

DYNAMIQUE DE LA FERMENTATION DES GRAINES DE BISSAP POUR LA PRODUCTION DU YANYANKU ET DU IKPIRU, DEUX FERMENTS TRADITIONNELS PRODUITS AU BÉNIN

P. B. AGBOBATINKPO*, P. AZOKPOTA*, J. D. HOUNHOUGAN*

*Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, 03 BP 2819 Jericho, Cotonou, Bénin – Email : abpelagie@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Le Yanyanku et l'Ikpiru, deux ferments traditionnels utilisés respectivement pour la production des condiments Sonru et Iru, sont des produits de la fermentation spontanée des graines de bissap (*Hibiscus sabdariffa*). Cette étude vise à identifier la durée optimale de fermentation et les principaux microorganismes impliqués dans la fermentation des graines de bissap à l'échelle traditionnelle. La charge microbienne a été déterminée par les méthodes classiques de dénombrement au cours de la fermentation en milieu solide. Les *Bacillus* spp. et les bactéries lactiques (BL) sont les principaux microorganismes impliqués dans la fermentation, avec une charge significativement prédominante des *Bacillus* spp. ($p < 0,01$). La charge en *Bacillus* spp. et en BL après 96 h de fermentation était respectivement de 9,7 Log₁₀ ufc/g et 3,8 Log₁₀ ufc/g pour le Yanyanku et de 9,7 Log₁₀ ufc/g et 4,5 Log₁₀ ufc/g pour l'Ikpiru. Le pH avait une tendance à la hausse avec une valeur moyenne de 8,4 à 96 heures, quel que soit l'additif. Aucune différence significative n'a été notée entre les ferments prélevés de 36 à 96 h de fermentation suggérant ainsi une durée optimale de 36 h de fermentation. La charge en *Bacillus* spp. et en BL à 36 h de fermentation était respectivement de 9,1 et 3,9 Log₁₀ ufc/g pour le Yanyanku et de 9,6 et 3,8 Log₁₀ ufc/g pour l'Ikpiru. Des études ultérieures sont nécessaires pour identifier au cours de la fermentation les espèces des principaux genres dénombrés dans cette étude.

Mots clés : Yanyanku, Ikpiru, Fermentation solide, Microorganismes, Durée optimale

DYNAMIC OF MALCAVENE BEAN FERMENTATION FOR THE PRODUCTION OF YANYANKU AND IKPIRU TWO TRADITIONAL STARTER PRODUCED IN BENIN

ABSTRACT

Yanyanku and Ikpiru, two traditional starters were used to produce respectively Sonru and Iru, two condiments commonly consumed in Benin. These starters are produced from the spontaneous fermentation of malcavene beans (*Hibiscus sabdariffa*). This study aims at identifying the optimal duration of fermentation and the main microorganisms involved in the fermentation of malcavene beans to produce Yanyanku and Ikpiru, at traditional scale. Microorganisms' counts were evaluated using standard enumeration method during the solid-state fermentation of malcavene beans. *Bacillus* spp. and lactic acid bacteria (LAB) were the main microorganisms involved in the fermentation of malcavene bean, with the *Bacillus* spp. count significantly ($p < 0.01$) higher than the LAB count. The *Bacillus* spp. and LAB counts after 96 hours of fermentation were 9.7 Log₁₀ cfu/g and 3.8 Log₁₀ cfu/g respectively for Yanyanku and 9.7 Log₁₀ cfu/g and 4.5 Log₁₀ cfu/g for Ikpiru. Whatever the starter, the pH had an upward trend with an average of 8.4 at the end of the fermentation. No significant difference was observed between starter samples from 36 to 96 hours of fermentation suggesting an optimal duration of 36 hours of fermentation. The *Bacillus* spp. and LAB counts at 36 hours of the fermentation were 9.1 and 3.9 Log₁₀ cfu/g respectively for Yanyanku and 9.6 and 3.8 Log₁₀ cfu/g for Ikpiru. Further studies are needed to identify the species of the main microorganisms counted in this study during the fermentation.

Keywords : Yanyanku, Ikpiru, Solid state fermentation, Microorganisms, Optimal duration

INTRODUCTION

Les aliments traditionnels fermentés constituent une partie importante du régime alimentaire en Afrique (El Sheikha & Montet 2014). De nombreux condiments, notamment les condiments traditionnels d'origine africaine et asiatique sont produits à partir de la fermentation des graines riches en protéines puisque la fermentation de ces graines améliore la valeur nutritive des condiments et augmente leur digestibilité (Omafuvbe *et al.*, 2004). C'est le cas des condiments fermentés Dawadawa, Sonru, Iru, Afitin, Nététu, Soumbala (graines de néré "*Parkia biglobosa*" fermentées) (Diawara *et al.*, 1998 ; Azokpota *et al.*, 2006), Soy-dawadawa (graines de soja "*Glycine max*" fermentées) (Dakwa *et al.*, 2005), Tayohounta et Dikouanyouri (graines de baobab "*Adansonia digitata*" fermentées) (Chadare *et al.*, 2010), Bikalga, Mbuja, Furundu, dawadawa botso (graines de bissap "*Hibiscus sabdariffa*" fermentées) (Ouoba *et al.*, 2007 ; Yagoub *et al.*, 2004 ; Mohamadou *et al.*, 2007 ; Ibrahim *et al.*, 2011). Alors que le Mbuja, le Bikalga, le Furundu et le dawadawa botso sont consommés directement comme des condiments respectivement au Cameroun, au Burkina Faso, au Soudan et au Nigéria (Yagoub *et al.*, 2004 ; Mohamadou *et al.*, 2007 ; Ouoba *et al.*, 2007 ; Ibrahim *et al.*, 2011 ; Adamu *et al.*, 2019), le Yanyanku et l'Ikpiru également obtenus à partir de la fermentation des graines de bissap, sont utilisés comme ferments traditionnels au Bénin pour la fermentation des graines de néré au cours de la production de Sonru et d'Iru (Azokpota *et al.*, 2006, 2011 ; Agbobatinkpo *et al.*, 2011). Ces ferments traditionnels jouent un rôle d'agent ramollissant des graines de néré au cours de la fermentation (Agbobatinkpo *et al.*, 2012). La plupart de ces produits sont obtenus par fermentation spontanée avec la participation d'une diversité de microorganismes. Les travaux antérieurs menés sur la fermentation des graines protéagineuses (Graines de néré, soja, baobab, bissap etc.) en condiments ont révélé que les *Bacillus* spp. sont les principaux microorganismes isolés dans bon nombre de ces condiments fermentés (Soumbala, Dawadawa, Sonru, Iru, Afitin, Nététu, Soy-dawadawa, Mbuja, Bikalga etc.) (Odunfa & Adewuyi, 1985 ; Ouoba *et al.*, 2003 ; Dakwa *et al.*, 2005 ; Azokpota *et al.*, 2006 ; Chadare *et al.*, 2010 ; Adamu *et al.*, 2019). Les bactéries lactiques ont été également identifiées dans certains de ces condiments comme le Mbuja, le Tayohounta et le Dikouanyouri (Mohamadou *et al.*, 2007 ; Chadare *et al.*, 2010). Pour certains auteurs, ces bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation des graines (Mohamadou *et al.*, 2007) ; mais pour d'autres, la présence des bactéries lactiques dans ces condiments résulte de la contamination au cours du processus de transformation (Chadare *et al.*, 2010). Les graines de bissap sont également riches en glucides (27,8 g / 100 g de graines) (Yagoub *et al.*, 2004) ; elles pourraient constituer un substrat potentiel pour les bactéries lactiques. L'objectif de cette étude est de déterminer la microflore responsable de la fermentation et la durée optimale de fermentation des graines de bissap permettant de produire du yanyanku et du ikpiru pour servir comme ferment

artisanal pour la fermentation des graines de néré en Sonru et Iru respectivement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Production de Yanyanku et d'Ikpiru

La production d'Ikpiru et de Yanyanku se résume essentiellement en une cuisson des graines triées et lavées, suivie d'une fermentation et du pilage des graines fermentées et enfin du séchage au soleil du produit fini (Agbatinkpo *et al.*, 2011).

Production de Yanyanku

Les graines de bissap ont été d'abord cuites dans de l'eau mélangée avec du filtrat de solution de cendre (500 g de cendre issu du bois de karité /L d'eau), pendant 1 heure (h). Les graines cuites ont été ensuite égouttées et répandues dans des paniers couverts, bien emballés avec des sacs de jute et mis en fermentation en milieu solide à la température ambiante (26-28 °C) pendant 96 h au cours desquelles des prélèvements ont été réalisés à 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 et 96 h. Huit (08) paniers d'échantillons de graines fermentées ont été ainsi produits correspondant aux différentes heures de prélèvement. Les graines fermentées ont été pilées et séchées au soleil.

Production d'Ikpiru

Les graines de bissap ont été d'abord cuites avec les feuilles, la tige et les racines de *Boerhavia erecta* dans de l'eau pendant 1 heure (Agbatinkpo *et al.*, 2011). Les graines cuites ont été ensuite égouttées et répandues avec les racines de *B. erecta* dans huit (8) Calebasses. Les Calebasses contenant les graines ont été couvertes avec des sacs de jute et mises en fermentation à la température ambiante (26 -28°C) pendant 96 heures avec des prélèvements réalisés à 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 et 96 h. Les graines fermentées ont été pilées et séchées au soleil.

Les différents essais de production des deux (2) ferments traditionnels ont été réalisés en deux répétitions à deux différentes occasions. La microflore impliquée dans la fermentation des graines de bissap pour la production des deux (2) ferments traditionnels a été déterminée aux différentes heures de suivi de fermentation.

Détermination de la microflore impliquée dans la fermentation pour la production des ferments traditionnels

La préparation de la dilution mère (DM) et des dilutions décimales successives (DDS) des échantillons de Yanyanku et Ikpiru a été faite suivant la méthode de dilution décimale standard. Les germes aérobies mésophiles (GAM) ont été cultivés sur le milieu Plate Count Agar (Oxoid, CM0463, Basingstoke, Hampshire, England) et incubés à 30 °C pendant 72 heures. Les bactéries lactiques (BL) ont été dénombrées sur le milieu de Man Rogosa and

Sharpe (OXOID, CM 0361, England) et incubées en anaérobiose à 30 °C pendant 72 heures. Les spores et la forme végétative des *Bacillus* spp. ont été cultivées sur le milieu Dextrose Tryptone Agar (DTA, Oxoid CM 0075, England), incubées à 37 °C pendant 48 heures. Les dilutions décimales pour le dénombrement des spores de *Bacillus* spp., ont été réalisées à partir de 5 mL de la DM, chauffée à 80 °C pendant 10 minutes. Les pH du Yanyanku, du Ikipiru et des filtrats de cendre ont été déterminés par la méthode de Nout *et al.* (1989).

Analyses statistiques

Les courbes de tendance ont été établies avec les données microbiologiques au moyen du tableur Excel. Une analyse de variance a été effectuée avec le logiciel Statistica 7 (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) pour comparer les moyennes de la charge des microorganismes à différentes heures de fermentation. Une analyse en composante principale a été également effectuée pour visualiser les relations entre les produits prélevés à différentes heures de la fermentation et les variables.

RÉSULTATS

Évolution de la flore microbienne au cours de la fermentation des graines de bissap

Les Figure 1a, Figure 1b et Figure 1c montrent respectivement l'évolution des germes aérobies mésophiles (GAM), des *Bacillus* spp. et des bactéries lactiques (BL) au cours de la fermentation des graines de bissap en Yanyanku et Ikipiru. La charge en GAM du Yanyanku et du Ikipiru s'est accrue avec le temps de fermentation, passant d'une valeur de 4,6 Log₁₀ (UFC/g) au début de la fermentation (0 h) à 9,8 Log₁₀ (UFC/g) en fin de fermentation (96 h). Aucune différence significative ($P > 0,05$) n'a été notée entre la charge en GAM des échantillons (Ikipiru et yanyanku) de 36 h à 96 h de fermentation. Les valeurs du pH avaient une tendance à la hausse (de 6,8 à 8,4) du début de la fermentation (0 h) jusqu'à la fin de la fermentation (96 h); tandis que, les charges en *Bacillus* spp. et en BL des ferments traditionnels avaient la même tendance mais seulement de 0 à 60 h de fermentation. La charge en *Bacillus* spp. d'Ikipiru et de Yanyanku était respectivement de 4,2 et 3,9 Log₁₀ (UFC/g) au début de la fermentation et 9,7 Log₁₀ (UFC/g) pour Ikipiru et 10,1 Log₁₀ (UFC/g) pour Yanyanku à 60 heures. Au-delà de 60 heures, une légère baisse de la charge en *Bacillus* spp. a été notée. Cependant, la charge en *Bacillus* spp. des échantillons de Ikipiru de 36 h à 96 h de fermentation était statistiquement identique ($p > 0,05$). Quant aux échantillons de Yanyanku, à l'exception des échantillons de 48, 72 et 96 h, une différence significative ($p < 0,05$) a été observée entre les échantillons des autres heures de fermentation (0, 12, 24, 36 et 60 h). Une tendance à la hausse a été également observée pour les BL, qui ont atteint la valeur maximale de 5,2 Log₁₀ (UFC/g) pour l'Ikipiru et de 4,9 Log₁₀ (UFC/g) pour le Yanyanku après 60 h de fermentation

où le pH moyen était de l'ordre de 8. Au delà du pH 8, le nombre de BL des deux ferments traditionnels avait diminué et atteint une valeur moyenne de 4,4 Log₁₀ (UFC/g). La charge en BL des échantillons de Yanyanku prélevés de 36 à 96 h était statistiquement identique (P > 0,05), de même que ceux de Ikipiru prélevés de 48 à 96 h.

Les *Bacillus* spp. et les BL ont été tous présents au cours de la fermentation avec une charge en *Bacillus* spp. significativement plus élevée (p < 0,01). Les charges en *Bacillus* spp. et en BL en fin de fermentation (96 h) étaient respectivement de 9,7 Log₁₀ UFC/g et 3,8 Log₁₀ UFC/g pour le Yanyanku et de 9,7 Log₁₀ UFC/g et de 4,5 Log₁₀ UFC/g pour l'Ikipiru.

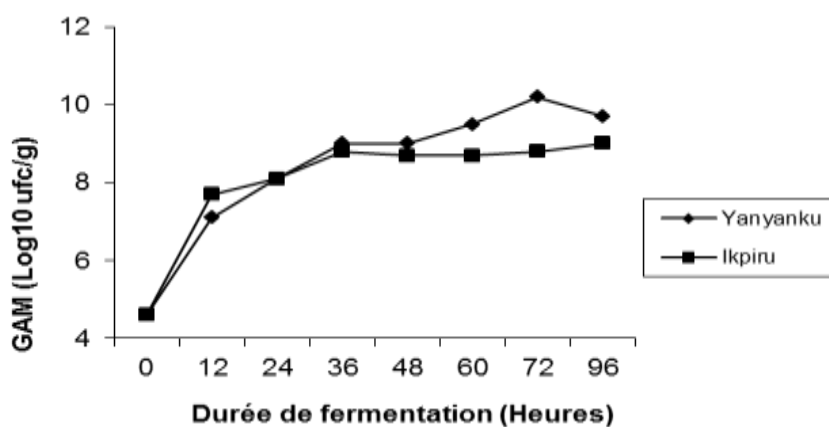


Figure 1a. Evolution des GAM au cours de la fermentation des graines de bissap pour la production de Yanyanku et d'Ikipiru

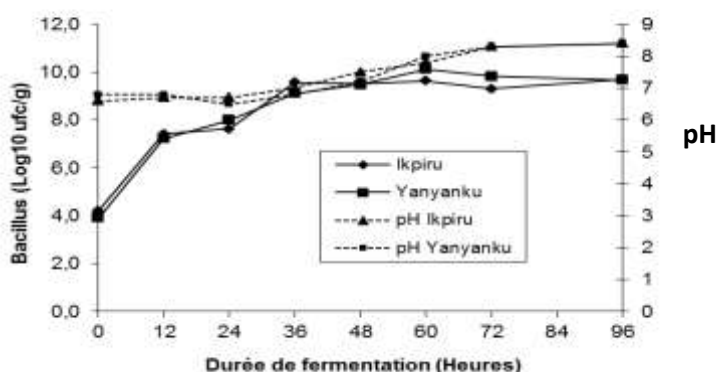


Figure 1b. Evolution des *Bacillus* spp. et du pH au cours de la fermentation des graines de bissap pour la production de Yanyanku et d'Ikipiru

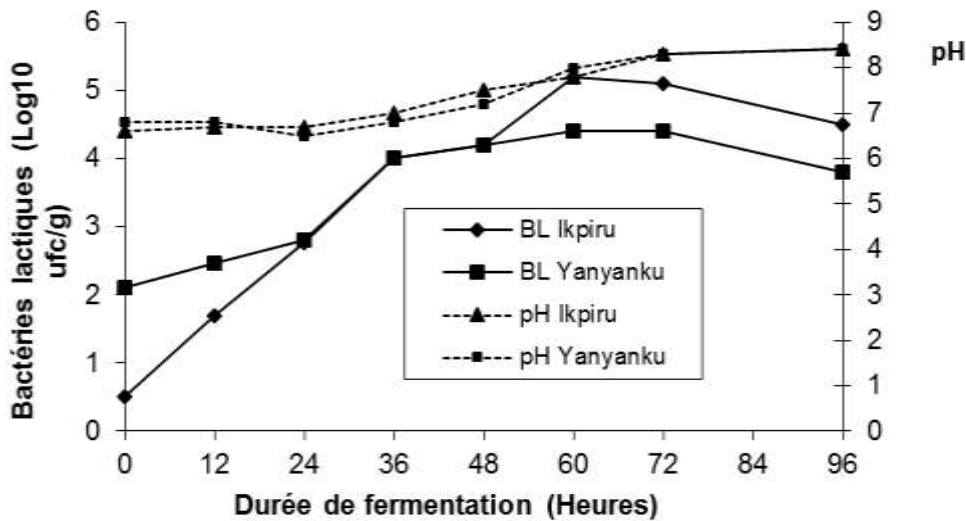


Figure 1c. Evolution des BL au cours de la fermentation des graines de bissap pour la production de Yanyanku et d'Ikpiru

Relations entre les paramètres étudiés à différentes heures de fermentation

Une Analyse en Composante Principale (ACP) a été réalisée entre les produits à différentes heures de fermentation et la microflore impliquée dans la fermentation. Considérant les résultats de l'ACP (Figures 2a et 2b), les deux premiers axes concentrent 98,51% des informations liées aux variables d'Ikpiru et de Yanyanku. La charge en GAM, en *Bacillus* spp. et en BL des ferments était mieux représentée sur le 1^{er} axe avec les valeurs de coefficient de corrélations fortes qui étaient de (0,96 -0,98) pour l'Ikpiru et de (0,92 – 0,99) pour le Yanyanku. Quant au pH, il était corrélé avec les deux axes.

Considérant les variables étudiées et les produits à différentes heures de fermentation, les échantillons des ferments ont été groupés en trois (3) différentes classes (Figures 2a (Ikpiru) et 2b (Yanyanku)). Les produits au début de la fermentation (0 h) formaient la première classe, ceux de 12 et 24 h constituaient la deuxième classe et enfin les produits de 36 à 96 h de fermentation composaient la troisième classe. Les différentes variables étudiées se trouvaient dans la troisième classe (figures 2a et 2b), exprimant ainsi que la valeur du pH et de la charge en microorganismes était significativement plus importante aux différentes heures de fermentation de cette classe par rapport aux deux premières classes.

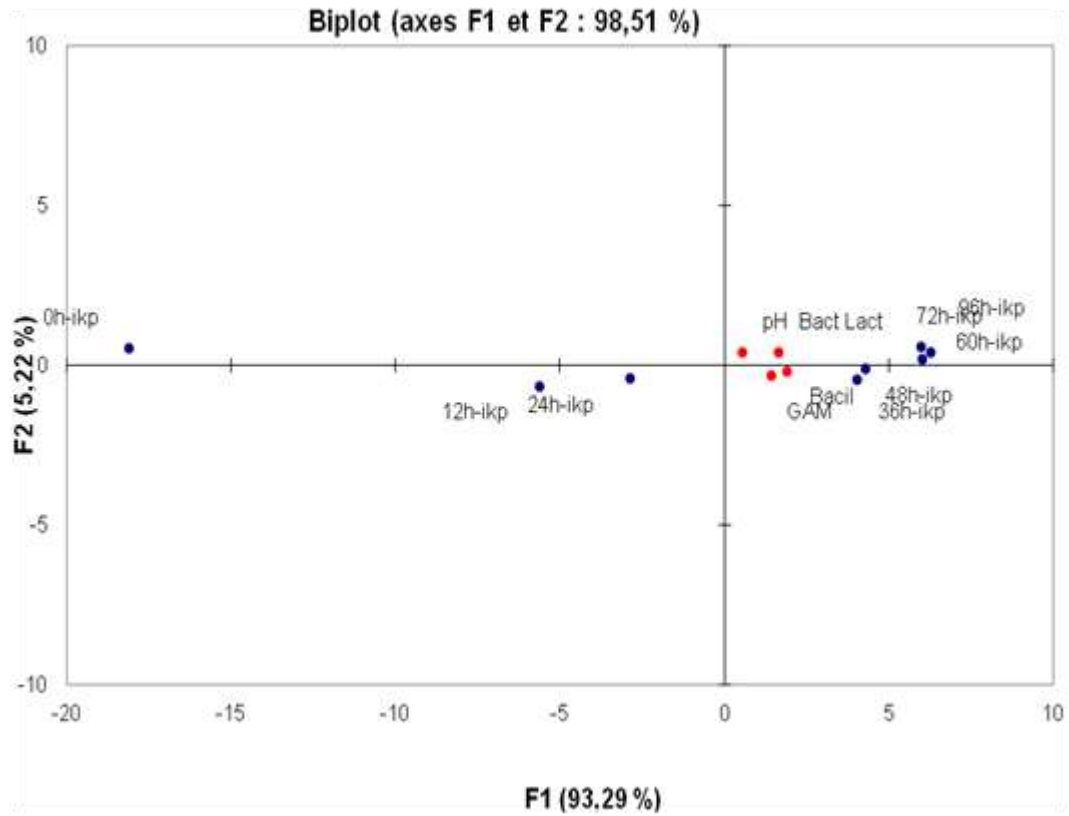


Figure 2a. Relation entre les échantillons d'Ikpiru prélevés à différentes heures de fermentation et les variables (charge microbologique et pH)

Légende :

0h-ikp : échantillon prélevé au début de la fermentation des graines pour la production d'ikpiru
12h-ikp, 24h-ikp, 48h-ikp, 60h-ikp, 72-ikp et 96-ikp: échantillons prélevés respectivement à 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 60 h, 72 h et 96 h de la FMS des graines pour la production d'ikpiru.
GAM: Germes aérobies mésophiles; Bact lact : Bactéries lactiques; Bacil: *Bacillus* spp.
yku : Yanyanku; GAM: Germes aérobies mésophiles; Bacil : *Bacillus* spp.; Bact lact : Bactéries lactiques

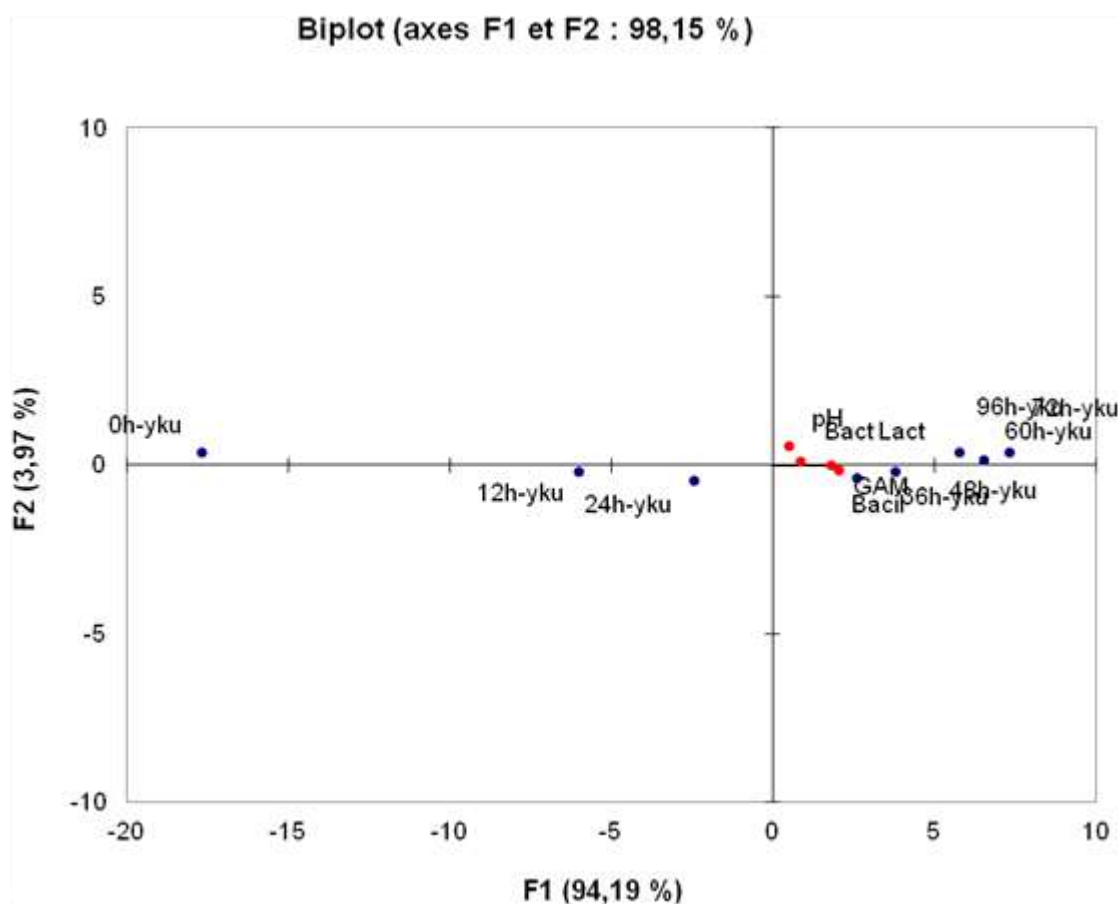


Figure 2b. Relation entre les échantillons de Yanyanku prélevés à différentes heures de fermentation et les variables (Charge microbologique et pH)

Légende :

yku : Yanyanku ; GAM : Germes aérobies mésophiles ; Bacil : *Bacillus* spp.; Bact lact : Bactéries lactiques

Selon les résultats de l'ACP réalisée, les échantillons d'Ikpiru prélevés au début de la fermentation étaient différents des échantillons prélevés à d'autres heures de fermentation, tandis que les échantillons d'Ikpiru prélevés à 12 et 24 heures de fermentation étaient semblables, ceci exprime qu'il n'y avait pas de différence significative entre la charge en GAM, *Bacillus* spp. et en bactérie lactique et le pH des échantillons prélevés à 12 et 24 heures de fermentation. De même, il n'existait pas de différence significative entre les échantillons d'Ikpiru prélevés à 36, 48, 60, 72 et 96 heures de fermentation en ce qui concerne leur pH et leurs charges en GAM, *Bacillus* spp. et en bactéries lactiques. Ainsi l'Ikpiru obtenu après 36 h de fermentation n'est pas différent en considérant la charge en microorganismes et le pH de celui obtenu après

96 h de fermentation; or les valeurs des paramètres à 36 h sont significativement supérieures à celles des échantillons de 24 h. Ceci suggère une durée optimale de 36 h de fermentation des graines de bissap. Le même résultat était obtenu avec les échantillons de Yanyanku aux différentes heures de fermentation (Figure 2b).

DISCUSSION

Au cours de la fermentation des graines de bissap, les *Bacillus* spp. comme les BL étaient tous présents mais avec une prédominance des *Bacillus* spp en fin de fermentation. Mohamadou *et al.* (2008) ont rapporté la présence des *Bacillus* spp. et des BL durant la fermentation des graines de bissap en Mbuja, un produit similaire consommé sous forme de condiment au Cameroun. Ces auteurs ont également rapporté que les BL (5,12 Log UFC/g) ont prédominé avant la fermentation des graines cuites par rapport aux *Bacillus* spp. (3,07 Log UFC/g). Cependant, selon ces auteurs, les *Bacillus* spp. (9,88 Log₁₀ UFC/g) étaient plus importants que les BL (7,43 Log₁₀ UFC/g) en fin de fermentation. La fermentation des graines de bissap a été conduite spontanément par les microorganismes endogènes des graines. En effet, la fermentation spontanée résulte généralement d'une activité concurrentielle de plusieurs genres de microorganismes (Chelule, 2010).

Plusieurs autres auteurs ont rapporté la prédominance du genre *Bacillus* spp. dans les condiments fermentés à base de graines de bissap (Ouoba *et al.*, 2007 ; Yagoub & Mohammed, 2008 ; Adamu *et al.*, 2019), mais ces auteurs n'ont pas mentionné la présence des BL au cours de la fermentation. Généralement les *Bacillus* spp. notamment les *Bacillus subtilis* ont été identifiés comme étant les microorganismes responsables des fermentations alcalines dont les principaux substrats sont des matières végétales ou animales riches en protéines (Ndir *et al.*, 1997 ; Ouoba *et al.*, 2003a ; Azokpota *et al.*, 2007). Les graines de bissap étant riches en protéines (Mahgoub & Elbashir, 2009), la présence des BL en nombre aussi élevé au cours de la fermentation de ces graines pour la production d'Ikpiru et de Yanyanku était inattendue. En effet, la cuisson des graines avant la fermentation est une étape sélective pour les bactéries qui ont la capacité de se sporuler comme les *Bacillus* spp. (Ouoba *et al.*, 2008a). Cependant, certains genres de BL comme les *Enterococcus* spp. bien que n'ayant pas la capacité de se sporuler, résistent aux fortes températures (Houben et Tjeendsma-van Bokhoven, 2004). Il a été rapporté que les espèces de *Pediococcus* spp. résistent également aux fortes températures (Annous *et al.*, 1999). La cuisson des graines de bissap pendant 1 heure à 95 – 98°C, est probablement insuffisante pour détruire toutes les espèces de BL présentes sur les graines non cuites. Des espèces d'*Enterococcus* spp. et de *Pediococcus* spp. ont été identifiés au cours de la fermentation des graines de néré et de bissap cuites (Ouoba *et al.*, 2010).

La catégorisation et la variabilité intra-classe révélées par l'analyse en Composante Principale (ACP) réalisée entre les produits à différentes heures de fermentation et les paramètres microbiologiques étudiés supportaient les résultats antérieurs selon lesquels la durée de fermentation en milieu solide des graines de bissap pour produire le Yanyanku et l'Ikpiru varie d'une productrice à une autre et selon les localités (Agbobatinkpo *et al.*, 2011). En effet, les différentes classes obtenues suite à l'analyse en Composante Principale (ACP) exprime que les starters de 12 h et 24 h de fermentation sont identiques en charge en microorganismes de même que la valeur du pH; et que les starters prélevés à partir de 36 h jusqu'à 96 h de fermentation sont également identiques. Cependant les échantillons de 36 h sont plus riches en *Bacillus spp.* que ceux issus de 24 h de fermentation. Au regard des résultats obtenus à l'issue du présent travail, on peut proposer une durée de 36 h pour la fermentation spontanée en milieu solide des graines de bissap à température ambiante (26-28°C) pour la production du Yanyanku et du Ikpiru.

CONCLUSION

Les *Bacillus spp.* et les bactéries lactiques sont les principaux microorganismes impliqués dans la fermentation en milieu solide des graines de bissap pour la production de Yanyanku et d'Ikpiru, mais la charge en *Bacillus spp.* était majoritaire et une durée de 36 h était suffisante pour obtenir un starter de qualité microbiologique acceptable. Le Yanyanku et l'Ikpiru étant un stock de microorganismes, spécifiquement de *Bacillus spp.* des études ultérieures sont nécessaires pour identifier les différentes espèces de *Bacillus spp.* à différentes heures de fermentations.

RÉFÉRENCES

- ADAMU, SHAHIDAH A., FAROUQ A. A., MAGASHI M. A., SOKOTO A. M. & SALAU, I. A. 2019. Isolation and Identification of Microorganisms Encountered in Traditional Fermentation of Soya Beans and Roselle seeds for the production of Food Tasty condiment (Dawadawa). Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials Vol. 4(1) : 1-6
- AGBOBATINKPO B. P., AZOKPOTA P., AKISSOE N., KAYODÉ P., DA GBADJI R. & HOUNHOUIGAN J. D. 2011. Indigenous perception and characterization of yanyanku and ikpiru two functional additives for the fermentation of African locust bean. Ecol. Food. Nutr, 50: 101-114
- AGBOBATINKPO P. B., DABADÉ S. D., LALEYÈ F., AKISSOE N., AZOKPOTA P. & HOUNHOUIGAN J. D. 2012. Softening effect of Ikpiru and Yanyanku, two traditional additives used for the fermentation of African Locust Bean (*Parkia biglobosa*) seeds in Benin Int. J. Biol. Chem. Sci., 6: 1281-1292.
- ANNOUS B. A., KOZEMPEL M. F & KURANTZ M. J. 1999. Changes in membrane fatty acid composition of *Pediococcus* sp strain NRRL B-2354 in response growth conditions and its effect on thermal resistance. Appl Environ Microbiol 65: 2857-2862.
- AZOKPOTA P., HOUNDENOUKON M. S. E., HOUNHOUIGAN J. D., NAGO C. M. & JAKOBSEN M. 2011. Evaluation of *Yanyanku* processing, an additive used as starter culture to produce fermented food condiments in Benin. J. of Food Proc. and Preserv, 35 (6): 813-821.
- AZOKPOTA P., MOLLER P., HOUNHOUIGAN D. J. & JAKOBSEN, M. 2007. Biodiversity of predominant *Bacillus* isolated from Afitin, Iru and Sonru at different fermentation time. Int. J. Biol. Chem. Sci, 1: 211-222.

- AZOKPOTA P., HOUNHOUIGAN D. J. & NAGO M. C. 2006a. Microbiological and chemical changes during the fermentation of African locust bean *Parkia biglobosa*, to produce *afitin*, *iru* and *sonru*, three traditional condiments produced in Benin, *Int J Food Microbiol* 107: 304–309.
- CHADARE F. J., GAYET D. P., AZOKPOTA P., NOUT M. J. R., LINNEMANN A. R., HOUNHOUIGAN J. D., VAN BOEKEL, M. A. J. S. 2010. Three traditional fermented baobab foods from Benin. *Mutchayan. Dikouanyouri* and *Tayohounta*: Preparation properties and consumption. *Ecol. Food. Nutr.*, 49: 1-19.
- CHELULE P. K., MOKOENA M. P. & GQALENI N. 2010. Advantages of traditional lactic acid bacteria fermentation of food in Africa. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* A. Méndez-Vilas (Ed.), 1160 – 1167.
- DAKWA S., SAKYI-DAWSON E., DIAKO C., ANNAN N.T. & AMOA-AWUA W. K. 2005. Effect of boiling and roasting on the fermentation of soybeans into *dawadawa soy-dawadawa*. *Inter J Food Microbiol* 104: 69–82.
- EL SHEIKHA A. F & MONTET D. 2014. African Fermented Food: Historical Roots and Real Benefits: 248-282. *In*: Ray R. C & Montet D *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*. Food Biology series, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- HOUBEN J. H. & TJEERDSMAVAN BOKHOVEN J. L. M. 2004. Growth inhibition of heat-injured *Enterococcus faecium* by oligophosphates in a cured meat model. *International Journal of Food Microbiology*, 97: 85-91
- HOUNHOUIGAN D. J., NOUT M. J. R., NAGO C. M. HOUBEN J. H. & ROMBOUTS F. M. 1993. Characterization and frequency distribution of species of lactic acid bacteria involved in the processing of *mawé*, a fermented maize dough from Benin. *International Journal of Food Microbiology*, 18 (3): 279 – 287.
- IBRAHIM A. D., SANI A., ALIERO A. A. & SHINKAFI SA. 2011. Biocatalysis of *H. sabdariffa* during dawadawan botso production and biogeneration of volatile compounds. *International journal of Biology and Chemical Science*. 5(5): 1922-1931
- MAHGOUB S. O. & ELBASHIR H. Z. E. 2009. Proximate composition of Karkadeh (*Hibiscus sabdariffa*) seeds and some functional properties of seed protein isolate as influenced by pH and NaCl. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 (3): 183-194.
- MOHAMADOU B. A., MBOFUNG C. M. F & THOUVENOT D. 2007. Functional potential of a product from traditional biotechnology antioxidant and probiotic potential of Mbuja, produced by fermentation of *Hibiscus sabdariffa* seeds in Cameroon. *Journal of Food Technology*, 5: 164-168.
- N DIR B., GNINGUE R. D., KEITA N. D. G., SOUANE M., LAURENT L., CORNELIUS C. & THONART P. 1997. Caractéristiques microbiologiques et organoleptiques du *nététu* du commerce. *Cahier Agriculture*, 6: 229–304.
- NOUT M. J. R., ROMBOUTS F. M. & HAVELAAR. A. 1989. Effect of accelerated natural lactic fermentation of infant food ingredients on some pathogenic microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 8: 355-361.
- ODUNFA S. A. & ADEWUYI E. Y. 1985. Optimization of Process conditions for the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*). Effect of time, temperature and humidity. *Mikrobiologie Technologie Lebensm*, 9: 6-10.
- OMAFUVBE B. O., FALADE O. S., OSUNTOGUN B. A. & ADEWUSI S. R. A. 2004. Chemical and biochemical changes in African locus bean (*Parkia biglobosa*) and Melon (*Citrus vulgaris*) seeds during fermentation to condiments. *Pakistan Journal of Nutrition* 3: 140-145.
- OUOBA L. I. I., NYANGA-KOUMOU C. A. G., PARKOUDA C., SAWADOGO H., KOBAWILA S.C. et al. 2010. Genotypic diversity of lactic acid bacteria isolated from African traditional alkaline-fermented foods. *Journal of Applied Microbiology* 108: 2010-2029.
- OUOBA I. I. L., LEI V., JENSEN B. L. 2008a. Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: Determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 121: 217-224.

- OUOBA L. I. I., DIAWARA B., JESPERSEN L. & JAKOBSEN M. 2007. Antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* during the fermentation of African locust bean *Parkia biglobosa*, for *soumbala* production, *J Appl Microbiol* 102: 963–970.
- OUOBA L. I. I., CANTOR M. D., DIAWARA B., TRAORE A. S. & JAKOBSEN M. 2003b Degradation of African locust bean oil by *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* isolated from Soumbala a fermented African locust bean condiment. *J Appl Microbiol*, 95: 868-873
- YAGOUB A. A. & MOHAMMED A. M. 2008. *Furundu*, a meat substitute from fermented roselle (*Hibiscus sabdariffa* L) seed: Investigation on amino acids composition, protein fractions, minerals content and HCl-extractability and microbial growth. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7: 352-358.
- YAGOUB A. A., MOHAMED E. B., AHMED A. H. R., & EL TINAY A. E. 2004. Study on furundu, a traditional Sudanese fermented roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed: effect on *in vitro* protein digestibility, chemical composition, and functional properties of the total proteins. *J. Agric. Food Chem*, 52: 6143–6150.