-4 ACTIVITES ENZYMATIQUES DANS L'EAU DE COCO**

### **1-4.1 Le brunissement enzymatique**

La plupart des aliments sont sujets au brunissement enzymatique. Ces réactions sont d'autant plus importantes que le matériel est soumis à de multiples manipulations entraînant des blessures du tissu végétal au moment de la récolte. Ces réactions engendrent une modification de l'apparence et de la saveur, préjudiciable à la qualité organoleptique de l'aliment. Certes, le brunissement (enzymatique ou non enzymatique) peut être recherché lorsqu'il améliore l'aspect et le goût de l'aliment comme c'est le cas du café, de la datte et du sirop d'érable. Mais le brunissement, lorsqu'il est provoqué par des actions mécaniques préalables aux processus de transformation, est indésirable, puisqu'il en résulte une altération de l'aspect physique et du goût. C'est donc une cause importante de perte de qualité.

Le phénomène de brunissement enzymatique se produit dans l'eau de coco une fois que la noix est ouverte mettant le liquide au contact de l'air. Le liquide prend alors parfois une teinte brune, jaune ou rose en quelques minutes ou quelques heures.

Dans l'expression du brunissement enzymatique interviennent de nombreux facteurs dont principalement les substrats phénoliques, l'activité des enzymes d'oxydation et la disponibilité en oxygène (ou en peroxyde).

#### **• Les composés phénoliques et l'oxygène**

Les composés phénoliques sont très nombreux et le terme "polyphénols" est consacré par l'usage pour les désigner. Ce sont des composés organiques disposant tous en commun d'un ou

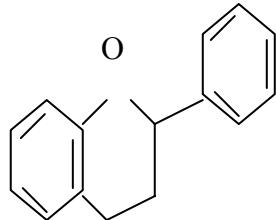
de plusieurs groupements hydroxyles portés par un ou plusieurs atomes de carbone d'un noyau aromatique. Le tableau 6 montre les principales classes de ces composés.

Tableau 6: Principales classes des composés phénoliques (d'après Macheix et al, 1990)

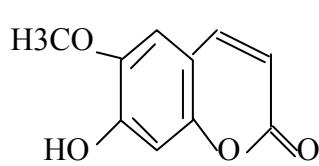
Squelette	Classe phénols simples	Exemples	Origine
C <sub>6</sub>	phénols simples	catéchol	nombreuses espèces
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	acides hydroxybenzoïques	P-hydroxybenzoïque	épices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	acides hydroxycinnamiques, coumarines	acide caféïque, scopolétine	pomme de terre, pomme, citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	naphtoquinones	juglone	noix
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	stilbènes	resvératrol	vigne
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	flavonoïde, isoflavonoïdes	quercétine, cyanidine, daidzéine	fruits, légumes, fleurs, soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	lignanes	pinorésinol	pin
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	lignine		bois, fruits à noix
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	tanins condensés		raisin, kaki

Ces différentes classes de phénols se présentent sous la forme de structures diverses dont voici quelques exemples.

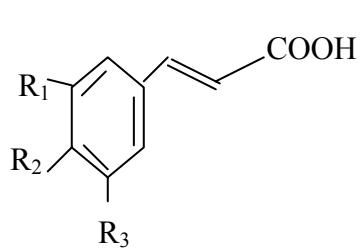
Quelques exemples de structures de base des composés phénoliques



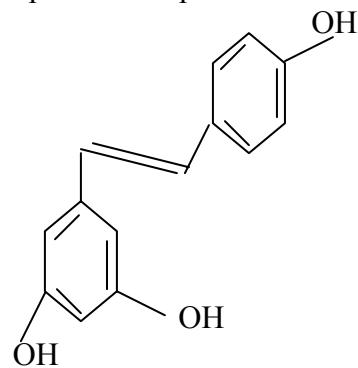
Squelette de base des flavonoïdes



Les coumarines simples : la scopolétine



Acide hydroxynynamique



Exemple de stilbène: le resvératrol

Figure 6 : Exemples de structures de base de polyphénols

Des résultats de recherche menée sur des variétés de poire ont montré que la sensibilité du fruit au brunissement n'était pas tant fonction de sa maturité au moment de la récolte, que de sa variété. De même, pour une même variété, la teneur en composés phénoliques apparaît d'autant plus basse que la récolte est tardive.

On aurait pu croire que la sensibilité du fruit au brunissement est liée à sa teneur en composés phénoliques. Il n'en est pas ainsi, car Guyot (une variété de poire à plus faible teneur en composés phénoliques) brunit aussi vite que Comice (la variété de poire qui a la plus forte teneur en composés phénoliques) <<http://www.perso.fr./la-face-cachee-du-fruit/f-mp/mp-poire.htm>> (consulté le 02/10/06).

Enfin, l'exposition du matériel végétal à l'air (présence d'oxygène), la durée et les conditions de stockage influencent notamment le comportement du fruit. Aussi, des composés phénoliques ont-ils été découverts dans l'eau de coco et le tableau 7 suivant nous présente les teneurs sur la variété *Tall* des Philippines.

**Tableau 7:** Teneur en polyphénols de l'eau de coco, selon l'âge de la variété *Tall* des Philippines (Baldiviano et al, 1999)

Teneurs en phénols			
Stade de maturité	Phénols totaux (mg de catéchine/ml)	Protéines précipitant les phénols (mg d'acide tannique/ml)	Phénols type flavane (mg de catéchine /ml)
6 à 7 mois	0.184	0.066	0.0006
9 à 10 mois	0.153	0.064	0.005

#### ▪ Les enzymes d'oxydation : Localisation des enzymes et le mécanisme de la réaction

Les principales enzymes responsables du brunissement enzymatique sont les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD). Les PPO et les POD sont des enzymes très ubiquistes qui montrent une expression constitutive modulée en fonction des organes et de leur âge physiologique. Elles sont présentes dans tous les organes des plantes et peuvent montrer des différences de localisation au niveau tissulaire à l'intérieur d'un même organe. Les POD sont localisées dans les parties lignifiées, les parois et les vacuoles (Mäder, 1992) où elles sont solubles, alors que les PPO sont présentes préférentiellement dans les membranes plastidiales (chloroplastes, amyloplastes). L'état physiologique des organes semble avoir un impact sur la force de liaison entre les PPO et les membranes notamment la maturité et la sénescence sont associées à une solubilisation plus facile des PPO. Mais dans l'eau de coco, on ne sait pas si les PPO et les POD sont simplement en suspension ou associées à certains organites de nature protéinique. Il semble que lors des traitements au cours de l'extraction de l'eau de coco, ces enzymes, beaucoup plus présentes dans la bouteille, peuvent être entraînées dans l'eau.

L'expression des gènes des PPO est généralement très précoce au cours du développement, mais la protéine produite ayant une demi-vie particulièrement longue, elle reste active à des stades physiologiques où plus aucun ADNc ne peut être détecté (Hunt et al, 1993).

La formation des pigments bruns résulte de deux types de réactions successives dans le temps. La première est l'oxydation enzymatique des composés phénoliques natifs qui se traduit par la formation des quinones dont la couleur dépend des substrats oxydés. Selon De Rigal, (2001) lorsque le fruit est tranché, les vacuoles des cellules sont ouvertes libérant les composés phénoliques qui subissent une oxydation au contact de l'oxygène moléculaire. Puis intervient le système enzymatique. Il se produit alors l'hydroxylation des phénols en ortho-diphénols. Ensuite, il y a l'oxydation des ortho-diphénols en ortho-quinones. Cette réaction se déclenche

très rapidement dès que les conditions sont favorables et est réversible par exemple en présence d'antioxydant comme l'acide ascorbique. Les quinones sont très instables et très réactives surtout en milieu aqueux et engendrent une deuxième réaction. Cette dernière n'est pas une réaction enzymatique mais une polymérisation des quinones et/ou une combinaison de ces quinones à d'autres molécules présentes *in situ* telles que les acides aminés, les peptides et les protéines conduisant à des complexes relativement stables de couleur brune. Cette dernière réaction n'est pas réversible. Les pigments qui se forment au terme de ce processus sont désignés par le terme de mélanine (Diop, 2005). Mais il arrive qu'on ait aussi des couleurs rose, rouge, bleu-noir, jaune-clair (Cheftel et al, 1977). Les mélanines se forment alors à partir des quinones sans intervention d'enzymes.

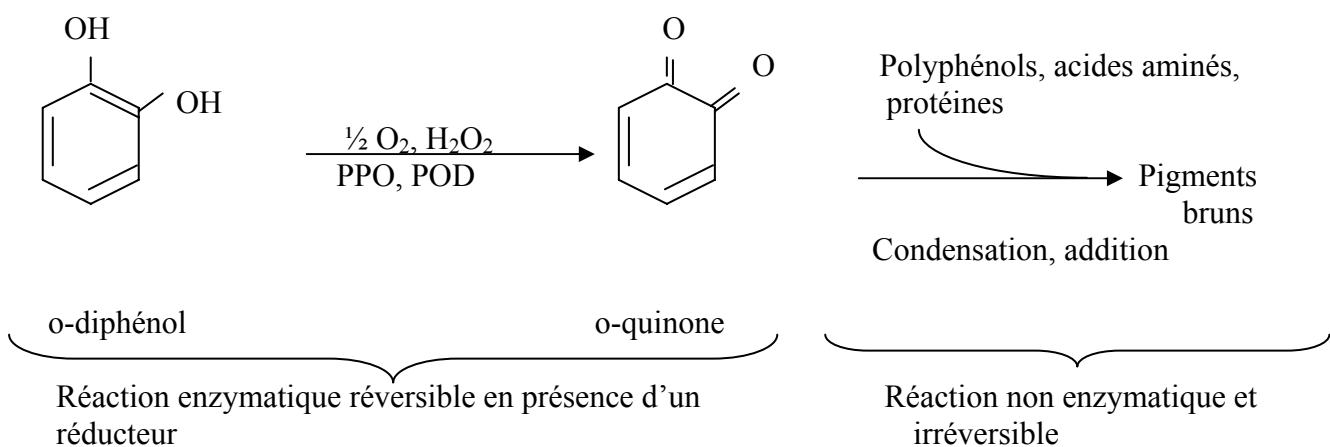


Figure 7 : Illustration des réactions se déroulant au cours du brunissement des fruits et légumes

L'activité PPO se compose des activités crésolases (EC1.14.18.1) qui catalysent les monophénols en o-diphénols, et catécholases (EC1.10.3.1) qui catalysent les o-diphénols et de ce fait sont responsables de l'apparition des pigments bruns des fruits et légumes.

La peroxydase est une enzyme contenant de l'hème et c'est cet hème qui est en mesure de catalyser une série de réactions oxydatives en déléguant le peroxyde d'hydrogène comme accepteur d'électron.

#### 1-4.2 Détermination de l'activité enzymatique

Pour déterminer l'activité des PPO et POD, il faut choisir des conditions expérimentales standardisées conduisant à l'expression maximale du brunissement. Ces analyses nécessitent au préalable de broyer le produit dans l'eau ou dans une solution à un pH favorable aux activités enzymatiques, généralement pH 4 à 6 et d'agiter à température ambiante en présence d'air pendant un temps défini pouvant varier entre 15 min à une heure. Il faut ensuite séparer le culot du surnageant par filtration, ou par centrifugation. Mais l'eau de coco étant un liquide, une fois qu'elle est extraite, l'analyse ne nécessite plus aucune étape de préparation préliminaire et le dosage enzymatique peut se faire directement. Pour les matières premières qui ne sont pas liquides, les conditions d'extraction du PPO et du POD doivent permettre une solubilisation complète de la fraction enzymatique liée aux membranes tout en prévenant les interactions avec

les polyphénols endogènes. Il est intéressant d'utiliser pour l'extraction, des poudres acétoniques qui ont l'avantage d'éviter le problème de brunissement des échantillons au cours de l'extraction. On peut également faire l'homogénéisation des tissus dans un tampon et il est préférable d'utiliser un tampon phosphate. Les tampons d'extraction doivent contenir les inhibiteurs d'oxydation tels que l'acide ascorbique (jusqu'à 20 mM) ou des pièges à phénols comme la polyvinylpyrrolidone (jusqu'à 1g/g MF).

Dans la mesure des activités des PPO et des POD, il est établi de tester une gamme de pH pour le tampon, étant données que d'importantes différences existent entre les enzymes même dans une même espèce.

Tableau 8 : Technique montrant le dispositif expérimental d'extraction et de dosage des PPO et POD

Enzymes	PPO		POD
Méthode	Spectrophotométrie directe	Méthode TNB (5-thio-2-nitro benzoïque)	Spectrophotométrie directe
Température	25 à 30°C	25 à 30°C	25 à 30°C
Tampon	Phosphate 0,1M pH6 ou phosphate-citrate 0,1M pH < 6 avec bullage d'air	Phosphate citrate 0,1M avec bullage d'air	Acétate 0,1M pH 6
Substrats	Divers O-diphénols notamment 4-méthyl-catéchol 2 à 20 mM, acide chlorogénique (1 à 5 mM)	4-méthyl catéchol (2 à 20 mM et 50 µM TNB)	0,32% (v/v) gaïacol et 20 mM de peroxyde d'hydrogène
Absorbance	410 nm à 420nm	412 nm	470nm

Les techniques largement utilisées reposent sur la mesure des produits de la réaction par spectrophotométrie directe. Car ces produits issus des réactions catalysées par les PPO et les POD sont naturellement colorés. Toutefois la mesure n'est souvent pas linéaire parce que les quinones formés sont chimiquement très réactives et conduisent rapidement à de nouvelles réactions non enzymatiques. Il arrive souvent qu'à la suite de ces nouvelles réactions les produits obtenus soient inhibiteurs des activités PPO et POD avec des cinétiques très différentes selon le type d'enzyme (Lopez-Serrano et Ros Barcelo, 2002). C'est pourquoi il est recommandé que les mesures soient faites dans un laps de temps très court (1min).

Dans une étude conduite par Campos et *al* (1996), où a été mise en évidence l'activité des polyphénoloxoxydases et des peroxydases dans l'eau de coco, ils les ont soumises à un traitement thermique entre 70 et 90°C dans des tubes. Une fois la température atteinte, les tubes sont réfrigérés immédiatement. On a ajouté alors au contenu des tubes de l'acide ascorbique à des concentrations différentes. Dans l'analyse de leurs résultats, on découvre que l'activité du la PPO et de la POD est maximale pour un pH de 5.5 et 6.0 respectivement. Par contre pour un pH de 8.5 l'activité des PPO et POD est à son niveau minimal, respectivement 15% et 3.2%.

Dans l'eau de coco, le plus fort de l'activité se situe à une température de 25°C pour la PPO et 35°C pour la POD (100%). Mais à une température de 60°C leur activité est réduite à 39% pour la PPO et à 24% pour la POD. Pour beaucoup de fruits: banane, figue, pomme, la POD est plus thermorésistante que la PPO [Luh et Whitaker (1974) et Silva (1981) cités par Campos et *al*

(1996)]. Mais dans l'eau de coco, d'après les mêmes auteurs, c'est la PPO qui résiste le plus au traitement thermique.

### 1-4.3 Prévention du brunissement

Dans la conduite du contrôle de brunissement, Jiang et Miles (1993) ont confirmé que les peroxydases, bien que largement représentées dans l'ensemble des espèces, ne sont que rarement impliquées dans le brunissement et ceci suite à un stress mécanique. Ils ont précisé qu'il est probable que la catalyse de l'oxydation des phénols par les peroxydases soit limitée par la faible disponibilité de leur autre substrat (le peroxyde d'hydrogène). Parmi les polyphénoloxydases étudiées dans la prévention du brunissement nous pouvons noter essentiellement l'activité des monophénolases ou tyrosinases (EC1.14.18.1) et les o-diphénolases (EC1.10.3.1).

Les méthodes de prévention du brunissement enzymatique sont ainsi classées en trois types selon qu'elles affectent l'enzyme, le substrat ou les produits de la réaction.

#### Effet sur les enzymes

On peut agir sur le pH dont l'influence est la dénaturation irréversible des PPO par acidification ou alcalinisation. Mais l'utilisation des pH extrêmes pour contrôler le brunissement peut se révéler délicate. Car les polyphénols sont parfois très sensibles à l'oxydation en milieu alcalin et les PPO sont aussi relativement tolérantes au pH acide. Alors qu'un abaissement de pH au point d'inhiber complètement les activités PPO peut devenir incompatible avec la qualité du produit fini. Toutefois l'utilisation du vinaigre (acide acétique) pour traiter les têtes de laitue a permis de réduire significativement l'activité polyphénoloxidase [(Castaner et al, 1996 et 1997) et (Tomas-Barberan et al 1997)] cités par Sarni-Manchado et al (2005). Mais cette solution ne saurait être recommandée dans le traitement de l'eau de coco.

Il existe des voies chimiques de contrôle du brunissement. Il s'agit essentiellement des inhibiteurs chimiques, agissant sur l'enzyme au niveau du cuivre lié à la protéine enzymatique et affectant le site reconnu par le substrat phénolique, et des agents chélateurs. Nous pouvons citer ici quelques inhibiteurs chimiques :

- L'acide ascorbique, pour lequel la législation fixe la concentration maximale dans le bain de trempage à 5g/l. Et l'addition de l'acide ascorbique, en complément d'un traitement thermique, s'est révélée comme le traitement le plus efficace pour inactiver l'action des 2 enzymes lorsque l'eau de coco est en contact avec le milieu ambiant (Campos et al, 1996) à une concentration de 20 mg/100 ml.
- Les bisulfites: citons le métabisulfite de potassium (5g/ l dans le bain de trempage) dont la dose résiduelle ne doit pas dépasser 20 ppm. Le métabisulfite de potassium additionné à l'eau de coco inhibe à 100% l'effet des enzymes polyphénoloxydases, mais seulement 11% de l'action des peroxydases.
- Les chlorures tels le chlorure de sodium pour lequel la seule exigence est que l'aliment soit consommable à la fin du traitement
- On peut, citer également : l'acide benzoïque, l'acide cinnamique, l'acide oxalique, l'acide salicylhydroxamique, l'acide sorbique etc.

## Action sur les substrats

Les substrats du brunissement sont constitués par les phénols, et le co-substrat est l'oxygène. On peut réduire ou inhiber ce phénomène par enlèvement de ces substrats. L'élimination totale de l'oxygène est le moyen le plus efficace pour contrôler l'oxydation des phénols catalysée par les PPO. La désoxygénéation est obtenue par le vide ou le barbotage d'azote ou la consommation de l'oxygène. Le glucose oxydase peut être utilisée dans ce cas, puisqu'elle dégrade le glucose en acide gluconique en consommant une molécule d'oxygène (Cheftel et al, 1977). La désoxygénéation peut aussi être obtenue par une barrière physique qui empêche la diffusion de l'oxygène dans les tissus comme par exemple l'immersion des fruits dans un sirop de sucre ou l'utilisation d'un gaz inerte. Notons cependant que l'application de ces méthodes reste encore difficile sur l'eau de coco et les tissus vivants en général à cause des modifications métaboliques possibles dans les conditions anaérobies (Nicolas et al, 1994). On peut utiliser deux manières pour agir sur les substrats phénoliques :

La première méthode est l'utilisation d'un adsorbant spécifique, le polyvinylpolypyrrrolidone (PVPP), le charbon actif, les N-chitosans, etc. Cette méthode a été utilisée en œnologie par De Rigal (2001) pour éliminer les phénols par filtration de la boisson au travers d'un lit d'agents adsorbants.

L'utilisation d'agents chélatants tels que les cyclodextrines ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ) qui sont des chélatants d'origine naturelle. Leur action consiste à piéger les phénols au sein de leur cavité hydrophobe empêchant ainsi le phénomène de brunissement. Cette méthode a été utilisée par Sapers et Miller (1989) pour inhiber complètement le brunissement enzymatique dans le jus de pomme. Les carraghénanes qui sont des sulfates de polysaccharides, peuvent aussi avoir une action négative sur le brunissement enzymatique dans le jus et dans les tranches de pomme (Nicolas et al, 1994). Le mécanisme de leur action peut être la complexation des phénols et il a été suggéré que le cofacteur cuivrique de la polyphénoloxydase soit chélaté par les groupements sulfates des carraghénanes et des sulfates de xylose et d'amidon (Nicolas et al, 1994).

## Effet sur les produits de la réaction

On peut également agir sur les produits de la réaction par des anti-oxydants (l'acide ascorbique), par la méthylation des substrats phénoliques et par les acides. En effet les antioxydants ont la capacité de réduire les o-quinones en diphénols incolores ou de réagir de façon irréversible avec ces o-quinones pour former des produits stables et incolores identiques à ceux formés à l'issue de l'action des sulfites (McEvily et al, 1992). L'acide ascorbique est l'agent réducteur le plus utilisé en industrie d'une part à cause de ses propriétés antioxydantes et antiradicalaires, d'autre part à cause de son faible coût. Il est capable de réduire les quinones avant leur polymérisation et de régénérer les polyphénols parentaux. Il a été utilisé pour prévenir le brunissement enzymatique du champignon (Golan-Goldhirsh et Whitaker, 1984). En revanche notons qu'il peut aussi arriver qu'une fois l'acide ascorbique ajouté dans le milieu, il soit oxydé en acide déhydroascorbique (5DHA), alors, les quinones vont s'accumuler et former donc des pigments bruns (Sapers et Miller, 1989).

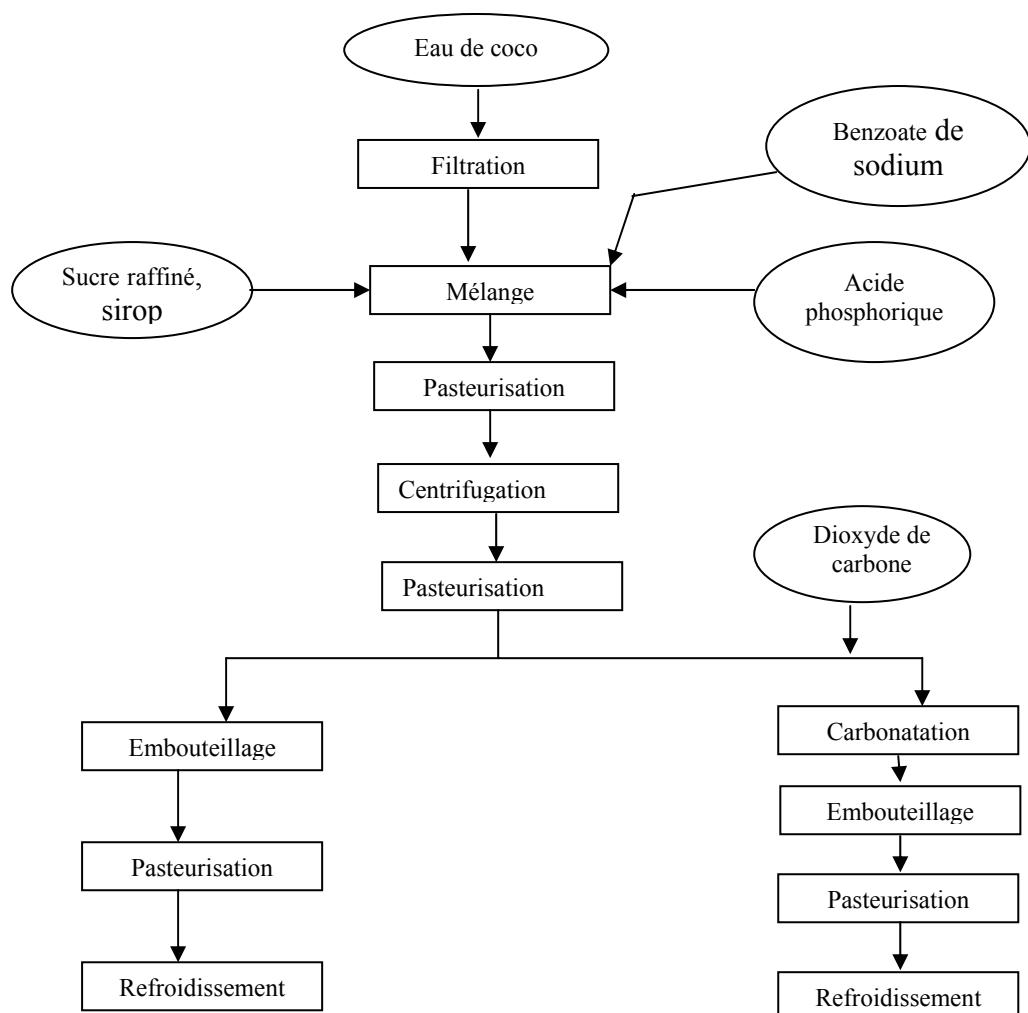
Dans le processus de stabilisation d'un produit destiné à la consommation comme de l'eau de coco, les différentes techniques de prévention du brunissement enzymatique doivent être choisies pour être compatibles avec les normes de qualité du produit.

## **1-5 PROCÉDES DE STABILISATION DE L'EAU DE COCO**

L'eau de coco est un produit peu acide et sucré. C'est un milieu favorable au développement des microorganismes. Sa stabilisation est donc indispensable pour optimiser sa conservation et proposer au consommateur un produit sain et sûr. Par ailleurs, il convient de prendre des mesures pour limiter ou, mieux, inhiber complètement les réactions de brunissement qui entraînent un changement de couleur du produit, dégradant son aspect visuel et le goût.

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, les processus technologiques utilisés pour arrêter le brunissement enzymatique sont le chauffage, l'utilisation du dioxyde de soufre, l'élimination de l'oxygène, l'utilisation du chlorure de sodium, la méthylation des substrats phénoliques et les anti-oxydants. Ces techniques ont donné de bons résultats exploitables en laboratoire sans que toutes satisfassent les exigences du consommateur, et les exigences économiques à l'échelle de l'entreprise.

### **1-5.1 Procédés de fabrication de boissons d'eau de coco**



**Figure 8 : Diagramme de fabrication de boissons gazeuses et non gazeuses d'eau de coco**  
(à partir de Gonzales et al, 1983)

Les PPO sont très thermosensibles comparées à d'autres enzymes de dégradation des fruits et légumes et un traitement de pasteurisation suffit pour les dénaturer complètement notamment lorsque ce traitement est conduit en milieu acidulé (Demeaux et Bidan, 1966) cités par Sarni-Manchado et *al* (2005).

Ce procédé a été utilisé par Gonzalez et *al* (1983) qui ont utilisé le chauffage pour stériliser l'eau de coco (mature) en choisissant de faire un traitement à haute température pendant un temps court. En effet l'eau est recueillie, filtrée avant de passer à la centrifugation. Ensuite le pH et le sucre sont ajustés avant le traitement thermique. Parfois on ajoute du citrate de sodium comme stabilisateur (Del Rosario et *al*, 1979). Le produit fini est stocké en conditions aseptiques. Certes, le traitement a donné de l'eau de coco qui a bien répondu aux ambitions technologiques, mais il a entraîné d'importantes modifications, et les consommateurs n'ont pas retrouvé le goût et la fraîcheur de l'eau de coco naturelle. Le produit a également perdu son arôme délicat et ses caractéristiques nutritionnelles.

### 1-5.2 Autres traitements de stabilisation

La fabrication de boissons pour sportifs à partir de l'eau de coco proposé par la FAO (2000) procède par l'extraction de l'eau de coco des noix fraîches (9 mois) qu'on passe au travers d'un filtre grossier pour éliminer les particules solides. Ensuite l'eau est transférée dans une cuve réfrigérée maintenue à 6°C pour éviter les risques de fermentation et de détérioration enzymatique. Ensuite l'eau est centrifugée 15 000 g pour éliminer les particules colloïdales. après réfrigération et centrifugation, il est possible d'ajouter du saccharose et de l'acide ascorbique. Puis l'eau de coco passe à la microfiltration tangentielle sur une membrane de 0,2  $\mu\text{m}$ . L'eau est conditionnée dans des récipients aseptiques.

Diop (2005) a effectué des essais de microfiltration tangentielle de l'eau de coco, le facteur de réduction volumique est égal à 25. Il s'agit d'une technique de séparation solide liquide avec une membrane dont le diamètre des pores est compris entre 0,1 et 10  $\mu\text{m}$ . L'auteur a ajouté au milieu de l'acide ascorbique. La technique a permis de réduire l'activité des enzymes endogènes de 97 à 98% dans le jus acidifié (par ajout d'acide ascorbique) et clarifié. Mais il semble que ce résultat soit beaucoup plus dû à l'addition de l'acide. Car lors des essais préliminaires en l'absence de l'acide l'auteur a affirmé qu'il n'y avait pas de différence significative entre l'activité des enzymes dans l'eau de coco fraîche et celle traitée.

L'utilisation de méthodes physiques, comme le blanchiment, la conservation en atmosphère contrôlée ou par le froid dans la prévention du brunissement enzymatique est très souvent pratiquée. On peut utiliser également des prétraitements à la vapeur ou à l'eau (90°C pendant 3 min), du trempage dans une solution de bisulfite de sodium (2% pendant 5 min) ou un traitement osmotique dans un sirop (50%) de saccharose pendant 10 heures à 40°C pour réduire de façon significative le brunissement enzymatique des pommes de terre, de banane, de pomme et de carotte lors de leur séchage (Demeaux et Bidan, 1966) cités par Sarni-Manchado et *al* (2005).

On peut retenir à l'issue de cette première partie que le stade physiologique de la noix est déterminant pour obtenir l'optimum de la caractéristique recherchée, et dans une même espèce, la qualité recherchée pour une caractéristique donnée varie suivant la variété. De même, la

capacité de brunissement dépend des différents paramètres impliqués dans la réaction (teneur et nature des composés phénoliques, activité des enzymes, teneur en oxygène ou en peroxyde).

La lyophilisation est un procédé de séchage, applicable, entre autres, aux aliments. Elle consiste à éliminer l'eau contenue dans les produits préalablement surgelés (ou congelés) sans en modifier de façon appréciable (dans le meilleur cas) la forme, la couleur, le goût et la texture cellulaire. Il s'agit en fait du passage direct de l'eau de l'état solide à l'état gazeux.

## II MATERIEL ET METHODES

### **2-1 MATERIEL VEGETAL**

Les mises au point de méthodes ont eu lieu avec des noix de coco matures provenant des supermarchés de Montpellier. Les essais préliminaires ont continué avec l'utilisation de noix fraîches reçues du Costa Rica pour lesquelles nous n'avions pas d'information ni sur l'âge, ni sur la variété d'origine. Ces noix du Costa Rica nous ont servi à faire un suivi de dégradation de l'eau de coco.

En Côte d'Ivoire, nous avons choisi de travailler avec deux variétés de cocotiers : le *Nain Vert de Guinée Equatoriale* noté NVE et une variété hybride issue du croisement du *Nain Jaune de Malaisie* et du *Grand Ouest Africain* (NJM X GOA) notée PB121+. C'est un hybride amélioré ce qui lui vaut le signe "+" qu'il porte. Ce choix de NVE se justifie par le fait que la variété NVE est celle qui est préférée en Côte d'Ivoire pour la consommation. Le choix de l'hybride vient du fait qu'il est le plus cultivé par les petits producteurs en Côte d'Ivoire.

Le cocotier NVE est de petite taille à production précoce. Il porte de petits fruits nombreux et dont le pédoncule du régime est vert. Le cocotier PB121+, a des caractères intermédiaires entre les "Nains" et les "Grands" ; il est donc de plus grande taille avec une production de fruits plus tardive. Les régimes, moins chargés que ceux des *Nains Verts*, portent des noix plus volumineuses, le pédoncule du régime est également vert.

Sur le terrain, bien que la priorité dans nos objectifs, soit définie par rapport à l'eau de coco, nous avons également effectué des mesures de base (masse de la noix entière, l'épaisseur de l'amande, etc ...) et des observations particulières sur la détermination de la maturité des noix.

#### **2-1.1 Echantillonnage**

La première étape est d'identifier les parcelles 092 et 051 qui portent respectivement les variétés NVE et PB121+. Nous avons ensuite échantillonné 6 arbres de chaque variété sur lesquels il faut déterminer les différents stades de développement des noix. Nous avons en effet projeté de mener notre étude sur les noix de 7, 8, et 9 mois d'âge. Chaque régime est porté à l'aisselle d'une feuille qui apparaît chaque mois suivant une spirale autour du tronc de l'arbre. Considérant un point donné où s'insère une feuille sur le tronc de l'arbre, l'évolution des feuilles suivantes forme une spire autour de l'arbre. Ainsi la sixième feuille va se situer à la verticale au dessus de la première. Le principe veut qu'on commence par compter à partir du sommet de l'arbre (la flèche). Ainsi la feuille qui porte la plus grosse spathe non encore

ouverte est au numéro 9 de sorte que la feuille immédiatement en dessous est la 14<sup>ème</sup>. De même lorsqu'on compte à partir de la feuille qui porte la spathe qui vient de s'ouvrir, on la compte 10 de sorte que la feuille directement en dessous est la feuille 15.

Cette méthode nous a permis de récolter sur ces variétés (NVE et PB121+), les 3 régimes de noix dont nous avons eu besoin pour notre étude (cf. annexe 1). Il s'agit des noix des régimes 19, 20 et 21 que nous désignerons indifféremment les noix de rang 19, 20, 21 ou encore les noix de feuille 19, 20, 21 et qui correspondent respectivement aux noix de 7, 8 et 9 mois d'âge. Nous avons prélevé sur chaque régime 3 noix : une à la base du régime, une au milieu et une en position sommitale pour obtenir un échantillon représentatif du régime. Soit au total 108 noix récoltées (3 noix \*3 régimes par arbre \* 6 arbres par variété \* 2 variétés) et traitées à la station de recherche du CNRA.

Tableau 9 : Echantillonnage des arbres et prélèvement des noix

Variété	Nombre d'arbres	Maturité	Nombre de fruit par régime	Nombre de fruit par arbre	Nombre total de fruits
NVE	6	7, 8, 9 mois	3	9	54
PB121+	6	7, 8, 9 mois	3	9	54

Pour l'étude de suivi de dégradation de l'eau de coco qui a été réalisée au CIRAD à Montpellier, nous avions rapporté de Côte d'Ivoire 12 noix (4 noix par rang) de la variété NVE qui ont été récoltées aux stades de 7, 8 et 9 mois de maturité. Ces échantillons de noix ont été emballés dans du papier journal et transportés dans un sac plastique pour une durée de 20 heures avant d'arriver à Montpellier pour être stockés à +14 °C pendant 9 jours avant le début de l'étude.

## 2-1.2 Les mesures morphologiques (ou morphométriques)

En Côte d'Ivoire nous avons effectué les analyses morphologiques des noix et le dosage de l'activité enzymatique des polyphénolxydases. Les mesures morphologiques : circonférences équatoriale et polaire (Figure 9), masse de la noix entière, de la noix vide, de la coque et de la bourre sont des mesures qui se rapportent à chaque noix. Alors que les prélèvements de l'eau de coco pour les autres analyses - dosage colorimétrique, sucres, matières minérales, protéines – sont effectués sur le mélange de l'eau des 3 noix du régime. Cette méthode est également utilisée pour le prélèvement des échantillons d'amande. En effet, une étude d'échantillonnage précédente a montré qu'il n'existe de gradient intra-régime pour les caractéristiques physicochimiques de l'eau et de l'amande.



Figure 9 : Photo montrant la mesure de la circonférence équatoriale de la noix

Les mesures morphologiques ainsi que les différents prélèvements sont effectués dans les 24 heures après récolte.

Nous avons traité 27 noix par séance, c'est-à-dire 3 arbres échantillonnés d'une variété. Nous nous étions inspirés du protocole (en annexe 2) décrit par Prades et *al* (2002) qui suggère de coder les noix récoltées. Le code mentionne la variété, le numéro de l'arbre et le stade de maturité. De plus, les trois noix prélevées sur le même régime sont numérotées de 1 à 3. Les critères retenus pour les mesures sont les circonférences équatoriale et polaire à l'aide d'un mètre ruban, la masse de la noix entière, de la noix vide, de la bourse, de l'amande, de la coque par une balance à lecture directe dont la précision est 0,01g, le volume de l'eau. Les épaisseurs de l'amande et de la coque sont mesurées avec un pied à coulisse. Que ce soit l'amande ou la coque, l'épaisseur est mesurée sur les morceaux prélevés dans les zones équatoriales. Les noix sont débourrées à l'aide d'un pieu métallique planté verticalement au sol et affûté à son extrémité supérieure. Pour extraire l'eau nous avons utilisé une seringue de 50ml et une aiguille stériles que nous introduisons dans la noix à partir du point germinatif. Cette méthode n'a été utilisée que pour les 27 premières noix de la variété NVE parce que l'équipe du travail l'a trouvée trop lente. Nous avons donc poursuivi en extrayant avec une machette ; méthode dont les ouvriers avaient l'habitude. La machette est flambée avant chaque utilisation. Nous versons ensuite l'eau dans un Becher nettoyé à l'alcool.

Pour déterminer le volume de l'eau nous avons taré la balance avec le Becher qui va contenir l'eau. Après pesée et mélange, des échantillons d'eau de coco sont prélevés : 1 ml dans les tubes Eppendorf et gardée à -20°C pendant 3 jours, 20 ml dans les capsules aluminium pour la matière sèche dans une étuve à 104°C.

## **2-2 LA LYOPHILISATION**

Il est nécessaire de stabiliser certains échantillons pour les analyses à faire à Montpellier, en l'occurrence les échantillons d'amande et d'eau. Ainsi nous avons prélevé 20 ml d'eau de coco dans des pots transparents (40 ml) et 50 g d'amande dans des sachets zippés que nous avons lyophilisés. Le lyophilisateur utilisé est une marque britannique EDWARDS MOULYO, PIRATINI 10. Les échantillons d'eau prélevés sur l'aliquote sont mis dans un congélateur à une température de - 20°C pendant un certain temps : 48 heures (pour le premier lot de noix traités correspondant aux 3 premiers arbres de NVE) et 24 heures (pour la deuxième série de traitement, les 3 autres arbres des NVE). A la suite de cette opération, l'eau est cristallisée sous forme de glace. Ensuite le tout est transféré dans le lyophilisateur, une enceinte sous vide pour y recevoir un apport calorifique contrôlé de façon à ce que la glace se sublimé. Le temps de lyophilisation n'a pas pu être contrôlé pour cause de coupure de courant pendant une journée. Ce qui fait que les échantillons de NVE sont resté plus longtemps dans le lyophilisateur (24 heures de plus) que les autres. Le principe de fonctionnement est tel que l'eau à l'état liquide n'apparaît à aucun moment de cette phase de dessiccation et le front de température progresse vers le cœur du morceau traité qui s'entoure d'une couche sèche poreuse.

Pour l'échantillon d'amande, nous avons coupé des petits morceaux (1cm environ d'arête) dans les zones équatoriales des 3 noix du même régime que nous avons mélangés. La prise à lyophiliser est prélevée sur le mélange, mise en sachet (criblé de petits trous) et congelé à - 20°C avant de passer au lyophilisateur.

## **2-3 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'EAU DE COCO**

A Montpellier comme en Côte d'Ivoire, la technique d'extraction de l'eau de la noix est celle qui utilise la seringue stérile : nous taillons avec un canif, passé au préalable à l'éthanol, la bourre (elle-même nettoyée à l'alcool en surface) du côté du pôle germinatif jusqu'à découvrir celui-ci au niveau duquel nous introduisons l'aiguille (figure a et b) qui sert à extraire le liquide. Lorsque la coque n'est pas trop dure (c'est le cas très souvent noix de rang 19), nous introduisons directement (sans tailler la bourre) l'aiguille à travers la bourre. Une deuxième aiguille est aussi mise pour dépressuriser la noix.

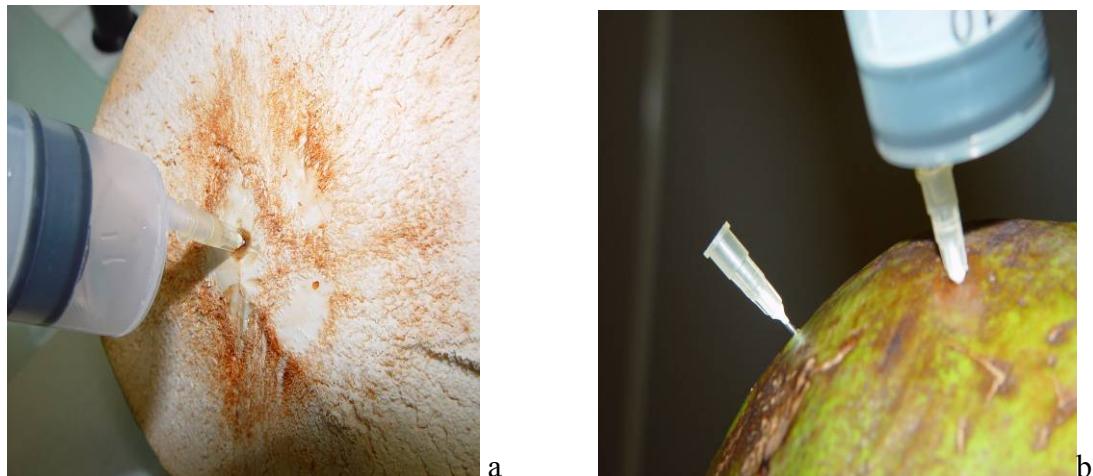


Figure 10 : Procédé utilisé pour extraire l'eau de coco de la noix

Le suivi de dégradation de l'eau de coco a porté sur des mesures du pH, de la température, de la conductivité, de l'extrait sec soluble, du dosage de l'activité enzymatique des PPO, ainsi que de l'observation de l'évolution de certains aspects qualitatifs (changement de couleur, odeur etc ;). Le tableau 9 présente les analyses effectuées et les méthodes auxquelles nous avons eu recours.

Tableau 10 : Paramètres mesurés sur l'eau de coco

<b>Paramètres</b>		<b>Unité</b>	<b>Méthode</b>	<b>Matériel</b>
Analyses physico-chimiques	Conductivité	$\text{mS.cm}^{-1}$	Méthode électrométrique	Sonde de conductivité
	Acidité titrable	g acide citrique/100ml	Titrimétrie	
	Teneur en O <sub>2</sub> dissous	mg/l	Oxymétrie	Sonde à oxygène
	Activité enzymatique des PPO	UA/ml	Dosage enzymatique	Spectrophotomètre Beckman UV-VIS
	pH	Unité pH	pHmètrie	pHmètre
	Extrait Sec Soluble	Brix	Réfractométrie	Réfractomètre manuel ATC
Analyses microbiologiques	Flore mésophile totale	UFC/g	Sous-traitance	Sous-traitance
	Moisissures, levures	UFC/g	Sous-traitance	Sous-traitance

### 2-3.1 Mesure de l'acidité titrable (NF-V05-101)

Le mode opératoire consiste à prendre 10 ml d'eau de coco dans un Bécher. On ajoute un indicateur coloré : la phénolphtaléine. Tout en agitant le Bécher, on verse, à l'aide de la burette, la solution de soude 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante (le point d'équivalence). L'acidité est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100ml d'eau de coco. Elle se calcule par :  $(N_b * V_b * MM) / (V_a * 10)$ . Avec  $V_b$ ,  $V_a$  = respectivement volume de la soude (en l), volume (prise d'essai en l) de l'eau de coco.  $MM$  = masse molaire de l'acide citrique (en gramme / mole).

### Dosage de l'activité enzymatique : étalonnage

Il a été prévu dans nos objectifs premiers, de faire le dosage de l'activité de l'ensemble des enzymes endogènes de l'eau de coco à savoir les polyphénoloxydases et les peroxydases. Mais il ne nous a été possible - aussi bien à Montpellier qu'en Côte d'Ivoire - de ne traiter le sujet que sur les polyphénoloxydases. Ceci pour des raisons liées au temps et au matériel. Pour doser l'activité des PPO, nous avons utilisé la méthode empruntée à Campos et *al* (1996). Dans une cuve de 10mm de trajet optique on ajoute 2,15 ml de solution tampon phosphate à 0,05M et 250 $\mu$ l de catéchol 0,5M qu'on place dans un bain-marie à 25°C (température d'activité optimale des PPO) pendant exactement 10 min. Après que la cuve est sortie du bain-marie, nous ajoutons 100 $\mu$ l d'échantillon d'eau de coco au mélange. Nous couvrons la cuve par un parafilm et agitons (par retournement de la cuve 3 fois), pour homogénéiser le milieu et le saturer d'oxygène avant de la placer dans la cellule du spectrophotomètre. La lecture de la densité optique est l'apanage d'un spectrophotomètre BECKMAN DU640B (figure 12) commandé par un ordinateur de marque HP. La cuve témoin contient aussi 2,15 ml de solution tampon phosphate à 0,05M et 250 $\mu$ l de catéchol à 0,5M qu'on place dans un bain-marie à 25°C (température d'activité optimale des PPO) pendant exactement 10 min. Mais à la place de l'échantillon d'eau de coco, on ajoute de l'eau distillée.

- **Préparation de la solution tampon phosphate**

Nous disposons de poudre de disodium hydrogénophosphate dihydraté ( $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  98%) et de sodium dihydrogénophosphate dihydraté ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  99%). Nous pesons à peu près exactement 3,56 g de disodium hydrogénophosphate dihydraté que nous diluons dans 100 ml d'eau distillée et 3,12 g de Sodium dihydrogénophosphate dihydraté dans 100 ml d'eau distillée. La solution tampon est obtenue quand nous mélangeons les deux solutions dans la proportion de 16 ml de la première et 34 ml de la deuxième. Le pH de 6,5 est ensuite vérifié par le pHmètre à électrode pHM210 de marque Radiometer Analytical.



Figure 11 : Photographie du dispositif (spectrophotométrique) utilisé pour la lecture de l'absorbance (à replacer au bon endroit)

L'appareil effectue la lecture de l'absorbance dans l'eau de coco, toutes les 30 secondes pendant 600 secondes à la longueur d'onde de 425 nm par rapport à un témoin. La cuve du témoin est préparée dans les mêmes conditions que les autres échantillons sauf que l'eau distillée est utilisée au lieu de l'eau de coco. En Côte d'Ivoire nous avons utilisé la même méthode avec le spectrophotomètre Jasco V-530 sans utiliser le bain-marie, car la température du laboratoire est réglée à 25°C à l'aide du climatiseur et contrôlée par un thermomètre.

#### • Exploitation des résultats

La représentation graphique de l'absorbance en fonction du temps est une courbe dont on peut obtenir une tangente (pente). Cette tangente correspond au segment linéaire obtenu au cours des 5 premières minutes dont l'équation  $y = a*x + b$  (où x représente le temps) sert à déterminer l'activité enzymatique. Cette dernière est exprimée en UA (unité d'activité). Une unité d'activité exprime la quantité d'extrait enzymatique des PPO nécessaire dans les conditions de 425 nm pour provoquer une variation d'absorbance de 0,001 unité par ml de solution. On utilise la formule suivante :  $UA = \Delta DO / t * 0,0001$ . Le facteur 0,0001 est, par la définition de l'unité d'activité enzymatique, généré par le volume de la prise d'essai de 100 $\mu$ l (0,1 ml).

### **2-4 SUIVI DE DEGRADATION DE L'EAU DE COCO**

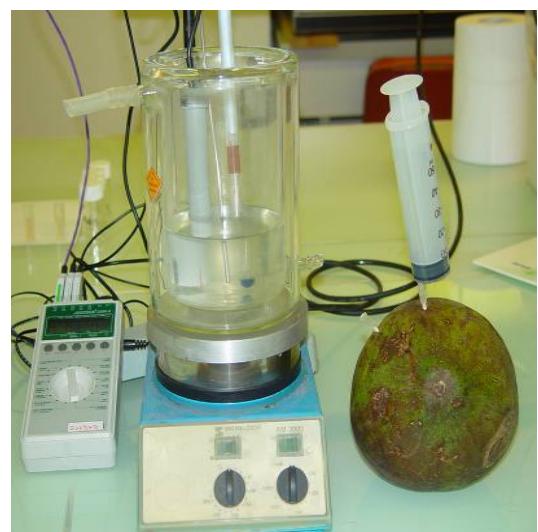
Nous avons effectué des suivis de dégradation de l'eau de coco de la noix de Costa Rica et de l'eau de coco de la variété NVE. Il s'agit de mesurer la variation par unité de temps de certains caractères physico-chimiques. Il était prévu d'étudier cette dégradation à trois températures différentes proches des températures tropicales. Mais nous n'avons pu le faire que pour une température de 30°C, représentative d'une température ambiante tropicale.

Cette étude comprend une partie d'essais réalisés sur les noix du Costa Rica et une partie réalisée sur les noix rapportées de Côte d'Ivoire (figure 13) à Montpellier. Pour les noix de

Côte d'Ivoire, le suivi a duré une cinquantaine d'heures et le protocole veut qu'un traitement soit composé d'un blanc et de deux répétitions d'un échantillon. Les photos de la figure 13 illustrent le dispositif expérimental monté pour effectuer les mesures. Il comprend un fermenteur à double paroi contenant l'eau de coco (2000 ml). La température de l'eau est maintenue à environ 30°C par la circulation de l'eau à l'intérieur de la double paroi grâce à une pompe. Nous avons observé au cours de la dégradation de l'eau de coco à la température de 30°C, l'évolution des paramètres tels que le pH, la conductivité, la teneur en oxygène dissous par des sondes introduites dans l'eau et reliées à un enregistreur de données de marque AHLBORN, type ALMEMO 2290-8 programmé pour faire des enregistrements automatiques toutes les 30 minutes.



(a)



(b)

Figure 12 : Dispositif monté pour le suivi de dégradation de l'eau de coco des noix du Costa Rica (a) et de Côte d'Ivoire (b)

Les résultats des mesures sont relevés aussi manuellement toutes les heures. Des prélèvements d'échantillons sont effectués chaque heure pour mesurer l'extrait sec soluble au réfractomètre, faire le dosage de l'activité des PPO, les mesures de la turbidité et de l'acidité par titrimétrie (soude à 0,1N). D'autres prélèvements sont faits et stockés pour des analyses ultérieures. C'est le cas des prélèvements pour le dosage des POD (1 ml) stocké à +4°C gardé à la température ambiante, des sucres et des polyphénols (5 ml) stocké à -20°C ainsi que les sels minéraux (120 ml) conservé à -20°C.

## 2-5 ANALYSE DES DONNEES

Nous avons utilisé le logiciel XLSTAT pour l'analyse statistique des données. Il nous a permis de calculer les moyennes et les écart-types. Nous avons étudié deux facteurs : facteur variété et le facteur stade de maturité. Les paramètres observés (tableau 10) sont considérés à deux niveaux pour le premier facteur (NVE et PB121+) et à trois niveaux pour le deuxième facteur (7 mois, 8 mois, 9 mois). Pour une variété, nous avons fait 18 répétitions (correspondant à 18 noix traitées) à chaque stade de maturité. Les moyennes des 18 répétitions des différents stades sont comparées à l'intérieur de la même variété. Ensuite, nous avons fait des comparaisons intervariétales en mettant en face les mêmes stades des deux variétés. Ceci

est réalisé en utilisant les tests non paramétriques qui ont permis de faire des comparaisons multiples des valeurs moyennes deux à deux avec pour intervalle de confiance 95%.

Tableau 11 : récapitulatif des facteurs et leurs modalités ainsi que les paramètres étudiés. Les cases cochées indiquent que le paramètre est mesuré à ce niveau du facteur. L'analyse microbiologique des noix de 8 mois des NVE est effectuée seulement au t0.

Facteurs Paramètres	Variétés						
	NVE			PB121+			Costa Rica
	7 mois	8 mois	9 mois	7 mois	8 mois	9 mois	
Masse noix entière	x	x	x	x	x	x	
Masse bourre	x	x	x	x	x	x	
Masse eau	x	x	x	x	x	x	
Masse amande	x	x	x	x	x	x	
Masse noix vide	x	x	x	x	x	x	
Masse coque	x	x	x	x	x	x	
Circonférences polaire et équatoriale	x	x	x	x	x	x	
Acidité titrable	x		x	x	x	x	
Extrait sec soluble	x		x	x	x	x	
Teneur en oxygène	x		x				
Activité enzymatique	x		x				x
Conductivité	x		x				x
Flore mésophile totale	x	x	x				
Moisissures et levures	x	x	x				

### III RESULTATS ET DISCUSSIONS

Rappelons que nous avons travaillé sur deux variétés de cocotiers de Côte d'Ivoire à savoir le *Nain Vert de Guinée Equatoriale* (NVE) et le *PB121+* que nous avons décrites plus haut. Nos observations ont porté sur les noix de 7, 8 et 9 mois d'âge, qui correspondent à des étapes de maturité où généralement les fruits du cocotier sont consommés frais. Ces étapes sont également celles qui intéressent aujourd'hui le marché des industries de transformation des noix de coco fraîches. La première partie des résultats présentera l'effet de la variété et du stade de maturité sur les caractéristiques physicochimiques des noix à la récolte, et la deuxième partie donnera les résultats de suivi de la qualité de l'eau de coco qui est extraite.

#### **3-1 INFLUENCE DE LA VARIETE ET DE LA MATORITE SUR LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA NOIX A LA RECOLTE**

Les caractéristiques morphologiques et les paramètres chimiques mesurés sont : la masse de la noix entière, les circonférences équatoriale et polaire, le volume total de l'eau contenue dans la noix, la masse de la bourre, la masse et l'épaisseur de la coque, la masse et l'épaisseur de l'amande, la masse de la noix débourrée, l'extrait sec soluble, le pH et l'acidité titrable de l'eau de coco.

##### **3-1.1 Masse des noix entières**

La figure 14 présente les résultats par rapport à l'évolution de la masse de la noix entière. On peut remarquer que dans la variété NVE, l'évolution de la masse est décroissante sans être significative. Ainsi la masse de la noix de la variété NVE croît à partir de sa formation et atteint sa valeur maximale avant l'âge de 7 mois. Ensuite la biomasse de la noix décline de façon non significative pendant la période de 7 à 9 mois. Ces observations semblent confirmer les résultats que Diop (2005) a obtenus sur la variété « supposée *Nain Vert de Philippines* » de Costa Rica. Selon ses résultats, la masse de la noix croît significativement à partir de 6 mois et atteint la valeur maximale à 7 mois. De 7 mois à 8 mois, la variation de la masse est décroissante mais de façon non significative ; ce qui correspond également à l'évolution de la masse des noix de la variété *ARSIKERE TALL* utilisée par Chikkasubanna (1990).

Pour la variété PB121+, les noix de 9 mois sont plus lourdes que celles de la variété NVE de même niveau de maturité. Dans cette variété hybride, la masse croît de façon non significative entre 7 et 8 mois. Entre 8 et 9 mois, la croissance de la masse est significative. Mais on ne peut pas dire si l'âge de 9 mois correspond à celui où la valeur maximale est atteinte pour la masse de ces noix.

De la variabilité intervariétale, on peut retenir que l'évolution de la masse n'est pas différente statistiquement entre les deux variétés aux stades de maturité 7 et 8 mois. Donc entre 7 et 8 mois du point de vue masse de la noix, on peut choisir indifféremment entre NVE et PB121+. Toutefois la différence est considérable lorsque les noix des deux variétés arrivent à 9 mois de maturité où les fruits de PB121+ ont une masse beaucoup plus importante que les NVE.

Cette caractéristique pourrait avoir une importance dans le besoin du transport des noix entières. Mais il est beaucoup plus judicieux lorsqu'on cherche à optimiser le transport des noix de considérer l'évolution de tous les compartiments de la noix. Car cette masse totale qui

se montre fonction de l'âge, est aussi à la fois liée à la masse de la bourre, la masse de l'eau que la noix contient, à la quantité de l'amande etc.

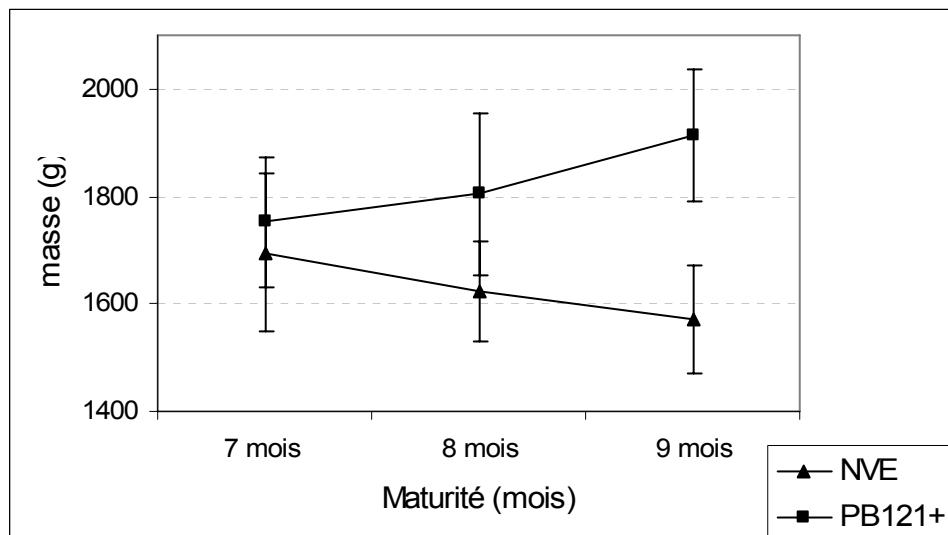


Figure 13 : Evolution de la masse de la noix entière (en g) en fonction de la maturité chez les NVE et PB121+. Les moyennes et les écart-types sont calculés sur 18 noix à chaque stade de maturité

### 3-1.2 Circonférences polaire et équatoriale

Le volume des noix est aussi un facteur important dans le projet de transport. Il a été démontré que plus la maturité du fruit avance, plus il grossit augmentant ainsi son volume et sa capacité à contenir de l'eau (Jackson et al, 2004). L'accroissement du volume de la noix est en relation avec son développement en diamètre et en longueur avec le temps.

Ainsi, les mesures des circonférences polaire et équatoriale (tableau 11) nous apprennent que le volume des fruits des *Nains Verts de Guinée Equatoriale* augmente entre 7 et 9 mois, mais cette variation n'est pas significative ni en circonférence polaire, ni en circonférence équatoriale des fruits. Par contre si chez les PB121+, la croissance radiale des noix ne varie pas notablement de 7 à 9 mois, elle est très importante lorsqu'on compare la circonférence polaire des noix du stade de 7 mois et 9 mois. Mais entre 7 et 8 mois, l'augmentation de la circonférence polaire des noix de PB121+ n'est pas significative.

Les résultats sur la variation de la circonférence équatoriale des PB121+ se rapprochent des observations faites par Chikkasubanna et al (1990) qui ont déduit une corrélation entre l'augmentation de la masse de la noix entière et le développement de la taille du fruit de la variété *ARSIKERE*. Cette logique semble vraie. Car dans le cas de la variété *NVE* si la variation de la masse est fonction de la taille de la noix, elle reste constante statistiquement dès lors que les variables (circonférences polaire et équatoriale) ne varient pas significativement. Au niveau des *PB121+*, la corrélation apparaît, car lorsque l'on considère l'intervalle de temps entre 7 et 9 mois de maturité, on remarque que l'augmentation de la masse des noix entières est significative, tout comme l'augmentation de la circonférence polaire.

Lorsqu'on ne prend en compte que la circonférence polaire, les fruits de 7, 8 et 9 mois de NVE ont tous statistiquement la même taille que les fruits de 7 mois de la variété PB121+. Les noix NVE de 8 et 9 mois ont la même circonférence polaire que celles de PB121+ aux stades de 7 et

8 mois. Lorsqu'on mesure la circonférence équatoriale, les deux variétés ne montrent aucune différence à tous les stades de maturité. On peut déduire que les *Nains Verts de Guinée Equatoriale* ont des fruits plus petits et de forme plus arrondie que les PB121+, de forme plus allongée.

Tableau 12 : Evolution de la circonférence polaire et équatoriale (en mm) des noix entières : moyennes et écart-types calculés sur 18 noix à chaque niveau de maturité.

Variété maturité	NVE		PB121	
	circonférence polaire	circonférence équatoriale	circonférence polaire	circonférence équatoriale
7 mois	496 <sup>a</sup> ± 40	443 <sup>b</sup> ± 40	489 <sup>ab</sup> ± 42	438 <sup>b</sup> ± 33
8 mois	514 <sup>ab</sup> ± 25	451 <sup>b</sup> ± 24	539 <sup>bc</sup> ± 37	444 <sup>b</sup> ± 36
9 mois	523 <sup>ab</sup> ± 20	467 <sup>b</sup> ± 24	555 <sup>c</sup> ± 27	456 <sup>b</sup> ± 27

### 3-1.3 Volume total de l'eau de coco et masse de l'amande

La figure 15 présente l'évolution au cours du temps du volume total de l'eau contenue dans les noix de *NVE* et de *PB121+* aux stades 7, 8 et 9 mois. On peut constater que la variation du volume total de l'eau des fruits du *PB121+* entre 7 et 9 mois n'est pas significative. Peut-être le *PB121+* a-t-il le même comportement que la variété *Arsikere Tall* étudiée par Chikkasubbanna et al (1990) qui ont trouvé que la croissance en volume de l'eau commence aux stades inférieurs pour être à sa valeur maximale à 7 mois. Rappelons que dans la variété *PB121+*, la masse de la noix entière augmente globalement entre 7 et 9 mois, ainsi que la circonférence polaire, alors que le volume d'eau reste invariable. Nous devons donc attribuer la croissance de la masse de la noix entière à l'augmentation d'autres parties de la noix (bourre ou amande). Cependant pour la variété *NVE*, l'évolution est tout autre. La quantité d'eau dans les fruits de 7 et 8 mois est identique, et les noix de 8 et 9 mois ont aussi le

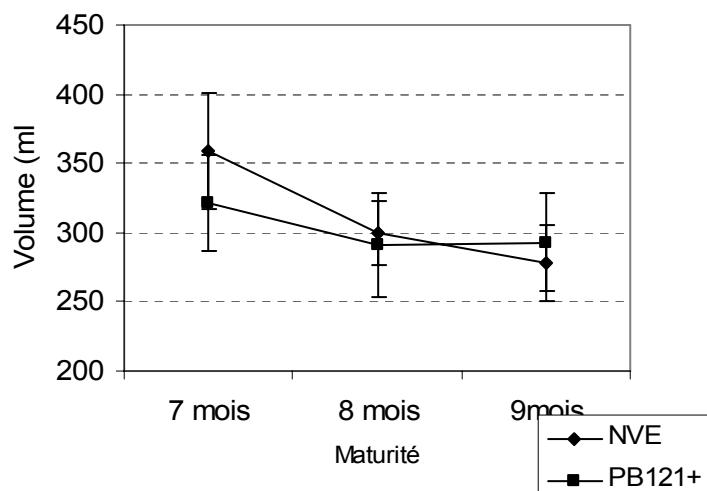


Figure 14 : Evolution du volume (en ml) d'eau en fonction de la maturité

même volume d'eau, selon la statistique. Mais les noix de *NVE* récoltées au stade de 7 mois contiennent plus d'eau que celles de 9 mois. Ce qui indique que le volume total d'eau est à son maximum avant l'âge de 7 mois ou à 7 mois. Ensuite, le volume d'eau décroît. C'est un résultat qui correspond bien à celui de Chikkasubbanna et al (1990)

Quand on met les deux variétés en regard, la quantité d'eau que contiennent les noix de *NVE* aux stades de 7, 8 et 9 mois n'est pas différente de la quantité d'eau qu'on trouve dans les *PB121+* pendant la même période. Il est important de noter que certains auteurs [Jayalekshmy

et *al* (1986)] ont démontré que le volume de l'eau dans la noix évolue avec la maturité, et ont pu préciser que, l'eau après avoir atteint son volume maximal entre le 7<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> mois, entame une régression entre 9 et 10 mois.

On peut noter qu'il y a une relation inverse entre la formation de la masse d'amande et l'évolution du volume d'eau dans la noix (figures 17 et 18). Il a été supposé que, c'est à travers l'eau que transitent, en continu tout au long de la croissance du fruit, les éléments constitutifs de l'endosperme solide (Jayalekshmy *et al*, 1986).

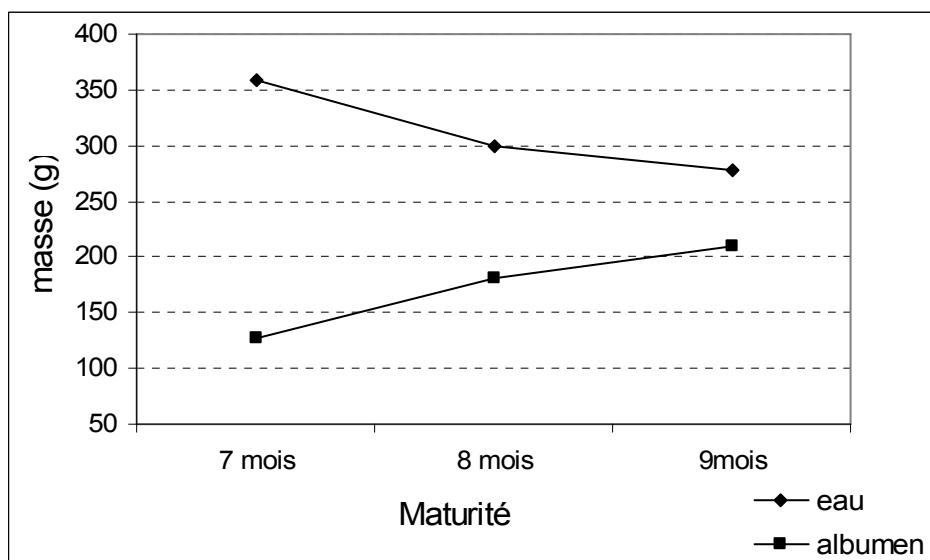


Figure 15: Evolution du volume (en ml) d'eau et de la masse (en g) de l'amande aux différents stades de maturité de la variété NVE

Ainsi pour les fruits de *NVE*, comme on peut le remarquer sur la figure 17, nous voyons qu'entre le 7<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> mois le volume d'eau a diminué de 23%, la quantité d'amande s'est accrue de 38%.

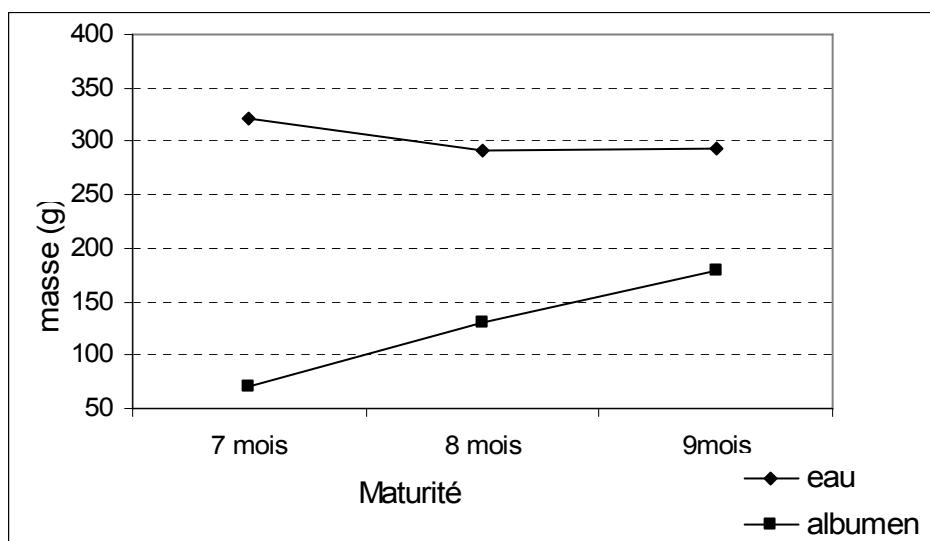


Figure 16 : Evolution du volume (en ml) d'eau et de la masse (en g) de l'amande aux différents stades de maturité de la variété PB121+

Pour les fruits de PB121+, du 7<sup>ème</sup> au 9<sup>ème</sup> mois la masse de l'amande a augmenté de 61%, pendant la même période, le volume d'eau a décrue de 39%.

Chikkasubbanna et *al* (1990) ont précisé dans leur étude que l'amande de la variété de coco *Arsikere Tall* croît de 15g à 6 mois à 183g à l'âge de 9 mois. Cette observation se rapproche de nos résultats sur la variété PB121+ où nous avons enregistré une augmentation de l'amande de 71g à 7 mois à 180 g à 9 mois. Les observations faites par Shivashankar (1991) qui a travaillé sur les fruits dont la variété n'est pas mentionnée ont montré aussi que c'est à partir du 7<sup>ème</sup> mois que l'amande de la noix commence à se former. Dans les fruits de PB121+, la masse de l'amande mesurée à 7 mois et celle mesurée à 9 mois révèle une différence significative. Les résultats montrent que les fruits de *NVE* commencent à se remplir d'amande avant ceux de la variété *PB121+* et la différence entre les deux variétés est significative aux 7<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> mois.

### 3-1.4 Pourcentages d'eau et d'amande par rapport à la masse de la noix entière

Le tableau 12 présente la part que représentent les différents compartiments comestibles par rapport à la noix entière.

Tableau 13 : Pourcentage des parties comestibles par rapport à la masse de la noix entière. Valeurs moyennes sur 18 noix à chaque niveau de maturité.

	NVE		PB121+	
	% d'eau	% amande	% d'eau	% amande
7 mois	23	7	21	5
8 mois	19	11	18	7
9 mois	19	14	16	10

Nos observations montrent que la variété NVE présente toujours des pourcentages plus élevés d'eau de coco et d'amande que la variété PB121+ aux mêmes stades de maturité.

### 3-1.5 Epaisseur de la coque

L'épaisseur de la coque est un paramètre important à prendre en compte, car c'est elle qui contient l'eau de la noix. La coque des noix immatures n'est pas dure. Ainsi que ce soit au cours de la récolte, du transport ou au moment des traitements de pré-transformation (nettoyage, débourrage etc....), elle peut céder et faire perdre non seulement l'eau, mais aussi la qualité de tout le fruit en favorisant la pénétration de l'oxygène ambiant. La fêture de la coque constitue aussi une voie d'infiltration des microorganismes.

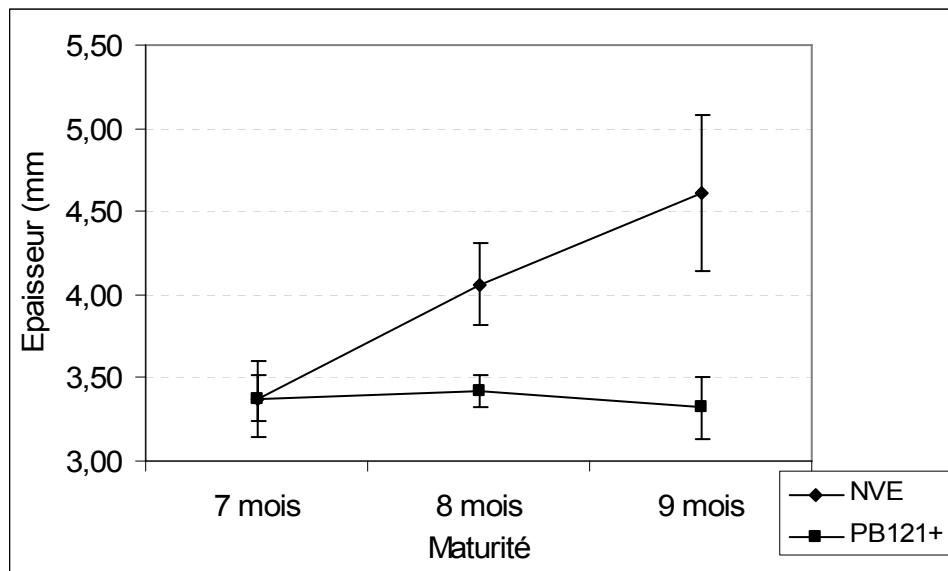


Figure17: Evolution de l'épaisseur (en mm) de la coque en fonction de la maturité

Nous avons constaté (figure 19) que la coque des fruits provenant de *PB121+* est très fragile aux stades étudiés. L'épaisseur de la coque de ces fruits s'est accrue de 0,01mm de 7 à 8 mois et de 0,02 mm de 8 à 9 mois. Cette augmentation n'est pas significative. C'est à 9 mois de maturité que la coque des noix de *PB121+* a la même épaisseur que la coque des noix de *NVE* à 7 mois de maturité (3,35 mm). Par contre les fruits de *NVE* à 8 mois ont une coque assez dure, et significativement plus épaisse qu'à 7 mois. De 3,35 mm au 7<sup>ème</sup> mois, l'épaisseur a atteint 4,50 mm au 9<sup>ème</sup> mois. La fragilité de la coque des noix de *PB121+* a provoqué des pertes d'eau au moment du débourrage sur le terrain, parce qu'elle est solidaire de la bourre et cède en même temps que celle-ci.

### 3-1.6 Masses de la bourre et de la noix débourrée

Lorsque l'objectif est la transformation des noix pour un besoin alimentaire, le surplus de masse dû à la bourre est inutile et vient grêver le coût du transport. On peut à partir du tableau 13 se rendre compte que la variété *NVE* porte des fruits avec un mésocarpe généralement moins épais que la variété *PB121+*.

A 7 mois, les fruits de *NVE* et de *PB121+* ont la même valeur pour la masse de bourre (tableau 13). A 8 mois et 9 mois la masse de la bourre des *NVE* et des *PB121+* sont significativement différents. Les *Nains Verts de Guinée Equatoriale* enregistrent une diminution (non significative) de la masse de la bourre à partir du 7<sup>ème</sup> mois ; tandis que la bourre chez le *PB121+* augmente de façon non significative du 7<sup>ème</sup> au 9<sup>ème</sup> mois (tableau 13).

Nous pouvons tenter d'expliquer cette légère augmentation de la masse de la bourre chez *PB121+*, même non significative par l'augmentation de la circonférence polaire qui, elle, est significative. Rappelons que pendant la période de 7 à 9 mois, l'accroissement de la masse totale du fruit est significatif chez *PB121+*, alors que le volume d'eau décroît au profit de la formation de l'amande. Pour cela, on est amené à penser que cette augmentation de la masse totale du fruit chez le *PB121+* peut être attribuée en partie à l'augmentation de la masse de la bourre : la masse de la noix entière a augmenté de 8% de 7 à 9 mois pendant que la masse de la bourre s'est accrue de 9%. Dans la même logique, la diminution de la masse de la noix

entière chez le *NVE* semble être en relation avec la diminution de la masse de la bourse : une diminution de 6% de la masse de la bourse et de 7% de la masse de la noix entière de 7 à 9 mois.

On peut penser que la variation de la masse de la bourse chez le *NVE* ou chez le *PB121+* est en partie liée à la variation de la teneur en eau. Ce que démontrera la détermination de la teneur en matière sèche.

En ce qui concerne la masse des noix débourrées, l'évolution est la même chez les deux variétés. Il n'y a pas de différence quand on compare la masse des noix débourrées des deux variétés.

Tableau 14 : Evolution des masses (en g) des noix débourrées et de la bourse des fruits de *NVE* et de *PB121+*. Moyennes et écart-types obtenus à partir de 18 noix à chaque stade

Variété maturité	NVE			PB121		
	Massee noix débourrées (g)	Bourse		Massee noix débourrées (g)	Bourse	
		Masse totale (g)	MS (%)		Masse totale (g)	MS (%)
7 mois	655 <sup>a</sup> ± 110	1039 <sup>ab</sup> ± 319	46 <sup>a</sup>	622 <sup>ab</sup> ± 91	1038 <sup>ab</sup> ± 265	54 <sup>ab</sup>
8 mois	641 <sup>a</sup> ± 94	980 <sup>a</sup> ± 203	58 <sup>ab</sup>	602 <sup>a</sup> ± 70	1197 <sup>b</sup> ± 326	56 <sup>ab</sup>
9 mois	658 <sup>a</sup> ± 103	875 <sup>a</sup> ± 220	61 <sup>b</sup>	648 <sup>a</sup> ± 97	1246 <sup>b</sup> ± 266	56 <sup>ab</sup>

### 3-1.7 Composition chimique de l'eau de coco

L'un des objectifs majeurs de cette étude était l'analyse des constituants chimiques de l'eau de coco. Mais, le temps imparti et les équipements à notre disposition n'ont pas été suffisants pour réaliser efficacement cette partie du travail. Néanmoins, nous avons pu mesurer les paramètres comme l'extrait sec soluble (Brix), le pH et l'acidité titrable (Tableau 14)

Tableau 15 : Evolution de quelques caractéristiques chimiques en fonction de la maturité des noix et la variété de cocotiers (*NVE* et *PB121+*). Les valeurs sont les moyennes calculées sur 18 noix

Variété et âge	NVE			PB121+		
	7 mois	8 mois	9 mois	7 mois	8 mois	9 mois
Paramètres						
ESS (Brix)	6,1 <sup>b</sup>	5,9 <sup>ab</sup>	5,9 <sup>ab</sup>	5,2 <sup>a</sup>	5,7 <sup>ab</sup>	5,9 <sup>b</sup>
pH	6,40 <sup>a</sup>	6,66 <sup>a</sup>	6,72 <sup>a</sup>	6,52 <sup>a</sup>	6,58 <sup>a</sup>	6,50 <sup>a</sup>
Acidité titrable (g d' acide citrique/100ml)	0,09 <sup>a</sup>	0,13 <sup>a</sup>	0,14 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,14 <sup>a</sup>	0,14 <sup>a</sup>

Selon un manuel de formation de la FAO cité par le site <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ac303f/ac303f02.htm> (consulté le 16 / 07 / 07), les normes de qualité de l'eau de coco recommandées sont : un pH de 5 à 5,4 et un extrait sec soluble de 5 à 6,5 °Brix.

Nos analyses ont montré que les noix de la variété *NVE* au stade 7 mois ont, du point de vue statistique, le même extrait sec soluble que les noix de *PB121+* de 9 mois. C'est un fait que nous n'avons pas pu confirmer par la dégustation. Sur le terrain, les consommateurs préfèrent la variété *NVE* à la variété *PB121+* à cause du goût plus sucré de la première. Selon les résultats du tableau 14, du stade de maturité 7 mois jusqu'à 9 mois, l'eau de coco des fruits de *NVE* a régulièrement perdu de l'extrait sec soluble (cette perte n'est cependant pas significative). Ce fait nous paraît logique quand nous nous imaginons que la synthèse de l'amande demande l'énergie que peuvent fournir les sucres contenus dans l'eau.

En revanche le phénomène ne se présente pas de la même manière dans le cas de la variété *PB121+*. On observe une augmentation du l'ESS du 7ème au 9ème mois de 13%. Cette augmentation est de 37% pour des noix de Costa Rica de 5 à 6 mois [Diop (2005)] ; 4,5% pour les noix de la variété *Arsikere Tall* de 6 à 7 mois [Chikkasubbanna (1990)]. Elle est de 9,7% de 7 à 8 mois et de 4% de 8 à 9 mois pour le *PB121+*. Pourquoi pendant cette période l'évolution de l'ESS est inverse dans les deux variétés ? Cette situation peut être due à la différence de précocité entre les deux variétés (les fruits de *NVE* semblent plus précoces). Mais on trouverait davantage d'explication lorsqu'on pourra élargir l'observation dans les stades supérieurs de maturité ou lorsqu'on aura étudié la variation des autres caractéristiques chimiques telles la teneur en sucres de l'eau en comparant les deux variétés.

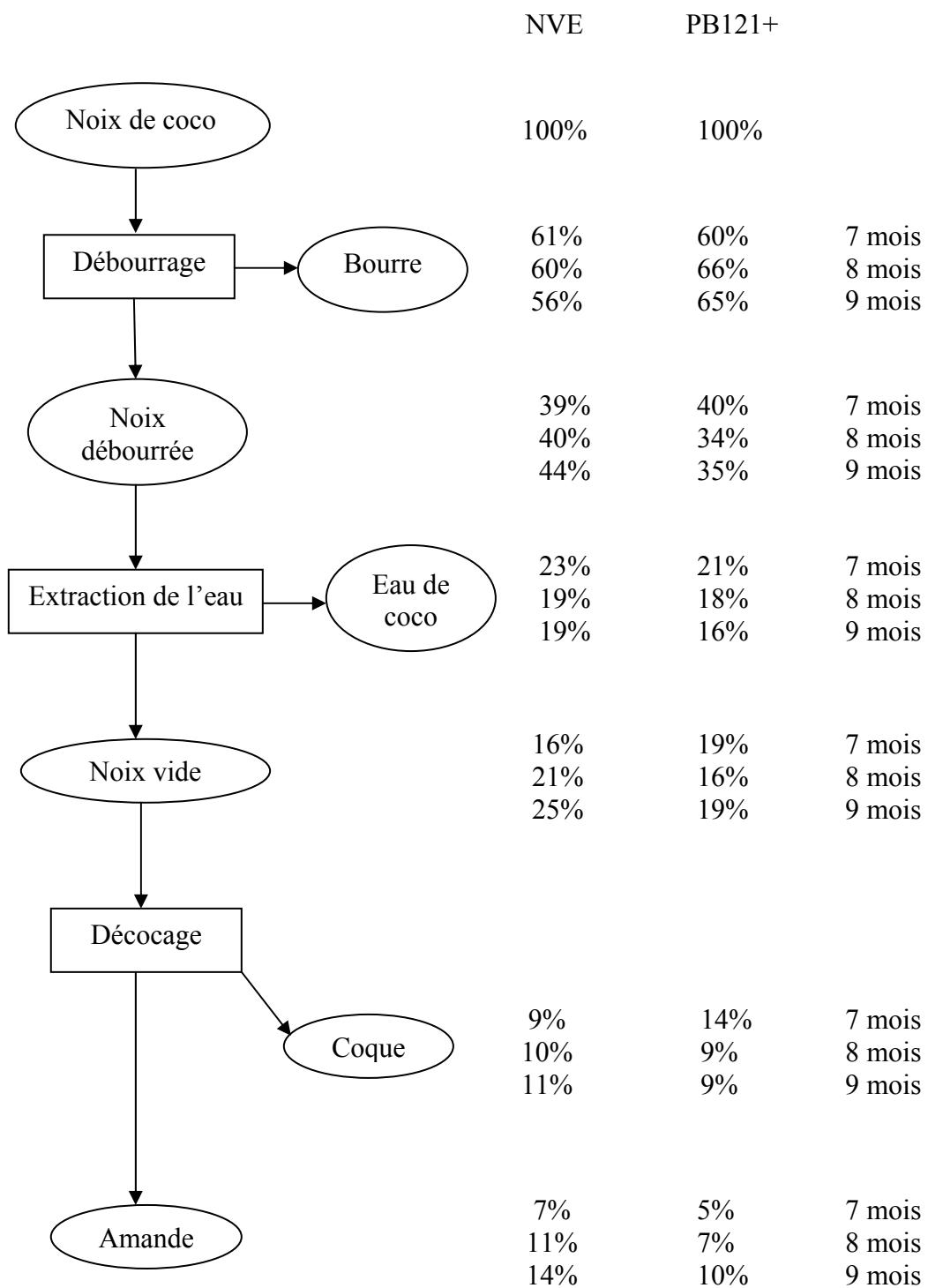
L'évolution de l'acidité titrable avec la maturation est rapportée par les résultats des travaux de Jayaleckshmy et al (1986) sur quatre variétés de cocotiers. Ils ont attribué l'acidité de l'eau de coco à la présence d'acides organiques, aux aminoacides, aux acides gras et probablement au gaz carbonique résultant de la respiration des tissus.

Pour le *NVE* et le *PB121+*, la variation du pH au cours de la maturation est négligeable ; mais ces valeurs sont très proches de la norme recommandée par la FAO (tableau 14).

### Conclusion partielle

Cette première partie a permis :

- de déterminer la proportion des différents composants physiques des noix de coco des variétés *NVE* et *PB121+* de Côte d'Ivoire (figure 19)
- d'analyser certaines caractéristiques chimiques (ESS, pH, acidité titrable) de l'eau de coco des deux variétés aux différents stades de récolte
- et de comprendre l'évolution de ces différents paramètres au cours de la maturation de la noix.



**Figure 18 :** Rendement de production des parties comestibles des noix des variétés NVE et PB121+. Les pourcentages sont les valeurs moyennes obtenues avec 18 noix traitées par niveau de maturité. Ils sont arrondis à  $\pm 1$  près selon que la partie décimale est supérieure ou égale à 0,5 ou inférieure ou égale à 0,5. Les pertes notées sont estimées à 1,5%.

L'étude que nous avons menée sur les caractéristiques morphologiques des noix a donné des références pouvant orienter un choix de stade de récolte. En effet, il est ressorti des fruits des variétés de cocotier étudiées en Côte d'Ivoire que l'âge de 9 mois est le stade où nous avons

relevé la plus grande masse d'amande fraîche pour les deux variétés NVE et PB121+. Mais la croissance de la masse de l'amande continue avec la maturation de la noix. Le volume d'eau de coco est le plus élevé pour les deux variétés au stade de 7 mois.

Ce couple amande/eau est la partie qui retient l'attention lorsqu'on est dans la logique de transformation pour le besoin alimentaire. Le 7<sup>ème</sup> mois correspond au meilleur stade de récolte des deux variétés à cause du volume total de l'eau. Il est le stade où la masse de la bourre du NVE est la plus élevée. Ainsi le choix optimal doit tenir compte non seulement du compartiment comestible de la noix, mais aussi de cette masse de la noix entière qui est essentiellement fonction de la masse de la bourre.

### **3-2 ETUDE DE DEGRADATION DE L'EAU DE COCO EN CONDITIONS SEMI-CONTROLEES**

Rappelons que l'eau de la noix de coco, une fois exposée à l'air, se met à fermenter. Elle peut parfois rosir (ou brunir) et perdre rapidement la plupart de ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles. Notre visée première était de comparer le suivi de la dégradation de l'eau de coco par des techniques analytiques standards et la technologie de spectrométrie dans le proche infra-rouge. Cependant, étant donné le temps imparti à cette étude, nous ne présentons que les résultats d'analyses standards.

Le procédé de conservation et de distribution de l'eau de coco préconisé par la FAO ([www.fao.org](http://www.fao.org), consulté en janvier 2007) propose une simple filtration suivie d'une réfrigération avant la mise en bouteille de l'eau de coco. Ainsi les vendeurs ambulants collectent l'eau de coco sur les plantations (lieu de production des noix) et les commercialisent. Notre travail donne une référence dans les pires conditions (30°) de dégradation de l'eau de coco et servira pour comparer les recommandations de la FAO

#### **3-2.1 Suivi de l'activité des polyphénoloxydases de l'eau de coco**

Nous avons mesuré le phénomène d'oxydation des polyphénols par le dosage de l'activité enzymatique. Nous avons effectué un suivi de l'activité enzymatique des PPO pendant un temps relativement long (27 heures ou 49 heures selon les échantillons, cf. annexe 3). Mais nous nous limitons dans la présentation des résultats (figure 20) aux six premières heures au bout desquelles nous avons obtenu d'importantes modifications dans l'eau de coco de la variété du Costa Rica notamment un changement de couleur (rosissement). L'eau de coco provenant des *NVE* n'a pas montré de changement de couleur ni d'évolution du point de vue activité enzymatique de type PPO durant cet intervalle de temps et n'en a pas montré davantage par la suite.

Pendant ces 6 heures, les moyennes des activités enzymatiques au niveau de chaque échantillon sont : 10,9U/ml pour 7 mois ; 9,71 U/ml pour 9 mois de la variété *NVE*. On note bien qu'il n'y a pas de différence significative entre les valeurs de l'activité enzymatique dans l'eau de coco de la noix âgée de 7 mois et dans celle de la noix de 9 mois.

Sur la figure 20, la courbe représentative de l'activité enzymatique dans l'eau des noix du Costa Rica révèle une activité significativement plus importante (18,7 U/ml) que dans l'eau des noix de la variété *NVE* de Côte d'Ivoire. Les conditions d'environnement et de

manipulation étant les mêmes, cette différence peut être attribuée, au potentiel du système enzymatique de la variété. Cette activité enzymatique doit varier largement selon les variétés. Les valeurs qu'ont trouvées Diop (2005) : 59 U/ml et 75 U/ml pour les noix de 7 et 8 mois de maturité, Duarte et *al* (2002) 5 U/ml et Campos et *al* (1996) : 32 U/ml confirment assez bien cette variabilité.

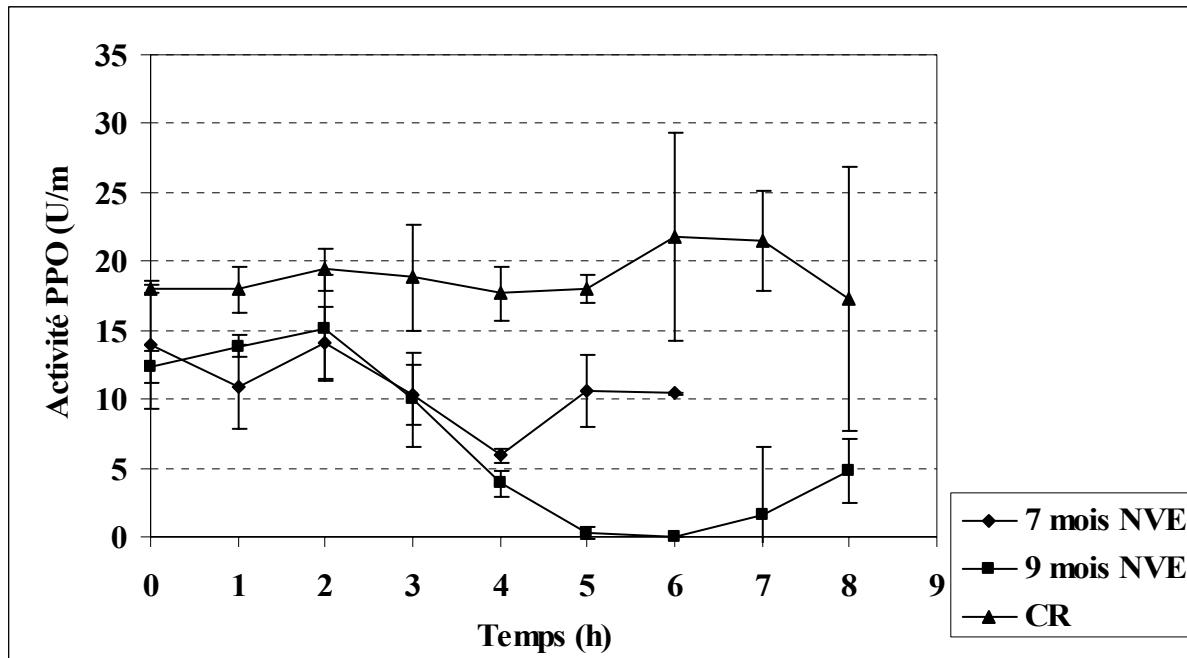


Figure 19 : Comparaison des activités enzymatiques des PPO (en U/ml) dans l'eau des noix de coco de la variété NVE (7 et 9 mois) de Côte d'Ivoire et d'une variété inconnue du Costa Rica

L'oxydation dont est le siège l'eau de coco après la récolte est en grande partie favorisée par l'action des enzymes polyphénoloxidasiques. Mais l'activité de ces enzymes est liée à la présence de substrats phénoliques et de l'oxygène dans le milieu. Au cours de la cinétique de dégradation de l'eau de coco, nous n'avons pas eu les moyens de déterminer la composition en polyphénols ni d'en mesurer l'évolution dans l'eau de coco. Cependant nous avons enregistré la variation de la teneur en oxygène du milieu afin d'établir une corrélation entre ce facteur (important de l'oxydation) et les phénomènes de fermentation et de rosissement de l'eau de coco.

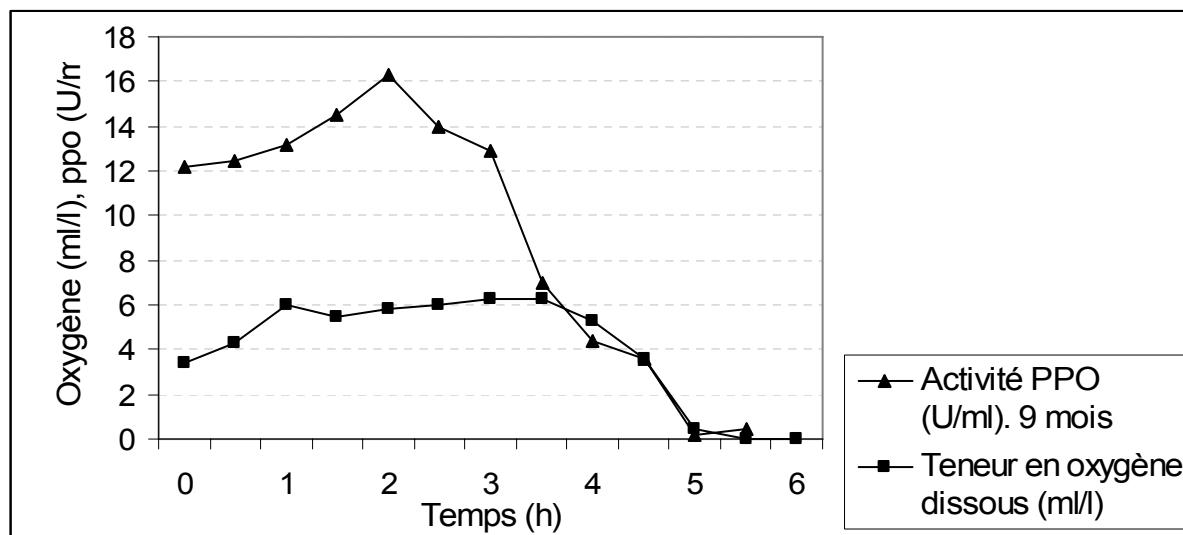


Figure 20 : Evolution de l'activité PPO dans l'eau de coco de 9 mois de NVE de Côte d'Ivoire en fonction teneur en oxygène dissous.

Ainsi, chez le *Nain Vert de Guinée Equatoriale*, le suivi de l'évolution de l'activité enzymatique informe que la disponibilité de l'oxygène dans le milieu est une condition indispensable pour le développement de l'activité des PPO (figures 21 et 22). En effet, on remarque que lorsque la teneur en oxygène dissous est élevée dans le milieu, on enregistre une activité des PPO qui augmente avec celle-ci. En revanche quand l'oxygène s'épuise comme le montrent les graphiques (figures 21 et 22), l'activité enzymatique faiblit. Mais il serait hâtif de tirer une conclusion qui mettrait en relation directe la teneur en oxygène dissous et l'activité des PPO. Car le brunissement enzymatique implique bien d'autres facteurs que les enzymes PPO et la présence d'oxygène. La certitude d'une conclusion passe par la connaissance de l'évolution de la teneur en polyphénols et la nature de ceux-ci, la modification des conditions du milieu impliquant le pH, les réactions couplées et les phénomènes d'inhibition (action par exemple de l'acide ascorbique).

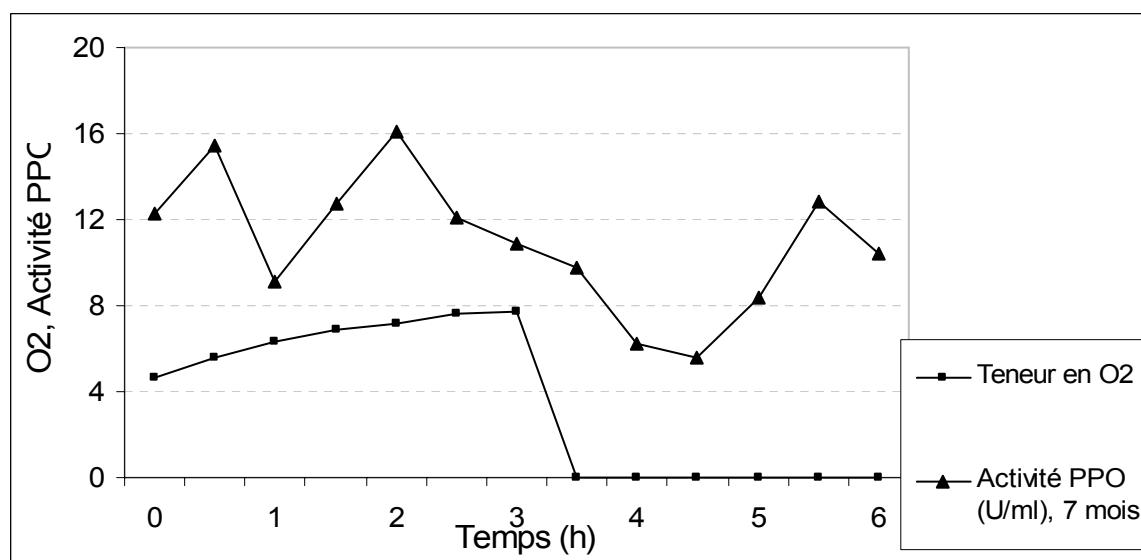


Figure 21 : Evolution de l'activité PPO dans l'eau de coco de 7 mois du NVE de Côte d'Ivoire en fonction de la teneur en oxygène dissous (en mg/l).

L'oxydation enzymatique conduit à la formation de composés (quinones et groupements nucléophiles) qui restent dans le milieu, et progressivement saturent le milieu. La conductivité indique la présence d'électrolytes dans le liquide et donc renseigne sur le niveau de concentration de sels minéraux dans le milieu. Dans les échantillons d'eau de coco de la variété *NVE*, nous avons enregistré ce paramètre comme on peut le voir sur la figure 23. La température du milieu est quasiment constante. La conductivité, pendant la durée de la manipulation, n'a enregistré qu'une croissance de 1 mS/cm dans l'eau des noix de 7 mois (5 à 6 mS/cm), et est restée pratiquement constante dans celle des noix de 9 mois (environ 6 mS/cm) de la variété *NVE* de Côte d'Ivoire. Elle est plus élevée dans l'eau des noix du Costa Rica que dans celle des noix de Côte d'Ivoire et cela peut être dû à une différence de composition du milieu, notamment en sels minéraux.

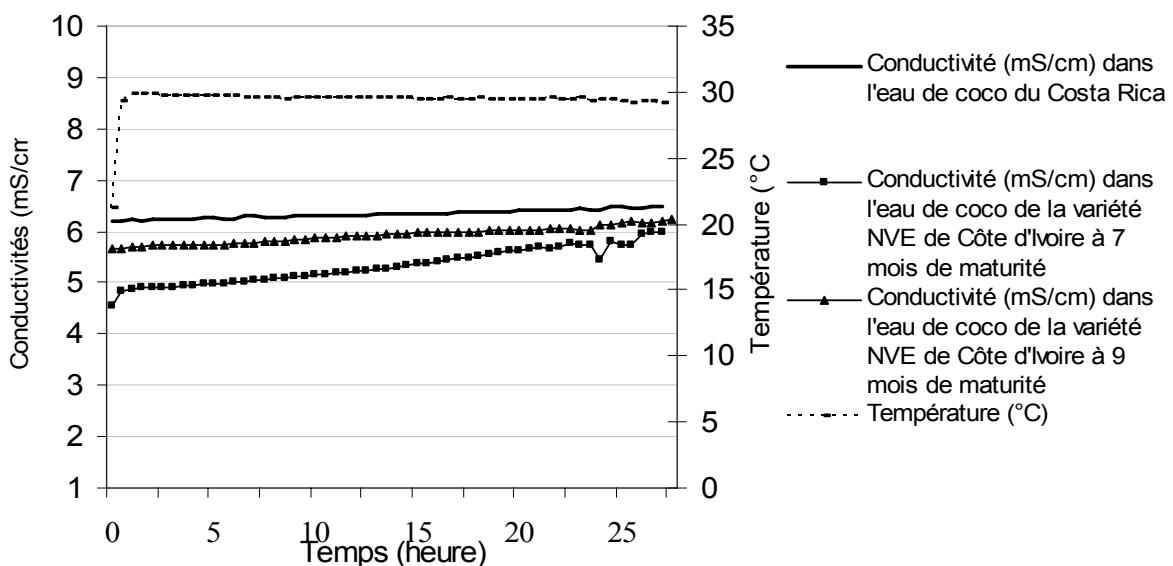


Figure 22 : Mesure de la conductivité au cours du suivi cinétique.

### 3-2.2 Suivi de la qualité microbiologique de l'eau de coco

Outre, les activités enzymatiques et/ou non enzymatique qui peuvent être causes d'importantes modifications physico-chimiques dans l'eau de coco, l'altération microbienne au cours du stockage et de la transformation des fruits peut nuire à leur qualité en ayant aussi un effet sur la couleur, la texture, le goût, l'odeur et la valeur nutritive.

Les bactéries et levures sont les principaux micro-organismes qui menacent l'eau de coco fraîche ([www.awigp.com](http://www.awigp.com), consulté le 05/07/07). Il est donc primordial que les transformateurs s'assurent que leur produit est manipulé avec soin. Ces microorganismes, capables d'altérer la qualité marchande de l'eau de coco renseignent sur les conditions de récolte et de conservation, la fraîcheur du produit, la propreté des manipulations et l'efficacité des procédés de transformation.

Les analyses microbiologiques de l'eau de coco ont été effectuées par le laboratoire BIOFAQ. Les échantillons ont été prélevés sur l'eau des noix de 7 et de 9 mois de maturité de la variété *NVE* de Côte d'Ivoire. Les résultats sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 16 : Résultats des analyses microbiologiques sur l'eau des noix immatures à t0 (noix de 7, 8 et 9 mois) et suivie pendant 27 heures (noix de 7 mois) ou 49 heures (noix de 9 mois) de la variété NVE de Côte d'Ivoire.

Stade de maturité	7 mois			8 mois		9 mois		
	t0	t0+22h	t0+27h	t0	t0	t0+23h	t0+49h	
Flore aérobie à 30°C (colonies/g)	<100	> 3.10 <sup>6</sup>	20. 10 <sup>6</sup>	7700	200	>3.10 <sup>6</sup>	<1000	
Levures (colonies/g)	<10	<10	<10	1500	100	1500	<10	
Moisissures (colonies/g)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	

Juste après l'ouverture de la noix (t0), le rapport de l'analyse dénombre la présence de germes totaux aérobies dans l'eau de coco des noix de 7 mois (moins de 100 colonies / g), de 8 mois (7700 colonies / g) et de 9 mois d'âge (200 colonies / g). On peut attribuer cette présence initiale de germes à une contamination due à l'air ambiant au moment de l'ouverture de la noix, les prélèvements n'ayant pas eu lieu en atmosphère stérile. Mais ce genre d'infestation microbienne peut avoir pour une origine plus lointaine au moment de la récolte quand celle-ci n'a pas été faite avec soin. On peut avoir la fêlure de la noix ouvrant la porte à une infiltration des microorganismes. Mais cela n'a pas été notre cas.

Les levures et les moisissures sont presque absentes à cet instant (t0) dans l'eau des noix qui sont récoltés à 7 mois (moins de 10 colonies/g). Mais les levures sont assez nombreuses déjà à cette étape (t0) dans l'eau des fruits récoltés à 8 mois (1500 colonies/g) et 9 mois d'âge (100 colonies/g).

On peut aussi constater d'après les résultats des analyses qu'à l'instant initial, il y a plus de microorganismes aérobies et de levures dans l'eau des fruits de 8 mois et de 9 mois que dans celle des noix de 7 mois avec un nombre de colonies plus élevé de colonies formées dans le produit des noix de 8 mois. Nous pouvons dire que la contamination initiale de l'eau de coco liée à l'environnement (l'air ambiant) ou aux manipulations au cours de l'ouverture de la noix est plus favorisée lorsque les noix immatures sont plus âgées. Mais nous ne pouvons pas dire avec certitude ce qui explique ce nombre de CFU (unités formant colonies) particulièrement élevé de microorganismes au stade de 8 mois. Les différences de la teneur en certains composés chimiques tels que les sucres par exemple peuvent élucider cette prédominance de germes microbiens dans l'eau de coco au stade de 8 mois. Mais si on se réfère aux résultats des travaux de Jayaleckshmy et *al* (1986), c'est au stade de 7 mois que l'eau de coco des noix de la variété *Tall* a le plus de sucres totaux et de sucres réducteurs.

La numération des microorganismes aérobies dans notre échantillon au bout d'une vingtaine d'heures (22 heures pour les noix de 7 mois et 23 heures pour les noix de 9 mois) montre une importante multiplication des bactéries aérobies accompagnée d'une diminution brutale de la teneur en oxygène dissous. Il en découle une augmentation de la teneur en acides organiques entraînant la baisse de pH que nous avons enregistré (figure 24). Cette étape de croissance bactérienne, nous l'avons observé plus tôt (9 heures) dans l'eau de coco de la variété du Costa Rica avec le développement d'une sorte de film à la surface de l'eau de coco.

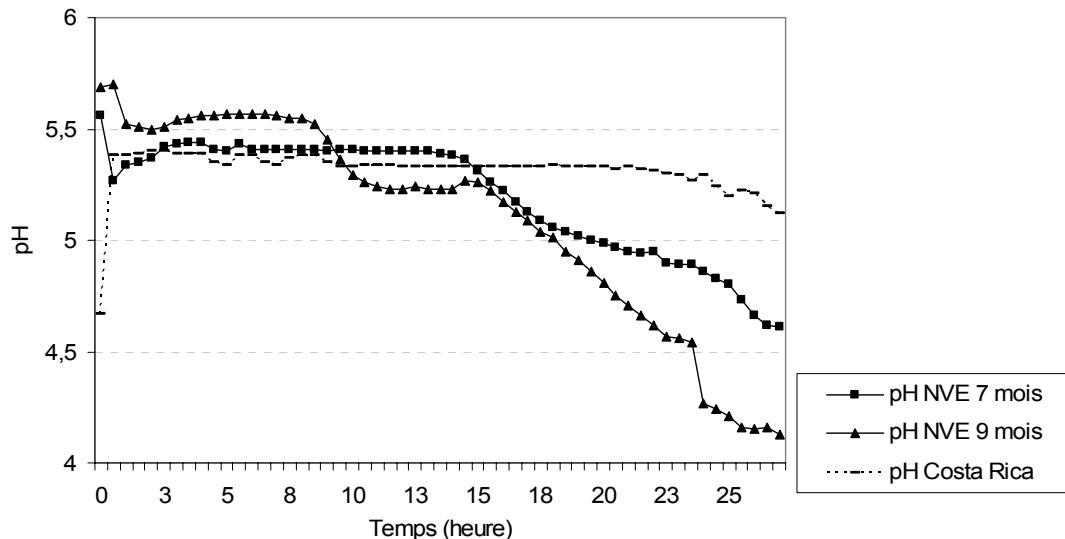


Figure 23 : Evolution du pH au cours de la cinétique de dégradation (température 30°C) de l'eau de coco des noix de la variétés NVE de Côte d'Ivoire et d'une variété inconnue du Costa Rica.

Ce film fait penser à la présence de bactéries de type *Acétobacter* qui ont la particularité de fabriquer de la cellulose à la surface du liquide. Dans cet échantillon l'odeur acétique de fermentation était perceptible et l'eau était trouble. Il serait encore intéressant de mesurer la teneur en sucre du milieu afin de voir l'évolution de celle-ci par rapport à la croissance des bactéries. Après une trentaine d'heures de fermentation pour les noix de 9 mois le milieu est devenu hostile (milieu acide et pauvre en oxygène) à la croissance des bactéries dont la population a diminué considérablement.

Les moisissures n'ont pas évolué dans aucun des échantillons de la noix de sept mois. Par contre les levures se sont multipliées dans l'eau des noix de 9 mois.

Des résultats qui précèdent, on peut penser que la qualité microbiologique de l'eau de coco est liée au stade de développement des noix. La prépondérance de certains composés chimiques à certains stades de développement du fruit peut favoriser la multiplication des microorganismes. Mais on n'a pas eu l'occasion de comparer les deux variétés de cocotier sur le point de vue qualité microbiologique. De toute façon, quels que soient la variété et le stade de maturité, la durée et les opérations de traitement représentent les principales causes d'infiltration des microorganismes d'altération susceptibles de se développer dans l'eau de coco.

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Notre étude avait pour objectifs de :

1. Déterminer, parmi les variétés de cocotier de Côte d'Ivoire, pour les noix immatures, celle(s) qui présente(nt) les caractères suivants : maximum de pourcentage d'eau par noix, maximum de composés nutritifs dans l'eau, minimum de brunissement enzymatique.
2. Déterminer un stade optimal de récolte qui permette de prolonger, dans le temps, le maintien de ces caractères.
3. Etudier les mécanismes de dégradation de l'eau de coco après récolte.

La première étude réalisée en Côte d'Ivoire en collaboration avec le CNRA a montré que les noix de la variété *NVE* ont le plus grand volume d'eau au stade de 7 mois (359 ml) soit 21% du poids total du fruit, l'extrait sec soluble le plus élevé (6.13°B) et le pH (6.4) le plus faible. Le stade de 7 mois peut donc être considéré comme le stade de récolte le plus intéressant parmi les trois stades étudiés.

Les noix de la variété *PB121+* ne présentent pas de variations significatives de leur volume d'eau sur la période physiologique étudiée. Nous devons souligner que notre étude s'est arrêtée au stade de 9 mois de maturité où le *PB121+* n'a probablement pas atteint son rendement maximal en eau.

Des deux variétés étudiées : *NVE* et *PB121+*, la première est la mieux adaptée à l'utilisation en noix « fraîche » de boisson. En effet, elle présente des rendements en eau plus élevés, 21% (contre 18% pour le *PB121+*) de la masse totale du fruit à 7 mois. Son extract sec soluble est également le plus élevé, suggérant des teneurs en sucres plus élevées .

La seconde étude s'est déroulée au CIRAD à Montpellier où nous avons suivi la dégradation de l'eau de coco au laboratoire en conditions isothermes (30°C). Cette étude a montré que l'activité des PPO est plus importante (10,9 U/ml) au stade de 7 mois qu'au stade de 9 mois de maturité pour la variété *NVE*, mais d'une moindre importance par rapport à l'activité enzymatique dans l'eau de coco provenant des noix du Costa Rica (18,7 U/ml). Nous confirmons ici que la capacité du brunissement enzymatique dépend, entre autres, des activités enzymatiques variant elles-mêmes en fonction des variétés et du stade physiologique. Ainsi il est souhaitable que les observations puissent être étendues à plus de variétés et à d'autres stades de maturité.

Toutefois, il peut y avoir une activité enzymatique sans augmentation de brunissement. C'est pourquoi il serait nécessaire que ces études sur les activités enzymatiques se continuent par la détermination de la teneur et de la nature des composés phénoliques, facteurs limitants de ces réactions, dans l'eau de coco. De nombreuses études ont montré qu'il y a fréquemment une corrélation directe entre le substrat et le brunissement. Mais le type de corrélation peut être différente selon la variété. A cet effet, on peut étudier la corrélation éventuelle entre l'intensité du brunissement des différentes variétés de cocotier de Côte d'Ivoire et les deux principaux paramètres impliqués.

Parmi les microorganismes susceptibles de se trouver et de se développer dans l'eau de coco fraîche, nous avons observé que les bactéries aérobies et les levures ont tendance à se multiplier plus rapidement dans l'eau de coco des noix de 9 mois. Mais c'est un travail qui n'a

été suivi que sur les noix de 7 et 9 mois de NVE. Il mériterait d'être complété par son extension sur les autres stades (stades de 6 à 10 mois de maturité).

Le suivi de dégradation de l'eau de coco est un travail qui devait être fait à différentes températures (trois au moins) proches des températures tropicales. Il n'a été réalisé qu'à la température de 30°C. Il est important de le continuer pour la réalisation des objectifs de cette étude. De même pour mieux comprendre les conditions qui favorisent la multiplication des microorganismes, une étude de l'évolution des constituants chimiques de l'eau de coco avec la maturation des noix est nécessaire.

La qualité de l'eau de coco dépend également du soin avec lequel sont récoltées et conditionnées les noix de coco. Les régimes doivent être abaissés au sol à l'aide d'une corde, et non pas coupés et laissés tomber sur le sol, pour éviter le risque de fêlure de la coque interne. Les noix destinées à être stockées, doivent être posées sur des surfaces propres pour éviter le contact avec la terre et à l'abri du soleil. Elles doivent être ensuite lavées dans de l'eau potable pour ôter toutes formes de contamination superficielle, et désinfectées dans une solution chlorée à 1% pendant au moins 15 minutes. Au moment de l'extraction de l'eau, le matériel de l'opération doit être en acier inoxydable et désinfecté. L'eau extraite doit être protégée du phénomène d'oxydation enzymatique.

Ainsi, les études de la FAO recommandent, dans les conditions idéales, un traitement sans délai après la récolte, et une réfrigération à +4°C afin maintenir une bonne qualité à ce précieux liquide qui est une "boisson de l'effort naturelle, ayant le même niveau d'équilibre électrolytique que celui que nous avons dans le sang". Mais des études complémentaires sur les procédés de stabilisation restent à mener pour obtenir un produit répondant aux exigences des consommateurs et des exportateurs.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BALDIVIANO, P.F. ; LAURENA, A. C. ; MENDOZA, E.M. T. (1999). **Phenolics compound in coconut (*Coco nucifera L.*) endosperm.** Philippine Agricultural Scientist, 82 (3): p 19-24.
- BYRON, P. (1994). **Transformation des produits du cocotier. Rapport de stage en système agroalimentaire.** ESAT 2. Centre National d'Etudes Agronomiques des Régions Chaudes. Montpellier. 17 p.
- CAMPOS, C. F.; SOUZA, P. E. A.; COELHO, J. V. ; GLORIA, M. B. A.(1996). **Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water.** Journal of food processing preservation, 20 (6); p 487-500.
- CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H. (1977). **Le brunissement enzymatique. Introduction à la biochimie et la technologie des aliments.** Techniques et documentation LAVOISIER, Paris, volume 1, chapitre III-4, p353-363.
- CHILD, R. ; NATHANIEL, W. R. N. (1950). **Changes in the sugar composition in coconut water during maturation.** Journal of Science and Agriculture1. 326 p
- CHIKKASUBBANNA, V. ; JAYAPRASAD, K. V. ; SUBBAIAH, T.; POONACHA, N.M. (1990). **Effect of maturity on the chemical composition of tender coconut (*Cocos nucifera L.* var. *Arsikere Tall*) water.** Indian coconut journal, 20 (12): p 10-13.
- DEL ROSARIO, R. R.; RUBICO, S. M. (1979). **Formulation of coco beverage from mature coconut water.** Philippine Journal of Coconut Studies, 4, 1-5.
- DE RIGAL, D. (2001); **Recherches sur l'inhibition du brunissement enzymatique : utilisation de préparations enzymatiques, substituts aux sulfites.** Thèse de doctorat en biochimie, Université de droit, d'économie, et des sciences d'Aix –Marseille III, 171 p.
- DE TAFFIN, G.; QUENCEZ, P. (1993) **Aspect de la nutrition anionique chez le palmier et le cocotier: problème du chlore.** Extrait séminaire sur le potassium. Abidjan. p 219-232.
- DIOP, N. (2005). **Caractérisation physico-chimique de l'eau de noix de coco immatures (*Cocos nucifera L.*) et essais de stabilisation par techniques membranaires.** Thèse de Master of Science en Génie Agroalimentaire méditerranéen et Tropical. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agroalimentaires Section Régions Chaudes. Montpellier. 142 p
- DUARTE, A.C.P.; COELHO, M.A.Z.; LEITE, S. G. F. 2002. **Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water.** Cienca y Technologia alimentaria, 3 (5): p266-270.
- FAO (Organisation Mondiale pour l'Agriculture et l'Alimentation). (2000). **New sports drink : coconut water.** Fruit Processing, 10 (12) : p 491-496.
- FREMOND, Y. ; ZILLER, R. ; NUCE DE LAMOTHE, M. DE. (1966). **Le cocotier.** Techniques agricoles et productions tropicales : 08. Paris.

GOLAN-GOLDHIRSH, A. ; WHITAKER, J. R. (1984). **Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite and thiol compounds on mushroom polyphenoloxidase**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32: p1003-1009.

GONZALES, P. (1983). Coconut based beverages. In : Coconut as food. PCRDF, Quezon City, Philippines, 1990. 239p.

GRIMWOOD, E. B. (1976). **Les produits du cocotier : leur transformation dans les pays en voie de développement**. Col FAO. Progrès et mise en valeur agriculture (ITA) 099. 271 p

HUNT, M. D.; EANNETTA, N.T.; YU, H. F.; NEWMAN, S. M.; STEFFENS, J. C. (1993). **cDNA cloning and expression of potato polyphenoloxidase**. Plant Mol. Biol. 21: p 59-68.

JACKSON, J. C.; GORDON, A.; WIZZARD, G.; MCCOOK, K.; ROLLE, R. (2004). **Changes in the chemical composition of coconut (*Cocos nucifera*) water during maturation of the fruit**. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1049-1052.

JAYALEKSHMY, A. ; ARUMUGHAN, C. ; NARAYANAN, C. S.; MATHEW, A. G. 1986). **Changes in the chemical composition of coconut water during the maturation**. Journal of Food Science and Technology, 23 (4): p203-207.

JIANG, Y.; MILES, P. W. (1993). **Generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enzymic oxidation of catechin**. Phytochemistry, 33: 29-34.

JOSON, L. M. (1989). **Coconut water utilization**. Coconuts today, 7: p97-111.

LOPEZ-SERRANO, M.; ROS BARCELO, A. (2002). **Comparative study of products of the peroxidase - catalised and the polyphenoloxidase-catalysed (+)- catechin oxidase. Their possible implication in strawberry (*Fragaria x anassa*) browning reactions**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: p1218-1224.

MACHEIX, J.J.; SAPI, J.C.; FLEURIET, A. (1991). **Phenolic compounds and polyphenoloxidase in relation to browning in grapes and wines**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 30: p 441-486.

MACIEL, M. I.; OLIVEIRA, S. L. ; De SILVA, I. P. (1992). **Effects of different storage conditions on preservation of coconut (*Cocos nucifera* L.) water**. Journal of Food Processing 16: p 13- 22.

MÄDER, M. (1992). **Compartmentation of peroxidase isoenzymes in plant cells**. In: Penele, Gaspar, T.; Greppin, H. **Plant peroxidase 1986-1990**. Topics and detailed literature on molecular biochemical and physiological aspects. University of Geneva. Switzerland, p37-46.

MC EVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, S. (1992). **Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 32 (3): p253-273.

NADANASABAPATHY, S.; KUMAR, R. (1999). **Physico-chemical constituents of tender coconut (*Cocos nucifera*) water**. Indian Journal of Agricultural Sciences. 69 (10): p 750-751.

NANDA KUMAR, T. B. (1995). **Tender coconut water: Nature's finest drink.** Indian Coconut Journal, 32: p 42-45.

NICOLAS, J. J.; RICHARD-FORGET, F. C.; GOUPY, P. M.; AMIOT, M. J.; AUBERT 1994). **Enzymatic browning reactions in apple and apple products.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 34 (32): p109-154.

PILAI, N. G. ; SUKUMARAN, C. K. ;PANDALAI, K. M. (1959). **Study in the changes of chemical composition during different stages in the developing coconut.** Proceedings of the first conference of the coconut workers in India. Ernakulam. p 132.

PRADES, A. (2005). **Filière cocotier.** cours, ex-ENSIA-SIARC. Montpellier. Section1

PRADES, A.; CLEMENT, A.; MIALET, I. (2002). **Elaboration de la qualité des noix de coco.** Protocole d'expérimentation. CIRAD. Montpellier. p 1-5

PUE, A. G.; RIVU, W.; SUNDARRAO, C.; SINGH, K. **Preliminary studies on changes in coconut water during maturation of the fruit.** Science in New Guinea 1992, 18, 81-84.

SAPERS, M. G. ; MILLER, R. L. (1989). **Heated ascorbic citric acid as browning inhibitor pre-peeled potatoes.** Journal of Food Science, 60 (4): p762-766.

SARNI-MANCHADO, P.; CHEYNIER, V. (2005). **Polyphénols en agroalimentaire.** Techniques et Documentation Lavoisier. Collection : Sciences et Techniques Agroalimentaires. 398p.

SHIVASHANKAR, S. (1991). **Biochemical changes during fruit maturation in coconut.** Journal of plantation crops, 19 (2): p429-432.

SRIVATSA, A.N.; SABAPATHY, S. N.; ARYA, S. S. (1999). **Preservation of tender coconut water in Pouches an cans.** Indian coconut journal, 29 (12): p7-8.

WOODROOF, J. G. (1979). **Coconuts: production, processing, products,** 2<sup>nd</sup> ed. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, 307 p.

## **LES SITES CONSULTES**

www.faostats.org. Base de données de la FAO, dernière mise à jour 2006 (consulté le 03/10/06).

www.navimpex.com/index.hph (consulté le 06/07/07)

www.fao.org/ag/aga/agap/frg (consulté le 17/05/07)

www.colonicsla.com/rawfood.htm (consulté le 15/10/07)

www.slekfreak.ath.cx:81/3wdev/CD/Foodproc (consulté le 05/07/2007)

www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ac303f/ac303f02.htm (consulté le 06 juillet 2007)

www.saveursdumonde.net/ency\_4/coco/cocovale.htm (consulté le 20/09/06)

www.perso.fr/la-face-cachee-du-fruit/f-mp/mp-poire.htm (consulté le 02/10/06)

www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ac303f/ac303f02.htm (consulté le 16/07/07)

www.awigp.com/default.asp?numcat=coco (consulté le 05/07/07)

## ANNEXES

Annexe 1 : Les arbres échantillonnés en Côte d'Ivoire sur les parcelles 092 (NVE) et 051 (PB121+) pour les mesures morphologiques.

N° arbre Caractéristiques	NVE						PB121+					
	13 07	13 08	13 09	13 10	13 11	13 12	17 18	18 18	18 19	18 17	17 16	17 17
Masse noix entière	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Masse bourre	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Masse eau	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Masse amande	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Masse noix vide	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Masse coque	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Circonférences polaire et équatoriale	19 x 21	19 20 21										
Acidité titrable	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								
Extrait sec soluble	19 x 21	19 20 21	y 20 21	19 20 21								

Note : Les nombres : 19, 20, 21 sont les régimes respectivement de 7 mois, 8 mois et 9 mois récoltés. x est l'arbre n° 1305 et y, l'arbre n° 1212 en remplacement des noix cassées.

---

**Protocole**  
**Etude de la qualité de l'eau de coco**

---

*Alexia PradesPRADES – Rebecca ASSA – Novembre 2006*  
**Version 1**

<b>OBJECTIF .....</b>	<b>66</b>
<b>ECHANTILLONNAGE .....</b>	<b>66</b>
<b>ANALYSES DES NOIX PRELEVEES.....</b>	<b>66</b>
Mode de stockage des noix de coco après récolte .....	66
Pesées et mesures morphologiques .....	67
<b>PRELEVEMENT ET PRETRAITEMENT DES ECHANTILLONS .....</b>	<b>67</b>
Prélèvement des échantillons sur les différents compartiments .....	67
Prétraitement des échantillons .....	68
Lyophilisation .....	68
<b>ANALYSES DES ECHANTILLONS PRELEVES .....</b>	<b>69</b>
Amande .....	69
Teneurs et profils en sucres .....	69
Eau fraîche .....	69
pH et Brix .....	69
Dosage enzymatique : PPO et POD .....	70
Matières sèches .....	70
Acidité titrable .....	70
Eau congelée.....	70
Dosage enzymatique : PPO et POD .....	70
Teneur et profil en sucres .....	70
Teneur en protéines .....	71
Teneur en cendres.....	71
Composition en sels minéraux .....	71
<b>Eau lyophilisée réceptionnée à Montpellier .....</b>	<b>71</b>

Teneurs et profil en sucres et polyols.....	71
Teneurs en polyphénols totaux et vit. C .....	71
Composition en sels minéraux .....	71
<b>TRAITEMENT STATISTIQUE DES DONNEES .....</b>	<b>71</b>

## Objectif

Ce protocole devrait nous permettre de compléter les résultats issus du travail de collaboration entre CNRA et CIRAD lors du dernier PIC et de la thèse de Rebecca ASSA. Les précédents travaux ont permis de suivre certains critères liés à la qualité des noix de coco pendant la maturation des fruits. Ces critères se sont concentrés sur les deux compartiments comestibles de la noix de coco. Des mesures morphométriques et physicochimiques ont permis de mieux cerner les différences entre variétés et de mieux cibler les stades de maturité avant récolte.

L'objectif de ce protocole est d'affiner et de compléter le travail effectué sur l'eau de coco. La noix de coco en tant que boisson est une excellente valorisation économique des cocoteraies. En ciblant au mieux les stades de maturité, grâce à l'étude précédente, nous allons analyser l'eau de coco récoltée en vue de déterminer sa valeur nutritionnelle et organoleptique. Ainsi, les acteurs économiques et les consommateurs intéressés par ces produits pourront être informés de leurs propriétés nutraceutiques.

## Echantillonnage

Les parcelles étudiées sont situées sur la station Marc DELORME du CNRA à Port-Bouët, près d'Abidjan en République de Côte d'Ivoire. Sur chaque parcelle, 6 arbres, en bonne santé, seront choisis au hasard pour chacune des quatre variétés étudiées : Nain Jaune de Malaisie (NJM), Nain Vert de Guinée Equatoriale (NVE), Nain Rouge Cameroun, et l'hybride amélioré PB121+, utilisé comme référence.

Sur chaque arbre, les régimes immatures des rangs 19, 20 et 21 correspondant respectivement aux régimes de fruits âgés de 7, 8 et 9 mois seront récoltés. Sur chaque régime, trois fruits seront échantillonnés pour former un échantillon représentatif dudit régime. Cela fera un total de **4x6x3x3=216 noix par récolte** et de **4x6x3= 72 échantillons d'eau de coco seront traités par récolte**. La récolte se fera deux fois par an pendant deux ans. Ceci représentera un **total de 72x4=288 échantillons d'eau de coco à traiter**.

## Analyses des noix prélevées

Pour chaque noix, on relèvera les données morphologiques de tous les compartiments selon les protocoles définies. Des échantillons seront prélevés sur eau et amande, lorsqu'il y en a. Les échantillons d'amande seront simplement lyophilisés et conservés pour analyses complémentaires éventuelles. Chaque échantillon d'eau de coco sera analysé sur place et stabilisé avant envoi sur Montpellier pour analyses plus fines complémentaires.

*N.B. : Certaines analyses ne pourront se faire que sur échantillons frais. Il faudra donc que le laboratoire de la station de recherche s'équipe en conséquence.*

## Mode de stockage des noix de coco après récolte

Après récolte, toutes les noix doivent être stockées de façon identique dans un lieu à l'abri de la pluie et du rayonnement solaire. Les analyses morphologiques (poids, taille, épaisseur d'albumen) doivent être réalisées à peu de temps d'intervalle. Le temps et le mode de stockage ont un effet non négligeable sur le résultat de ces analyses, surtout les analyses enzymatiques.

## **Pesées et mesures morphologiques**

Procéder comme lors de l'évaluation d'un cultivar (protocole IPGRI, manuel STANTECH, adapté par rapport au prélèvement spécifique d'eau de coco sur des rangs immatures):

1. Sur la noix entière, mesurer les circonférences équatoriales et polaires (pour la circonférence polaire : si on suppose que la noix entière comporte trois arêtes, faire passer le mètre sur une arête et au milieu des deux arêtes opposées pour avoir une circonférence moyenne)
2. Peser la noix entière
3. Nettoyer l'épiderme de la noix à l'alcool absolu à l'équateur ou un peu en dessous de l'équateur à l'opposé du pôle germinatif
4. Percer la noix à l'aide d'une seringue et prélever l'eau de coco de façon stérile
5. Mesurer le volume d'eau extraite grâce aux graduations de la seringue
6. Traiter l'eau immédiatement comme prévu au § 4.2.2.,en page 4, avant de réaliser l'étape suivante
7. Peser les noix vides
8. Ouvrir la noix (le long de l'équateur si possible mais ce n'est pas indispensable), récupérer l'amande s'il y en a ; peser les morceaux d'amandes (repérer les morceaux d'amande provenant de la zone équatoriale pour réaliser l'étape suivante)
9. Mesurer, avec le micromètre, l'épaisseur de l'amande au mm près sur trois ou quatre morceaux si possible pris dans la zone équatoriale de la noix
10. Préparer l'amande comme indiqué en page 4 (lyophilisation).

Prélèvement et prétraitement des échantillons

## **Prélèvement des échantillons sur les différents compartiments**

Les échantillons d'eau et d'amande prélevés sur les trois noix d'un même régime sont mélangés pour donner un échantillon représentatif du régime. Sur chaque lot de noix après mesures morphologiques, les prélèvements et traitements à mettre en place sont :

Compartiments	Nombre de prélèvements	Poids frais (g ou ml)	Type de conditionnement	Mode de traitement
Amande	1	Maximal 50g	Sachet zippé	Lyophilisation
Eau	1	1 goutte	-	Mesure du Brix
Eau	1	15 ml	Bécher propre	Mesure du pH
	1	25 ml	Flacon ambré	Lyophilisation et envoi Montpellier
	31	1 ml +1ml + 1ml	Tube Eppendorf ambré	Dosage PPO et POD immédiat ou congélation
	1	Minimum 20 ml50 ml	Capsule aluminium ou autre récipient adapté	M.S. à l'étuve à 104°C
	1	20 à 30 ml	Pot quelconque	Acidité titrable
	3	20ml+20ml+20ml	Pot PP de 640 ml aseptique	Congélation en vue des analyses de sucres, protéines et autressels minéraux
	1	1 goutte	-	Mesure du Brix

Remarque importante : les chiffres de ce tableau correspondent à des noix arrivées à maturité. Il est fort probable que pour des noix plus jeunes, on ne puisse pas prélever de la même façon. L'objectif étant toutefois dans un premier temps d'éviter de perdre de l'information, il est plutôt conseillé de prélever un échantillon par compartiment dès que cela est possible. Ceci implique qu'il faudra peut-être prélever la totalité du compartiment lorsqu'il est en cours de formation (je pense entre autres à l'albumen solide).

### **Prétraitement des échantillons**

#### **Amande**

##### ***Lyophilisation***

La lyophilisation sera la méthode de préservation et de détermination de la teneur en eau de l'amande. Sur les échantillons, découper des cubes de 1 cm d'arête. Les mélanger et en prélever une quantité suffisante pour obtenir 50 g de poids frais. Les placer dans un sachet zippé préalablement taré. Peser exactement les morceaux. Peser exactement les morceaux + le sachet. Les surgeler puis, avant de les placer au lyophilisateur encore congelé, percer le sachet zippé de petits trous et bien ouvrir le sachet. En fin de lyophilisation, placer les sachets au dessiccateur et peser très rapidement les morceaux dans leur sachet. Mettre le tout (morceaux + sachet percé) dans un autre sachet zippé étanche avec du silice gel. Bien étiqueter à l'intérieur du sachet et les conserver au froid. (Le mieux est un froid sec mais on peut les placer au réfrigérateur ou au congélateur à condition de ne pas oublier le gel de silice).

## Eau

### *Modes de prélèvements*

**Rappel : l'eau de coco, stérile dans la noix, évolue très rapidement au premier contact de l'air (réactions chimiques et enzymatiques très rapides). C'est pourquoi elle doit être placée dans un récipient stérile et manipulée en évitant au maximum les sources de contamination. Il faut également travailler le plus vite possible et congeler rapidement les échantillons.**

- Pour des noix où **la coque et peu dure**, utiliser le **prélèvement à la seringue**. Nettoyer à l'alcool la surface de la noix où vous allez piquer. Percer la noix avec une seringue de 50 mL, mesurer le volume d'eau récupérée et placer l'eau directement dans un récipient taré stérile ou préalablement lavé et séché à l'étuve à 104°C (ou bien passé à l'eau de Javel ou alcool et séché). Peser la totalité de l'eau par noix échantillonnée et mélanger les trois eaux des noix du même régime. Prélever rapidement à la seringue stérile les quantités à répartir dans les différents récipients à échantillonner (tubes, pots, capsules alus....) et les peser exactement. On doit connaître le poids exact de l'eau par récipient.

- Pour des noix où **la coque est trop dure**, **ne pas utiliser de seringue** mais ouvrir la noix en découpant la bourre sans entamer la coque et faire un petit trou dans la coque en évitant au maximum que l'eau entre en contact avec la bourre. Travailler avec des **outils en inox** car l'acier, le cuivre, les autres métaux provoquent des réactions d'oxydation immédiates. Sitôt ouverte, récupérer dans un récipient taré stérile ou préalablement lavé et séché à l'étuve à 104°C (ou bien passé à l'eau de Javel ou alcool et séché). Peser la totalité de l'eau par noix échantillonnée et mélanger les trois eaux des noix du même régime. Prélever rapidement à la seringue stérile les quantités à répartir dans les différents récipients à échantillonner (tubes, pots, capsules alus....) et les peser exactement. On doit connaître le poids exact de l'eau par récipient.

## **Analyses** des échantillons prélevés

### Amande

#### Teneurs et profils en sucres

Méthode de dosage au DNS en Côte d'Ivoire sur amande lyophilisée et délipidée. Et éventuellement dosage par HPLC en France sur amande lyophilisée.

### Eau fraîche

#### pH et Brix

Prendre immédiatement le pH et le degré Brix au réfractomètre, le tout sur une partie aliquote du **mélange** des trois échantillons. Cette aliquote aura été prélevée proprement : avec une

seringue ou verser dans un flacon propre sans toucher d'autres parties ou instruments contaminantes.

#### Dosage enzymatique : PPO et POD

Si possible, réaliser les dosages enzymatiques sur les échantillons d'eau fraîche. Dès le prélèvement, utiliser l'eau pour les analyses. Les échantillons en attente seront stockés au congélateur en toute petite quantité. Attention à bien mélanger quand vous prélevez pour avoir un échantillon représentatif et à bien mélanger également après décongélation.

Pour la méthode, voir le protocole de dosage de la PPO, polyphénoloxydase. Les réactifs de ce dosage sont très instables et doivent être conservés dans de bonnes conditions (frigo). Le catéchol doit être renouvelé tous les jours.

#### Matières sèches

Idéalement, en vue de préserver l'intégrité des sucres, le séchage devrait être effectué dans une étuve sous vide à une température maximale de 65°C. En l'absence d'une étuve de ce type, le séchage sera effectué dans une étuve à 104 °C jusqu'à poids constant selon le protocole suivant.

Sécher à 104°C les capsules aluminium ou tout autre récipient destiné au séchage de l'eau de coco. Les sortir de l'étuve et les placer au dessiccateur. Attendre le refroidissement complet des récipients vides. Les peser exactement sur une balance de précision (noter la tare). Tarer le récipient et y mettre au minimum 20 mL d'eau de coco fraîchement prélevée. Noter le poids exact de l'eau de coco. Placer le récipient à l'étuve à 104°C jusqu'à poids constant. A chaque sortie de l'étuve, le récipient doit être placé au dessiccateur pour refroidissement avant toute pesée. Noter le poids final du récipient et des matières sèches.

#### Acidité titrable

Selon le protocole classique de dosage volumétrique (norme NF-V05-101). Dosage sur 10mL d'eau de coco fraîche en présence de NaOH 0.1N avec phénolphthaléine comme indicateur coloré. Le résultat peut être exprimé en mg d'acide citrique/100 mL d'eau de coco.

#### Eau congelée

#### Dosage enzymatique : PPO et POD

Agir comme pour eau fraîche mais décongeler rapidement à température < 35°C et traiter l'eau décongelée immédiatement. La décongélation peut se faire dans une eau tiède (35°C) pour l'accélérer et éviter des dégradations enzymatiques dans le temps.

#### Teneur et profil en sucres

Après décongélation comme précédemment (rapide et T<35°C), méthode au DNS effectuée sur place en Côte d'Ivoire. Et éventuellement, dosage par HPLC sur échantillons lyophilisés réhydratés à Montpellier.

### Teneur en protéines

Après décongélation, la méthode dite de Kjeldahl sera utilisée pour doser les protéines totales de l'eau de coco. Avant de lancer des analyses en série, il faut toutefois tester la limite de détection de la méthode sur eau de coco car les quantités de protéines sont très faibles (quelques mg/100mL d'eau).

### Teneur en cendres

Le dosage des cendres se fait normalement après le séchage à l'étuve à 104°C en passant l'échantillon de matières sèches dans un four à cendres pour le carboniser et éliminer toutes traces de molécules organiques. Je ne sais pas si vous avez un tel équipement sur la station. On pourrait éventuellement le faire à Montpellier mais je ne pense pas avoir le temps de réaliser cette analyse ici. La teneur en cendres se situe aux environs des 0.5 g/100mL.

### Composition en sels minéraux

Les composés minéraux majeurs de l'eau de coco sont le potassium, le chlore, le soufre, le calcium, le sodium, le magnésium et le phosphore. Il est probable que ce dosage se fera en France sur eau lyophilisée mais il serait aussi intéressant de le faire sur eau non lyophilisée car il se peut que des pertes se produisent pendant les manipulations entre les deux pays et que le résultat, pour des quantités aussi faibles, soit faussé.

### Eau lyophilisée réceptionnée à Montpellier

#### Teneurs et profil en sucres et polyols

Dosage par HPLC sur eau réhydratée si nécessaire selon la méthode mise au point dans le précédent protocole.

#### Teneurs en polyphénols totaux et vit. C

Dosage selon méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Georgé, 2005). Ce dosage se fera pour l'instant en France.

#### Composition en sels minéraux

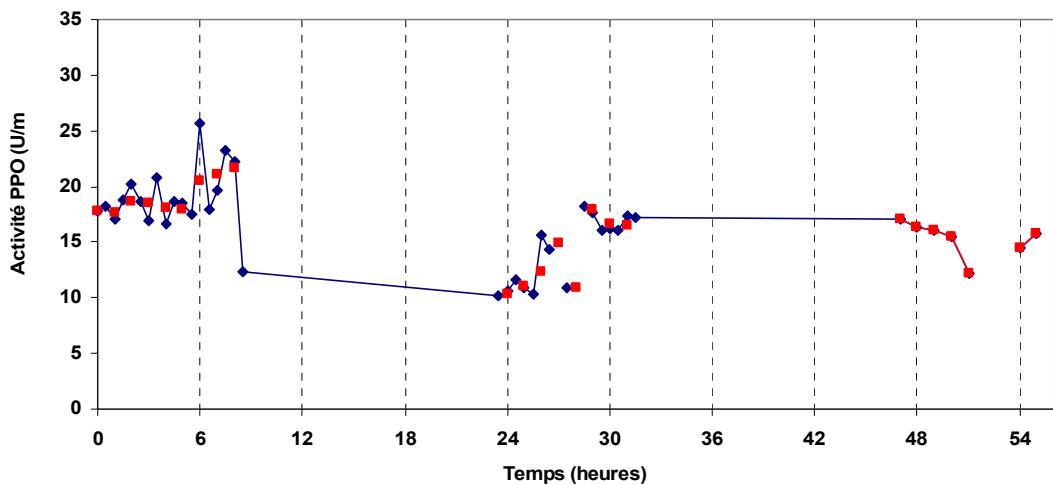
A voir en fonction du coût. La méthode utilisée serait la spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif ICP. Cette méthode autorise la détermination simultanée des éléments à l'état de trace et des majeurs en autorisant la sélection de plusieurs longueurs d'ondes pour chaque élément analysé.

#### Traitement statistique des données

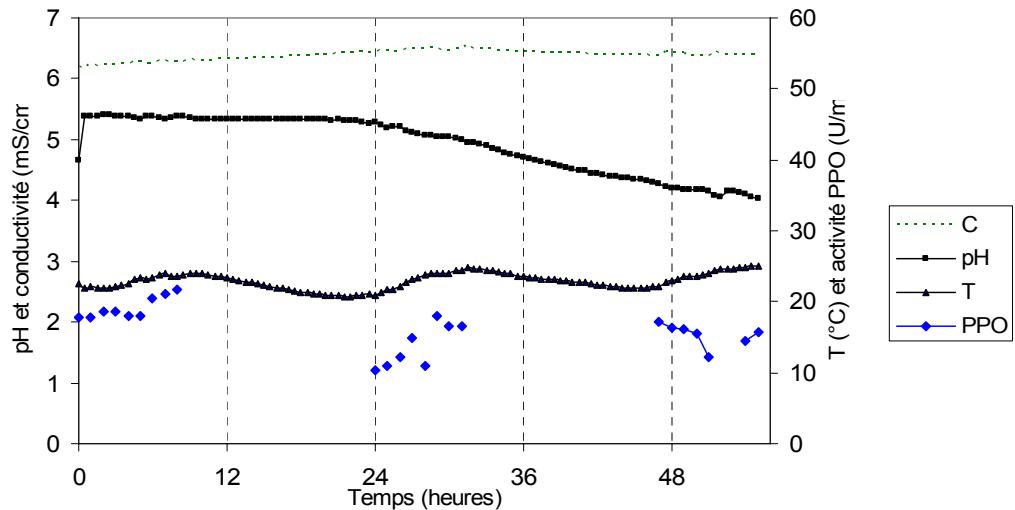
Les données obtenues seront traitées avec les logiciels XLStat (Microsoft, USA) et STATISTICA (Statsoft, USA). Les données seront également décrites à l'aide de statistiques descriptives classiques.

### Annexe 3 : Suivi de dégradation de l'eau de coco

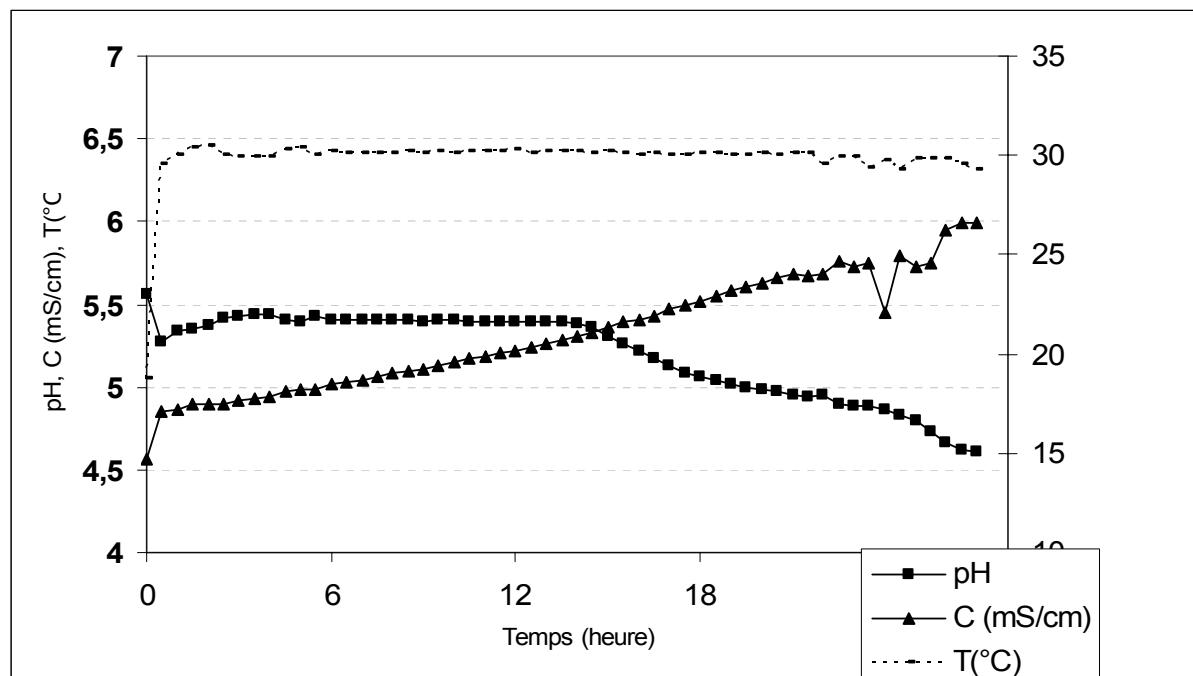
#### 1. Cinétique de l'activité de la PPO dans l'eau de coco immature du Costa Rica



#### 2. Cinétique de dégradation de l'eau de coco de la noix immature du Costa Rica



3. Cinétique de dégradation de l'eau de coco de la noix de 7 mois de la variété NVE de la Côte d'Ivoire



4. Cinétique de dégradation de l'eau de coco de la noix de 9 mois de la variété NVE de la Côte d'Ivoire