

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA-Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme de Master II

Filière : Biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

Activité antioxydante de quelques légumineuses cuites (haricot blanc, pois chiche) à l'état sec et en conserve, et petit pois (sec, frais, congelé et conserve).

Réalisé par :

M^{elle} : ABERKANE Lamia

M^{elle} : ADNANE Hassiba

Membres de jury :

Grade et lieu

Président : M^r OUCHEMOUKH S.

MCB (UAMB)

Promotrice : M^{elle} ZEMOURI S.

MAB (UAMB)

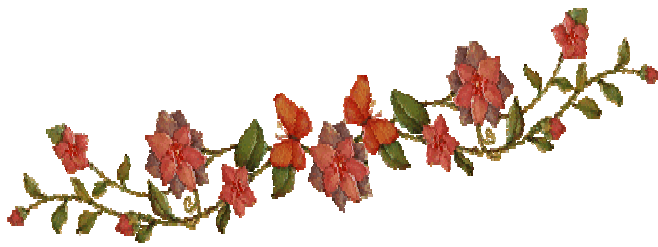
Examineurs: M^r BACHIR BEY M.

MAA (UAMB)

M^{elle} ADRAR S.

MAB (UAMB)

Année Universitaire : 2012/2013



Remerciement

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements à ALLAH de nous avoir donné le courage et la patience pour terminer notre travail.

En préambule à ce mémoire, on souhaiterait adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apportés leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire, surtout notre promotrice M^{lle} ZEMOURI Salima pour ses conseils et on lui souhaite une bonne réussite dans ses projets.

On tient à remercier sincèrement M^r OUCHMOUKH S., qui, en tant que président des membres de jury, pour le temps qu'il a bien voulu nous consacrer pour ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent également au M^r BACHIR BEY M. et M^{lle} ADRAR S pour nous avoir fait L'honneur d'examiner ce modeste mémoire.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi au responsable du laboratoire de Biochimie alimentaire (M^{me} LOUAILECHE H), ainsi que M^r CHAALAL et M^r BACHIR BEY M pour leurs aide .

Nous exprimons notre gratitude à tous les enseignants rencontrés lors de notre cycle universitaire.

Enfin, nous adressons nos plus sincères parents, à nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.





Dédicaces

Dédicaces



Tout au début, je tiens à remercier le bon Dieu de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie à :

Mes chers parents : Ali et Merbouha, qui m'ont fourni au quotidien un soutien, et pour leur éducation et sacrifices. Que Dieu les protège et les garde pour nous.

Mes chères amours de sœurs : Kenza et Rabha qui mon épaulées au quotidiens.

Mes formidables frères : Salem, Karim et Khellifa qui ravivent ma vie par leurs joies et présences a mes coté.

A : Saïda, et Lila.

A : Khoudir et Seddik

A mes neveux : Boubekur (Yanis) et Ilyas

A mes nièces : Asma et Imane.

A ma binome Hassiba ainsi qu'à toute sa famille.

Mes adorables amies : Biba, Amel, Lydia, Aïcha, Lamia, Férial, Fatima, Bahdja, narimene, Hamida, Nadira, Alia, Nassima, Wassila.

Qui mon tant fait rire et remontées le moral.

À toute la promotion de Biochimie Appliquée

À toute ma famille proche et loin que soit-elle.

Et pour toutes les personnes qui m'ont soutenu jusqu'à la fin.

Lamia



Dédicaces



Tout au début, je tiens à remercier le bon Dieu de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie à :

Mes chers parents : Abdearrahman et Mebarka qui m'ont fourni au quotidien un soutien, et pour leur éducation et sacrifices. Que Dieu les protège et les garde pour nous.

Mes chères amours de sœurs : Horia, Warda et Fousia ainsi que leur marie Salah, Younes, Samir et leurs enfants: Salim, Lina, Bedre aldin, Rima, Abdalghani, Yassin, Lidya, Mohammad Alamin et Racha.

A mon chère frère Hachemi sa femme Nassia et leur filles Rania, Ikrame, Sirine.

A ma binome Lamia ainsi qu'à toute sa famille surtout ses parants.

Mes adorables amies : Amel, wassila, Bahdja, Alia, Nassima, Hamida.

À toute la promotion de Biochimie Appliquée

À toute ma famille proche et loin que soit-elle.

Et pour toutes les personnes qui m'ont soutenu jusqu'à la fin.

Hassiba

Liste des tableaux

Tableau I : Composition par portion comestible de 100g de graines entières Mures séchées.....	6
Tableau II : Production annuelle mondiale de légumineuses en 2005.....	7
Tableau III : Comparaison des analyses nutritionnelles à partir de l'analyse d'un aliments sec et en conserve.....	10
Tableau IV: Principaux espèces réactives d'oxygène.....	11
Tableau V: Caractéristiques morphologiques des échantillons de légumineuses.....	29

Liste des figures

Figure 01 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés	12
Figure 02 : Oxydation des lipides.....	16
Figure 03: Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.....	17
Figure 04 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.....	20
Figure 05 : Structure de base des composés phénoliques.....	21
Figure 6: Structure des acides hydroxybenzoïques.....	22
Figure 7: Structure de l'acides hydroxycinnamiques.....	23
Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes.....	24
Figure 9: Structure de flavones.....	24
Figure 10 : Structure des flavonols.....	25
Figure 11 : Structure de flavanones.....	25
Figure 12 : Structure de flavan-3,4-diols.....	25
Figure 13: Structure des anthocyanines (Cyanidine).....	26
Figure 14: Structure des tanins condensés.....	26
Figure15: Structure des tanins hydrolysables (Ellagitannin).....	27
Figure 16: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques.....	28
Figure 17 : Taux d'humidité des pates des légumineuses cuites	35
Figure 18: Taux d'humidité des eaux de cuisson des légumineuses cuites	35
Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	37
Figure 20 : Teneurs en flavonoïdes des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	39
Figure 21 : Teneurs en anthocyanines des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	40
Figure 22 : Teneurs en tannins des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	41

Figure 23 : Teneurs en des caroténoïdes pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	43
Figure 24 : Pouvoir réducteur des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	44
Figure 25 : Activité phosphomolybdate des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	45
Figure 26 : Réduction du radical DPPH des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	46
Figure 27 : Inhibition de H_2O_2 des pates et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.....	48
Figure 28: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en anthocyanines des extraits.....	49
Figure 29: Courbe de corrélation entre l'activité phosphomolybdate et la teneur en anthocyanines des extraits.....	50

Liste des abréviations

ADN : Acide Desoxyribo-nucléique.

DPPH : 1,1- Diphenyl- 2- Picryl- Hydrazyl.

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène.

GPx : Glutathion Peroxyde.

GR : Glutathion Réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion oxydé.

HB-sec : Haricot blanc sec.

HB-cons : Haricot blanc conserve.

MS : Matière Sèche.

NADP : Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate.

NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate Hydrogenase.

NF-kB: Facteur Nucleaire- kappa B.

Pch-cons : Pois chiche conserve.

PP-cons : Petit pois conserve.

PP-cong : Petit pois congelé.

PP-frais : Petit pois frais.

Pch-sec : Pois chiche sec.

PP-sec : Petit pois sec.

P-450 : cytochrome P-450.

RL: Radical Libre.

SOD : Superoxyde-dismutase.

TCA : Acide Trichloro Acétique.

XO : Xanthine Oxydase.

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur les légumineuses

I-1-Historique.....	3
I-2-Généralités.....	3
I-3- Définition de quelque légumineuse	4
I-3-1-Haricot.....	4
I-3-2-Pois chiche.....	4
I-3-3-Petits pois.....	5
I-4-Classification.....	5
I-5-Fixation de l'azote atmosphérique par les légumineuse.....	5
I-6-Composition chimique des graines des légumineuses.....	6
I-7-Production mondiale des légumineuses.....	6
I-8-Conservation des légumineuses.....	7
I-9- Techniques de conservation.....	8
I-9-1- Application de froid.....	8
I-9-2- Application de la chaleur.....	9
I-9-3- Méthodes physiques.....	10
I-10-Effet de la conservation sur les composées biochimiques.....	10

Chapitre II : Le stress oxydant et le système antioxydant

II-1-Définition d'un radical libre.....	11
II-2-Espèces réactives d'oxygène.....	11
II-3- Origine des espèces réactives d'oxygène.....	12
II-3-1- Origine endogène.....	12
II-3-2-Origine exogène.....	14
II-4-Stress oxydatif.....	14
II-5-Effet du stress oxydant sur les molécules biologiques.....	15
II-5-1-Lipides.....	15

II-5-2-Protéines.....	16
II-5-3-Acide désoxyribonucléique (ADN).....	17
II-6--Rôle physiologique des radicaux libres.....	18
II-7- Antioxydants.....	18
II-7-1- Antioxydants enzymatiques.....	18
II-7-2- Antioxydants non enzymatiques.....	20

Chapitre III : Les composés phénoliques et caroténoïde

III-Composés phénoliques.....	21
III-1-Définition.....	21
III-2-Classification.....	21
III-2-1-Acides phénoliques.....	22
III-2-2-Flavonoïdes.....	23
III-2-2-1-Classification des flavonoïdes.....	24
III-3-Propriétés des composés phénoliques.....	27
III-4-Mécanisme d'action des composés phénoliques.....	28
IV-Caroténoïdes.....	28

Partie pratique

Matériel et méthodes

1-Echantillonnage.....	29
2-Cuisson.....	29
3-Taux d'humidité.....	30
4-Préparation des extraits	30
5-Dosage des antioxydants.....	30
5-1-Dosage des composés phénoliques.....	30
5-2-Dosage des Flavonoïdes.....	31
5-3-Dosage des Anthocyanines.....	31
5-4-Dosage des tannins condensés (proanthocyanidines).....	31
5-5-Dosage des caroténoïdes	32
6-Activité antioxydante.....	32

6-1-Pouvoir réducteur.....	32
6-2-Méthode de phosphomolybdate.....	33
6-3-Activité anti radicalaire DPPH.....	33
6-4-Inhibition du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	34
7-Analyse statistique.....	34

Résultats et discussion

I-Taux d'humidité.....	35
II-Teneurs en antioxydants.....	36
II-1-Composées phénoliques totaux	36
II-2-Flavonoïdes.....	38
II-3-Anthocyanines.....	40
II-4-Tannins condensés.....	41
II-5-Caroténoïdes.....	42
III-Activité antioxydants.....	43
III-1-Pouvoir réducteur.....	43
III-2-Méthode phosphomolybdate.....	45
III-3-Activité Activité anti radicalaire DPPH.....	46
III-4-Inhibition du peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	47
IV-Relation activité antioxydants/ antioxydant.....	49
V-Conclusion.....	51
Références bibliographiques.....	53

Annexes

*Synthèse
bibliographique*

Introduction

Introduction

L'oxygène indispensable à notre vie est capable de produire en grande quantité dans notre organisme des dérivés toxiques (dont les radicaux libres) qui induisent des modifications oxydatives au niveau des lipides, l'ADN et les protéines. À des degrés variables, ces dérivés sont impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, des complications du diabète ou encore des affections neurologiques dégénératives (Pincemail, 2007).

Face à la production permanente de ces radicaux libres, les organismes vivants sont doués de systèmes de défense qui les protègent des effets néfastes de ces espèces réactives. Lors d'un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydantes d'un organisme, un stress oxydant est engendré. Pour se protéger au mieux des radicaux libres, les systèmes antioxydants endogènes sont renforcés par de nombreux antioxydants alimentaires (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamine C et E, etc.) qui sont présents principalement dans les fruits et légumes (Favier, 2003).

Des études épidémiologiques ont largement montré que les aliments contenant les composants phytochimiques ayant un potentiel antioxydant ont des effets protecteurs sur les risques de nombreuses maladies telles que les cancers et les maladies cardio-vasculaires (Fokou, 2008).

Les légumineuses appartiennent aux plantes nutritionnelles qui sont généralement riches en composés phénoliques et possèdent une haute capacité antioxydante qui peut être salutaire dans la prévention de plusieurs maladies comme les maladies cardio-vasculaires (Amarowicz *et al.* 2010).

Le but de la conservation est de préserver les aliments une plus longue durée. Elle est rendue nécessaire par la détérioration des substances organiques, est indispensable pour couvrir les besoins alimentaires. Cependant elle a une influence négative sur la composition biochimique des aliments tel que les protéines, les glucides, et les lipides, notamment les légumes secs ce qui diminue leur valeur nutritionnelle (Schärer, 2010).

Dans ce contexte ce travail est réalisé et structuré en deux parties importantes :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres : le premier chapitre traite les légumineuses. Le second chapitre est consacré à l'étude du stress oxydant et les radicaux libres. Le troisième chapitre présente les composés phénoliques.

La deuxième partie est une étude expérimentale qui a pour objectif : l'étude de l'activité antioxydante de trois légumineuses cuites ; haricot blanc (sec et conserve), pois chiche (sec et conserve) et petit pois (sec, frais, congelé, conserve) largement consommées en Algérie selon les étapes suivantes :

- ❖ En première étape ; le dosage des différents antioxydants : polyphénols totaux, flavonoïdes, tannins et caroténoïdes.
- ❖ En deuxième étape ; l'évaluation de la capacité antioxydante (pouvoir réducteur, activité anti-radicalaire (DPPH), inhibition du peroxyde d'hydrogène et l'activité phosphomolybdate) des différents extraits.
- ❖ En troisième étape ; étude de la relation entre activité antioxydante/antioxydants.

*Chapitre I : Généralités
sur les légumineuses*

I-1-Historique :

Les légumineuses furent parmi les premières cultures vivrières réalisées par l'homme. Leurs histoires, en tant que plantes cultivées, remontent au Néolithique, lorsque l'homme passa de la chasse et de la cueillette à la production de ces aliments en adoptant un mode de vie basé sur la communauté villageoise de cultivateurs, qui le conduisit à son tour, étape par étape, à la civilisation urbaine (Aykroyd et Doughty, 1982).

Les migrations des populations, les guerres, et les échanges commerciaux permirent à certaines espèces (arachide, soja, pois, fève) de s'étendre à de nombreuses régions du globe, cependant, les légumineuses à graines ont connu une très forte régression notamment du fait de leur concurrence avec les céréales, mis à part les oléo-protéagineux (soja, arachide) (Neyra, 1992).

Comme les céréales, les légumineuses (légumes secs) sont consommées depuis des millénaires, dans le monde entier

Les différentes cultures des légumineuses, sur tous les continents, sont étroitement associées à l'histoire de l'humanité : les migrations, les traditions et la domestication. La production de légumineuse s'est accrue depuis la seconde guerre mondiale suite aux élevages industriels (alimentation animale) (Favier, 2012).

I-2-Généralités :

La famille botanique des légumineuses à graines est connue sous le nom *Fabaceae*, également dénommée *leguminosae* (Jezierny *et al.* 2010). C'est la famille la plus importante des dicotylédones. Elle regroupe 18,000 espèces classées en environ 650 genres (Duranti, 2006).

Les légumineuses à graines sont cultivées surtout pour leurs graines qui sont récoltées à maturité, et qui sont riches en protéines et en énergie. Les graines mures sèches de légumineuses sont utilisées soit comme ingrédients des aliments pour animaux soit pour la consommation humaine (Jezierny *et al.* 2010).

Les graines des légumineuses occupent une place importante dans l'alimentation humaine (Troszynska *et al.* 2002). Les légumineuses alimentaires constituent une source très importante de protéines végétales qui peuvent remplacer le déficit en protéines animales (Ben Mbarek *et al.* 2009). Des polysaccharides (fibres, amidon), et des micronutriments (vitamines, traces minérales). Les légumineuses sont aussi riches en composés non nutritifs (phytochimiques) (Broszynska *et al.* 2002).

I-3- Définition de quelques légumineuses :

I-3-1-Haricot :

Le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) est une plante herbacée annuelle. A la germination, la plante est généralement à racines pivotantes mais peu après des racines adventives longues de 10 à 15 cm se développent sur toute la racine principale. Il y a formation de deux feuilles opposées simples puis des feuilles trifoliées. Les fleurs sont portées en grappes axillaires et terminales. La couleur de la fleur est généralement indépendante de celle des graines (Diaw, 2002). Les graines contenues dans les gousses, de dimensions, de forme et de coloration variables. Fruit de cette plante, qui se mange soit en gousses, avant maturité des graines (haricot verts), soit en grains (flageolets, haricots secs) (Aubineau *et al.* 2002).

I-3-2-Pois chiche:

Le pois chiche (*Cicer arietinum*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Fabacées (ou légumineuses), c'est un pois de taille moyenne, rond et bosselé, de couleur beige et terminé en pointe (Aykroyd et Doughty, 1982).

Le pois chiche est une espèce dont le système radicalaire peut se développer dans les deux sens, latéral et pivotant, et qui peut dépasser un mètre de profondeur (Ben Mbarek *et al.* 2009). Il y a deux principaux types de pois chiche: le Desi et le pois chiche du Kabuli. Pois chiche Desi: la graine est petite avec un noir manteau de la graine irrégulier façonné et est grandie sur terre semi-aride. Pois chiche Kabuli (fèves Garbanzo) est plus grand que pois chiche du Desi, à un manteau de la graine clair et mince (Roy *et al.* 2010).

Le pois chiche du kabuli de plus grandes graines, meilleures propriétés de la compréhension de l'eau, temps de cuisson plus court, inférieur, fibre brute et plus haute valeur calorique que type du desi (Khattak *et al.* 2007).

I-3-3-Petits pois :

Le petit pois (*Pisum sativum*) est une plante annuelle, l'appareil souterrain est formé d'un système racinaire à pivot relativement peu développé et à racines secondaires, tertiaires et même quaternaires. L'appareil aérien est constitué d'une tige principale et de ramifications issues des bourgeons latéraux. La fleur est blanche, longue de 3 à 4 cm (Aubineau *et al.* 2002). Ces derniers donnent des gousses allongées et renflées, remplies de graines rondes, les pois sont récoltées soit jeunes ou mures (secs) (Couplan, 2011).

I-4-Classification botanique :

Les légumineuses (haricot, pois chiche, petit pois) appartiennent aux, Règne : plantae; Sous règne : Tracheobionta ; Division : Magnoliophyta ; Classe : Magnoliopsida ; Sous classe : Rosidea ; Ordre : Fabales ; Famille : Fabaceae. Il se diffère par leur genre : haricot appartient au genre *Phaseolus*, le pois chiche de genre *Cicer*, et le petit pois de genre *Pisum*.

I-5- Fixation de l'azote atmosphérique par les légumineuses :

L'azote est essentiel à la croissance des végétaux, notamment pour la synthèse des acides nucléiques et des protéines (Duc *et al.* 2010).

La plus grande partie de l'azote de la biosphère (79%) se trouve dans l'atmosphère. Mais, seul un nombre réduit de genres bactériens vivant librement ou en symbiose avec les plantes sont capables de réduire l'azote moléculaire de l'atmosphère (Bado, 2002).

Les légumineuses ou fabacées se caractérisent par leur capacité naturelle à fixer l'azote de l'atmosphère. Cette aptitude leur est conférée par les bactéries rhizobium (biovar *Viciae*, biovar *Phaseolus*) vivant en symbiose au niveau de leurs racines dans des organes appelés nodosités (Dequiedt, 2012).

La ressource énergétique carbonée nécessaire à cette réaction ainsi qu'à la vie de la bactérie est fournie par la plante. On parle de relation symbiotique (Duc *et al.* 2010).

I-6-Composés nutritionnels des graines des légumineuses :

Tableau I : Composition par portion comestible de 100g de graines entières mures séchées (Aykroyd et Doughty, 1982).

Composition Légumineuses	Protéines g/100g MS	Lipides g /100g MS	Glucides g/100g MS	Fibres alimentaires g/100g MS
Haricot commun	20,3	1,2	62,8	25,4
Pois chiche	19,4	5,6	60,9	25,6
Petit pois	22,2	1,4	60,1	16,7

I-7-Production mondiale des légumineuses :

Le Bassin méditerranéen couvre 54% des légumineuses produites dans le monde en 2005, ce qui représente un volume total de 668 000 tonnes. L'Algérie (17%) est le premier pays producteur mondial, devançant la Chine (11%) et le Maroc (10%). L'Espagne, avec 6%, se situe au 5^{ème} rang mondial (Tableau II) (Giove et Abis, 2007).

Tableau II : Production annuelle mondiale de légumineuses en 2005 (Giove et Abis, 2007).

Pays	Quantité de production (1000 tonnes)	(%)	Pays	Quantité de production (1000 tonnes)	(%)
Monde	1 232	100%	Turquie	40	3%
MED	668	54%	Syrie	38	3%
Algérie	208	17%	Portugal	30	2%
Chine	140	11%	Tunisie	27	2%
Maroc	123	10%	Japon	23	2%
Mexique	101	8%	Chili	21	2%
Espagne	76	6%	Equateur	17	1%
Pérou	62	5%	Liban	17	1%
Bolivie	55	4%	Jordanie	16	1%
Italie	54	4%	Suède	15	1%
Colombie	53	4%	Libye	15	1%

I-8- Conservation des légumineuses :

Sous les changements de climat, l'homme ne peut survivre sans conserver ses aliments. La conservation, rendue nécessaire par la détérioration des substances organiques, est indispensable pour couvrir les besoins alimentaires entre deux récoltes, voir pour éviter la famine durant des périodes où la production agricole, la cueillette et la chasse sont insuffisantes (Alimentation). Depuis la Préhistoire, de nombreuses méthodes de conservation sont connues.

La conservation des aliments consiste à réduire, voire à empêcher, l'activité des microorganismes par des moyens physiques ou chimiques. Les procédés chimiques comprennent le fumage, la fermentation, le salage et la mise en conserve (dans la graisse, l'huile, le vinaigre, le sucre ou le miel); les procédés physiques sont la cuisson pour condenser un liquide, le séchage, le refroidissement, la congélation et la stérilisation (Schärer, 2010).

Avec le développement des sciences physiques, biologiques et médicales, une meilleure compréhension du monde vivant et une amélioration du niveau de vie ont conduit l'être humain à développer ses méthodes de conservation et à en inventer de nouvelles, basées sur des principes scientifiques (Boumendjel, 2005).

I-9- Techniques de conservation :

I-9-1-Application de froid

➤ Réfrigération :

C'est le refroidissement par un moyen artificiel, d'un produit alimentaire, sans que soit atteint son point de congélation. La réfrigération tend à conserver les aliments dans un état très voisin de leur état initial en ralentissant les réactions chimiques et enzymatiques et en retardant la multiplication des microorganismes (Boumendjel, 2005).

➤ Congélation

La température des aliments est abaissée jusqu'à - 18°C. Les produits sont stabilisés en l'état et la durée de conservation varie de quelques semaines à quelques mois (Dézavelle, 2010).

➤ Surgélation

L'abaissement rapide de la température des aliments, jusqu'à - 40°C. En quelques secondes, favorise la stabilisation en l'état, sans altération des cellules pour une durée de conservation allant de quelques semaines à quelques mois, voir plus d'un an (Dézavelle, 2010).

I-9-2-Application de la chaleur**➤ Appertisation :**

Les aliments sont chauffés à + 100°C à + 140°C., en fonction de la nature des produits et du temps de chauffage. Les germes, les spores et les enzymes sont détruits, pour une conservation de longue durée, à l'abri de l'air et de la lumière (Dézavelle, 2010).

➤ Stérilisation :

A la maison comme à l'usine, on peut conserver des aliments de tous genres en les mettant en conserve, dans des boîtes en métal mais aussi en bouteille et en bocaux. En général, le procédé consiste à faire chauffer suffisamment longtemps des aliments (légumes, fruits, viandes et autres) dans des récipients hermétiquement clos à une température élevée de façon à détruire tous les organismes vivants. On a parfois recours au sel et au sucre dans le procédé (Lupien, 1996).

➤ Pasteurisation :

La pasteurisation est un traitement thermique à des températures comprises entre 60 et 100°C ayant pour but de détruire la totalité des micro-organismes pathogènes et d'allonger de façon significative la durée de conservation des aliments. C'est un procédé de conservation limité pour lequel le produit doit être conditionné et réfrigéré (le produit pasteurisé peut être en effet conservé à +4 °C de quelques jours à quelques semaines) (Chillet, 2010).

➤ Blanchiment :

Le blanchiment est un traitement thermique qui consiste à plonger les aliments dans de l'eau chauffée au voisinage de son point d'ébullition ou à les exposer à la vapeur, pendant quelques minutes. Les produits ainsi traités sont généralement des fruits ou des légumes avant la mise en conserve pour réduire la flore microbienne de surface et faciliter la mise en boîte ou avant la congélation pour inactiver les enzymes de l'aliment, préserver la couleur naturelle et faciliter l'ensachage du produit (Boumendjel, 2005).

➤ **Séchage et le fumage :**

Le séchage et le fumage sont des méthodes traditionnelles. Eliminer l'eau des aliments empêche ou réduit le développement des germes, sur ou dans ces aliments. Les organismes ainsi inhibés comprennent les moisissures productrices de toxines telles que l'aflatoxine, ainsi que des micro-organismes qui gâtent la nourriture et produisent des odeurs et un goût déplaisants. Les céréales séchées se conservent mieux, et le poisson séché reste comestible assez longtemps (Lupien, 1996).

I-9-3-Méthodes physiques :

➤ **Irradiation :**

L'ionisation (ou irradiation). Il s'agit d'une forme de stérilisation obtenue en soumettant les aliments aux rayons gamma, qui détruisent les micro-organismes, les spores de champignons. Les aliments sont ensuite mis sous vide et sont sains jusqu'à leur ouverture. Elle peut aussi être utilisée pour empêcher ou retarder la germination de certaines céréales, légumineuses ou autres graines, et permettre ainsi d'augmenter leur durée de conservation (Lupien, 1996).

I-10-Effet de la conservation sur les composées biochimiques :

Tableau III : Comparaison nutritionnelle à partir de l'analyse d'un aliment sec et en conserve (Wakshlag et Kallfelz, 2002).

	Aliment sec	Aliment en conserve
Protéine	32%	12%
Matière grasse	24%	10%
L'humidité	10%	72%
Fibre	3%	1%
Matière minéral	7%	2%

Chapitre II :
Le stress oxydant et le
système antioxydant

II-1- Définition d'un radical libre :

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. Il peut soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux ; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule (Garait, 2006).

II-2- Espèces réactives d'oxygène (ERO):

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (tableau IV) sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante [anion peroxyde (O_2^{2-}), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite ($ONOO^-$)] et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron célibataire ($-$) non apparié) [anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle ($HO^{\bullet}$), monoxyde d'azote ($NO^{\bullet}$)] (Belkheiri, 2010).

Tableau IV : Principales espèces réactives d'oxygène(ERO) (Haton, 2005).

Oxygène	3O_2
Oxygène singulet	1O_2
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	$HO^{\bullet}$
Radical hydroperoxyle	$HOO^{\bullet}$
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$
Hydroperoxyde	$ROOH$
Radical alcoxyle	$RO^{\bullet}$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	$NO^{\bullet}$
Peroxynitrique	$ONOO^-$
Hypochlorite	$ClO^{\bullet}$
Pouvoir oxydant : $OH^{\bullet} > RO^{\bullet} > HOO^{\bullet} > ROO^{\bullet} > NO^{\bullet}$	

II-3- Origine des espèces réactives d'oxygène (ERO) :

Il existe deux sources principales d'espèces réactives d'oxygène (ERO) soit endogène ou exogène (figure 1)

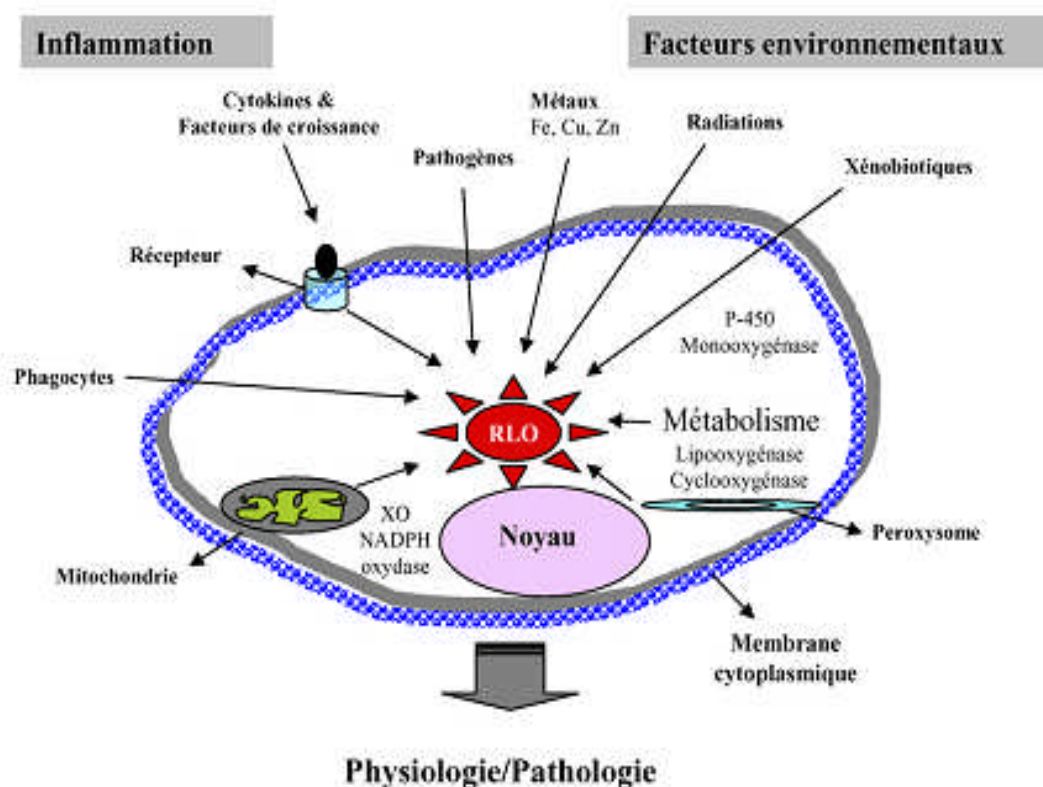


Figure1 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Afonso *et al.* 2007).

II-3-1-Origine endogène :

➤ Chaîne respiratoire :

La mitochondrie est la principale source de production d'ERO, en produisant l'anion superoxyde (Emre, 2007). L'anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$ joue un rôle capital dans la génération d'autres radicaux libres tels que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle $HO^{\bullet}$, et l'oxygène singlet 1O_2 (Hamadi, 2010).

➤ Peroxysome :

Le peroxysome est une source importante dans la production cellulaire de H_2O_2 car cet organelle contient de nombreuses enzymes générant du H_2O_2 (Servais, 2004).

➤ **Réticulum endoplasmique :**

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes (cytochrome P450) qui catalysent des réactions pour détoxifier les drogues liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques (Servais, 2004).

➤ **NADPH oxydases :**

Plusieurs types cellulaires dont les cellules endothéliales vasculaires, les cellules musculaires lisses, les fibroblastes, les polynucléaires, les neutrophiles et les macrophages possèdent la NADPH oxydase (NOX), enzyme membranaire spécialisée dans la production de $O_2^{\circ-}$ à partir d'électrons dérivés de la NAD(P)H pour réduire l'oxygène moléculaire (Yzydorczyk, 2011).

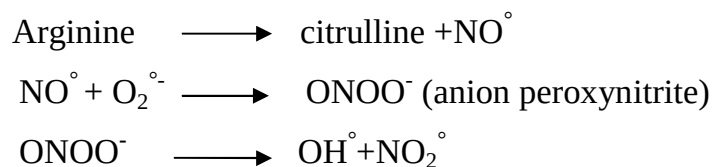
➤ **Xanthine oxydase:**

La xanthine oxydase est une enzyme soluble qui génère des ERO en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique (Harrison, 2002).

Cette enzyme est présente dans le sang, les cellules endothéliales des capillaires et de façon très importante dans le foie, et les intestins. La localisation cellulaire de la xanthine oxydase est principalement cytoplasmique. La production d'ERO par la xanthine oxydase est faible en condition basale, mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion (Servais, 2004).

➤ **Monoxyde d'azote synthétase :**

La NO synthase, et plus particulièrement dans le macrophage, transforme : (Emre, 2007)



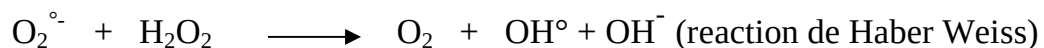
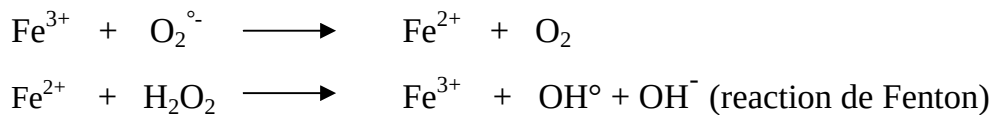
L'anion superoxyde est capable de réagir avec l'oxyde nitrique pour former le peroxynitrite (ONOO^-) qui est capable de donner par la suite des composés très toxiques comme le radical hydroxyle et le dioxyde nitrique (Hamadi, 2010).

II-3-2- Origine exogène:

L'environnement est une source de radicaux libres. Les sources d'exposition les plus fréquentes sont: les radiations, la pollution, le tabagisme, les rayons ultraviolets et les rayons X. Ces facteurs augmentent le métabolisme anormal mitochondrial et ainsi la production de radicaux libres dans l'organisme (Bonnefais, 2005).

❖ Métaux lourds :

En présence de fer ferreux, le peroxyde d'hydrogène se décompose en $\text{OH}^\cdot$ et OH^- selon les réactions ci-dessous (Koppenol, 2001).



II-4- Stress oxydatif :

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre les niveaux d'oxydants et antioxydants en faveur des oxydants (Yzydorczyk, 2011). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Massart, 2011).

Le terme de stress oxydant regroupe l'ensemble des altérations moléculaires et des manifestations pathologiques induites au sein d'un même organisme suite à une production accrue de radicaux libres et non contrecarrées par les systèmes de défense antioxydants (Kao *et al.* 2010).

II-5- Effet du stress oxydant sur les molécules biologiques :**II-5-1-Lipides :**

Les cibles des ERO sont principalement les acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de nombreuses doubles liaisons. Les réactions radicalaires sont à l'origine de la peroxydation lipidique qui se traduit *in vitro* par le rancissement (Auberval, 2010).

La plupart du temps, c'est l'OH⁻ qui initie le processus en subtilisant un hydrogène radicalaire sur la chaîne alkyle des acides gras (Paradis, 2010).

La peroxydation lipidique passe par trois étapes (figure 2).

Etape 1 : Initiation :

Consiste à l'arrachement par le radical libre d'un atome d'hydrogène d'un groupement méthylène (-CH₂) surtout s'il est adjacent à deux double liaisons. Le radical formé est stabilisé par résonance.

Etape 2 : propagation :

Débute lorsqu'une molécule d'O₂ attaque le radical acide gras (AGPI[•]) pour former un radical pyroxyde (AGPI-OO[•]) qui peut arracher un H[•] à un autre donneur RH et créer un nouveau radical, qui s'oxydera et ainsi de suite.

Etape 3 : terminaison :

Consiste à la recombinaison de deux radicaux pour former des composés plus ou moins stables (Belkheiri, 2010).

La peroxydation des lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonénal (4-HNE). Une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (Servais, 2004).

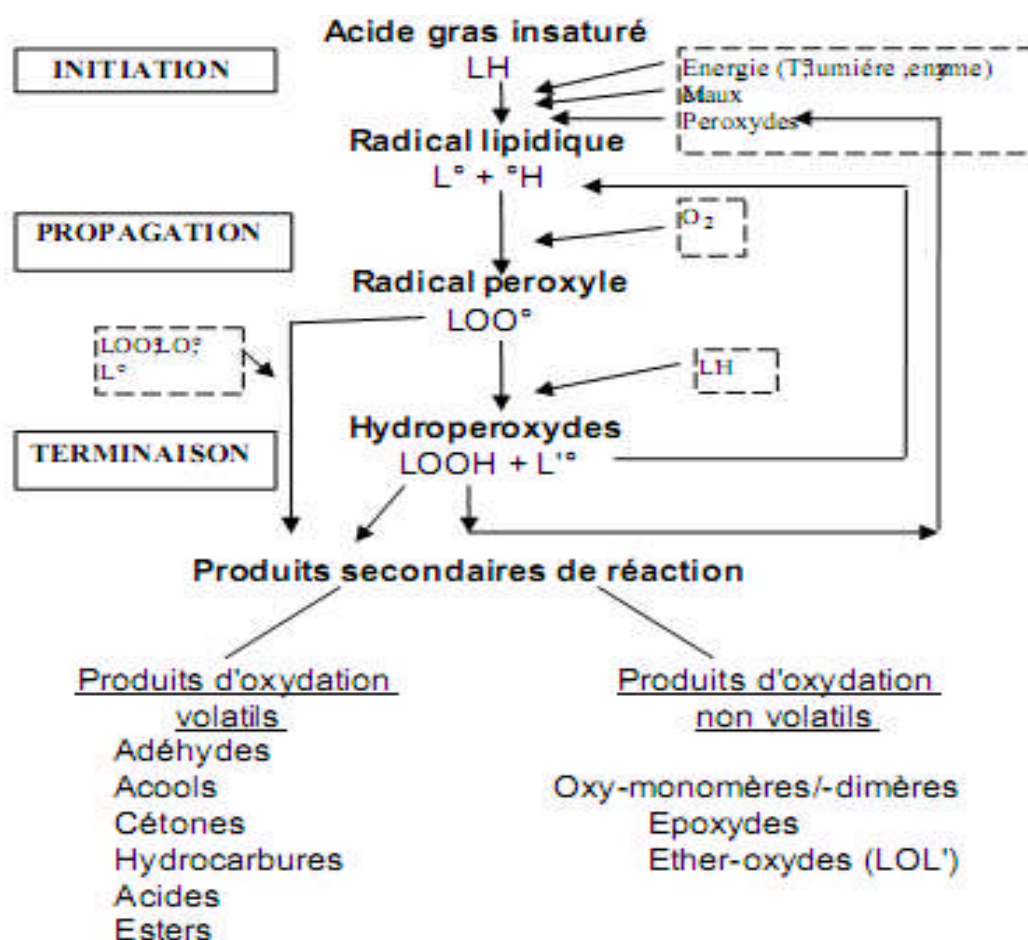


Figure 2: Oxydation des lipides (Eymard, 2003).

II-5-2-Protéines :

A cause de leur abondance dans l'organisme, les protéines sont une cible importante des ERO (Massart, 2011). Les ERO peuvent attaquer différents éléments des protéines comme leurs groupements sulfhydriles (SH), les tyrosines (la formation de la nitrotyrosine), dérivés carbonyles,. La formation de ponts disulfures additionnels, des changements dans l'activité enzymatique et des problèmes lors du transport membranaire sont quelques-unes des dysfonctions causées par l'oxydation des protéines (Roy, 2008).

Les dommages oxydatifs des acides aminés mènent à des modifications de la structure secondaire et tertiaire des protéines : dénaturation, fragmentation, formation d'agrégats (Gault, 2003).

II-5-3-Acide désoxyribonucléique (ADN) :

Il existe au sein de la cellule deux types d'ADN : l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les ERO du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire (Servais, 2004).

Cinq grands types de modifications résultent (figure 3) : les cassures de chaînes d'ADN, les modifications de la structure chimique des bases puriques et pyrimidiques (8-oxo guanine et 8-oxo adénine, 8-oxo adénine), la création de sites abasiques, la formation de pontages ADN-protéines, la formation d'adduits (adduit MDA-guanine) (Gault, 2003).

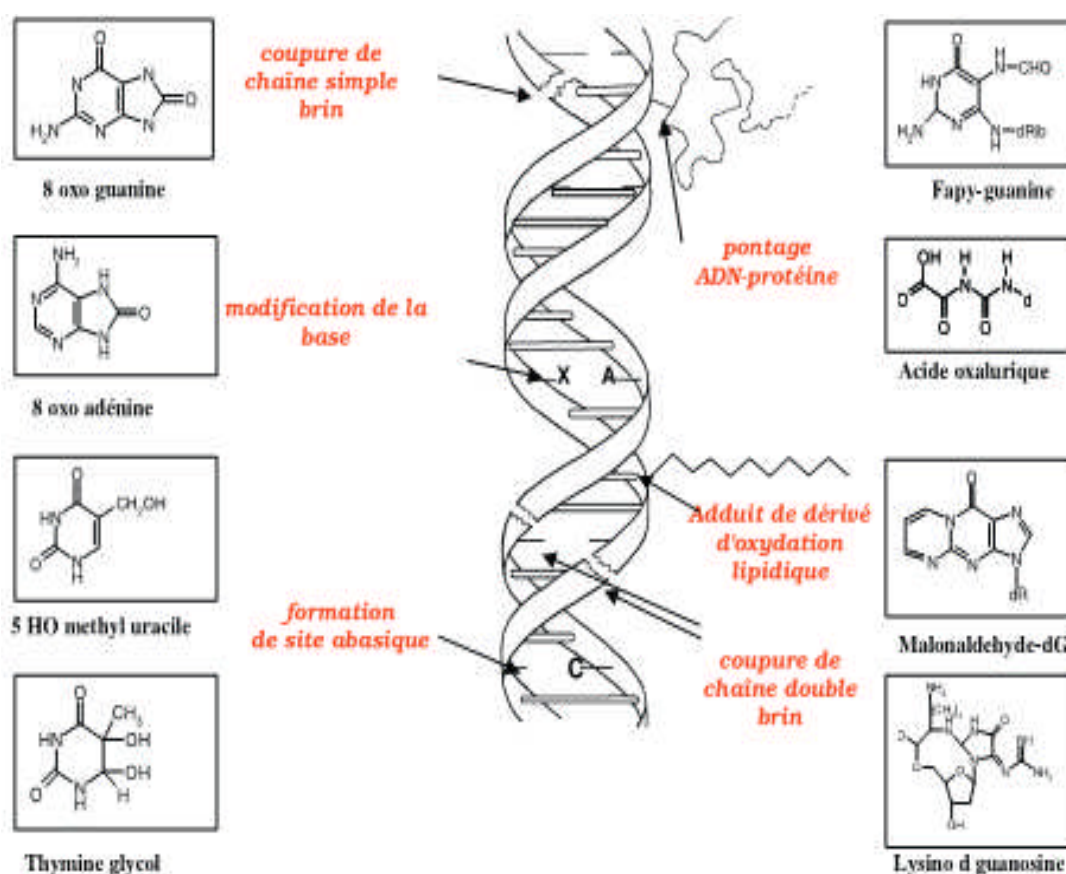


Figure 3 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003).

II-6- Rôle physiologique des radicaux libres :

Les ERO ont un rôle activateur sur les voies MAPK et NF- κ B et ce dans tout type cellulaire (Kehrer, 2000).

Ce rôle dans la signalisation est supporté par trois arguments. Tout d'abord, la fixation de tout ligand (cytokines, facteurs de croissance) sur son récepteur induit une faible production d'ERO, deuxièmement, l'ajout d'ERO ou de molécules pro-oxydantes induisent l'activation des voies MAPK/NF- κ B. Enfin, l'activation des voies de signalisation est diminuée ou même supprimée par des composés antioxydants (Emre, 2007).

II-7- Antioxydants :

Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production (Massart, 2011).

Les espèces réactives d'oxygène (ERO) peuvent être très néfastes pour l'organisme. Il existe donc un système de défense contre les ERO, soit les antioxydants qui peuvent être classifiés en deux catégories : les antioxydants non enzymatiques et les antioxydants enzymatiques (figure 4) (Roy, 2008).

II-7-1-Antioxydants enzymatiques :**➤ Superoxyde dismutase (SOD) :**

Superoxyde dismutase (SOD) éliminent les radicaux superoxydes par dismutation du radical en H_2O_2 (Sarvajeet et Narendra, 2010; Favier et Goudable, 1997).

Elles permettent d'éliminer les radicaux superoxydes mais provoquent l'apparition de peroxyde d'hydrogène diffusible et dangereux à distance. La synthèse des SOD subit un rétrocontrôle négatif par les fortes concentrations de peroxyde d'hydrogène (Favier et Goudable, 1997).

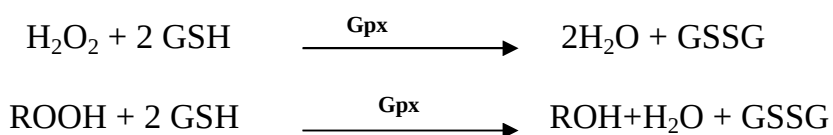
➤ **Catalase :**

La catalase est une enzyme métamérique qui catalyse la réduction de H_2O_2 en O_2 et H_2O (Yzydorczyk, 2011 ; Sarvajeet et Narendra, 2010). Présente en faible concentration dans de nombreux organes tels que le cerveau, cœur et muscle squelettique mais fortement concentrée dans le foie et les érythrocytes, l'activité de la catalase est localisée presque exclusivement dans les peroxysomes (riches en oxydases) (Yzydorczyk, 2011).

➤ **Glutathion peroxydase (Gpx) :**

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (Massart, 2011 ; Auberval, 2010 ; Belkheiri, 2010 ; Favier et Goudable, 1997), dépendante du sélénium et dont l'action permet d'éliminer le H_2O_2 produit, de mode à éviter sa participation comme prooxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique (Massart, 2011).

L'action des glutathions peroxydases (Gpx) dépendent aussi de la disponibilité en GSH, GR et en NADPH, ce qui démontre bien que le système antioxydant endogène agit en interdépendance (Massart, 2011).



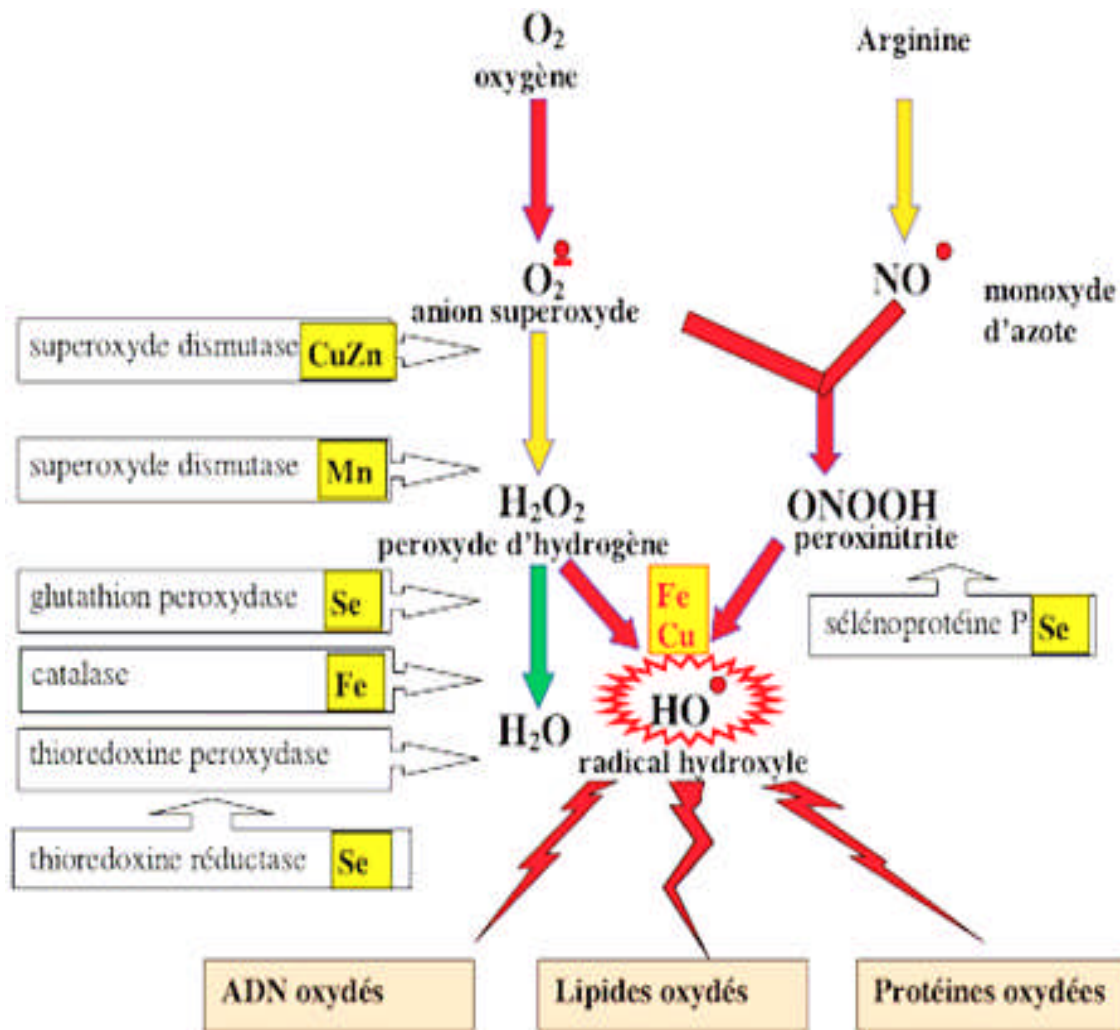


Figure 4 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003).

II-7-2- Antioxydants non enzymatiques :

Différentes molécules de faibles poids moléculaires, liposolubles ou hydrosolubles, possédant souvent un groupement thiol, contribuent à la complémentarité des défenses antioxydants de l'organisme. Les composés hydrosolubles sont principalement représentés par le glutathion, l'acide ascorbique (vitamine C), l'acide urique et la bilirubine tandis que les antioxydants liposolubles sont représentés principalement par la vitamine E et le coenzyme Q 10 . L'albumine et les protéines liant les métaux peuvent également avoir des effets antioxydants consistants (Yzydorczyk, 2011).

Chapitre III :
Composés phénoliques et
caroténoïdes

III-Composés phénoliques :

III-1- Définition :

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux lors du métabolisme secondaire pour se défendre contre les agressions environnementales. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes selon l'espèce végétale et le groupe polyphénolique considérés. Ces composés regroupent une multitude de molécules et représentent l'un des groupes les plus importants présents dans le règne végétal (Akroum, 2011).

Les composés phénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (figure 5). ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyl ester, glycoside, etc.). Il existe quatre grandes classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes et les lignanes (Leitao, 2011).

Ces phytophénoliques diététiques ont été reconnus pour une grande part comme antioxydants bénéfiques qui peuvent neutralisés les espèces réactives de l'oxygène :

$\text{HO}^\bullet$, H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$ et $^1\text{O}_2$ (Sakihama *et al.* 2002).

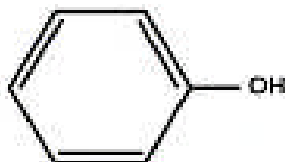


Figure 5 : Structure de base des composés phénoliques (Morrissey et Osbourn, 1999).

III-2-Classification :

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique.

Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou des acides organiques : de ce fait, on peut les retrouver très souvent présents sous ces formes (Chira *et al.* 2008).

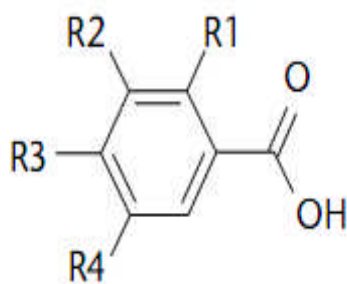
III-2-1-Acides phénoliques :

Le terme acide-phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant une fonction carboxylique et un groupe hydroxyle phénolique (Mokrini, 2006). Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques (C_6-C_1) (figure 6) et les acides hydroxycinnamiques (C_6-C_3) (figure 7) (Nkhili, 2009).

Les acides-phénols ne sont pas seulement connus pour leur activité antioxydante. Des études ont montré qu'ils présentent également des activités anti-inflammatoire et anti-carcinogène. Certains acides phénoliques, particulièrement l'acide caféique, exercent une activité anti-inflammatoire en inhibant de manière spécifique la synthèse des leucotriènes (Mokrini, 2006).

A- Les acides hydroxybenzoïques :

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C_6-C_1 (Figure 6), composée d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. On trouve l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique. Le principal composé est l'acide gallique (Chira *et al.*, 2008).



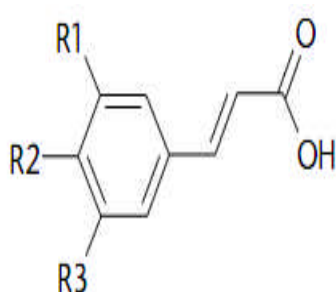
R1	R2	R3	R4	Le composé
H	H	H	H	Acide benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique

Figure 6: Structure des acides hydroxybenzoïques (Laguerre *et al.* 2007).

B- Acides hydroxycinnamiques :

Le squelette de base des acides hydroxycinnamiques (figure 7) est un noyau benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupements hydroxyles souvent estérifiés en esters d'alcool aliphatique. Les acides hydroxycinnamiques communs sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique (Chira *et al.* 2008).

Ils sont produits par des séries d'hydroxylation et de méthylation et ils s'accumulent souvent sous forme d'esters d'acide tartrique (Chira *et al.* 2008).



R1	R2	R3	Le composé
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH ₃	OH	H	Acide férulique
OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide sinapique

Figure 7: Structure de l'acides hydroxycinnamiques (Laguerre *et al.* 2007).

III-2-2-Flavonoïdes :

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Marfak, 2003).

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C₆-C₃-C₆ (figure 8), soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que

métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV (Chira *et al.* 2008).

Les flavonoïdes y compris flavones, les flavonols, flavanones, flavanonols, et anthocyanines (Lee *et al.* 2004).

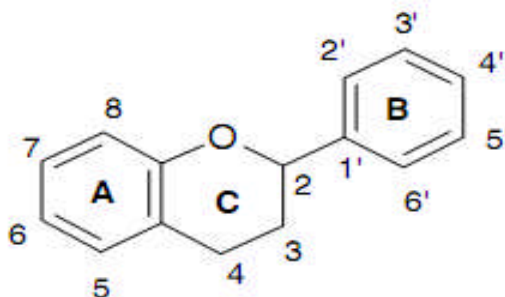


Figure 8 : Structure de base des flavonoïdes (Balasundram *et al.* 2006).

III-2-2-1-Classification des flavonoïdes :

➤ Flavones et flavonols :

Le cycle A de ces deux types de molécules (Figures 9,10) est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et en C7. Ces hydroxyles peuvent être libres ou estérifiés. D'autre part, le cycle B est substitué en C4' ou di-substitué en C3' et C4' par des groupements OH ou méthoxyles (OCH₃) (Akroum, 2011).

Les flavonols ont un rôle important dans la protection contre les UV. (Trrier *et al.* 2009). Ils se distinguent des flavones par la présence d'un groupement OH en position C-3 (Marfak, 2003).

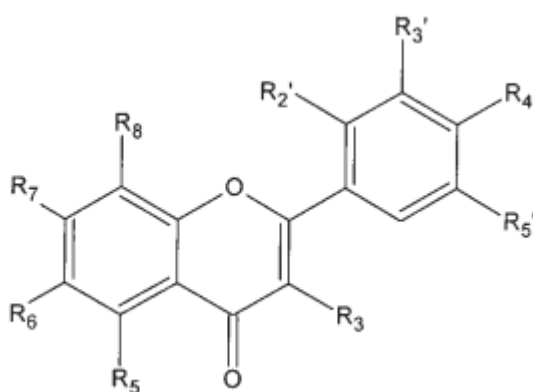


Figure 9: Structure de flavones (Boelens *et al.* 2001).

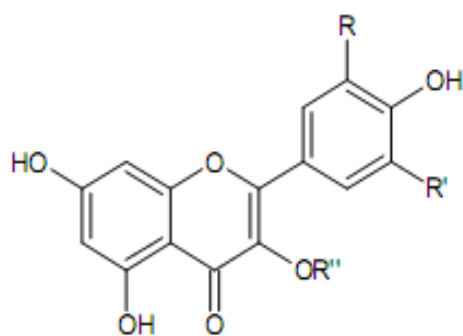


Figure 10 : Structure des flavonols (Roland, 2010)

➤ **Flavanones :**

Les flavanones ont une fonction cétone en C4, mais pas de double liaison C2=C3, ni de groupe –OH en C3. Cette structure brise la conjugaison des doubles liaisons entre les trois noyaux et affaiblit l'activité AOX (Tsumbu, 2012).

La structure des flavanones est très réactive ; ces composés peuvent subir des réactions d'hydroxylation, glycosylation et des réactions d'O-méthylation. Ils sont aussi appelés dihydroflavones (De La Rosa *et al.* 2010).

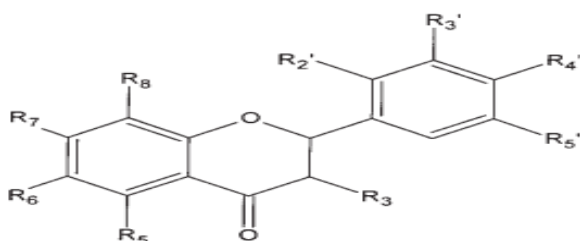


Figure 11 : Structure de flavanones (Nijveldt *et al.* 2001).

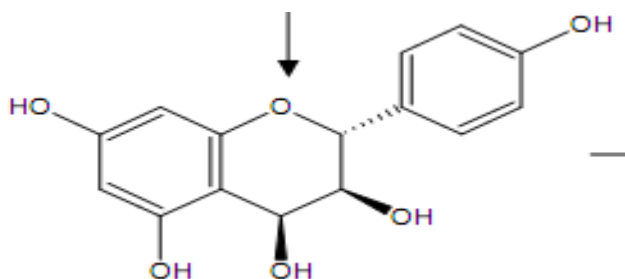


Figure 12: Structure de flavan-3,4-diols (Marfak, 2003).

➤ **Anthocyanines :**

Ces composés phénoliques se caractérisent par une génine comportant un noyau flavylum ou cation 2-phénylbenzo-pyrylium (Figure 13). Il s'agit de pigments existant sous forme d'hétérosides stables et hydrosolubles responsables de la coloration rouge, rose, mauve, pourpre, bleue ou violette de la plupart des fleurs et fruits (Derbel et Ghedira, 2005)

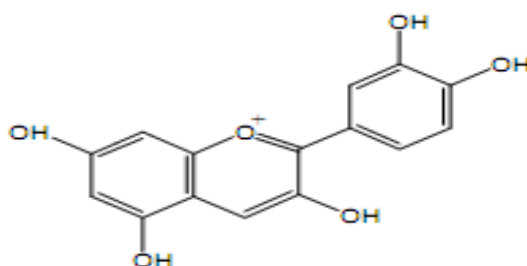


Figure 13: Structure des anthocyanines (Cyanidine) (Rauha, 2001).

➤ **Tannins :**

A-Tannins condensés :

Les tannins condensés (proanthocyanidines) sont des polymères de flavonols à trois anneaux reliés par des liaisons C-C (Figure 14) . Les monomères de tannins condensés peuvent être divisés en procyanidines (Adamczyk *et al.* 2008). Ils jouent un rôle dans la défense de la plante en s'accumulant dans de nombreux organes et tissus, assurant ainsi la protection contre la prédation (Gang, 2011).

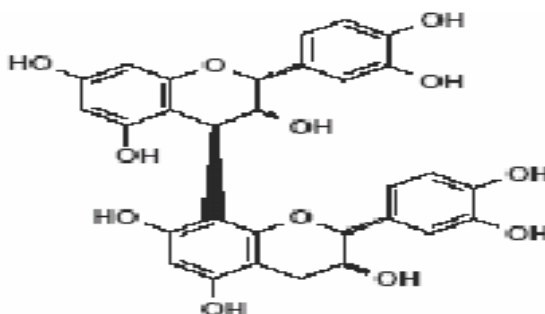


Figure 14: Structure des tannins condensés (Vattem *et al.* 2005).

B- Tannins hydrolysables :

Les tannins hydrolysables (galliques et ellagiques) sont formés par l'estérification entre la fonction acide de plusieurs molécules d'acides phénols et le -OH d'un ose qui est habituellement le glucose. Ce sont des polyphénols, mais ne font pas partie des flavonoïdes. Ils sont dits "galliques" s'ils portent comme acide phénol l'acide gallique (Figure 14), et "ellagiques" s'ils portent comme acide phénol l'acide hexahydroxydiphénique (Figure 15) (Tsumbu, 2012).

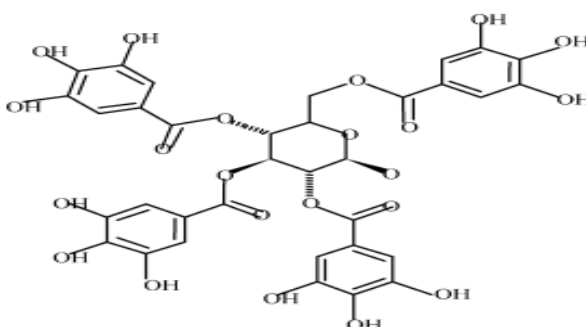


Figure15: Structure des tannins hydrolysables (Ellagitannin) (Krause *et al*, 2005).

III-3-Propriétés des composés phénoliques :

Les composés phénoliques ont longtemps été considérés comme n'ayant aucun rôle précis pour la plante. Cependant, sont importants, notamment pour la protection de la plante contre les rayons ultraviolets (UV). Une autre propriété intéressante des composés phénoliques, plus particulièrement ceux de la classe des flavonoïdes, est leur facilité à céder un électron (Boutour, 2011). Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Milane, 2004). Il a été montré qu'il existe une relation linéaire entre le pouvoir antioxydant des végétaux et la concentration en composés Phénoliques. Ce pouvoir antioxydant est imputable aux groupements hydroxyles des composés phénoliques (Boutour, 2011).

III-4-Mécanisme d'action des composés phénoliques:

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme "capteurs" de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme (figure16): cèdent formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton, pour donner un intermédiaire radical stabilisé de par ses structures mésomères conjuguées (Portes, 2008).

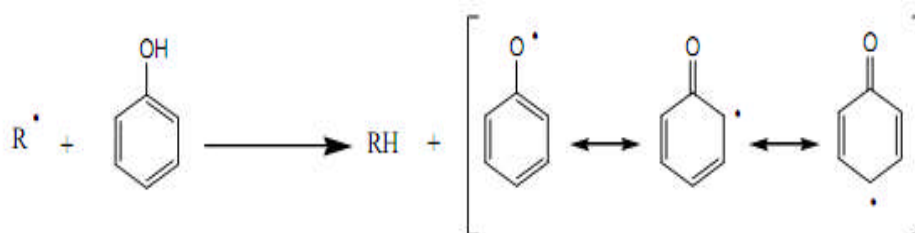


Figure 16: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (Portes, 2008).

VI- Caroténoïdes :

Le mot caroténoïde est dérivé du nom latin de la carotte (*Daucus carota*) d'où fut isolé pour la première fois le bêta caroténoïde le plus répandu de notre alimentation. Les caroténoïdes sont des pigments naturels responsables des colorations variant du jaune orangé au rouge violet d'un grand nombre de fruits et légumes. Elles jouent aussi un rôle important dans la prévention des maladies chroniques (Béliveau, 2009).

La capacité antioxydante des caroténoïdes telle que β -carotène et lycopène est dépendant de plusieurs facteurs, comme la structure des caroténoïdes plus spécialement la forme conjuguée, qui donne beaucoup de propriétés fondamentales à ces molécules. L'activité des caroténoïdes comme antioxydants est aussi dépendant sur leurs interactions avec d'autres antioxydants surtout la vitamine E et C (Yong et Lowe, 2001).

Partie pratique

Matériel et méthodes

1-Echantillonnage :

Trois légumineuses ont été sélectionnées pour la présente étude ; le haricot blanc (un échantillon à l'état sec (HB-sec) et l'autre sous forme de conserve (HB-cons)), le pois chiche (un échantillon à l'état sec (Pch-sec) et l'autre sous forme de conserve (Pch-cons)) et le petit pois (frais (PP-frais), sec (PP-sec), conserve (PP-cons) et congelé (PP-cong)) (tableau V).

Tableau V: Caractéristiques morphologiques des échantillons de légumineuses

Echantillon	Nom scientifique	caractéristiques
 Haricot	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Couleur blanche, un peu courbée de taille moyenne avec environ 15mm de longueur.le légume sec le plus consommé en Algérie.
 Pois-chiche	<i>Cicer arietinum</i> L.	C'est un pois de taille moyenne, rond et bosselé, de couleur beige et terminé en pointe. Il est très parfumé et conserve sa forme à la cuisson
 Petit-pois	<i>Pisum sativum</i> L.	Graine comestible, de forme ronde, enfermée dans une gousse ou cosse verte.

2-Cuisson :

Une quantité de 50 g de chaque échantillon est cuite par ébullition jusqu'à cuisson totale. Les échantillons secs (haricot sec, pois chiche sec et petit pois sec) ont subi un trempage pendant une nuit avant cuisson. Après la cuisson on a récupéré la pâte et l'eau de cuisson séparément.

Les pâtes des échantillons ainsi que leurs eaux de cuisson ont subi les mêmes protocoles d'extraction, de dosage des différents antioxydants ainsi que la mesure de l'activité antioxydante.

3-Taux d'humidité :

2 g de pâte ou 5 ml d'eau de cuisson de chaque échantillon est pesés dans un creuset et mis à l'étuve à 105°C pendant 24 heures jusqu'à stabilisation du poids.

Les résultats des taux d'humidité des différents échantillons sont exprimés en fonction de l'équation ci-dessous (Bergoin, 2005).

$$\text{Humidité (\%)} = (P_1 - P_2) * 100 / (P_1 - P_3)$$

P₁ : poids initial de l'échantillon et du creuset

P₂ : poids final de l'échantillon et du creuset après séchage

P₃ : poids du creuset vide

4-Préparation des extraits :

0,6g de pâte, 5ml d'eau de cuisson sont additionnées à 30 ml du solvant d'extraction solvant (éthanol 80%). Après agitation pendant 90 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique, L'extrait est récupéré par filtration après centrifugation à 5000 rpm pendant 10 minutes.

5-Dosage des antioxydants :

5-1- Dosage des composés phénoliques :

La teneur en polyphénols totaux des extraits est déterminée selon le protocole d'Abdil *et al.* (2005), 400 µl d'extrait dilué deux fois avec l'eau distillée sont mélangée avec 700 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au dixième 1/10). Après 3 min, 400 µl de la solution de carbonate de sodium (5%) sont ajoutées. Après incubation pendant 90 min à l'obscurité à température ambiante, les absorbance sont mesuré à 720 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions on utilisant l'acide gallique comme standard(mg équivalent acide gallique /100g De la matière sèche) (figure 1, annexe1).

5-2- Dosage des Flavonoïdes :

Les teneurs en flavonoïdes des extraits sont mesurés on suivant la méthode de Djeridane *et al.* (2006).750 µl de chlorure d'aluminium (2%) sont ajoutés à 750 µl d'extrait. Après incubation pendant 30 minutes à température ambiante, l'absorbance est effectuée à 420 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent de quercétine /100g de matière sèche (figure 2, annexe 1).

5-3-Dosage des Anthocyanines :

La teneur en anthocyanines est mesurée en suivant le protocole de Ganjewala et al. (2008) ; 800 µl d'extrait sont ajoutées à 800 µl de méthanol- HCL 0.1 N. Après incubation 10 minutes à température ambiante, l'absorbance est effectuée à 360 nm. Les résultats, exprimés en mg équivalent de cyanidine -3-glucoside par 100g de matière sèche (mg EC3G/100g MS), sont calculés en se référant à la formule:

$$C = \text{Abs} * (\text{M} * \text{FD} * 1000 / \epsilon * \text{L}) * 2 * \text{PEAT} / \text{MSPI}$$

Abs: Absorbance à 530nm **FD:** Facteur de dilution **L :** Trajet optique

MM : Masse molaire de la cyanidine-3-glucoside =464,4 g/mol

ε : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine -3-glucoside (ε=38 000 L. mol⁻¹cm⁻¹).

PEAT: Poids d'échantillon après trempage **MSPI :** Matière sèche dans le poids initial

5-4-Dosage des tannins condensés (proanthocyanidines) :

La méthode utilisée pour doser les proanthocyanidines est celle de Vermeris et Nicholson, (2006). Un volume de 250 µl de la solution [FeSO 4 + HCl-butanol (2:3)] à 0,5 ml de chaque extrait. Le mélange est incubé à 95°C pendant 15mn. L'absorbance est mesurée à 530nm.

Les résultats exprimés en mg équivalent de cyanidine /100 g de matière sèche (mg EC/100g MS), sont calculés selon la formule.

$$C = \text{Abs} * (\text{MM} * \text{FD} * 1000 / \epsilon * L) * 2 * \text{PIAT} / \text{MSPI}$$

Abs: Absorbance à 530 nm **MM:** Masse molaire de la cyanidine (287,24 g/mol)

FD: Facteur de dilution **L:** Trajet optique

ϵ : Coefficient d'extinction molaire de la cyanidine ($\epsilon=34\,700\text{ L. mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

PEAT: Poids d'échantillon après trempage **MSPI :** Matière sèche dans le poids initial

5-5- Dosage des Caroténoïdes :

La méthode appliquée pour l'extraction des caroténoïdes est celle décrite par Sass-Kiss *et al.* (2005). elle consiste à ajouter 20 ml de mélange du solvant d'extraction (hexane : acétone : éthanol) à raison de (2 :1 :1) à 1g de pate de chaque échantillon, le même volume est ajouté à 3g de chaque eaux de cuisson.

Après agitation pendant 30 min, la phase supérieure est récupérée. La teneur en caroténoïde est déterminée par la mesure de l'absorbance à 430 nm. Les concentrations en caroténoïdes sont déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions en utilisant β -carotène comme standard, les concentrations en caroténoïdes exprimées en mg équivalent de l'acide gallique /100g de la matière sèche (figure 3, annexe 1).

6- Activité antioxydante :

6-1-Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur des extraits des pates et des eaux de cuisson est déterminé selon le protocole d'Elmastas *et al.* (2007). Les extraits qui possèdent un potentiel réducteur réagissent avec le Ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) pour former le Ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}), qui réagit ensuite avec le Chlorure ferrique (FeCl_3) pour donner un complexe ferrique ferreux mesurable à 700 nm (Jayanthi et Lalitha, 2011).

La méthode est la suivante 1 ml d'extrait est additionné à 1 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 1 ml de ferricyanure de potassium (1%) ; 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange après incubation à 50 °C pendant 20 min. 1 ml du mélange est transféré dans un tube à essai et additionnée à 1 ml d'eau distillée et de 0,2 ml de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

Les résultats du pouvoir réducteur sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/100g de matière sèche (mg EAG/100g MS), par rapport à une courbe d'étalonnage (figure 4, annexe 1).

6-2- Méthodes de phosphomolybdate :

L'activité antioxydante des extrait est mesurée par la méthode phosphomolybdate on suivant le protocole de Meot-Duros et Magné, (2009), elle consiste a ajouté 1ml du réactif de phosphomolybdate (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium)à 100 µl d'extrait. Après 90 min d'incubation au bain marie à 95 °C, l'absorbance est mesurée à 695 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/100g de matière sèche (mg EAG/100g MS), par rapport à une courbe d'étalonnage (figure 5, annexe 1).

6-3- Activité anti radicalaire DPPH :

La mesure de l'activité scavenging du radical DPPH est effectuée on suivant le protocole d'Abdille *et al.* (2005), qui a suivi à son tour quelque modification, le principe est de prendre 1 ml de la solution de DPPH et lui ajouté 400 µl d'extrait. Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 517nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/100g de matière sèche (mg EAG/100g MS), par rapport à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions (figure 6, annexe 1).

6-4-Inhibition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :

La capacité des extraits à piéger le peroxyde d'hydrogène est déterminée par la méthode rapportée par Atmani *et al.* (2009). Les tubes ont été préparés par ajout de 1 ml de H₂O₂ à 1,5 ml d'extrait. Après incubation à température ambiante pendant 10 minutes. L'absorbance est mesurée à 230nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/100g de matière sèche (mg EAG/100g MS), par rapport à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions (figure 7, annexe 1).

7-Analyse statistique :

Les données représentent la moyenne de trois essais. La comparaison des résultats (Comparaison entre les pâtes des légumineuses cuites, comparaison entre les eaux de cuisson et entre l'état sec et conserve) est réalisée par l'analyse de la variance, ANOVA (STATISTICA 5.5) et le degré de signification des données est pris à la probabilité $P < 0,05$.

Résultats et discussion

I-Taux d'humidité

Des différences significatives ($p < 0,05$) existent entre les échantillons de pâtes et des eaux de cuissons de légumineuses analysées (figure N°17 et 18).

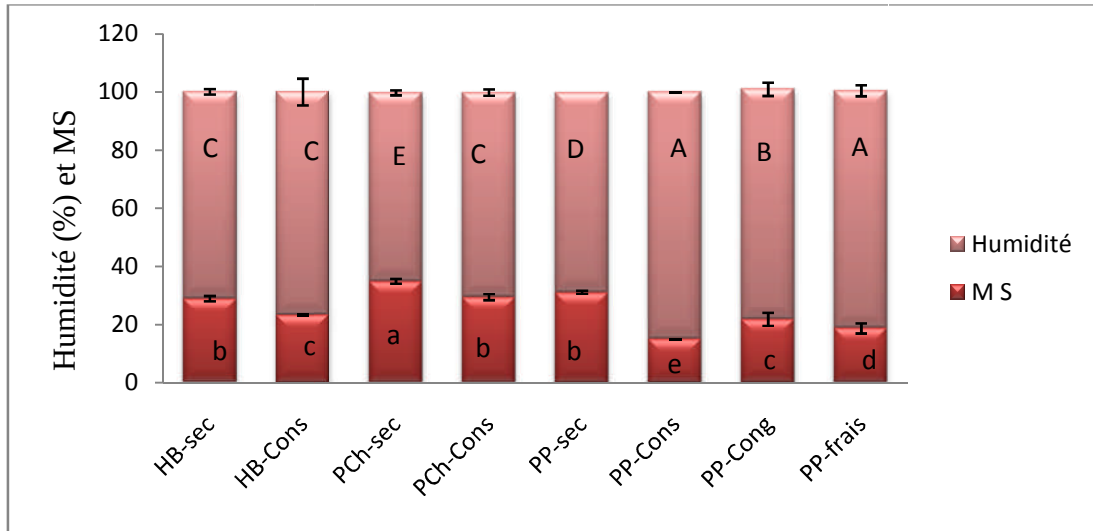


Figure 17 : Taux d'humidité des pâtes des échantillons des légumineuses cuites.

Comparaison entre les pâtes : $A > B > C > D > E$.

Comparaison entre les eaux de cuisson : $a > b > c > d > e$.

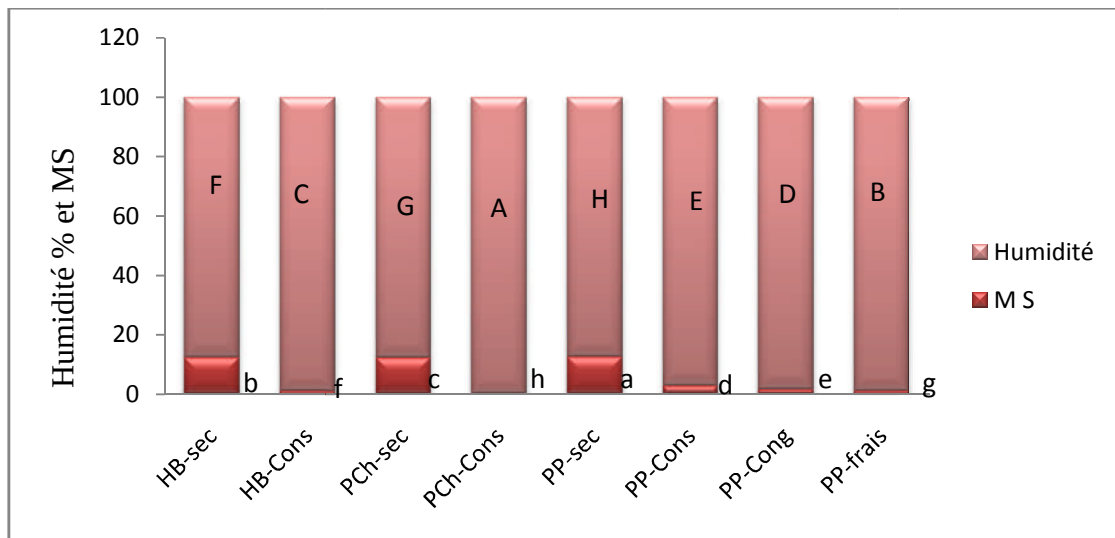


Figure 18 : Taux d'humidité des eaux de cuisson des légumineuses cuites.

Comparaison entre les pâtes : $A > B > C > D > E > F > G > H$.

Comparaison entre les eaux de cuisson : $a > b > c > d > e > f > g > h$.

Le test d'humidité effectué sur les pâtes des différents états des légumineuses montre un taux élevé de l'humidité, le petit pois conserve possède un taux de 85,08% suivi par le petit pois frais 81,31%, les autres pâtes ont des taux compris entre 64,85% et 79,16%.

Par ailleurs les eaux de cuisson possèdent des taux très élevés arrivant jusqu' à 99,74% pour le pois chiche conserve, le haricot blanc conserve. Le petit pois congelé et frais ont des valeurs proches environ 98%, suivi par le petit pois conserve 97,17%, et en dernier lieu les échantillons à l'état sec possèdent des taux similaires (87,60%) à $p < 0,05$

II-Teneurs en antioxydants

II-1-Composés phénolique totaux

La structure biochimique des polyphénols est à l'origine d'une grande diversité de leurs propriétés (propriétés red-ox, aptitude remarquable à chélater les métaux, pouvoir absorbant dans l'ultra-violet et le visible) et par là-même, de leurs multiples fonctions (Brzozowska et Hanower, 1976).

Pour tous les échantillons analysés, les teneurs en composés phénoliques totaux des pâtes de légumineuses sont supérieures que celle des eaux de cuisson ($p < 0,05$) (figure 19).

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits de pâtes des différents échantillons analysés présentent des différences significatives ($p < 0,05$). La teneur la plus élevée (452,28mg EAG /100g MS) est obtenue avec la pâte de l'échantillon de petit pois frais suivi par celles du petit pois sec (363,16mg EAG /100g MS), petit pois congelé (334,19mg EAG/100 g MS), haricot blanc sec (318,14mg EAG /100 g MS), pois chiche sec (286,38mg EAG /100 g MS) et pois chiche conserve (146,69mg EAG /100 g MS). Le petit pois conserve et haricot blanc conserve présentent une différence non significative (120mg EAG/100 g MS) à $p < 0,05$.

Les teneurs en composés phénolique des extraits des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses présentent des différences significatives ($p < 0,05$), L'eau de cuisson de petit pois sec a la teneur la plus élevée en composés phénoliques (247,46 mg EAG/100g MS), suivi par celles d'haricot blanc conserve (114,10 mg EAG/100g MS),

petit pois frais (84,70 mg EAG/100g MS), petit pois congelé et haricot blanc sec (59,21mg et 56,05 mg EAG/100g MS), le pois chiche sec et conserve, petit pois conserve avec des teneurs de 35,22 mg EAG/100g MS ; 47,85 mg EAG/100g MS ; 39,11 mg EAG/100g MS respectivement.

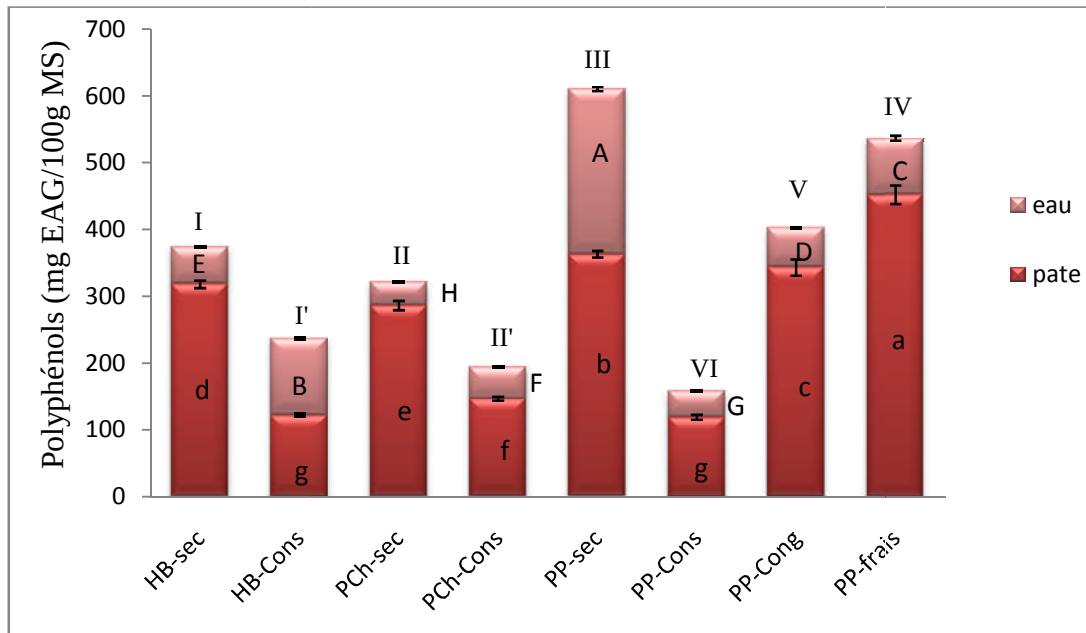


Figure 19 : Teneurs en polyphénols totaux des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G>H: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e>f>g: Comparaison entre les pâtes.

I> I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Les légumineuses à l'état sec (haricot, pois chiche) présentent des teneurs en composés phénoliques supérieures que celles des échantillons conserves, également pour les petit pois c'est l'état sec le plus riche, suivi par le petit pois frais, congelé et enfin le conserve ($p<0,05$).

Turkmen *et al.* (2005) ont rapporté que l'haricot blanc et petit pois sec possèdent les quantités suivantes en composés phénoliques : 380,57 mg EAG / 100g MS et 200,97mg EAG /100g MS respectivement. Ces résultats sont proches de ceux obtenus dans la présente étude. Cependant, La teneur en composés phénoliques totaux de pois chiche est inférieure à celle obtenue par Khattak *et al.* (2007) (938.85 mg/100g MS).

Selon Anton *et al.* (2008), la teneur en composés phénoliques totaux d'haricot blanc sec est de 333mg EAG / 100g MS, qui est proche de celle obtenue dans ce travail (318,14mg EAG / 100g MS), alors que les résultats obtenus par Verghese et Ogutu, (2008) ; Mujica *et al.* (2009) sont supérieurs, qui sont environ (501 mg EAG/100g MS).

Nithiyanantham *et al.* (2012), ont rapporté que les teneurs en composés phénolique totaux de petit pois sec (18,59 mg EAT/g) et pois chiche sec (19,42 mg EAT/g) sont largement supérieurs à celles obtenue dans ce travail est sa due à l'utilisation des standards différents, et la différence de l'origine des échantillons.

Le niveau de composés phénoliques dans les sources végétales dépend des facteurs tels que les techniques culturales, les cultivars, les conditions de croissance, processus de maturation, ainsi que le traitement et les conditions de stockage (Naczek *et al.*, 2006 ; Bouzid *et al.*, 2011).

II-2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont généralement présents sous formes glycosylées dans les végétaux, et la partie osidique est un facteur important dans la détermination de leur biodisponibilité (Mandalari *et al.* 2007). Ces composés sont capables de métaboliser l'oxyde nitrique ou de stopper l'action de radicaux tels que l'anion superoxyde (Fiorucci, 2006).

D'après les résultats obtenues du dosage des flavonoïdes, on constate que les extraits des pâtes et des eaux de cuisson présentent des différences significative ($p < 0,05$) (figure 20). La concentration de ces derniers est plus abondante dans la pâte de petit pois congelée (279,30mg EQ/ 100g MS). Le haricot blanc conserve et le petit pois conserve ont des teneurs égales (92,50mg EQ/ 100g MS) à $p < 0,05$ suivi de pois chiche conserve (74,27mg EQ/ 100g MS), petit pois frais (65,71mg EQ/ 100g MS), haricot blanc sec (46,90mg EQ/ 100g MS), pois chiche sec (34,88mg EQ/ 100g MS), et petit pois sec (19,78mg EQ/ 100g MS).

Par ailleurs, les eaux de cuisson présentent de faibles concentrations en flavonoïdes par rapport aux pâtes, elles varient de 0,57mg (pois chiche conserve) à (38,54m EQ/ 100g MS (haricot blanc conserve).

La teneur en flavonoïdes est plus importante dans les échantillons conserves par rapport aux échantillons secs (haricot blanc, pois chiche), pour le petit pois la teneur la plus élevée en flavonoïdes est enregistrée avec l'échantillon congelé, suivi du conserve, le frais et en dernier l'échantillon sec.

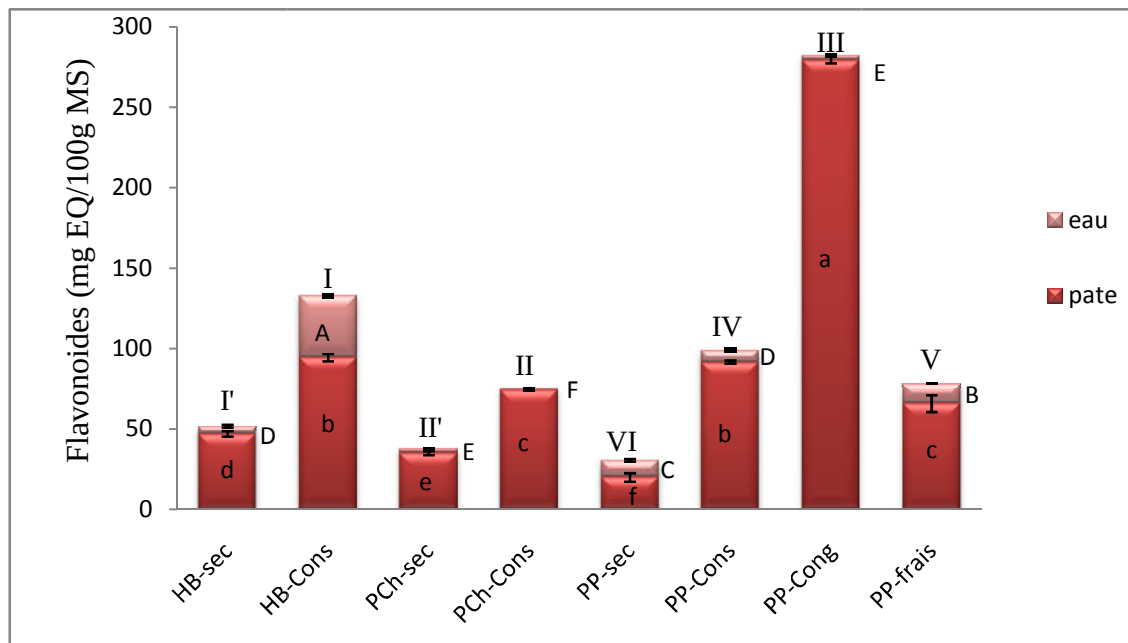


Figure 20 : Teneurs en flavonoïdes des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G>H: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e>f>g: Comparaison entre les pâtes.

I> I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Akillioglu et Karakaya, (2009), ont obtenu une teneur en flavonoïdes d'haricot blanc sec de 46,86mg EQ/ 100g MS qui est équivalente à celle obtenue dans la présente étude. Par contre Verghese et Ogutu, (2008), ont obtenu des résultats largement supérieurs (835mg EAG/100g MS).

Les résultats obtenus sur le pois chiche par Campos *et al.* (2013), sont similaires à celle qu'on a trouvée (34,88 mg EQ/ 100g MS). Concernant le petit pois sec, nos résultats

sont inférieurs à ceux rapportés par Kalogeropoulos *et al.* (2010) ; Nithiyanantham *et al.* (2012) (844mg/100g MS).

II-3-Anthocyanines

Les anthocyanines sont largement présentes dans le règne végétal, principalement sous formes de glycosides, ils sont responsables des couleurs rouges, bleues et violettes. Ces composés sont impliqués dans la protection des plantes contre les excès de rayons solaires. Les anthocyanines sont aussi capables de former des conjugués avec les acides hydroxycinnamiques et les acides organiques (Chira *et al.* 2008).

Le test LSD montre des différences significatives ($P < 0,05$) entre les échantillons des pâtes et des eaux de cuisson (figure 21). Pour les pâtes, la teneur la plus élevée est obtenue avec le petit pois frais (119,84mg EC3G/100g MS) alors que les conserves présentent les teneurs les plus faibles.

Pour les eaux de cuisson, la teneur la plus élevée est obtenue avec l'haricot blanc conserve 10,26mg EC3G/100g MS, alors que le pois chiche conserves présentent la teneur la plus faible.

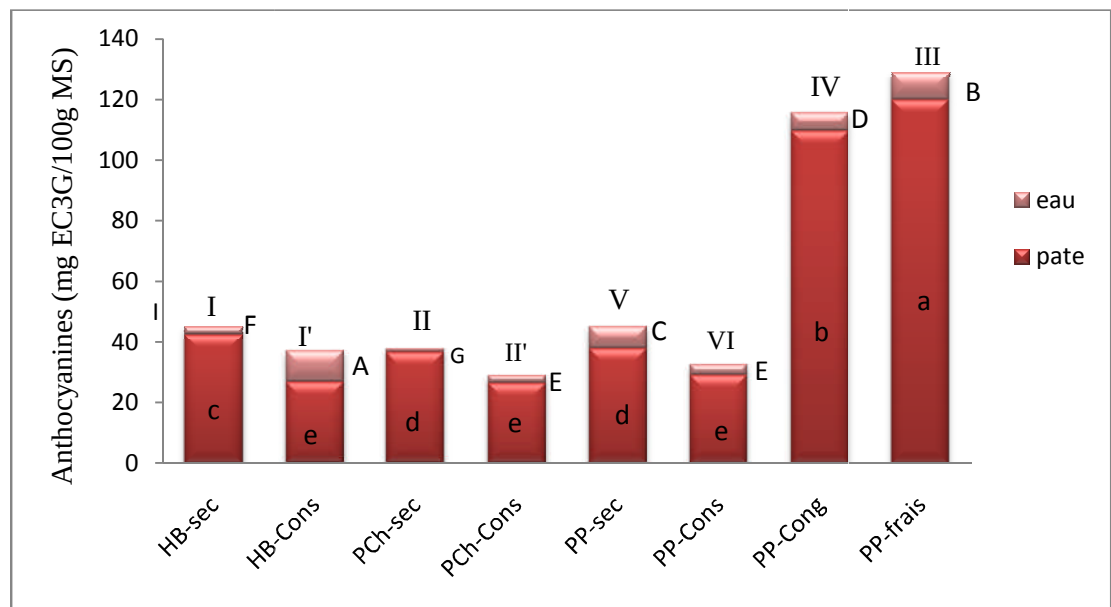


Figure 21 : Teneurs en anthocyanines des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

$A > B > C > D > E > F > G$: Comparaison entre les eaux de cuisson.

$a > b > c > d > e$: Comparaison entre les pâtes.

$I > I', II > II', III > IV > V > VI$: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Lin *et al.* (2008) ont rapporté que le haricot blanc sec est riche en anthocyanines (274,51mg EC3G /100g MS), contrairement au résultat obtenu dans ce présent travail qui est de 42,55mg EC3G /100g MS.

II-4-Tannins condensés

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones. Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (Akroum, 2010).

L'étude statistique montre que la concentration des tannins dans les pates sont significativement différentes à $p < 0,05$ (figure 22), la teneur en tannins est majeure dans le petit pois sec (59,55mg EC/100g MS), alors que le pois chiche présente la teneur la plus faible (1, 24mg EC /100g MS),

Les concentrations en tannins condensés dans les eaux de cuisson sont significativement différentes et comprises entre 7,35mg EC/100g MS (petit pois sec) et 0,47mg EC /100g MS (pois chiche sec).

Les tannins présentent des concentrations similaires dans l'haricot blanc sec et conserve, pour le pois chiche l'état sec est plus riche en tannins que l'état conserve, pour le petit pois l'ordre est : sec > frais > conserve > congelé.

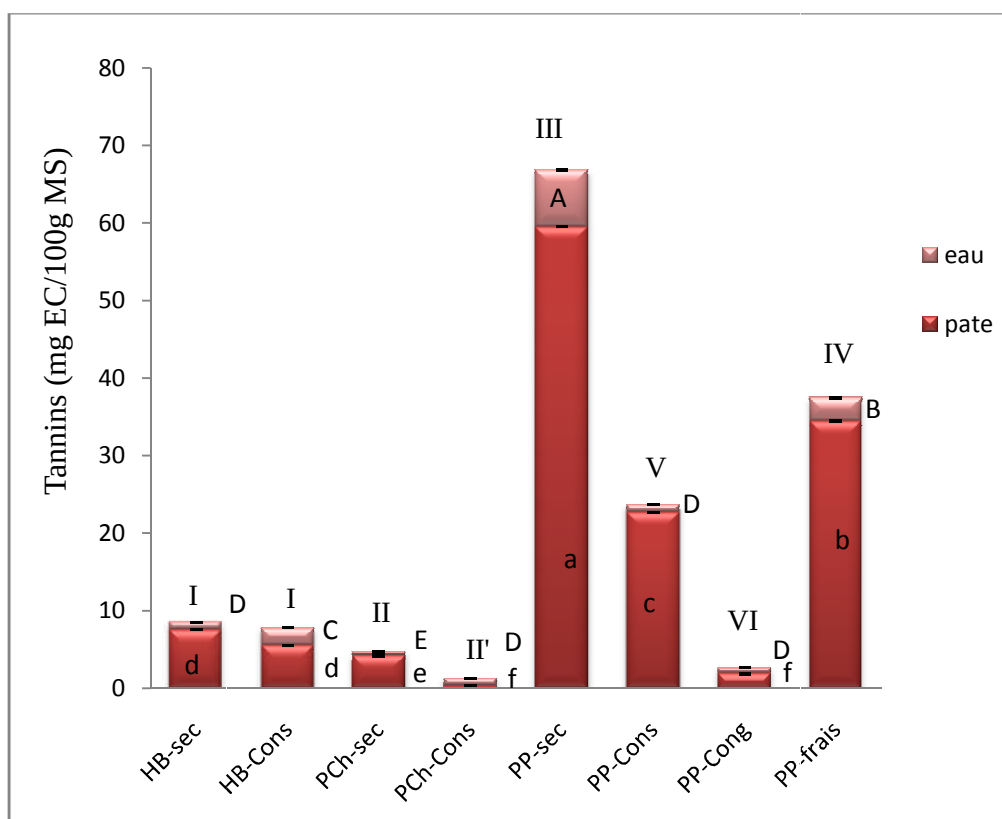


Figure 22: Teneurs en tannins des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

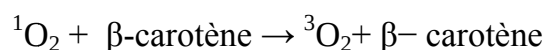
A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I>I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

II-5-Caroténoïdes

Les caroténoïdes, comme de nombre antioxydants, exercent une activité antioxydante par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes distincts (piégeur d'oxygène singulet). Ce dernier mode d'action s'exerce par la désactivation de $^1\text{O}_2$ en $^3\text{O}_2$ (Laguerre *et al.* 2007).



L'étude statistique indique qu'il existe des différences significatives ($p < 0,05$) entre les teneurs en caroténoïdes des pâtes des différents échantillons de légumineuses étudiées (figure 23). La teneur la plus élevée est obtenue dans la pâte de petit pois congelés (5,19mg E β -C/100g MS), alors que dans le pois chiche sec la teneur est faible (1,45mg E β -C/100g MS), les caroténoïdes existent dans les autres pâtes avec des

valeurs infimes allant de 0,13mg E β -C/100g MS (petit pois sec) à 0,62mg E β -C/100g MS (haricot blanc sec).

Des teneurs infimes en caroténoïdes sont enregistrées dans les eaux de cuisson, la concentration la plus élevée est détectée dans les eaux de cuisson des petit pois frais (0,94mg E β -C/100g MS),viennent par la suite le petit pois congelé (0,71mg E β -C/100g MS), haricot blanc conserve(0,33mg E β -C/100g MS), petit pois sec(0,31mg E β -C/100g MS), et en dernier lieu le petit pois congelé, le pois chiche conserve, le haricot blanc sec et le pois chiche sec qui ont des valeurs négligeables.

Les deux échantillons (sec et conserve) de l'haricot blanc possèdent des teneurs similaire en caroténoïdes ($p < 0,05$). Concernant le pois chiche on remarque que le sec est plus riche par rapport à la conserve. Les caroténoïdes sont majoritaires dans le petit pois congelé, le pois chiche conserve, le haricot blanc sec et le pois chiche sec qui ont des valeurs négligeables.

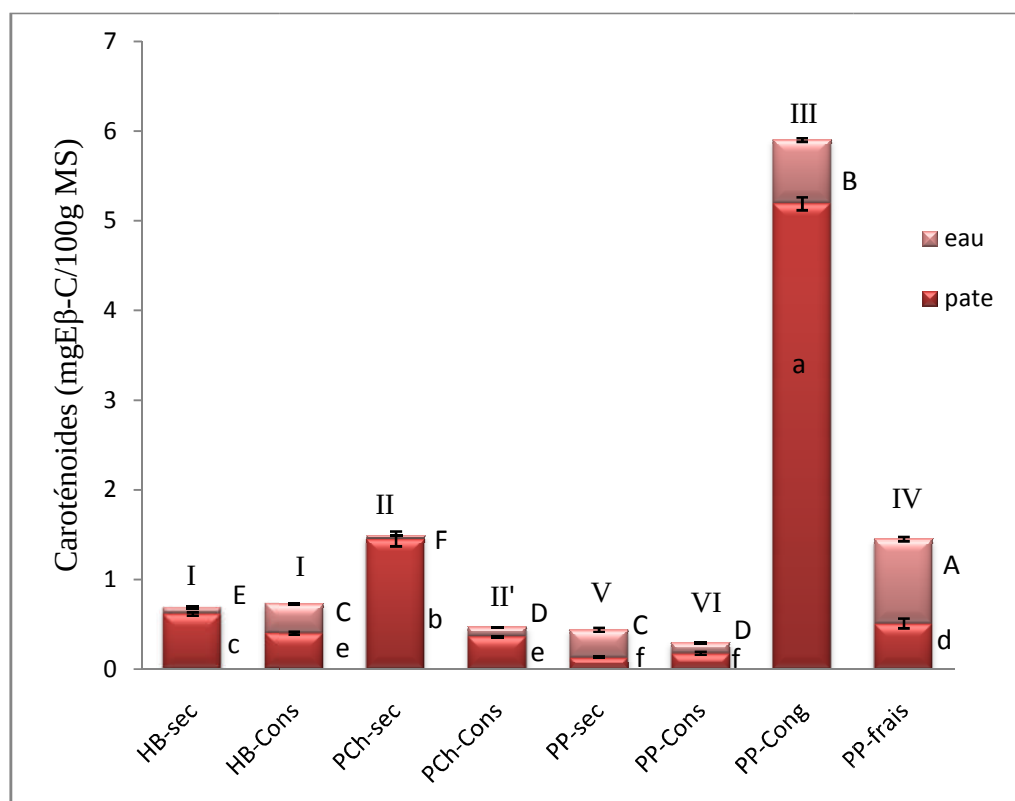


Figure 23 : Teneurs en des caroténoïdes pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I>I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Ruiz-Rodriguez *et al.* (2008). Ont rapporté que la teneur en caroténoïdes de l'haricot blanc sec est de 1,8mg E β -C/100g MS qui est supérieure à celle obtenue (0,62mg E β -C/100g MS) dans la présente étude.

III-Activité antioxydants

III-1-Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude de l'extrait à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure en fer ferreux, cette réduction donne une couleur verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait a étudié (Yildirim *et al.* 2001).

Les pates des échantillons de légumineuses présentent un pouvoir réducteur significativement élevé par rapport aux eaux de cuisson ($p < 0,05$) (figure 24).

pour les pâtes, les résultats exprimés en équivalent d'acide gallique par 100g de MS sont d'environ 292,77mg (petit pois frais), 250,15mg EAG/100g MS (petit pois congelé), 149mg EAG/100g MS (haricot blanc sec), 120,77mg EAG/100g MS (petits pois sec) , pois chiche sec et conserve, petit pois conserve ont des valeurs similaires (90,50mg EAG/100g MS), et 47,20mg EAG/100g MS (haricot blanc conserve).

À l'égard des eaux de cuisson, les valeurs du pouvoir réducteur exprimées en mg EAG/100g MS sont : haricot blanc conserve 85,76 mg, petit pois frais 62,66mg, petit pois sec 40,24 mg, les extraits de petit pois conserve, haricot blanc sec , pois chiche sec ont des valeurs similaires ($p < 0,05$) environ 14,25mg, et en dernier pois chiche conserve 8,46mg.

Le pouvoir réducteur des échantillons secs est plus élevé que celui des échantillons conserves pour les deux échantillons (haricot blanc et le pois chiche), le petit pois frais présente un pouvoir réducteur élevé, suivi par petit pois congelé, petit pois sec et en dernier lieu le petit pois conserve.

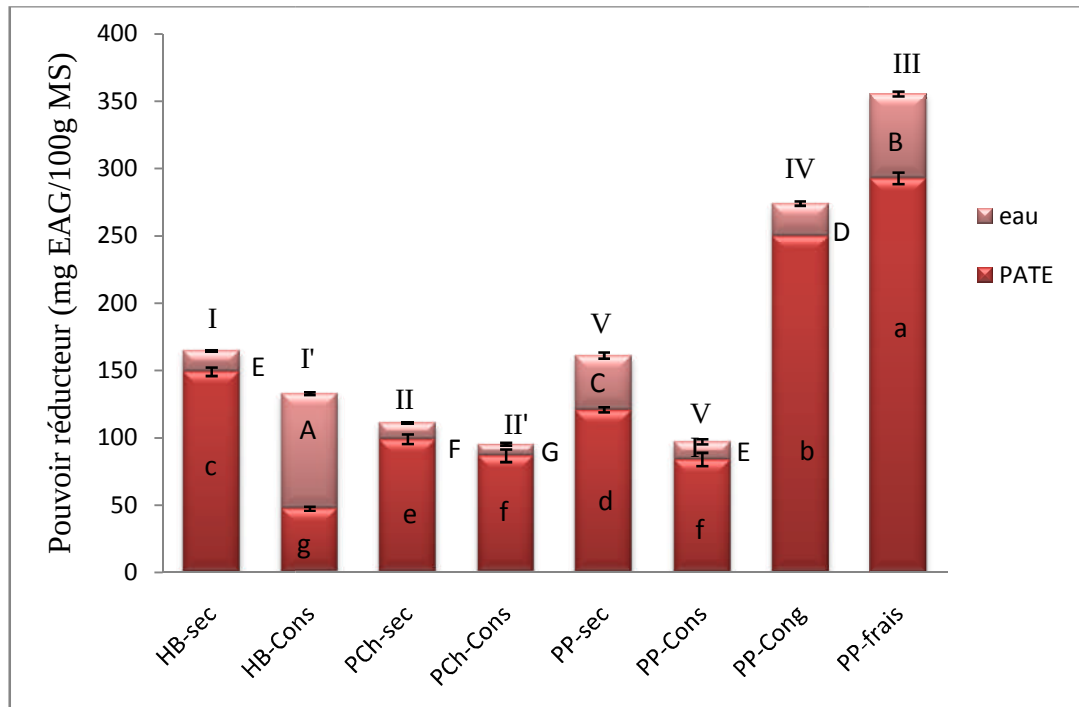


Figure 24 : Pouvoir réducteur des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I> I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

III-2-La méthode phosphomolybdate :

L'étude statistique révèle qu'il existe une différence significative entre l'activité des extraits des pâtes des différents échantillons (figure 25), en effet, les résultats sont exprimés en ce référant à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique par 100mg de MS.

L'activité des extraits été varie entre 827,32mg EAG/100g MS (petit pois frais) et 124,55mg EAG/100g MS (pois chiche conserve).

L'activité des eaux de cuisson est faible comprise entre 53,03mg EAG/100g MS (haricot blanc conserve) et 6,52mg EAG/100g MS (pois chiche sec).

Les résultats indiquent que l'activité phosphomolybdate est la même pour le haricot blanc sec et conserve, alors que le pois chiche, l'activité de l'échantillon sec est presque deux fois plus élevée que l'échantillon conserve, pour le petit pois l'activité suit l'ordre décroissant suivant : petit pois frais < petit pois congelé < petit pois sec < petit pois conserve.

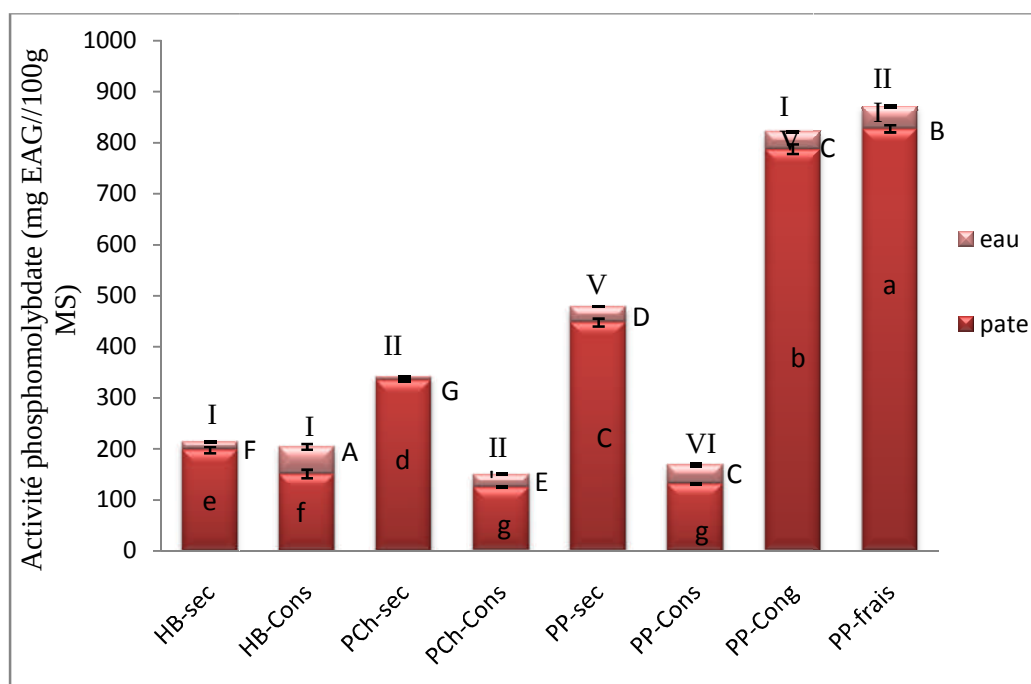


Figure 25 : Activité phosphomolybdate des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I, II>II',III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

3-3-L'activité scavenging du radical DPPH

Le 1,1-Diphényl-2-Picryl-Hydrazyl (DPPH) est un radical libre stable centré sur l'azote, dont la couleur change du violet au jaune après réduction par le processus de donation, soit d'hydrogène ou bien d'électron (Hinneburg *et al.* 2006).

L'étude de l'activité scavenging du radical DPPH selon le protocole d'Abdille *et al.* (2005), nous a fourni les résultats exprimés dans la figure suivante.

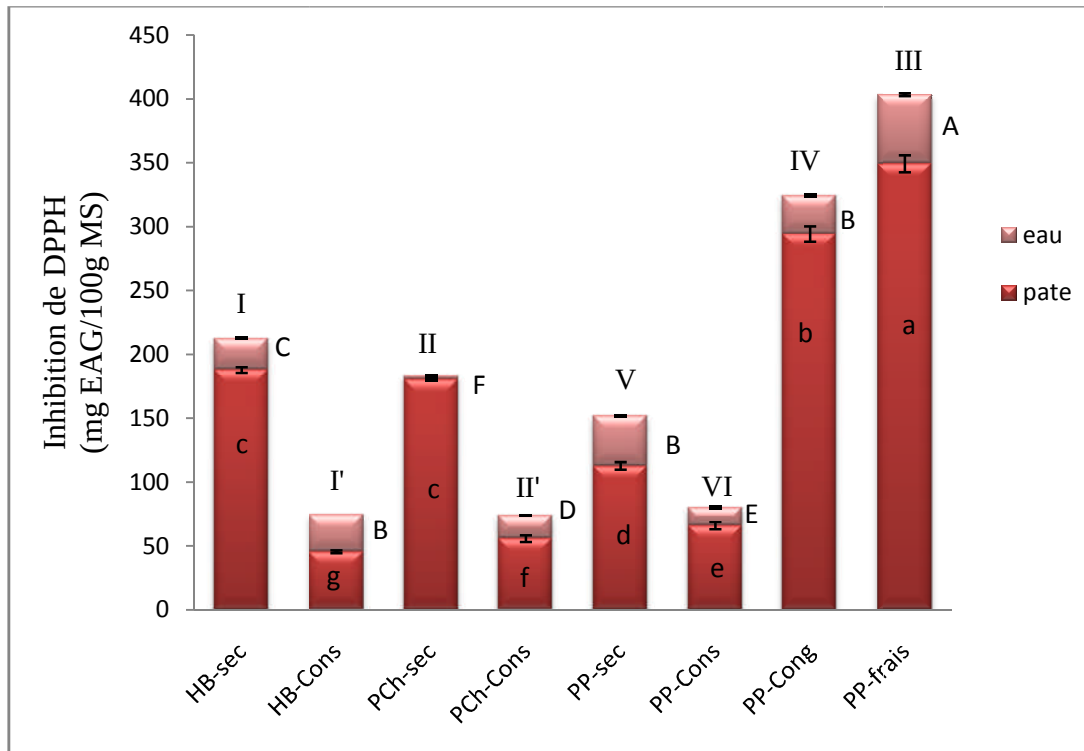


Figure 26 : Activité antiradicalaire des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I>I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Pour les pâtes, l'activité antiradicalaire varie de 349,32mg EAG/100g MS (petit pois frais) à 45,46mg EAG/100g MS (haricot blanc conserve).

La capacité anti radicalaire des eaux de cuisson représente un intervalle allons de 2, 61mg EAG/100g MS jusqu'à 54,07 pois chiche sec et petit pois frais respectivement.

L'haricot blanc sec de même le pois chiche sec ont une grande activité scavenging du radical DPPH par rapport a leurs conserves, d'un par, d'autre par le petit pois frais possède l'activité la plus élevée, suivi par le petit pois congelé, et une activité moyenne remarquée dans le petit pois sec, et le petit pois conserve vient en dernier lieu.

D'après les résultats obtenus par Turkmen *et al.* (2005), l'haricot blanc sec a une forte activité scavenging du radical DPPH (70.8% environ 1416mg/100g par rapport à celle obtenue dans la présente étude, contrairement au petit pois sec notre résultat est plus élevée. Concernant le pois chiche sec notre résultat est inférieur à celle obtenue par Li *et al.* (2008) (435mg/100g MS).

L'activité antiradicalaire dépend de la structure des composés phénoliques contribuant à leur capacité de transfert d'électron/donneur d'hydrogène (Williams *et al.*, 1995), elle pourrait également être due aux effets synergiques entre diverses classes d'antioxydants présents dans les extraits (composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, etc.).

III-4-Inhibition de H₂O₂

L'étude statistique révèle qu'il existe une différence significatives entre le pouvoir d'inhibition de H₂O₂ des extraits des pâtes et des eaux de cuisson des différents échantillons ($p < 0,05$) (figure 27), les résultats sont exprimés en se référant à une courbe d'étalonnage de l'acide gallique par 100g de MS.

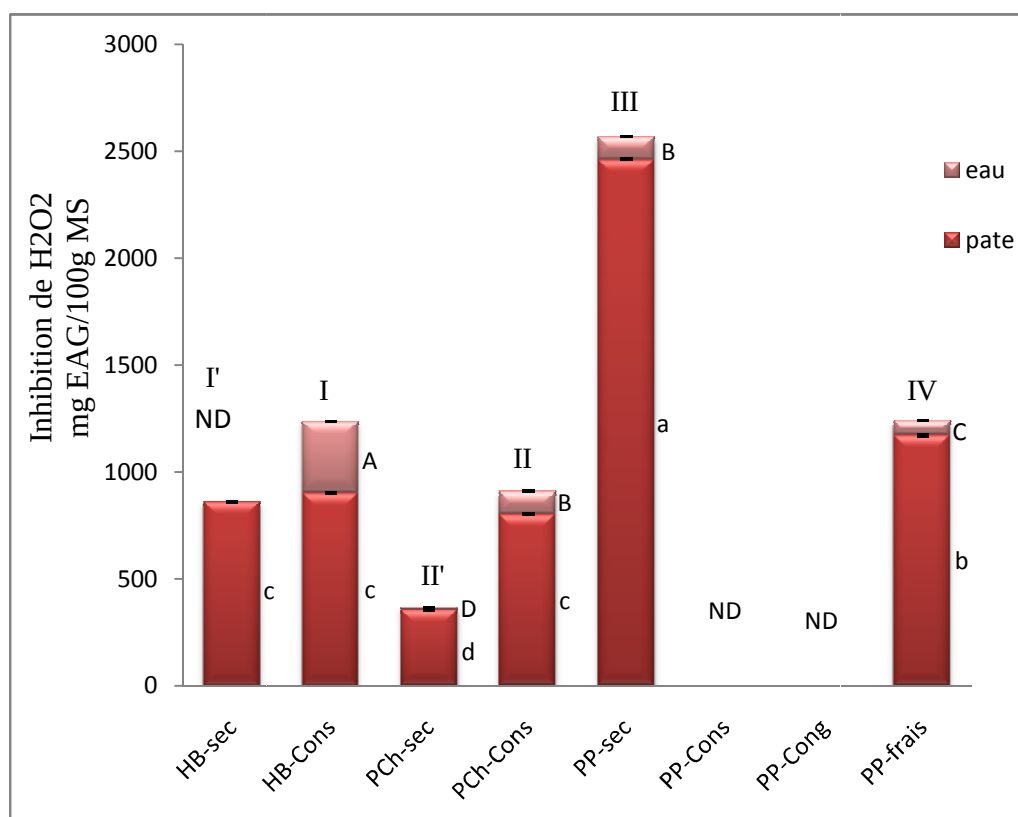


Figure 27 : Inhibition de H₂O₂ des pâtes et des eaux de cuisson des échantillons de légumineuses.

A>B>C>D>E>F>G: Comparaison entre les eaux de cuisson.

a>b>c>d>e: Comparaison entre les pâtes.

I>I', II>II', III>IV>V>VI>: Comparaison entre l'état sec et conserve de chaque échantillon.

Pour les pâtes, La capacité d'inhibition du radical H_2O_2 varie de 2462,97 mg EAG /100g MS (petit pois sec), suivi de 1173,88 mg EAG/100g MS (petit pois frais) à 355,85mg EAG/100g MS (pois chiche sec)

Concernant les activités de petit pois conserve et congelé sont indéterminés.

Les eaux de cuisson ont des activités faibles comprises entre 335,42mg EAG/100g MS (haricot blanc conserve) et 12,22mg EAG/100g MS (pois chiche sec), concernant l'haricot blanc sec, petit pois conserve et congelé leurs activités sont non déterminées.

L'activité anti radicalaire de l'échantillon conserve est plus élevée que celle de l'échantillon sec pour l'haricot blanc et pois chiche, concernant les petit pois, l'activité de l'état sec est plus importante que d'autres.

VI. IV- Relation activité antioxydants/ antioxydant

Au terme de l'analyse, les résultats obtenus de pouvoir réducteur sont en corrélation avec les anthocyanines ($r = 0,97$) avec des différences significatives $P < 0,05$ (figures 28).

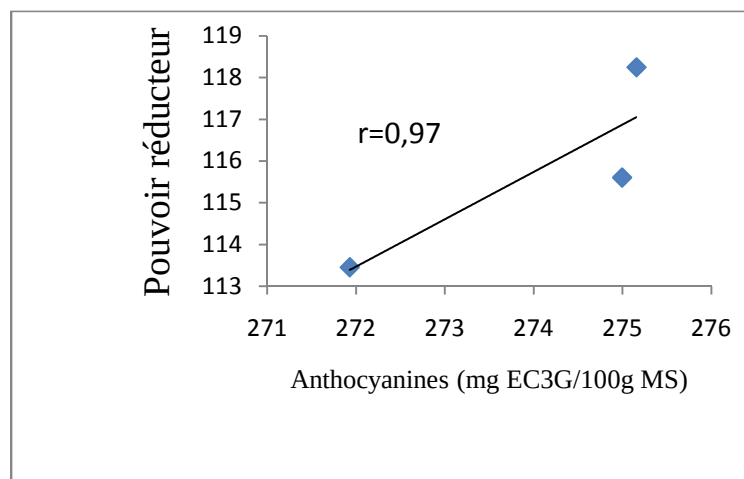


Figure 28: Courbe de corrélation entre le pouvoir réducteur et la teneur en anthocyanines des extraits.

Nous déduisons également que l'activité phosphomolybdate des extraits a une corrélation avec les teneurs en anthocyanines ($r = 0,95$) avec des différences significatives (Figure 29).

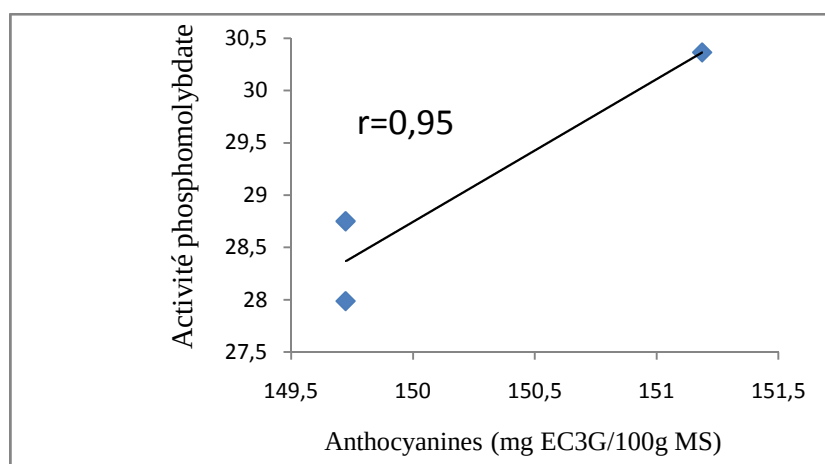


Figure 29: Courbe de corrélation entre l'activité phosphomolybdate et la teneur en anthocyanines des extraits.

Conclusion et perspectives

Conclusion

La présente étude a permis le dosage de substances antioxydantes (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, anthocyanines, tanins condensés, et caroténoïdes) ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur, activité antiradicalaire (DPPH), inhibition du H_2O_2 , activité phosphomolybdate) des échantillons de légumineuses cuites: haricot blanc (sec et conserve), pois chiche (sec et conserve) et petit pois (sec, frais, congelé, conserve) largement consommées en Algérie

Cette étude réalisée sur les extraits des pâtes et des eaux de cuisson des légumineuses cuites, nous a permis d'émettre les résultats suivants :

- Les teneurs en antioxydants ainsi que l'activité antioxydante des pâtes et des eaux de cuisson des différents extraits analysés présentent des différences significatives ($p < 0,05$) avec une concentration plus élevée au niveau des pâtes.
- Pour la majorité des paramètres testés (composés phénoliques totaux, caroténoïdes, proanthocyanidine, anthocyanines, pouvoir réducteur, activité phosphomolybdate et activité antiradicalaire) les échantillons secs (même frais et congelé du petit pois) sont plus riches par rapport aux échantillons conserves.
- L'évaluation du contenu en phénols totaux en adoptant la méthode de Folin Ciocalteu révélerait des teneurs importantes en composés phénoliques.
- Le dosage des flavonoïdes par la méthode de Djeridane *et al.* (2006), nous a mené à conclure que les légumes secs cuits contiendraient des taux élevés en flavonoïdes.
- Le dosage des anthocyanines suivant le protocole décrit par Gangewala, (2008) a présenté des teneurs élevées en ces composés.
- Quant aux proanthocyanidines, la méthode de Vermerris et Nicholson, (2006) nous a révélée des concentrations modérées.
- Le dosage des caroténoïdes par la méthode de Sass-Kiss *et al.*, (2005), nous a mené à conclure que les légumineuses cuites contiennent des taux considérables en caroténoïdes.

- Le pouvoir réducteur des échantillons a été déterminé par le concept de réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) ; les absorbances ont montré que les extraits possèdent un grand pouvoir réducteur.
- L'activité phosphomolybdate des extraits des échantillons, mesurée par le protocole de Magné et Meot, (2009), a présenté des activités élevées.
- Le potentiel anti-radicalaire des extraits des pâtes et des eaux de cuisson des légumineuses cuites a été déterminé par la mesure de l'activité scavenging du radical DPPH, et les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité.
- La capacité d'inhibition du radical H_2O_2 a été effectuée selon la méthode qui a été rapporté par Atmani *et al.*, (2009), les absorbances ont montré que nos extraits possèdent une capacité d'inhibition.
- Finalement, vue les corrélations existantes entre les activités anti-oxydantes testées et les composés phénoliques, cela suggérerait que les composés phénoliques et sont responsables de ces activités.

Dans le but de compléter la présente étude, il serait intéressant ;

- De conduire un complément par l'utilisation des autres méthodes qualitatif et quantitatif pour l'analyse des antioxydants et de montrer l'importance des différents légumes pour notre santé.
- De caractériser les différents antioxydants, d'élucider leur mécanisme d'action et de tester l'activité des extraits *in vivo*.
- D'évaluer la biodisponibilité des composés phénoliques des légumineuses, afin de prévoir leur effet sur la santé.
- Il serait aussi intéressant d'identifier les composés phénoliques et les caroténoïdes des légumes secs, en utilisant d'autres méthodes telles que la spectrophotométrie atomique, la résonance magnétique nucléaire (RMN) et l'HPLC.
- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation d'études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydante des composés phénoliques.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Abdille, Md. H., Singh, R.P., Jayaprakasha, G.K., and Jena, B.S. (2005). Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. *Food Chemistry*. 90:891-896.
- Adamczyk, B., Kituaen, V., Smolander A. (2008). Protein precipitation by tannins in soil organic horizon and vegetation in relation to tree species. *Biological Fertil Soils*, 45:55-64.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et super oxydase dismutase, rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue de Rhumatisme*. 74: 636-643.
- Akillioglu, H.G., Karakay, S.(2009). Effet of some domestic cooking méthode in antioxidant activity, total phenol and total flavonoid content of common Beans. *Academic Gida* 7(6):6-12.
- Akroum, S. (2011). Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels, *thèse de doctorat*, l'université de Constantine.1-112.
- Amarowicz, R., Estrella, I., Hernández, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R.B. (2010).Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*.(121)705–711.
- Andrew, H. (2001). Anti oxidants. Recent health and nutrition from dougless laboratorie. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385: 20–27.
- Anton, A.A., Ross, K.A., Beta, T., Fulcher, R.G., Arntfield, S.D. (2008). Effect of pre-dehulling treatments on some nutritional and physical properties of navy and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science*. 771–778.
- Aruoma O. I., Bahorun, T., Jen, L. S. (2003). Neuroprotection by bioactive in medicinal and food plant extracts. *Mutation Research*, 544: 203-215. P 206.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2009).Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*.112(2), 303-309.

- Auberval, N. (2010). Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. *Thèse de doctorat*. 1-244.
- Aubineau, M., Bermond, A., Bougler, J., Ney B., and Roger-Estrade, J. (2002). *Larousse/ VUEF*. Montréal (Québec).
- Aykroyd, W. R., Doughty, J. (1982). Les grains de légumineuses dans l'alimentation humaine. *Ed ISBN*. P3

B

- Bado, B. V. (2002). Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones guinéenne et soudanienne du Burkina-Faso. *Thèse de doctorat*, l'université de Laval.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compound in plants and agri-industrial by-products Antioxidant activity, occurrence and potentiel uses. *Food Chemistry*, 99:191-203.
- Belkheiri, N. (2010). Dérivées phénoliques à activités antiathérogènes. *Thèse de doctorat*, l'université de Toulouse.1-193.
- Bellow, S. (2012). Etude des composés phénoliques impliqués dans la réponse des feuilles de vigne au mildiou. *Thèse de doctorat*, l'université Paris –sud.1-120.
- Béliveau, R. (2009). Les caroténoïdes : des pigments essentiels à la santé. *Le Journal De Montréal*. 3 : 1-53.
- Ben Mbarek, K., Boujelben, A., Boubaker, M., Hannachi, C. (2009).Criblage et performances agronomiques de 45 génotypes de pois chiche (*Cicer arienitum* L.) soumis à un régime hydrique limité.13(3) :381-393.
- Bonnefis, C. S. (2005). Effet biologique des peroxydes et approche de la participation des aliments composés à leur apport chez le chien et le chat. *Thèse de doctorat*, l'université de Toulouse.1-75.
- Boumendjel, M. (2005). Conservation des denrées alimentaires.
- Boutour, M. (2011). Protection contre le stress photooxydant chez des feuilles d'érable argenté (*Acer Saccharinum*l) grace à l'oxydation de composés phénoliques caractérisés par voltammétrie cyclique. *Thèse de doctorat*, l'université de Québec.1-75.

- Bouzid W., yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M.C et Ayachi A. (2011). evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'aubepine monogyne*. *lebanese science journa*, 12 : 59-69.
- Brzozowska, J., et Hanower, P. (1976). Sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. Thèse de doctorat, *l'Université d'Abidjan* ; Tome XII, P 67.
- Buyse, Y. ND. (2001). Augmenter la valeur nutritive des aliments. 8 : 1-15.

C

- Chillet, P. (2010).opération unitaire en génie biologique, la pasteurisation.
- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissédre, P. I. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 : 75-82.
- Couplan, F. (2011). Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. France(Paris) : Daguin S.

D

- De La Rosa, L. A., Alvarez-parilla, E., Gonzalez-Aguilar, G. A. (2010). Fruit and vegetable phytochemicals. *Chemistrys Nutrition value and stability*. Chapitre II. Wiley-Blackwell, A John Wiley 8 sons, Jnc, publication.USA-PP: 53-57.
- Derbel, S., et Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie numéro1* :28-34.
- Dequiedt, B. (2012). Réduire les émissions de l'agriculture : l'option des légumineuses. P4.
- Dézavelle, J.P. (2010). La conservation des aliments. 1-3.
- Diaw, M.N.F. (2002).Utilisation des inculums rhizobium pour la culture du haricot (*Phaseolus vulgaris*) au sénégal.*Thèse de doctorat*, l'université de cheikh antadiop Dakar.
- Duc, G., Mignolet, C., Carrouée, B., Huyghe, C. (2010).Importance économique passée et présente des légumineuses : *Innovations Agronomiques*, 11 :1-24.
- Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and Nutraceuticals properties .*Fitoterapia*, 77: 67 – 82.

E

- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and analysis*. 20 :333-345.
- Emere, Y. (2007). Influence de la protéine découplante mitochondriale UCP2 sur la signalisation et le métabolisme des macrophages. *Thèse de doctorat*, l'université de Paris 5.
- Eymerd, S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*trachurus trachurus*) : choix des procédés. *thèse de doctorat*. l'université de Nantes.1-123.

F

- Favier, A., et Goudable, J. (1997). Radicaux libre oxygénés et anti oxydants. *Nutrclin Métabol*, 11 :115-120.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimentale dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 11:108-115.
- Favier, A. (2012). Ensemble pour plus de sens, La gamme de produits issus du commerce équitable Nord-Nord de Biocoop. P1
- Fiorucci, S. (2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. *thèse de doctorat*. l'université de Nice-Sophia Antipolis.1-145.
- Fraga C. G. (2010). Plant phenolic and human health, biochemistry, nutrition and pharmacology: Chapitre I. Wiley, a John Wiley & Sons, JNC, New Jersey. PP 3-26.

G

- Gang, D. R. (2011). The biological activity of phytochemicals. Chapitre VI: Springer. New York. Dordrecht Heidelberg, London, volume 41. PP 67-69.

- Ganjewala, D., Boda, S. & Raghavendra, A.S. (2008). Sodium nitroprusside affects the level of anthocyanin and flavonol glycosides in Pea (*Pisum Sativum* L. cv.Arkel) leaves. *Acta Biologica Szegediensis*, 52 (2): 301-305.
- Garait, B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaire) au par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodin. *Thèse de doctorat*, l'université de Joseph Fourier.1-203.
- Giove, R.M., et Abis, S. (2007).Place de méditerranée dans la production mondiale de fruit et legume les note d'analyse du ciheam, 23:1-21.

H

- Hamadi, N. (2010). Effet du resvératrol sur les défenses antioxydant chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la straptozotocine. *thèse de doctorat*, l'université de Constantine.1-184.
- Harrison, R. (2002). Structure and function of Xanthine oxidoreductase: where are we now, *Free Radic. Boil Med.* 33:774-797.
- Haton, C. (2005).Effet de rayonnement ionisante sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. *Thèse de doctorat l'université d'Auvergne*.1-105.
- Hinneburg, I., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*. 97:122–129.

J

- Jayanthi, P. et Lalitha, P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia Crassipes* (MART.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 :3.
- Jezierny, D., Mosenthin, R., Bauer, E. (2010).The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A review. *Animal feed science and technology* 157:111-128.

K

- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Iounnou, M., Karathanos, V.T., Hassapidous, M., Hassapidous, M., Andrikopoulos, N.K. (2010). Nutritional evaluation and bioactive

microconstituants (Phytosterols, Tocopherols, Polyphenols, triter penic acide) in cooked dry legumes usually consumed in the mediterranean countries, *Food Chemistry* 121:682-690.

- Kao, M., Ang, D., Pall, A., and Struthers, A. (2010). Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms clinical sequelae and therapeutique option. *Jornal of Humain Hypertension*, 24: 1-8.
- Kehrer, J.P. (2000). The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Division of pharmacology and toxicology*. 49:43-50.
- Khalil, A. W., Zeb, A., Mahmoud, F., Tariq, S., Khattak, A. B., Shah, H. (2007). Composition of sprout quality characterization of desi and kabuli type chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). *LWT*, 40:937-945.
- Khattak, M.S., Zeb, A., Bibi, N., Khalil, S., Khattak, A.B. (2007). Influence of germination technique on phytic acide and polyphénols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food Chemistry*, 104: 1074-1079.
- Koppenol, W.H. (2001). The Haber-Weiss cycle, 70 years later. *Redox Rep.* 6:229–234.
- Fokou, É., Ponka, R., Sielinou-Tchegnimba, A., Ngu, B., Tchouanguép, F.M., (2008). Alimentation et statut en deux micronutriments antioxydants (zinc et vitamine C) de quelques patients camerounais hypertendus. *Nutrition clinique et métabolisme*. 22 :4–9.
- Krause, D. O., Smith, W. J. M., Brooker, J. D., McSweeney, C. S. (2005). Tolerance mechanisms of streptococci to hydrolysable and condensed tannins. *Animal Feed science and technology*, 121: 59-75.

L

- Laguerre, M., L'opez-Giraldo, L., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. P279.
- Lee, J., Koo, N., Min, D. B. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*. 3 : 21-33.

- Leitaó, C. (2011). Etude des composés à intérêts technologique et fonctionnel dans la bière. *thèse de doctorat*, l'université de Stresborg. 1-98.
- Lin, L.Z., Harnly, J.M., Pastor-carrales, M.S., Lutheria, L.D. (2008). The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L), *Food Chemistry*, 107: 399-410.
- Li, Y., Jiang, B., Zhang, T., Mu, W., Li, Y. (2008). Antioxidant and free radical – scavenging activity of chickpea protein hydrolysate (CPH). *Food Chemistry*, 106:444-450.
- Lupien, J.R. (1996). Le codex alimentarius. Organisation mondiale de la santé. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. Ed III.
- Yong, A.J., Lowe, G. (2001). Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 20–27.

M

- Mandalari, G., Nueno Palop, C., Tuohy, K., Gibson, G.R., Bennett, R.N., Waldron, K.W., Bisignano, G. Narbad, A. (2007). In vitro evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. *Appl Microbiol Biotechnology*. 73: 1173-1179.
- Marfak, A. (2003). Radiolyse Gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des Alcools : Formation de depides, *thèse de doctorat*, l'université de Limoges. 1-121.
- Massart, A. (2011). Supplémentations en oméga 3 et antioxydant et stress oxydant au cours d'un entraînement de judo. *Thèse de doctorat*, l'université d'Orléans. 1-174.
- Meot-Duros, L., Magné, M. (2009). Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant physiology and Biochemistry*. 47:37-41.
- Milane, H. (2004). La quercétine et ses dérivés : molécule à caractère prooxydant ou capteur des radicaux libres ; étude et application thérapeutique. *Thèse de doctorat*. l'université de Louis Pasteur. 1-165.

- Mokrini, R. (2006). Mécanismes radicalaires dans la dégradation de composés phénoliques en chimie sous rayonnement : Radiolyse gamma des chalcones et de l'acide férulique en solutions alcooliques. Chapitre III. *Thèse de doctorat*. université de Limoges.1-106.
- Morel, Y., Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochem J.* 3: 481-496.
- Morrissey, JP. Osbourn, AE. (1999). Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Micro Mol Biol Rev* 63 (3):708-724
- Mujica, M.V., Granito, M., and Soto, N. (2009). Importance of the extraction method in the quantification of total phenolic compounds in *Phaseolus vulgaris* L. *INJRCIENCIA*. 34:650-654.

N

- Naczki, M., Fereidoon, S. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41 :1523–1542.
- Neyra, L. (1992). Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote. Légumineuse / rhizobium. *Food & Agriculture. Org.*
- Nijveldt, R. J., Nood, Ev., Hoorn, DECv., Boelens P. G., Norren, Kv., Leeuwen, PAMv. (2001). Flavonoïdes: a review Article: *Journal of clinical Nutrition*. 38: 418-425.
- Niki, E. (2010).Assessment of Antioxydant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and medicine*. 49: 503-515.
- Nithiyanantham, S., Selvakumar, S., Siddhuraju, P. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of two different solvent extracts from raw and processed legumes, *Cicer arietinum* L. and *Pisum sativum* L. *Journal of Food Composition and Analysis*. 27: 52-60.
- Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant. Chapitre I. *Thèse de doctorat*, l'université de Cadi ayyad.1-158.

- Noreen, Z., Ashraf, M. (2009). Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology*. 166:1764—1774.

P

- Paradis, M. (2010). Les activités de glutathion –peroxydase. D’oxyde Nitrique oxydase et de dépolarisation membranaire de la céruloplasmine dans la protection des cardiomyocyte contre le peroxyde d’hydrogène. *Thèse de doctorat*, l’université de Québec Montréal.1-143.
- Portes, E. (2008). Synthèse et Etude Tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Application à la Présentation de Matériaux d’Origine Naturelle. *Thèse de doctorat*, l’université de Bordeaux I.1-175.
- Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne, J.O. (2007). Effet d’une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*. 21 :66 – 75.

R

- Rauha, J. P. (2001). The search for biological activity in plant extracts containing phenolic compound. *Thèse of doctorat*, l’université of Helsinki.1-149.
- Roland, A. (2010). Influence des phénomènes d’oxydation lors de l’élaboration des mouts sur la qualité aromatique des vins de melon B.et Sauvignon Blanc en Val de Loire. *Thèse de doctorat*, l’université Montpellier supagro.1-198.
- Roy, F., Boye J. I., Simpson B. K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, Chickpea and lentil. 433:432-442.
- Roy, M. (2008). Etude des superoxydes dismutase (SOD) dan l’oviducte bovine. *Thèse de doctorat*, l’université Laval.1-159.
- Ruiz-Rodriguez, A., Marin, F.R., Ocana, A., Soler-Rivas, C. (2008). Effect of domestic processing on bioactive compounds. *Phytochem Rev*. 7:345–384.

S

- Sakihama, Y., Cohen, M.F., Grace, S.C., Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*. 117: 67-80.
- Sarvajeet, S.G., Narendra, T. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. 21: 917-919.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., Toth-Markus, M. (2005). Difference in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*. 38 :1023-1029.
- Servais, S. (2004). Altération mitochondriale et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effet de l'âge et une supplémentation en oméga-3.
- Shairer, M. R. (2010). Conservation des aliments.

T

- Terashima, M., Watanabe, R., Ueki, M., Matsumura, S. (2009). Comprehensive evaluation of anti oxidant activity for various substances with 5-axis cobweb chart. *Food Chemistry*. 120:150-155.
- Turkmen, N., Sari, F., Velioglu. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 39:713-718.
- Troszynska, A., Estrella, I., Lopez-Amores, L.M., and Hernandez, T. (2002). Antioxidant Activity of pea (*Pisum sativum* L) Seed Coat Acetone extract. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 35: 158 -164.
- Trrier, N., Poncet-Legrand, C., and Cheynier, V. (2009). Flavonols, flavonols and dihydroflavonols. *Wine chemistry and biochemistry*. 10:463-507.
- Tsumbu, C. N. (2012). Contribution à l'étude des polyphénols de quelques plantes alimentaires du Bas-Congo et de leurs activités antioxydant in vitro. *Thèse de doctorat*, l'université de Liège. 1-126.

V

- Vatter, D. A., Ghaedian, R., Shetty, K. (2005). Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry. *Asia pac J clin Nutr.* 14(2): 120-130.
- Venkat Rantam, D., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D. k., Ravi Kumar, M. N. V. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release.* 113:189-207.
- Vercauteren, J. (2012). UNSF plan, formules et illustration du cours de pharmacognosie. *Thèse de doctorat*, l'université de Montpellier. 1-122.
- Verghese, B.J.M., et Ogutu, S. W.L.T. (2008). Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp. L.*). *Food Science and Technology.* 41:1541-1547.

W

- Wakshlag, J.J., Kallfelz, F.A. (2002). Statut nutritionnel du chien cancéreux : évaluation et recommandation diététiques. *Encyclopédie de la Nutrition clinique Canine.* 46.
- Wong, S. (2012). Conservation des légumineuses : *A Ma Santé.* P1.

Y

- Yildirim, A., Oktay, M., et Bilatoglu, V. (2001). The Antioxidant Activity of the Leaves *Cydonia vulgaris*. *Turkish Journal of Medical Sciences.* 31: 23-27.
- Yzydorczyk, C. (2011). Rôle de stress oxydant en période néonatale dans l'Hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte. *Thèse de doctorat*, l'université d'Auvergne. 1-154.

Z

- Zhang, L. (2011). NADPH oxydase NOX4 : structure/fonction protéomique recombinante et approche immunologique. *Thèse de doctorat*, université de Grenoble. 1-177.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnages utilisées pour le calcul des teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, caroténoïdes.

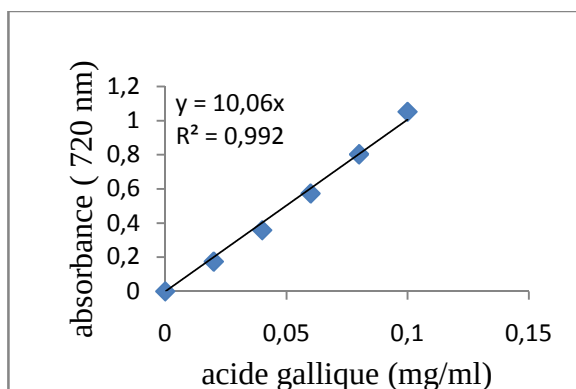


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des composées phénoliques.

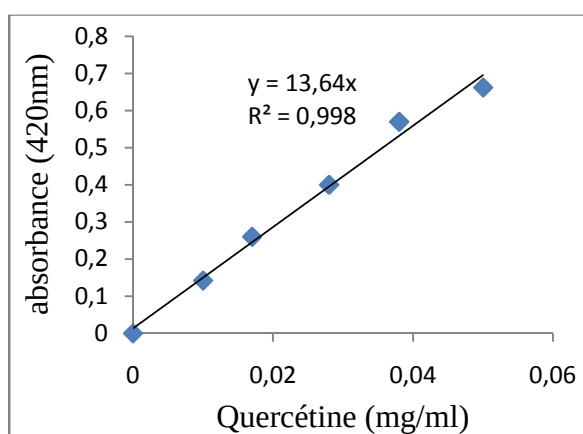


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

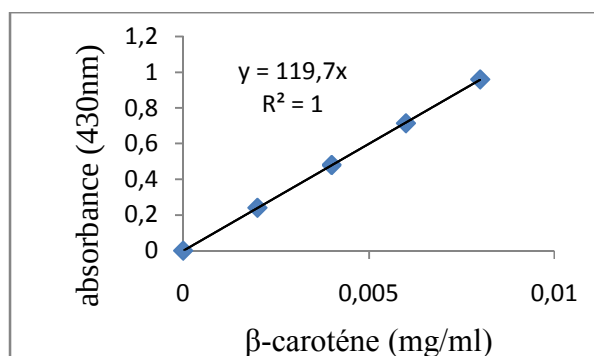


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.

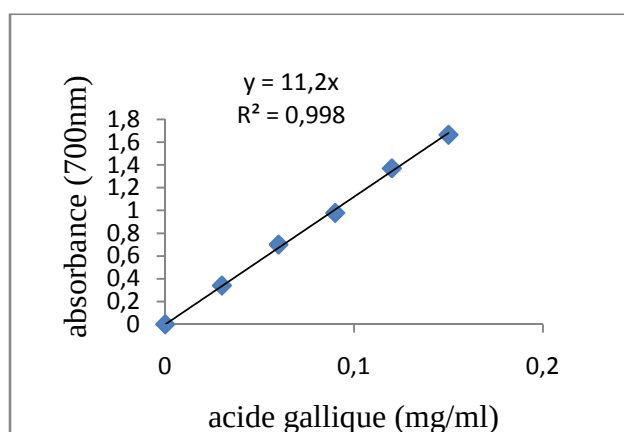


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.

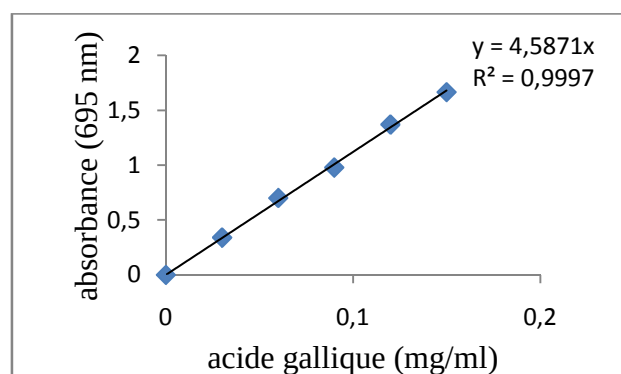


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de méthode phosphomolybdate.

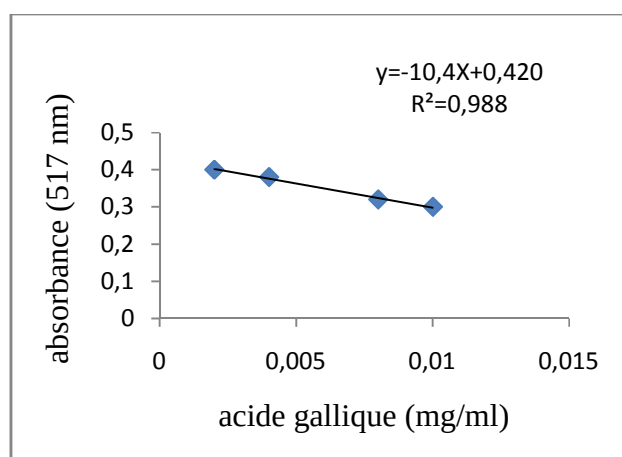


Figure 6 : Courbe d'étalonnage de DPPH.

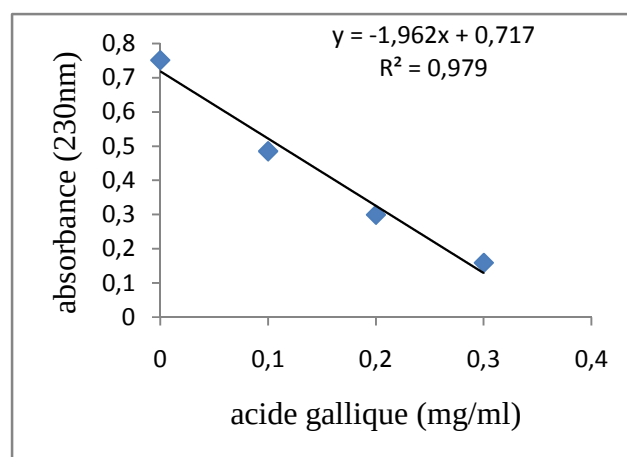


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de H₂O₂.

Résumé

La présente étude porte sur le dosage de substances antioxydantes (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, anthocyanines, tanins condensés, et caroténoïdes) ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur, activité antiradicalaire (DPPH), inhibition du H_2O_2 , activité phosphomolybdate) des échantillons de légumineuses cuites: haricot blanc (sec et conserve), pois chiche (sec et conserve) et petit pois (sec, frais, congelé et conserve) largement consommées en Algérie. Les teneurs en composés phénoliques déterminées selon la méthode de Folin-Ciocalteu présentent des teneurs élevées allant jusqu'à 452,28mg EAG/100g MS (petit pois frais) et que pour tous les tests effectués, les pâtes des échantillons ont des teneurs supérieures que celles des eaux de cuisson. Pour la majorité des paramètres testés, les échantillons secs (même frais et congelé du petit pois) sont plus riches par rapport aux échantillons conserves. Des corrélations positives élevées sont établies entre l'activité antioxydante et les différentes classes de composés phénoliques des échantillons de légumineuses allant jusqu'à $r=0,97$; entre l'activité antiradicalaire et les polyphénols totaux.

Les résultats de la présente étude confirment que les légumineuses sont une source importante des antioxydants naturels, ce qui peut être bénéfique pour renforcer le statut antioxydant de l'individu.

Mots clés : légumineuses, sec, conserve, pâte, eau de cuisson, activité antioxydante.

Abstract

The present study is about the dosage of antioxidant substances (total phenol, flavonoids, anthocyanin, condensed tannin and carotenoids) and the antioxidant activity (reducing power, phosphomolybdate activity, scavenging activity against radicals DPPH and H_2O_2 ,) of the samples of cooked dry legumes: white bean (dry and canned food), chickpea (dry and canned food) and green pea (dry, fresh, frozen and canned food) consumed extensively in Algeria. The contents in total phenols determined according to Folin-Ciocalteu method present high levels up to 452,28mg GAE/100g DM (fresh green pea) and for all tests, the pastes of the samples have contents superior than those of the cooking waters. For the majority of the parameters tested, the dry samples (even fresh and frozen of the green pea) are richer than the canned samples. Positive correlations are established between the antioxidant activity and the different classes of phenolic compounds of the samples up to $r=0,97$; between the scavenging activity against DPPH and the total polyphenols).

The results of the present study confirm that the dry legumes are excellent dietary source of natural antioxidants

Key words: dry legumes, dry, canned food, paste, water of cooking, antioxidant activity.