

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1



INSTITUT DE LA NUTRITION, DE L'ALIMENTATION  
ET DES TECHNOLOGIES AGRO-ALIMENTAIRES  
I.N.A.T.A.A.

N° d'ordre :21/DS/2021

N° de série :05/IN/2021

**Thèse de Doctorat en Sciences**  
**Spécialité : Sciences Alimentaires**

Présentée par :

**Saliha DJABALI**

---

**Impact de la cuisson à l'eau sur la teneur et  
le profil en composés phénoliques de légumes  
secs**

---

Soutenue le : 03 /03 /2021

Devant le Jury composé de :

Président(e) :	<b>KHARROUB Karima</b>	Prof.	<b>Univ. Frères Mentouri Constantine1</b>
Rapporteur :	<b>BARKAT Malika</b>	Prof.	<b>Univ. Frères Mentouri Constantine1</b>
Examineurs :	<b>BENDERRADJI Laid</b>	Prof.	<b>Univ. Mohamed Boudiaf M'sila</b>
	<b>DALICHAUCHE Souhaila</b>	MCA.	<b>Univ. Salah Boubnider Constantine 3</b>
	<b>HAZMOUNE Tahar</b>	Prof.	<b>Univ. 20Août 1955 Skikda</b>

Année universitaire 2020-2021

## **REMERCIEMENT**

*Je remercie tout d'abord **ALLAH** tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.*

*C'est avec grand respect et gratitude que je transmets mes vifs remerciements à tous ceux qui m'ont aidé à avoir l'opportunité de réaliser ma thèse.*

*Je veux remercier particulièrement Ma directrice de thèse, Madame **BARKAT Malika** Professeur à l'institut de nutrition, alimentation et technologies agroalimentaires (INATAA), Université Mentouri Constantine 1, d'avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir donné la chance de bénéficier de ses connaissances scientifiques et ses conseils, je lui adresse également mes remerciements distingués de m'avoir consacré son temps précieux, pour ses critiques constructives, son enthousiasme et ses qualités personnelles et professionnelles. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.*

*Je remercie sincèrement Madame **KHARROUB Karima**, Professeur à l'institut de nutrition, alimentation et technologies agroalimentaires (INATAA), Université Mentouri Constantine 1, et Directrice du laboratoire de recherche BIOQUAL, non seulement de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et avoir accepté de présider le jury de la soutenance, mais aussi pour son soutien moral et professionnel pendant mes années d'études.*

*Je remercie le professeur **HAZMOUNE Tahar** pour l'honneur qu'il m'a fait pour l'examen du travail.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur le professeur **BENDERRADJI Laid** pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Je remercie Madame le Docteur **DALICHAUCHE Souhaila** pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je n'oublierais pas non plus de remercier chaleureusement mon mari et tous les membres de ma famille et de ma belle-famille qui m'ont aidé et soutenu chacun à sa manière.*

## Liste des abréviations

<b>A</b>	Absorbance
<b>Ac</b>	Acide
<b>ABTS</b>	2,2-Azobis-ethylBenzoThiazoline-6-Sulphonique
<b>BHA</b>	Buthyl Hydroxy Anisol
<b>BHT</b>	ButhylHydroxyToluène
<b>CA</b>	Capacité Antioxydante
<b>C4H</b>	Cinnamate 4-Hydroxylase
<b>CLUHP</b>	Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance
<b>CN</b>	Composé Néoformé
<b>CUPRAC</b>	CUPric Reducing Antioxidant Capacity
<b>DRO</b>	Dérivés Réactifs de l'Oxygène
<b>DPPH</b>	2,2-DiPhényle -1-PicrylHdrasyl
<b>EAG</b>	Équivalent Acide Gallique
<b>EAT</b>	Équivalent Acide Tanique
<b>EC</b>	Equivalents de Catéchine
<b>ECy-3-Glu</b>	Equivalent Cyanidine 3-Glucoside
<b>EOR</b>	Espèces Oxygénées Réactives
<b>EQ</b>	Equivalents de Quercetine
<b>E<math>\beta</math>C</b>	Equivalents de $\beta$ - Carotène
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization
<b>FAOSTAT</b>	Food and Agriculture Organization Statistical Databases
<b>FT</b>	Flavonoïdes Totaux
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration Inhibitrice 50
<b>ITGC</b>	Institut Technique des Grandes Cultures
<b>LD</b>	Limite de Détection
<b>LQ</b>	Limite de Quantification
<b>LC-MS/MS</b>	Liquid Chromatography with a tandem Mass Spectrometry.
<b>MH</b>	Masse Humide
<b>MS</b>	Masse Sèche
<b>ND</b>	Non Détecté
<b>PAL</b>	Phenylalanine Ammonia Lyase
<b>POD</b>	Peroxydases

<b>PPO</b>	<b>Polyphénoloxydases</b>
<b>Ppm</b>	<b>partie par million</b>
<b>PT</b>	<b>Polyphénols Totaux</b>
<b>TAL</b>	<b>Tyrosine Ammonia-Lyase</b>
<b>TC</b>	<b>Tanins Condensés</b>
<b>TE</b>	<b>Tanins Extractibles</b>
<b>TV (%)</b>	<b>Taux de Variation (en %)</b>
<b>Var.</b>	<b>Variété</b>
<b><math>\alpha</math>-TOC</b>	<b><math>\alpha</math> – TOCOPHEROL</b>

## Liste des Figures

<b>Figure 01.</b> Production mondiale de quelques légumineuses (FAO, 2016).....	08
<b>Figure 02.</b> Production nationale par type de légumineuse (FAOSTAT, 2016).....	09
<b>Figure 03.</b> Structures chimiques des principales familles des flavonoïdes (Erdman <i>et al.</i> , 2007).....	11
<b>Figure 04.</b> Structure de base des flavonoïdes (Chira <i>et al.</i> , 2008).....	12
<b>Figure 05.</b> Exemples des structures chimiques des flavan-3-ols (Fraga, 2009).....	12
<b>Figure 06.</b> Structures chimiques de quelques flavonols.....	13
<b>Figure 07.</b> Structures chimiques des flavones (Rice-Evans, 1999).....	13
<b>Figure 08.</b> Structure chimique des flavanones (O'connell et Fox, 2001).....	14
<b>Figure 09.</b> Structure des isoflavones (Rijik <i>et al.</i> , 2006).....	14
<b>Figure 10.</b> Structure chimique des chalcones (N'gouemo <i>et al.</i> , 1996).....	14
<b>Figure 11.</b> Structure chimique des anthocyanes (Samouelian <i>et al.</i> , 2009).....	15
<b>Figure 12.</b> Structure des acides hydroxybenzoïques (Guignard, 1996).....	16
<b>Figure 13.</b> Structure des acides hydroxycinnamiques (Laguerre <i>et al.</i> , 2007).....	16
<b>Figure 14.</b> Structure d'un tanin hydrolysable et d'un tanin condensé (Guignard, 1996).....	17
<b>Figure 15.</b> Structure de lignane (Jost et Jost - Tse, 2016).....	18
<b>Figure 16.</b> Structure de base des stilbènes ( <i>trans</i> ou <i>cis</i> ) (Collin et Crouzet, 2011).....	18
<b>Figure 17.</b> Schéma général de la voie de shikimate (Borah, 2015).....	19
<b>Figure 18.</b> Représentation simplifiée des différentes voies de biosynthèse des phénylpropanoïdes (Vogt, 2010).....	21
<b>Figure 19.</b> Localisation des composés phénoliques au niveau de la cellule (Toivonen et Brummell, 2004).....	24
<b>Figure 20.</b> Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques ( $Me^{n+}$ ) (Van Acker <i>et al.</i> 1996).....	28
<b>Figure 21.</b> Caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Khazai <i>et al.</i> , 2011).....	28
<b>Figure 22.</b> Diagramme récapitulatif de la méthodologie suivie.....	32
<b>Figure 23.</b> Réduction du radical DPPH $\cdot$ par un antioxydant (Molyneux, 2004).....	37
<b>Figure 24.</b> Etapes de la réaction ABTS (Re <i>et al.</i> , 1999).....	39
<b>Figure 25.</b> Principe de la méthode de CUPRAC (Özyürek <i>et al.</i> , 2011).....	39
<b>Figure 26.</b> Chromatogrammes LC-MS / MS des standards employés.....	41
<b>Figure 27.</b> Pourcentage de variation des teneurs moyennes en polyphénols totaux (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus..	54

<b>Figure 28.</b> Pourcentage de variation des teneurs moyennes en flavonoïdes totaux (%) des extraits de légumes cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes crus.....	63
<b>Figure 29.</b> Pourcentage de variation des teneurs moyennes en tanins extractibles (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes secs crus.....	72
<b>Figure 30.</b> Pourcentage de variation des teneurs moyennes en anthocyanines (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes secs crus.....	78
<b>Figure 31.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de lentille Var. <i>Ibla</i> .....	80
<b>Figure 32.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de lentille Var. <i>Metropole</i> .....	81
<b>Figure 33.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de petit pois Var. <i>Oinward</i> .....	88
<b>Figure 34.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de petit pois Var. <i>Messirl</i> .....	89
<b>Figure 35.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits du haricot Var. <i>Cannellini</i> .....	94
<b>Figure 36.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits du haricot Var. <i>Great Northerne</i> .....	95
<b>Figure 37.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de pois chiche Var. <i>Ghab 5</i> .....	100
<b>Figure 38.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de pois chiche Var. <i>Flip</i> .....	101
<b>Figure 39.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de la fève Var. <i>Aguadulce</i> .....	105
<b>Figure 40.</b> Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de la fève Var. <i>Shale</i> .....	106
<b>Figure 41.</b> Pourcentage de variation des IC <sub>50</sub> (DPPH <sup>•</sup> ), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.....	120
<b>Figure 42.</b> Pourcentage de variation des IC <sub>50</sub> (ABTS <sup>•+</sup> ), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.....	125
<b>Figure 43.</b> Pourcentage de variation des A0,5 (µg/ml), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.....	130

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01.</b> Composition biochimique globale de quelques légumineuses (FAO, 2016).....	07
<b>Tableau 02.</b> Vitamines et sels minéraux de quelques légumineuses (FAO, 2016).....	07
<b>Tableau 03.</b> Paramètres analytiques de la méthode LC-MS / MS.....	42
<b>Tableau 04.</b> Teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits de légumes secs analysés (en $\mu\text{g EP mg}^{-1}$ de MS).....	44
<b>Tableau 05.</b> Teneurs moyennes en flavonoïdes des extraits de légumes secs analysés exprimées en $\mu\text{g EQ/mg}$ de matière sèche.....	55
<b>Tableau 06.</b> Teneurs moyennes en tanins des extraits de légumes secs analysés (exprimées en $\mu\text{g EAT.mg}^{-1}$ de matière sèche).....	64
<b>Tableau 07.</b> Teneurs moyennes en anthocyanines des extraits de légumes secs ( $\mu\text{g ECy-3-Glu. mg}^{-1}$ de MS).....	73
<b>Tableau 08.</b> Concentration ( $\mu\text{g /g}$ ) des extraits de lentilles crues et cuites et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport aux extraits de lentilles crues.....	82
<b>Tableau 09.</b> Concentration ( $\mu\text{g /g}$ ) des extraits de petits pois crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport extraits de petits pois crus.....	90
<b>Tableau 10.</b> Concentration ( $\mu\text{g /g}$ ) des extraits d'haricots secs crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport aux extraits d'haricots secs crus.....	96
<b>Tableau 11.</b> Concentration ( $\mu\text{g /g}$ ) des extraits de pois chiches crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation (%) par rapport aux échantillons crus.....	102
<b>Tableau 12.</b> Concentration ( $\mu\text{g /g}$ ) des extraits de fèves crues et cuites et des eaux de cuisson et pourcentages de variation (%) par rapport aux extraits de fèves crues.....	107
<b>Tableau 13.</b> Analyse des différences de l'activité antiradicalaire ( $\text{IC}_{50}$ de DPPH $^{\cdot}$ ) des extraits de légumes secs par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).....	111
<b>Tableau 14.</b> Analyse des différences de l'activité antiradicalaire ( $\text{IC}_{50}$ de l'ABTS $^{\cdot+}$ ) des extraits de légumes secs par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).....	121
<b>Tableau 15.</b> Principaux résultats du test CUPRAC ( $\text{A0,5 } \mu\text{g / ml}$ ).....	126

## Table de matières

### Remerciements

<b>Liste des abréviations</b> .....	I
<b>Liste des figures</b> .....	II
<b>Liste des tableaux</b> .....	III
<b>Introduction générale</b> .....	01

### Partie 1. Synthèse bibliographique

1. Légumineuses alimentaires.....	05
1.1. Concept de légumineuses alimentaires ou légumes secs.....	05
1.2. Place des légumes secs dans l'alimentation humaine.....	05
1.3. Composition biochimique et apport nutritionnel.....	07
1.4. Production des légumes secs.....	08
1.4.1. Production mondiale.....	08
1.4.2. Production nationale.....	08
1.5. Conditionnement et stockage des légumes secs.....	09
2. Composés phénoliques : métabolites d'intérêt.....	10
2.1. Classes des composés phénoliques.....	10
2.1.1. Flavonoïdes.....	11
2.1.1.1. Flavanols .....	12
2.1.1.2. Flavonols, flavones et flavanones.....	13
2.1.1.3. Isoflavones et chalcones.....	14
2.1.1.4. Anthocyanes.....	15
2.1.2. Acides phénoliques.....	15
2.1.2.1. Acides hydroxybenzoïques.....	15
2.1.2.2. Acides hydroxycinnamiques.....	16
2.1.3. Tanins, lignanes et stilbènes.....	16
2.1.3.1. Tanins.....	16
2.1.3.2. Lignanes.....	17
2.1.3.3. Stilbènes.....	18
2.2. Métabolisme des composés phénoliques.....	18
2.2.1. Biosynthèse.....	18
2.2.2. Biodégradation.....	12
2.3. Teneurs, localisation et variabilité des polyphénols des légumes secs.....	22
2.3.1. Teneurs en composés phénoliques.....	22
2.3.2. Localisation des polyphénols dans les légumes secs.....	23
2.3.2.1. À l'échelle tissulaire.....	23
2.3.2.2. À l'échelle cellulaire.....	23



2.3.3. Facteurs de variabilité des polyphénols des légumes secs.....	24
2.3.3.1. Facteurs intrinsèques.....	24
2.3.3.2. Facteurs extrinsèques.....	25
2.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols et effet santé.....	26
2.4.1. Propriétés antioxydantes.....	26
2.4.1.1. Inhibition enzymatique.....	26
2.4.1.2. Chélation des ions métalliques.....	27
2.4.1.3. Piégeage des radicaux libres.....	28
2.4.2. Effet santé.....	29

## **Partie 2. Matériel et méthodes**

1. Matériel végétal utilisé.....	31
2. Méthodes utilisées.....	31
2.1. Traitements appliqués aux légumes secs.....	33
2.1.1. Traitements appliqués aux légumes secs crus.....	33
2.1.2. Méthode de cuisson des légumes secs.....	33
2.1.3. Opérations post-cuisson.....	33
2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques.....	33
2.2.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux.....	34
2.2.2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux.....	34
2.2.3. Détermination des teneurs en tanins extractibles.....	35
2.2.4. Extraction et dosage des anthocyanines.....	35
2.3. Evaluation des activités antiradicalaire et antioxydante.....	36
2.3.1. Test de DPPH (1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyle).....	36
2.3.2. Test de l'ABTS <sup>+</sup> (acide 2,2'-AzinoBis-3-ethylbenzoThiazoline-6-Sulfonique).....	37
2.3.3. Méthode de capacité antioxydante réductrice de cuivre (CUPRAC).....	39
2.4. Identification et quantification du profil phénolique par LC-MS/MS.....	40
2.4.1. Instruments et conditions chromatographiques.....	40
2.4.2. Méthode de validation des paramètres pour les LC-MS / MS.....	40
2.5. Analyse statistique.....	42

## **Partie 3. Résultats et discussions**

<b>1. Teneurs en composés phénoliques des légumes secs étudiés.....</b>	<b>44</b>
1.1. Teneurs moyennes en polyphénols totaux.....	44
1.1.1. Légumes secs crus.....	45
1.1.2. Légumes secs cuits.....	48
1.1.3. Eaux de cuisson.....	49

1.1.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en polyphénols totaux des légumes secs étudiés.....	50
1.2. Teneurs moyennes en flavonoïdes totaux.....	55
1.2.1. Légumes secs crus.....	55
1.2.2. Légumes secs cuits.....	58
1.2.3. Eaux de cuisson.....	59
1.2.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en flavonoïdes totaux des légumes secs étudiés.....	60
1.3. Teneurs moyennes en tanins extractibles.....	64
1.3.1. Légumes secs crus.....	64
1.3.2. Légumes secs cuits.....	66
1.3.3. Eaux de cuisson.....	68
1.3.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en tanins extractibles.....	69
1.4. Teneurs moyennes en anthocyanes.....	73
1.4.1. Légumes secs crus.....	73
1.4.2. Légumes secs cuits.....	75
1.4.3. Eaux de cuisson.....	76
1.4.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en anthocyanines.....	77
<b>2. Profils chromatographiques des composés phénoliques.....</b>	<b>79</b>
2.1. Profils chromatographiques des extraits de lentilles.....	79
2.1.1. Extraits de lentilles crues.....	83
2.1.2. Extraits de lentilles cuites.....	84
2.1.3. Eaux de cuisson de lentilles.....	85
2.2. Profils chromatographiques des extraits de petits pois.....	87
2.2.1. Extraits de petits pois crus.....	91
2.2.2. Extraits de petits pois cuits.....	91
2.2.3. Eaux de cuisson de petits pois.....	92
2.3. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits d'haricots secs.....	93
2.3.1. Extraits d'haricots secs crus.....	97
2.3.2. Extraits d'haricots secs cuits.....	98
2.3.3. Eaux de cuisson d'haricots secs.....	99
2.4. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits de pois chiches.....	99
2.4.1. Extraits de pois chiches crus.....	103
2.4.2. Extraits de pois chiches cuits.....	103
2.4.3. Eaux de cuisson de pois chiches.....	104
2.5. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits de fèves.....	105
2.5.1. Extraits de fèves crues.....	108

2.5.2. Extraits de fèves cuites.....	109
2.5.3. Eaux de cuisson de fèves.....	109
<b>3. Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des légumes secs.....</b>	<b>111</b>
3.1. Activités antiradicalaires des extraits des légumes secs.....	111
3.1.1. Activité antiradicalaire évaluée par le test de DPPH <sup>•</sup> .....	111
3.1.1.1. Extraits des échantillons crus.....	112
3.1.1.2. Extraits des échantillons cuits.....	115
3.1.1.3. Extraits des eaux de cuisson.....	117
3.1.2. Activité antiradicalaire évaluée par le test de ABTS <sup>•+</sup> .....	120
3.1.2.1. Extraits des échantillons crus.....	121
3.1.2.2. Extraits des échantillons cuits.....	123
3.1.2.3. Extraits des eaux de cuisson.....	124
3. 2. Activités antioxydantes des extraits des légumes secs.....	126
3.2.1. Extraits des échantillons crus.....	126
3.2.2. Extraits des échantillons cuits.....	127
3.2.3. Extraits des eaux de cuisson.....	129
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>131</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>134</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	

Un consensus s'est dégagé sur l'intérêt que présentent les légumineuses ou légumes secs d'un point de vue agronomique, nutritionnel, économique et territorial. Des recommandations nutritionnelles incitent à leur consommation régulière en alternance des produits animaux (Bonnet, 2016). L'évolution vers des régimes alimentaires plus diversifiés et de plus grande qualité nécessite d'urgence des actions de sensibilisation aux rôles des légumineuses dans la nutrition familiale. L'Organisation des Nations Unies a proclamé l'année 2016 année internationale des légumineuses, et a ainsi donné une occasion exceptionnelle de déterminer les contributions majeures apportées par cette famille de plantes et la manière de les renforcer (Sieglinde *et al.*, 2018).

On entend par "légumes secs", les légumineuses qui produisent une graine sèche utilisée pour l'alimentation humaine ou animale (FAO, 1994). Les légumes secs appartiennent à la famille des *Leguminosae*, ou *Fabaceae*, troisième famille de plantes à fleurs, dans laquelle on trouve des espèces dotées de caractéristiques uniques qui contribuent de manière essentielle aux moyens de subsistance, à la nutrition et aux systèmes de production durables. Les légumineuses sont essentielles à une production durable, du fait qu'elles contribuent à la productivité des sols par des apports directs d'azote fixé biologiquement (Giller et Cadisch, 1995) par les bactéries *Rhizobium* vivant en symbiose au niveau de leurs racines dans des organes appelés nodosités (Dequiedt, 2012).

Les légumineuses alimentaires sont particulièrement appréciées pour leurs produits riches en nutriments, notamment la graine et, très souvent, la partie végétale (feuilles et gousses) (Dixon et Sumner, 2003). Les avantages nutritionnels des légumineuses ne s'arrêtent pas à la teneur élevée en protéines. Ces plantes contribuent ainsi de manière cruciale à la nutrition humaine, en offrant une source extrêmement importante en vitamines du groupe B, de fer, de zinc, de magnésium et de calcium (Messina, 1999). Les composés phytochimiques et les fibres alimentaires figurent également parmi les avantages nutritionnels d'une alimentation riche en légumineuses.

La teneur élevée en nutriments des légumineuses tient à leurs propriétés complexes et très particulières au plan biochimique. Au cours de l'évolution, de nombreuses légumineuses ont développé des ensembles uniques de composés biochimiques, qui sont autant de mécanismes de défense face à la préférence manifestée par les insectes et d'autres animaux pour les tissus riches

en nutriments et, dans certains cas, de mécanismes d'adaptation au stress dans des environnements marginaux (Cullis et Kunert, 2016).

Il n'est donc pas surprenant de trouver dans les graines et autres produits alimentaires issus des légumineuses à la fois des propriétés nutritionnelles et antinutritionnelles. Il s'agit notamment d'inhibiteurs d'enzymes, de lectines, et de polyphénols et, dans certains cas, de tanins (Odeny, 2007). De tels composés sont souvent associés à une moindre valeur nutritionnelle des aliments, car ils entraînent une diminution de la digestibilité, ainsi que de la biodisponibilité de certains minéraux. Un traitement des graines de légumineuses par des moyens mécaniques ou biologiques (fermentation, par exemple) ou par la chaleur est souvent nécessaire pour éliminer ces propriétés antinutritionnelles (Deshpande *et al.*, 1982) et améliorer la biodisponibilité de certains minéraux.

Des études épidémiologiques suggèrent qu'une diminution de l'incidence des maladies cardiovasculaires est associée à une forte consommation de composés phénoliques (Hooper *et al.*, 2008) et qui ont été considérés avant comme étant des facteurs antinutritionnels. Leur activité biologique a été attribuée à leurs capacités antioxydante et antiradicalaire. Du fait de leur faible absorption et de leur forte métabolisation dans notre corps, leurs effets biologiques ont été associés à leurs interactions avec un certain nombre de voies de signalisation cellulaires (Vauzour, 2010). Cependant, ils peuvent aussi interagir au niveau du tractus digestif : d'une part sur les enzymes digestives (Amiot *et al.*, 2016) et d'autre part avec les fibres sur le microbiote (Awika *et al.*, 2018). Selon ces derniers, les polyphénols des légumineuses ont des structures différentes de ceux des céréales, leur bio-activité est donc différente, complémentaire, voire synergique, d'où l'intérêt de leur consommation simultanée, dans des plats composés.

Les légumineuses sont considérées comme une bonne source de polyphénols bien que les teneurs en polyphénols totaux soient très variables suivant les genres et les espèces (et également selon les méthodes et les solvants d'extraction utilisés): d'environ 100 mg à 200 mg équivalent acide gallique/100g de matière sèche dans le pois chiche, 250 mg dans le pois sec, de 400 à 700 mg dans les lentilles, et jusqu'à plus de 2000 mg dans le pois carré ou les fèves (Singh *et al.*, 2017). Les composés dominants sont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les procyanidines, et également une quantité importante d'anthocyanidines ou tanins condensés dans les graines ayant des enveloppes colorées (Amarowicz et Pegg, 2008). Une part importante des polyphénols des légumineuses est concentrée dans l'enveloppe extérieure de la graine, ce qui entraîne une perte importante lorsque la graine est décortiquée au cours du procédé de transformation.

L'estimation de l'apport alimentaire en composés phénoliques reste difficile du fait de la vaste diversité des composés présents, à laquelle s'ajoutent les multiples possibilités de conjugaison (Mazza, 1995).

De plus, la quantité et la qualité des polyphénols dans les légumes secs peuvent varier sensiblement en fonction des différents facteurs. Une série de facteurs est liée à la plante et sa culture et comprend le bagage génétique, les pratiques agricoles, la fertilité du sol, les conditions climatiques, la présence de ravageurs et les méthodes de lutte contre ces derniers, le calendrier de récolte et le degré de maturité à la récolte. Une autre série de facteurs prend sa source au moment où la plante quitte la ferme où elle a été cultivée, et est acheminée vers le consommateur. Les facteurs liés à la conservation et à la préparation des aliments chez le consommateur ont également une incidence sur la teneur de ces substances, une incidence parfois importante (Charles et Benbrook, 2005).

Les légumes secs doivent subir la cuisson afin d'être consommés. L'effet de la cuisson sur la teneur et le profil en composés phénoliques ainsi que leurs capacités antioxydante et antiradicalaire n'ont pas été largement étudiés (Barkat et Kadri, 2011).

Dans ce contexte, les principaux objectifs de ce travail consistent à évaluer la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, tanins extractibles et en anthocyanines extraits à partir de cinq espèces de légumes secs : les haricots secs (*Phaseolus vulgaris*), les lentilles (*Lens culinaris*), les petits pois (*Pisum sativum*), les fèves (*Vicia faba*) et les pois chiches (*Cicer arietinum*) crues, cuites à l'eau et les eaux récupérées de leur cuisson, déterminer leurs profils phénoliques, évaluer le pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH.(2,2-diphényl-1-picrylhydrazile et la méthode de l'ABTS.+ (acide 2,2'-azinobis-3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la capacité de moduler le système redox, en évaluant la réduction du cuivre: test CUPRAC.

Le manuscrit est structuré comme suit: la première partie est une étude bibliographique, évoquant des généralités sur les légumes secs ou légumineuses alimentaires. Elle décrit aussi quelques propriétés structurales et biologiques des composés phénoliques, et les facteurs influant leur composition et leur teneur. La deuxième partie décrit l'échantillonnage, le matériel et les méthodes utilisés pour l'extraction et l'évaluation des teneurs en composés phénoliques ainsi que la détermination des profils phénoliques des extraits de légumes secs avant et après

cuisson et ceux des eaux récupérées de leur cuisson, ainsi que de l'évaluation de leurs activités antiradicalaire (DPPH et ABTS) et antioxydante (CUPRAC). La troisième partie de ce travail expose les résultats obtenus et leur discussion, suivis d'une conclusion générale avec des perspectives.

## 1. Légumineuses alimentaires

### 1.1. Concept de légumineuses alimentaires ou légumes secs

Les légumineuses furent parmi les premières cultures vivrières réalisées par l'homme. Leurs histoires, en tant que plantes cultivées, remonte 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 conduit 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).

La famille botanique des légumineuses à graines est connue sous le nom *Fabaceae*, également dénommée *Léguminosae* (Jezierny *et al.*, 2010). C'est la famille la plus importante des dicotylédones. Elle regroupe 22000 espèces qui sont caractérisées par des fleurs à cinq pétales et un ovaire supérieur qui forme une gousse remplie de grains riches en protéines (Cronk *et al.*, 2006).

En termes de surface et de quantité produite, les légumineuses constituent la seconde famille de plantes cultivées après les céréales (Gepts *et al.*, 2005). Parmi les représentants de cette famille, on distingue : les protéagineux à grains (pois, haricot, fève, pois chiche et lentille), les protéagineux fourragers (luzerne et trèfle), et les oléo protéagineux (soja et arachide) (Cazaux, 2009).

Les légumes secs, qui sont les grains secs de légumineuses protéagineuses, se distinguant des graines de légumineuses oléagineuses par leur faible teneur en matière grasse (FAO et OMS, 2007). En Algérie, les espèces de légumineuses alimentaires les plus cultivées sont: les lentilles (*Lens culinaris* L.), les pois chiches (*Cicer arietinum* L.), les pois (*Pisum sativum* L.), les fèves (*Vicia faba* L.) et les haricots (*Phaseolus vulgaris* L.) (M.A, 1998).

### 1.2. Place des légumes secs dans l'alimentation humaine

Les légumes secs ont été appelés « la viande du pauvre », appellation qui a son intérêt et son importance à divers titres, historiques et d'autres. En premier lieu, elle implique l'idée de succédané de la viande, le fait que les légumineuses étaient précieuses, à ce titre était perçu avant que leur teneur élevée en protéines ait été mise en évidence par analyse chimique. En seconde



lieu, l'expression fait mention de la pauvreté, il existe au niveau social national une relation inverse entre la consommation des graines de légumineuses et celle des produits d'origine animale, y compris la viande, en effet les pays pauvres consomment plus de graines de légumineuses et moins de produits d'origines animales que les pays riches. Enfin l'appellation «viande du pauvre » est déplorable, car elle implique aussi l'idée d'aliment de «deuxième classe» (Aykroyd et Doughty, 1982).

Donc, les légumes secs constituent une part importante de l'alimentation humaine, particulièrement dans les pays en développement où ils sont la principale source de protéines, de glucides, de fibres et de fournir de nombreuses vitamines et minéraux. Citons le haricot en Amérique Latine, le pois chiche, la lentille et la fève dans le bassin méditerranéen et le petit pois dans le monde entier (Lezek- Ben-Friha, 2008). En plus, ces légumes secs, sont utilisées pour l'alimentation animale (Vidal-Valverde *et al.*, 2002).

Leurs propriétés hautement nutritives ont été associés à de nombreux bénéfiques pour la santé. Des propriétés telles que la gestion des taux de cholestérol élevés et diabète de type 2 et dans la prévention des différentes formes du cancer. Cependant les légumineuses contiennent de nombreuses protéines anti-nutritionnelles, comme les lectines et la protéase inhibitrices. Divers effets délétères peuvent s'en produire suite à l'ingestion de graines de légumineuses ou de farines, par exemple l'hémagglutination, des ballonnements, des vomissements, en raison de l'activité des composés antinutritionnels à l'intérieur de l'hôte (Roy *et al.*, 2010).

Les légumes secs représentent une part importante, à la fois quantitativement et qualitativement, de notre alimentation. 300 à 400 g par jour de légumes secs sont recommandés. Ils sont le deuxième pourvoyeur de calcium de l'alimentation solide après les produits laitiers. Ils peuvent apporter de 10 à 30% des besoins quotidiens. Les fibres ont des effets connus sur le transit intestinal. Deux mécanismes d'action entrent en œuvre selon le type de fibres : les fibres insolubles en absorbant l'eau augmentent le poids des selles ce qui favorise le péristaltisme, et les fibres solubles forment un gel à la surface de la paroi intestinale, favorisant la progression des selles (Depezay, 2007).

Les antioxydants agissent sur notre santé en piégeant les radicaux libres en excès, et en évitant ainsi une oxydation trop importante de nos cellules, autant dire le vieillissement. Les couches des graines des légumes secs sont riches en antioxydants particulièrement les polyphénols qui pourraient remplacer les antioxydants de synthèse (Moise *et al.*, 2005).

### 1.3. Composition biochimique et apport nutritionnel

Les légumineuses contiennent naturellement beaucoup de fibres, de protéines, pauvres en matières grasses et représentent une source importante de glucides (Tableau 01).

**Tableau 01.** Composition biochimique globale de quelques légumineuses (FAO, 2016)

Nom Commun	Nom Scientifique	Energie (kcal)	Protéine (g)	Matière Grasse (g)	Fibre (g)	Glucide (g)
Fève sèche	<i>Vicia faba</i>	300	26,1	1,8	26,3	31,7
Niébé sec	<i>Vignaun guiculata</i>	316	21,2	1,3	15,3	47,2
Lentille	<i>Lens culinaris</i>	336	25,4	1,8	10,7	49,3
Haricot noir	<i>Phaseolus vulgaris</i>	288	21,3	1,2	21,8	37
Haricot blanc	<i>Phaseolus vulgaris</i>	315	22,3	1,5	15,3	45,5
Pois chiche	<i>Cicer arietinum</i>	340	21,2	5,4	12,4	45,5
Pois vert sec	<i>Pisum sativum</i>	308	18,44	1,4	26	42,4

Les légumineuses comportent des fibres solubles et insolubles. Les fibres solubles sont utiles pour faire baisser le taux de cholestérol sanguin et pour contrôler le taux de sucre dans le sang, et les fibres insolubles aident à la digestion et contribuent à la régularité du transit (FAO, 2016).

Elles ont des teneurs naturellement faibles en acides gras saturés, et parce qu'elles sont des aliments végétaux, elles sont également exemptes de cholestérol (Rémond et Walrand, 2017).

Elles présentent un intérêt sur le plan de la richesse en protéines et de l'équilibre en acides aminés essentiels. Elles ont un déficit relatif en méthionine, acide aminé soufré, qui en donc le facteur limitant réduisant la valeur biologique et donc l'efficacité biologique des légumineuses (Huignard *et al.*, 2014).

Sur le plan nutritionnel, les légumes secs sont également une source intéressante de vitamines du groupe B, y compris de vitamine B9, et des sels minéraux, magnésium, potassium et cuivre (Schneider et Huyghe, 2015) (Tableau 02). Les vitamines et les sels minéraux sont des excellents antioxydants qui ralentissent le vieillissement naturel (FAO, 2016).

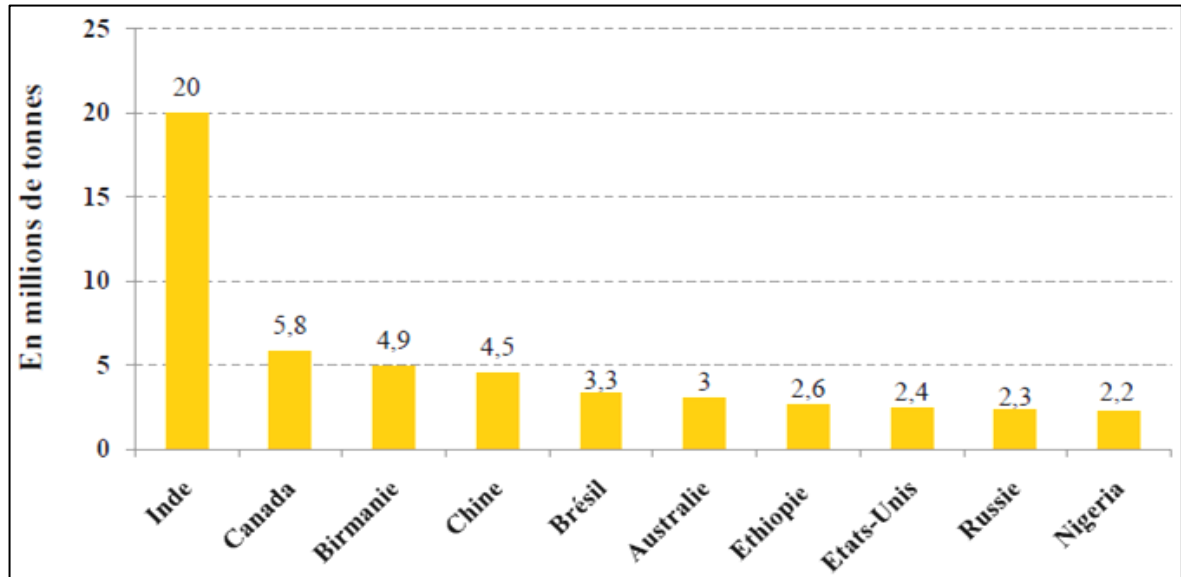
**Tableau 02.** Vitamines et sels minéraux de quelques légumineuses (FAO, 2016)

Nom commun	Fe (mg) Fer	Mg (mg) Magnésium	P (mg) Phosphore	K (mg) Potassium	Zn (mg) Zinc	Cu (mg) Cuivre	Vit B9/ (mg/100g) Folate
Fève, sèche	6,1	191	506	1080	3,1	0,82	423
Niébé sec	7,3	187	387	1210	4,61	0,68	417
Lentille	7	103	391	855	3,9	0,74	295
Haricot noir	6,5	188	471	1416	2,9	0,83	444
Haricot blanc	5,49	175	407	1185	3,65	0,834	364
Pois chiche	5,4	146	342	1116	3,2	0,67	557
Pois vert sec	3,5	116	295	1010	2,39	-	138

## 1.4. Production des légumes secs

### 1.4.1. Production mondiale

La Figure 01 résume la production des légumes secs par les dix premiers pays producteurs au monde. Avec 20 millions de tonnes de production, l'Inde est de loin le premier producteur mondial de légumineuse selon le FAO (2016).

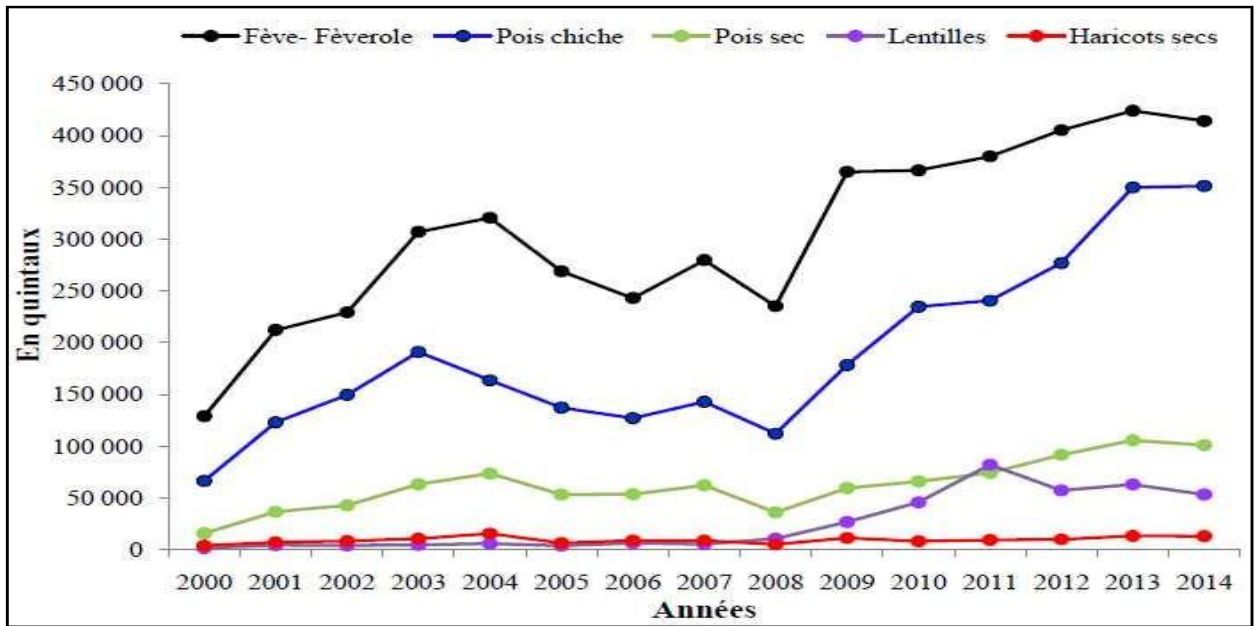


**Figure 01.** Production mondiale de quelques légumineuses (FAO, 2016)

En 2018, la production était de 80 millions de tonnes portée par une forte demande en Inde qui fait partie des principaux producteurs (22 millions de tonnes) suivi du Canada (8 Mt) et de la Birmanie (6 Mt). Le haricot représenterait à lui seul près de 33 % de la production mondiale de légumineuses, suivi par le pois chiche (17 %) et le pois sec (16 %) (Cherif *et al.*, 2019).

### 1.4.2. Production nationale

La politique du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR) vise à un développement économique du pays et se fixe comme objectif, la sécurité alimentaire, il concerne les productions végétales et le développement des légumes secs. La Figure 02 résume la production nationale des légumes secs pour la période (2000-2014).



**Figure 02.** Production nationale par type de légumineuse (FAOSTAT, 2016)

Selon Cherif (2019), la filière légumineuse en Algérie a enregistré de grandes performances en 2018, et ce, avec une importante production, principalement pour les pois chiches et les lentilles. Pour la campagne 2017/2018, elle a atteint 1,3 millions de quintaux soit une évolution de 63% par rapport à l'année 2017. Mais globalement, les besoins sont beaucoup plus importants. Ils sont estimés à 2,8 millions de quintaux, d'où le recours à l'importation.

### 1.5. Conditionnement et stockage des légumes secs

On entend par stockage, la phase du système post-récolte, durant laquelle les produits sont conservés, de façon appropriée, afin de garantir la sécurité alimentaire des populations en dehors des périodes de production agricole. Pour atteindre cet objectif, il faut évidemment adopter des mesures visant à préserver, dans le temps, la qualité et la quantité des produits stockés (De Lucia et Assennato, 1992).

Les graines des légumes secs peuvent être stockées dans toutes sortes de conteneurs allant des gourdes en terre, des paniers, des cabanes, jusqu'aux grands silos en métal ou en ciment (Hayma, 2004).

Dans le stockage traditionnel, les graines sont conservées dans des greniers de forme ronde ou carrée, généralement en terre plus ou moins additionnés de fibres végétales. L'inconvénient majeur de cette méthode est la très forte humidité et les eaux d'infiltration qui favorisent le développement des moisissures et la fermentation bactérienne (Doumandji *et al.*,

2003). Le stockage en sacs au magasin est la méthode la plus fréquemment utilisée, car elle exige un investissement plus faible que le stockage en vrac. Malheureusement, les sacs sont déposés par terre et sont exposés aux rongeurs et aux insectes vecteurs des spores des moisissures (Jard, 1995). Le stockage en vrac est encore peu répandu dans les pays en voie de développement, lorsqu'il est généralisé dans les pays développés. Les grains en tas sont laissés à l'air libre sous des hangars ouverts à charpente métallique. Malheureusement, les contaminations sont possibles d'autant plus que dans ce type de construction, il demeure toujours des espèces entre les murs et les toits et le libre passage des insectes est permis (Doumandji *et al.*, 2003). Ce sont des enceintes cylindriques en métal ou en maçonnerie, couvertes sur les parois internes d'une couche d'aluminium pour éviter les phénomènes de condensation. Ces silos permettent de stocker plusieurs types des légumes secs ou de céréales, ils sont multi produits. C'est une méthode efficace qui diminue les dégâts et limite l'attaque des ravageurs (Jard, 1995).

## **2. Composés phénoliques : métabolites d'intérêt**

A côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides et lipides), les végétaux accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

### **2.1. Classes des composés phénoliques**

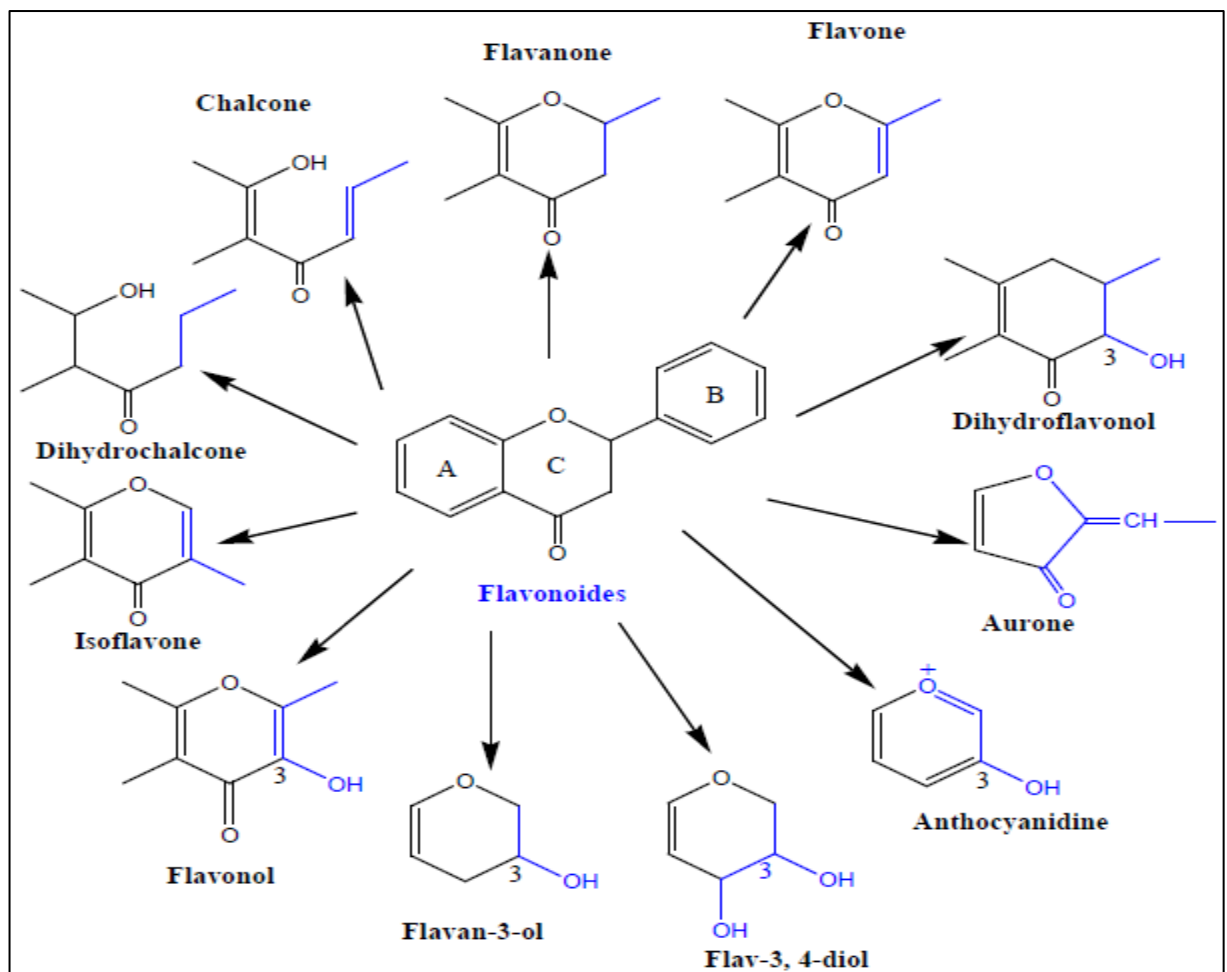
Les composés phénoliques sont largement répandus dans le règne végétal étant trouvés dans tous les fruits et les légumes. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées (Waksmundzka et Sherma, 2011). Ils sont synthétisés par l'ensemble des végétaux et ils participent aux réactions de défense face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, faible température, carences) et contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Visioli *et al.*, 2000).

Les composés phénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, 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).

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 le composant, en fonction de la nature de leur squelette carbonée 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).

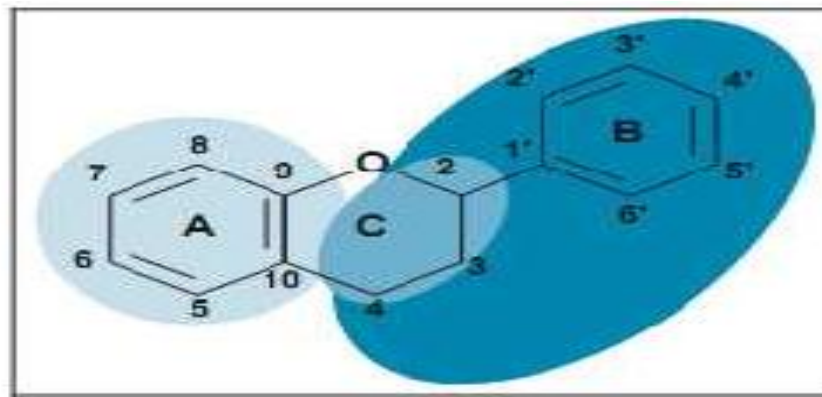
### 2.1.1. Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de dérivés naturels de benzo- $\gamma$ pyrane appartenant à la famille des polyphénols et très répandu dans les cellules photosynthétiques (Škerger *et al.*, 2005). Cette dénomination vient du mot latin *flavus*: jaune incluant les différents groupes (Figure 03) dont les flavones, les flavonones, les isoflavones, les flavonols, les catéchines et les pigments roses, rouges, pourpres et bleus nommés anthocyanines (Alsalvar *et al.*, 2005).



**Figure 03.** Structure chimique des principales familles des flavonoïdes (Erdman *et al.*, 2007).

Ces substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. Le squelette de base à quinze atomes de carbone, est constitué de deux unités aromatiques (A et B), reliées par une chaîne de trois atomes de carbone (Figure 04). Environ 9000 structures ont été identifiées (Martens et Mithöfer, 2005). Les composés de chaque sous classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles A et B et la chaîne intermédiaire (Pietta, 2000).

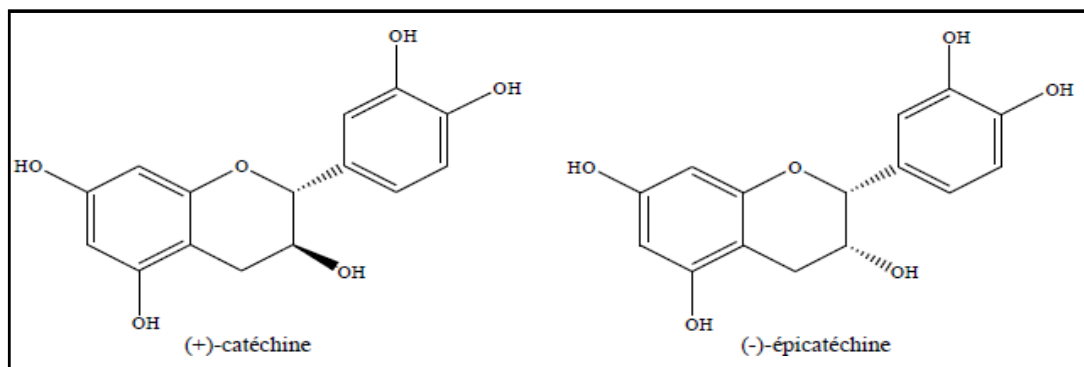


**Figure 04.** Structure de base des flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008)

*En bleu ciel, pont 3 carbones; en bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique; en bleu foncé, partie provenant de la voie de «l'acétate».*

#### 2.1.1.1. Flavanols

Ces molécules sont toujours hydroxylées en C3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C4 (Figure 05). Elles sont souvent à l'origine des polymères flavoniques appelés proanthocyanidols, ou tannins condensés. Les flavan-3-ols sont largement répandus dans les fruits et légumes, mais la source la plus riche de flavanols au sein de l'alimentation humaine est certainement le thé. Ce dernier contient principalement de la (-)-épicatéchine, de la (-)-épigallocatechin-3-*O*-gallate et de la (-)-épigallocatechine (Del Rio, 2010).

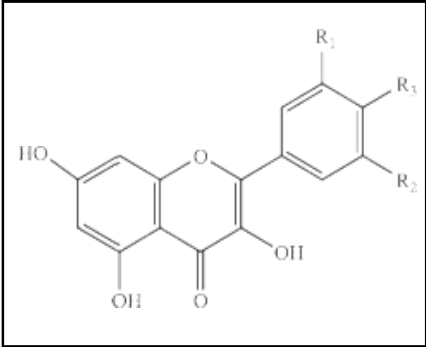


**Figure 05.** Exemples de structure chimique des flavan-3-ols (Fraga, 2009)

### 2.1.1.2. Flavonols, flavones et flavanones

Les flavonols sont caractérisés par la présence d'une double liaison en position 2-3 et d'un groupement hydroxyle en C3. Ce sont les flavonoïdes les plus répandus dans le règne végétal, leur couleur varie du blanc au jaune, elles sont essentiellement représentés par la quercétine, le kaempférol et la myricétine. Les flavonols qui s'accumulent dans les tissus végétaux sont presque toujours sous la forme conjugués glycosylés (Fraga, 2009). Les flavonols (hydroxy-3flavone) sont les plus largement rependus. Ils sont incolores et caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune primevère (Guignard, 1996). Les structures chimiques de quelques flavonols sont reprises ci-dessous (Figure 06).

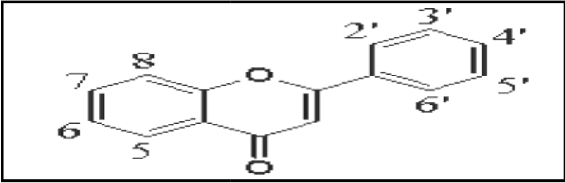
Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Références
Structures générale	H	H	H	(Yao <i>et al.</i> , 1999).
Kaempférol	H	H	OH	(Midmore et Rank, 2002).
Quercetine	OH	H	OH	(De-Oliveira <i>et al.</i> , 2004).
Myricetine	OH	OH	OH	(Uddin <i>et al.</i> , 2006).



**Figure 06.** Structure chimique de quelques flavonols

Les flavones sont structurellement très similaires aux flavonols et ne diffèrent que par l'absence d'hydroxylation en position 3 sur le cycle C (Figure 07). Elles sont principalement représentées dans l'alimentation par l'apigénine et la luteoline. Contrairement aux flavonols, elles sont moins répandues dans les fruits et les légumes. Par conséquent, leur apport alimentaire est très faible (Fraga, 2009). Les flavones étant principalement trouvés sous forme de glucosides (Chira *et al.*, 2008).

Composés	5	7	4'	3'
Apigénine	OH	OH	OH	-
Luteoline	OH	OH	OH	OH



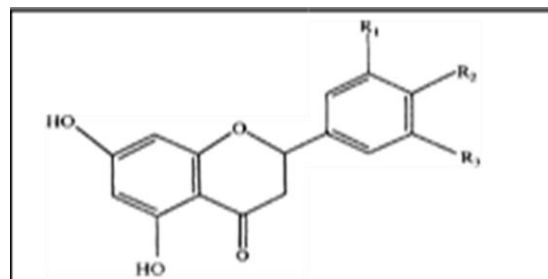
**Figure 07.** Structure chimique des flavones (Rice-Evans, 1999)

Les flavanones ont une fonction cétone en C4, mais pas de double liaison C2=C3, ni de groupe – OH en C3 (Figure 08). Cette structure brise la conjugaison des doubles liaisons entre les trois noyaux et affaiblit l'activité antioxydante (Tsumbu, 2012); 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).

Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Hesperetine	H	OCH <sub>3</sub>	OH
Naringenine	H	OH	H
Eriodictyol	H	OH	OH

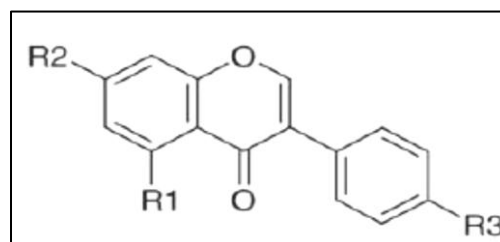


**Figure 08.** Structure chimique des flavanones (O'connell et Fox, 2001)

### 2.1.1.3. Isoflavones et chalcones

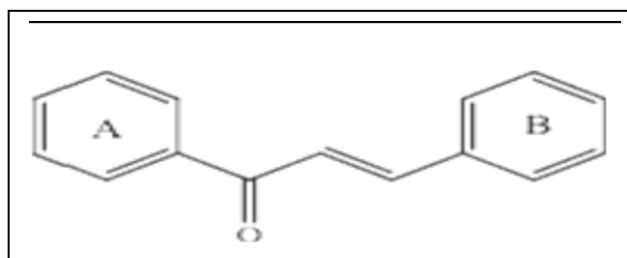
Les isoflavones sont considérées comme des dérivés classe importante et très distinctive des flavonoïdes. Contrairement à la plupart des autres flavonoïdes, les isoflavones sont caractérisées par la présence d'un cycle B fixé à C3 plutôt que la position C2 (Figure 09). Ils ont une distribution très limitée dans le règne végétal (Fraga, 2009). Les isoflavones sont contenues presque exclusivement dans les légumineuses (Tapas *et al.*, 2008).

Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Biochanine	OH	OH	OCH <sub>3</sub>
Sissotrine	OH	7-O-GLU	OCH <sub>3</sub>
Genisteine	OH	OH	OH



**Figure 09.** Structure des isoflavones (Rijik *et al.*, 2006).

Les chalcones sont des flavanoïdes ne comportant pas d'hétérocycle C (Figure 10). Ils sont prénylés le plus souvent sur le noyau A tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué. Cette prénylation peut-être cyclique du type pyrano (Daffalla *et al.*, 2005) ou furano (Ahmadu *et al.*, 2007). Certaines d'entre-elles présentent une O-prénylation linéaire (Lansky *et al.*, 2008).

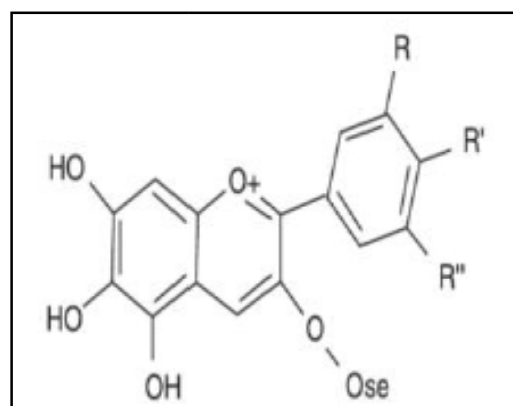


**Figure 10.** Structure chimique des chalcones (N'gouemo *et al.*, 1996)

#### 2.1.1.4. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles présents dans la plupart des espèces (Kong *et al.*, 2003). Ces pigments sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylum (Figure 11). Ils sont accumulés dans les vacuoles cellulaires (Kerio *et al.*, 2012), et ils sont responsables des couleurs rouges, violettes et bleues dans les fruits, les légumes, les fleurs et les graines, mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes (Shipp *et al.*, 2010). Les anthocyanes sont stabilisés dans les plantes par des interactions avec des acides aminés, des tanins, des 4-oxo-flavonoïdes (Vierling, 2008).

Pigment	R	R'	R''	couleur
Pélagonidine	H	OH	H	Rouge
Cyanidine	H	OH	OH	Bleu
Delphinidine	OH	OH	OH	Pourpre
Péonidine	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Rose
Pétunidine	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	Pourpre
Malvidine	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Mauve



**Figure 11.** Structure chimique des anthocyanes (Samouelian *et al.*, 2009)

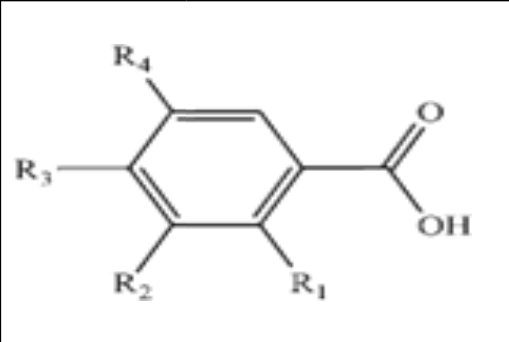
#### 2.1.2. Acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (N'khili, 2009).

##### 2.1.2.1. Acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C6-C1 (Figure 12), 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).

Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Ac benzoïque	H	H	H	H
Ac salicylique	OH	H	H	H
Ac <i>p</i> hydroxy benzoïque	H	H	OH	H
Ac gallique	H	OH	OH	OH
Ac protocatéchique	H	OH	OH	H

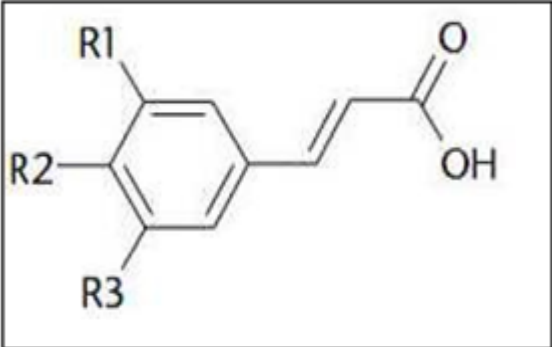


**Figure 12.** Structure des acides hydroxybenzoïques (Guignard, 1996)

### 2.1.2.2. Acides hydroxycinnamiques

Le squelette de base des acides hydroxycinnamiques C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (Figure 13) 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. 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).

Composés	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Acide cinnamique	H	H	H
Acide <i>p</i> coumarique	H	OH	H
Acide caféique	OH	OH	H
Acide férulique	OCH <sub>3</sub>	OH	H
Acide sinapique	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>



**Figure 13.** Structure des acides hydroxycinnamiques (Laguerre *et al.*, 2007)

### 2.1.3. Tanins, lignanes et stilbènes

#### 2.1.3.1. Tanins

Les tanins sont des composés polyphénoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (Gazengel et Orecchioni, 2013). Ce sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2008). Chez les végétaux supérieurs, il existe deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique (Figure 14).

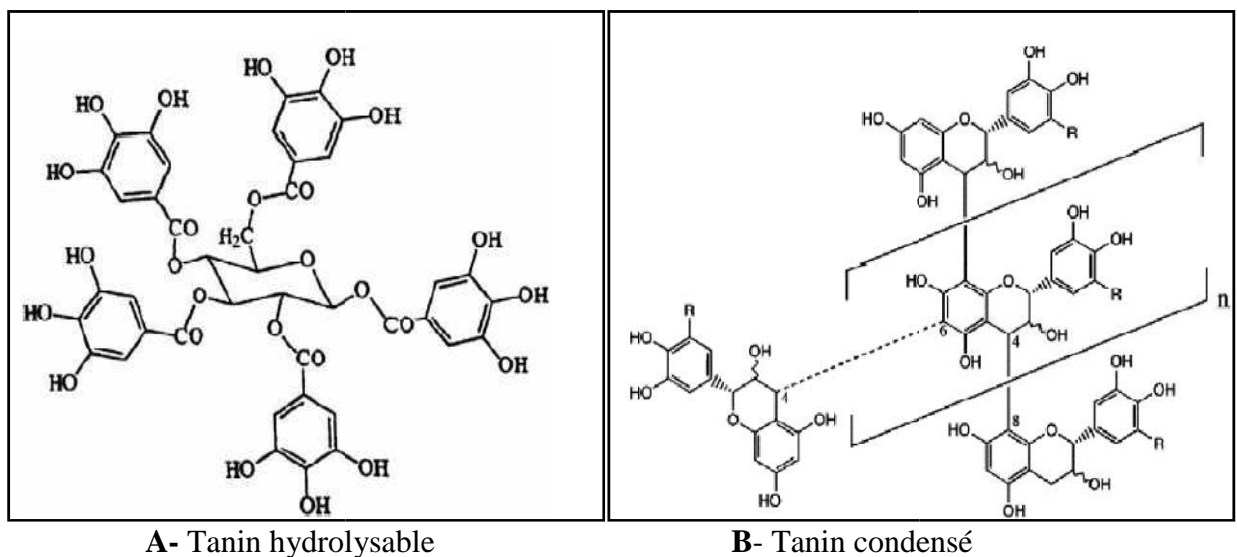
### ➤ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables (Figure 14 A) sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation, L'acide ellagique. Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tanins condensés (Jarrige *et al.*, 1995).

### ➤ Tanins condensés

Les tanins condensés (Figure 14 B) résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tanins condensés sont également appelés proanthocyanidines; en effet leur oxydation en milieu alcool- acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine. Ce type de molécules dotées de propriétés remarquables chez les plantes qui en sont pourvues (Merghem, 2009).

Les tanins condensés sont présents dans les vacuoles d'un réseau de cellules spécialisées, situées sous l'épiderme des feuilles et des tiges de certaines légumineuses tempérées et tropicales herbacées et arbustives, ainsi que dans les feuilles d'arbustes fourragers, etc. (Jarrige *et al.*, 1995).

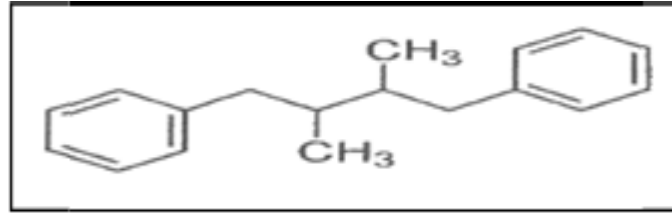


**Figure 14.** Structure d'un tanin hydrolysable et d'un tanin condensé (Guignard, 1996)

#### 2.1.3.2. Lignanes

Ce sont des composés dimères formés par le couplage de deux fragments (C6-C3) monomères dérivées de la voie des phénylpropanoïdes (Gilani et Anderson, 2002). Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique. Quand cette

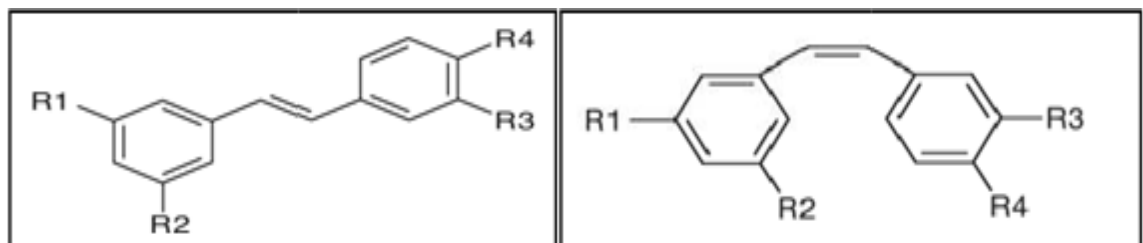
dimérisation implique une liaison oxydante par les C-8 des chaînes latérales propényles de deux unités d'alcool coniférique liées, formant la liaison (C8-C8), les métabolites résultants portent le nom de lignane (Figure 15). Les lignanes se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux (Fleuriet *et al.*, 2005).



**Figure 15.** Structure de lignane (Jost et Jost - Tse, 2016)

### 2.1.3.3. Stilbènes

Les stilbènes C6-C2-C6 font partie d'un groupe très vaste des polyphénols, celui des dérivés de l'acide cinnamique (phénylpropanoïdes). Ils sont présents dans toutes les sources végétales (Leray, 2010). La structure chimique de base des stilbènes est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène (C6-C2-C6). Les deux formes isomères des stilbènes (*cis* et *trans*) ont des propriétés chimiques et biologiques différentes (Figure 16) (Collin et Crouzet, 2011). Le resvératrol est le stilbène le plus étudié, en raison de sa présence dans les produits issus du raisin (jus frais, vin) et de ses nombreuses propriétés pharmacologiques (Leray, 2010).

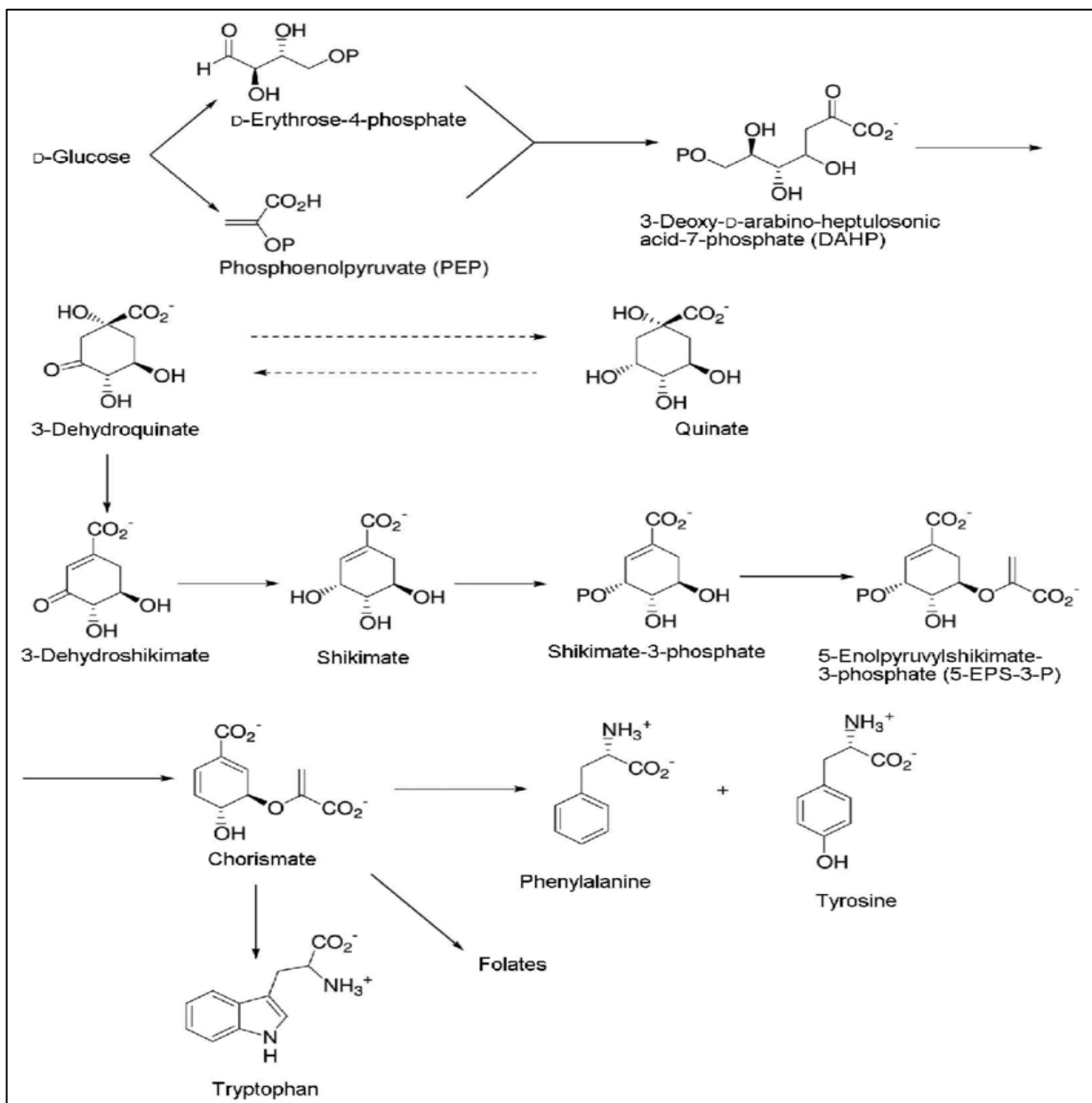


**Figure 16.** Structure de base des stilbènes (*trans* ou *cis*) (Collin et Crouzet, 2011)

## 2.2. Métabolisme des composés phénoliques

### 2.2.1. Biosynthèse

L'origine biosynthétique des composés phénoliques des végétaux est proche, tous dérivant de l'acide shikimique. Cette voie conduit à la formation des acides aminés aromatiques. Ces acides aminés, sont soit de la phénylalanine, qui est majoritaire chez les plantes, soit de la tyrosine (Figure 17) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés (Bruneton, 1993).



**Figure 17.** Schéma général de la voie de shikimate (Borah, 2015)

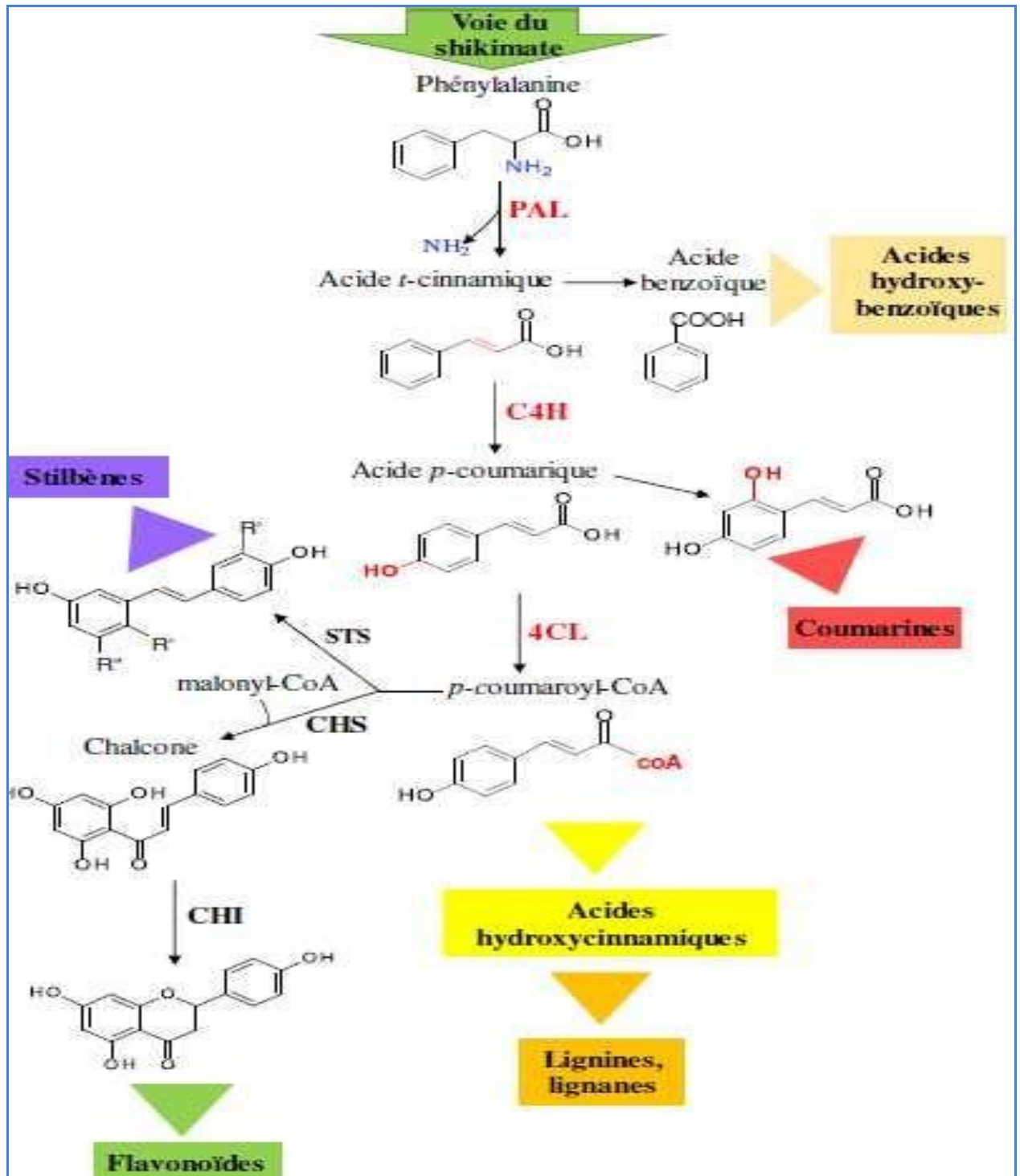
La diversité des phénylpropanoïdes est directement liée à plusieurs voies de biosynthèse qui permettent la conversion enzymatique des deux acides aminés par des décarboxylations, des oxydations/réductions, des hydroxylations, des glycosylations, des méthylations ou encore des acylations (Pichersky et Gang, 2000).

Dans le premier cas, la première enzyme mise en jeu est la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), qui appartient à la famille des ammonia-lyases, enzymes permettant la rupture de liaisons carbone-azote. Ainsi, elle catalyse la désamination de la phénylalanine pour former l'acide *trans*-cinnamique (Cochrane *et al.*, 2004). La deuxième étape de la synthèse de ces molécules consiste

en la conversion de l'acide *trans*-cinnamique en acide *para*-coumarique, par une réaction d'oxydation réalisée par la cinnamate 4-hydroxylase (C<sub>4</sub>H) (Teutsch *et al.*, 1993) (Figure 18).

Dans le second cas, c'est la tyrosine qui subit une désamination catalysée par la tyrosine ammonia-lyase (TAL) et qui génère directement le *p*-coumarate. Si la PAL est majoritairement impliquée dans la synthèse des polyphénols chez les végétaux, on retrouve tout de même la TAL chez certaines familles de plantes, et en particulier chez les monocotylédones (Neish, 1961).

Lors de la troisième étape de la synthèse des phénylpropanoïdes, l'acide *p*-coumarique est transformé en *p*-coumaroyl-CoA par la 4-coumarate : CoA ligase (4CL) (Ehlting *et al.*, 1999). Le *p*-coumaroyl-CoA est le point d'embranchement de plusieurs voies de biosynthèse car c'est le précurseur des différents dérivés phénylpropanoïques à savoir les flavonoïdes, les stilbènes, les coumarines, les acides hydroxycinnamiques et les lignines (Figure 18). La diversité de ces molécules résulte d'une série de réactions principalement assurées par des hydroxylases, des ligases, des transférases et notamment des méthyl transférases (Vogt, 2010).



**Figure 18.** Représentation simplifiée des différentes voies de biosynthèse des phénylpropanoïdes (Vogt, 2010)

*PAL*: Phénylalanine Ammonia Lyase; *C4H*: Cinnamate-4-hydroxylase ; *4CL* : 4-coumarate : coenzyme A ligase; *CHS* : Chalconesynthase ; *STS* : Stilbènesynthase ; *CHI* : Chacone isomérase. *R* : radical.



### **2.2.2. Biodégradation**

Les enzymes responsables de l'oxydation des polyphénols ou le brunissement enzymatique sont les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD).

Le rôle des peroxydases dans le brunissement enzymatique est limité par la biodisponibilité des peroxydes hydrogènes (Robards, 1999). Pour que la réaction d'oxydation ait lieu, il est indispensable que ces enzymes à localisation cytosolique ou membranaire soient mises au contact des polyphénols à localisation principalement vacuolaire (Bernillon, 2004). Les réactions enzymatiques ont donc lieu lorsque les tissus des végétaux sont altérés, par exemple lors de traumatismes mécaniques (broyage, récolte, pelage et découpe), technologiques (conservation au froid, congélation, décongélation, et irradiation) ou de troubles physiologiques (infections fongiques). Quand les fruits et les légumes sont pelés ou coupés, les enzymes contenues dans les cellules végétales sont libérées.

En présence d'oxygène, les oxydases (catéchol oxydase, ascorbate oxydase, phénol oxydases...) sont actives seulement au cours du premier stade de conversion des groupes phénol ou ènediol en composés carbonylés. La réaction qui suit n'est pas catalysée par les enzymes, mais sa vitesse dépend de celle du premier stade, les groupes carbonyles formés peuvent réagir avec des amines pour produire des polymères rouges et bruns (cas de l'oxydation de l'acide ascorbique) ou entraîner des cyclisations puis des polymérisations en pigments roses puis bruns (cas de l'oxydation des polyphénols en orthoquinone puis en mélanines) (Venkatachalam, 2012).

Les principaux substrats des polyphénoloxydases sont les composés phénoliques présentant un groupement ortho-diphénolique (Guyot, 2003) tels que l'épicatéchine, la catéchine et les procyanidines (Amaki, 2011). Les acides hydroxycinnamiques dont l'acide chlorogénique, sont préférentiellement oxydés et dégradés par la PPO (Guyot, 2007).

## **2.3. Teneurs, localisation et variabilité des polyphénols des légumes secs**

### **2.3.1. Teneurs en composés phénoliques**

Xu *et al.* (2007) ont rapporté que les lentilles contiennent plus de composés phénoliques (4,86 à 9,60 mg équivalent acide gallique(EAG)/g de MS) que le pois chiche (0,98 mg EAG /g de MS), le pois jaune (0,85-1,14 mg EAG/g de MS) et le pois vert (0,65-0,99 mg EAG /g de MS). Quant aux haricots, des teneurs allant de 11,2 à 25,3 mg équivalent catéchine (EC)/g de MS ont été signalés pour les cotylédons de sept cultivars (Rocha-Guzmán *et al.*, 2007). La teneur

en polyphénols totaux dans le tégument et les cotylédons de treize génotypes de féverole ont été signalés dans une fourchette de 45,6 à 107,6 et de 15,8 à 26,3 mg EAG /g de MS, respectivement (Chaieb *et al.*, 2011).

Les flavanols, flavan-3-ols, flavones et anthocyanidines sont les principaux flavonoïdes présents dans les graines de légumineuses (Amarowicz et Pegg, 2008). Selon Aguilera *et al.*(2010), les catéchines et les procyanidines représentent 69% des composés phénoliques identifiés dans les lentilles. Les haricots colorés contenaient 256,94 µg/g de catéchines et procyanidines dont les composés les plus abondants étaient (+)-catéchine, (+)-glucoside de catéchine (Aguilera *et al.*, 2011).

Une teneur en anthocyanes six fois plus élevée a été signalée chez le tégument de pois jaune que celles en graine entière. Les composés cyanidine 3-glucoside (88,44 µg/g) et pélargonidine 3- glucoside (50,72µg /g) sont les anthocyanes les plus abondantes dans les haricots noirs (López *et al.*, 2013). Les composés pélargonidine 3-Oglucoside (1,90 µg /g), cyanidin-3-O-glucoside (0,31 µg /g) et malvidin-3-O-glucoside (0,06 µg /g) sont les principales anthocyanes de l'haricot rouge (Dueñas *et al.*, 2015).

Il existe une grande variation au niveau de la teneur en tanins condensés (TC) chez les légumineuses consommées. Elle variait de 3,73 à 10,20 mg EC/g pour les lentilles; de 0,47 à 5,73 mg EC/g pour les haricots communs; de 0,22 à 0,59 mg EC / g pour le pois jaune et de 0,23 à 0,61 mg EC/g pour le pois verts (Xu *et al.*, 2007).

### **2.3.2. Localisation des polyphénols dans les légumes secs**

#### **2.3.2.1. À l'échelle tissulaire**

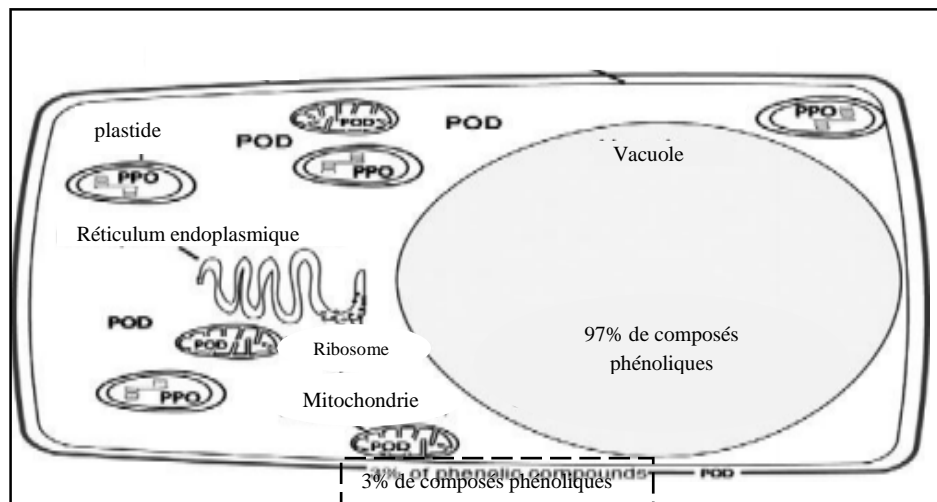
La localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au niveau de la plante entière, certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis (Bénard, 2009). Les couches externes de plantes contiennent des niveaux plus élevés de composés phénoliques que ceux situés à l'intérieur (Perez-Illarbe, 1991; Fernández de Simón, 1992 ; Bengoechea *et al.*, 1997).

#### **2.3.2.2. À l'échelle cellulaire**

La distribution des composés phénoliques au niveau tissulaire, cellulaire et subcellulaire n'est pas uniforme (Figure 19) (Beckman, 2000). Les composées phénoliques sont

principalement répartis dans deux compartiments: les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule (Bénard, 2009). Ils jouent un rôle de défense en répondant aux stress et aux agents pathogènes (Scalbert, 1993; Wallace *et al.*, 1994 et Baucher, 1998).

Certains flavonoïdes ont même été localisés au niveau du noyau des cellules (Macheix *et al.*, 2005). Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales (Bénard, 2009). Ils contribuent à la résistance mécanique de la cellule et jouent un rôle régulateur dans la croissance des plantes et leur morphogénèse (Scalbert, 1993; Wallace *et al.*, 1994 et Baucher, 1998). Le tégument des légumineuses est riche en composés phénoliques, bien qu'il représente environ 10% du poids total des graines (Xu *et al.*, 2007).



**Figure 19.** Localisation des composés phénoliques au niveau de la cellule  
(Toivonen et Brummell, 2004)

*POD: phénol peroxydase ; PPO: polyphénol oxydase*

### 2.3.3. Facteurs de variabilité des polyphénols des légumes secs

#### 2.3.3.1. Facteurs intrinsèques

##### ➤ Stade physiologique

Les teneurs en composés phénoliques des organes végétaux sont variables en fonction du stade physiologique. A l'exception des anthocyanes, la concentration en composés phénoliques se décroît au cours de la croissance et de la maturation. Chaque groupe de composés phénoliques peut évoluer au cours de la croissance selon une cinétique qui lui est propre, ce qui conduit alors à des proportions variables des différents composés en fonction du stade physiologique atteint (Macheix *et al.*, 2005).

➤ **Effet de l'espèce et de la variété**

L'expression du métabolisme phénolique dans la plante est la traduction du patrimoine génétique propre à chaque espèce. La nature et la teneur en composés phénoliques accumulés sont donc d'abord une caractéristique de l'espèce végétale considérée. En effet, il est possible de caractériser les différentes variétés d'espèces par une véritable empreinte phénolique qui peut être utilisée pour la certification de variétés nouvelles obtenues par hybridation. Ces mêmes approches peuvent permettre de déceler certaines fraudes dans des produits de l'agroalimentaire (Fleuriet et Macheix, 2003).

**2.3.3.2. Facteurs extrinsèques**

Le métabolisme phénolique est particulièrement sensible à l'action des facteurs externes comme la lumière, la température, les microorganismes pathogènes et les traitements appliqués par l'homme (Dinelli *et al.*, 2006).

➤ **Lumière**

L'importance de la lumière (spectre visible mais aussi UV contenus dans le rayonnement solaire) sur l'accumulation des anthocyanes se résume par l'intervention de deux paramètres: d'une part l'intensité du flux lumineux et d'autre part la nature des radiations constitutives. Elle agit directement, par l'intermédiaire des radiations bleues et rouges et du pigment végétal phytochrome sur l'activation du promoteur des gènes phénylalanine ammonialyase (PAL), ce qui se traduit alors par la transcription des ARNm puis la formation de la protéine enzymatique (enzyme du métabolisme) (Hahlbrock *et al.*, 1995).

➤ **Température**

La température est également un facteur de régulation de l'expression du métabolisme phénolique, souvent en interaction avec la lumière. Ainsi, un abaissement de la température associé à un traitement lumineux adéquat induit fréquemment une accumulation des anthocyanes. Là encore, la régulation pourrait intervenir au niveau de PAL elle-même, des inhibiteurs de l'enzyme pouvant être mis en place sous l'effet des températures élevées. Des perturbations du métabolisme phénolique peuvent quelques fois apparaître à la suite de traitements d'organes végétaux au froid, conduisant alors à des brunissements (Rhodes *et al.*, 1981).

➤ **Microorganismes pathogènes**

La contamination du végétal par des microorganismes pathogènes entraîne également une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, correspondant à la mise en place de mécanismes de défense de la plante (Dixon et Paiva, 1995).

➤ **Traitements appliqués par l'homme**

Certains traitements (application de fertilisants, irradiations, etc.) peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques, soit au cours de la croissance, soit au cours de la conservation des organes végétaux. Les conséquences sont souvent prévisibles car la réponse peut être très variable d'une espèce à l'autre et en fonction des doses appliquées et des durées de traitements. De profondes modifications de l'équipement phénolique interviennent également lorsque les organes végétaux sont soumis à des procédés technologiques destinés à les transformer (blanchiment, cuisson, etc.) (Macheix *et al.*, 2005).

## **2.4. Propriétés antioxydantes des polyphénols et effet santé**

### **2.4.1. Propriétés antioxydantes**

Selon Wang *et al.* (2010), une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des polyphénols, qui seraient attribuées à leur capacité d'inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases, leur pouvoir de chélater les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives (EOR) *via* les réactions de Fenton et Haber-Weiss et leur capacité à piéger directement les radicaux libres.

#### **2.4.1.1. Inhibition enzymatique**

L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR (Dangles et Dufour, 2006). Cette double action est bien illustrée par le cas de la xanthine oxydase, cet enzyme est considéré comme une source biologique importante de radical superoxyde. Cos *et al.* (1998), ont établi la relation entre la structure chimique des flavonoïdes et leur capacité d'inhiber la formation de superoxyde par inhibition de la xanthine oxydase (formation de complexes enzyme-inhibiteur) et/ou par réduction du superoxyde produit.

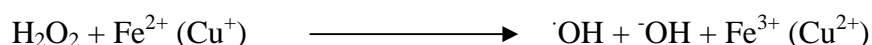
Les résultats de cette étude sont les suivants :

- Les flavanones, les dihydroflavonols et les flavan-3-ols (cycle C non plan) ne sont pas des inhibiteurs de la xanthine oxydase ;

- Les flavonols et les flavones (cycle C plan et conjugué avec les cycles A et B) ont la capacité d'inhiber l'enzyme ;
- L'absence du groupe hydroxyle en C3 augmente légèrement l'activité inhibitrice. Les flavonoïdes glycosylés ont des activités inférieures à celles des composés non glycosylés. Par exemple, la rutine est presque dix fois moins active que la quercétine ;
- Les flavonoïdes présentant un cycle B de type catéchol (ortho-diphénol ou 1,2-dihydroxybenzène) sont de bons pièges à superoxyde en raison de la stabilité des radicaux semi quinones formés lors de la capture.
- De nombreux flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs des métalloenzymes tels que lipoxygénase.

#### 2.4.1.2. Chélation des ions métalliques

Le Cuivre et le Fer libre génèrent des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive  $H_2O_2$ , par une réaction appelée réaction de Fenton (Boudon, 2001).



Le soi-disant réaction de Haber-Weiss de l'anion superoxyde  $O_2^{\cdot -}$  et du peroxyde d'hydrogène conduit alors à la génération des radicaux hydroxyles  $HO\cdot$  selon la réaction :

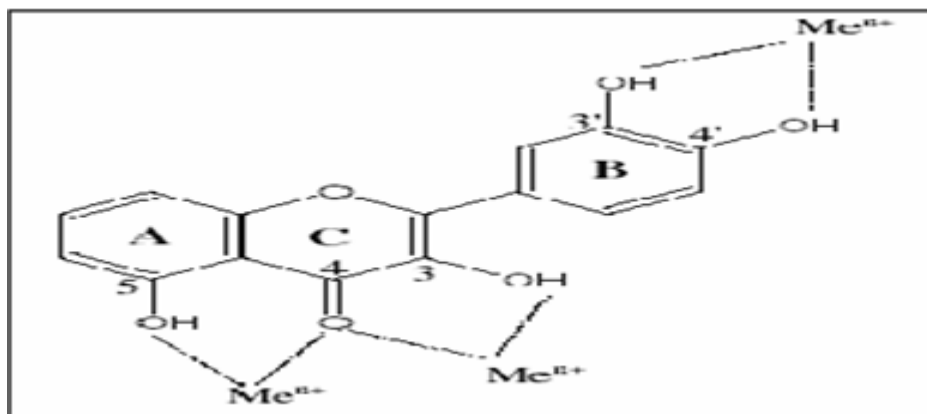


En outre, complexer les ions du Fer et du Cuivre sous une forme qui bloque leur activité redox est un mécanisme d'action antioxydante (Bouguerne, 2012).

Les études menées par Van Acker *et al.* (1996) sur la chélation des ions du fer par certains flavonoïdes ont mis en évidence les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques (Figure 20) :

- ✓ les groupes 3'-hydroxy et 4'-hydroxy du cycle B,
- ✓ les groupes 3-hydroxy et 4-oxo du cycle C,
- ✓ les groupes 4-oxo et 5-hydroxy.

Ainsi, la quercétine qui combine tous ces substituants est un complexant métallique particulièrement efficace.

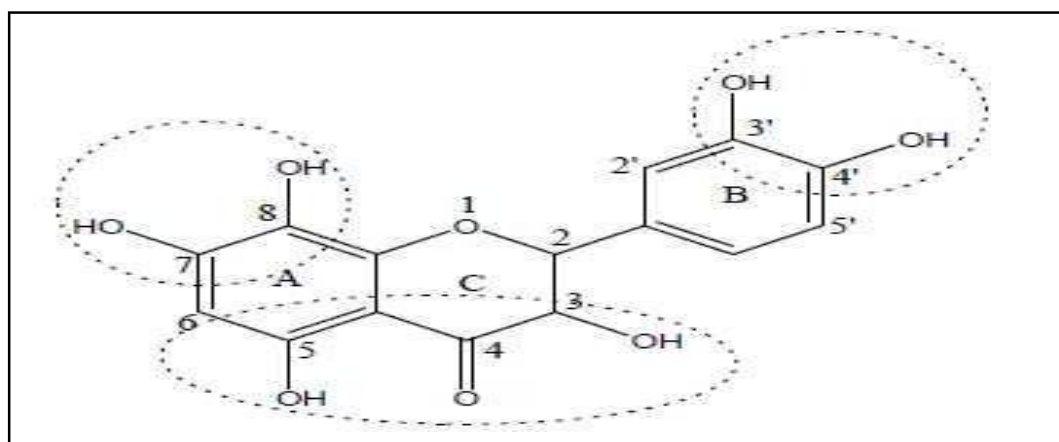


**Figure 20.** Sites des flavonoïdes proposés pour la chélation des ions métalliques ( $Me^{n+}$ ) (Van Acker *et al.*, 1996)

#### 2.4.1.3. Piégeage des radicaux libres

Les composés phénoliques possèdent une structure chimique idéale pour le piégeage des radicaux libres, parce qu'ils possèdent des groupes phénoliques hydroxyles qui sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron au radical libre (Dai et Mumper, 2010).

Les flavonoïdes en général et les flavan-3-ols en particulier sont de bons piégeurs des radicaux libres (Fraga, 2007). A cause la présence de 3',4'-dihydroxy et la présence du groupe *O*-dihydroxy (structure des catéchols) sur le noyau aromatique B; ils possèdent la propriété de donneur d'électrons. En outre, la présence du 3-OH du cycle C est également bénéfique pour l'activité antioxydante des flavonoïdes. La présence de la double liaison C2-C3 conjuguée avec le groupe 4-céto est responsable de la délocalisation des électrons du noyau B, ce qui améliore encore l'activité antiradicalaire (Figure 21) (Khazai *et al.*, 2011).



**Figure 21.** Caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité de piégeage des radicaux libres élevée (Khazai *et al.*, 2011)

Ainsi, Cuvelier (1992) a testé l'activité antioxydante des acides phénoliques et obtient les résultats suivants :

- Les acides cinnamiques ont une activité antiradicalaire supérieure à celle des acides benzoïques correspondants. Les acides caféique, sinapique, férulique et *p*-coumarique sont respectivement plus actifs que les acides protocatéchique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque. Ils sont plus actifs que les phénols simples: acide *p* coumarique > phénol et acide caféique > pyrocatéchol.
- Les acides benzoïques sont, quant à eux, moins actifs que leurs homologues phénols, ce qui tend à démontrer le rôle négatif du COOH directement fixé sur le noyau benzénique.
- L'addition d'un second OH sur le cycle aromatique augmente fortement l'activité antioxydante des acides phénoliques. Un troisième OH sur le cycle renforce également le caractère antioxydant (ex: acide gallique).
- Le groupement méthoxyle joue, dans une moindre mesure, le même rôle que les groupements OH.
- La présence de plusieurs unités de type acide phénolique peut concourir à renforcer l'activité antioxydante.

#### 2.4.2. Effet santé

Les bienfaits pour la santé des composés phénoliques sont liés à leur potentiel antioxydant et protecteur vis à vis des maladies chroniques induites par les radicaux libres (Xu et Chang, 2010).

La consommation d'aliments riches en composés phénoliques peut réduire le risque de nombreux problèmes de santé. Les haricots noirs crus et transformés sont une bonne source d'antioxydants naturels. Les cultivars de lentilles riches en flavonols peuvent être utilisés comme aliments fonctionnels et nutraceutiques pour promouvoir la santé, gérer le poids et prévenir le diabète (Zhang *et al.*, 2015). Alshikh *et al.* (2015), ont rapporté que la bioactivité de tous les composés a été confirmée par l'inhibition *in vitro* de la rupture des brins d'ADN induite par les radicaux peroxy et par conséquent, les lentilles devraient faire partie intégrante de l'alimentation humaine en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé.

García-Lafuente *et al.* (2014), ont confirmé que les haricots communs devraient être inclus dans le régime alimentaire car ils sont une excellente source d'agent anti-inflammatoire et fonctionnent comme un complément alimentaire pour la promotion de la santé humaine.



La haute concentration d'anthocyanes (en particulier de delphinidine) et d'acides phénoliques (acide férulique) rend la consommation des haricots avantageuse pour la santé et ils sont couramment utilisés comme ingrédients alimentaires fonctionnels (Mojica *et al.*, 2015).

Les propriétés bénéfiques des graines de légumineuses sont liées à la teneur et à la composition phénolique (acides phénoliques, flavonoïdes et tanins).

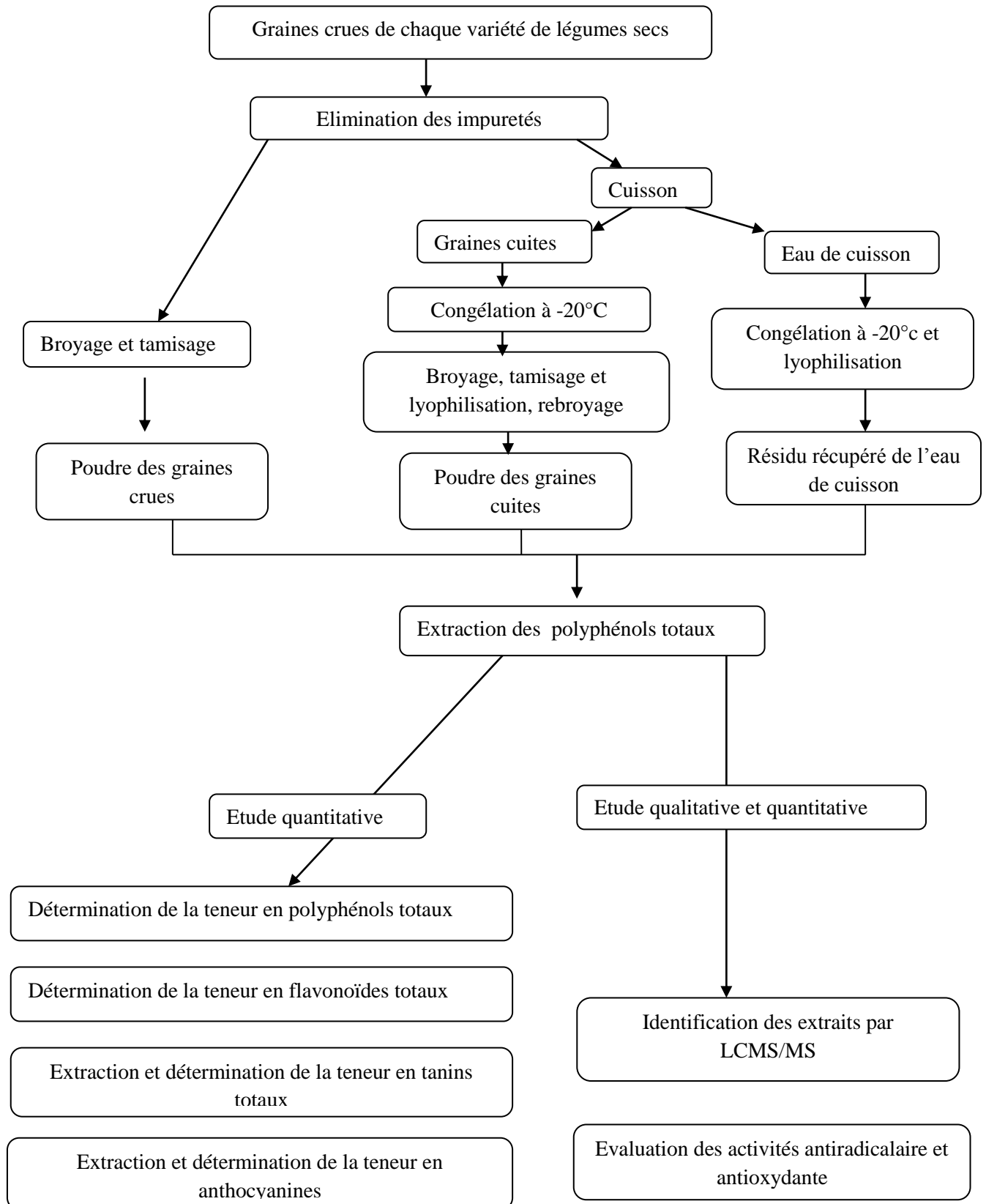
## 1. Matériel végétal utilisé

Cette étude a porté sur cinq espèces de légumes secs commercialisées et largement consommées en Algérie. Il s'agit des espèces suivantes : les lentilles (*Lens culinaris*: Var. *Ibla* et Var. *Metropole*), les pois chiches (*Cicer arietinum*: Var. *Flip* et Var. *Ghab 5*), les petits pois (*Pisum sativum* : Var. *Oinward* et *Messirl*), les haricots blancs (*Phaseolus vulgaris*: Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne*) et les fèves (*Vicia faba*: Var. *Aguadulce* et Var. *Shale*). Ces variétés nous ont été fournies en 2016 par le centre des céréales et des légumes secs (CCLS).

## 2. Méthodes utilisées

La méthodologie suivie est récapitulée dans la figure 22. La cuisson des graines des légumes secs de cinq espèces à savoir les haricots, les petits pois, les pois chiches, les lentilles et les fèves (soit deux variétés /espèce), l'extraction des composés phénoliques et la détermination de la teneur en tanins totaux et en anthocyanines ont été effectuées au laboratoire de recherche de biotechnologie et qualité des aliments (BIOQUAL) de l'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires (I.N.A.T.A.A), Université Frères Mentouri Constantine1 (UFMC1).

L'évaluation des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes ainsi que la détermination des activités antiradicalaire (DPPH et ABTS<sup>+</sup>) et antioxydante (CUPRAC) et la caractérisation des composés phénoliques par la méthode LC-MS/MS ont été réalisées au laboratoire de pharmacie et pharmacologie, du Département de pharmacie, Université Dicle, Diyarbakir, Turquie.



**Figure 22.** Diagramme récapitulatif de la méthodologie suivie.

## **2.1. Traitements appliqués sur les légumes secs**

### **2.1.1. Traitements appliqués sur les légumes secs crus**

Après triage manuel des graines (légumes secs) dont le but est d'éliminer les impuretés (graines cassées, graines infestées, graines étrangères, etc.), 300g de chaque variété (en tenant compte des trois répétitions) ont été broyées à l'aide d'un broyeur (SEB, FRANCE) pour les réduire en poudre (granulométrie < 250 µm). La poudre ainsi obtenue est conservée dans des flacons en verre opaque fermés hermétiquement et déposés à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration de l'échantillon.

### **2.1.2. Méthode de cuisson des légumes secs**

La cuisson des légumes réalisée est une simple ébullition dans l'eau, sans aucun ajout. Les paramètres contrôlés dans le procédé de cuisson sont le volume d'eau, la durée et la température de cuisson. Ces paramètres ont été fixés en se basant sur des essais préliminaires.

Chaque échantillon de légume (100 g) est placé dans une petite cocotte d'acier inoxydable (SEB, FRANCE) avec 600 ml d'eau distillée bouillante. La cuisson est faite à couvert pour diminuer la surface de contact avec l'air libre. Elle a été réalisée sur une plaque chauffante à 100°C et a duré environ de 30 à 45 minutes (selon l'espèce de légume sec).

### **2.1.3. Opérations post-cuisson**

Après cuisson à l'eau, les graines cuites ont été égouttées, puis congelées à -20°C. Après congélation, elles sont directement broyées et la poudre obtenue est lyophilisée dans le but de réduire sa teneur en eau. La poudre lyophilisée est rebroyée une deuxième fois et tamisée (< 250 µm).

L'eau résiduelle ayant servi à la cuisson a été récupérée et conservée dans des boîtes et congelée à -20°C. Après 24h de congélation, les cristaux d'eau ont été lyophilisés jusqu'à obtention d'un résidu.

## **2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques**

L'extraction des polyphénols totaux à partir des échantillons crus et cuits ainsi que de l'eau de cuisson a été réalisée selon le protocole proposé par Mujica *et al.* (2009). 1g de la farine de chaque échantillon est solubilisé dans 25ml du méthanol 80% (méthanol-eau distillée 80:20; v/v) acidifié avec 0,1% de l'acide chlorhydrique HCl (2N). Le mélange est laissé 2h à

température ambiante, puis il est centrifugé à 1800g pendant 15min. Le résidu est ré-extrait avec 25ml du méthanol pur et centrifugé une autre fois.

A la fin, les surnageants sont combinés et l'extrait sec est récupéré après une évaporation à sec (temps variables /45°C).

### 2.2.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux

Après sonication effectuée par un homogénéisateur à ultrasons (Jeiotech, USA) et filtration (filtre iso labptfe 0,45µm) des extrais méthanoliques, la teneur en polyphénols totaux a été déterminée en se basant sur la réaction de Folin Ciocalteu. En bref, 4 µl de chaque extrait ont été mis en microplaque à 96 puits et mélangé avec 4 µl de Folin Ciocalteu et 12 µl de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2% p/v). L'absorbance du mélange a été mesurée à 760 nm après 120 min d'incubation dans l'ombre à température ambiante à l'aide de lecteurs d'absorbance de microplaques (Biotek Eon, USA). La procédure a été répétée avec la solution de pyrocathécol utilisée comme standard (de 0 à 1000 ppm) (Ertas *et al.*, 2014). La teneur en polyphénols totaux a été calculée en µg d'équivalent de pyrocathécol par mg de matière sèche (µg EP/mg de MS) (Slinkard et Singleton, 1977) en se référant à la courbe d'étalonnage du pyrocathécol (Annexe 01).

La teneur en polyphénol total d'extrait a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Absorbance} = 0,0002 \text{ pyrocathécol} + 0,0329 \text{ (R}^2 = 0,9379\text{)}$$

### 2.2.2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux

De même, la teneur en flavonoïdes totaux a été effectuée sur un lecteur de microplaque à 96 puits (Eon, Biotek, USA). Par conséquent, 20 µl de chaque extrait, 172 µl d'éthanol 80% et 4 µl de nitrate d'aluminium Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> à 10% ont été placés dans chaque puit. L'absorbance du mélange a été mesurée à 415 nm après 40 minutes d'incubation dans l'ombre et à température ambiante. La procédure a été répétée avec la solution standard de quercétine (0 à 1000 ppm). Les teneurs en flavonoïdes totaux ont été calculées en µg d'équivalent de quercétine par mg de matière sèche (µg EQmg<sup>-1</sup> de MS) (Moreno *et al.*, 2000) en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (Annexe 02).

$$\text{Absorbance} = 0,002 \text{ quercétine} + 0,0978 \text{ (R}^2 = 0,9695\text{)}$$

### 2.2.3. Détermination des teneurs en tanins extractibles

La teneur des tanins extractibles a été déterminée selon le protocole décrit par Sadasivum et Manickam (2005). 0,5 g de la poudre de chaque échantillon a été mélangé avec 75 ml d'eau distillée. Le mélange a été bouilli doucement pendant 30 min, puis centrifugé à 2000 t/min pendant 20 min. Le surnageant a été récupéré et le volume a été ajusté à 100ml avec de l'eau distillée. 1ml de chaque extrait a été soigneusement transféré dans une fiole jaugée de 100 ml contenant 75 ml d'eau distillée, 5 ml du réactif de Folin-Denis et 10 ml de solution saturée de carbonate de sodium (Annexe 3). Le mélange a été secoué correctement et la couleur développée a été mesurée à 700 nm après 30 minutes d'incubation. L'acide tannique a été employé comme standard. Les résultats ont été exprimés en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide tannique par mg de matière sèche ( $\mu\text{g EAT. mg}^{-1}$  de MS) (Annexe 4), selon la formule suivante :

$$\text{Absorbance} = 5,1323 \text{ Acide tannique} + 0,1194 \text{ (R}^2 = 0,9627\text{)}$$

### 2.2.4. Extraction et dosage des anthocyanines

La teneur des anthocyanines a été estimée par spectrophotomètre selon la méthode du pH différentiel, en utilisant deux solutions tampons: le chlorure de potassium (pH 1,0 ; 0,2 M) et l'acétate de sodium (pH 4,5 ; 0,4 M) (Lee *et al.*, 2005).

Les pigments monomériques d'anthocyanines changent réversiblement de couleur avec un changement du pH; la forme colorée d'oxonium existe à pH 1,0, et la forme hémicétal incolore prédomine à pH 4,5. Les résultats sont exprimés en Equivalent Cyanidine 3-Glucoside.

1g de chaque échantillon est dissout dans 10 ml de solvant (méthanol 99%) acidifié avec le HCl 0,1 N (0,01%), la solution obtenue est incubée pendant 16 heures au réfrigérateur, puis filtrée (Reyes-Carmones *et al.*, 2005). La teneur en anthocyanines a été estimée par spectrophotométrie en utilisant deux solutions tampons : le chlorure de potassium (pH 1,0 ; 0,2 M) et l'acétate de sodium (pH 4,5 ; 0,4 M). Un volume de chaque extrait a été ajouté à 2,4 ml de solution tampon. L'absorbance de l'extrait a été mesurée à 510 puis à 710 nm puis déduite par l'équation :

$$A = ([A_{510}-A_{710}] \text{ pH } 1,0 - [A_{510}-A_{710}] \text{ pH } 4,5)$$

La teneur en anthocyanines a été déterminée selon l'équation :

$$C = A \times MM \times 100 / AM$$

C : teneur en anthocyanines (g ECy-3-Glu/g de MS) ;

A : absorbance;

MM : masse moléculaire de la cyanidine-3-glucoside (449,2 g/mol);

AM : coefficient d'absorbance molaire (26900 mol.cm.l).

### 2.3. Evaluation des activités antiradicalaire et antioxydante

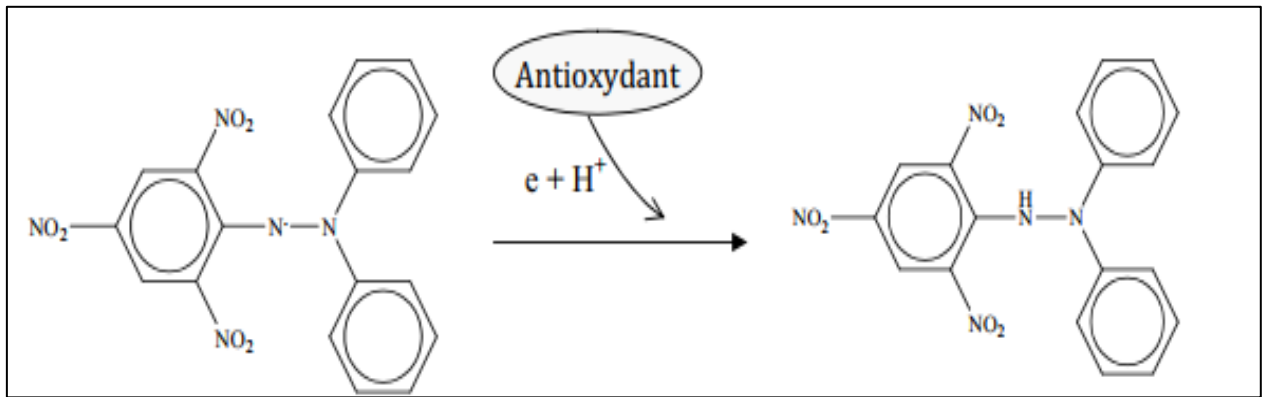
À cause de la complexité des processus d'oxydo-réduction impliqués et la nature diversifiée à la fois des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) et des antioxydants, il n'existe aucune méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être exprimée d'une façon précise. Plusieurs méthodes ont été développées pour estimer cette activité antioxydante. Leur principe de fonctionnement se base sur la réaction fondamentale d'oxydation-réduction impliquant soit un transfert d'électron soit un transfert d'un atome d'hydrogène (Prior *et al.*, 2005).

Les antioxydants peuvent réagir de manière différente face à différents radicaux (prior *et al.*, 2005). Parmi les méthodes du dosage, deux méthodes sont basées sur le transfert d'hydrogène et d'électrons qui sont : la méthode de DPPH<sup>•</sup> et la méthode de l'ABTS<sup>•+</sup> (Foegel *et al.*, 2011) et une autre méthode est basée sur le pouvoir réducteur du cuivre « CUPRAC ».

#### 2.3.1. Test de DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl)

Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH<sup>•</sup> est recommandé pour les composés contenant, SH-, NH- et OH- .

Le DPPH<sup>•</sup> (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable colorée en violet qui en présence d'une substance qui peut donner un atome d'hydrogène conduit à la formation d'une hydrazine incolore (DPPH-H) :  $DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\bullet}$  (Diouf *et al.*, 2009) (Figure 23). La colorimétrie de la solution change sous l'effet d'un agent antioxydant qui entraîne la décoloration de la solution (prior *et al.*, 2005).



1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl

1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazine

**Figure 23.** Réduction du radical DPPH<sup>•</sup> par un antioxydant (Molyneux, 2004).

La méthode suivie est celle d'Ertas *et al.* (2014). Un volume de 40  $\mu\text{l}$  de différentes concentrations de chaque extrait ainsi que les antioxydants standards ( $\alpha$ -Tocophérol et BHT), est déposé en triplicata sur une microplaque à 96 puits, en ajoutant sur chaque puits un volume de 160  $\mu\text{l}$  d'une solution méthanolique de DPPH<sup>•</sup> (0,1mM), après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant. Le pouvoir d'inhibition exprimé en % est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$I = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}} / A_{\text{blanc}}) \times 100$$

A blanc : Absorbance du blanc (DPPH<sup>•</sup> dans le méthanol) ;

A échantillon : Absorbance d'échantillon.

Les concentrations des extraits et des antioxydants de référence (BHT et  $\alpha$  Tocophérol), en fonction des pourcentages du DPPH<sup>•</sup> inhibé, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir la concentration inhibitrice IC<sub>50</sub>. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH<sup>•</sup> initiale de 50% (Sharififar *et al.*, 2007).

### 2.3.2. Test de l'ABTS<sup>•+</sup> (Acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

Une deuxième méthode colorimétrique qui se base sur un essai de décoloration est rapportée afin de détecter le pouvoir antiradicalaire d'un composé donné. Le radical préformé 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (Figure 24) ou ABTS<sup>•+</sup> est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium (Re *et al.*, 1999). La formation du radical ABTS<sup>•+</sup> se traduit par l'apparition d'une coloration vert bleu intense. En présence d'un donneur de H<sup>•</sup>, le passage du radical ABTS<sup>•+</sup> à la forme non radicalaire



s'accompagne de la disparition de cette coloration mesurée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 734 nm. Cette décoloration résulte d'une réaction entre le radical ABTS<sup>•+</sup> et un donneur de H<sup>•</sup>.

Ce test a été réalisé selon le protocole proposé par Ertas *et al.* (2014). Dans un tube à essai, 5 ml d'eau distillée ont été mélangés avec 19,2 mg d'ABTS et 3,3 mg de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) ensuite le mélange est incubé à l'obscurité pendant 16h et cela pour la formation de la solution radicalaire bleue-verte. La solution a été diluée avec l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de  $0,7 \pm 0,01$  à 734 nm pour former le réactif d'essai.

Dans chaque puits d'une plaque à 96 puits, des mélanges réactionnels contenant 20µl d'échantillon (0-1000 ppm) et 1,60 ml de réactif ont été incubés à l'ombre pendant 30 minutes. Lorsque les électrons non appariés sont séquestrés par les antioxydants de l'échantillon, la solution d'essai devient incolore et l'absorbance est mesurée à 734 nm.

Les pourcentages d'inhibition du radical ABTS<sup>•+</sup> ont été calculés en utilisant la formule suivante:

$$\% d' inhibition = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

Avec :

A c : Absorbance du blanc;

A s : Absorbance de l'échantillon.

Ces pourcentages ont été tracés en fonction des concentrations des extraits pour déterminer l'index IC<sub>50</sub>.

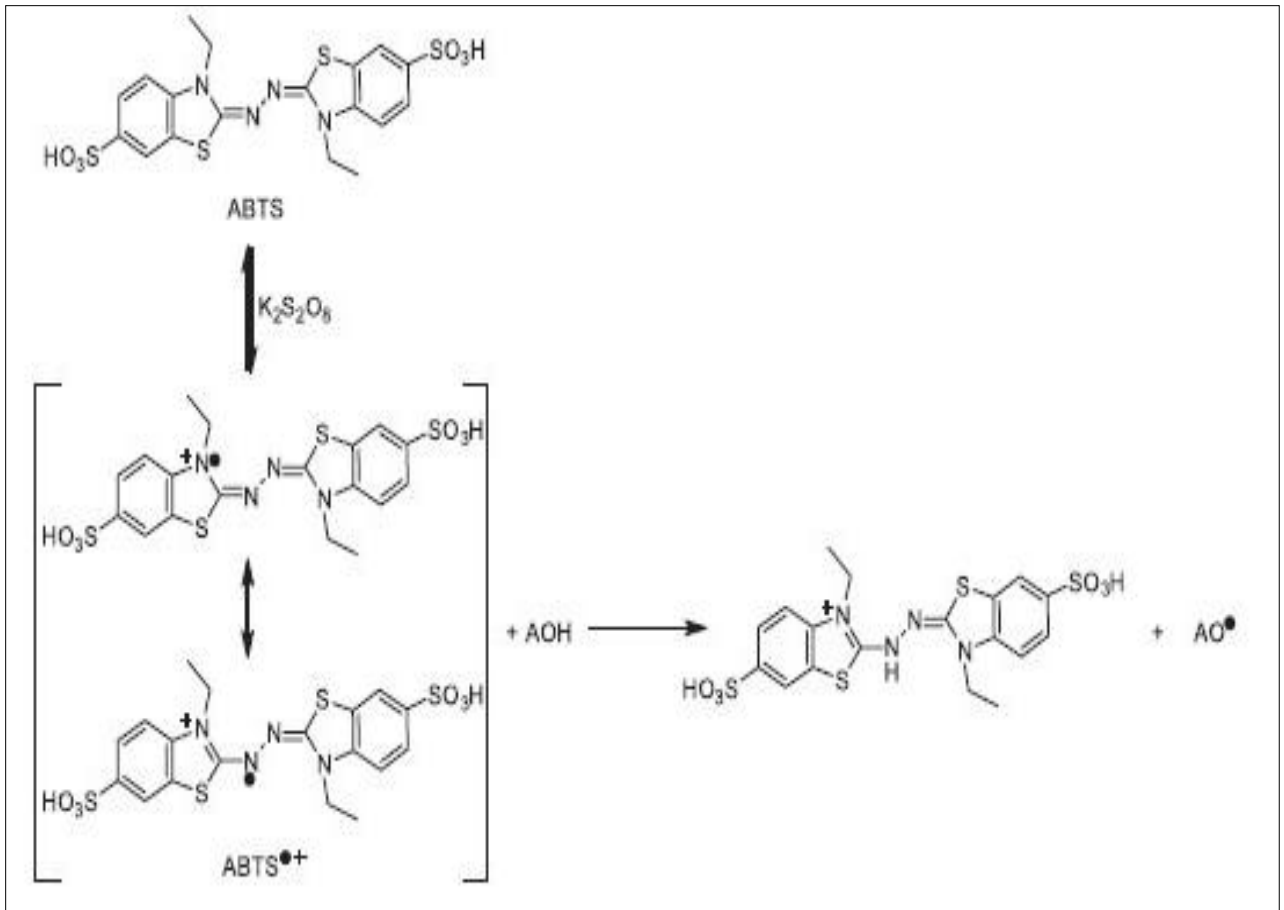


Figure 24. Etapes de la réaction ABTS (Re *et al.*, 1999).

### 2.3.3. Méthode de capacité antioxydante réductrice de cuivre (CUPRAC)

C'est une méthode développée par Apak *et al.* (2004). Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe  $Cu^{2+}$ -Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de  $Cu^+$ -Nc qui absorbe à 450 nm (Figure 25) (Özyürek *et al.*, 2011).

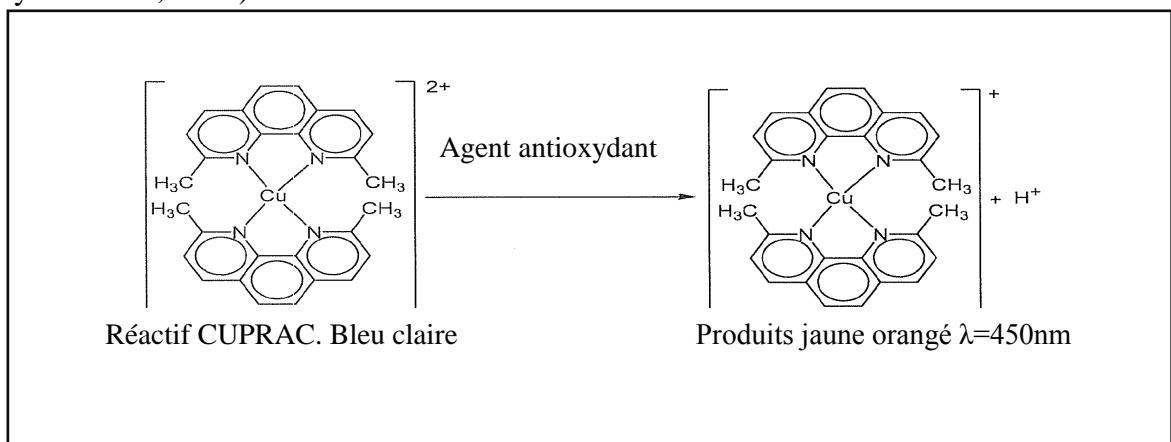


Figure 25. Principe de la méthode de CUPRAC (Özyürek *et al.*, 2011).

La méthode appliquée est celle d'Ertas *et al.* (2014). Dans chaque puits des 96 microplaques, des portions aliquotes de 61  $\mu\text{l}$  de chlorure de cuivre, 61  $\mu\text{l}$  de tampon de  $\text{NH}_4\text{Ac}$  (1M, pH 7,0) et 61  $\mu\text{l}$  de solution de néocuproïde de  $7,5 \times 10^{-3}$  M ont été mélangés, ensuite, 25  $\mu\text{l}$  des solutions d'extrait (0-1000ppm) et 42  $\mu\text{l}$  d'eau distillée ont été ajoutés pour atteindre le volume final de 250  $\mu\text{l}$ . Les microplaques ont été laissées au repos pendant une heure à température ambiante à l'obscurité. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 450 nm.

La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles de BHA et du  $\alpha$  Tocophérol. Les résultats ont été calculés sur la base de la valeur de l'A0,5 ( $\mu\text{g/ml}$ ) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance.

## **2.4. Identification et quantification du profil phénolique par LC-MS/MS**

### **2.4.1. Instruments et conditions chromatographiques**

L'analyse des composés phénoliques LC-M /MS a été réalisée en utilisant un CLUHP modèle Shimadzu Nexera couplé à un instrument MS en tandem. Le chromatographe liquide est équipé de pompes binaires LC-30AD, un dégazeur DGU-20A3R, une colonne UDC CTO-10A et un échantillonneur SIL-30AC. La séparation automatique chromatographique a été effectuée sur une colonne analytique C18 phase inverse ODS-4 (150 mm x 4,6 mm, 3  $\mu\text{m}$ ). La température de la colonne a été fixée à 40 ° C. Le gradient d'élution est composée de la phase mobile A (eau, du formiate d'ammonium 5mM et de l'acide formique à 0,1%) et la phase mobile B (méthanol, le formiate d'ammonium 5mM et de l'acide formique à 0,1%). Le programme de gradient avec les proportions suivantes de solvant B a été appliqué t (min)% B (0, 40) (20, 90), (23, 99, 90), (24, 40), (29, 40). Le débit de solvant a été maintenu à 0,5ml/min et le volume d'injection a été réglé à 4 $\mu\text{l}$ .

Le dosage des composés étudiés a été réalisé suivant deux ou trois transitions pour chaque composant, le premier à des fins quantitatives et la deuxième et/ou le troisième pour la confirmation.

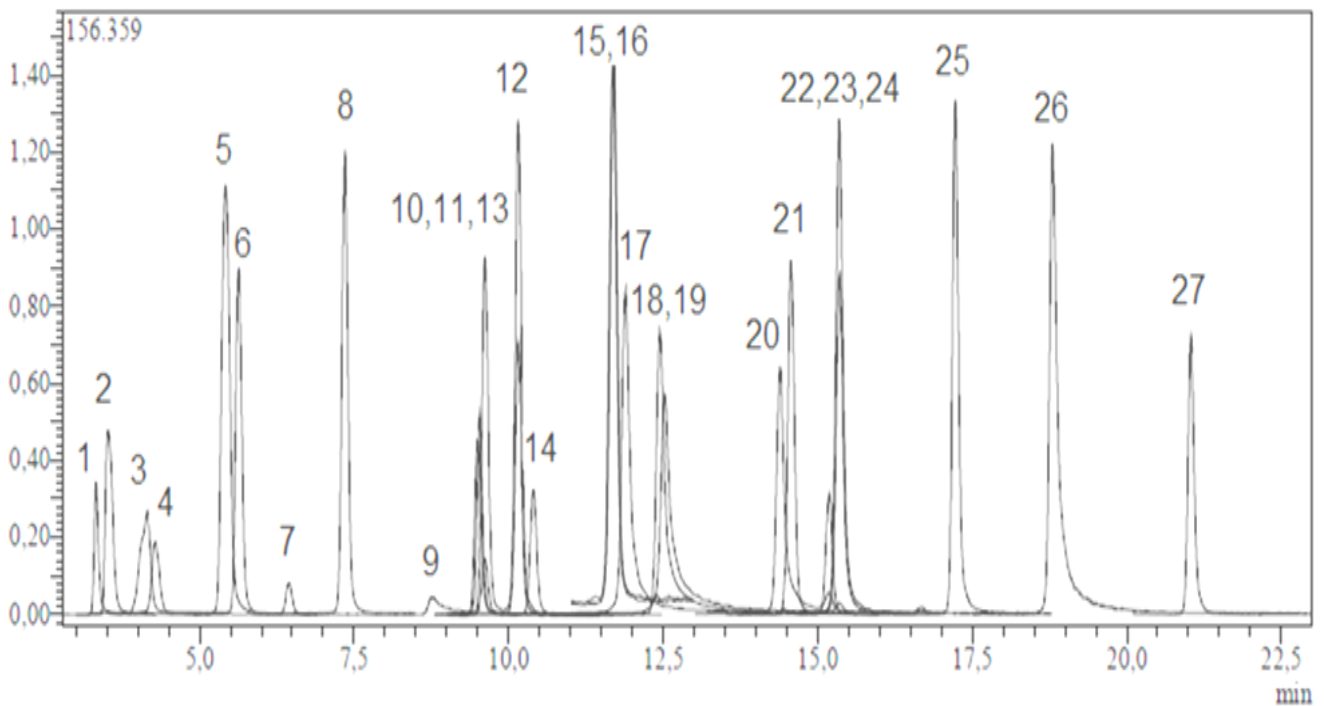
### **2.4.2. Méthode de validation des paramètres pour les LC-MS / MS**

Dans cette étude, vingt-quatre (24) composés phénoliques standards (flavonoïdes, glycosides flavonoïdes, acides phénoliques, phénolique aldéhyde, coumarine) qui sont très répandus dans des matières végétales étaient qualifiés et quantifiés (Tableau 03). Les composés

1, 2 et 3 sont des acides organiques, il s'agit de l'acide quinique, l'acide malique et l'acide aconitique respectivement.

La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LQ) de la méthode décrite dans cette étude étaient dépendantes de la courbe d'étalonnage établie à partir de six mesures. Pour les différents composés, LOD variait de 0,05 à 25,8 µg /l et la LQ variait de 0,17 à 85,9 µg/l. De plus, la reprise des standards composés phénoliques varie entre 97% et 106,3% (Ertas *et al.*, 2014).

Les différents chromatogrammes des standards employés sont illustrés dans la Figure 26. Les paramètres analytiques correspondant et y compris les temps de rétention qui est le temps écoulé entre l'injection et le maximum du pic du composé élué correspondant sont enregistrés dans le Tableau 03.



**Figure 26.** Chromatogrammes LC-MS / MS des standards employés.

**Tableau 03.** Paramètres analytiques de la méthode LC-MS / MS.

N°	Analytes	RT <sup>a</sup>	Ion parent (m/z) <sup>b</sup>	Mode ionisation	R <sup>2c</sup>	RSD% <sup>d</sup>	Gamme de linéarité (mg/L)	LOD/LOQ (µg/L) <sup>e</sup>	Récupération (%)	U <sup>f</sup>
4	Ac. Gallique	4,29	169,05	Neg	0,9901	0,4734	25-1000	4,8 / 15,9	102,3	5,1
5	Ac.chlorogénique	5,43	353	Neg	0,9932	0,1882	250-10000	7,3 / 24,3	99,7	4,9
6	Ac.protocatechique	5,63	152,95	Neg	0,9991	0,5958	100-4000	25,8 / 85,9	100,2	5,1
7	Ac. tannique	6,46	182,95	Neg	0,9955	0,9075	100-4000	10,2 / 34,2	97,8	5,1
8	Ac. tr- caffeique	7,37	178,95	Neg	0,9942	1,0080	25-1000	4,4 / 14,7	98,6	5,2
9	Vanilline	8,77	151,05	Neg	0,9995	0,4094	250-10000	10,1 / 33,7	99,2	4,9
10	Ac. p-coumarique	9,53	162,95	Neg	0,9909	1,1358	100-4000	15,2 / 50,8	98,4	5,1
11	Ac. rosmarinique	9,57	358,9	Neg	0,9992	0,5220	250-10000	10,4 / 34,8	101,7	4,9
12	Rutine	10,18	609,1	Neg	0,9971	0,8146	250-10000	17,0 / 56,6	102,2	5,0
13	Hesperidine	9,69	611,1	Poz	0,9973	0,1363	250-10000	21,6 / 71,9	100,2	4,9
14	Hyperoside	10,43	463,1	Neg	0,9549	0,2135	100-4000	12,4 / 41,4	98,5	4,9
15	Ac. 4-OH benzoïque	11,72	136,95	Neg	0,9925	1,4013	25-1000	3,0 / 10,0	106,2	5,2
16	Ac. salicylique	11,72	136,95	Neg	0,9904	0,6619	25-1000	4 / 13,3	106,2	5,0
17	Myricétine	11,94	317	Neg	0,9991	2,8247	100-4000	9,9 / 32,9	106,0	5,9
18	Fisetine	12,61	284,95	Neg	0,9988	2,4262	100-4000	10,7 / 35,6	96,9	5,5
19	Coumarine	12,52	146,95	Poz	0,9924	0,4203	100-4000	9,1 / 30,4	104,4	4,9
20	Quercétine	14,48	300,9	Neg	0,9995	4,3149	25-1000	2,0 / 6,8	98,9	7,1
21	Naringénine	14,66	270,95	Neg	0,9956	2,0200	25-1000	2,6 / 8,8	97,0	5,5
22	Hesperétine	15,29	300,95	Neg	0,9961	1,0164	25-1000	3,3 / 11,0	102,4	5,3
23	Lutéoline	15,43	284,95	Neg	0,9992	3,9487	25-1000	5,8 / 19,4	105,4	6,9
24	Kaempférol	15,43	284,95	Neg	0,9917	0,5885	25-1000	2,0 / 6,6	99,1	5,2
25	Apigénine	17,31	268,95	Neg	0,9954	0,6782	25-1000	0,1 / 0,3	98,9	5,3
26	Rhamnétine	18,94	314,95	Neg	0,9994	2,5678	25-1000	0,2 / 0,7	100,8	6,1
27	Chrysin	21,18	253	Neg	0,9965	1,5530	25-1000	0,05 / 0,17	102,2	5,3

aRT: Temps de rétention

Ion Parent (m/z) b: Ions moléculaires des standards (rapport masse / charge)

cR2: coefficient de détermination

dRSD: écart type relative

LOD/LOQ (µg/L): Limite de détection/Limite de quantification

f U (%): Pourcentage d'incertitude relative à un niveau de confiance de 95% (k=2).

g Valeurs en µg / g d'extrait méthanolique

## 2.5. Analyse statistique

Les moyennes plus ou moins les écarts types des essais ont été réalisés par l'Excel 2010. Les résultats obtenus ont été traités à l'aide de logiciel XLSTAT (2009). L'analyse de la variance permettant de connaître la signification des différences (le seuil de signification est  $p \leq 0,05$ ) a été réalisée par le test de Tukey..

Les pourcentages de variation des teneurs en composés phénoliques (%) ont été calculés par Excel 2007, pour les légumes secs cuits et les eaux de cuisson par rapport aux légumes secs crus, selon les formules suivantes :

$$e\%VGCu = [(TGCu - TGCr)/TGCr]. 100$$

%VGCu : Pourcentage de variation de teneur moyenne en composé X pour les graines cuites

TGCu : Teneur moyenne en composé X pour les graines cuites

TGCr : Teneur moyenne en composé X pour les graines crues

$$\%VEC = [(TEC - TGCr)/TGCr]. 100$$

%VEC : Pourcentage de variation de teneur moyenne en composé X pour les eaux de cuisson

TEC : Teneur moyenne en composé X pour les eaux de cuisson

TGCr : Teneur moyenne en composé X pour les graines crues

Les pourcentages de variation des activités antiradicalaires et antioxydantes (%) ont été calculés par Excel 2007, pour les extraits des grains cuits et les extraits des eaux de cuisson par rapport aux extraits des grains crus, selon les formules suivantes :

$$\%VAAECu = [(AAECu - AAECr)/AAECr]. 100$$

%VAAECu : Pourcentage de variation des activités antiradicalaires et antioxydantes pour les extraits des échantillons cuits ;

AAECu : Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des échantillons cuits ;

AAECr : Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des échantillons crus.

$$\%VAAEC = [(AAEC - AAECr)/AAECr]. 100$$

%VAAEC : Pourcentage de variation des activités antiradicalaires et antioxydantes pour les extraits des eaux de cuisson;

AAEC : Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des eaux de cuisson ;

AAECr : Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des échantillons crus.

## 1. Teneurs en composés phénoliques des légumes secs étudiés

### 1.1. Teneurs moyennes en polyphénols totaux

Les teneurs moyennes en polyphénols totaux (PT), exprimées en  $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  de matière sèche, des différents extraits de légumes secs étudiés (pois chiche, lentille, petit pois, haricot et fève) et des eaux de leur cuisson, sont récapitulées dans le Tableau 04.

**Tableau 04.** Teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits de légumes secs analysés (en  $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS).

Espèces de légumes secs	Variétés	Echantillons	Teneurs moyennes en polyphénols totaux ( $\mu\text{g EP mg}^{-1}$ MS)
Pois chiches	<i>Flip</i>	Cru	20,51±2,12 <sup>a</sup>
		Cuit	2,92±2,78 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	37,64±1,39 <sup>c</sup>
	<i>Ghab 5</i>	Cru	62,18±2,89 <sup>d</sup>
		Cuit	86,71±4,46 <sup>c</sup>
		Eau de cuisson	57,55±2,89 <sup>d</sup>
Lentilles	<i>Ibla</i>	Cru	95,51±4,01 <sup>b</sup>
		Cuit	70,51±1,60 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	133,47±1,39 <sup>c</sup>
	<i>Metropole</i>	Cru	172,36 ± 2,78 <sup>a</sup>
		Cuit	72,36 ± 2,78 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	244,12 ± 4,46 <sup>e</sup>
Petits pois	<i>Oinward</i>	Cru	31,62±1,60 <sup>c</sup>
		Cuit	4,31±2,78 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	59,40±2,12 <sup>d</sup>
	<i>Messirl</i>	Cru	28,84±0,80 <sup>b</sup>
		Cuit	59,86±5,56 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	44,58±1,39 <sup>c</sup>
Haricots	<i>Cannellini</i>	Cru	65,42±1,39 <sup>c</sup>
		Cuit	23,29±2,12 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	27,45±3,21 <sup>a</sup>
	<i>Great Northerne</i>	Cru	218,19±2,78 <sup>d</sup>
		Cuit	35,79±3,50 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	34,40±3,21 <sup>b</sup>
Fèves	<i>Aguadulce</i>	Cru	47,36±2,78 <sup>b</sup>
		Cuit	173,75±8,45 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	181,62±6,42 <sup>d</sup>
	<i>Shale</i>	Cru	58,94±6,85 <sup>c</sup>
		Cuit	200,14±2,78 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	212,64±3,67 <sup>a</sup>

La même lettre signifie absence de différence significative ( $p \leq 0,05$ ) intra-espèce.

### 1.1.1. Légumes secs crus

Concernant les graines crues de pois chiches, les teneurs moyennes en PT sont équivalentes à  $20,51 \pm 2,12$  et  $62,18 \pm 2,89$   $\mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Flip* et la variété *Ghab5*, respectivement. L'analyse de la variance montre l'existence d'un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ). En effet, la variété *Ghab 5* semble être plus riche en PT que la variété *Flip* (Tableau 04). Par comparaison à des travaux sur des échantillons crus de pois chiches, et sans tenir compte du standard, ni de méthodes d'extraction et de dosage employées, les résultats enregistrés semblent être plus élevés par rapport à ceux de Randrianasolo (2013) qui a rapporté des teneurs de l'ordre de 5 à 16  $\mu\text{gEAG mg}^{-1}$  de MS, et à ceux de Hadjal et Rabhi (2012) qui ont cité une teneur équivalente à 0,882  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS.

Quant aux graines crues de lentilles, les teneurs moyennes en PT sont de  $95,51 \pm 4,01$  et  $172,36 \pm 2,78$   $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Ibla* et la variété *Métropole* respectivement. De même, l'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ). En effet, la variété *Métropole* s'est avérée plus riche en PT (Tableau 04). Ce constat nous a apparu évident du fait que cette variété se caractérise par une couleur virant au rouge, due à la présence des pigments anthocyanes, et qui font partie des polyphénols totaux. En se référant à la bibliographie, les valeurs observées sont nettement différentes par rapport à celles rapportées par Han et Baik (2008), et Campos-Vega *et al.* (2010) qui sont de l'ordre de 12  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS et 7,34  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS respectivement. De même, nos résultats sont supérieurs à ceux de Ladjal Ettoumi et Chibane (2015) qui ont analysé des lentilles de la région Ain Deffla dont la teneur a été équivalente à 6,21  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS, et à ceux de Zhang *et al.* (2015) qui travaillent sur deux cultivars de lentilles un rouge et l'autre vert dont les teneurs ont été variables entre 5,04 et 7,02  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS pour le cultivar rouge et entre 4,56 et 8,34  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS pour le cultivar vert.

Pour les graines crues de petits pois, les teneurs moyennes en PT sont de l'ordre de  $31,62 \pm 1,60$  et  $28,84 \pm 0,80$   $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Oinward* et la variété *Messirl* respectivement. L'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ). En effet, la variété *Oinward* semble contenir une teneur en PT élevée que celle de la variété *Messirl* (Tableau 04). Nos résultats sont supérieurs à la teneur enregistrée par Hadjal et Rabhi (2012), et qu'est de 1,067  $\mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS.

Quant aux échantillons crus d'haricots analysés, les teneurs moyennes en PT sont de  $218,19 \pm 2,78$  et  $65,42 \pm 1,39$   $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Great Northerne* et la variété



*Cannellini* respectivement. De même, l'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ). En effet la variété *Great Northern* s'est avérée plus riche en PT que la variété *Cannellini* (Tableau 04). Par comparaison à certains travaux, nos résultats sont très élevés par rapport à ceux de Hadjal et Rabhi (2012), qui ont analysé des haricots secs blancs (variété locale), dont la teneur rapportée a été de l'ordre de  $1,123 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS.

Les teneurs moyennes en PT des graines crues de fèves sont équivalentes à  $47,36 \pm 2,78$  et  $58,94 \pm 6,85 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Aguadulce* et la variété *Shale* respectivement. L'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 04). Ces résultats sont différents de ceux rapportés par Randhir et Kalidas (2004) ( $2 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS), Chaieb *et al.* (2011) ( $16,98$  à  $67,47 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS pour différentes variétés de fèves), Boudjou *et al.* (2013) ( $6,27 \mu\text{gEAG mg}^{-1}$  de MS), Boukhanouf *et al.* (2016) ( $12 \mu\text{gEAG mg}^{-1}$  de MS) et Saini *et al.* (2016) ( $5,65 \pm 0,85 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS).

En effet, pour toutes les espèces de légumes secs crues étudiées, il nous a été difficile de comparer, pour la même espèce, nos résultats avec ceux de la bibliographie où en plus des différences dans les standards d'expression des résultats employés (acide gallique, catéchine,...) et de solvants employés pour l'extraction des composés phénoliques, de nombreux facteurs, que nous ignorons (conditions de culture et de stockage, traitement appliqué, ect.), peuvent être à l'origine de ces variations de teneurs en PT.

Dans le même contexte, Zielinski (2002) explique que la variation du contenu phénolique est attribuée à beaucoup de facteurs comprenant le génotype, les pratiques agronomiques, le niveau de maturité à la moisson, les endroits d'entreposage et les conditions climatiques et géographiques après récolte. De même d'après Hegedúsová (2015), la différence du contenu en polyphénols totaux pourrait être due à l'écotype, la région géographique où la plante se développe et même à la méthode d'extraction de ces composés.

Macheix *et al.* (2005) rapportent que les composés phénoliques, comme l'ensemble des métabolites secondaires se répartissent très inégalement entre les espèces végétales et les variétés.

Concernant la méthode d'extraction employée, elle influe largement le contenu en polyphénols. Dans ce contexte, Bourgou *et al.* (2016) et Annegowda *et al.* (2001) ont évoqué que l'extraction assistée par ultrasons est plus efficace, elle améliore l'extraction des composés

phénoliques, ce qui conduit à une augmentation du rendement d'extraction comparé à ceux obtenus par agitation et par microondes. Cet effet peut être expliqué par le processus produit par cavitation, lequel est induit par l'irradiation des ultrasons, provoquant le gonflement des cellules, l'absorption de solvant, l'élargissement des pores, et donc une augmentation du coefficient de diffusion des composés phénoliques à travers les parois cellulaires. Les ultrasons ont l'avantage de réduire considérablement le temps d'extraction et d'augmenter le rendement d'extraction.

L'efficacité du solvant utilisé a été aussi soulevée par certains auteurs, notamment Mohammedi et Atik (2011), qui ont démontré que l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un fort enrichissement des extraits en polyphénols. La supériorité des solvants mixtes seraient dues à l'augmentation de la solubilité des composés phénoliques dans les extraits obtenus par des solvants mixtes comparés à ceux obtenus par des solvants purs (Trabelsi *et al.*, 2010).

Les travaux conduits par Mulinacci *et al.* (2004), Katalinic *et al.* (2010) et par Koffi *et al.* (2010) indiquent que l'éthanol en combinaison avec l'eau permet une meilleure extraction des polyphénols totaux. L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (Sripad *et al.*, 1982) par modulation de la polarité du solvant organique (Mohammedi et Atik, 2011). Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogène dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la alcalinité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (Sripad *et al.*, 1982). La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (Mohammedi et Atik, 2011). Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges de solvants organiques appropriés avec de l'eau distillée.

En conclusion, pour l'ensemble des espèces de légumes secs crus étudiées, il y'a un effet espèce significatif enregistré pour les teneurs en PT ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 04) dont la variété d'haricots *Great Northerne* a enregistré la plus grande teneur ( $218,19 \pm 2,78$  EP  $\text{mg}^{-1}$  de MS) et la variété de pois chiches *Flip* ( $20,51 \pm 2,12$  EP  $\text{mg}^{-1}$  de MS) a révélée la plus faible teneur.

A partir de ce constat, et sans tenir compte de l'effet variétal, les composés phénoliques peuvent constituer, sur le plan quantitatif, une empreinte caractéristique des légumes secs étudiés.

### 1.1.2. Légumes secs cuits

Après cuisson à l'eau, les teneurs moyennes en PT enregistrées des graines cuites de pois chiches sont de l'ordre de  $2,92 \pm 2,78$  et  $86,71 \pm 4,46 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Flip* et la variété *Ghab 5* respectivement. De même, l'analyse de la variance montre l'existence d'un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) où la variété *Ghab5* a révélé la teneur moyenne en PT la plus élevée (Tableau 04). Comparativement aux résultats de Hernandez-Salazar *et al.* (2010) ( $0,8 \pm 0,08 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS), les teneurs enregistrées sont nettement supérieures.

Les teneurs moyennes en PT constatées des échantillons cuits de lentilles sont équivalentes à  $70,51 \pm 1,60$  et  $72,36 \pm 2,78 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Ibla* et la variété *Métropole*, respectivement. L'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) malgré que la variété *Métropole* ait révélé une teneur moyenne en PT légèrement plus élevée (Tableau 04). Ces résultats semblent être différents par comparaison à ceux obtenus par Cristobal *et al.* (2010) ( $3,09 \pm 0,2 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS) et Hernandez-Salazar *et al.* (2010) ( $1,4 \pm 0,06 \mu\text{g EAG. mg}^{-1}$  de MS). Cette différence peut être due, en plus de l'effet variétal, aux traitements thermiques appliqués (méthode de cuisson, durée, température, etc.) et aux méthodes d'extraction des PT utilisées.

Concernant les graines cuites de petits pois, les teneurs moyennes en PT constatées sont équivalentes à  $4,31 \pm 2,78$  et  $59,86 \pm 5,56 \mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Oinward* et *Messirl*, respectivement. La comparaison entre les deux variétés a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 04).

Quant aux teneurs moyennes en PT enregistrées des graines cuites d'haricots secs, la variété *Great Northerne* a révélé une teneur en PT remarquablement élevée ( $35,79 \pm 3,5 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS par rapport à celle de la variété *Cannellini* ( $23,29 \pm 2,12 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS). L'analyse de la variance montre un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 04). Toutefois, nos résultats ne concordent pas avec ceux de Chutipanyaporn *et al.* (2014) où la teneur en PT révélée est de  $0,83 \pm 7,09 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS.

En analysant les graines cuites de fèves, les teneurs moyennes en PT constatées sont équivalentes à  $173,75 \pm 8,45$  et  $200,14 \pm 2,78 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Aguadulce* et *Shale*, respectivement avec un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 04). Selon Wolosiak *et al.* (2010), la cuisson à la vapeur de fèves immatures a entraîné une diminution du contenu phénolique de 16,22%. Les grains cuits de fève étudiées contenaient des quantités plus élevées en

composés phénoliques que ceux rapportés par Boukhanouf *et al.* (2016) ( $5,15 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS). Selon Saini *et al.* (2016), la cuisson des grains de fève entraîne une diminution de la teneur en polyphénols de  $5,65 \pm 0,85$  à  $3,48 \pm 0,72 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de MS.

De même, pour les légumineuses seches cuites étudiées, en plus de l'effet variétal, un effet espèce significatif a été enregistré pour les teneurs en PT ( $p \leq 0,05$ ). En effet, l'extrait de l'échantillon cuit de pois chiches Var. *Flip* a montré la plus faible teneur moyenne en PT ( $2,92 \pm 2,78 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS) et la plus grande teneur a été constatée pour l'extrait de l'échantillon cuit de fèves Var. *Shale* ( $200,14 \pm 2,78 \mu\text{gEP mg}^{-1}$  de MS) (Tableau 04).

### 1.1.3. Eaux de cuisson

Concernant les teneurs moyennes en PT des eaux récupérées de la cuisson de pois chiches, les valeurs moyennes enregistrées sont équivalentes à  $37,64 \pm 1,39$  et  $57,55 \pm 2,89 \mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Flip* et la variété *Ghab*, respectivement. De même, l'analyse de la variance a montré une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les deux échantillons d'eaux récupérés. L'eau provenant de la cuisson de la variété *Ghab5* a accumulé plus de PT que celle de la variété *Flip* (Tableau 04).

Pour les eaux récupérées de la cuisson de lentilles, les teneurs moyennes en PT enregistrées sont équivalentes à  $133,47 \pm 1,39$  et  $244,12 \pm 4,46 \mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Ibla* et la variété *Métropole*, respectivement. Elles sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ). L'eau récupérée de la cuisson de la variété *Métropole* s'est avérée plus riche en PT que celle de la variété *Ibla* (Tableau 04).

Les teneurs moyennes en PT notées des eaux de cuisson de petits pois sont équivalentes à  $59,40 \pm 2,12$  et  $44,58 \pm 1,39 \mu\text{g PE mg}^{-1}$  MS pour la variété *Oinward* et la variété *Messirl*, respectivement avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). L'eau de cuisson de la variété *Messirl* s'est avérée moins riche en PT par rapport à l'eau de cuisson de la variété *Oinward* (Tableau 04).

En ce qui concerne l'eau récupérée de la cuisson des variétés *Cannellini* et *Great Northerne* d'haricots secs, les teneurs moyennes en PT constatées sont de  $27,45 \pm 3,21$  et  $34,40 \pm 3,21 \mu\text{g EP mg}^{-1}$  de MS respectivement. La comparaison entre les deux teneurs a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). La teneur la plus élevée a été enregistrée pour l'eau de cuisson de la variété *Great Northerne* (Tableau 4).

Quant aux teneurs moyennes en PT notées des eaux de cuisson de fèves, elles sont de l'ordre de  $181,62 \pm 6,42$  et  $212,64 \pm 3,67$   $\mu\text{g EP mg}^{-1}$  MS pour la variété *Aguadulce* et la variété *Shale* respectivement, avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). La plus grande teneur a été constatée pour l'eau de cuisson de la variété *Shale* (Tableau 04).

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en polyphénols totaux sont variables selon l'espèce et la variété étudiée. Dans le cas de lentilles et de fèves, les teneurs en PT des eaux de cuisson sont plus élevées par rapport aux échantillons cuits. En revanche, l'inverse est constaté avec les petits pois, les haricots et les pois chiches (Var. *Messirl*, Var. *Great Northerne* et Var. *Ghab 5*, respectivement) où les échantillons cuits ont présenté des teneurs plus élevées en PT.

#### 1.1.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en polyphénols totaux de légumes secs étudiés

Pour les pois chiches analysés (Var. *Flip* et Var. *Ghab5*), une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) a été constatée pour la teneur moyenne en PT entre les échantillons crus et les échantillons cuits. Cette différence est due à l'effet du traitement thermique sur la diffusion de ces composés (Tableau 04).

A la lecture de la Figure 27A, il s'avère que pour la variété *Flip*, une quantité importante de PT a diffusé des graines crues vers l'eau de cuisson, soit un passage de 83,52% de leur contenu total. En revanche, les graines cuites ont enregistré une réduction de 85,76% par rapport aux graines crues. Cependant pour la variété *Ghab5*, les graines cuites ont enregistré une augmentation de 39,44% par rapport aux graines crues, et l'eau de cuisson a enregistré une teneur plus faible que celle des graines crues. Donc, il est à constater que, dans les mêmes conditions de cuisson, la variété a un effet sur la quantité des PT diffusée dans l'eau de cuisson et celle des échantillons cuits. Ce constat est dû probablement à plusieurs facteurs notamment la rigidité des graines qui est une des caractéristiques variétales. En effet, la rigidité des graines est due à la dureté des parois cellulaires et à d'autres éléments (richesse en potassium, sodium, etc.) intervenant dans les réactions de diffusion des composés phénoliques. De même, certains polyphénols non extractibles liés à d'autres composés de la paroi peuvent se dépolymériser, sous l'effet de la chaleur, en composés simples et diffusent dans l'eau de cuisson.

De même pour les lentilles, un effet significatif ( $p \leq 0,05$ ) a été constaté entre les échantillons crus, les échantillons cuits et l'eau de cuisson pour la teneur moyenne en PT. Cette différence est due à l'effet du traitement thermique (Tableau 04) qui fragilise les parois

cellulaires et provoque une libération du contenu cellulaire et y compris ces composés. A l'issue de la Figure 27B, une grande quantité de PT s'est diffusée dans l'eau de cuisson de la variété *Ibla* et la variété *Métropole*, équivalente à 39,74% et 41,63%, respectivement du contenu total des graines crues. En revanche, pour les graines cuites, il y'a une réduction équivalente à 26,17% et 58,01% pour les variétés *Ibla* et *Métropole*, respectivement (Figure 27B). En effet, la teneur en PT enregistrée dans l'eau de cuisson s'explique probablement aussi par la solubilité et la diffusion de ces composés suite à l'éclatement des structures cellulaires par la chaleur.

Concernant les petits pois, une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) a été constatée entre les échantillons crus et les échantillons cuits pour la teneur moyenne en PT. De même, cette différence est due à l'effet du traitement thermique (Tableau 04). Il s'avère aussi que pour la variété *Messirl*, les graines cuites ont accumulé une teneur remarquable en PT par comparaison aux graines crues, soit une augmentation de 107,55%. A l'opposé, pour la variété *Oinward*, les graines cuites ont perdu une teneur notable en PT par comparaison aux graines crues, soit une réduction de 86,36% (Figure 27C). Concernant l'eau de cuisson, il est à remarquer une diffusion de 54,57% et 87,85% du contenu des graines crues des variétés *Messirl* et *Oinward*, respectivement. De même, ce constat pourrait être dû probablement à plusieurs facteurs notamment la dureté des graines, la localisation des composés polyphénoliques à l'échelle cellulaire, et leur nature chimique (structure) dont certains sont facilement extractibles et d'autres non.

Pour les deux variétés d'haricots analysées, une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) a été enregistrée entre les échantillons crus et les échantillons cuits pour la teneur moyenne en PT (Tableau 04). Cette différence est due toujours à l'effet du traitement thermique. La cuisson semble affecter négativement la teneur en PT dont les graines cuites ont enregistré une réduction équivalente à 64,39% et 83,59% pour la variété *Cannellini* et la variété *Great Northerne*, respectivement. Par ailleurs, les eaux de cuisson ont enregistré des teneurs plus faibles par comparaison aux graines crues pour les mêmes variétés (Figure 27D).

Pour les deux variétés de fèves, une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) due à l'impact du traitement thermique a été constatée entre les échantillons crus et les échantillons cuits pour la teneur moyenne en PT (Tableau 04). De même, un effet négatif de la cuisson a été enregistré sur la teneur en PT où les graines cuites ont enregistré une augmentation significative et équivalente à 266,87% et 239,56% pour les variétés *Aguadulce* et *Shale*, respectivement. De

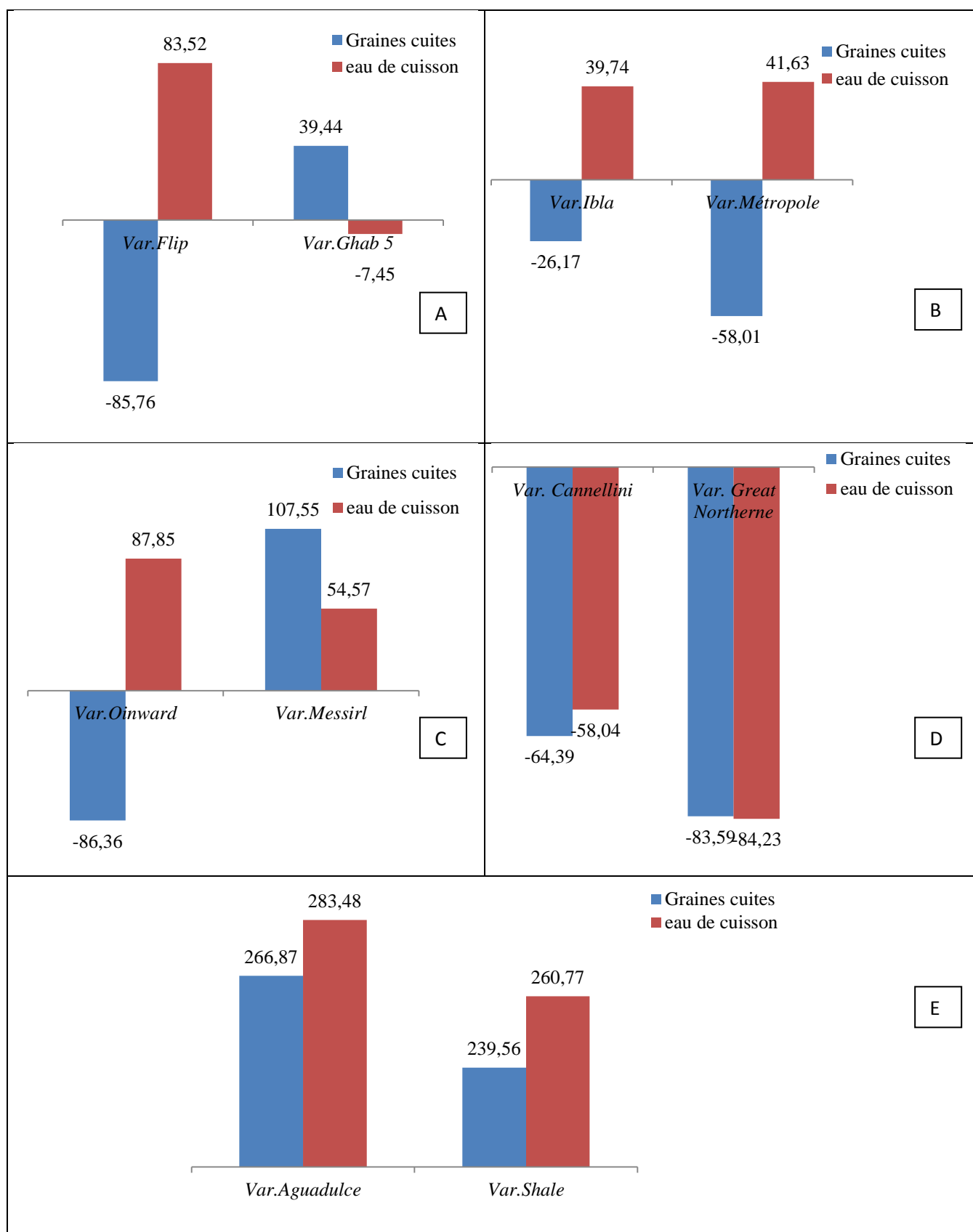
même pour les eaux de cuisson, une accumulation remarquable de l'ordre de 283,48% et 260,77% a été enregistrée pour les variétés *Aguadulce* et *Shale*, respectivement (Figure 27E).

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en polyphénols totaux sont variables d'une légumineuse à l'autre. D'après Xu et Chang, (2007), ce constat pourrait être dû aux différences de distribution et de teneur en composés phénoliques dans le tégument et les cotylédons des espèces étudiées. Il est à signaler que la plupart des études sur le contenu phénolique de légumineuses ont concerné les graines crues et le peu de travaux publiés n'est pas concluant et parfois contradictoire. Selon certains auteurs notamment Granito *et al.* (2005), les variations des teneurs en PT constatées peuvent être attribuées à l'effet de températures élevées, qui provoquent une polymérisation et/ou une décomposition dans les structures cycliques aromatiques des polyphénols. Latha et Daniel (2001), Turkmène *et al.* (2005) et Granito *et al.* (2008), ont constaté que les processus thermiques, notamment la cuisson, provoquent une baisse de la teneur en PT atteignant 55%. Mittal *et al.* (2012), ont ajouté que la réduction de la teneur en polyphénols pendant le traitement thermique est probablement liée à leur nature thermolabile et leur complexation avec d'autres substances hydrosolubles. Cette perte pourrait être due aux liaisons existant entre le groupe hydroxyle des composés phénoliques et les groupes de récepteurs qui forment ensemble des complexes. D'autres travaux supposent que la diminution apparente en polyphénols pendant la cuisson n'est pas due à une diminution réelle en polyphénols, mais à un changement de la solubilité ou de la réactivité avec des composés chimiques. A l'inverse, Dewanto *et al.* (2002), signalent que la dégradation thermique provoquée par la cuisson est compensée par une solubilisation et une extraction facilitée des polyphénols totaux des tissus des légumes. Ces composés sont donc détectés en quantités supérieures après cuisson. Les auteurs de ces travaux attribuent cette augmentation à la libération facilitée de composés phénoliques auparavant liés aux constituants cellulaires lors de la cuisson. D'autres auteurs notamment Kruawan *et al.* (2012) et Chutipanyaporn *et al.* (2014) constatent que le traitement thermique s'est révélé être un facteur important qui augmentait la teneur en polyphénols totaux.

D'autres auteurs, notamment Ismail *et al.* (2004), Zhang et Hamazu (2004) et Turkmène *et al.* (2005), ont évoqué que le traitement thermique entraîne de nombreux changements dans les caractéristiques physiques et dans le contenu en composés phytochimiques, en particulier, les antioxydants présents dans les légumes, parmi lesquels figurent les composés phénoliques, mais sans préciser s'il s'agit d'une augmentation ou d'une réduction.

Des composés hydrosolubles sont susceptibles d'être perdus par diffusion dans les liquides de cuisson comme les polyphénols. Étant donné les différentes interactions des paramètres : couple température/temps, composants du milieu, mode de traitement thermique, etc. les données que nous possédons représentent surtout des tendances. Cependant, les traitements de cuisson qui mettent peu ou pas les légumes en contact avec de l'eau de cuisson semblent préférables. En général, c'est la cuisson à la vapeur qui permet une rétention optimale des micro-constituants et ceci bien sûr en opposition avec la cuisson à grands volumes d'eau. En ce qui concerne, les micro-ondes les résultats récents montrent plutôt une bonne rétention concernant les polyphénols (Makris et Rossiter, 2001).





**Figure 27.** Pourcentage de variation des teneurs moyennes en polyphénols totaux (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus

**A** : Pois chiches; **B** : Lentilles; **C** : Petits pois; **D** : Haricots; **E** : Fèves

## 1.2. Teneurs moyennes en flavonoïdes totaux

Le Tableau 05 récapitule les teneurs moyennes en flavonoïdes totaux (FT), exprimées en  $\mu\text{g EQ/mg}$  de matière sèche, des différents extraits de légumes secs crus, légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson.

**Tableau 05.** Teneurs moyennes en flavonoïdes des extraits de légumes secs analysés exprimées en  $\mu\text{g EQ/mg}$  de matière sèche.

Espèces de légumes secs	Variétés	Echantillons	Teneurs moyennes en flavonoïdes totaux ( $\mu\text{gEQ mg}^{-1}\text{MS}$ )
Pois chiches	<i>Flip</i>	Cru	16,15±0,13 <sup>c</sup>
		Cuit	2,15±0,87 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	36,76±0,46 <sup>c</sup>
	<i>Ghab 5</i>	Cru	1,32±0,03 <sup>a</sup>
		Cuit	2,64±0,05 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	36,24±0,70 <sup>d</sup>
Lentilles	<i>Ibla</i>	Cru	84,22±0,15 <sup>b</sup>
		Cuit	19,04±0,10 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	102,03±2,73 <sup>c</sup>
	<i>Metropole</i>	Cru	42,82 ± 0,53 <sup>a</sup>
		Cuit	17,64 ± 0,10 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	183,43 ± 3,29 <sup>e</sup>
Petits pois	<i>Oinward</i>	Cru	18,27±1,8 <sup>d</sup>
		Cuit	1,80±1,59 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	40,62±1,36 <sup>c</sup>
	<i>Messirl</i>	Cru	27,00±0,0 <sup>d</sup>
		Cuit	5,36±0,08 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	30,89±0,80 <sup>b</sup>
Haricots	<i>Cannellini</i>	Cru	14,39±0,12 <sup>a</sup>
		Cuit	0,45±0,009 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	0,22±0,04 <sup>b</sup>
	<i>Great Northerne</i>	Cru	73,96±0,92 <sup>c</sup>
		Cuit	86,50±0,70 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	10,62±0,40 <sup>a</sup>
Fèves	<i>Aguadulce</i>	Cru	36,85±0,55 <sup>d</sup>
		Cuit	14,31±0,12 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	30,80±0,15 <sup>c</sup>
	<i>Shale</i>	Cru	13,61±0,60 <sup>b</sup>
		Cuit	39,83±0,85 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	10,89±0,06 <sup>a</sup>

La même lettre signifie absence de différence significative ( $p \leq 0,05$ ) intra-espèce.

### 1.2.1. Légumes secs crus

D'après le Tableau 05, il ressort que la teneur moyenne en FT des échantillons crus de pois chiches Var.*Flip* (16,15±0,13  $\mu\text{g QE mg}^{-1}\text{MS}$ ) est nettement plus élevée par rapport à celle de la Var. *Ghab5* (1,32±0,03  $\mu\text{g QE mg}^{-1}\text{MS}$ ). L'analyse de la variance montre un effet variétal

significatif ( $p \leq 0,05$ ). En effet, pour cette espèce, la teneur en FT semble être un marqueur variétal et corrélée à la taille des graines. Ce constat a été déjà évoqué par certains auteurs notamment Kader (1995) et Siah *et al.* (2013). Ces derniers ont signalé que les petites graines sont généralement plus riches en flavonoïdes que les grosses graines. Selon nos connaissances, il existe peu d'études sur la composition phénolique détaillée de pois chiches. Parmi ces études, celle de Sreerama *et al.* (2010) qui ont abordé la composition phénolique et sa distribution dans les fractions de pois chiches moulues. Il a été constaté une présence de flavonols tels que la quercétine, le kaempférol et la myricétine, ainsi que les isoflavones asdaïdzéine et la génistéine dans les fractions de téguments de graines avec des teneurs variables selon la variété. Par comparaison à la littérature, la teneur moyenne en FT de pois chiches obtenue dans la présente étude est nettement différente de celles citées par Journi *et al.* (2015) ( $0,190 \pm 0,212 \mu\text{g EQ/mg de MS}$ ) et Shruti *et al.* (2013) ( $0,15 \mu\text{g QE/mg} - 0,36 \mu\text{g QE/mg de MS}$ ). De même, Yadahally *et al.* (2012), en employant un autre standard (la catéchine), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de pois chiches plus élevée ( $4,8 \mu\text{g EC /mg de MS}$ ).

Concernant la teneur en FT des échantillons crus de lentilles Var. *Ibla*, elle est de  $84,22 \pm 0,15 \mu\text{gEQ mg}^{-1}$  de MS, elle est significativement ( $p \leq 0,05\%$ ) plus élevée par rapport à celle de la Variété *Metropole* ( $42,82 \pm 0,53 \mu\text{gEQ mg}^{-1}$  de MS) (Tableau 05). De même, cette différence pourrait être d'ordre variétal. En effet, parmi les différences perceptibles existant entre les deux variétés, figure l'aspect du tégument, dont la variété *Ibla* possède un tégument plus épais par rapport à la variété *Metropole*. D'après Duénas *et al.* (2006), une proportion non négligeable de flavonoïdes est localisée dans le tégument de la lentille, elle représente 8 à 11% du contenu total de la graine et elle contribue de manière significative à son contenu. Ces mêmes auteurs signalent que la distribution des composés phénoliques diffère considérablement entre les cotylédons et le tégument de lentilles. Dans le même contexte, Mirali *et al.* (2014), ont rapporté que les composés phénoliques des lentilles sont qualitativement et quantitativement variables entre le tégument et les cotylédons. Zhang *et al.* (2018), précisent que le tégument se caractérise par une grande quantité de certains flavonoïdes notamment les monomères flavan-3-ols ainsi que de petites quantités de glycosides de flavonols. Nos résultats sont supérieurs à ceux cités par Zou *et al.* (2011) ( $30,0 \mu\text{g EC/mg d'échantillon}$ ) qui travaillent sur *Lens culinaris* Var. *Morton*.

Quant aux échantillons crus de petits pois, la teneur moyenne en FT est équivalente à  $18,27 \pm 1,8 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  et  $27,00 \pm 0,0 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Oinward* et la variété *Messirl*, respectivement. Il est à signaler que, malgré cette différence, nous avons noté une absence de différence significative entre les deux variétés ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05). Par

comparaison à la littérature, nos résultats sont différents de ceux rapportés par Segev *et al.* (2010) (0,1 à 1,08  $\mu\text{g EC/mg}$  d'échantillon). De même, notre constat ne concorde pas avec le résultat de Timoracká et Vollmannova (2010), qui ont soulevé une différence variétale significative et l'ont attribuée à la taille des graines, la nature du tégument et la différence de couleur. Troszynska *et al.* (2002), ajoutent que les petits pois sont riches en flavonols, flavones glycosidés et en certains composés hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques qui se localisent dans le tégument de la graine.

Pour les échantillons crus d'haricots, les teneurs moyennes en FT des variétés *Cannellini* et *Great Northerne* enregistrées sont équivalentes à  $14,39 \pm 0,12 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  et  $73,96 \pm 0,92 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS respectivement. Ces teneurs sont différentes significativement ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05). En effet, le premier paramètre perceptible de différenciation des deux variétés est la taille des graines. Par comparaison à la littérature, les résultats de Ganesan et Xu (2017), ne concordent pas avec notre constat; ces derniers ont évoqué des teneurs en FT équivalentes à 1,78 ; 2,59 ; 1,55 ; 1,28 ; 0,98 et 1,65  $\mu\text{g ER/mg}$  d'échantillon pour les variétés *Marine*, *Rein*, *Rouge*, *Noire*, *Pinto* et *Canneberge* respectivement. D'autres auteurs, en employant la cathéchine comme standard, ont trouvé des résultats différents. En l'occurrence Akillioglu et Karakaya (2009) qui ont cité des teneurs en FT équivalentes à  $0,14 \pm 0,02 \mu\text{g EC / mg}$  de MH et  $1,27 \pm 0,14 \mu\text{g EC / mg}$  de MH pour le haricot commun et le haricot pinto respectivement.

Cette différence pourrait être attribuée à plusieurs facteurs notamment des facteurs intrinsèques comme la variété (génotype), et des facteurs extrinsèques comme les conditions de culture, de stockage, etc. Concernant l'effet variétal, Espinosa *et al.* (2006), ont étudié l'effet de génotype et la localisation des composés phénoliques dans les graines des haricots, ils ont conclu que le génotype a un effet plus important sur le contenu phénolique que la localisation.

Concernant les échantillons crus de fèves, les teneurs moyennes en FT sont équivalentes à  $36,85 \pm 0,55 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS et  $13,61 \pm 0,60 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Aguadulce* et la variété *Shale* respectivement avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05). D'après la bibliographie, les flavonoïdes trouvés dans les fèves, comprennent les monomères de flavanol (tels que la gallocatéchine, l'épipagallocalatéchine et la catéchine), les proanthocyanidines (prodelphynidines et procyanidines), les flavonols (dérivés glycosylés de myricétine, quercétine et kaempférol), les flavanols, les isoflavones (génistéine et daidzéine) et des flavanones (Abu-Reidah *et al.*, 2014). Selon Boudjou *et al.* (2013), ce sont les cotylédons de la fève qui contiennent la majorité des composés phénoliques. Ces résultats semblent être différents par

rapport à ceux d'El-mergawi et Taie (2014) où la teneur en flavonoïdes enregistrée varie entre 2,73 et 4,73  $\mu\text{g EQ/mg}$  de MS selon les variétés. De même, la teneur en flavonoïdes des variétés de fèves de la présente étude est différente de celle citée par Chaieb *et al.* (2011) qui ont obtenu des quantités oscillant entre 3,76-45,92  $\mu\text{g ER/mg}$  de MS pour différentes variétés tunisiennes.

Par rapport à l'espèce, les lentilles Var.*Ibla* et les haricots Var.*Great Northerne* se sont avérés les plus riches en FT. A l'opposé, le pois chiche Var. *Ghab5* et la fève Var. *Shale* se sont montrées les moins riches.

Pour les espèces de légumes secs étudiées, un effet variétal significatif a été enregistré. Zou *et al.* (2011), indiquent que cette différence pourrait être due à plusieurs facteurs comme le génotype, les conditions climatiques et les méthodes d'extraction, en particulier la polarité du solvant d'extraction. Benbrook (2005), ajoute que la teneur en FT varie de manière importante selon les variétés et le degré de maturité.

En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol et l'acétone restent les meilleurs solvants d'extraction des flavonoïdes. Jokić *et al.* (2010), rapportent que l'éthanol et l'eau sont préférables car ils ont l'avantage d'être non polluants, moins chers et non toxiques par rapport à d'autres solvants comme le méthanol. Conformément à nos résultats, Bourgou *et al.* (2016), Annegowda *et al.* (2011), ont montré que les extraits obtenus par sonication présentent des teneurs élevées en PT et en FT, comparés à ceux obtenus par soxhlet et par macération.

La variation de la concentration du solvant d'extraction contribue à améliorer la capacité du solvant à extraire plus de composés (Spigno *et al.*, 2007). De ce fait, comme dans le cas des polyphénols totaux, l'addition d'un pourcentage d'eau distillée aux solvants purs (éthanol, méthanol et acétone) permet une nette augmentation du rendement d'extraction des flavonoïdes (Robards et Antolovich, 1997).

### 1.2.2. Légumes secs cuits

Concernant les pois chiches, la teneur en flavonoïdes totaux des extraits méthanoliques est de  $2,15 \pm 0,87$  et  $2,64 \pm 0,05$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour les extraits des variétés *Flip* et *Ghab 5*, respectivement. Ces teneurs sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Tableaux 05).

Quant aux échantillons cuits de lentilles, les teneurs moyennes en flavonoïdes sont équivalentes à  $19,04 \pm 0,10$  et  $17,64 \pm 0,10$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS respectivement pour les extraits des variétés *Ibla* et *Metropole* avec un effet variétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) (Tableaux 05). Bellani *et al.* (2019), ont analysé trois variétés de lentilles (*Beluga*, *Villalba* et *Onano*), leurs teneurs enregistrées étaient inférieures à nos résultats et elles étaient équivalentes à  $0,41 \pm 0,12$ ,  $2,56 \pm 0,09$  et  $1,33 \pm 0,008$   $\mu\text{gEQ/mg}$  de MS respectivement.

Pour les échantillons cuits de petits pois, les teneurs moyennes en FT oscillent entre  $1,80 \pm 1,59$  et  $5,36 \pm 0,08$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour les extraits des variétés *Oinward* et *Messirl* respectivement, avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableaux 05).

Pour les échantillons cuits d'haricots, les teneurs moyennes en flavonoïdes sont de l'ordre de  $0,45 \pm 0,009$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Cannellini* et  $86,50 \pm 0,70$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS pour la variété *Great Northerne*. L'analyse de la variance indique une différence variétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableaux 05). Pour la même espèce (*Phaseolus vulgaris L.*), Hernandez *et al.* (2013), ont trouvé une teneur de  $0,30$   $\mu\text{g EC/mg}$  de MS; ce résultat est proche de la teneur de la variété *Cannellini*. De même Garretson *et al.* (2018), ont enregistré une teneur oscillant entre  $3,3$  et  $4,6$   $\mu\text{g EC/mg}$  de MS pour la variété *Heirloom* avec un pourcentage de diminution, due à la cuisson, égal à 41 à 57%.

La teneur moyenne en flavonoïdes des échantillons cuits de fèves Var.*Aguadulce* est de  $14,31 \pm 0,1$   $\mu\text{gEQ mg}^{-1}$  de MS et celle de la Var. *Shale* est de  $39,83 \pm 0,85$   $\mu\text{gEQ mg}^{-1}$  de MS avec une différence significative entre les deux variétés ( $p \leq 0,05$ ) (Tableaux 05). La teneur enregistrée par Boukhanouf *et al.* (2016), est nettement inférieure, elle est de  $0,131 \pm 0,010$   $\mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS. Dans la même optique, Siah *et al.* (2013), ont signalé des teneurs plus faibles que nos résultats ( $0,05$  et  $0,90$   $\mu\text{g EC/mg}$  de MS selon la variété).

### 1.2.3. Eaux de cuisson

Concernant les teneurs moyennes en flavonoïdes des eaux récupérées de la cuisson de pois chiches, les valeurs oscillent entre  $36,76 \pm 0,46$  et  $36,24 \pm 0,70$   $\mu\text{gEQ mg}^{-1}$  de MS, respectivement pour les variétés *Flip* et *Ghab5* avec une différence variétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05).

L'eau de la cuisson de lentilles Var. *Metropole* a présenté la teneur la plus élevée en flavonoïdes ( $183,43 \pm 3,29 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) par rapport à la variété *Ibla* qui a présenté une teneur de  $102,03 \pm 2,73 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS (Tableau 05). Les teneurs enregistrées pour les deux variétés sont nettement supérieures à celles des extraits des échantillons cuits et crus.

Quant aux petits pois, la variété *Oinward* a enregistré une teneur en flavonoïdes élevée ( $40,62 \pm 1,36 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) par rapport à celle de la variété *Messirl* ( $30,89 \pm 0,80 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS). Pour les deux variétés, nous avons remarqué une accumulation de flavonoïdes dans les eaux de cuisson avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05).

Les résultats obtenus indiquent que les eaux de cuisson d'haricots Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne* contiennent des teneurs faibles en flavonoïdes par rapport aux échantillons crus et cuits. La teneur la plus élevée a été enregistrée dans l'eau de la cuisson de la variété *Great Northerne* ( $10,62 \pm 0,40 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) et la plus faible a été enregistrée dans l'eau de la cuisson de la variété *Cannellini* ( $0,22 \pm 0,04 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) (Tableau 05).

Pour les fèves, les teneurs moyennes en flavonoïdes des eaux de cuisson révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). La variété *Aguadulce* a présenté la teneur la plus élevée ( $30,80 \pm 0,15 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) et la variété *Shale* a présenté la teneur la plus faible ( $10,89 \pm 0,06 \mu\text{g EQ mg}^{-1}$  de MS) (Tableau 05).

En conclusion, les eaux récupérées de la cuisson des espèces de légumes secs étudiées ont accumulé des quantités non négligeables en flavonoïdes. L'eau de la cuisson de lentilles Var. *Metropole* semble être la plus riche et celle provenant de la cuisson des haricots Var. *Cannellini* est la moins riche en flavonoïdes.

#### 1.2.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en flavonoïdes totaux des légumes secs étudiés

En comparant les extraits des échantillons crus, des échantillons cuits et de l'eau de cuisson pour la teneur moyenne en flavonoïdes, une différence significative a été enregistrée entre les variétés de pois chiches analysées (Var. *Flip* et Var. *Ghab5*) ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 05).

Pour la variété *Flip*, l'eau récupérée de la cuisson a présenté la teneur la plus élevée, soit une accumulation de 127,61% par rapport à l'extrait de l'échantillon cru. Par contre l'extrait de l'échantillon cuit a enregistré une diminution de 86,68% toujours en le comparant avec celui de

l'échantillon cru (Figure 28A). Ce constat pourrait être dû à la dégradation thermique de certains flavonoïdes notamment les flavonols, les flavanones et les isoflavones (Aguilera *et al.*, 2011). Díaz-Batalla *et al.* (2006) et Ranilla *et al.* (2009), ont observé une forte variabilité dans la réduction surtout des teneurs en flavonols de certaines variétés (entre 44 et 90%).

De même, pour la variété *Ghab 5*, l'eau de cuisson s'est avérée riche en FT. A l'inverse de la variété *Flip*, l'extrait de l'échantillon cuit a manifesté une augmentation de 100% par rapport à l'extrait de l'échantillon cru (Figure 28A). D'après Saharan *et al.* (2002), les différences variétales constatées pourraient être attribuées à la distribution et la teneur en ces composés dans le tégument et les cotylédons.

Les eaux de cuisson des deux variétés de lentilles (Var. *Ibla* et Var. *Metropole*) révèlent une richesse en flavonoïdes par rapport aux extraits des échantillons crus et ceux des échantillons cuits. A l'inverse, l'extrait des graines cuites variété *Ibla* a montré une réduction de 77,39%, avec une différence intravariétale significative ( $p \leq 0,05$ ). De même, l'extrait de l'échantillon cuit variété *Metropole* a manifesté une diminution de 58,80% par rapport à l'extrait de l'échantillon cru (Figure 28B).

En effet, en se référant à la littérature, ces composés se localisent dans les vacuoles et peuvent exister sous forme d'hétérosides dans lesquels un ou plusieurs groupements hydroxyles sont combinés à des sucres, la présence de cette fraction osidique rend les flavonoïdes très solubles dans l'eau ce qui explique les résultats relatifs aux flavonoïdes (Nayak *et al.*, 2015).

Dans le cas de petits pois, l'eau récupérée de la cuisson des variétés *Messirl* et *Oinward* s'est caractérisée par des teneurs élevées en flavonoïdes totaux. En revanche, les extraits méthanoliques des échantillons cuits ont enregistré une diminution de 80,14% et 90,14% pour les variétés *Messirl* et *Oinward* respectivement (Figure 28C). Ceci pourrait être dû à la richesse de cette légumineuse en flavonoïdes glycosylés qui, après cuisson, ont été libérés et diffusés dans l'eau.

Quant aux haricots secs, la variété *Cannellini* a indiqué une diminution de la teneur en flavonoïdes de 96,87% pour l'extrait de l'échantillon cuit par rapport à l'extrait de l'échantillon cru et une teneur faible pour l'extrait de l'eau de cuisson (Figure 28D). Xu et Chang (2009), rapportent que le traitement thermique est une méthode qui diminue significativement le taux de

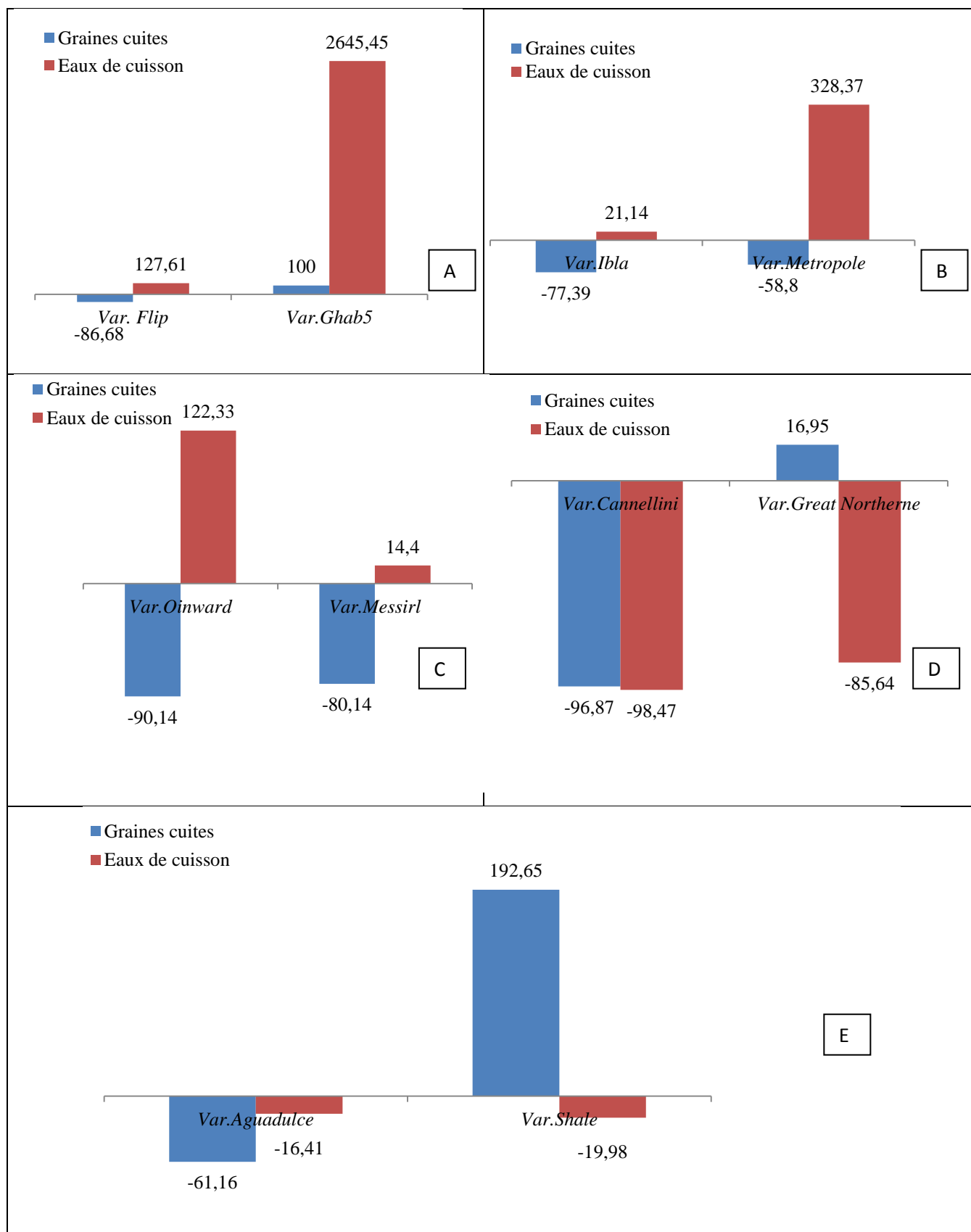


certaines flavonoïdes notamment les anthocyanines, les flavan-3-ols, et les flavonols dans les haricots secs cuits. L'extrait de l'échantillon cuit Var. *Great Northerne* s'est avéré le plus riche en FT avec une augmentation de 16,95% par rapport à l'échantillon cru (Figure 28D). Dans le même axe d'étude, Ranilla *et al.* (2009) et Chen *et al.* (2015), rapportent que la cuisson augmente d'une façon significative la teneur des flavonoïdes, en particulier, les flavanols et les flavonols.

En ce qui concerne les fèves Var. *Aguadulce*, la teneur la plus faible en FT a été enregistrée dans le cas de l'extrait de l'échantillon cuit avec une diminution de l'ordre de 61,16% par rapport à l'échantillon cru (Figure 28E). Cette perte est due à la lixiviation des flavonoïdes dans le milieu de cuisson (Turco *et al.*, 2016). Ce qui permet de justifier la teneur enregistrée dans l'eau de cuisson

L'eau récupérée de la cuisson de la variété *Shale* a enregistré une teneur plus faible. En revanche, l'extrait de l'échantillon cuit a enregistré la teneur la plus élevée (soit une augmentation de 192,65%) par comparaison à l'extrait de l'échantillon cru (Figure 28E). Cette augmentation pourrait être le résultat de la génération de nouveaux composés phénoliques de nature flavonoidique (Siah *et al.*, 2014).

Jiratanan et Liut (2004) rapportent que la cuisson par ébullition d'eau semble entraîner des pertes en flavonoïdes très variables en fonction de l'espèce de légumes et des conditions de cuisson.



**Figure 28.** Pourcentage de variation des teneurs moyennes en flavonoïdes totaux (%) des extraits de légumes cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes crus  
**A** : Pois chiches; **B** : Lentilles; **C** : Petits pois; **D** : Haricots; **E** : Fèves.

### 1.3. Teneurs moyennes en tanins extractibles

Le Tableau 06 indique les teneurs moyennes en tanins extractibles (TE), exprimées en  $\mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de matière sèche, des différents extraits de légumes secs crus, cuits et des eaux de leur cuisson.

**Tableau 06.** Teneurs moyennes en tanins des extraits de légumes secs analysés (exprimées en  $\mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de matière sèche).

Espèces de légumes secs	Variétés	Echantillons	Teneurs en tanins totaux ( $\mu\text{g EAT.mg}^{-1}$ MS)
Pois chiches	<i>Flip</i>	Cru	2,93±0,08 <sup>a</sup>
		Cuit	0,33±0,03 <sup>c</sup>
		Eau de cuisson	0,47 ±0,06 <sup>d</sup>
	<i>Ghab 5</i>	Cru	2,20±0,18 <sup>b</sup>
		Cuit	0,37±0,02 <sup>c</sup>
		Eau de cuisson	0,01 ±0,001 <sup>e</sup>
Lentilles	<i>Ibla</i>	Cru	2,30±0,20 <sup>d</sup>
		Cuit	0,12±0,03 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	4,53±0,03 <sup>f</sup>
	<i>Metropole</i>	Cru	0,02 ± 0,01 <sup>c</sup>
		Cuit	4,80 ± 0,15 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	9,06 ± 0,03 <sup>a</sup>
Petits pois	<i>Oinward</i>	Cru	2,13±0,30 <sup>b</sup>
		Cuit	0,63±0,62 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	0,49±0,02 <sup>c</sup>
	<i>Messirl</i>	Cru	2,52±0,15 <sup>e</sup>
		Cuit	0,39±0,03 <sup>d</sup>
		Eau de cuisson	0,17±0,02 <sup>a</sup>
Haricots	<i>Great Northerne</i>	Cru	0,24±0,06 <sup>b</sup>
		Cuit	0,94±0,25 <sup>a</sup>
		Eau de cuisson	0,06±0,03 <sup>c</sup>
	<i>Cannellini</i>	Cru	2,09±0,57 <sup>d</sup>
		Cuit	0,39±0,09 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	0,27±0,21 <sup>f</sup>
Fèves	<i>Aguadulce</i>	Cru	1,18±0,08 <sup>a</sup>
		Cuit	4,08±0,11 <sup>c</sup>
		Eau de cuisson	2,35±0,04 <sup>d</sup>
	<i>Shale</i>	Cru	1,07±0,01 <sup>b</sup>
		Cuit	3,61±0,08 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	2,36±0,05 <sup>e</sup>

La même lettre signifie absence de différence significative ( $p \leq 0,05$ ) intra-espèce.

#### 1.3.1. Légumes secs crus

D'après le Tableau 06, il ressort que dans le cas de pois chiches, la teneur en tanins extractibles de la variété *Flip* ( $2,93 \pm 0,08 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS) est légèrement élevée par rapport à celle de la variété *Ghab5* ( $2,20 \pm 0,18 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS). L'analyse de la variance entre les deux variétés montre une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). Dans la même optique, Salunkhe *et al.* (1990), rapportent que chez les légumineuses parmi lesquelles figurent les pois chiches, les tanins se trouvent sous forme de tanins condensés. La différence variétale observée est attribuée

probablement aux différents caractères variétaux notamment la taille des graines et l'aspect du tégument. Par comparaison à certains travaux réalisés et sans tenir compte de la nature du standard employé, les teneurs enregistrées sont nettement plus faibles que celle de Sreerama *et al.* (2012) (5,12  $\mu\text{g EC/mg}$  de MS).

Pour les lentilles Var. *Metropole*, sa teneur en tanins est de  $0,02 \pm 0,01 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS. Cette valeur est nettement inférieure par rapport à celle de la variété *Ibla* ( $2,30 \pm 0,20 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS). L'analyse de la variance entre les deux variétés montre une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). En se référant à la bibliographie, Amarowicz *et al.* (2010), ont rapporté une teneur en tanins condensés des lentilles de  $1,92 \mu\text{g EC/mg}$  de MS. Kosinska *et al.* (2011), ont précisé que ces composés sont des polymères de flavan-3-ol. Zhang *et al.* (2018), rapportent que les lentilles sont riches en proanthocyanidines qui sont des tanins. Dueñas *et al.* (2003), ont déjà précisé la composition structurale des proanthocyanidines présents dans le tégument des lentilles; environ 65 à 75% sont des polymères à 7–9 MDP (degré moyen de polymérisation), et 20 à 30% sont des oligomères avec un MDP de 4 à 5. En effet, la différence entre les deux variétés pourrait être due à la nature du tégument (différence de couleur et d'épaisseur).

Concernant la teneur en tanins des petits pois Var. *Messirl* ( $2,52 \pm 0,15 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS), elle est plus proche de celle de la variété *Oinward* ( $2,13 \pm 0,3 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS) mais avec un effet intervariétal significatif ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). De même, cette différence pourrait être due à la couleur de tégument. Troszyńska et Ciska (2002), signalent que les petits pois blancs contiennent généralement des tanins en concentrations plus faibles que les téguments pigmentés en rouge, noir ou en bronze. Chavan *et al.* (2001), ont cité pour les petits pois une teneur en tanins plus faible, équivalente à  $0,257 \mu\text{g EC. mg}^{-1}$  de MS.

Quant aux haricots secs, la variété *Cannellini* semble être plus riche en tanins ( $2,09 \pm 0,57 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS) que la variété *Great Northerne* ( $0,24 \pm 0,06 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS) avec une différence intervariétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Sreerama *et al.* (2012), ont rapporté que les haricots contiennent  $2,13 \mu\text{g EC/mg}$  de MS. En plus, des acides phénoliques et des flavonoïdes, les proanthocyanidines ont également été largement détectés dans les haricots. Ils se répartissent principalement dans les téguments des graines. L'influence des conditions environnementales et du génotype sur les proanthocyanidines ont également été largement étudiées. Barampama et Simard (1993), ont signalé que ces composés sont très influencés à la fois par les conditions environnementales et les facteurs génétiques.

Concernant les variétés de fèves, il s'avère que la teneur de la variété *Aguadulce* ( $1,18 \pm 0,08 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) et celle de la variété *Shale* ( $1,07 \pm 0,01 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) sont très proches mais significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Saini *et al.* (2016), ont trouvé des teneurs de  $6,16 \pm 0,28 \mu\text{g EAT/mg}$  de MS, ces valeurs sont largement supérieures à nos résultats. Multari *et al.* (2015), ont attribué la différence de contenu en tanins largement aux génotypes. Jeziorny *et al.* (2010), ont suggéré que cette différence pourrait être expliquée par la localisation des tanins condensés qui sont considérés comme étant le composé phénolique dominant de la fève.

D'après Brunet (2008), la teneur en tanins d'une plante varie en fonction de plusieurs facteurs intrinsèques, tels que l'espèce et la variété, la partie ou le stade végétatif et les facteurs extrinsèques notamment les conditions climatiques et pédologiques. Parmi les facteurs extrinsèques plusieurs auteurs ont attribué les fluctuations de rendements d'extraction des tanins aux solvants employés. Selon ces derniers, quelque soit le mode d'extraction, l'eau enregistre les teneurs les plus élevées en tanins condensés, suivie par l'éthanol et l'acétone. En revanche, le méthanol extrait faiblement les tanins et l'acétone possède la capacité de solubiliser plus les proanthocyanidines qui ne sont pas solubles dans le méthanol (Wiley, 2002 ; Naczki et Shahidi, 2006). D'après Chavan *et al.* (2001), l'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et même des conditions opératoires.

Les tanins contribuent grandement à la couleur. La localisation intracellulaire de ces substances était mal connue, mais Brillouet *et al.* (2013) ont mis en évidence l'existence, à l'échelle cellulaire, d'un nouvel organite cellulaire dans lequel se concentrent les tanins: le tannosome, présent dans le stroma des chloroplastes, mais aussi dans le cytoplasme ou dans les vacuoles.

### 1.3.2. Légumes secs cuits

Concernant les pois chiches cuits, la teneur en tanins enregistrée de la variété *Ghab5* ( $0,37 \pm 0,02 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) s'est avérée légèrement élevée par rapport à celle de la variété *Flip* ( $0,33 \pm 0,03 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ). La comparaison entre les deux variétés ne révèle aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). En se référant à la bibliographie, Hernandez-Salazar *et al.* (2010) ont signalé des teneurs nettement supérieures ( $183,1 \pm 0,5 \mu\text{g EC/mg}$  de MS). Ceci pourrait être dû, en plus de la nature du standard, à la différence entre les méthodes d'extraction et de quantification employées.

À propos des lentilles cuites, la variété *Metropole* a enregistré une teneur en tanins élevée ( $4,80 \pm 0,15 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) par rapport à celle de la variété *Ibla* ( $0,12 \pm 0,03 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ). La comparaison entre les deux variétés a montré une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). La teneur signalée par Hernandez-Salazar *et al.* (2010) est équivalente à  $17,7 \pm 0,3 \mu\text{g EC/mg}$  de MS. Sans tenir compte de plusieurs facteurs (intrinsèques et extrinsèques), ni du standard, cette teneur est nettement supérieure aux valeurs enregistrées dans la présente étude.

De même, pour les petits pois, il est à remarquer que la variété *Oinward* a présenté une teneur en tanins légèrement élevée ( $0,63 \pm 0,62 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) par rapport à la variété *Messirl* ( $0,39 \pm 0,03 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ). La comparaison entre les deux variétés ne révèle aucune différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Pastuszewska *et al.* (2004), ont enregistré une teneur en tanins de l'ordre de  $5,51 \mu\text{g EAT/mg}$  de MS.

Le haricot Var.*Great Northerne* semble être le plus riche en tanins ( $0,94 \pm 0,25 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) par rapport à l'haricot Var.*Cannellini* ( $0,39 \pm 0,09 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1} \text{MS}$ ) avec une différence intervariétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Selon Abusin *et al.* (2009), les graines cuites d'une variété *Blanche* d'haricots secs ont enregistré une teneur en tanins de  $0,10 \mu\text{g EAT/mg}$  de MS. Des résultats différents ont été rapportés dans une étude de Ranilla *et al.* (2009), dans laquelle aucun tanin condensé n'a été détecté dans les haricots cuits de couleurs noirs et bruns. Il a été suggéré que ce résultat résulte de la formation de complexes insolubles entre les protéines et les tanins et entre les glucides et les tanins, conduisant à l'échec de leur extraction et donc la non-détection des tanins dans le procédé utilisant la réactive vanilline.

Quant aux fèves, la variété *Aguadulce* a montré une teneur en tanins de  $4,08 \pm 0,11 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1}$  de MS, cette valeur est supérieure à celle de la variété *Shale* qui a enregistrée une teneur de  $3,61 \pm 0,08 \mu\text{g EAT} \cdot \text{mg}^{-1}$  de MS, avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par Boukhanouf *et al.* (2016) qui ont trouvé une teneur de  $0,082 \pm 0,003 \mu\text{g EC/mg}$  de MS. Ces différences seraient liées à plusieurs facteurs et en particulier au solvant d'extraction (méthanol) et la méthode analytique utilisée pour le dosage des tanins. Par contre, Saini *et al.* (2016) ont signalé des teneurs proches de l'ordre de  $5,56 \pm 0,97 \mu\text{g EAT/mg}$  de MS.

### 1.3.3. Eaux de cuisson

Il est reconnu que les tanins sont difficilement solubles dans l'eau froide mais solubles dans l'eau chaude (solutions colloïdales). Cependant leur solubilité varie selon le degré de polymérisation. Les solutions aqueuses ont une stabilité variable selon la structure, mais généralement, elle est modérée. Comme tous les phénols, les tanins, en solutions aqueuses, précipitent par réaction avec des bases azotées, des polysaccharides, certains alcaloïdes hétérosides et certaines protéines.

L'accumulation des tanins en milieu aqueux s'appuie sur le phénomène de diffusion en créant une différence de concentration en tanins entre la matrice cuite et le milieu aqueux qui l'entoure. Ce phénomène obéit à la loi de Fick qui stipule que les tanins ne peuvent être extraits que si leur concentration dans la graine est supérieure à celle du milieu aqueux.

En ce qui concerne l'eau de cuisson des pois chiches, la variété *Ghab 5* a enregistré une teneur en tanins inférieure ( $0,01 \pm 0,001 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS) par rapport à celle de la variété *Flip* ( $0,47 \pm 0,06 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS). Ces deux teneurs sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06).

L'eau de cuisson récupérée des lentilles Var. *Ibla* et Var. *Metropole* a enregistré des teneurs en tanins élevées, respectivement de  $4,53 \pm 0,03 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  MS et  $9,06 \pm 0,03 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS. La comparaison entre les deux variétés montre une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06).

Quant aux petit pois, l'eau de cuisson récupérée de la variété *Oinward* a donné une teneur en tanins élevée ( $0,49 \pm 0,02 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS) par rapport à celle de la variété *Messirl* ( $0,17 \pm 0,02 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les teneurs de deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06).

Pour les haricots secs, l'eau de cuisson récupérée de la variété *Great Northerne* a enregistré une teneur en tanins inférieure ( $0,06 \pm 0,03 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS) par rapport à celle de la variété *Cannellini* ( $0,27 \pm 0,21 \mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS). Ces deux teneurs sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06).

Concernant les variétés étudiées de fèves (Var. *Aguadulce* et Var. *Great Northerne*), les teneurs en tanins dans les eaux de cuisson récupérées sont très proches, mais différentes significativement ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06).

En récapitulation, l'évaluation des teneurs moyennes en tanins extractibles (TE), exprimées en  $\mu\text{g EAT.mg}^{-1}$  de MS, des différents extraits des échantillons crus, échantillons cuits et des eaux de leur cuisson, montre que les fèves sont les plus riches en tanins extractibles. Cependant, les haricots secs (Var. *Great Northerne*) se avéré les moins riches. En effet, en plus de l'effet espèce, ces différences peuvent attribuer à la distribution et la teneur en composés phénoliques dans le tégument et les cotylédons chez les légumineuses (Xu et Chang, 2007).

Selon Jokić *et al.* (2010), l'augmentation de la température favorise d'une part la diffusion et la solubilité des substances extraites, et d'autre part elle détruit certaines substances fragiles. Cette augmentation des teneurs en tanins dans les extraits peut être expliquée par la destruction par la chaleur des polyphénols oxydases (PPO) qui baissent la teneur en polyphénols; ainsi, la rupture des liaisons entre les polyphénols et d'autres substances (protéines, polysaccharides...) menant à l'accessibilité à ces principes actifs ce qui explique leur abondance (Lutz *et al.*, 2011).

#### 1.3.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en tanins extractibles

La littérature scientifique ne recense pas d'études sérieuses sur les propriétés thermodynamiques des tanins présents dans les légumes secs. La cuisson des pois chiches a entraîné une diminution de la teneur en tanins de 88,73% et 83,18% respectivement pour la variété *Flip* et *Ghab5* avec une absence de différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 29A). Au sujet des eaux récupérées de la cuisson; les teneurs révélées pour la variété *Flip* et la variété *Ghab5* sont très faibles ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 29A).

La réduction de la teneur en tanins après cuisson pourrait être due à la réduction de l'extractibilité des tanins, en augmentant leur polymérisation, ce qui a donné des valeurs plus faibles (Van der Poel *et al.*, 1992).

Pour les lentilles, la variété *Metropole* a présenté une nette augmentation de la teneur en tanins après cuisson de l'ordre de 23900% par rapport à l'état cru. Par contre, ce n'est pas le cas pour la variété *Ibla* où une diminution de 94,78% a été enregistrée (Figure 29B). Les travaux consultés concernant l'impact de la cuisson sur la teneur en ces composés est souvent



contradictoires. A titre d'exemple, Xu et Chang (2007), ont signalé que les lentilles cuites ont enregistré une valeur de tanins condensés supérieure à celles enregistrées dans les graines crues de 11 variétés. À l'inverse, Calixto *et al.* (2007), ont indiqué que la teneur enregistrée dans une variété de lentilles cuites est inférieure par comparaison à l'état cru. La différence pourrait être due aux variétés agronomiques et les méthodes utilisées pour l'extraction et la quantification de ces composés.

Les résultats relatifs aux eaux de cuisson dévoilent des teneurs importantes et parfois exagérantes en tanins pour les lentilles Var. *Ibla* et Var. *Métropole*, respectivement. De même, et d'après les résultats illustrés dans la Figure 29B, les eaux de cuisson détiennent des teneurs élevées en tanins par rapport aux lentilles cuites et crues.

Les résultats relatifs aux graines cuites des petits pois dévoilent une diminution de concentrations en tanins variant entre 70,42% pour la variété *Oinward* et 84,52% pour la variété *Messirl*. Les quantités de tanins détectés dans les eaux de cuisson des deux variétés semblent être faibles (Figure 29C).

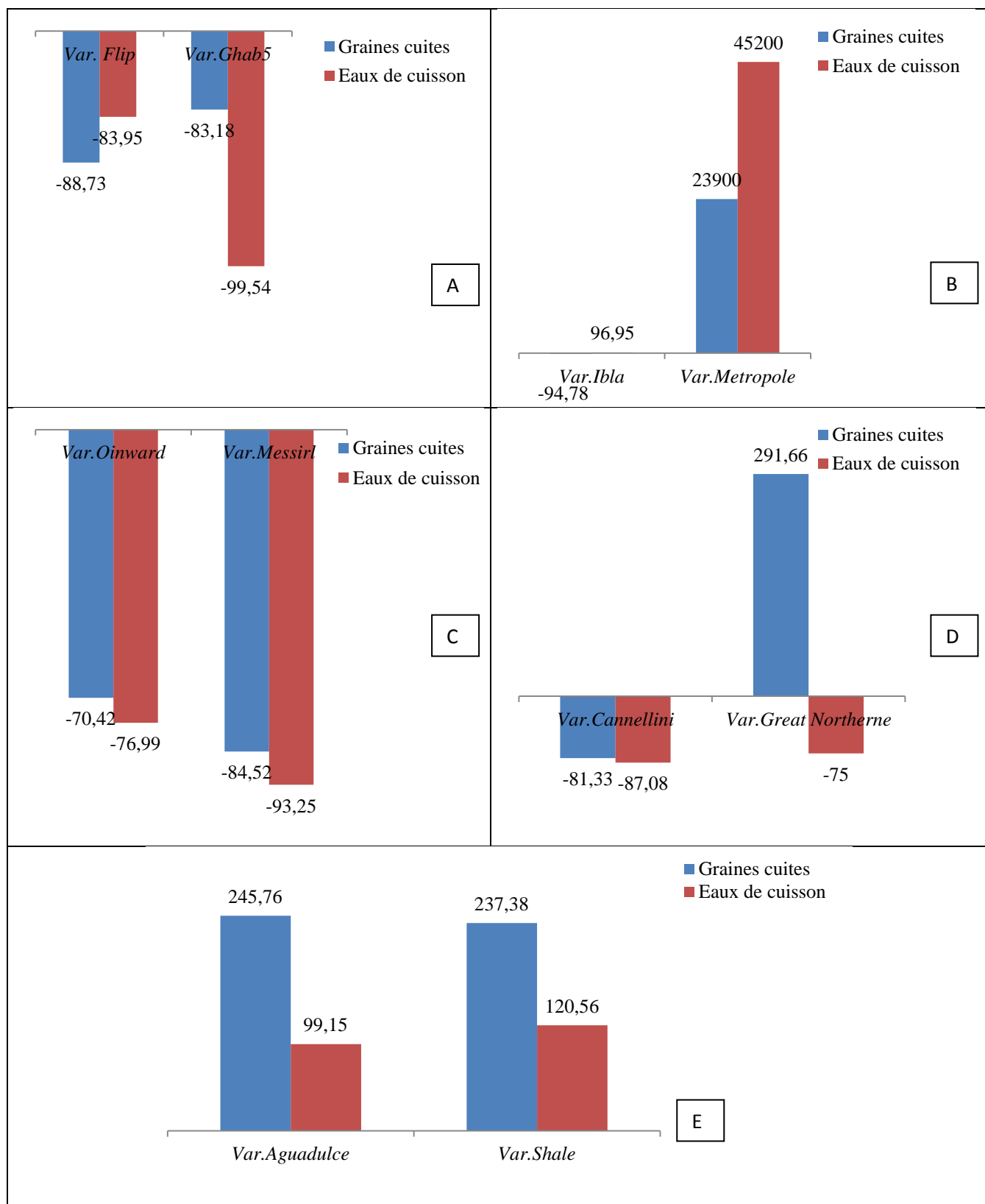
Une augmentation dans la teneur en tanins de 291,6% a été enregistrée dans les graines cuites de la variété *Great Northerne* d'haricots secs. Par ailleurs, une diminution de 81,33% a été enregistrée dans les graines cuites de la variété *Cannellini* (Figure 29D). Ce dernier résultat concorde avec les travaux de Perez *et al.* (2008), qui ont indiqué que la teneur en tanins condensés des haricots communs (*P. vulgaris L., cv Negro 8025*) diminue par le traitement thermique. Dans le même contexte, Wolosiak *et al.* (2010) ont montré que la cuisson provoque une diminution de la teneur en tanins de 12%. De faibles concentrations en tanins sont aperçues dans les eaux de cuisson des haricots variété *Great Northerne* et variété *Cannellini* (Figure 29D).

L'analyse statistique montre une différence significative entre les deux variétés de fèves (*Aguadulce* et *Shale*) ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 06). Une augmentation de la teneur en tanins dans les graines cuites des deux variétés a été enregistrée par rapport aux échantillons crus, elle est de 237,38% et 245,76% pour la variété *Shale* et la variété *Aguadulce* respectivement. Pour le cas des eaux de cuisson récupérées, des teneurs élevées ont été révélées pour les deux variétés (Figure 29E).

Les proanthocyanides (tanins) sont reconnus pour former une partie importante des polyphénols alimentaires mais ils ont été peu étudiés. Les méthodes de dosage étant moins

répandues que celles disponibles pour les polyphénols monomères. Ces molécules semblent être stables au traitement thermique, d'éventuelles pertes auront lieu surtout en début de cuisson avant l'inactivation des polyphénols oxydases (Nève, 2002).

Les polyphénols et y compris les tanins sont susceptibles d'être oxydés durant la destruction tissulaire et avant inactivation enzymatique. Cependant, il semble qu'ils soient relativement stables à l'exception des anthocyanes. Des processus comme l'écrasement, l'extraction et le chauffage modifient les caractéristiques structurales des aliments en libérant les antioxydants qui se trouvent normalement localisés dans les liposomes ou des membranes. Ceci les rend plus sensibles à l'oxydation et aux interactions avec d'autres constituants, mais d'un autre côté ils peuvent gagner par la biodisponibilité (Nève, 2002).



**Figure 29.** Pourcentage de variation des teneurs moyennes en tanins extractibles (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes secs crus

**A** : Pois chiches; **B** : Lentilles; **C** : Petits pois; **D** : Haricots; **E** : Fèves.

### 1.4. Teneurs moyennes en anthocyanines

Le Tableau 07 expose les teneurs moyennes en anthocyanines, exprimées en  $\mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de matière sèche, des différents extraits de légumes secs crus, légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson.

**Tableau 07.** Teneurs moyennes en anthocyanines des extraits de légumes secs ( $\mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS).

Espèces de légumes secs	Variétés	Echantillons	Teneur moyenne des anthocyanes (mg ECy-3-Glu.g <sup>-1</sup> de MS).
Pois chiches	<i>Flip</i>	Cru	13,35±2,77 <sup>a</sup>
		Cuit	79,77±1,47 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	4,36±0,2 <sup>c</sup>
	<i>Ghab 5</i>	Cru	0,77±0,14 <sup>d</sup>
		Cuit	28,63±0,93 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	27,49±0,04 <sup>e</sup>
Lentilles	<i>Ibla</i>	Cru	53,45±3,35 <sup>a</sup>
		Cuit	48,96±3,13 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	5,69±0,60 <sup>c</sup>
	<i>Metropole</i>	Cru	18,63±1,00 <sup>d</sup>
		Cuit	6,83±5,37 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	0,39±0,10 <sup>f</sup>
Petits pois	<i>Oinward</i>	Cru	2,51±0,77 <sup>a</sup>
		Cuit	69,19±1,94 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	1,60±0,17 <sup>c</sup>
	<i>Messirl</i>	Cru	1,11±0,43 <sup>d</sup>
		Cuit	36,53±2,54 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	1,71 ±0,10 <sup>f</sup>
Haricots	<i>Great Northerne</i>	Cru	0,94±0,45 <sup>a</sup>
		Cuit	0,39±0,12 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	0,1±0,03 <sup>c</sup>
	<i>Cannellini</i>	Cru	2,09±0,57 <sup>d</sup>
		Cuit	0,34±0,06 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	1,09±0,12 <sup>f</sup>
Fèves	<i>Aguadulce</i>	Cru	4,08±0,11 <sup>a</sup>
		Cuit	6,35±0,04 <sup>b</sup>
		Eau de cuisson	1,83±0,04 <sup>c</sup>
	<i>Shale</i>	Cru	3,10±1,26 <sup>d</sup>
		Cuit	5,23±0,34 <sup>e</sup>
		Eau de cuisson	2,78±0,05 <sup>f</sup>

La même lettre signifie absence de différence significative ( $p \leq 0,05$ ) intra-espèce.

#### 1.4.1. Légumes secs crus

D'après le tableau 07, il ressort que la teneur en anthocyanines des pois chiches *Var. Flip* ( $13,35 \pm 2,77 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) est plus importante que celle de la variété *Ghab5*

( $0,77 \pm 0,14 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés a montré une différence significative ( $\alpha \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

De même, la teneur en anthocyanines des lentilles crues Var. *Ibla* ( $53,45 \pm 3,35 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) est nettement élevée par rapport à celle de la Var. *Metrople* ( $18,63 \pm 10 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). Les valeurs obtenues dans la présente étude sont différentes de celle rapportée par Oomah *et al.* (2011), qui est de  $0,20 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS pour les lentilles, variété rouge. Quant aux petits pois, la teneur en anthocyanines de la variété *Oinward* est de  $2,51 \pm 0,77 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS. Cette valeur est supérieure par rapport à celle de la variété *Messirl* ( $1,11 \pm 0,43 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07). Par comparaison à certains travaux, les valeurs obtenues dans la présente étude sont différentes de celle rapportée par Oomah *et al.* (2011), qui est de  $0,17 \text{ mg ECy-3-Glu/g}$  de MS pour les pois jaunes.

Pour les haricots secs, la variété *Cannellini* semble être plus riche en anthocyanines ( $2,09 \pm 0,57 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) que la variété *Great Northerne* ( $0,94 \pm 0,45 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) avec une différence intervariétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07). En se référant à la bibliographie, Lin *et al.* (2008) ont rapporté une teneur en anthocyanines des haricots secs blancs est de  $2,74 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS. Cette teneur est proche de celle de la variété *Cannellini* analysée dans la présente étude. Dans le même contexte, certains auteurs ont signalé des teneurs plus faibles, notamment Espinosa-alonso *et al.* (2006) ( $0,01$  à  $1,85 \mu\text{g ECy-3-Glu /mg}$  de MS) et Dzomba *et al.* (2013) ( $0,0028 \pm 0,01 \mu\text{g ECy-3-Glu /mg}$  de MS).

Il est à remarquer que les teneurs moyennes en anthocyanines de fèves sont remarquablement élevées; elles sont de l'ordre de  $4,08 \pm 0,11$  et  $3,10 \pm 1,26 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS, pour la variété *Aguadulce* et la variété *Shale* respectivement; et elles sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07). Par comparaison à certains travaux, Johnson *et al.* (2020), ont analysé les anthocyanines de dix variétés de fèves et les teneurs enregistrées sont plus faibles. La teneur la plus élevée est de  $0,21 \pm 4,3 \mu\text{g ECy-3-glu /mg}$  de MS pour la variété *PBA Nasma* et la plus faible est de  $0,127 \pm 3,4 \mu\text{g ECy-3-Glu /mg}$  de MS pour la variété *PBA Samira*.

A travers ces résultats, il s'avère que la teneur en anthocyanines varie de manière importante selon les espèces et même les variétés. Horbowics *et al.* (2008) ajoutent comme autres facteurs pouvant affecter la teneur en ces composés, le solvant d'extraction, la méthode

d'extraction, le standard employé, la température et la lumière, les modes de culture (greffe, fertilisation,...) ou plus largement les modes de production (plein champ, hors sol,...).

Schreiner (2005) précise que chez les légumes, le rayonnement et la température jouent un rôle marqué. L'intensité du rayonnement a une influence prouvée sur le métabolisme des flavonoïdes et des anthocyanes. Par exemple, les légumes exposés à la lumière solaire contiennent davantage de flavonoïdes et des anthocyanes que les légumes cultivés sous ombrage. Veit-Kohler *et al.* (1999) ajoutent que l'apport en eau jouerait un grand rôle dans la teneur en composés bioactifs, ainsi une réduction en eau serait accompagnée d'une augmentation de la teneur en matière active. De même, selon Finley (2005), les années de culture et de récolte induisent des écarts importants en particulier sur les teneurs en composés phénoliques. La fertilisation et l'irrigation pris individuellement ou en interaction sont deux techniques culturales qui ont été étudiées comme facteurs de variation des micro constituants végétaux. Une fertilisation spécifique peut être utilisée pour augmenter la teneur en composés bioactifs de produits récoltés.

La charge en graines dans les gousses est connue comme pouvant modifier la teneur en polyphénols totaux et en anthocyanes, associée à une apparence plus attractive et à une meilleure qualité organoleptique des gousses les moins chargés (Stopar *et al.*, 2002).

#### 1.4.2. Légumes secs cuits

A l'issu des résultats enregistrés, la teneur en anthocyanines de la variété *Flip* ( $79,77 \pm 1,47 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) est supérieure par rapport à celle de la variété *Ghab 5* ( $28,63 \pm 0,93 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07). De même, les valeurs obtenues dans la présente étude sont différentes de celle rapportée par Cristobal *et al.* (2010), qui sont  $14,9 \pm 0,6 \mu\text{g}$  de chlorure de pelargonidine/g de MS.

Quant aux lentilles, la teneur en anthocyanines de la Var.*Ibla* s'est avérée plus élevée ( $48,96 \pm 3,13 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) que celle de la variété *Metropole* ( $6,83 \pm 5,37 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07). Les valeurs obtenues dans la présente étude sont différentes de celle rapportée par Cristobal *et al.* (2010), qui est de  $36,2 \pm 0,6 \mu\text{g}$  de chlorure de pelargonidine/g de MS.

On remarque que pour les petits pois, la variété *Oinward* contient une teneur en anthocyanines élevée ( $69,19 \pm 1,94 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) par rapport à celle des petits pois Var. *Messirl* ( $36,53 \pm 2,54 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

Quant aux haricots secs, la variété *Cannellini* a donné une teneur de  $0,34 \pm 0,06 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS et le haricot *Great Northerne* a donné une teneur de  $0,39 \pm 0,09 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS. Cette différence est due à la méthode d'extraction suivie, les variétés étudiées et la méthode de cuisson.

Pour les fèves, la variété *Aguadulce* a enregistré une teneur de  $6,35 \pm 0,04 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS et la variété *Shale* a donné une teneur de  $5,23 \pm 0,34 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS avec une signification de différence ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

#### 1.4.3. Eaux de cuisson

En ce qui concerne les eaux de cuisson des pois chiches Var. *Flip* et Var. *Ghab 5*, elles montrent des teneurs en anthocyanines équivalentes à  $4,36 \pm 0,2$  et  $27,49 \pm 20,04 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS respectivement avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

Dans le cas des lentilles, les eaux de cuisson des variétés *Ibla* et *Metropole* ont enregistré des teneurs en anthocyanines de  $5,69 \pm 0,60 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS et  $0,39 \pm 0,10 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS, respectivement. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

Quant aux petits pois, les variétés *Oinward* et *Messirl*, les eaux de cuisson ont enregistré de faibles teneurs en anthocyanines proches ( $1,60 \pm 0,17$  et  $1,71 \pm 0,10 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS) respectivement. Toutefois, la comparaison entre les deux variétés a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

L'eau de cuisson d'haricots Var. *Cannellini* a enregistré une teneur de  $1,09 \pm 0,12 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS, cette valeur est très proche de celle de la variété *Great Northerne* ( $0,1 \pm 0,03 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS). Cependant, la comparaison entre les deux variétés a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

Concernant les fèves, l'eau de cuisson de la variété *Aguadulce* est de  $1,83 \pm 0,04 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS et l'eau de la cuisson de la variété *Shale* est de  $2,78 \pm 0,05 \mu\text{g ECy-3-Glu.mg}^{-1}$  de MS avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 07).

#### 1.4.4. Effet de la cuisson à l'eau sur la teneur en anthocyanines

Les résultats obtenus indiquent que pour les pois chiches, une augmentation de la teneur en anthocyanines a été constatée lors de la cuisson des graines de la variété *Flip* et la variété *Ghab5*. Cette augmentation est de 497,52% pour la variété *Flip* et 3618,18% pour la variété *Ghab 5*. La teneur en anthocyanines de l'eau de cuisson de la variété *Flip* faible, par contre on constate une forte accumulation des anthocyanines dans l'eau de cuisson de la variété *Ghab5*. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 30A).

En ce qui concerne les lentilles cuites, Var. *Ibla* et Var. *Metropole*, les teneurs en anthocyanines ont été diminués de 8,4% et 63,33% respectivement par rapport aux graines crues. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 30B). Une quantité des anthocyanines a diffusé dans l'eau de cuisson des deux variétés. Elle est de 89,35% pour la variété *Ibla* et de 97,90% pour la variété *Metropole* (par rapport à l'état cru).

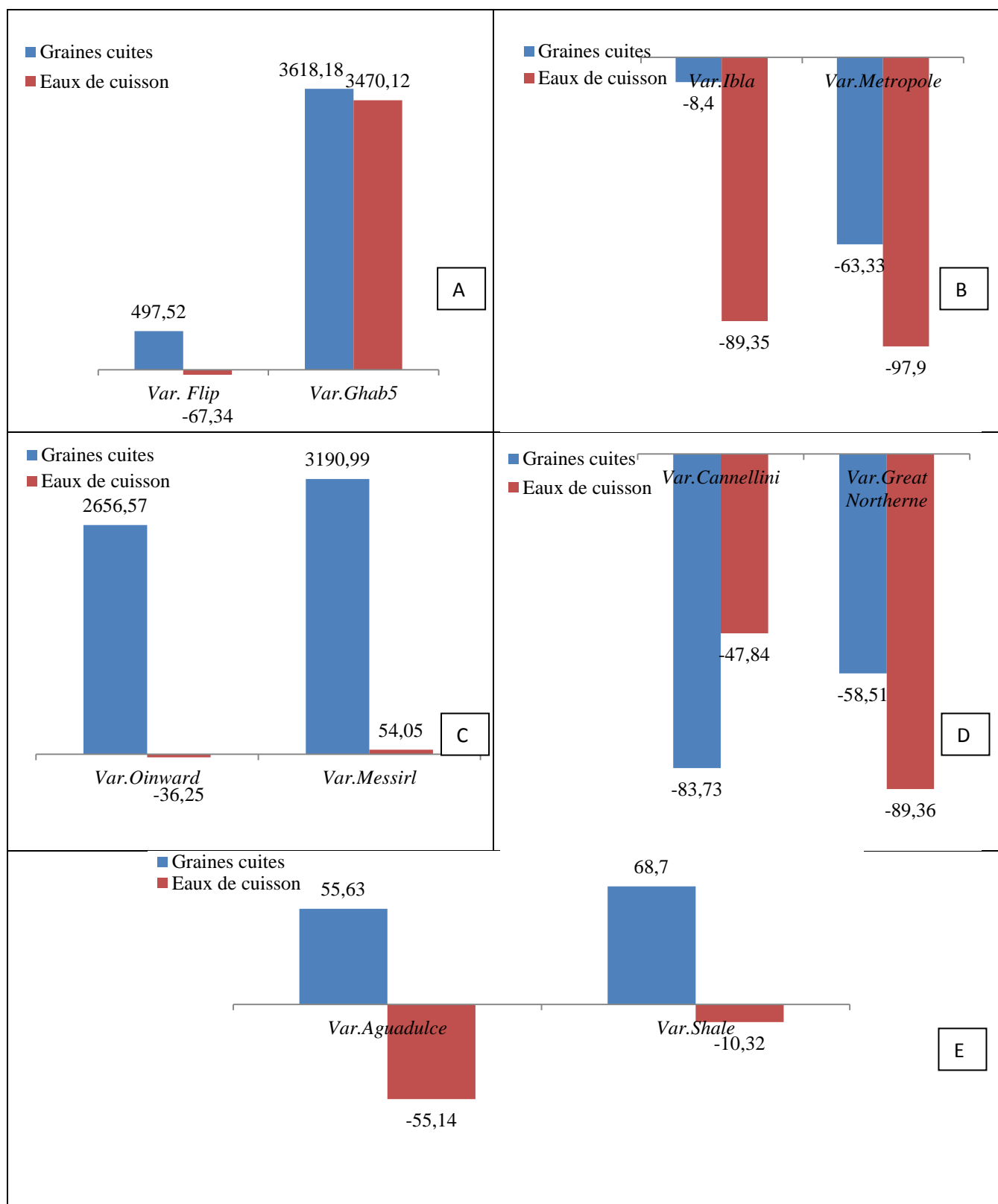
Quant aux petits pois *Oinward* et *Messirl*, une nette augmentation de l'ordre de 2656,57% et 3190,99% a été enregistrée respectivement après cuisson avec une différence significative. En ce qui concerne l'eau de cuisson de la variété *Oinward*, la quantité diffusée est égale à 36,25% du contenu des graines crues. Par contre, une accumulation des anthocyanines a été détectée dans l'eau de cuisson de la variété *Messirl*, équivalente à 54,05%. Les deux teneurs sont significativement différentes ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 30C).

Pour les haricots, la cuisson des graines a engendré une diminution de la quantité des anthocyanines de 58,51% et 83,73% pour la variété *Great Northerne* et la variété *Cannellini* respectivement. De même, une quantité non négligeable s'est diffusée vers l'eau de cuisson des deux variétés, elle est de 89,36% pour variété *Great Northerne* et 47,84% pour la variété *Cannellini*, avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 30D).

La cuisson des graines de fèves a provoqué une augmentation de la teneur en anthocyanines de 68,70% pour la variété *Shale* et 55,63% pour la variété *Aguadulce* avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). La quantité diffusée dans l'eau de cuisson de la variété *Shale*



est de 10,32% et celle de la variété *Aguadulce* est de 55,14% avec signification de différence ( $p \leq 0,05$ ) (Figure 30E).



**Figure 30.** Pourcentage de variation des teneurs moyennes en anthocyanines (%) des extraits de légumes secs cuits et des eaux de cuisson par rapport aux légumes secs crus  
**A** : Pois chiches; **B** : Lentilles; **C** : Petits pois; **D** : Haricots; **E** : Fèves

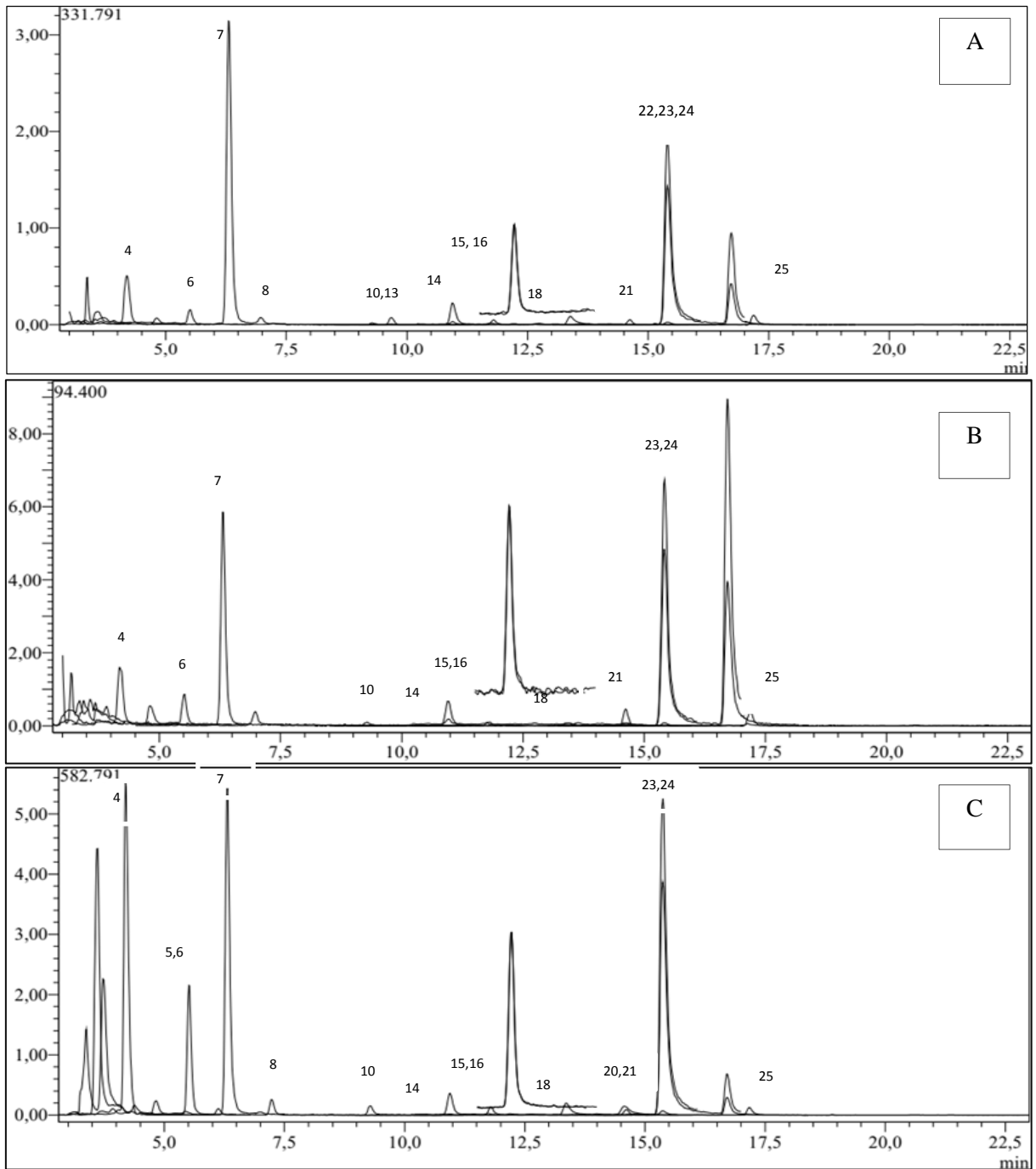
## 2. Profils chromatographiques des composés phénoliques

La comparaison des temps de rétention des extraits des légumes secs analysés et enregistrés dans les différents chromatogrammes avec ceux des standards a permis l'identification de leurs profils en composés phénoliques.

### 2.1. Profils chromatographiques des extraits de lentilles

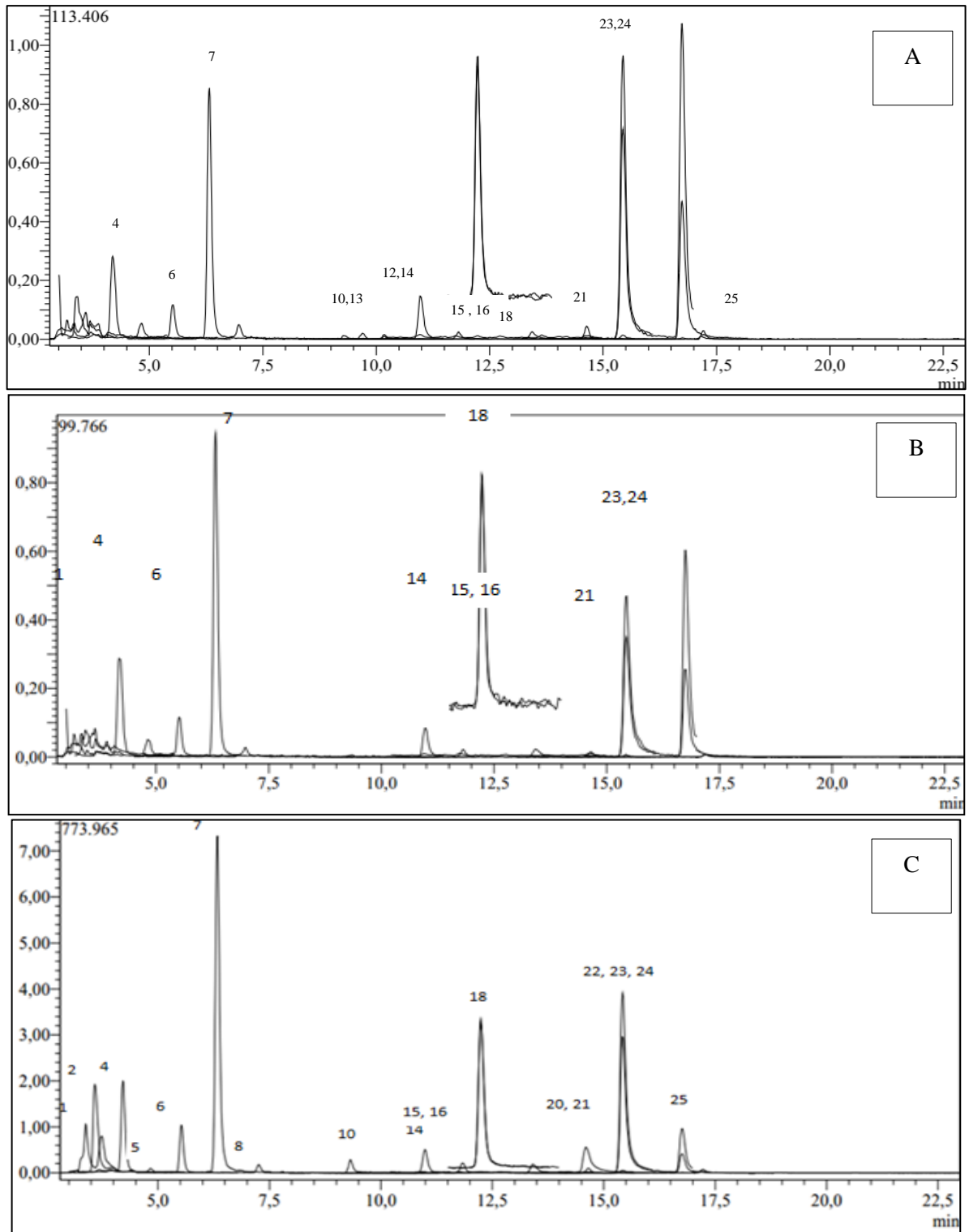
Le profil chromatographique des extraits de la variété *Ibla* a permis de révéler des composés phénoliques en nombre de 15, 12 et 15 dans les extraits de légumes crus, légumes cuits et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 31). Quant à la variété *Métropole*, des composés en nombre de 14, 10 et 16 ont été détectés dans les extraits de légumes crus, les légumes cuits et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 32).

Les valeurs des concentrations (exprimées en  $\mu\text{g}$  analyte/g d'extrait) des extraits de légumes crus, cuits et de l'eau de cuisson des variétés de lentilles ainsi que les pourcentages de variation (%) par comparaison aux extraits de légumes crus sont récapitulés dans le Tableau 08.



**Figure 31.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de lentille Var.

*Ibla* : **A.** crue    **B.** cuite    **C.** eau de cuisson.



**Figure 32.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de lentille Var. *Metropole* : **A.** crue **B.** cuite **C.** eau de cuisson.

**Tableau 08.** Concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) des extraits de lentilles crues et cuites et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport aux extraits de lentilles crues.

Analytes	Variétés	Éch. cru	Éch. cuit	TV	Eau de	TV (%)
Acide gallique	<i>Métropole</i>	125,95	133,71	+6,16	702,65	+457,88
	<i>Ibla</i>	224,51	71,55	-68,13	1978,4	+781,21
Acide chlorogénique	<i>Métropole</i>	ND	ND		14,15	CN
	<i>Ibla</i>	ND	ND		67,21	CN
Acide protocatéchique	<i>Métropole</i>	67,07	65,49	-2,36	533,23	+695,04
	<i>Ibla</i>	86,62	46,03	-46,86	1093,85	+1162,81
Acide tanique	<i>Métropole</i>	3734,71	4127,67	+10,52	30597,25	+719,27
	<i>Ibla</i>	14299,15	2512,28	-82,43	22424,82	+56,83
Acide <i>tr</i> -caféique	<i>Métropole</i>	ND	ND		18,64	CN
	<i>Ibla</i>	1,76	ND		25,82	+1367,05
Vanilline	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Acide <i>p</i> -coumarique	<i>Métropole</i>	17,81	ND		556,26	+3023,30
	<i>Ibla</i>	27,96	14,49	-48,18	311,21	+1013,05
Acide rosmarinique	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Rutine	<i>Métropole</i>	13,94	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Hesperidine	<i>Métropole</i>	17,71	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	62,25	ND		ND	
Hyperoside	<i>Métropole</i>	185,03	108,18	-41,53	578,02	+212,39
	<i>Ibla</i>	275,04	80,22	-70,83	436,47	+58,69
Acide 4-OH benzoïque	<i>Métropole</i>	88,35	68,55	-22,41	345,37	+290,91
	<i>Ibla</i>	88,92	51,15	-42,48	285,63	221,22
Acide salicylique	<i>Métropole</i>	77,92	61,01	-21,70	287,31	+268,72
	<i>Ibla</i>	79,5	46,28	-41,79	260,98	+228,28
Myricétine	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Fisetine	<i>Métropole</i>	297,76	157,26	-47,19	259,9	-12,71
	<i>Ibla</i>	265,72	254,04	-4,40	173,62	-34,66
Coumarine	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Quercétine	<i>Métropole</i>	ND	ND		178,69	CN
	<i>Ibla</i>	ND	ND		51,99	CN
Naringénine	<i>Métropole</i>	5,47	2,15	-60,69	12,71	+132,36
	<i>Ibla</i>	6,17	5,52	-10,53	12,25	+98,54
Hesperétine	<i>Métropole</i>	ND	ND		9,7	CN
	<i>Ibla</i>	3,78	ND		ND	
Lutéoline	<i>Métropole</i>	132,54	71,84	-45,80	587,11	+342,97
	<i>Ibla</i>	304,36	96,82	-68,19	793,06	+160,57
Kaempférol	<i>Métropole</i>	133,28	76,46	-42,63	578	+333,67
	<i>Ibla</i>	288,2	94,97	-67,05	755,77	+162,24
Apigénine	<i>Métropole</i>	3,16	ND		9,15	+189,56
	<i>Ibla</i>	12,1	4,97	-58,93	15,49	+28,02
Rhamnétine	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	
Chrysin	<i>Métropole</i>	ND	ND		ND	
	<i>Ibla</i>	ND	ND		ND	

TV(%) : Taux de variation (en %) par rapport à l'extrait cru ; + : Augmentation ; - : Réduction ; ND : Non détecté ;

CN : Composé néoformé.

### 2.1.1. Extraits de lentilles crues

L'analyse du profil phénolique de l'extrait des lentilles crues Var. *Métropole*, montre que l'acide tannique est le composé majoritaire. En revanche, quatre composés détectés sont minoritaires et qui sont : l'acide *p*-coumarique, l'hesperidine, la naringénine et l'apigénine. D'autres composés ayant des concentrations révélées variables ont été aussi détectés. Parallèlement, six composés n'ont pas pu être détectés; il s'agit de l'acide chlorogénique, la quercétine, l'hespéritine, l'acide *tr*-caféique et la rutine .

Quant à la variété *Ibla*, l'extrait de l'échantillon cru s'est révélé aussi riche en composés phénoliques. Le composé majoritaire est le même que celui de la variété *Métropole* (acide tannique). Parallèlement, les composés minoritaires ou faiblement détectés sont l'acide *tr*-caféique, la naringénine, l'hespéritine et l'apigénine. Certains composés n'ont pas pu être détectés comme l'acide chlorogénique, la rutine et la quercétine. De même, d'autres composés ayant des concentrations variables ont été détectés et qui sont l'acide gallique, l'hyperoside, la fisetine, la luteoline et le kaempferol.

D'après ces résultats, on suggère que les deux variétés présentent des caractéristiques communes, notamment la présence d'un composé majoritaire commun (acide tannique), elles sont dépourvues de trois composés communs (acide chlorogénique, rutine et quercétine) et qu'elles présentent trois composés minoritaires communs (hesperidine, naringénine et apigénine). En effet, ces caractéristiques peuvent être propres à l'espèce *Lens culinaris* (les lentilles) et constituent son empreinte phénolique. En se référant à la bibliographie, certains auteurs notamment Mirali *et al.* (2014), ont détecté d'autres composés phénoliques dans les lentilles (*Lens culinaris* Var. *Medik.*) qui se caractérisent par une forme de disque et une couleur verte. Ces composés sont l'acide salicylique, l'acide vanillique -4- $\beta$ -d-glucoside, la (-)-gallocatechine flavan-3-ols, la procyanidine B1, les proanthocyanidines, la catechine-3-glucoside flavan-3-ols, la (+)-catechine flavan-3-ols, la ( $\pm$ )-catechine, le kaempferol dirutinoside, le kaempferol-3-*O*-robinoside-7-*O*-rhamnoside, la resveratrol-3- $\beta$ -mono-d-glucoside, la myricétine-3-*O*-rhamnoside, la quercétine-3-*O*-rhamnoside, la luteolin-4'-*O*-glucoside, le 4-hydroxy-6-méthylcoumarine et la luteoline.

En effet, les différences observées pourraient être attribuées à plusieurs facteurs notamment les méthodes d'extraction et d'identification des composés phénoliques, la nature du standard employé pour leur identification et la structure chimique du composé phénolique

en question. Aussi, elles peuvent être attribuées au facteur variétal et aux conditions environnementales (conditions de culture, etc.). Dans le même contexte, Schreiner (2005) a évoqué que l'intensité de rayonnement influe sur le métabolisme des flavonoïdes. Il rapporte que les légumes exposés à la lumière solaire contiennent davantage de flavonoïdes que les légumes cultivés sous ombrage. Dragovic-Uzelac *et al.* (2007) suggèrent que la région de culture pourrait avoir un effet dû à la combinaison des facteurs environnementaux et leurs interactions. Stopar *et al.* (2002), ont étudié séparément l'effet de la fertilisation et de l'irrigation, et même leur interaction. Il s'est avéré que ces deux opérations constituent des facteurs de variation de micro-constituants végétaux. Cependant, malgré ce constat, la gamme de variations d'origine climatique ou agronomique apparaît bien moins importante en amplitude que les variations d'ordre génétique. De plus, il peut exister des interactions entre ces facteurs.

### 2.1.2. Extraits de lentilles cuites

Pour les lentilles cuites Var. *Métropole*, le composé majoritaire est toujours l'acide tannique. Parmi les composés minoritaires détectés, quatre composés sont soit quasiment absents, soit existant mais en faibles concentrations (inférieure au seuil de détection). Ce constat s'explique probablement par le fait qu'ils aient soit complètement diffusés dans l'eau de cuisson, soit dégradés dans leur totalité après cuisson. Il s'agit de composés suivants : acide *p*-coumarique, rutine, apégénine et hesperidine. En comparaison toujours à l'état cru, une réduction importante a été enregistrée pour certains composés, notamment, la naringénine (60,69%), la fisetine (47,19%), la luteoline (45,80%), le kaempferol (42,63%), l'hyperoside (41,53%), l'acide 4-OH benzoïque (22,41%), l'acide salicylique (21,70%) et à moindre degré l'acide protocatechique (2,36%). Par ailleurs, deux composés seulement ont montré une augmentation relative de teneurs par rapport à l'état cru, c'est le cas de l'acide gallique (6,16%) et de l'acide tannique (10,52%).

Concernant la variété *Ibla*, les composés phénoliques détectés sont en nombre de douze (12) et leurs teneurs sont plus faibles par rapport à ceux détectés à l'état cru. De même une réduction de teneurs des autres composés phénoliques a été observée, en l'occurrence l'acide tannique (82,43%), l'hyperoside (70,83%), la luteoline (68,19%), l'acide gallique (68,13%), le kaempferol (67,05%), l'apigénine (58,93%), l'acide *p*-coumarique (48,18%), l'acide protocatechique (46,86%), l'acide 4-OH benzoïque (42,48%), l'acide salicylique (41,79%) et à moindre degré la naringénine (10,53%) et la fisetine (4,40%). La comparaison

de la composition de l'extrait de l'échantillon cuit et celle de l'extrait de l'échantillon cru, montre une diffusion ou une dégradation totale de certains composés, notamment l'hesperetine, l'acide *tr*-caféique et l'hesperidine. En effet, ces composés sont à la fois thermosensibles et hydrosolubles, ce qui signifie qu'ils sont détruits à haute température et que leurs produits de dégradation passent dans l'eau de cuisson. Dans la même optique, Han et Baik (2008) ont rapporté que la teneur phénolique totale de lentilles est réduite d'environ 16 à 41 % après cuisson. Zhanga *et al.* (2018) ont constaté que la cuisson provoque des réductions significatives ( $P \leq 0,05$ ) de la procyanidine et des acides phénoliques: gallique, chlorogénique, sinapique et *p*-coumarique.

A l'issue de ces résultats, il semble que la cuisson affecte de manière significative le profil phénolique des lentilles. La stabilité des composés phytochimiques pendant le traitement thermique a été et reste une préoccupation majeure.

### 2.1.3 Eaux de cuisson de lentilles

Concernant l'eau récupérée de la cuisson de la variété *Métropole*, le composé majoritaire est toujours l'acide tanique. Il est à suggérer que l'apparition de ce composé soit due à son comportement métabolique et sa structure. C'est un polyester de glucose et d'acide gallique (tanin hydrolysable), qui diffuse facilement dans l'eau de cuisson après dégradation thermique de la paroi et de la membrane cellulaire. De même dans le milieu extracellulaire, la polymérisation du glucose et de l'acide gallique, provenant de la dégradation de l'acide tanique intracellulaire ou des autres composés, peut aussi avoir lieu et aboutir à sa synthèse. Quatre (4) composés néoformés ont été détectés dans l'eau de cuisson de cette même variété (Tableau 08). Il s'agit de l'acide chlorogénique, l'acide *tr*-caféique, la quercétine et l'hesperetine. La néoformation de ces composés peut s'expliquer par la dégradation thermique des hétérosides de quercétine qui aboutit au clivage entre le sucre et la partie aglycone et augmente ainsi la quantité de quercétine dosée; la dégradation thermique de l'hesperidine (dont le radical est un rutinoside) en l'hesperetine (dont le radical est un hydroxyle) (Lewinsohn *et al.*, 1989); l'acide chlorogénique est un ester de l'acide (L)-quinique, et l'acide caféique qui est biosynthétisé par hydroxylation de l'acide paracoumarique (sous forme ester) (Clifford, 1999).

Les teneurs des autres composés phénoliques détectés dans l'eau de cuisson sont très importantes que celles des échantillons crus et cuits. Ce constat est cohérent avec le résultat



du dosage des polyphénols totaux, des flavonoides et des tanins. Les polyphénols totaux vont être exposés à des réactions, dont la principale est l'oxydation, pour diffuser plus librement, et interagir avec les macromolécules présentes, principalement les polysides pariétaux (Renard *et al.*, 2014).

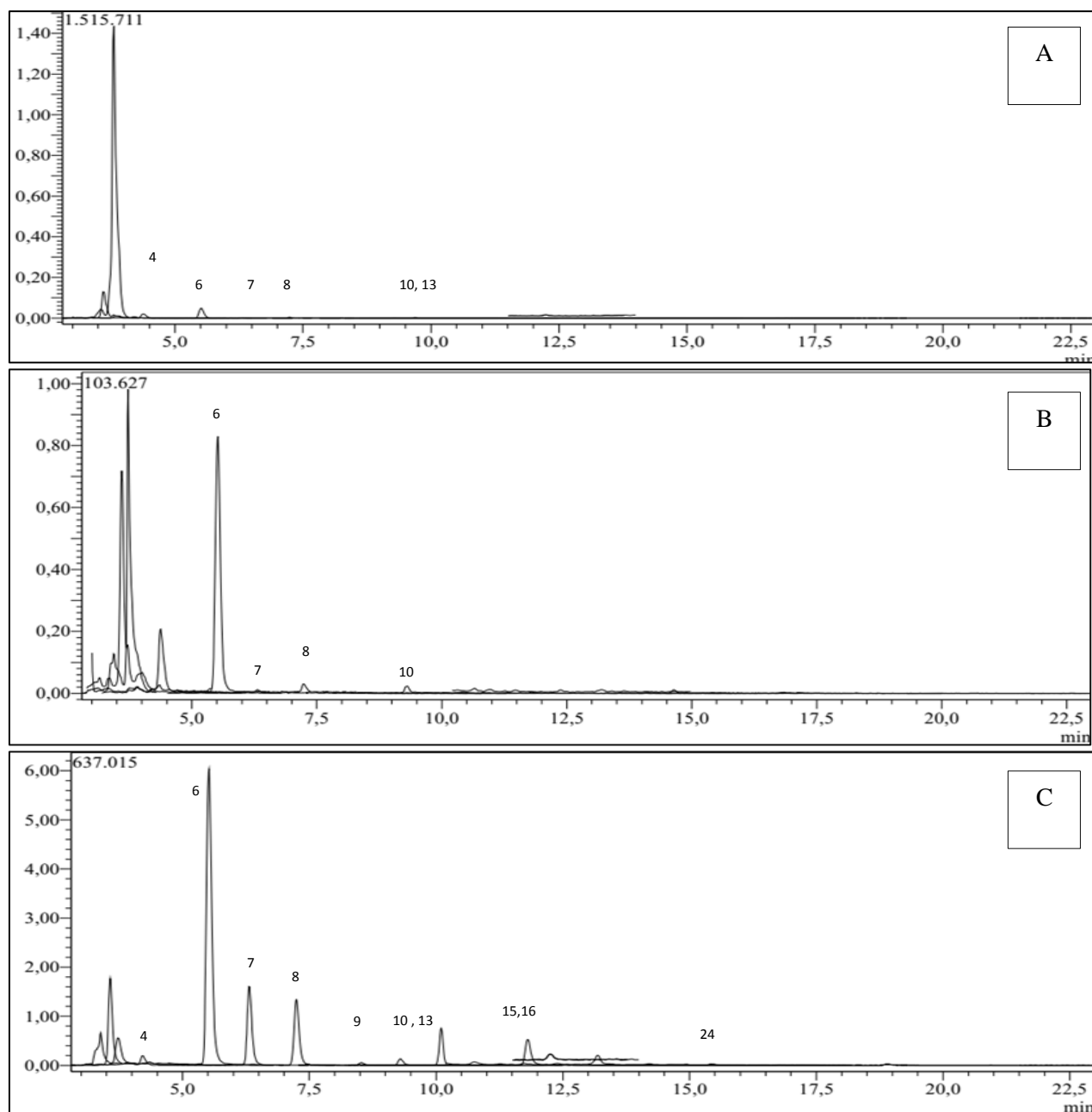
Deux composés qui sont la rutine et l'hesperidine sont présents dans les échantillons crus et absents dans les échantillons cuits et l'eau de cuisson. Ceci s'explique probablement par l'hypothèse de modification structurale des composés phénoliques après cuisson et la dégradation thermique de ces derniers. Les composés minoritaires sont la naringénine pour les lentilles cuites, l'apigénine pour les lentilles crues et l'eau de cuisson.

Pour la variété *Ibla*, les composés phénoliques détectés sont en nombre de quinze (15) avec absence de neuf (9) en l'occurrence la vanilline, l'acide rosmarinique, la rutine, l'hesperidine, la myricétine, la coumarine, l'hespétine, la rhamnétine, la chrysin, et une néoformation de l'acide chlorogénique et la quercétine. Le composé majoritaire est l'acide tanique et le composé minoritaire est la naringénine. Une dégradation totale de l'hespétine et l'hespétine par rapport à l'état cru a été marquée. L'augmentation des concentrations de tous les composés phénoliques par rapport à l'extrait de l'échantillon cru s'explique probablement par la diffusion de ces derniers vers le milieu extérieur par lessivage, excepté la fisétine, composé de la famille des flavonols. Ce dernier est responsable de la coloration jaune et brune des végétaux. Zhang *et al.* (2014) rapportent que la cuisson entraîne la libération des flavonols dans l'eau de cuisson. Dans la même optique, Turkmen *et al.* (2005) ont constaté une augmentation de la teneur en polyphénols qui est probablement liée à l'élévation du taux de flavonols libres après traitement thermique. En effet, nos résultats sont cohérents à ce constat dont nous avons enregistré une augmentation de la concentration de rhamnétine, quercétine, kaempférol et myricétine, qui sont tous des flavonols. La quercétine est un des flavonols qui se trouvent dans les plantes sous forme hétéroside (ou glycoside c'est-à-dire associé à un glucide) dans lequel il joue le rôle de l'aglycone. Le traitement thermique entraîne la libération de la partie aglycone ce qui explique cette formation. D'après Makris *et al.* (2006), la fraction osidique liée à ces composés leur confère une bonne solubilité dans les solvants polaires. Parmi les composés phénoliques, les flavonols ont été les plus étudiés (Ewald *et al.*, 1999). Makris et Rossiter (2001) ont rapporté que la cuisson dans l'eau entraîne une perte de ces composés. Cependant la présence de l'acide chlorogénique dans le milieu, peut jouer un rôle dans leur protection (Murakami *et al.*, 2004).

L'augmentation de la teneur en hyperoside (hétéroside de flavonol) peut s'expliquer par sa néoformation à partir de la quercétine (partie aglycone de l'hyperoside) et le sucre (galactose).

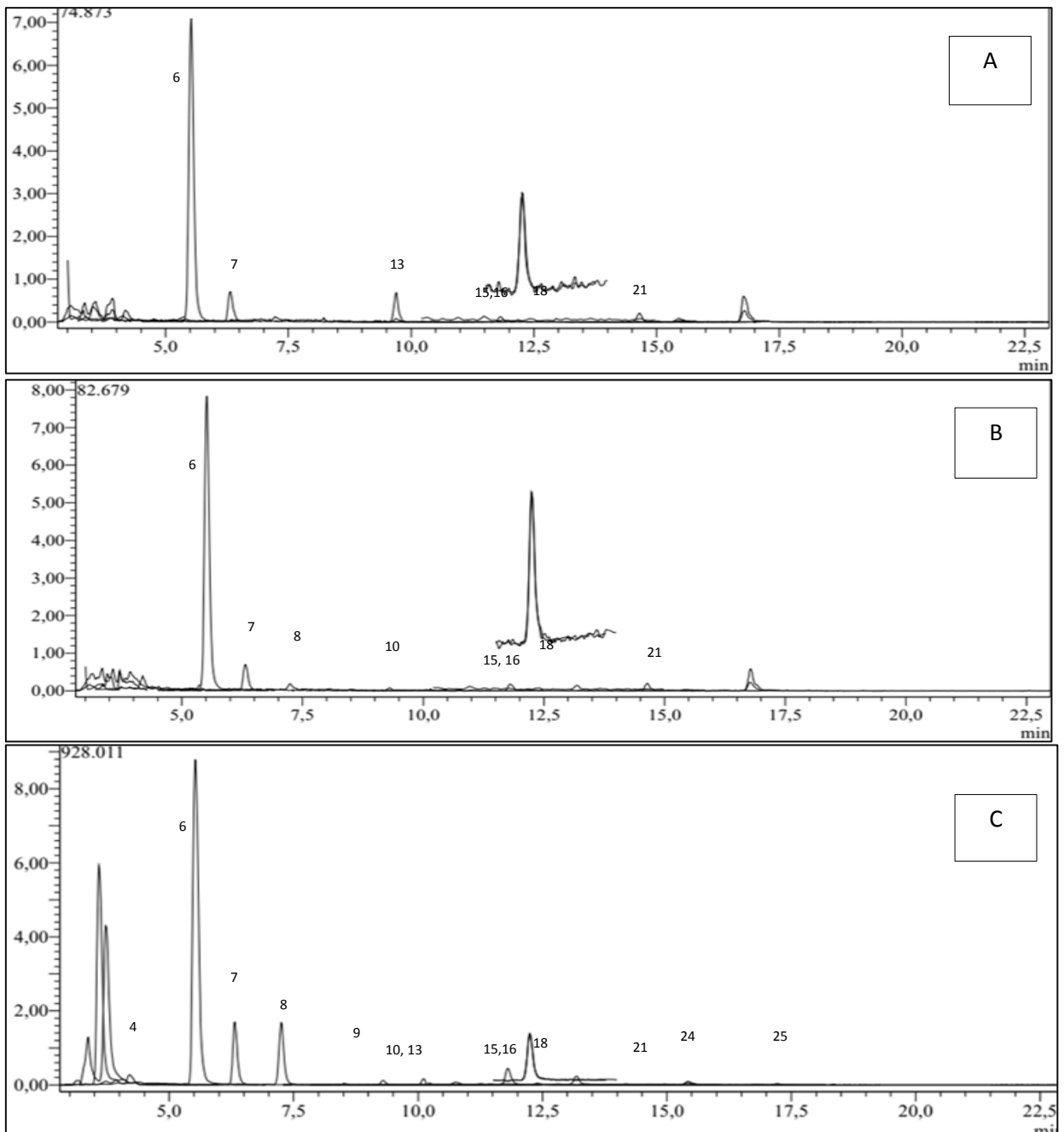
## 2.2. Profils chromatographiques des extraits de petits pois

Le profil chromatographique des extraits de petits pois Var. *Oinward* a permis de révéler des composés phénoliques en nombre de 6, 4 et 10 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 33). Quant à la variété *Messirl*, la représentation des pics chromatographiques des profils phénoliques des extraits de différents échantillons a permis de détecter des composés en nombre de 7, 8 et 13 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 34).



**Figure 33.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de petit pois

Var. *Oinward* : A. crue B. cuite C. eau de cuisson.



**Figure 34.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de petit pois  
Var. *Messirl* : A. crue B. cuite C. eau de cuisson.

Les valeurs de la concentration (exprimée en  $\mu\text{g}$  analyte/g d'extrait) des échantillons crus, cuits et de l'eau de cuisson des variétés de petits pois ainsi que les pourcentages de variation (%) par rapport à l'échantillon cru sont récapitulés dans le Tableau 09.

**Tableau 09.** Concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) des extraits de petits pois crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport extraits de petits pois crus.

Analytes	Variétés	Éch. cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau	TV (%)
Acide gallique	<i>Oinward</i>	25,71	ND		70,41	+173,86
	<i>Messirl</i>	ND	ND		129,99	CN
Acide chlorogénique	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Acide protocatechique	<i>Oinward</i>	271,67	484,75	+78,43	3591,81	+1222,12
	<i>Messirl</i>	399,84	452,49	+13,16	5763,76	+1341,51
Acide tanique	<i>Oinward</i>	59,07	50,87	-13,88	6439,31	+10801,15
	<i>Messirl</i>	312,63	315,88	+1,03	6916,46	+2112,34
Acide <i>tr</i> -caféique	<i>Oinward</i>	3,58	2,64	-26,25	137,38	+3737,43
	<i>Messirl</i>	ND	1,85	CN	167,87	CN
Vanilline	<i>Oinward</i>	ND	ND		441,91	CN
	<i>Messirl</i>	ND	ND		276,35	CN
Acide <i>p</i> -Coumarique	<i>Oinward</i>	25,66	44,46	+73,26	262,12	+921,51
	<i>Messirl</i>	ND	10,96	CN	196,78	CN
Acide rosmarinique	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Rutine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Hesperidine	<i>Oinward</i>	26,44	ND		570,37	+2057,22
	<i>Messirl</i>	50,32	ND		128,50	+155,36
Hyperoside	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Acide 4-OH Benzoïque	<i>Oinward</i>	ND	ND		13,67	CN
	<i>Messirl</i>	23,51	39,36	+67,41	123,69	+12269
Acide salicylique	<i>Oinward</i>	ND	ND		11,21	CN
	<i>Messirl</i>	18,12	33,32	+83,88	114,16	+530,02
Myricétine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Fisetine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	15,39	12,85	-16,50	3,47	-77,45
Coumarine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Quercétine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Naringénine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	2,81	2,18	-22,41	2,28	-18,86
Hesperétine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Lutéoline	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Kaempférol	<i>Oinward</i>	ND	ND		4,43	CN
	<i>Messirl</i>	ND	ND		15,35	CN
Apigénine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		4,49	CN
Rhamnétine	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	
Chrysin	<i>Oinward</i>	ND	ND		ND	
	<i>Messirl</i>	ND	ND		ND	

TV(%) : Taux de variation (en %) par rapport à l'extrait cru ; + : Augmentation ; - : Réduction ; ND : Non

détecté ; CN : Composé néoformé.

### 2.2.1. Extraits de petits pois crus

Le Tableau 09 indique que la variété *Oinward* est dépourvue de dix huit (18) composés, en l'occurrence l'acide chlorogénique, la vanilline, l'acide rosmarinique, la rutine, l'hyperoside, l'acide 4OH-benzoïque, l'acide salicylique, la myricétine, la fisétine, la coumarine, la chrysin, la naringénine, l'hespéridine, la luteoline, l'apigénine, la rhamnétine, la quercétine et le kaempférol. Le composé majoritaire est l'acide protocatéchique et le composé minoritaire est l'acide *tr*-caféique.

La variété *Messirl* s'est révélée aussi moins riche en composés phénoliques dont sept (7) composés ont été détectés à l'état cru. Ces composés sont : l'acide protocatéchique qui représente le composé majoritaire, l'acide tanique, l'hespéridine, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique, la fisétine et la naringénine. Ce dernier représente le composé minoritaire.

À partir de ces résultats, nous pouvons conclure qu'il n'est pas possible d'attribuer une empreinte phénolique caractéristique de l'espèce *Pisum sativum*.

Ce résultat semble être différent de celui de Troszynska *et al.* (2002) qui suggèrent que le tégument de la graine de petits pois de deux variétés (*Pisum sativum* L. Var. *Kwestor* à tégument blanc et Var. *Fidelia* à tégument coloré) est riche en flavonols, flavones glycosidés et en certains composés hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques. Des résultats semblables ont été obtenus par Xu *et al.* (2007) qui ont analysé le pois jaune et le pois vert de la Chine, et Oomah *et al.* (2011) qui ont étudié les petits pois jaunes de Canada, où ils ont indiqué que ces derniers avaient des teneurs plus faibles en composés phénoliques que celles des lentilles.

### 2.2.2. Extraits de petits pois cuits

Concernant les échantillons cuits de la variété *Oinward*, le composé majoritaire est toujours l'acide protocatéchique et le composé minoritaire est l'acide *tr*-caféique. Par rapport à l'état cru, la cuisson des graines à l'eau bouillante entraîne une dégradation de l'acide gallique dont sa solubilité croît avec la température. On signale une dégradation de l'hespéridine qui est un hétéroside flavonoïque constitué de deux parties, une partie osidique : le rutinose et une partie aglycone (génine) : l'hespéridine. On note aussi une diminution des concentrations de l'acide *tr*-caféique (26,25%) et l'acide tanique (13,88%). Cette perte étant attribuée à la migration de ces composés vers l'eau de cuisson (Kim *et al.*, 2009). La rétention

des polyphénols n'apparaît pas simplement corrélée à la température, ni au barème temps/température, mais à des différences de comportements de composés phénoliques considérés.

Également, une augmentation des concentrations de l'acide *p*-coumarique (73,26%) et l'acide protocatéchique (78,43%) a été aussi constatée. L'hypothèse avancée pour cette augmentation est expliquée probablement par une libération facilitée, lors de la cuisson, des composés phénoliques auparavant liés aux constituants cellulaires.

Pour la variété *Messirl*, le composé majoritaire est toujours l'acide protocatéchique et le composé minoritaire est l'acide *tr*-cafféique. La cuisson des graines a entraîné, par rapport à l'état cru, une néoformation de l'acide *tr*-cafféique, qui se trouve généralement sous forme estérifiée chez les végétaux et de l'acide *p*-coumarique qui est généralement synthétisé par hydroxylation de l'acide cinnamique. Ainsi qu'une augmentation de l'acide protocatéchique (13,16%), l'acide salicylique (83,88%), l'acide 4-OH benzoïque (67,41%) et l'acide tanique (1,03%) a été révélé.

Ces acides sont rarement présents à l'état libre, et ils sont généralement combinés à d'autres molécules organiques. Les liaisons, impliquant souvent la fonction carboxylique, conduisent alors à des esters. Les liaisons avec du sucre peuvent également se faire par l'intermédiaire de l'une des fonctions phénoliques conduisant alors à des glucosides par exemple le glucoside de l'acide *p*-coumarique (Macheix *et al.*, 2005).

Une diminution, d'un composé de la famille des flavonols : la fisétine et d'un composé de la famille des flavanones: la naringénine, a été constatée. De même, une dégradation de l'hespéridine a été enregistrée; ce dernier est un hétéroside flavonoïque.

En se référant au peu de travaux qui ont été focalisés à l'impact du traitement thermique sur les composés phénoliques, il est assez difficile de tirer une tendance générale des résultats sur cette problématique.

### 2.2.3. Eaux de cuisson de petits pois

L'eau récupérée de la cuisson de petits pois Var. *Oinward* s'est révélée riche en composés phénoliques, dont dix (10) composés ont été détectés. Une modification très nette du profil polyphénolique est remarquée par rapport à l'état cru avec l'apparition de quelques

composés phénoliques néoformés, et qui sont : la vanilline, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique et le kaempferol. Une augmentation très variable de concentrations a été soulevée : l'acide gallique (173,86%), l'acide protocatechique (1222,12%), l'acide tannique (10801,15%) qui est le composé majoritaire, l'acide *tr*-caféique (3737,43%), l'acide *p*-coumarique (921,51%) et l'hesperidine (2057,22%).

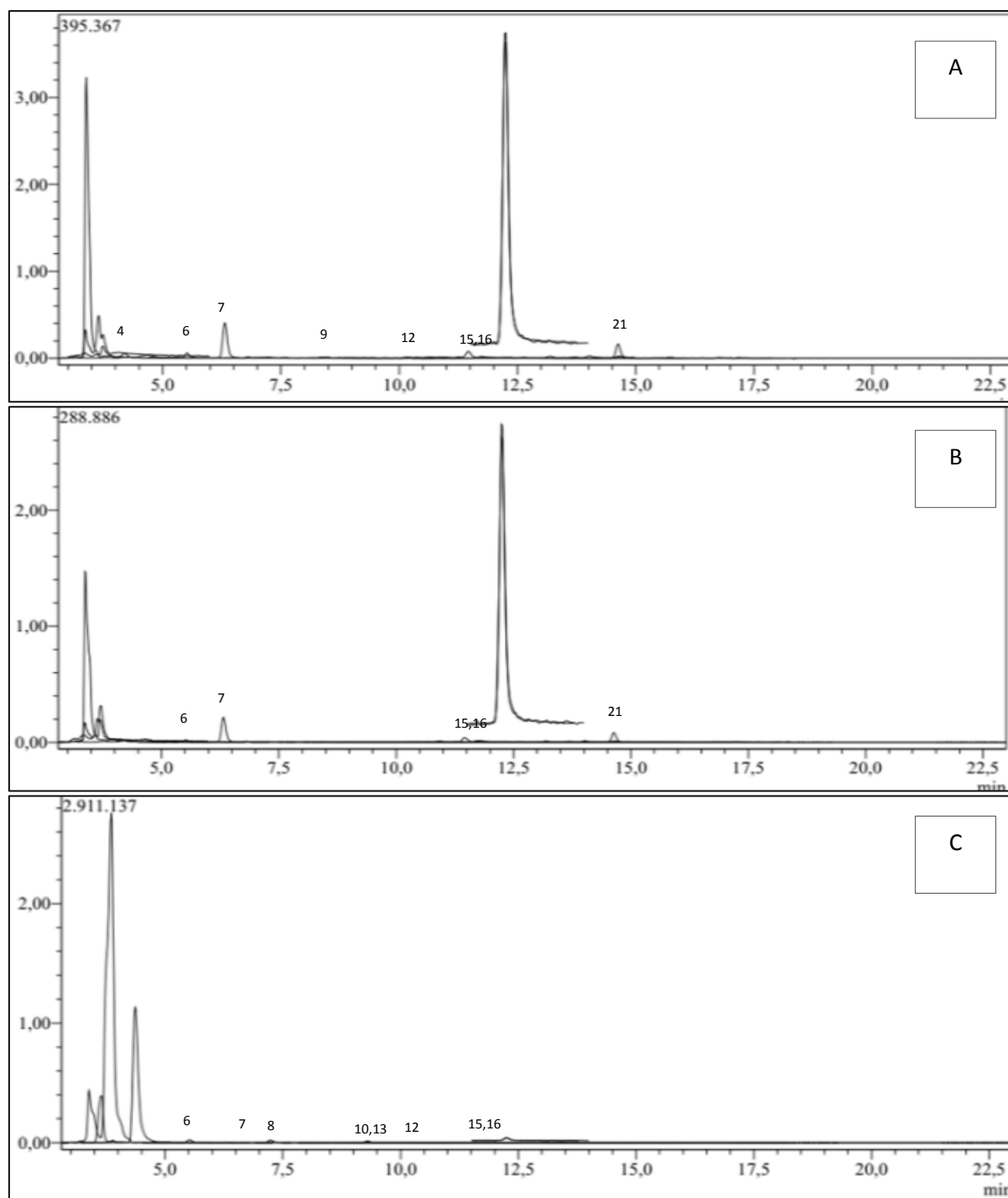
Par comparaison toujours à l'état cru, une néoformation de certains composés phénoliques a été enregistrée dans l'eau de cuisson de la variété *Messirl*. Il s'agit de l'acide *tr*-caféique, l'acide gallique, la vanilline, le kaempferol, l'apigénine et l'acide *p*-coumarique. Le kaempférol, est un flavonoïde de type flavonol, provenant probablement de la complexation entre le sucre et la génine, alors que l'apigénine qui est un composé phénolique de la famille des flavones, présent aussi sous forme d'hétérosides.

Une augmentation, parfois frappante, de la concentration de certains composés phénoliques a été aussi remarquée. Les composés concernées par cette augmentation sont: l'acide protocatechique (1341,51%), l'acide tannique (2112,34%), l'hesperidine (155,36%), l'acide 4-OH benzoïque (12269%) et l'acide salicylique (530,02%). A l'opposé, la fisétine et la naringénine ont subi une diminution de concentration de 77, 45% et 18, 86% respectivement. Ces résultats confirment l'évaluation quantitative des flavonoïdes constatées chez cette variété.

### 2.3. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits d'haricots secs

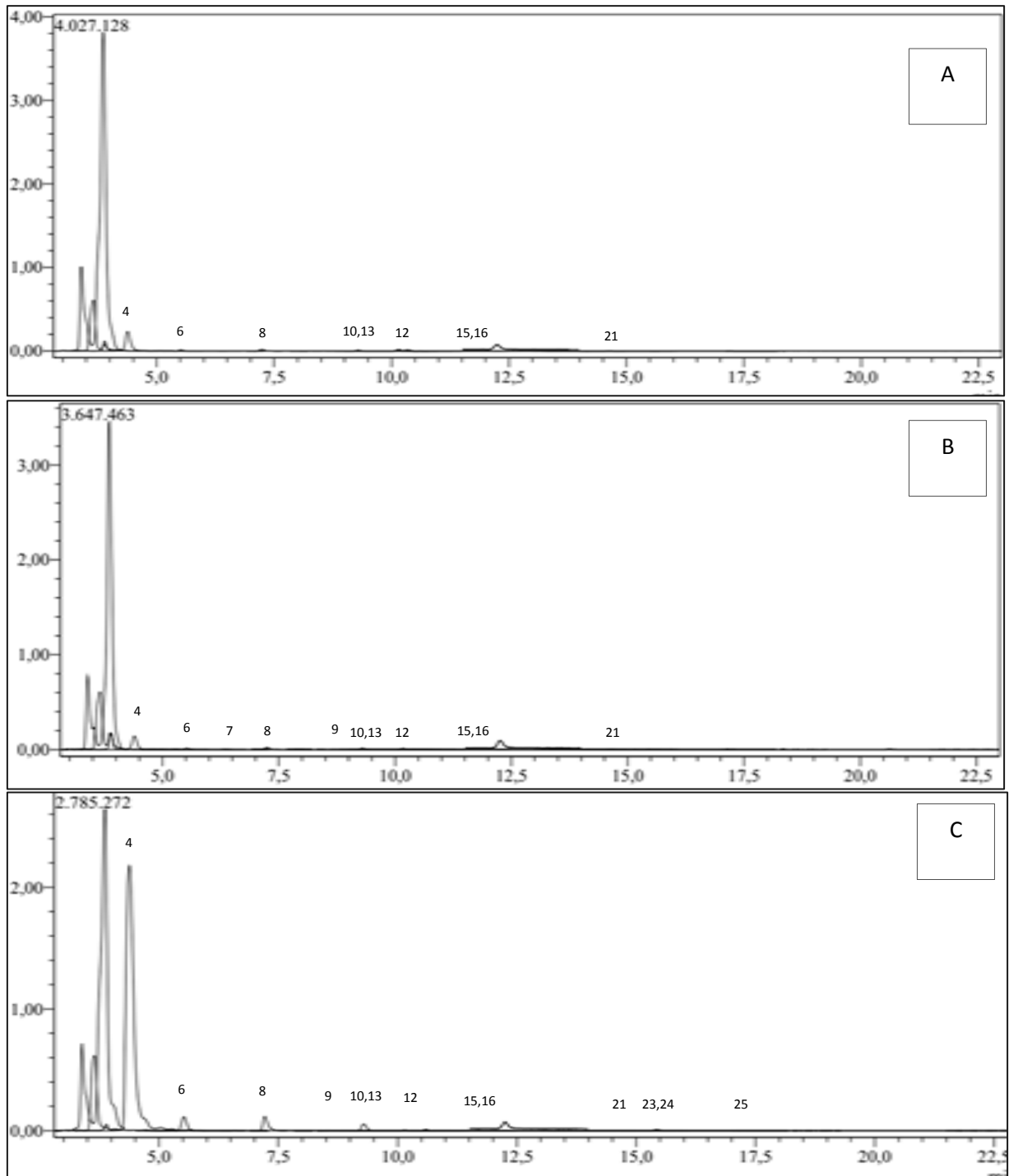
Le profil chromatographique des extraits d'haricots secs Var. *Cannellini* a permis de révéler des composés phénoliques en nombre de 8, 5 et 8 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 35). Quant à la variété *Great Northerne*, la représentation des pics chromatographiques des profils phénoliques a permis de détecter des composés en nombre de 9, 11 et 13 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 36).





**Figure 35.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits du haricot Var.

*Cannellini* : **A.** crue    **B.** cuite    **C.** eau de cuisson.



**Figure 36.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits du haricot Var.

*Great Northerne* : **A.** crue **B.** cuite **C.** eau de cuisson.

Les valeurs des concentrations (exprimées en  $\mu\text{g}$  analyte/g d'extrait) des extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et de l'eau de cuisson des variétés d'haricots secs ainsi que les pourcentages de variation (%) par rapport à l'extrait de l'échantillon cru sont récapitulés dans le Tableau 10.

**Tableau 10.** Concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) des extraits d'haricots secs crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation par rapport aux extraits d'haricots secs crus.

<b>Analytes</b>	<b>Variétés</b>	<b>Éch. cru</b>	<b>Éch. cuit</b>	<b>TV (%)</b>	<b>Eau de</b>	<b>TV (%)</b>
Acide gallique	<i>Cannellini</i>	23,72	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	26,39	30,6	+15,95	32,6	+23,53
Acide chlorogénique	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Acide protocatechique	<i>Cannellini</i>	33,06	11,44	-65,39	147,19	+345,22
	<i>Great Northerne</i>	63,91	82,54	+29,15	677,99	+960,85
Acide tanique	<i>Cannellini</i>	1781,36	933,77	-47,58	44,15	-97,52
	<i>Great Northerne</i>	ND	114,02	CN	ND	
Acide <i>tr</i> -caféique	<i>Cannellini</i>	ND	ND		23,39	CN
	<i>Great Northerne</i>	19,21	23,89	+24,36	120,86	+529,15
Vanilline	<i>Cannellini</i>	24,55	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	70,44	CN	64,38	CN
Acide <i>p</i> -Coumarique	<i>Cannellini</i>	ND	ND		240,04	CN
	<i>Great Northerne</i>	169,33	244,79	+45,55	1015,43	+499,67
Acide rosmarinique	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Rutine	<i>Cannellini</i>	10,99	ND		34,98	+218,28
	<i>Great Northerne</i>	165,66	119,01	-28,16	57,08	-65,54
Hesperidine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		15,88	CN
	<i>Great Northerne</i>	67,74	53,46	-21,08	23	-66,04
Hyperoside	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Acide 4-OH Benzoïque	<i>Cannellini</i>	369,77	257,09	-30,47	29,88	-91,91
	<i>Great Northerne</i>	62,68	85,03	+35,65	57,68	-7,97
Acide salicylique	<i>Cannellini</i>	318,53	230,49	-27,63	19	-94,03
	<i>Great Northerne</i>	49,75	69,32	+39,33	45,36	-8,72
Myricétine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Fisetine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Coumarine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Quercétine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Naringénine	<i>Cannellini</i>	18,75	9,49	-49,38	ND	
	<i>Great Northerne</i>	3,93	6,46	+64,37	2,55	-35,11
Hesperétine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Lutéoline	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		14,43	CN
Kaempférol	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		17,31	CN
Apigénine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		2,94	CN
Rhamnétine	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	
Chrysin	<i>Cannellini</i>	ND	ND		ND	
	<i>Great Northerne</i>	ND	ND		ND	

TV(%) : Taux de variation (en %) par rapport à l'extrait cru ; + : Augmentation ; - : Réduction ; ND : Non détecté ;

### 2.3.1. Extraits d'haricots secs crus

A la lecture du Tableau 10, huit (8) composés phénoliques ont été détectés dans l'extrait de graines crues de la variété *Cannellini*. Ces composés sont: l'acide tannique qui est le composé majoritaire, l'acide gallique, l'acide protocatechique, la vanilline, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique, la naringénine et la rutine. Ce dernier composé est présent en faible quantité (composé minoritaire).

La variété *Great Northerne* semble être plus riche en composés phénoliques dont neuf (9) composés ont été détectés dans l'extrait de l'échantillon cru. Ces composés sont: l'acide gallique, l'acide protocatechique, l'acide *tr*-caféique, l'acide *p*-coumarique, la rutine, l'hespéridine, l'acide 4-OH benzoïque, la naringénine et l'acide salicylique. Le composé majoritaire est l'acide *p*-coumarique et le composé minoritaire est la naringénine.

D'après ces résultats, les deux variétés sont dépourvues des mêmes composés: l'apigénine, le kaempférol, la luteoline, l'hespéretine, la quercétine, la fisétine hyperoside et l'acide chlorogénique. Ces résultats sont différents de résultats évoqués dans la littérature où les haricots communs ont révélé une richesse en acides hydroxycinnamiques comme l'acide caféique, l'acide *p*-coumarique, l'acide sinapique et l'acide férulique. En outre, les acides gallique, *p*-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et syringique sont les acides hydroxybenzoïques présents dans les haricots communs.

Les flavonols, comme le kaempférol, la quercétine, la myricétine et leurs dérivés, sont largement identifiés dans les cultivars d'haricots communs. Il est surprenant que seules deux flavones (l'apigénine-7-*O*-glucoside et la lutéoline-7-*O*-glucoside) soient détectés chez les haricots communs (Yang *et al.*, 2018). En revanche, les isoflavonoïdes comme la génistéine, la daidzéine, la glycitéine, la formononétine, et leurs dérivés sont largement révélés dans certains types d'haricots communs tels que les haricots noirs (Lopèz *et al.*, 2013). Selon Gan *et al.* (2016), les flavanols, y compris la catéchine, l'épicatéchine, l'épigallocatechine et le gallate d'épicatéchine sont les flavonoïdes les plus détectés dans les haricots communs. D'après Lopèz *et al.* (2013), les glucosides de naringénine et d'hespéretine sont les principaux flavanones rencontrés dans les haricots communs. De plus, les anthocyanes sont un type important de flavonoïdes dans les haricots communs pigmentés ainsi des proanthocyanidines. Les flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles des tissus végétaux sous formes conjuguées glycosylées ou estérifiées, mais parfois elles peuvent être trouvées sous forme d'aglycones (Nayak *et al.*, 2015).

### 2.3.2. Extraits d'haricots secs cuits

La cuisson des graines d'haricots secs Var. *Cannellini a* engendré une diminution significative dans le profil phénolique où seulement cinq (5) composés phénoliques ont été détectés. Il s'agit d'une dégradation de trois composés qui sont la rutine, la vanilline et l'acide gallique. Les composés dégradés sont soit diffusés dans l'eau de cuisson soit complexés avec d'autres molécules.

La rutine (aussi appelée rutoside) est un hétéroside de la quercétine. Ce dernier est donc l'aglycone de la rutine et il est lié au rutinose (un diholoside). Le rutinose se constitue d'une unité de rhamnose liée à une unité de glucose par une liaison osidique, ce qui explique la dégradation thermique de ce composé. Généralement, la plupart des flavonoïdes existent sous forme de glycosides et c'est la nature du sucre qui varie grandement selon les espèces. Les substitutions modifient la solubilité des flavonoïdes, les hydroxylations et les glycosylations rendent les composés généralement plus hydrophiles (Chira *et al.*, 2008).

L'acide gallique est soluble dans l'eau chaude, donc sa diffusion facile dans l'eau de cuisson est possible. De même, il y'a une possibilité d'avoir de complexation par estérification pour former l'acide tanique. Or ce n'est pas le cas puisque une diminution de la concentration de l'acide tanique a été enregistrée.

Il est à remarquer aussi que le composé majoritaire est l'acide tanique et le composé minoritaire est la naringénine. D'autres composés sont présents mais à des concentrations très faibles par rapport à l'extrait des graines crues, il s'agit de l'acide protocatéchique (65,39%), l'acide 4-OH benzoïque (30,47%), l'acide salicylique (27,63%), l'acide tanique (47,58%), et la naringénine (49,38%).

Quant à la variété *Great Northerne*, le composé majoritaire reste l'acide *p*-Coumarique, alors que le composé minoritaire reste la naringénine. Les composés phénoliques qui ont subi une diminution de concentrations après cuisson sont : la rutine (28,16%) et l'hesperidine (21,08%). De même, les composés qui ont subi une augmentation de concentration sont : l'acide gallique (15,95%), l'acide protocatéchique (29,15%), l'acide *tr*-caféique (24,36%), l'acide *p*-coumarique (45,55%), l'acide 4-OH benzoïque (35,65%), l'acide salicylique (39,33%) et la naringénine (64,37%). On note aussi une néoformation de l'acide tanique probablement par estérification des molécules de l'acide gallique et la néoformation de la vanilline. D'après ces résultats, nous avons constaté une richesse

d'haricots secs Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne* en acides phénoliques, dont les acides hydroxycinnamiques sont fréquemment présents sous forme d'esters avec acides ou sucres, tandis que les acides hydroxybenzoïques sont principalement présents sous forme de glycosides. Les acides phénoliques sont, principalement présents sous des formes libres ou liées dans les cellules végétales (Yang *et al.*, 2018). Donc, cette réduction est probablement due à une forte diffusion de polyphénols dans l'eau de cuisson au cours du traitement thermique qui lyse ce type de liaisons.

### 2.3.3. Eaux de cuisson d'haricots secs

Dans l'eau de cuisson de la variété *Cannellini*, huit (8) composés phénoliques ont été détectés. L'acide *p*-Coumarique représente le composé majoritaire et l'acide salicylique représente le composé minoritaire. Trois (3) composés ont été néoformés, ces composés sont : l'acide *tr*-caféique, l'acide *p*-coumarique et l'hespéridine.

Aussi, une augmentation de la concentration des composés suivants : acide protocatéchique (345,22%) et rutine (218,28%) ont été enregistrés. En parallèle, une diminution de la concentration des composés suivants : acide tanique (97,52%), acide 4-OH benzoïque (91,91%) et acide salicylique (94,03%) a été enregistrée.

Concernant la variété *Great Northerne*, nous avons détecté une diminution des composés suivants: rutine (65,54%), hespéridine (66,04%), acide 4-OH benzoïque (7,97%), acide salicylique (8,72%), naringénine (35,11%) et une augmentation des composés suivants : acide gallique (23,53%), acide protocatéchique (960,85%), acide *tr*-caféique (529,15%) et acide *p*-coumarique (499,67%).

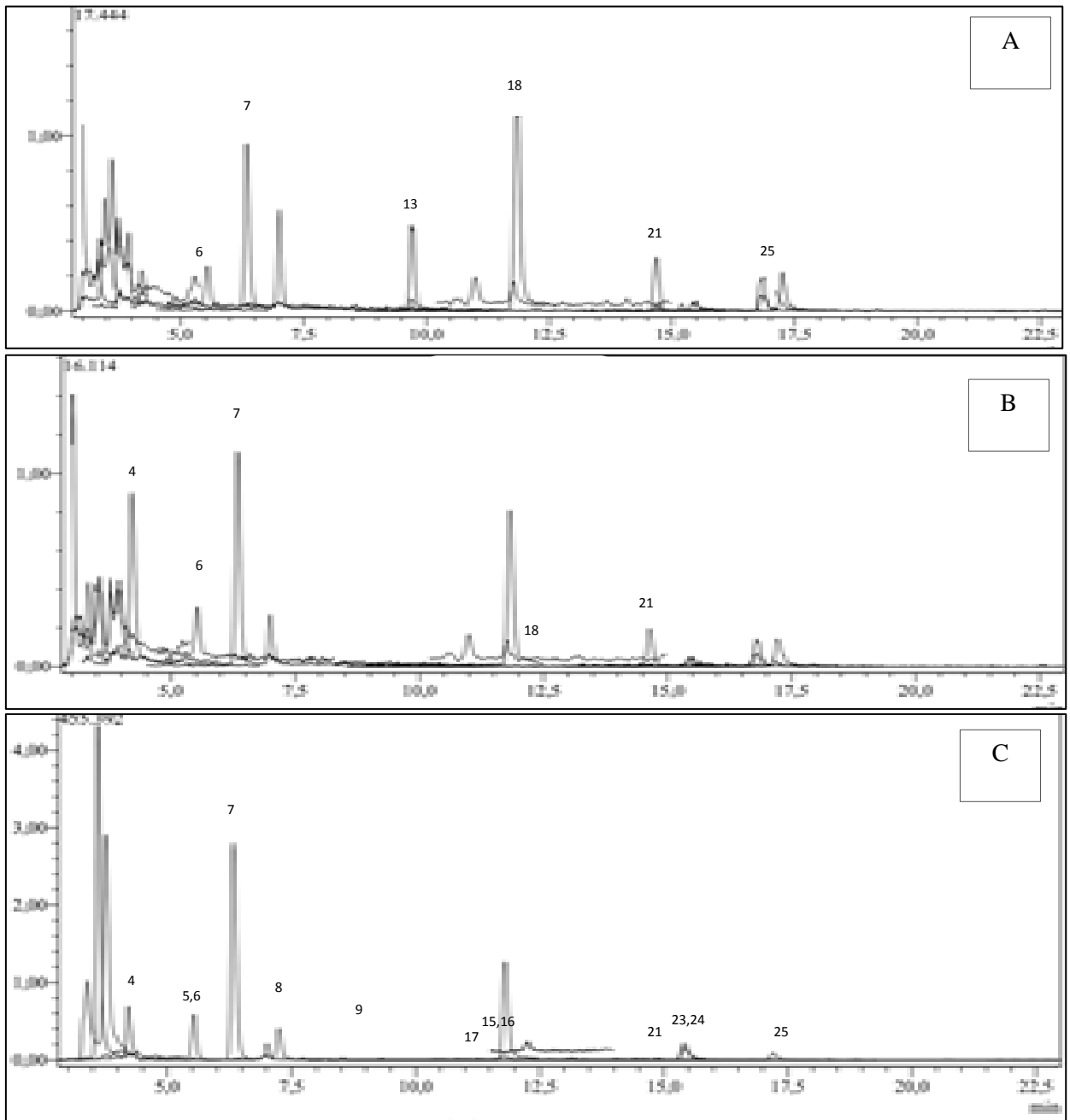
D'autres composés qui ne sont pas présents dans l'échantillon cru ont été néoformés, ces composés sont : la vanilline, l'apigénine, le kaempférol et la luteoline.

## 2.4. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits de pois chiches

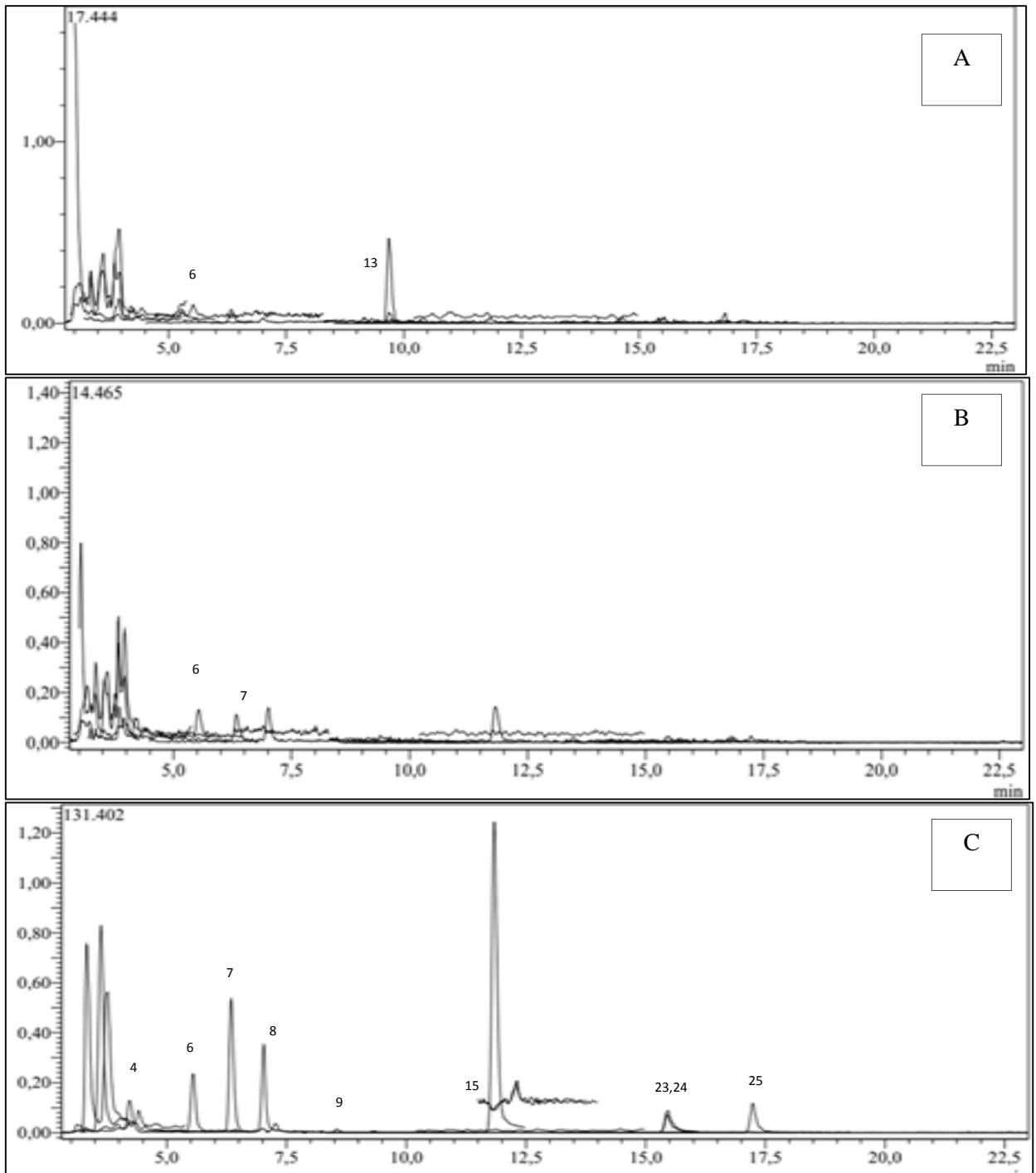
Le profil chromatographique des extraits de pois chiches Var. *Ghab5* a permis de révéler des composés phénoliques en nombre de 6, 5 et 13 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 37).

Quant à la variété *Flip*, la représentation des pics chromatographiques des profils phénoliques des extraits de différents échantillons a permis de détecter des composés en

nombre de 2, 2 et 9 dans l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 38).



**Figure 37.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de pois chiche  
Var. *Ghab 5* : **A.** crue **B.** cuite **C.** eau de cuisson.



**Figure 38.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de pois chiche  
Var. *Flip* : A. crue B. cuite C. eau de cuisson.

Les valeurs des concentrations (exprimées en  $\mu\text{g}$  analyte/mg d'extrait) des échantillons crus, cuits et de l'eau de cuisson de pois chiches ainsi que les pourcentages de variation (%) des échantillons cuits et de l'eau de cuisson par rapport à l'échantillon cru sont récapitulés dans le Tableau 11.



**Tableau 11.** Concentrations ( $\mu\text{g/g}$ ) des extraits de pois chiches crus et cuits et des eaux de cuisson et pourcentages de variation (%) par rapport aux échantillons crus.

Analytes	Variétés	Éch. Cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau de cuisson	TV (%)
Acide gallique	<i>Ghab 5</i>	ND	36,84	CN	251,86	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		54,69	CN
Acide chlorogénique	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		20,02	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Acide protocatéchique	<i>Ghab 5</i>	13,01	14,9	+14.52	323,78	+2388,70
	<i>Flip</i>	3,77	5,97	+58.35	128,89	+3318,83
Acide tanique	<i>Ghab 5</i>	421,92	470,84	+11.59	11768,87	+2689,36
	<i>Flip</i>	ND	47,86	CN	2284,29	CN
Acide <i>tr</i> -caféique	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		41,77	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		3,18	CN
Vanilline	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		189,12	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		74,27	CN
Acide <i>p</i> -Coumarique	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		22,37	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Acide rosmarinique	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Rutine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Hesperidine	<i>Ghab 5</i>	41,55	ND		ND	
	<i>Flip</i>	37,73	ND		ND	
Hyperoside	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Acide 4-OH Benzoïque	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		7,6	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		8,11	CN
Acide salicylique	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		11,13	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Myricétine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Fisetine	<i>Ghab 5</i>	5,45	3,97	-27,15	ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Coumarine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Quercétine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Naringénine	<i>Ghab 5</i>	4,02	3,05	-24,12	2,57	-36,06
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Hesperétine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Lutéoline	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		40,99	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		14,98	CN
Kaempférol	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		36,08	CN
	<i>Flip</i>	ND	ND		13,39	CN
Apigénine	<i>Ghab 5</i>	2,6	ND		12,59	+384,23
	<i>Flip</i>	ND	ND		15,51	CN
Rhamnétine	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	
Chrysin	<i>Ghab 5</i>	ND	ND		ND	
	<i>Flip</i>	ND	ND		ND	

TV(%) : Taux de variation (en %) par rapport à l'extrait cru ; + : Augmentation ; - : Réduction ; ND : Non détecté ;

CN : Composé néoformé.

#### 2.4.1. Extraits de pois chiches crus

Les pois chiches Var. *Ghab5* ont enregistré seulement six (6) composés phénoliques qui sont : l'acide protocatéchique, l'acide tannique (composé majoritaire), l'hesperidine, la fisetine, la naringénine et l'apigénine (composé minoritaire). De même pour les pois chiches, Var. *Flip* semble être plus pauvre en composés phénoliques, seulement deux composés ont été détectés, il s'agit de l'acide protocatechique (composé minoritaire), et l'hesperidine (composé majoritaire).

Ces résultats montrent un effet variétal sur la quantité et la qualité des composés phénoliques dans les graines de pois chiches. Selon la littérature, les principales sources de variations sont d'ordres physiologiques, génétiques, ou dépendants des techniques culturales, des conditions environnementales, et des conditions de conservation.

On observe souvent une relation négative entre la taille des grains et la composition en matière sèche, et par conséquent entre teneur en composés bioactifs et la taille des grains.

En se référant à la bibliographie, Aguilera *et al.* (2011), ont analysé le profil phénolique de pois chiches (*Cicer arietinum* Var. *Sinaloa* et Var. *Castellano*) obtenus à partir de l'entreprise agroalimentaire Vegenat SA (Badajoz, Espagne). La comparaison des temps de rétention obtenus avec ceux des standards a conduit à l'identification des acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique et des flavonoïdes, tels que les flavonols, les flavanones et les isoflavones.

#### 2.4.2. Extraits de pois chiches cuits

A l'état cuit, on note chez la variété *Ghab 5* une néoformation de l'acide gallique. Ceci pourrait être due à l'hydrolyse des gallotannins. Aussi, une augmentation de la concentration de l'acide tannique (11,59%) et de l'acide protocatéchique (14,52%) a été révélée, dont l'augmentation de la concentration d'acide tannique est nettement corrélée avec la néoformation de l'acide gallique. En effet, l'acide protocatechique est l'un de six isomères de l'acide dihydroxybenzoïque.

La diminution de la concentration de la fisetine (flavonol) (27,15%) et de la naringénine (flavanone) (24,12%) a été enregistrée. Selon Igual *et al.* (2011), le traitement thermique (à 90°C) réduit la teneur en naringénine. Une dégradation de l'hesperidine a été aussi notée.

Pour la variété *Flip*, nous avons remarqué une augmentation de 58,35% de l'acide protocatechique, une néoformation de l'acide tannique et une dégradation de l'hesperidine.

### 2.4.3. Eaux de cuisson de pois chiches

L'eau de cuisson de la variété *Ghab5* s'est révélée riche en composés phénoliques, treize (13) composés ont été détectés, dont dix sont des composés neoformés, ce sont l'acide gallique (dégradation des gallotannins), l'acide chlorogénique (ester entre l'acide quinique ou caféique et l'acide cinnamique di-hydroxylé), l'acide *tr*-caféique (hydroxylation d'acide *p*-coumarique sous forme ester), l'acide *p*-coumarique (hydroxylation d'acide cinnamique), l'acide 4-OH-benzoïque, l'acide salicylique (l'acide orthohydroxybenzoïque, isomère de l'acide hydroxybenzoïque), la luteoline (composé chimique de la famille des flavonoïdes, et plus spécifiquement l'une des flavones, la lutéoline est présente dans la nature sous forme d'hétérosides), le kaempferol (3,4',5,7-tetra-hydroxyflavone, flavonoïde de type flavonol, isomère de la fisétine et de la lutéoline) et l'apigénine (composé chimique de la famille des flavones).

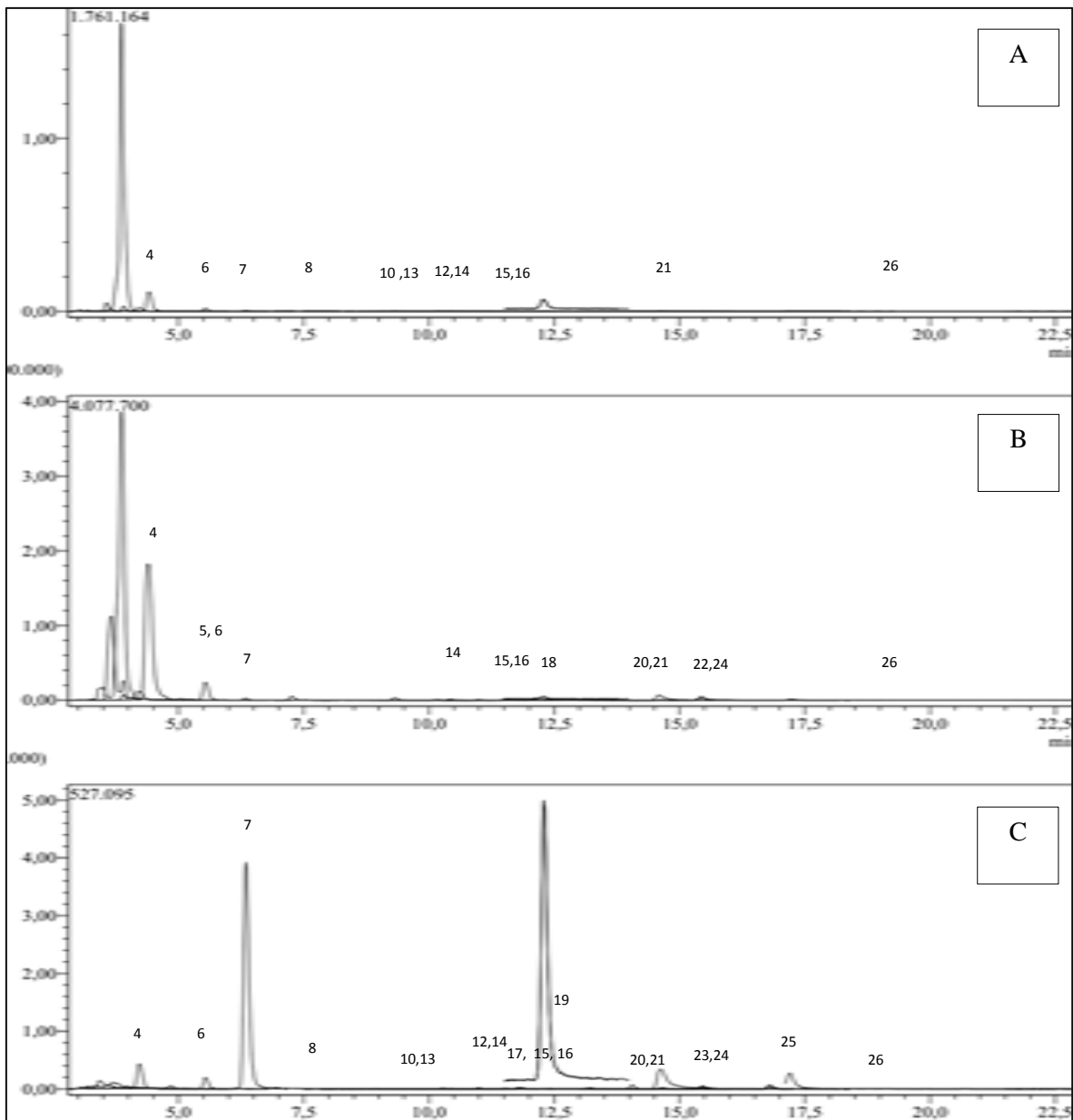
La concentration de deux acides phénoliques a été augmentée. Ces acides sont l'acide tannique, provenant de la néoformation de l'acide gallique (2689,36%) et l'acide protocatechique (provenant probablement de l'isomérisation de l'acide hydroxybenzoïque (2388,70%). De même une augmentation de la concentration de l'apigénine (384,23%) a été notée. Par contre, la naringénine, qui est l'aglycone de la naringine après clivage de la fraction osidique, a subi une diminution de concentration (36,06%) ce qui pourrait être due à la formation de la naringine.

L'eau de cuisson de la variété *Flip*, contient neuf (9) composés phénoliques dont huit (8) sont neoformés et qui sont, l'acide gallique, l'acide tannique, l'acide *tr*-caféique, la vanilline, l'acide 4-OH benzoïque, la luteoline et le kaempferol (qui sont deux isomères) et l'apigénine. D'après Britton (1983), Qiu *et al.* (2009), la chaleur est un facteur qui peut provoquer l'isomérisation. De plus, la libération des acides organiques est un facteur qui provoque l'isomérisation (Rodriguez-Amaya et Kimura, 2001).

Un autre constat a été soulevé, il s'agit de l'augmentation de la concentration de l'acide protocatechique (3318,83%) et la dégradation de l'hespéridine. L'eau de cuisson de la variété *Flip* a révélé les mêmes composés phénoliques que ceux de l'eau de cuisson de la variété *Ghab 5*.

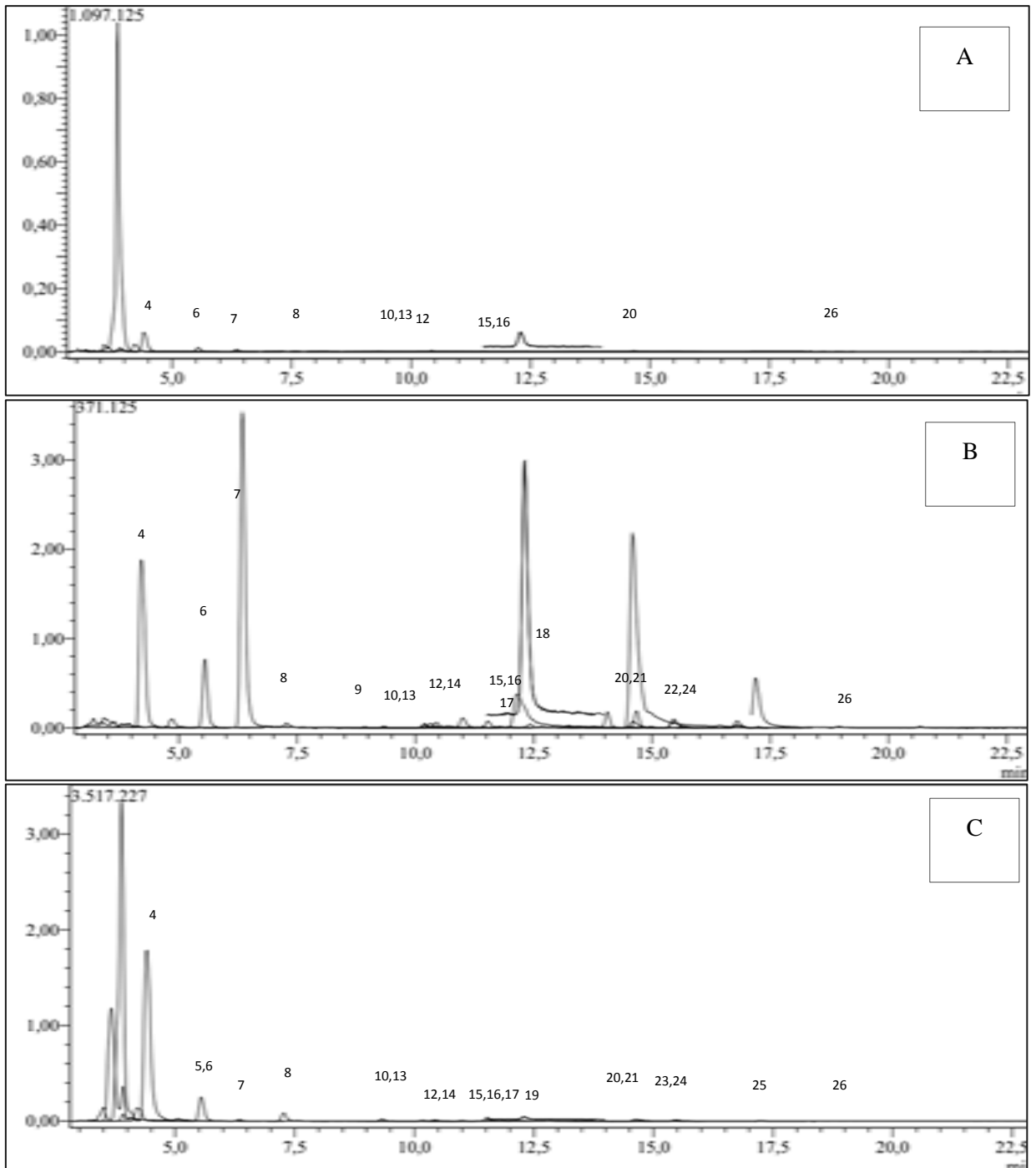
### 2.5. Profils chromatographiques en composés phénoliques des extraits de fèves

Le profil chromatographique des extraits de fèves Var. *Aguadulce* a permis de révéler des composés phénoliques en nombre de 12, 13 et 18 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 39). Quant à la variété *Shale*, la représentation des pics chromatographiques des profils phénoliques des extraits de différents échantillons a permis de détecter des composés en nombre de 11, 18 et 19 dans les extraits de l'échantillon cru, l'échantillon cuit et l'eau de cuisson, respectivement (Figure 40).



**Figure 39.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de la fève Var.

*Aguadulce* : **A.** crue    **B.** cuite    **C.** eau de cuisson.



**Figure 40.** Profils chromatographiques des composés phénoliques des extraits de la fève Var.

*Shale* : **A.** crue    **B.** cuite    **C.** eau de cuisson.

**Tableau 12.** Concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) des extraits de fèves crues et cuites et des eaux de cuisson et pourcentages de variation (%) par rapport aux extraits de fèves crues.

Analytes	Variétés	Éch. cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau de cuisson	TV (%)
Acide gallique	<i>Aguadulce</i>	98,55	191,44	+94,25	628,34	+537,58
	<i>Shale</i>	103,74	847,92	+717,35	756,78	+629,73
Acide chlorogénique	<i>Aguadulce</i>	ND	14,76	CN	ND	
	<i>Shale</i>	ND	ND		26,87	C N
Acide protocatéchique	<i>Aguadulce</i>	101,39	116,35	+14,47	1519,86	+1399,02
	<i>Shale</i>	74	454,68	+514,43	1574,93	+2028,28
Acide tanique	<i>Aguadulce</i>	242,56	18388,18	+7480,87	1039,59	+328,59
	<i>Shale</i>	323,86	15866,1	+4799,06	656,69	+102,76
Acide <i>tr</i> -caféique	<i>Aguadulce</i>	3,24	ND		56,97	+1658,33
	<i>Shale</i>	2,72	5,1	+87,5	91,51	+3264,33
Vanilline	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		ND	
	<i>Shale</i>	ND	21,91	CN	ND	
Acide <i>p</i> -Coumarique	<i>Aguadulce</i>	60,25	ND		580,79	+863,96
	<i>Shale</i>	35,60	30,76	-13,59	371,71	+944,12
Acide rosmarinique	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		ND	
	<i>Shale</i>	ND	ND		ND	
Rutine	<i>Aguadulce</i>	38,24	ND		60,28	+57,63
	<i>Shale</i>	13,64	48,27	+253,88	59,47	+335,99
Hesperidine	<i>Aguadulce</i>	20,1	ND		32,31	+60,74
	<i>Shale</i>	13,73	59,97	+336,78	32,54	+136,99
Hyperoside	<i>Aguadulce</i>	12,96	23,29	+79,70	89,22	+588,42
	<i>Shale</i>	ND	139,54	CN	60,76	CN
Acide 4-OH Benzoïque	<i>Aguadulce</i>	58,11	484,37	+733,53	31,21	-46,29
	<i>Shale</i>	47,7	286,1	+499,79	31,82	-33,29
Acide salicylique	<i>Aguadulce</i>	48,48	435,48	+798,26	30,49	-37,10
	<i>Shale</i>	35,89	258,72	+620,86	22,67	-36,83
Myricétine	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		354,73	CN
	<i>Shale</i>	ND	393,18	CN	69,5	CN
Fisetine	<i>Aguadulce</i>	ND	19,05	CN	ND	
	<i>Shale</i>	ND	18,92	CN	ND	
Coumarine	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		12,19	CN
	<i>Shale</i>	ND	ND		23,65	CN
Quercétine	<i>Aguadulce</i>	16,29	113,69	+597,91	208,46	+1179,68
	<i>Shale</i>	11,06	608,58	+5402,53	61,99	+460,48
Naringénine	<i>Aguadulce</i>	ND	2,36	CN	6,19	CN
	<i>Shale</i>	ND	22,51	CN	4,39	CN
Hesperétine	<i>Aguadulce</i>	ND	6,53	CN	ND	
	<i>Shale</i>	ND	42,9	CN	ND	
Lutéoline	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		67,22	CN
	<i>Shale</i>	ND	ND		13,68	CN
Kaempférol	<i>Aguadulce</i>	ND	6,93	CN	72,16	CN
	<i>Shale</i>	ND	15,21	CN	14,86	CN
Apigénine	<i>Aguadulce</i>	ND	ND		18,1	CN
	<i>Shale</i>	ND	ND		3,65	CN
Rhamnétine	<i>Aguadulce</i>	6,43	90,98	+1314,93	11,58	+80,09
	<i>Shale</i>	5,11	182,5	+3471,42	7,36	+44,03
Chrysin	<i>Aguadulce</i>	ND	ND			
	<i>Shale</i>	ND	ND			

TV(%) : Taux de variation (en %) par rapport à l'extrait cru ; + : Augmentation ; - : Réduction ; ND : Non détecté ;

CN : Composé néoformé.

### 2.5.1. Extraits de fèves crues

D'après les résultats obtenus, les fèves sont la deuxième espèce après les lentilles en matière de richesse en composés phénoliques. Selon Reddy *et al.* (1985), la graine de fèves est riche en phénols, et principalement en tanins mais aussi en divers autres flavonoïdes. Les tanins sont présents en grande majorité dans le tégument de la graine.

La variété *Aguadulce* a révélé douze (12) composés phénoliques et qui sont: l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide tanique, l'acide *tr*-caféique, l'acide *p*-coumarique, la rutine, l'hesperidine, l'hyperoside, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique, la quercétine et la rhamnetine. Le composé majoritaire est l'acide tanique et le composé minoritaire est l'acide *tr*-caféique.

La variété *Shale* a révélé onze (11) composés phénoliques: l'acide gallique, l'acide protocatéchique, l'acide tanique, l'acide *tr*-caféique, l'acide *p*-coumarique, la rutine, l'hesperidine, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique, la quercétine et la rhamnetine. Le composé majoritaire est toujours l'acide tanique et le composé minoritaire est toujours l'acide *tr*-caféique. Ces deux composés peuvent contribuer à l'empreinte phénolique de l'espèce (*Vicia faba*).

Il est à constater aussi que les deux variétés ont le même profil phénolique, à l'exception de l'hyperoside qui est présent seulement dans la variété *Aguadulce*. Une absence de certains composés en l'occurrence la naringénine, l'hespétine, la luteoline, le kaempferol, l'apigénine, la chysine, la coumarine, la fisetine, la myricétine, l'acide rosmarinique, la vanilline et l'acide chlorogénique.

Cependant ce constat ne concorde pas avec certains travaux mentionnés dans la littérature. Nozzolillo *et al.* (1989), ont évoqué une richesse de l'espèce *Vicia faba* en flavones dont le principal aglycone est l'apigénine, en flavonols dont le principal aglycone est la myricétine et en anthocyanines dans le tégument. Tomas-Lorente *et al.* (1990), ont identifié d'autres composés notamment le 7,3',4'-trihydroxy-flavone; le 7,4'-dihydroxy-flavone, la quercétine et son dérivé la quercétine 7-glycoside, le kaempférol et son dérivé le kaempférol 7-glycoside dans les exsudats de graines de *Vicia faba*.

Dans l'étude menée par El-Mergawi et Taie (2014) sur les graines de dix variétés de fèves (*Giza 3*, *Giza 716*, *Giza 843*, *Nubaria 1*, *Nubaria 2*, *Sakha 1*, *Sakha 2*, *Sakha3*, *Sakha 4*, et *Misr1*) obtenues à partir de l'Institut des Légumes, Centre de la recherche Agricole, Giza,

Egypt, cette espèce semble contenir d'autres composés comme la myricétine, la daidzeine, l'apigénine et la quercétine.

### 2.5.2. Extraits de fèves cuites

Les résultats obtenus indiquent que la cuisson des graines de la variété *Aguadulce* entraîne une dégradation de certains composés phénoliques, il s'agit de la dégradation de l'acide *tr*-caféique, l'acide *p*-coumarique, la rutine, l'hesperidine, avec une augmentation de concentrations de l'acide gallique (94,25%), l'acide protocatéchique (14,47%), l'hyperoside (79,70%), l'acide 4OH-benzoïque (733,53%), l'acide salicylique (798,26%), la quercétine (597,91%), la rhamnetine (1314,93%) et l'acide tanique (7480,87%) qui est le composé majoritaire.

L'acide chlorogénique (dérivé de l'acide hydroxycinnamique « acide 5-*O*-cafféoylquinique »), la fisétine (flavonol isomère du kaempférol et de la lutéoline dont la structure est similaire de quercétine), la naringénine (flavannone), l'hespétine (provenant de la dégradation de l'hesperidine) et le kaempférol sont néoformés après cuisson des graines.

Pour la variété *Shale*, la cuisson a entraîné une réduction de l'acide *p*-coumarique (13,59%). En parallèle, une augmentation de la concentration de l'acide gallique (717,35%), l'acide protocatéchique (514,43%), l'acide tanique (4799,06%), l'acide *tr*-caféique (87,5%), la rutine (253,88%), l'hesperidine (336,78%), l'acide 4-OH benzoïque (499,79%), l'acide salicylique (620,86%), la quercétine (5402,53%) et la rhamnetine (3471,42%) a été enregistrée.

La néoformation de vanilline (aldéhyde aromatique, hyperoside (quercétine 3-*o*-galactoside), myricétine, fisétine, naringénine, hespétine et kaempferol sont aussi noté. Selon Granito *et al.* (2007), une température élevée (100°C) peut favoriser une décomposition les structures aromatiques des polyphénols.

### 2.5.3. Eaux de cuisson de fèves

Le profil phénolique de l'eau de cuisson des graines de la variété *Aguadulce* est nettement riche en comparaison avec celui des graines crues et cuites avec 18 composés détectés dont six (6) sont des composés néoformés, il s'agit de la myricétine, la coumarine, la naringénine, la lutéoline, le kaempférol et l'apigénine.



Certains composés ont subi des augmentations de concentration, il s'agit de l'acide gallique (537,58%), l'acide protocatéchique (1399,02%), l'acide tannique (328,59%), l'acide *tr*-cafféique (1658,33%), l'acide *p*-coumarique (863,96%), la rutine (57,63%), l'héspéridine (60,74%), l'hyperoside (588,42%), la quercétine, (1179,68%) et la rhamnetine (80,09%).

La cuisson à l'eau peut entraîner la transformation des polyphénols insolubles en composés solubles, induisant ainsi l'augmentation de leur solubilité. De ce fait, leur teneur augmente dans l'eau de cuisson au profit de l'aliment cuit.

La concentration de l'acide 4-OH benzoïque a diminué de 46,29% et celle de l'acide salicylique de 37,10%.

L'eau de cuisson de la variété *Shale* a révélé un profil de dix-neuf (19) composés phénoliques. Les composés néoformés sont l'acide chlorogénique, l'hyperoside, la myricétine, la coumarine, la naringénine, la lutéoline, le kaempférol et l'apigénine. Selon Chirinos *et al.*(2009), l'eau ne récupère pas seulement les composés phénoliques, mais aussi des glucides et des acides organiques, car les composés phénoliques peuvent être combinés à des glucides, à des protéines, où ils peuvent créer des dérivés polymérisés ayant une solubilité différente; la fraction osidique les rend plus solubles dans l'eau (Escribano-Baillon et Santos-Buelga, 2003). Deux mécanismes sont proposés par Faller et Fialho (2009), le premier est la formation de ponts hydrogène entre les groupements hydroxyles des polyphénols et les atomes d'oxygène des polysaccharides de la paroi cellulaire de légumes, formant ainsi des gels dextranes capables d'encapsuler les polyphénols; le second est basé sur la capacité des polysaccharides à développer des structures secondaires ayant le pouvoir de complexer les polyphénols.

Les composés qui ont subi une augmentation de concentration sont l'acide gallique (629,73%), l'acide protocatéchique (2028,28%), l'acide tannique (102,76%), l'acide *tr*-cafféique (3264,33%), l'acide *p*-coumarique (944,12%), la rutine (335,99%), l'héspéridine (136,99%), la quercétine (460,48%) et la rhamnetine (44,03%).

Les composés qui ont subi une diminution de concentration sont l'acide 4-OH benzoïque (33,29%) et l'acide salicylique (36,83%).

### 3. Activités antiradicalaires et antioxydantes des extraits des légumes secs

Nous rapellons que l'action antioxydante des phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, ainsi que la suppression de l'oxygène singulet; elle peut aussi se manifester par la capacité de réduction du Cuivre (CUPRAC) car, il est bien clair qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel antioxydant d'un échantillon. Il nous a fallu donc une combinaison de deux mécanismes d'action, un effet scavenger qui consiste à évaluer la capacité de transfert d'électron et de proton par la réduction du radical libre DPPH<sup>·</sup> et le radical cationique ABTS<sup>·+</sup>, et une activité réductrice du cuivre (CUPRAC). Le test de la capacité de réduction du cuivre est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisé pour une grande variété de polyphénols, incluant les acides phénoliques, hydroxycinnamiques, flavonoïdes et anthocyanes (Özyürek *et al.*, 2011).

#### 3. 1. Activités antiradicalaires des extraits des légumes secs

##### 3.1.1. Activité antiradicalaire évaluée par le test de DPPH<sup>·</sup>

L'activité antiradicalaire des extraits réalisée par le test de DPPH<sup>·</sup> est exprimée en pourcentage d'inhibition 50% de ces derniers. L'analyse de différences de l'activité antiradicalaire, réalisée par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), entre les différents extraits est récapitulée dans le Tableau 13.

**Tableau 13.** Analyse des différences de l'activité antiradicalaire (IC<sub>50</sub> de DPPH<sup>·</sup>) des extraits de légumes secs par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Espèces de légumes secs/standards	Variétés	Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg /ml)				
		Éch. Cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau de cuisson	TV (%)
Lentilles	Var. <i>Metropole</i>	30,35±0,76 <sup>d</sup>	14,46±0,23 <sup>b</sup>	-52,35%	35,14±0,90 <sup>e</sup>	+15,78
	Var. <i>Ibla</i>	12,02±0,22 <sup>a</sup>	17,28±0,25 <sup>c</sup>	+43,76%	11,02±0,23 <sup>a</sup>	-8,31
Petits pois	Var. <i>Oinward</i>	150,09±4,89 <sup>e</sup>	46,18±0,98 <sup>b</sup>	-69,23%	11,57±0,24 <sup>a</sup>	-92,29
	Var. <i>Messirl</i>	88,43±1,45 <sup>d</sup>	41,23±0,96 <sup>c</sup>	-53,37%	11,05±0,92 <sup>a</sup>	-87,50
Haricots blancs	Var. <i>Cannellini</i>	56,32±1,12 <sup>b</sup>	31,61±0,12 <sup>a</sup>	-43,87%	141,41±2,89 <sup>c</sup>	+151,08
	Var. <i>Great Northerne</i>	236,01±6,78 <sup>e</sup>	211,97±5,09 <sup>d</sup>	-10,18%	ND	ND
Pois chiches	Var. <i>Ghab 5</i>	29,36±0,13 <sup>b</sup>	32,47±0,34 <sup>b</sup>	+10,59%	11,02±0,01 <sup>a</sup>	-62,46
	Var. <i>Flip</i>	135,67±4,45 <sup>d</sup>	82,03±2,54 <sup>c</sup>	-39,53%	11,21±0,15 <sup>a</sup>	-91,73
Fèves	Var. <i>Aguadulce</i>	75,97±1,87 <sup>e</sup>	27,96±0,34 <sup>a</sup>	-63,19%	29,94±0,15 <sup>a</sup>	-60,58
	Var. <i>Shale</i>	69,01±1,21 <sup>d</sup>	34,14±0,55 <sup>c</sup>	-50,52%	31,03±0,78 <sup>b</sup>	-55,03
Standard 1	BHT	58,86±0,50				
Standard 2	α- TOC	16,30±0,79				

La même lettre signifie l'absence de différence significative. ND : non déterminée.

### 3.1.1.1. Extraits des échantillons crus

Pour les extraits des échantillons crus de lentilles, les valeurs de l'activité anti radicalaire estimée par l'IC<sub>50</sub> sont variables. Elles sont équivalentes à 30,35±0,76 µg /ml et 12,02±0,22 µg /ml respectivement pour la variété *Metropole* et la variété *Ibla*. L'analyse des différences indique une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les deux variétés (Tableau 13).

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> montrent que la concentration inhibitrice de l'extrait de l'échantillon cru Var. *Metropole* est plus importante que celle de l'extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla*, ce qui signifie que l'extrait de ce dernier est plus efficace. En effet, plus la concentration inhibitrice est faible plus l'effet anti radicalaire est puissant (Boumarfegue *et al.*, 2012).

À des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés; l' $\alpha$  tocophérol et le butyl-hydroxy-toluène (BHT). L'extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla* et celui de la variété *Metropole* ont enregistré une IC<sub>50</sub> inférieure à celle du BHT, donc ils sont plus actifs par rapport à ce dernier. Par contre le standard  $\alpha$  tocophérol a présenté une IC<sub>50</sub> inférieure donc un pouvoir anti radicalaire supérieur à celui de l'extrait de l'échantillon cru Var. *Métropole*. Ces résultats permettent de classer les extraits par rapport aux standards selon leur pouvoir anti radicalaire par ordre décroissant (Extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla* >  $\alpha$  tocophérol > Extrait de l'échantillon cru Var. *Métropole* > BHT). En se référant à la bibliographie, Chakraborty et Bhattacharyya (2014) ont trouvés une IC<sub>50</sub> égal à 471,44±21,73 µmol E acide ascorbique /g de MH, alors que Zhang *et al.* (2018) ont donnés des valeurs comprises entre 23.83 et 35.03 µmol E Trolox/g de MS.

Quant aux extraits des échantillons crus de petits pois, les standards  $\alpha$ -TOC (16,30±0,79 µg/ml) et BHT (58,86±0,50 µg/ml) employés semblent être les plus actifs, suivis par l'extrait de la variété *Messirl* (88,43±1,45µg/ml), puis l'extrait de la variété *Oinward* (150,09±4,89µg/ml) avec une différence variétale significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 13). En se référant aux résultats de l'analyse LC-MS/MS, ce résultat pourrait être dû probablement à la richesse de la variété *Messirl* en certains composés phénolique en l'occurrence la naringénine, la fisetine, l'acide salicylique et l'acide 4-OH- benzoïque, ainsi qu'aux concentrations élevées de l'acide protocatéchique, l'acide tanique et l'héspéridine par rapport à la variété *Oinward*. Dans le même contexte, Tumbas *et al.* (2010) ont montré que l'héspéridine qui est responsable de cette activité anti radicalaire importante. Donc la relation entre la teneur en polyphénols et l'activité anti radicalaire renforce l'hypothèse de l'existence de cette corrélation.

Les teneurs déterminées dans la présente étude en utilisant la méthode de DPPH<sup>•</sup> sont différentes à celles observées par Xu et Chang (2012) pour des échantillons de pois jaunes (3,58  $\mu\text{mol TEAC} / \text{g}$  d'échantillon) et de pois verts (2,77  $\mu\text{mol TEAC} / \text{g}$  d'échantillon).

Il est à remarquer clairement, que les extraits des échantillons crus des deux variétés d'haricots secs possèdent des activités anti radicalaires avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). L'extrait de la variété *Cannellini* a montré l'activité anti radicalaire la plus élevée. Sur la base du pouvoir anti radicalaire, l'ordre de classement des extraits et des standards est le suivant :  $\alpha\text{-TOC}$  > extrait Var. *Cannellini* > BHT > extrait Var. *Great Northerne*. A titre comparatif, mais par rapport à la matière humide, Chakraborty et Bhattacharyya (2014) ont trouvé une  $\text{IC}_{50}$  de l'ordre de  $617.29 \pm 10.58 \mu\text{M}$  équivalents d'acide ascorbique / g chez le haricot commun rouge.

En se basant sur l'analyse quantitative, les haricots Var. *Cannellini* crue contiennent plus d'acide tanique, vanilline, acide 4-OH benzoïque, acide salicylique et naringénine que la variété *Great Northerne* crue. En effet, les tanins condensés et les tanins hydrolysables de haut poids moléculaire s'avèrent être les antioxydants les plus efficaces que les composés phénoliques simples (Hagerman et al., 1998). Ce constat est cohérent avec le cas de la variété *Cannellini* crue qui a enregistré plus d'acide tanique que la variété *Great Northerne* crue.

Sur la base du pouvoir anti radicalaire mesuré, l'ordre de classement des extraits de pois chiches et des standards employés est le suivant :  $\alpha\text{-TOC}$  > Extrait Var. *Ghab5* > BHT > Var. *Flip* avec une différence significative. Il s'avère donc que l'extrait de pois chiches Var. *Ghab5* possède l'activité anti radicalaire la plus élevée par rapport à l'extrait de pois chiche Var. *Flip* et même le standard BHT. En analysant les pois chiches humides, variété *Bengal gram*, Chakraborty et Bhattacharyya (2014), ont trouvé une  $\text{IC}_{50}$  égal  $103,28 \pm 4,25 \mu\text{M}$  équivalents d'acide ascorbique / g d'échantillon.

En effet plusieurs facteurs influent sur le potentiel anti radicalaire et la cinétique de réduction du radical DPPH<sup>•</sup>. Selon Popovici et al. (2009) les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH<sup>•</sup>, type de solvants, pH) et le profil phénolique de l'extrait en question en particulier sont des facteurs qui impactent le potentiel anti radicalaire. Le profil chromatographique de l'extrait de pois chiches crus Var. *Ghab 5* s'est avéré riche en acide protocatéchique, acide tanique, hespéridine, fisétine et apigénine. Alors que l'extrait de pois

chiches crus Var. *Flip* est moins riche, composé seulement de l'acide protocatéchique et l'hespéridine.

Selon les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, nous pouvons classer les extraits de fèves par ordre décroissant en fonction de leur concentration inhibitrice 50 (IC<sub>50</sub>) comme suit : extrait Var. *Shale* > extrait Var. *Aguadulce*. Les antioxydants standards utilisés ont le pouvoir antioxydant le plus élevé car ils ont les IC<sub>50</sub> les plus faibles, à savoir le  $\alpha$ -TOC et le BHT. Le résultat de Boukhanouf *et al.* (2016) est nettement différent, ils ont trouvés une activité antioxydante de  $5,89 \pm 0,48 \mu\text{g EAG/mg de MS}$ .

Pour les extraits des graines crues des espèces de légumes secs étudiées, il y'a un effet espèce et un effet variété significatifs enregistrés pour les activités anti radicalaires ( $p < 0,05\%$ ) (Tableau 13) dont la lentille Var. *Ibla* a enregistré la plus faible IC<sub>50</sub> ( $12,02 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$ ) et le haricot Var. *Great Northerne* a révélé la plus haute IC<sub>50</sub> ( $236,01 \pm 6,78 \mu\text{g/ml}$ ).

En effet, l'extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla* le plus actif, a présenté la teneur la plus élevée en flavonoïdes, tanins et anthocyanes et l'analyse qualificatif par LCMS/MS confirme ce résultat. Cela peut être également attribué à la structure des composés phénoliques, au degré d'hydroxylation et aux effets synergiques entre diverses classes d'antioxydants présents dans les extraits (composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, etc.) (Riz-Evans *et al.*, 1996). Néanmoins, à travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue sont notées à propos de cette corrélation. Certains travaux ont montré une bonne corrélation entre les IC<sub>50</sub> et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes, à l'apposé d'autre études n'ont pas établie cette corrélation (Athamena *et al.*, 2010; Mariod *et al.*, 2010). Par ailleurs, il est bien établi que l'activité antioxydante est corrélée positivement avec la structure des polyphénols. Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (Heim *et al.*, 2002) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes d'hydrogène pour stabiliser les radicaux libres (Torres de pinedo *et al.*, 2007). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure dépendant (Rodriguez *et al.*, 2009).

Cette même variété (Var. *Ibla* crue) s'est révélée riche en acide tannique, acide *tr*-caféique, naringénine, hespéridine, apigénine, acide gallique, hyperoside, fisétine, lutéoline et en kaempférol. Selon la bibliographie, l'activité anti radicalaire élevée de l'extrait de la variété *Ibla*

est due en fait à l'effet inductif des trois groupes hydroxyles de l'acide gallique et aussi à la présence de l'acide *p*-coumarique (Sanchez-Moreno *et al.*, 1998; Benhammou *et al.*, 2008).

D'autres travaux ont montré que l'acide *p*-coumarique possède de forte corrélation positive entre l'activité du piégeage des radicaux (DPPH<sup>•</sup>) (Tsai *et al.*, 2007). Cette activité est due probablement aussi à l'abondance des flavonols comme le kaempferol (Bylka *et al.*, 2001).

### 3.1.1.2. Extraits des échantillons cuits

L'activité anti radicalaire de l'extrait de lentille cuite Var. *Metropole* est plus importante que celle de l'extrait de lentille cuite Var. *Ibla* et des antioxydants standards utilisés avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). Sur la base de pouvoir anti radicalaire, l'ordre de classement est le suivant : Extrait de l'échantillon cuit Var. *Metropole* >  $\alpha$ -tocophérol > Extrait de l'échantillon cuit Var. *Ibla* > BHT (Tableau 13).

Les résultats obtenus indiquent que la cuisson a un effet significatif sur l'activité anti radicalaire des deux extraits par rapport à l'état cru. Néanmoins, nous n'avons pas pu dégager le même constat pour les deux variétés. Il y'a une augmentation de l'activité anti radicalaire de l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Metropole* (soit une diminution de l'IC<sub>50</sub> de 52,35%) et une diminution de celle de l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Ibla* (soit une augmentation de l'IC<sub>50</sub> de 43,76%) (Figure 41A). Dans la même optique de recherche, Chakraborty et Bhattacharyya (2014) ont constaté une diminution du potentiel antioxydant après cuisson des grains de lentilles (*Lens culinaris*) achetées des marchés locaux à Ichapur, Bengale) avec une IC<sub>50</sub> équivalente à 99,53±15,32  $\mu$ M E acide ascorbique /g de MH. Ce résultat concorde avec le résultat soulevé concernant la variété *Ibla*.

Concernant les petits pois, les résultats obtenus indiquent que l'antioxydant standard  $\alpha$ -TOC a le potentiel anti radicalaire le plus élevé, et que l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Messirl* présente la plus haute activité anti radicalaire équivalente à 41,23±0,96  $\mu$ g/ml, soit une augmentation de 53,37% par rapport à l'extrait d'échantillon cru (Figure 41B). Pour l'extrait des graines cuites de la variété *Oinward*, la valeur de l'activité anti radicalaire obtenue est de 46,18±0,98  $\mu$ g/ml, c'est à dire une augmentation de 69,23% par rapport à l'extrait d'échantillon cru (Figure 41B). L'antioxydant standard BHT a présenté l'activité anti radicalaire la plus faible avec une IC<sub>50</sub> de 58,86±0,50  $\mu$ g/ml. Sur la base de ces résultats, l'ordre de leur classement est le suivant :  $\alpha$ -TOC > Extrait Var. *Messirl* cuite > Extrait Var. *Oinward* cuite > BHT. En effet, la cuisson des graines des deux variétés a engendré une augmentation de l'activité antiradicalaire

par rapport à celle des graines crues. Selon le résultat de LCMS/MS, la cuisson des graines de la variété *Messirl* a entraîné une augmentation de concentrations des composés suivants: acide salicylique, 4-OH benzoïque, acide tannique et acide protocatechique. De même, elle a augmenté la concentration de l'acide protocatechique et de l'acide *p*-Coumarique dans l'extrait de la variété *Oinward*.

La comparaison de l'activité antiradicalaire des extraits de la variété *Cannellini* cuite et la variété *Great Northerne* cuite avec les antioxydants standards a permis le classement du pouvoir anti radicalaire suivant :  $\alpha$ -TOC > Extrait haricots secs cuits Var. *Cannellini* > BHT > Extrait haricots secs cuits Var. *Great Northerne*. Par rapport à l'état cru, le classement est maintenu et l'activité antiradicalaire est augmentée après cuisson (43,87% et 10,18% pour la Var. *Cannellini* et la Var. *Great Northerne*, respectivement) mais elle reste moins efficace que le standard  $\alpha$  tocophérol (Figure 41C). Par rapport à la bibliographie, Chakraborty et Bhattacharyya (2014) ont trouvé une  $IC_{50}$  égal à  $893.03 \pm 29.54 \mu M$  équivalents d'acide ascorbique / g de MH chez le haricot commun rouge cuit.

Concernant les pois chiches et sur la base des valeurs de l' $IC_{50}$  obtenues, le classement des extraits et des standards analysés est le suivant:  $\alpha$ -TOC > extrait Var. *Ghab5* cuite > BHT > extrait Var. *Flip* cuite avec une différence variétale significative. L'ordre de classement est le même que le cas des extraits crus. L'activité anti radicalaire de pois chiche *Ghab 5* diminue de 10,59% (Figure 35D) suite à la diminution des concentrations de naringénine et fisetine. Alors que celle de la variété *Flip* a augmenté après cuisson de 39,53% (Figure 41D) suite à la néoformation d'acide tannique et augmentation de la concentration d'acide protocatéchique. Dans le même axe, Chakraborty et Bhattacharyya (2014), ont trouvé une  $IC_{50}$  égal à  $50.77 \pm 7.57 \mu M$  équivalents d'acide ascorbique / g de MH chez le *Cicer arietinum*, variété *Bengal gram*

Pour les fèves, l'ordre décroissant de l'activité antiradicalaire est le suivant:  $\alpha$ -TOC > l'extrait d'échantillon cuit Var *Aguadulce* > l'extrait d'échantillon cuit Var *Shale* > BHT. Nous avons enregistré un impact positif de la cuisson sur l'activité anti radicalaire pour les deux variétés qui présentent une différence variétale significative (soit une augmentation de 63,19% et 50,52% pour la variété *Aguadulce* et la variété *Shale*, respectivement) (Figure 41E).

Boukhanouf *et al.* (2016) qui ont trouvés une teneur de  $2,39 \pm 0,27 \mu g$  EAG/mg de MS, cette augmentation de l'effet scavenger des radicaux libres peut être causée par la perturbation de la membrane et la paroi cellulaire conduisant à la libération des composés antioxydants de la matrice végétale.

Pour les extraits des graines cuites des légumes secs étudiés, il y'a un effet espèce significatif ( $p < 0,05\%$ ). En effet, l'extrait de l'échantillon cuit de la lentille variété *Metropole* a montré une faible valeur d' $IC_{50}$  ( $14,46 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$ ) et la plus grande valeur a été constatée pour l'extrait de l'échantillon cuit du haricot variété *Great Northerne* ( $211,97 \pm 5,09 \mu\text{g/ml}$ ) (Tableau 13). Il est très accepté que ce n'est pas nécessairement la forte teneur en polyphénols exhibe une activité antioxydante puissante (Moure *et al.*, 2001). Selon la littérature, l'activité anti radicalaire est liée avec la présence des flavonoïdes et des anthocyanes.

Il s'avère clairement que l'augmentation de l'activité anti radicalaire des composés phénoliques des graines cuites de la variété *Métropole* est étroitement liée avec l'augmentation de la concentration des acides phénoliques (acide gallique et acide tannique). Il est possible que le traitement thermique a favorisé la fragilisation de la paroi cellulaire végétale et a entraîné une libération accrue de composés bioactifs. De plus, le processus de chauffage pourrait décomposer les formes polymérisées comme les tanins pour former ces deux acides. Concernant la diminution de l'activité anti radicalaire de la variété *Ibla*, elle pourrait être due à la diminution de la concentration de tous les composés phénoliques dosés par rapport à l'état cru.

Makris et Rossiter (2001) ont rapporté que la cuisson conduit à des modifications de la quantité de polyphénols, mais elle peut également modifier la structure des polyphénols, ce qui pourrait affecter la capacité antioxydante. Donc, l'activité antioxydante est à la fois dose dépendante et structure dépendante.

Une étude de Sreeramulu *et al.* (2009) a rapporté que ce type de corrélation pourrait être dû à des réponses différentes de composés phénoliques dans différents systèmes de dosage.

### 3.1.1.3. Extraits des eaux de cuisson

Les résultats obtenus indiquent que les extraits des eaux de cuisson des graines des deux variétés ont exercé une activité antiradicalaire importante. Cependant, l'activité antiradicalaire de l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Ibla* reste supérieure à celle de l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Métropole* et celles des deux antioxydants standards. Sur la base de pouvoir antiradicalaire, l'ordre de leur classement est le suivant : Extrait de l'eau de cuisson Var. *Ibla* >  $\alpha$ -TOC > Extrait de l'eau de cuisson Var. *Metropole* > BHT. En comparant les valeurs des activités antiradicalaires révélées dans les extraits des eaux de cuisson avec celles des extraits des échantillons crus, on note une augmentation pour la variété *Ibla* (soit une diminution de 8,31% dans l' $IC_{50}$ ) et une



diminution pour la variété *Métropole* (soit une augmentation de 15,78% dans l'IC<sub>50</sub>) (Figure 41A).

Parrapport à l'activité antiradicalaire des extraits des eaux de cuisson, aucune différence significative entre les deux variétés de petits pois n'a été constatée. Quant à l'extrait de l'eau de cuisson Var *Messirl*, l'activité anti radicalaire mesurée est légèrement élevée par rapport à celle de l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Oinward*. Les deux antioxydants standards utilisés ont montré de faibles pouvoirs antiradicalaires. Sur la base de leur activité antiradicalaire, l'ordre de leur classement est le suivant : Extrait de l'eau de cuisson Var. *Messirl*>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Oinward*> $\alpha$ -TOC>BHT. En comparant ces résultats avec les résultats révélés à l'état crus, une augmentation dans l'activité antiradicalaire de 92,29% pour l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Oinward*, et de 87,50% pour l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Messirl* ont été constatées (Figure 41B).

Pour les haricots et sur la base du pouvoir antiradicalaire, le classement des extraits des eaux de cuisson et des standards employés est le suivant :  $\alpha$ -TOC>BHT>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Cannellini*. Le pouvoir anti radicalaire révélé pour l'extrait de l'eau de cuisson de la variété *Cannellini* est très faible en le comparant avec les deux standars. De même, nous avons enregistré une diminution de l'activité antioxydante par rapport à l'état cru de 151.08% (Figure 41C).

Les extraits des eaux de cuisson des graines de pois chiches ont un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui des antioxydants standards. Selon ce pouvoir, ils sont classés selon l'ordre suivant: Extrait de l'eau de cuisson Var. *Ghab 5*> Extrait de l'eau de cuisson Var. *Flip* >  $\alpha$ -TOC > BHT. Ce classement pourrait être dû à la teneur en composés phénoliques dans les deux extraits qui ne sont pas différents significativement. Il a remarqué aussi un impact positif de la cuisson sur l'activité antiradicalaire des deux extraits (soit une augmentation de 62,46% et 91,73% pour l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Ghab 5* et l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Flip* respectivement) (Figure 41D).

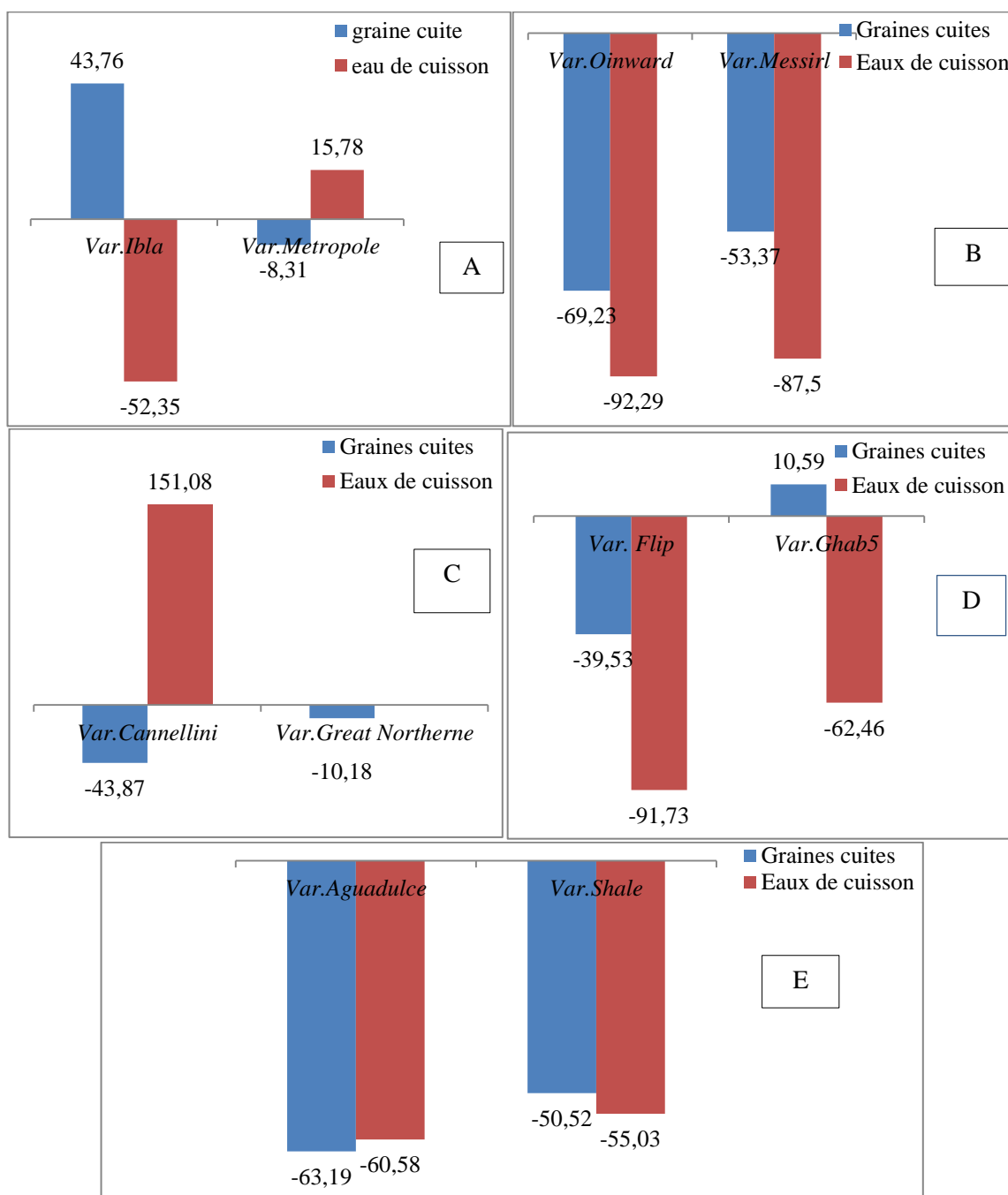
La capacité antiradicalaire des extraits des eaux de cuisson des deux variétés de fève est plus intéressante en les comparants au standard BHT employé. Par contre l'antioxydant standard  $\alpha$ -TOC reste le plus actif. L'activité antiradicalaire révélée est plus importante que celle des échantillons crus de deux variétés. L'extrait de l'eau de cuisson de la variété *Aguadulce* est le plus efficace avec une IC<sub>50</sub>=29,94±0,15 $\mu$ g/ml. A titre comparatif avec l'état cru, nous constatons une augmentation du pouvoir antiradicalaire dans les deux extraits, cette augmentation est de

60,58% et 55,03% pour l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Aguadulce* et l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Shale*, respectivement (Figure 41E).

La meilleure activité antiradicalaire est obtenue par l'extrait de l'eau de cuisson de lentille Var. *Ibla* et de l'eau de cuisson de pois chiche Var. *Ghab 5*.

L'eau de cuisson de la variété *Ibla* s'est avérée riche en acide gallique, acide protocatéchique et acide *tr*-cafféique par rapport à l'eau de cuisson de la variété *Métropole*. Parmi les composés néoformés, figure la quercétine, dont les produits résultant de son oxydation, comme le dérivé benzofuranone et l'acide protocatéchique (dominant dans l'eau de cuisson de la variété *Ibla*) ont montré un pouvoir antiradicalaire notable (Rice-Evans *et al.*, 1996). Ces dérivés contribuent de manière générale au pouvoir antioxydant global des flavonoïdes, et de manière particulière du flavonol. Ce qui explique pourquoi la quercétine est un très bon antioxydant en général, dont l'effet protecteur peut persister même après ingestion. Aussi, la quercétine combine les trois critères structuraux nécessaires en étant un piègeur des radicaux libres, un bon révélateur et le plus actif.

D'un autre côté, on assiste à une neoformation de dix composés phénoliques dans l'eau de cuisson de la variété *Ghab5*, qui sont: l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide *tr*-cafféique, l'acide *p*-coumarique, l'acide 4-OH-benzoïque, l'acide salicylique, la lutéoline, le kaempférol et l'apigénine. Ces composés ont des pouvoirs antioxydants notables.



**Figure 41.** Pourcentage de variation des IC<sub>50</sub> (DPPH), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.

A : Lentilles B : petits pois C : Haricots D : pois chiches E : Fèves.

### 3.1.2. Activité antiradicalaire évaluée par le test de ABTS<sup>+</sup>

L'activité antiradicalaire des extraits réalisée par le test ABTS<sup>+</sup> est exprimée en pourcentage d'inhibition 50% de ces derniers. L'analyse de différences de l'activité antiradicalaire, réalisée par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), entre les différents extraits est récapitulée dans le Tableau 14.

**Tableau 14.** Analyse des différences de l'activité antiradicalaire (IC<sub>50</sub> de l'ABTS<sup>+</sup>) des extraits de légumes secs par le test de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Espèces de légumes secs/standards	Variétés	Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/ml)				
		Éch. cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau de cuisson	TV (%)
<b>Lentilles</b>	Var. <i>Metropole</i>	110,79±1,23 <sup>e</sup>	100,57±1,34 <sup>d</sup>	-9,22	47,84±0,65 <sup>b</sup>	-56,81
	Var. <i>Ibla</i>	66,17±1,67 <sup>c</sup>	136,90±2,54 <sup>f</sup>	+106,89	30,34±0,43 <sup>a</sup>	-54,14
<b>Petits pois</b>	Var. <i>Oinward</i>	ND	850±3,10 <sup>c</sup>	ND	84,83±1,09 <sup>a</sup>	ND
	Var. <i>Messirl</i>	729,40±6,70 <sup>e</sup>	320,20±5,78 <sup>d</sup>	-56,10	98,56±2,56 <sup>b</sup>	-86,48
<b>Haricots blancs</b>	Var. <i>Cannellini</i>	ND	ND	ND	100,15±3,56 <sup>b</sup>	ND
	Var. <i>Great Northerne</i>	356,49±5,79 <sup>c</sup>	ND	ND	53,20±1,02 <sup>a</sup>	-85,07
<b>Pois chiches</b>	Var. <i>Ghab 5</i>	ND	ND	ND	40,76±0,98 <sup>a</sup>	ND
	Var. <i>Flip</i>	250,79±4,67 <sup>c</sup>	ND	ND	77,35±1,47 <sup>b</sup>	-69,15
<b>Fèves</b>	Var. <i>Aguadulce</i>	57,27±1,39 <sup>b</sup>	117,04±4,82 <sup>d</sup>	104,36	ND	ND
	Var. <i>Shale</i>	61,91±1,91 <sup>c</sup>	11,05±0,74 <sup>a</sup>	-82,15	11,03±0,51 <sup>a</sup>	-82,18
<b>Standard 1</b>	BHT	12,29±0,67				
<b>Standard 2</b>	α- TOC	9,88±0,23				

La même lettre signifie l'absence de différence significative intra espèces. ND : non déterminée.

### 3.1.2.1. Extraits des échantillons crus

Pour les extraits des échantillons crus des deux variétés de lentilles étudiées, la meilleure activité antiradicalaire, estimée par la valeur de l'IC<sub>50</sub>, est enregistré pour la variété *Ibla* (Tableau14). Cependant cette valeur reste supérieure à celles des standards utilisés (BHT et α-tocophérol). L'ordre de leur classement en fonction du pouvoir anti radicalaire est: α-tocophérol > BHT > Extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla* > Extrait de l'échantillon cru Var. *Metropole* avec une différence significative ( $p \leq 0,05$ ). Concernant les deux standards employés, les résultats de Ho *et al.* (1994) ne sont pas cohérents avec les nôtres, ils ont montré que l'α-tocophérol est un antioxydant plus puissant que le BHT. Certains auteurs notamment, Chakraborty et Bhattacharyya (2014), en utilisant d'autres standards ont trouvé une IC<sub>50</sub> équivalente à 17,50±1,74 µM E acide ascorbique / g de MH.

Miliauskas *et al.* (2004) ont montré qu'un antioxydant efficace dans un test n'est pas forcément efficace dans un autre est c'est notre cas où l'activité anti radicalaire mesurée par le test de DPPH<sup>•</sup> est différente de celle mesurée par le test de l'ABTS<sup>+</sup>. Les meilleurs résultats ont été obtenus par la méthode de DPPH<sup>•</sup>. Bien que le radical libre DPPH<sup>•</sup> soit utilisé partout pour estimer l'activité potentielle de piégeage des radicaux libres des produits naturels, l'ABTS<sup>+</sup> le radical cationique est couramment utilisé lorsque des problèmes de solubilité ou d'interférence

surviennent et l'utilisation de dosages à base de DPPH<sup>•</sup> devient inappropriée (Sreeramulu *et al.*, 2009).

Vu les faibles valeurs de leurs IC<sub>50</sub>, les standards employés s'avèrent les plus actifs. En revanche, le pouvoir antiradicalaire de l'extrait des graines crues de la variété *Messirl* est moins important avec une valeur de l'IC<sub>50</sub> de 729,40±6,70µg/ml. De même, la variété *Oinward* n'a présenté aucune activité anti radicalaire vis-à-vis du radical ABTS<sup>•+</sup>.

L'ordre de classement de l'activité anti radicalaire on tenant compte les deux variétés de l'haricot et les deux standards est le suivant: α-TOC>BHT>Extrait de l'échantillon cru Var. *Great Northerne*, alors que l'activité antiradicalaire de l'extrait de l'échantillon cru Var. *Cannellini* n'a pu être déterminée par cette méthode. Chakraborty et Bhattacharyya (2014) ont trouvé une IC<sub>50</sub> égal à 30.89±2.76 µM équivalents d'acide ascorbique / g de MH chez le haricot commun rouge avec le radical ABTS<sup>•+</sup>.

Les différences entre les activités de piégeage des radicaux DPPH<sup>•</sup> et ABTS<sup>•+</sup> peuvent être attribuées aux milieux réactionnels. L'analyse DPPH<sup>•</sup> est classiquement conduite dans un solvant polaire, tandis que l'analyse ABTS<sup>•+</sup> est réalisée dans des conditions aqueuses. Les deux radicaux peuvent se résoudre différemment, leur taille moléculaire est différente. Le radical ABTS<sup>•+</sup> doit être formé au départ, alors que le DPPH<sup>•</sup> est vraiment un radical stabilisé en lui-même. De plus, ils pourraient également avoir des affinités différentes contre d'autres composés présents dans les échantillons. Peut-être aussi des glucides, des lipides etc. Ils n'ont pas de forte spécificité vis-à-vis des composés phénoliques.

L'activité la plus élevée est celle du standard α-TOC suivie par celle du standard BHT et celle de l'extrait pois chiches crus Var. *Flip*. L'activité anti radicalaire de l'extrait de pois chiches crus Var. *Ghab 5* n'a pas été déterminée par cette méthode. Selon Chakraborty et Bhattacharyya (2014), le *Cicer arietinum* variété *Bengal gram* a une IC<sub>50</sub> nettement différente équivalente à 14,63±1,12 µM équivalents acide ascorbique / g de MH.

Les deux antioxydants standards sont révélés plus actifs avec une IC<sub>50</sub>= 9.88±0.23µg/ml pour le α-TOC et une IC<sub>50</sub>=12.29±0.67 pour le BHT. L'extrait de l'échantillon cru Var. *Aguadulce* et celui de l'échantillon cru Var. *Shale*, sont les moins actifs avec une différence variétale significative.

Chen *et al.* (2015) ont trouvé des phénomènes similaires et ont expliqué que la baisse de l'activité antioxydante était liée à la diminution de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes.

### 3.1.2.2. Extraits des échantillons cuits

En comparaison avec les antioxydants standards employés, les extraits de lentilles cuites testés s'avèrent être moins actifs. Sur la base de la capacité antiradicalaire, l'ordre de leur classement constaté est le suivant :  $\alpha$  tocophérol > BHT > Extrait de l'échantillon cuit Var. *Métropole* > Extrait de l'échantillon cuit Var. *Ibla*. En se référant à l'état cru, l'activité antiradicalaire a été réduite lors de la cuisson de l'échantillon Var. *Ibla* (soit une augmentation de 106,89% des valeurs de l'IC<sub>50</sub>) (Figure 42A) et elle a été augmentée pour l'échantillon cuit Var. *Métropole* (soit une diminution de 9,22% des valeurs de l'IC<sub>50</sub>) (Figure 42A). Par comparaison aux travaux de Chakraborty et Bhattacharyya (2014) qui ont trouvé une IC<sub>50</sub> égal 11,63±1,31  $\mu$ M E acide ascorbique/g de MH, une diminution de l'activité antiradicalaire a été soulevée par rapport à l'état cru; ce résultat concorde avec le nôtre dans le cas de la variété *Ibla*. De même, Xu et Chang (2009b) ont déterminé une réduction de la capacité antioxydante des lentilles après cuisson à la vapeur.

La meilleure activité antiradicalaire est obtenue avec l'extrait de l'échantillon cuit de la variété *Messirl* (IC<sub>50</sub>=320,20±5,78  $\mu$ g/ml) soit une augmentation de 56,10% par rapport à l'état cru (Figure 42B). Alors que la plus faible activité est celle de la variété *Oinward* cuite (850±3,10  $\mu$ g/ml). Par ailleurs, les antioxydants standards ont manifesté une activité antiradicalaire plus importante. Sur la base de pouvoir antiradicalaire, l'ordre de leur classement est le suivant :  $\alpha$ -TOC > BHT > Extrait de l'échantillon cuit Var. *Messirl* > Extrait de l'échantillon cuit Var. *Oinward*.

L'activité antiradicalaire des extraits des échantillons cuits des haricots et des pois chiches n'a pas été déterminée par la méthode d'ABTS<sup>+</sup>. Généralement, il semble que chaque composé montre un comportement différent quant à son affinité vis-à-vis du radical DPPH ou ABTS<sup>+</sup>, ce constat est cohérent avec celui de Li *et al.* (2006).

L'antioxydant standard  $\alpha$ -TOC est plus actif, suivie par l'extrait de la variété *Shale* cuite, le BHT et l'extrait de la variété *Aguadulce* cuite. Un effet positif de la cuisson sur l'activité antioxydante a été constaté chez la variété *Shale* exprimé par une diminution d'IC<sub>50</sub> de l'ordre de 82,15%. Un effet négatif a été noté chez la variété *Aguadulce* reflété par une augmentation d'IC<sub>50</sub> de l'ordre de 104,36% (Figure 42E). Cette différence pourrait être due au phénomène d'affinité des composés phénoliques vis-à-vis les radicaux, aux effets synergiques entre les

composés phénoliques, ainsi à l'action des produits de réaction de Maillard qui sont doués des activités antioxydantes.

### 3.1.2.3. Extraits des eaux de cuisson

Les valeurs de l'IC<sub>50</sub> des deux extraits testés de lentilles montrent une grande variation. L'extrait de l'eau de cuisson Var. *Ibla* semble avoir l'activité antiradicalaire la plus importante, suivie par l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Métropole*. En comparaison avec les antioxydants standards, ces deux extraits s'avèrent moins efficaces. Sur la base de pouvoir antiradicalaire, l'ordre de leur classement est le suivant :  $\alpha$ -TOC>BHT>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Ibla*>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Metropole*). La valeur de l'IC<sub>50</sub> obtenue avec  $\alpha$ -TOC est très faible ( $9,88\pm 0,23\mu\text{g/ml}$ ), reflète son puissant effet anti radicalaire.

Par rapport à l'état cru, l'activité antiradicalaire évaluée pour les eaux de cuisson Var. *Ibla* et celle de la variété *Métropole* est nettement élevée, soit une diminution de 54,14% et 56,81% des valeurs de l'IC<sub>50</sub> respectivement (Figure 42A).

En ce qui concerne l'extrait de l'eau récupérée de la cuisson de la variété *Oinward*, l'activité antiradicalaire enregistrée est plus élevée que celle de l'extrait de l'eau de cuisson de la variété *Messirl*. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative. Le pouvoir anti radicalaire le plus élevé a été enregistré pour le standard  $\alpha$ -TOC. Sur la base de leur potentiel anti radicalaire, l'ordre de leur classement est :  $\alpha$ -TOC> BHT > Extrait de l'eau de cuisson Var. *Oin ward*>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Messirl*.

Par rapport aux échantillons crus, les deux eaux de cuisson ont donné un pouvoir anti radicalaire élevé. Soit une augmentation de 86.48% pour l'eau de cuisson Var. *Messirl* (Figure 42B).

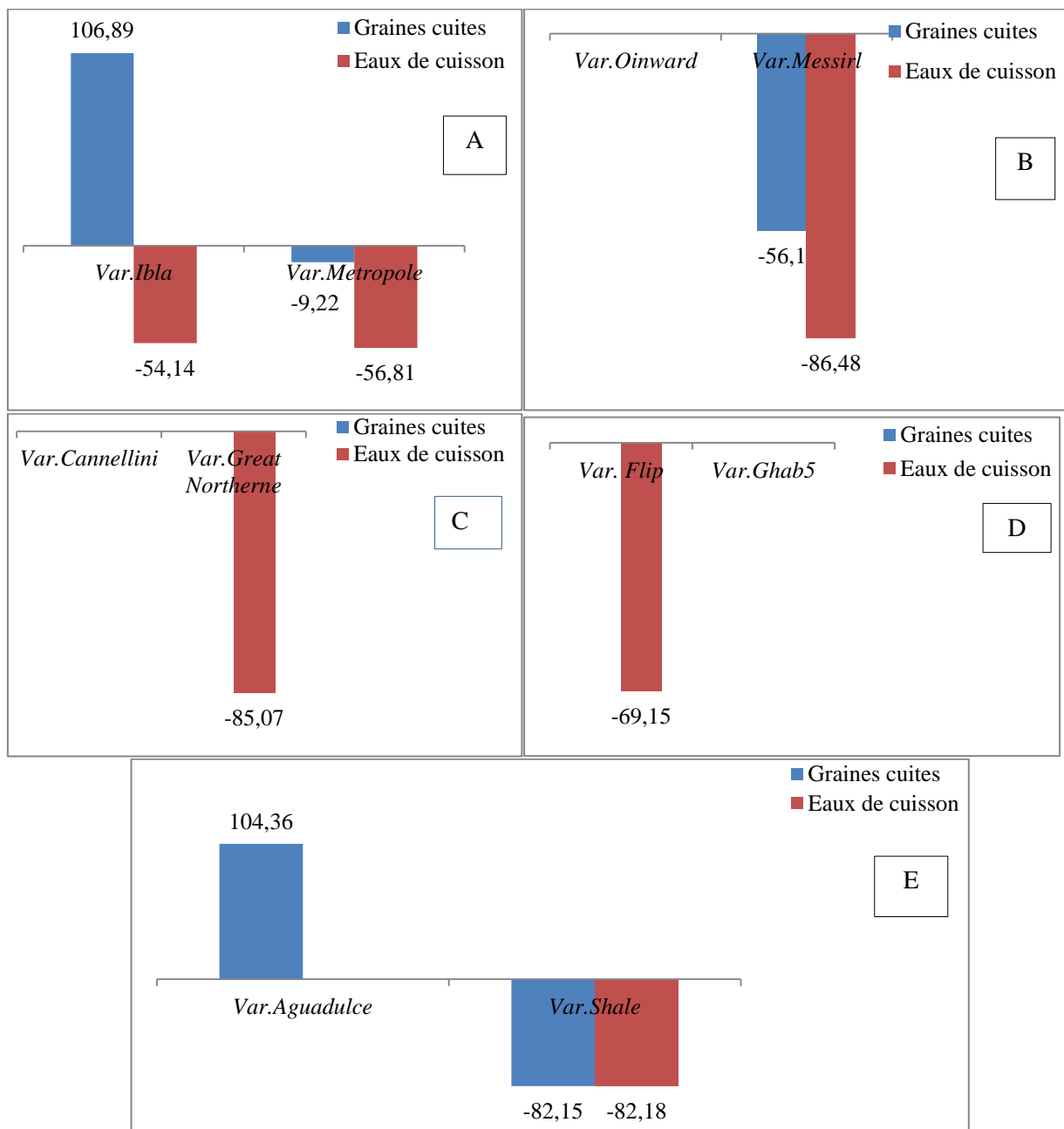
Concernant les haricots, les valeurs de l'activité anti radicalaire des extraits analysés présentent des différences significatives ( $p<0,05$ ). L'activité antiradicalaire la plus élevée est celle du standard  $\alpha$ -TOC, suivie de celle du standard BHT, puis celle de l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Great Northerne*, et à la fin celle de l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Cannellini*.

En se référant à l'état cru, l'activité anti radicalaire des eaux de cuisson s'avère plus élevée suite à la diffusion de ces composés phénoliques dans celles-ci (soit une diminution de l'IC<sub>50</sub> de 85,07% pour l'eau de cuisson Var. *Great Northerne* (Figure 42C).

Le classement des activités antiradicalaires selon l'IC<sub>50</sub> pour les pois chiches est le suivant:  $\alpha$ TOC>BHT > Extrait de l'eau de cuisson Var. *Ghab5*>Extrait de l'eau de cuisson Var. *Flip* avec une différence variétale significative. Les deux eaux de cuisson ont présenté les

meilleures activités anti radicalaires par rapport à l'état cru (soit une augmentation de 69,15% pour l'eau de cuisson Var. *Flip*) (Figure 42D).

L'activité antiradicalaire de l'extrait de l'eau de cuisson de la fève Var. *Aguadulce* est non déterminée, donc seulement l'extrait de l'eau de cuisson de la variété *Shale* exerce une activité antiradicalaire non négligeable. Elle est supérieure à celle de l'antioxydant standard BHT et 82,18% plus élevée que celle de l'extrait cru de la même variété (Figure 42E).



**Figure 42.** Pourcentage de variation des IC<sub>50</sub> (ABTS<sup>+</sup>), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.

A : Lentilles B : Petits pois C : Haricots D : pois chiches E : Fèves.



### 3. 2. Activités antioxydantes des extraits des légumes secs

Les valeurs de la capacité de réduction du cuivre des extraits des légumes secs ont été calculés à titre de  $A_{0,5}$  ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ) correspondant à la concentration indiquant 0,50 d'absorbance. La capacité de réduction des extraits a été comparée à celles des standards  $\alpha$ -TOC et du BHT (Tableau 15).

**Tableau 15.** Principaux résultats du test CUPRAC ( $A_{0,5}$   $\mu\text{g} / \text{ml}$ ).

Espèces de légumes secs/standards	Variétés	Valeurs de $A_{0,5}$ ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )				
		Éch. Cru	Éch. cuit	TV (%)	Eau de cuisson	TV (%)
Lentilles	Var. <i>Metropole</i>	21,5±0,002 <sup>a</sup>	23,17±0,008 <sup>c</sup>	7,76	5,47±0,002 <sup>e</sup>	-74,55
	Var. <i>Ibla</i>	7,46±0,005 <sup>b</sup>	25,92±0,008 <sup>d</sup>	71,21	19,24±0,001 <sup>f</sup>	157,90
Petits pois	Var. <i>Oinward</i>	23,17±0,008 <sup>a</sup>	21,5±0,002 <sup>c</sup>	-7,2	5,74±0,002 <sup>e</sup>	-75,22
	Var. <i>Messirl</i>	19,24±0,001 <sup>b</sup>	7,46±0,005 <sup>d</sup>	-61,22	25,92±0,008 <sup>f</sup>	34,71
Haricots blancs	Var. <i>Cannellini</i>	49,07±0,004 <sup>a</sup>	77,83±0,013 <sup>c</sup>	58,61	90,97±0,003 <sup>e</sup>	85,38
	Var. <i>Great Northerne</i>	73,97±0,006 <sup>b</sup>	102,56±0,001 <sup>d</sup>	38,65	51,56±0,003 <sup>f</sup>	-30,29
Pois chiches	Var. <i>Ghab 5</i>	45,02±0,001 <sup>a</sup>	55,39±0,001 <sup>c</sup>	23,03	28,38±0,006 <sup>e</sup>	-36,96
	Var. <i>Flip</i>	96,87±0,004 <sup>b</sup>	97,29±0,003 <sup>d</sup>	0,43	48,52±0,008 <sup>f</sup>	-49,91
Fèves	Var. <i>Aguadulce</i>	48,52±0,004 <sup>a</sup>	12,89±0,008 <sup>c</sup>	-73,43	8,43±0,004 <sup>e</sup>	-81,80
	Var. <i>Shale</i>	36,86±0,005 <sup>b</sup>	5,52±0,001 <sup>d</sup>	-85,02	11,03±0,001 <sup>f</sup>	-70,07
Standard 1	BHT	7,09±0,004				
Standard 2	$\alpha$ - TOC	9,11±0,012				

La même lettre signifie l'absence de différence significative intra espèce. ND : non déterminée.

#### 3.2.1. Extraits des échantillons crus

L'évaluation de l'activité antioxydante des substances naturelles a fait l'objet de plusieurs travaux actuels, mais seules quelques publications traitent les propriétés antioxydantes des composés phénoliques des légumineuses. D'après nos résultats, l'extrait de l'échantillon cru Var. *Ibla* possède le meilleur pouvoir réducteur de  $\text{Cu}^{+2}$  ( $A_{0,5}=7,46 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) par rapport à l'extrait de l'échantillon cru Var. *Métropole* ( $A_{0,5}=21,50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ), il est proche du standard BHT qui présente la plus forte activité réductrice de cuivre ( $A_{0,5}=7,09 \mu\text{g}/\text{ml}$ ). La comparaison entre les deux variétés a révélé une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 15).

La comparaison de nos résultats avec d'autres études étaient plutôt difficiles en raison de différents tests et unités dans lesquelles l'activité antioxydante était exprimée. Selon Amarowicz *et al.* (1996), les extraits des graines de lentille avaient une activité antioxydante importante dans un système modèle  $\beta$ -carotène-linoléate.

Quant aux petits pois, les résultats obtenus indiquent que l'activité antioxydante (réduction du  $\text{Cu}^{+2}$ ) est affectée d'une façon variable selon la variété. L'extrait de l'échantillon cru Var. *Messirl* a enregistré un bon pouvoir réducteur par rapport à celui de de l'échantillon cru Var. *Oinward*. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) (Tableau 15). Sur la base de ces résultats, l'ordre de classement est le suivant :  $\text{BHT} > \alpha\text{-TOC} > \text{Extrait de l'échantillon cru Var. Messirl} > \text{Extrait de l'échantillon cru Var. Oinward}$ .

Amarowicz *et al.* (2004), ont indiqué que les variétés colorées ont montré une activité antioxydante significativement plus élevée que les variétés de couleurs vives. Ceci est en accord avec les données publiées de Dueñas *et al.* (2004), qui ont également déterminé une teneur élevée en acides phénoliques dans les téguments de deux variétés de petits pois colorées.

Pour le haricot, la variété *Cannellini* a révélé une activité antioxydante nettement supérieure ( $A_{0,5}=49,07\mu\text{g/ml}$ ) à celle de la variété *Great Northerne* ( $A_{0,5}=73,97\mu\text{g/ml}$ ). Les deux activités sont très faibles en les comparant avec les standards. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative (Tableau 15). Selon la littérature, les extraits du haricot bleu marine se sont avérés offrir une activité antioxydante supérieure à celle d'un mélange de BHA et de BHT (Onyenho et Hettiarach-chy, 1991). Alors que l'extrait du haricot blanc était moins actif (Amarowicz *et al.*, 1996).

En ce qui concerne le pois chiche, on remarque que l'extrait de l'échantillon cru variété *Ghab 5* a enregistré le pouvoir réducteur le plus élevé ( $A_{0,5}$  équivalente à  $45,02\mu\text{g/ml}$ ) par rapport à celui de la variété *Flip* ( $A_{0,5}$  équivalente à  $96,87\mu\text{g/ml}$ ) mais le moins efficaces que les standards. La comparaison entre les deux variétés révèle une différence significative (Tableau 15).

Le résultat de l'activité antioxydante des deux variétés de fèves en fonction de l' $A_{0,5}$ , indique que l'extrait d'échantillon cru variété *Shale* possède la meilleure activité antioxydante que l'extrait d'échantillon cru variété *Aguadulce*. En effet, plus la valeur de l' $A_{0,5}$  est élevée plus l'activité antioxydante est faible. Les deux standards utilisés sont les plus puissants (Tableau 15).

### 3.2.2. Extraits des échantillons cuits

Un impact négatif de la cuisson sur la capacité réductrice de  $\text{Cu}^{+2}$  a été constaté. L'extrait de l'échantillon cuit Var. *Ibla*. A montré une valeur de l' $A_{0,5}$  de  $25,92\mu\text{g/ml}$ , et le même constat pour l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Métropole*. Le pourcentage d'augmentation

de l' $A_{0,5}$  est de 71,21% et 7,76% pour l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Ibla* et l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Métropole*, respectivement (Figure 43A).

Il est à noter que l'extrait d'échantillon cuit variété *Messirl* est le plus actif avec une  $A_{0,5}$  équivalente à 7,46  $\mu\text{g/ml}$  et que l'extrait de l'échantillon cuit variété *Oinward* est le moins actif avec une  $A_{0,5}$  équivalente à 21,5  $\mu\text{g/ml}$ . Par rapport à l'état cru, le pouvoir réducteur des extraits des échantillons cuits des deux variétés a subi une augmentation de 61,22% et 7,2% pour la variété *Messirl* et la variété *Oinward*, respectivement (Figure 43B). D'après ces résultats, il est à remarquer clairement que la cuisson a provoqué un effet positif sur le pouvoir réducteur de cuivre des deux extraits.

Les résultats obtenus indiquent un impact négatif sur les valeurs des pouvoirs réducteurs du cuivre dans le cas des haricots Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne* dont les pourcentages de variation des  $A_{0,5}$  sont de l'ordre de 58,61% et 38,65% pour l'extrait de l'échantillon cuit Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne*, respectivement (Figure 43C). Dans la même optique, Xu et Chang (2009), ont analysé l'effet du traitement thermique sur les propriétés antioxydantes dans grains d'haricots communs, ils ont constaté que la cuisson à haute pression minimise le temps de cuisson ainsi que les pertes de substances antioxydantes (composés phénoliques).

En se basant sur quelques travaux réalisés et mentionnés dans la bibliographie, nos résultats concordent avec ceux de Yasmin et al. (2008). Ces derniers ont montré une diminution de l'activité antioxydante après un traitement thermique, et qui était corrélée à la teneur en polyphénols totaux. Il a constaté que les haricots rouges présentaient une diminution de la teneur en PT après cuisson, ce résultat concorde avec le nôtre.

A la lecture de la Figure 36 D, il s'avère un impact négatif de la cuisson sur l'activité réductrice du cuivre, qui a été diminuée de 23,03% et 0,43% pour la variété *Ghab5* et *Flip*, respectivement. Le classement des extraits des échantillons cuits et des standards employés est le suivant : BHT >  $\alpha$ -TOC > Extrait d'échantillon cuit Var. *Ghab 5* > Extrait d'échantillon cuit Var. *Flip*.

La cuisson des grains des deux variétés de fèves entraîne une augmentation des valeurs de l'activité antioxydante. Cette augmentation est de 73,43% pour l'extrait des grains cuits de la variété *Aguadulce* et de 85,02% pour l'extrait des grains cuits de la variété *Shale*. Sur la base de ces résultats, les fèves cuites ont le meilleur pouvoir antioxydant (Figure 43E).

### 3.2.3. Extraits des eaux de cuisson

Concernant les extraits des eaux de cuisson des deux variétés de lentilles, l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Métropole* semble être le plus actif en le comparant avec les standards ( $A_{0,5}=5,47\mu\text{g/ml}$ ). Par rapport à l'état cru, une diminution de 74,55% dans le  $A_{0,5}$  a été noté, indiquant une augmentation de l'activité réductrice du cuivre (Figure 43A), Cette activité peut être expliqué par le fait que les extraits récupérés des eaux de cuisson présentent des fragments de taille très réduite ce qui facilite le passage de l'eau et de la température vers le centre des grains et rend la libération des antioxydants plus facile. Ainsi, en se référant aux résultats de la méthode LCMS/MS, on note une néoformation de l'acide chlorogénique, l'acide *tr*-cafféique, la quercétine et l'hespéretine. Selon Fine *et al.* (2000), la présence des flavonoïdes comme la quercétine contribuent à l'augmentation du pouvoir réducteur des extraits de lentilles.

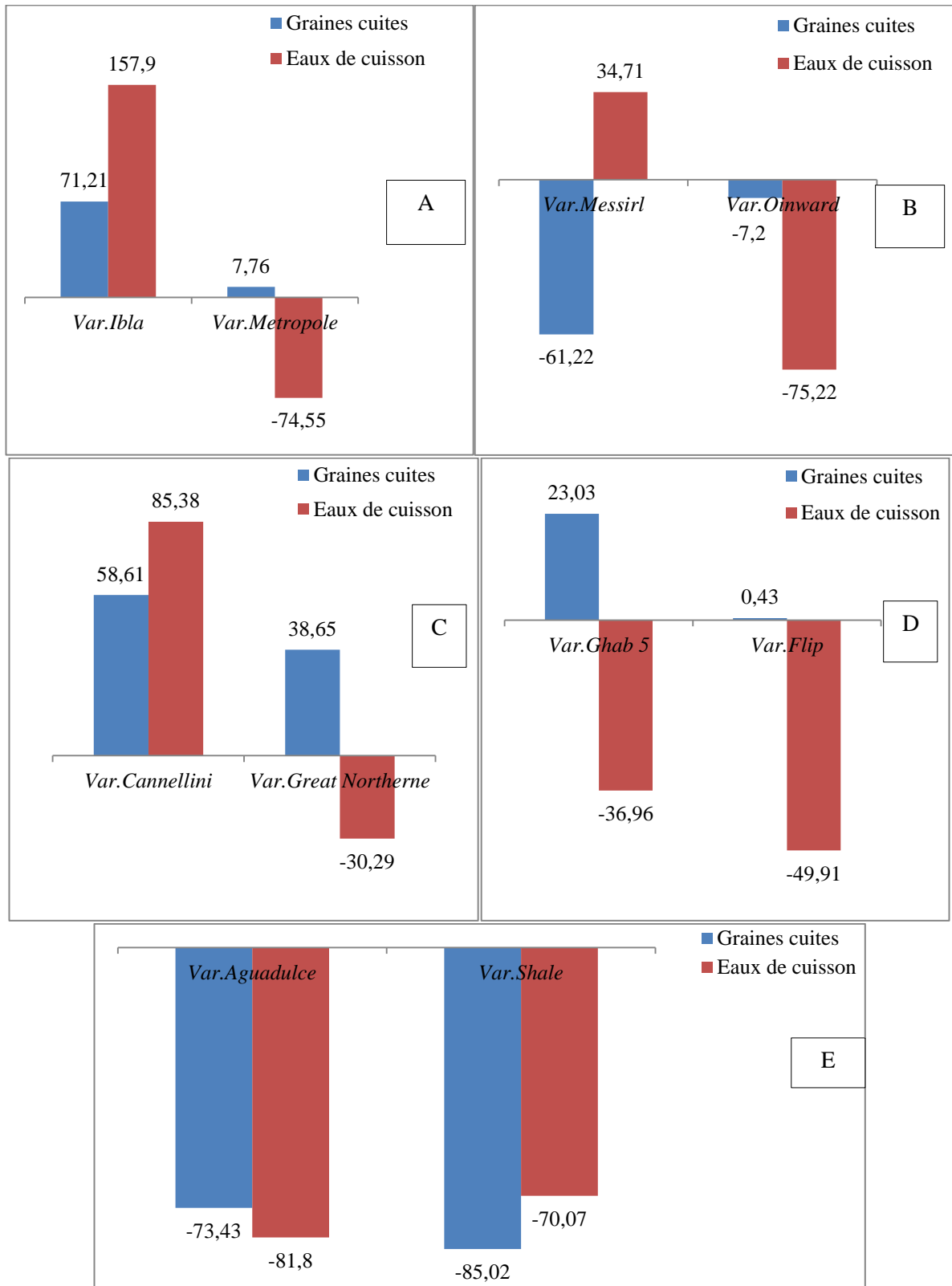
Par contre, en comparant la valeur de l'activité réductrice révélée dans l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Ibla* avec celle de l'échantillon cru, on note une diminution de l'activité antioxydante suite à une augmentation de  $A_{0,5}$  de 157,90% (Figure 43A).

Il est a remarquer aussi que l'extrait de petits pois le plus actif est celui de l'eau de cuisson de la variété *Oinward* ( $A_{0,5}$  équivalente à  $5,74\mu\text{g/ml}$ ). L'ordre de classement, sur la base du pouvoir réducteur décroissant, est le suivant : l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Oinward* > BHT >  $\alpha$  TOC > l'extrait de l'eau de cuisson Var. *Messirl*. D'après cet ordre, nous pouvons conclure que la cuisson des grains de petit pois Var. *Messirl* a un effet négatif sur l'activité réductrice de  $\text{Cu}^{+2}$ , ce constat est fondé sur l'augmentation de la valeur de l' $A_{0,5}$  (34,71% ) enregistrée. Pour la variété *Oinward*, le pourcentage de variation est de -75,22%, ce qui indique une augmentation du pouvoir réducteur (Figure 43B).

L'extrait de l'eau de cuisson des haricots Var. *Great Northerne* a subi une augmentation du pouvoir réducteur de 30,29%. A l'inverse, l'extrait de l'eau de cuisson des haricots Var. *Cannellini* a enregistré une diminution de 85,38% dans son pouvoir réducteur (Figure 43C).

En se référant à l'état cru, l'activité réductrice de la variété *Ghab 5* a été augmentée lors de la cuisson à l'eau de 36.96% et celle de la variété *Flip* de 49.91% (Figure 43D).

La cuisson semble avoir un impact positif sur l'activité antioxydante de l'eau récupérée de la cuisson des fèves. Une augmentation de de 81.80% et 70.07% a été constatée pour l'eau de cuisson de fèves Var. *Aguadulce* et Var. *Shale*, respectivement (Figure 43E).



**Figure 43.** Pourcentage de variation des  $A_{0,5}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), des extraits de légumes secs cuits et des eaux de leur cuisson par rapport aux légumes secs crus.

A : Lentilles B : petits pois C : Haricots D : pois chiches E : Fèves.

Les légumes secs représentent une source précieuse de nombreux antioxydants, parmi lesquels figurent les composés phénoliques. Quelques années avant, ces composés étaient qualifiés de facteurs antinutritionnels et qui pourraient affecter la digestibilité de ces aliments. Pour cela des études ont été menées et elles ont suggéré que ces composés pourraient être efficacement éliminés par la cuisson. Récemment, plusieurs études ont évoqué les propriétés antioxydantes des composés phénoliques et qui sont considérées responsables des effets bénéfiques contre une large panoplie de maladies affectant l'organisme humain. L'étude bibliographique effectuée sur les légumineuses alimentaires à graines a montré qu'il y a très peu d'études qui ont abordé l'impact de la cuisson à l'eau sur les variations de ces composés et par conséquent leur pouvoir antiradicalaire.

Cette étude a été menée dans le but d'évaluer l'effet de traitement thermique, en particulier la cuisson à l'eau sur les variations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques, ainsi que l'activité antiradicalaire et antioxydante de cinq espèces de légumes secs : les haricots secs (Var. *Cannellini* et Var. *Great Northerne*), les pois chiches (Var. *Ghab5* et Var. *Flip*), les petits pois (Var. *Oinward* et Var. *Messirl*), les lentilles (Var. *Métropole* et Var. *Ibla*) et les fèves (Var. *Aguadulce* et Var. *Shale*) largement consommées en Algérie.

Cette étude s'est focalisée d'abord sur la quantification globale de certains composés phénoliques, en l'occurrence les polyphénols totaux, les tanins extractibles, les flavonoïdes totaux et l'un des composés flavonoïdique : les anthocyanines, puis l'analyse du profil phénolique des extraits d'échantillons crus, cuits et des eaux de cuisson de ces légumes secs et à la fin l'évaluation de leur pouvoir antiradicalaire et antioxydant. Un autre objectif visé est d'étudier l'effet "variété" en plus de l'effet "espèce", d'où le choix de deux variétés pour chaque espèce.

Les principaux résultats montrent que les légumes secs analysés contiennent des teneurs en composés phénoliques variables. Des effets significatifs dus à l'espèce, la variété et le traitement thermique ont été enregistrés. Les légumes secs les plus riches en polyphénols sont les haricots suivis par les lentilles et les moins riches sont les pois chiches et les petits pois. Quant à l'effet du traitement thermique, en particulier la cuisson à l'eau, il semble avoir un effet négatif sur la teneur en polyphénols totaux pour les haricots secs (les deux variétés), les petits pois (Var. *Oinward*), les lentilles (les deux variétés) et les pois chiches (Var. *Flip*). De même, un effet positif a été enregistré sur la teneur en polyphénols totaux des pois chiches (Var. *Ghab 05*), des

petits pois (Var. *Messirl*) et des fèves (les deux variétés). Par ailleurs, des quantités importantes de ces composés ont diffusé dans les eaux de cuisson.

De même pour les flavonoïdes, des effets significatifs dûs à l'espèce, la variété et le traitement thermique ont été enregistrés. Les légumes secs les plus riches en flavonoïdes sont les lentilles (Var. *Ibla*) et les haricots (Var. *Great Northerne*) et les moins riches sont les pois chiches (Var. *Ghab 5*) et les fèves (Var. *Shale*). La cuisson semble avoir exercé un effet positif et parfois un effet négatif selon l'espèce et selon la variété. L'eau de la cuisson des lentilles (Var. *Metropole*) semble être la plus riche et celle des haricots (Var. *Cannellini*) est la moins riche.

Concernant les tanins, les légumes secs les plus riches sont les pois chiches (Var. *Flip*) et les moins riches sont les lentilles (Var. *Metropole*). L'effet de la cuisson est variable selon le légume sec en question. Chez les pois chiches, une réduction considérable de la teneur en ces composés allant de 83,18% à 88,73% par rapport aux échantillons crus a été notée. À l'inverse, chez les lentilles (Var. *Metropole*), une augmentation frappante de la teneur en tanins de l'ordre de 23900% a été enregistrée. De même, les eaux récupérées de la cuisson des lentilles et des fèves sont avérées plus riches en tanins que celles des haricots secs et des pois chiches.

De même, pour la teneur en anthocyanines, elle varie de manière importante selon les espèces et les variétés de légumes secs étudiées. Il s'avère que les lentilles (Var. *Ibla*) soient plus riches que les autres. La cuisson à l'eau semble avoir un effet positif sur les fèves, les petits pois et les pois chiches. Une accumulation non négligeable des anthocyanines dans l'eau de cuisson des légumes secs a été révélée. Cette accumulation est due probablement à la métabolisation de certains composés en anthocyanines et leur diffusion dans l'eau de cuisson.

Les principaux résultats obtenus du test de DPPH montrent que l'extrait des lentilles (Var. *Ibla* crue), l'extrait de l'eau de cuisson des lentilles (Var. *Ibla*), l'extrait de l'eau de cuisson des pois chiches (Var. *Flip*) et l'extrait de l'eau de cuisson des petits pois (Var. *Oinward*) ont renfermé de puissants composés actifs capables de réduire ce radical libre, puisqu'ils ont agi à des faibles concentrations. Par contre, l'extrait des petits pois (Var. *Oinward*) s'est avéré le moins efficace. Les principaux résultats obtenus du test de l'ABTS<sup>+</sup> indiquent que l'extrait des fèves cuites et de leur eau de cuisson sont les plus puissants. Par contre l'extrait des petits pois cuits (Var. *Oinward*) s'est avéré le moins efficace.

Un impact positif de la cuisson à la vapeur a été remarqué sur l'activité antioxydante, évaluée par le test CUPRAC, des fèves (les deux variétés) et des petits pois variété *Messirl*. Cet impact pourrait être dû à une extraction améliorée des polyphénols polaires comme les gallo-ellagitanins, et les polyphénols moins polaires comme les acides phénoliques ou les flavonoïdes glycosilés, qui sont moins solubles dans l'eau froide mais très solubles dans l'eau chaude. Pour cette raison, il vaudrait mieux juger l'activité antioxydante des légumineuses en tant que consortium judicieux de différents groupes de composés bioactifs présents dans les extraits aqueux. L'amélioration du potentiel antioxydant des légumineuses, constatée après cuisson dans l'eau, contribue leur rôle en tant qu'aliments fonctionnels, même après traitement thermique.

Plusieurs composés phénoliques d'intérêt ont été néoformés et accumulés soit dans les légumes secs cuits soit dans les eaux de cuisson. A titre d'exemple, l'acide chlorogénique, la quercétine et la vanilline pour les lentilles, la luteoline, l'apigénine et le kaempferol pour les haricots secs ; l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide tanique, l'acide *tr*-caféique, la vanilline, l'acide 4-OH benzoïque, l'acide salicylique, la luteoline, l'apigénine et le kaempferol pour les petits pois ; l'acide chlorogénique, l'acide gallique, l'acide *tr*-caféique, la vanilline, l'acide *p*-cumarique, l'acide 4-OH-benzoïque, l'acide salicylique, la luteoline et le kaempferol pour les pois chiches ; la myricétine, la fisetine, la coumarine, la naringénine, l'hespéretine, la luteoline, l'apigénine et le kaempferol pour les fèves.

En perspective, il serait intéressant d'isoler et de procéder à l'encapsulation des composés phénoliques néoformés d'intérêt. Aussi, il serait souhaitable, pour une meilleure compréhension du mode d'action des composés polyphénoliques d'étudier la bioaccessibilité et d'évaluer l'activité antioxydante et d'autres activités de chacun de ces composés pris séparément *in vitro* et *in vivo*, et de mettre en évidence une éventuelle synergie entre les différents composés phénoliques.



## A

- Abu-Reidah I.M., Contreras M.D.M., Arráez-Román D., Fernández-Gutiérrez A., Segura-Carretero A., 2014. UHPLC–ESI–QTOF–MS based metabolic profiling of *Vicia faba* L. (Fabaceae) seeds as a key strategy for characterization in foodomics. *Electrophoresis*. 35 (11): 1571-1581. doi: [10.1002/elps.201300646](https://doi.org/10.1002/elps.201300646).
- Abusin S.A., Hassan A.B. et Babiker E.E., 2009. Nutritional evaluation of cooked faba bean (*Vicia faba* L.) and white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3): 2484-2490.
- Aguilera Y., Dueñas M., Estrella I., Hernández T., Benitez V., Esteban R.M. et Martín-Cabrejas M.A., 2010. Evaluation of phenolic profile and antioxidant properties of Pardina lentil as affected by industrial dehydration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18): 10101–10108. doi.org/10.1021/jf102222t.
- Aguilera Y., Estrella I., Benitez V., Esteban R.M. et Martín-Cabrejas M.A., 2011. Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. *Food Research International*, 44, 774–780. doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.004.
- Ahmadu A.A., Zezi A.U. et Yaro A.H., 2007. Anti-diarrheal activity of the leaf extracts of *Daniellia oliveri* hutch and dalz (Fabaceae) and *Ficus sycomorus* miq (Moraceae). *African Journal of Traditional, Complimentary and Alternative Medicines*. 4: 524-528.
- Akillioglu H.G. et 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):6-61.
- Alkurd A., Hamed T.R. et Al-Sayyed H., 2008. Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4: 265-274.
- Alsavar C., Al-Farsi M., Quantick P.C., Shahidi F. et Wiktorowicz R., 2005. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready- to- eat shredded orange and purple carrots. *Food Chemistry*. 89: 69-76. doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.013.
- Alshikh N., Adriano C.C. et Fereidoon S., 2015. Phenolics of selected lentil cultivars: Antioxidant activities and inhibition of low-density lipoprotein and DNA damage. *Journal of Functional Foods*, 18 (B):1022-1038. doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.018.
- Amaki K., Saito E., Taniguchi K., Joshita K. et Murata M., 2011. Role of chlorogenic acid quinine and interaction of chlorogenic acid quinine and catechins in the enzymatic browning of apple. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75: 829 832. doi.org/10.1271/bbb.100444.

Amarowicz R., Wanasundara U.N., Karamać M. et Shahidi F., 1996. Antioxidant activity of ethanolic extract of mustard seed. *Molecular Nutrition, Food Research*, 40(5):261-263. [doi.org/10.1002/food.19960400506](https://doi.org/10.1002/food.19960400506).

Amarowicz R., Troszynska A., Barylko-Pikielna N. et Shahidi F., 2004. Extracts of polyphenolics from legume seeds. Correlation between their total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and astringency. *Journal of Food Lipids*, 11: 278-286. [doi.org/10.1111/j.1745-4522.2004.01143.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2004.01143.x).

Amarowicz R., Estrella I., Hernández T., Robredo S., Troszynska A., Kosinska A. et Pegg R.B., 2010. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*. 121(3):705-711. [doi: 10.1016/j.foodchem.2010.01.009](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.009).

Amiot M.J., Riva C. et Vinet A., 2016. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans a systematic review. *Obesity Reviews*. 17(7):573-86 [doi.org/10.1111/obr.12409](https://doi.org/10.1111/obr.12409).

Annegowda H., Bhat R., Tze L.M., Karim A.A. et Mansor S.M., 2011. The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchildiana* (Howard) an underutilized legume. *J Food Sci Technol*. 50: 535-41. [doi: 10.1007/s13197-011-0370-8](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0370-8).

Apak R., Guclu K., Ozyurek M. et Karademir S.E., 2004. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem* 29; 52(26):7970-81. [doi: 10.1021/jf048741x](https://doi.org/10.1021/jf048741x).

Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui A et Khebri S., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L. *Lebanese Science Journal*. 11: 69-81.

Awika J.M., Rose D.J. et Simsek S., 2018. Complementary effects of cereal and pulse polyphenols and dietary fiber on chronic inflammation and gut health. *Food and Function*. 9 : 1389-1409. [doi.org/10.1039/C7FO02011B](https://doi.org/10.1039/C7FO02011B).

Aykroyd W.R., Doughty J., 1982. Les grains de légumineuses dans l'alimentation humaine. *Ed ISBN*. P3.

## **B**

Barampama Z. et Simard R.E., 1993. Nutrient Composition, Protein Quality and Antinutritional Factors of Some Varieties of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris*) Grown in Burundi. *Food Chemistry*, 47, 159-167. [doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90238-B](https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90238-B).

- Barkat M. et Kadri F., 2011. Impact de deux modes de cuisson sur la teneur en polyphénols solubles de six légumes. *Revue de génie industriel*, 6: 41-4541.
- Baucher M., Jørgen H.C., Hugo M., Cuiying C.J.V., Doorselaere J.C., Gilles Pilate M.P., Conil L.J., Brigitte C.B., MarcVan M. et Wout B., 1998. Applications of molecular genetics for biosynthesis of novel lignins. *Polymer Degradation and Stability*. 59 (1-3): 47-52. [doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00201-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00201-2).
- Beckman C.C., 2000. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 57 (3): 101-110. [doi.org/10.1006/pmpp.2000.0287](https://doi.org/10.1006/pmpp.2000.0287).
- Bellani L., Muccifora S. et Giorgetti L., 2019. Impact of sprouting and cooking on antioxidant compounds and activity in different Italian varieties of *Lens culinaris* L. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14:333–342. [doi.org/10.1007/s11694-019-00295-1](https://doi.org/10.1007/s11694-019-00295-1)
- Bénard C., 2009. Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. *Thèse de Doctorat* : Université de Nancy. 265P
- Benbrook M., 2005. Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. *Ed.Theorganic center* : 6-8.
- Bengoechea M.L., Sancho A.I., Bartolomé B., Estrella I., Cordovés C.G. et Hernández M.T., 1997. Phenolic Composition of Industrially Manufactured Purées and Concentrates from Peach and Apple Fruits. *J. Agric. Food Chem*, 45 (10): 4071–4075. [doi.org/10.1021/jf9703011](https://doi.org/10.1021/jf9703011).
- Benhammou N., Atik Bekkara F., Kadifkova Panovska T., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *Afr. J. Pharm Pharmacol*, 2 (2): 022-028.
- Bernillon S., Guyot S. et Renard C.M.G.C., 2004. Detection of phenolic oxidation products in cider apple juice by high-performance liquid chromatography electrospray ionisation ion trap mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom* 18: 939 943. [doi.org/10.1002/rcm.1430](https://doi.org/10.1002/rcm.1430)
- Bonnet X., 2016. Les légumes secs, quels développements possibles à l'échelle des territoires? Journée d'échanges organisée par le Réseau action climat et Solagro au Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer, le 3 mai 2016 Synthèse Des débats. *Réseau Action Climat – Solagro*.
- Borah J.C., 2015. Shikimic acid: A highly prospective molecule in pharmaceutical Industry. *Current Science* 109(9). [doi: 10.18520/v109/i9/1672-1679](https://doi.org/10.18520/v109/i9/1672-1679).

- Boubekri C., 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum Melongena* par des techniques électrochimiques. *Thèse Doctorat, université de Biskra*, 210P.
- Boudjou S., Oomah B.D., Zaidi F. et Hosseinian F., 2013. Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chemistry* 138(2-3): 1543-1550. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.108.
- Boudon C., 2001. Traite(c) de nutrition artificielle de l'adulte. *Edition Springer*, 238P.
- Bouguerne B., 2012. Conception et synthèse des dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). *Thèse de Doctorat : Université de TOULOUSE*.197P.
- Boukhanouf S., Louaileche H. et Perrin D., 2016. Phytochemical content and *in vitro* antioxidant activity of faba bean (*Vicia faba* L.) as affected by maturity stage and cooking practice. *International Food Research Journal*. 23(3): 954-961.
- Boumerfeg S., Baghiani A., Djarmouni M., Ameni D., Adjadj M., Belkhir F., Charef N., Khennouf S. et Arrar L., 2012. Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium* L. extracts. *Chinese Medicine*, 3 (1):30-41. doi.10.4236/cm.2012.31006.
- Bourgou S., Serairibeji R., Medini F. et Ksouri R., 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbiahelioscopia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 28(12): 1649-1655.
- Brillouet J.M., Romieu C., Schoefs B., Solymosi K., Cheynier V., Fulcrand H., Verdeil J.L. et Conéjéro G., 2013. The tannosome is an organelle forming condensed tannins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta. *Ann, Bot.* 112(6):1003-14. doi: 10.1093/aob/mct168.
- Britton G., 1983. Carotenoids, flavonoids in The biochemistry of natural pigments. Ed. *Cambridge University Press*. Pp: 23-126.
- Brunet J., 2008. Adaptation aux métaux lourds d'une Fabacée (légumineuse) : Réponses phénologique et moléculaire au plomb du *Lathyrus sativus* L. *Thèse de doctorat*, Université Paris Est. 231P
- Bruneton J., 1993. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition, *Lavoisier Techniques et Documentation*, Paris. 915P.
- Bylka W., Stobiecki M. et Frahski R., 2001. Sulphated flavonoid glycosides from leaves of *Atriplex hortensis*. *Acta Physiol. Plant*, 23 (3): 285-290.

## C

- Calixto S.F., Serrano J. et Goni I., 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*, 101 (2): 492–501. doi: [10.1016/j.foodchem.2006.02.006](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.006).
- Campos-Vega R., Loarca P. et Oomah B.D., 2010. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Res Int*, 43(2):461–482. doi:[10.1016/j.foodres.2009.09.004](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.004).
- Cazaux M., 2009. Etude de la résistance de la légumineuse modèle *Medicago truncatula* à *Colletotrichum trifolii*, agent de l'antracnose. *Thèse de doctorat*. Université de Toulouse: 178P.
- Chaieb N., González J.L., López-Mesas M., Bouzlama M. et Valiente M., 2011. Polyphenols content and antioxidant capacity of thirteen faba bean (*Vicia faba L.*) genotypes cultivated in Tunisia. *Food Research International*. 44 : 970-977. doi: [10.1016/j.foodres.2011.02.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.026).
- Chakraborty A. et Bhattacharyya S., 2014. Thermal processing effects on in vitro Antioxidant activities of five common Indian Pulses. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 4 (05) :065-070. doi: [10.7324/JAPS.2014.40512](https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40512).
- Charles M. et Benbrook P.D., 2005. Accroître la teneur en antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Rapport sur l'état des connaissances scientifiques. *The Organic Center*: 10.
- Chavan U.D., Shahidi F. et Naczk M., 2001. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *J. Food Chem*. 75: 509-512. doi: [10.1016/S0308-8146\(01\)00234-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00234-5).
- Chen P.X., Dupuis J.H., Marcone M.F., Pauls P.K., Liu R., Liu Q. et Tsao R., 2015. Physicochemical properties and *in vitro* digestibility of cooked regular and nondarkening cranberry beans (*Phaseolus vulgaris L.*) and their effects on bioaccessibility, phenolic composition, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10448–10458. doi: [10.1021/acs.jafc.5b04005](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04005).
- Cherif E., 2019. Légumes secs, les aliments de demain. *Agroline, l'essentielle de l'agroalimentaire et l'agriculture*, N° 111.
- Chira K., Suh J.H., Saucier C. et Teissédre P.I., 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6 : 75-82. doi.org/[10.1007/s10298-008-0293-3](https://doi.org/10.1007/s10298-008-0293-3).
- Chirinos R., Betalleluz-Pallardel I., Huamán A., Arbizu C., Pedreschi R., et Campos D., 2009. HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa*

*Mol.*) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chemistry*. 113 (4): 1243-1251. [doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.015](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.015).

Chutipanyaporn P., Kruawan K., Chupeerach C., Santivarangkna C. et Uthaiwan S., 2014. The effect of cooking process on antioxidant activities and total phenolic compounds of five colored beans. *Food and Applied Bioscience Journal*, 2 (3): 183-191.

Clifford N.N., 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *J.Sci.Food Agric*, 79:362-372.

Cochrane F.C., Davin L.B. et Lewis N.G., 2004. The Arabidopsis phenylalanine ammonia lyase gene family: kinetic characterization of the four PAL isoforms. *Phytochemistry*. 65 : 1557–1564. [doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.05.006](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.05.006).

Collin S. et Crouzet J., 2011. Polyphénols et procédés. *Edition Lavoisier TEC & DOC*. Pp : 5,13, 16, 235.

Cos P., Ying L., Calomme M., Hu J.P., Cimanga K., Van Poel B., Pieters L., Vlietinck A. J., et Berghe D.V., 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*. 61(1): 71-76.

Cristobal S.L., Osorio-Díaz P., Tovar J. et Bello-Pérez L.A., 2010. Chemical composition, carbohydrate digestibility, and antioxidant capacity of cooked black bean, chickpea, and lentil Mexican varieties. *Journal of Food*. 8(1): 7-14. [doi.org/10.1080/19476330903119218](https://doi.org/10.1080/19476330903119218).

Cronk Q., Ojeda I. et Pennington R.T., 2006. Legume comparative genomics: progress in phylogenetics and phylogenomics. *Cur Opin Plant Biol*, 9: 99-103. [doi.org/10.1016/j.pbi.2006.01.011](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.01.011).

Cullis C. et Kunert K.J., 2016. Unlocking the potential of orphan legumes. *Journal of Experimental Botany*, 68(8): 1895–1903. Special Issue S1. [doi: 10.1093/jxb/erw437](https://doi.org/10.1093/jxb/erw437).

Cuvelier M.E., 1992. Mesure de l'efficacité des anti oxygènes d'origine végétale. Recherche des composés actifs de la sauge. Thèse de doctorat en sciences alimentaires, Université de Lille. 107P.

## D

Daffalla H.A.A., 2005. Studies on the constituents of *Ficus capensis* (Thunb). *Pakistan journal of social science*, 3: 751 - 754.

Dai J. et Mumper R.J., 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10):7313-52. [doi.org/10.3390/molecules15107313](https://doi.org/10.3390/molecules15107313).

- Dangles O. et Dufour C., 2006. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications, *Eds O. Andersen and K. Markham, CRC Press, Boca Raton*. Chapter 9 : 443-469.
- De La Rosa L.A., Alvarez-parilla E. et Gonzalez-Aguilar G.A., 2010. Fruit and vegetable phytochemicals. *Chemistrys Nutrition value and stability*. Chapter II: 53-88. [doi:10.1002/9780813809397](https://doi.org/10.1002/9780813809397).
- De Lucia M. et Assennato., 1992. L'après récolte des grains. *FAO*. Rome: 72.
- Del Rio D., Stalmach A., Calani L. et Crozier A., 2010. Bioavailability of coffee chlorogenic acids and green tea flavan-3-ols. *Nutrients*, 2 : 820-833.
- De-Oliveira V.M., Forni-Martins E.R., Magalhães P.M. et Marcos N.A., 2004. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* Bertoni [*Eupatorieae, Asteraceae*]. *Genetics and Molecular Biology* 27: 215-222. [doi.org/10.1590/S1415-47572004000200015](https://doi.org/10.1590/S1415-47572004000200015).
- Depezay L., 2007. Les légumes dans l'alimentation : leurs effets nutritionnels. *Fondation Louis Bonduelle*. Pp: 1-7.
- Dequiedt B., 2012, Réduire les émissions de l'agriculture : l'option des légumineuses. *Les cahiers de la Chaire Economie du Climat*, 19 : 31.
- Deshpande S.S., Sathe S.K., Salunkhe D.K. et Cornforth D.P., 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science*, 47(6): 1846–1850. [doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12896.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12896.x).
- Dewanto V., Wu X. et Liu RH., 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17):4959-4964. [doi: 10.1021/jf0255937](https://doi.org/10.1021/jf0255937).
- Diaz-Batalla L., Widholm JM., Fahey GC., Castaño-Tostado E. et Paredes-López O., 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem.* 54(6):2045–2052. [doi.org/10.1021/jf051706l](https://doi.org/10.1021/jf051706l).
- Dinelli G., Bonetti A., Minelli M., Marotti I., Catizone P. et Mazzanti A., 2006. Content of flavonols in italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry* (99): 105-114. [doi: 10.1016/j.foodchem.2005.07.028](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.028).
- Diouf P.N., Stevanovic T. et Cloutier A., 2009. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin rich fractions. *Food Chemistry*. 113: 897-902. [doi:10.1016/j.foodchem.2008.08.016](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.016).

- Dixon R.A. et Paiva N.L., 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism, *Plant cell*, (7): 1085-1097. [doi: 10.1105/tpc.7.7.1085](https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085).
- Dixon R.A. et Sumner L.W., 2003. Legume natural products: understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiology*, 131(3): 878-885. [doi.org/10.1104/pp.102.017319](https://doi.org/10.1104/pp.102.017319).
- Doumandji A., Doumandji S. et Doumandji M.B., 2003. Le stockage et la lutte contre les ennemis des céréales. *Séminaire- la minoterie et les industries céréalières* : 4-14.
- Dragovic-Uzelac V., Levaj B., Bursać S., Radojčić I. et BIŠKO A., 2007. Total Phenolics and Antioxidant Capacity Assays of Selected Fruits. *Agric. conspec. sci.* 72 (4) : 279-284.
- Dueñas M., Sun B. A., Hernández T., Estrella I. et Spranger I., 2003. Proanthocyanidins composition in the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(27): 7999-8004. [doi: 10.1021/jf0303215](https://doi.org/10.1021/jf0303215).
- Dueñas M., Hernández T. et Estrella I., 2004. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *European Food Research and Technology*. 219 : 116-123. [doi: 10.1007/s00217-004-0938-x](https://doi.org/10.1007/s00217-004-0938-x)
- Dueñas M., Hernández T. et Estrella I., 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry*. 98 (1): 95-103. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.052](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.052).
- Dueñas M., Martínez-Villaluenga C, Limón R.I., Peñas E. et Frias J., 2015. Effect of germination and elicitation on phenolic composition and bioactivity of kidney beans. *Food Research International*. 70: 55–63. [doi.org/10.1016/j.fooders.2015.01.018](https://doi.org/10.1016/j.fooders.2015.01.018).
- Dzomba P., Togarepi E. et Mupa M., 2013. Anthocyanin content and antioxidant activities of common bean species (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Mashona land Central, Zimbabwe. *African Journal of Agricultural Research*. 8(25):3330-3333. [doi: 10.5897/AJAR12.225](https://doi.org/10.5897/AJAR12.225).

## **E**

- Ehltling J., Buttner D., Wang Q., Douglas C.J., Somssich I.E. et Kombrink E., 1999. Three 4-coumarate: coenzyme A ligases in *Arabidopsis thaliana* represent two evolutionarily divergent classes in angiosperms. *Plant J.* 19: 9-20. [doi: 10.1046/j.1365-313x.1999.00491.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1999.00491.x).
- El-Merghawi R. et Taie H.A., 2014. Phenolic composition and antioxidant activity of raw seeds; green seeds and sprouts of ten faba bean (*Vicia faba*) cultivars consumed in Egypt. *Int J Pharma Bio Sci.* 5(2): (B) 609-617.



Erdman J., Balentine J.D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –Keen C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J. 2007. Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*, 137 (3 supp 1): 718s-737s.

Ertas A., Boga M., Yilmaz M.A., Yesil Y., Hasimi N., Kaya M.S., Temel H. et Kolak U., 2014. Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Sedum sediforme* . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (20):4601-4609. doi: [10.1021/jf500067q](https://doi.org/10.1021/jf500067q).

Escribano-Baillon M.T. et Santos-buelga C., 2003. Polyphenols extraction from foods. In method in polyphenols analysis. *Ed. Royal Society of Chemistry*. Pp: 1-16.

Espinosa-Alonso L.G., Lygin A., Widholm J.M., Valverde M.E. et Paredes-Lopez O., 2006. Polyphenols in wild and weedy mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 54 (12): 4436-4444. doi: [10.1021/jf060185e](https://doi.org/10.1021/jf060185e).

Ewald C., Fjelkner-Modig S., Johansson K., Sjöholm I. et Akesson B., 1999. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. *Food Chemistry* 64 (2): 231-235. doi: [10.1016/s0308-8146\(98\)00136-8](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00136-8).

### **F**

Faller A.L.K. et Fialho E., 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*. 42 (1): 210-215. doi.org/10.1016/j.foodres.2008.10.009.

FAO., 1994. Etude FAO, Forêts. *Forest service*, Rome. Pp: 12-16.

FAO., 2016. Année internationale des légumineuses. Légumineuses, des graines nutritives pour un avenir durable. Pp : 13-22,36-37, 51-52.

FAO et OMS., 2007. Céréales, légumes secs, légumineuses et matières protéiques végétale. *Codex alimentarius* : Programme mixte FAO/ OMS sur les normes codex pour certains légumes secs. Rome. Pp : 13-14.

FAOSTAT, 2016. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/F>. Consulté le 30/01/2016.

Fernández de Simón, B., Pérez-Ilzarbe, J., Hernández, T., Gómez- Cordovés, C. et Estrella I., 1992. Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices. *J. Agric. Food Sci*, 40: 1531-1535. doi.org/10.1021/jf00021a012.

Fine A.M. et Candidate N.D., 2000. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: history, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. *Alternative Medicine Review*. 5 (2) : 144-151.

Finley J.W., 2005. Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and seleno compounds. *Annals of Botany*. 95 (7):1075-1096. [doi: 10.1093/aob/mci123](https://doi.org/10.1093/aob/mci123).

Fleuriet A. et Macheix J.J., 2003. Phenolics acids in fruits and vegetables. *Marcel Dekker*. Pp: 1-41.

Fleuriet A., Jay-Allemand C. et Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Lausanne, Presses polytechniques et universitaires romandes*. 5ème édition de la Pharmacopée européenne. 1:121-216.

Floegel A., Kim D., Chung S., Koo S. et Chun O., 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 1043-1048. [doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008).

Fraga C.G., 2007. Plant polyphenols: How to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life*. 59(4-5): 308-315. [doi: 10.1080/15216540701230529](https://doi.org/10.1080/15216540701230529).

Frag, C.G., 2009. Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. Edition *John Wiley & Sons*, Pp: 5-13.

Fraga C.J. et Oteiza P.I., 2011. Dietary flavonoids: Role of (-) - epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 51: 813-823. [doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.002](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.002).

## G

Gan R.Y., Deng Z.Q., Yan A.X., Shah N. P., Lui W.Y., Chan C.L. et Corke H., 2016. Pigmented edible bean coats as natural sources of polyphenols with antioxidant and antibacterial effects. *LWT-Food Science and Technology*, 73:168–177. [doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.012](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.012).

Ganesan K. et Xu B., 2017. Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Their Health Benefits. *Int. J. Mol. Sci.* 18:2331, [doi:10.3390/ijms18112331](https://doi.org/10.3390/ijms18112331).

García-Lafuente A., Moro C., Manchón N., Gonzalo-Ruiz A., Villares A., Guillamón E. et Mateo-Vivaracho L., 2014. *In vitro* anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. *Food Chemistry*, 161, 216-223. [doi: 10.1016/j.foodchem.2014.04.004](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.004).

Garretson L., Tyl C. et Marti A., 2018. Effect of processing on antioxidant activity, total phenols, and total flavonoids of pigmented heirloom beans. *Journal of food quality*. 6P. [doi.org/10.1155/2018/7836745](https://doi.org/10.1155/2018/7836745).

Gazengel J.M. et Orecchioni A.M., 2013. Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique. 2ème édition, *Lavoisier TEC & DOC, Paris*. 1174P.

Gepts P., Beavis W.D., Brummer E.C., Shoemaker R.C., Stalker H.T., Weeden N.F. et Young N.D., 2005. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiology* 137: 1228-1235. [doi.org/10.1104/pp.105.060871](https://doi.org/10.1104/pp.105.060871).

Gilani G.S. et Anderson J. J. B., 2002. Phytoestrogens and health. Edition *Aocs Press*. 405P.

Giller k. et Cadisch G., 1995. Future benefits from biological nitrogen fixation: An ecological approach to agriculture. *Plant and Soil*. 174(1):255-277. [doi: 10.1007/BF00032251](https://doi.org/10.1007/BF00032251).

Granito M., Torres A., Frias J., Guerra M. et Vidal-Valverde C., 2005. Influence of fermentation on the nutritional value of two varieties of *Vigna sinesis*. *European Food Research and Technology*, 220 : 182–186.

Granito M., Brito Y. et Torres A., 2007. Chemical composition, antioxidant capacity and functionality of raw and processed *Phaseolus lunatus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(15):2801-2809. [doi.org/10.1002/jsfa.2926](https://doi.org/10.1002/jsfa.2926).

Granito M., Paolini M. et Perez S., 2008. Polyphenols and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed. *LWT-Food Science and Technology*, 41(6): 994-999. [doi: 10.1016/j.lwt.2007.07.014](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.014).

Guignard J.L., 1996. Abrégé de biochimie végétale, Edition. *Masson*. 160 P.

Guyot S., Marnet N., Sanoner P. et Drilleau J.F., 2003. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *J. Agric. Food Chem*, 51: 6240-6247. [doi: 10.1021/jf0301798](https://doi.org/10.1021/jf0301798).

Guyot S., Serrand S., Le Quéré J.M., Sanoner P. et Renard C.M.G.C., 2007. Enzymatic synthesis and physicochemical characterization of phloridzin oxidation products (POP), a new water-soluble yellow dye deriving from apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 443-450. [doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.021](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.03.021).

## H

Hadjal N. et Rabhi Z., 2012. Comparaison de l'activité Antioxydante de quelques légumes secs, Mémoire de Master en Biochimie, Université de Béjaia. 55 P.

Hagerman A.E., Riedl K.M., Jones G.A., Sovik K.N., Ritchard N.T. et Hartzfeld P.W., 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J Agric Food Chem*, 46 (5):1887-1892. [doi: 10.1021/jf970975b](https://doi.org/10.1021/jf970975b).

Hahlbrock K., Scheel D., Logemann E., Nurnberger T., Parniske M., Reinold S., Sacks W-R. et Schmelzer E., 1995. Oligopeptide elicitor-mediated defense gene activation in cultured parsley cells. *Proc Natl Acad Sci*, 92: 4150-4157. [doi: 10.1073/pnas.92.10.4150](https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4150).

Han H., et Baik B.K., 2008. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 43(11): 1971-1978. [doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01800.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01800.x).

Hayma J., 2004. Le stockage des produits agricoles tropicaux, *Fondation Agromisa, Wageningen*: 80P.

Hegedúsová A., 2015. Total polyphenol content and antioxidant capacity changes in dependence on chosen garden pea varieties, *Potravinárstvo*, 9 (1): 1-8. [doi:10.5219/559](https://doi.org/10.5219/559).

Heim K.E., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 13 (10): 572-584. [doi: 10.1016/s0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00208-5).

Hernandez-Salazar A., Perla Osorio-Diaz B., Guadalupe L.P., Rosalia Reynoso C., Juscelino Tovar A. et Luis ABP., 2010. *In vitro* fermentability and antioxidant capacity of the indigestible fraction of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris* L.), lentils (*Lens culinaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.) *Marcelo J Sci Food Agric*, 90: 1417-1422. [doi. 10.1002/jsfa.3954](https://doi.org/10.1002/jsfa.3954).

Hernández-Saavedra D., Mendoza-Sánchez M., Hernández-Montiel H.L., Guzmán Maldonado H.S., Loarca-Piña G.F., Salgado L.M. et Reynoso-Camacho R., 2013. Cooked common beans (*Phaseolus vulgaris*) protect against cell damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Plant Foods Hum. Nutr.* 68 (2): 207-212. [doi: 10.1007/s11130-013-0353-1](https://doi.org/10.1007/s11130-013-0353-1).

Ho Y.C., Yam K.L., Young S.S. et Zambetti P.F., 1994. Comparison of vitamin E, Irganox 1010 and BHT as antioxidants on release of off-flavor from HDPE bottles. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 10 (3): 194-212. [doi.org/10.1177/875608799401000303](https://doi.org/10.1177/875608799401000303).

Hooper L., Kroon P.A., Rimm E.B., Cohn J.S., Harvey I., Le Cornu K.A., Ryder J.J., Hall W.L. et Cassidy A., 2008. Flavonoids, flavonoid rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 88:38-50. [doi: 10.1093/ajcn/88.1.38](https://doi.org/10.1093/ajcn/88.1.38).

Horbowicz M., Kosson R., Dębski H. et Grzesiuk A., 2008. Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*, 68(1):5-22. [doi: 10.2478/v10032-008-0001-8](https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8).

Huignard I.A., Glitho J.P., Monge C. et Regnault R., 2014. Insectes ravageurs des grains de légumineuses biologiques des *bruchinae* et lutte raisonnée en Afrique. *Quae*, 146P.

**I**

Ignat I., Volf I. et Popa V.I., 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compound in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126:1822-1828. [doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.026](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026).

Ismail A., Marjan Z.M. et Foong C.W., 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*, 87:581-586. [doi:10.1016/J.FOODCHEM.2004.01.010](https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.01.010).

**J**

Jard N., 1995. Les maladies des grains- Tome I. *Université. Omar Mokhtar*, LYBIE. Pp: 517-522.

Jarrige R., Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M.H. et Journet M., 1995. Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion. Edition *INRA*, 57P.

Jezierny D., Mosenthin R. et 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. [doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.03.001](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.001).

Jiratanan T. et Liut R.H., 2004. Antioxidant Activity of Processed Table Beets (*Beta vulgaris* var, *conditiva*) and Green Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (9): 2659-2670. [doi.org/10.1021/jf034861d](https://doi.org/10.1021/jf034861d).

Johnson J.B., Collins T., Skylas D., Quail K., Blanchard Ch. et Naiker M., 2020. Profiling the varietal antioxidative contents and macrochemical composition in Australian faba beans (*Vicia faba* L.). *Legume Science*. 2(2). [doi.org/10.1002/leg3.28](https://doi.org/10.1002/leg3.28).

Jokić S. Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Planinić M. et Tomas S., 2010. Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. *J. Food Sci.* 28: 206-212. [doi: 10.17221/200/2009-CJFS](https://doi.org/10.17221/200/2009-CJFS).

Jost J.P. et Jost Tse Y.C., 2016. L'automédication chez les animaux dans la nature. *Editions connaissances et savoirs*, Pp : 23.

Journi M., Hammouda H., Trabelsi A.M. et Chérif J.K., 2015. Quantitative determination and identification of phenolic compounds of three Tunisian legumes: *Vicia faba*, *Lens culinaris* and *Phaseolus vulgaris*, *Advances in Chemistry and Biochemistry Sciences* 02(03):01-12.

**K**

Kader Z.M.A., 1995. Study of some factors affecting water absorption by faba beans during soaking. *Food Chemistry*, 53(3), 235-238. [doi: 10.1016/0308-8146\(95\)93926-i](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)93926-i).

Katalinic V., Mozina S., Skroza D., Generalic I., Abramovic H., Milos M., Ljubenkovic I., Piskernik S., Pezo I., Terpinc P. et Boban M., 2010. Polyphenolic profile, antioxidant properties

and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *J. Food. Chem.* 119:715-723. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.019](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.019).

Kerio L.C., Wachira F.N., Wanyoko J.K et Rotich M.K., 2012. Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification. *Food Chemistry*, 131:31-38. [doi:10.1016/j.foodchem.2011.08.005](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.005).

Khazai V., Piri K.H., Nazeri S., Karamian R. et Zamani N., 2011. Free radical scavenging activity and phenolic and flavonoid contents of *Echinophora Platyloba* DC. *Asian J. Med. Pharm. Res.* 1 (1): 09-11.

Kim J.W., Nagaoka T., Ishida Y., Hasegawa T., Kitagawa K. et Lee S.C., 2009. Subcritical water extraction of nutraceutical compounds from *Citrus pomaces*. *Separation Science and Technology*. 44(11): 2598-2608. [doi.org/10.1080/01496390903014375](https://doi.org/10.1080/01496390903014375).

Koffi E., Sea T., Dodehe Y. et Soro S., 2010. Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal & Plant Sci.* 5 (3):550-558.

Kong J.M., Chia L.S., Goh N.K., Chia T.F. et Brouillard R., 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923–933. [doi: 10.1016/s0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00438-2).

Kosinska A., Karamac M., Penkacik K., Urbalewicz A. et Amarowicz R., 2011. Interactions between tannins and proteins isolated from broad bean seeds (*Vicia faba Major*) yield soluble and non-soluble complexes. *Eur Food Res Technol.* 233: 213-222.

Kruawan K., Tongyonk L. et Kangsadalampai K., 2012. Antimutagenic and co-mutagenic activities of some legume seeds and their seed coats. *Journal of Medicinal Plants Research.* 6 (22): 3845-3851.

## L

Ladjal Ettoumi Y. et Chibane M., 2015. Some physicochemical and functional properties of pea, chickpea and lentil whole flours, *International Food Research Journal.* 22(3): 987-996.

Laguerre M., L'opez-Giraldo L., Lecomte J., Pina M. et Villeneuve P., 2007. Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *OCL.* 14 : 279. [doi :10.1684/OCL.2007.0140](https://doi.org/10.1684/OCL.2007.0140).

Lansky E.P., Paavilainen H.M., Pawlus A.D et Newman R.A., 2008. *Ficus spp.* [fig]: Ethnobotany and potential as anticancer and anti-inflammatory agents. *Journal of Ethnopharmacology.* 119: 195-213. [doi: 10.1016/j.jep.2008.06.025](https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.06.025).

Latha S. et Daniel M., 2001. Phenolic antioxidants of some common pulses. *Journal of Food Science and Technology*, 38 (3): 272-273.

Lee J., Durst R.W. et Wrolstad R.E., 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal International of AOAC*. 88 (5) : 1269-1278.

Leitao C., 2011. Etude des composés à intérêts technologique et fonctionnel dans la bière. *Thèse de doctorat, université de Stresborg*. Pp : 1-98.

Leray C., 2010. Les lipides dans le monde vivant. Edition *Lavoisier TEC et DOC*, Pp : 5.

Lazrek-Ben-Friha, F., 2008. Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. *Thèse de doctorat*. 254P.

Li B.B., Smith, B. et Hossain, M.M., 2006. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*. 48 (2):182-188. doi: [10.1016/j.seppur.2005.07.005](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.005).

Lin L.Z., Harnly J.M., Pastor-carrales M.S. et Lutheria L.D., 2008. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Food Chemistry*, 107 (1): 399-410. doi: [10.1016/j.foodchem.2007.08.038](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.038).

Lopez A., El-Naggar T., Duenas M., Ortega T., Estrella I., Hernández T. et Emilia Carretero M., 2013. Effect of cooking and germination on phenolic composition and biological properties of dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 138(1): 547-555. doi.org/[10.1016/j.foodchem.2012.10.107](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.107).

Lutz M., Henriquez C. et Escobar M., 2011. Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked. *J. of Food Compos. Anal.* 24: 49-54. doi: [10.1016/j.jfca.2010.06.001](https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.06.001).

## M

Macheix J.J., Fleuriet F. et Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.134P.

Makris D.P. et Rossiter J.T., 2001. Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and asparagus spears (*Asparagus officinalis*): effect on flavonol content and antioxidant status. *J Agric Food Chem.* 49 (7): 3216-22. doi: [10.1021/jf001497z](https://doi.org/10.1021/jf001497z).

Makris D.P., Boskou G. et Andrikopoulos N.K., 2006. Recovery of antioxidant phenolics from white vinification solid by-products employing water/ethanol mixtures. *Bioresource Technology*. 98(15): 2963-2967. doi: [10.1016/j.biortech.2006.10.003](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.10.003).

- Mariod A.A., Ibrahim R.M. et Ismail N., 2010. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monchema ciliatum*) and white mahlab (*Prenus mahaleb*) seed cakes. *Food Chemistry*, 118 (1): 120-127. [doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.085](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.085).
- Martens S. et Mithöfer A., 2005. Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*. 66 :2399–2407. [doi: 10.1016/j.phytochem.2005.07.013](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.07.013).
- Mazza G., 1995. Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35: 341-371. [doi: 10.1080/10408399509527704](https://doi.org/10.1080/10408399509527704).
- Merghem R., 2009. Eléments de biochimie végétale. Editions *Bahaeddine Algérie*. Pp: 111, 123.
- Messina M.J., 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 439-450. [doi:10.1093/ajcn/70.3.439s](https://doi.org/10.1093/ajcn/70.3.439s).
- Midmore D.J. et Rank A.H., 2002. A new rural industry-Stevia-to replace imported chemical sweeteners. Boston, MA: *Report for the Rural Industries R&D Corporation*. Pp.1-23.
- MA., 1998. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. L'agriculture par les chiffres, *Direction des statistiques agricoles et des enquêtes économiques*.
- Mirali M., Ambrose S.J., Wood S.A., Vandenberg A. et Purves R.W., 2014. Development of a fast extraction method and optimization of liquid chromatography mass spectrometry for the analysis of phenolic compounds in lentil seed coats. *Journal of chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 969:149-161. [doi: 10.1016/j.jchromb.2014.08.007](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.08.007).
- Mittal R., Nagi H.P.S., Sharma P. et Sharma S., 2012. Effect of processing on chemical composition and antinutritional factors in chickpea flour. *Journal of Food Science and Engineering*. 2 (3): 180.
- Mohammed Z. et Atik, F., 2011. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter. J. Pharma. Bio. Sci.* 2: 609-615.
- Moise J.A., Han S., Gudynaite-Savitch L., Johnson D.A. et Miki B. L. A., 2005. Seed coats: structure, development, composition, biotechnology. *In Vitro Cellular Developmental Biology Plant*. 41: 620-644. [doi: 10.1079/IVP2005686](https://doi.org/10.1079/IVP2005686).
- Mojica L., Meyer A., Berhow M.A. et de Mejía E.G., 2015. Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$  glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International*, 69:38-48. [doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.007](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.007).



- Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.
- Moreno M.I.N., Isla M.I., Sampietro A.R. et Vattuone M.A., 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 109-114. [doi: 10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0).
- Moure A., Cruz J.M., Franco D., Dominguez J.M., Sineiro J., Dominguez H., Núñez M.J. et Parajo J.C., 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*, 72 (2): 145-171. [doi: 10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5).
- Mujica M.V., Granito M. et Soto N., 2009. Importance of the extraction method in the quantification of total phenolic compounds in *Phaseolus vulgaris* L. *Interciencia*, 34 (9): 650-654.
- Mulinacci N., Prucher D., Peruzzi M., Romani A., Pinelli P., Giaccherini C. et Vincieri F.F., 2004. Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compound content. *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 34 (2): 349-357. [doi: 10.1016/S0731-7085\(03\)00552-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00552-1).
- Multari S., Stewart D. et Wendy R.R., 2015. Potential of Fava Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 14: 511-522. [doi: 10.1111/1541-4337.12146](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12146).
- Murakami M., Hasegawa M. et Igawa H., 2004. Theoretical and experimental studies on the thermal ring-opening reaction of cyclobutene having a stannyl substituent at the 3-position. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(2):587-590. [doi.org/10.1021/jo035433+](https://doi.org/10.1021/jo035433+).

## N

- N'gouemo P., Baldy-moulinier M. et Nguemby-bina C., 1996. Effects of an ethanolic extract of *Desmodium Adscendens* on central nervous system in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 52: 77-83. [doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01389-X](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01389-X).
- N'khili 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. 158P.
- Naczki M. et Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41:1523-1542. [doi: 10.1016/j.jpba.2006.04.002](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002).
- Nayak B., Liu R. H. et Tang J., 2015. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains. A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55(7): 887- 918. [doi.org/10.1080/10408398.2011.654142](https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142).

Neish A., 1961. Formation of Meta-Coumaric and Para-Coumaric Acids by Enzymatic Deamination of the Corresponding Isomers of Tyrosine. *Phytochemistry*.1 :1-24. [doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)82806-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)82806-X).

Nève J., 2002. Nutrition et stress oxydant : Modulation de l'apport alimentaire en anti-oxydants. Optimisation of dietary intake of anti-oxidants. *Nutrition clinique et métabolisme* 16 : 292-300.

Neyra L., 1992. Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote. Légumineuse / *rhizobium*. *Food & Agriculture. Org.*

Nozzollillo C., Ricciardi L. et Lattanzio V., 1989. Flavonoids constituents of seed coat of *Vicia fluba* (*Fabaceae*) in relation to genetic control of their color. *Can. J. bot.* 67: 1600-1604.

## O

O'connell J.E. et Fox P.F., 2001. Significance and application of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy journal*, 11:103 -120.

Odeny D.A., 2007. The potential of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) in Africa. *Natural Resources Forum*, 31(4): 297-305. [doi.org/10.1111/j.1477-8947.2007.00157.x](https://doi.org/10.1111/j.1477-8947.2007.00157.x).

Onyeneho S.N. et Hettiarachchy N.S., 1993. Antioxidant activity, fatty acids and phenolic acids composition of potato peels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62: 345-350.

Oomah B.D., François C., Linda J., Malcolmson. et Anne-Sophie B., 2011. Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls. *Food Research International*. 44 (1): 436-441. [doi: 10.1016/j.foodres.2010.09.027](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.027).

Özyürek M., Güçlü K., Tütem E., Başkan K.S., Erçağ E., Esin Çelik S., Baki S., Yıldız L., Karaman Ş .et Apak R., 2011. A comprehensive review of CUPRAC methodology. *Anal. Methods*, 3: 2439-2453. [doi.org/10.1039/C1AY05320E](https://doi.org/10.1039/C1AY05320E).

## P

Pastuszewska B., Maija V., Ewa S. et Marcin T., 2004. Composition and *in vitro* digestibility of raw versus cooked white and colour-flowered peas. *Molecular Nutrition; Food Research*. 48 (3). 221-225. [doi.org/10.1002/food.200300417](https://doi.org/10.1002/food.200300417).

Pérez-Ilzarbe J., Hernández T. et Estrella I., 1991. Phenolic compounds in apples: Varietal differences. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, 192: 551-554. [doi.org/10.1007/BF01202512](https://doi.org/10.1007/BF01202512).

Perez-Jimenez J., Arranz S., Taberner M., Diaz- Rubio ME., Serrano J., Goni I. et Saura-Calixto F., 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods,

oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International* 41 (3): 274-285. DOI:10.1016/j.foodres.2007.12.004.

Pichersky E., et Gang D.R., 2000. Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends Plant Sci.* 5 :439-445. doi:10.1016/s1360-1385(00)01741-6.

Pietta P., Gardana C. et Pietta A., 2003. Flavonoids in herbs. In: Flavonoids in health and disease, Rice Evans C., Packer L. *Marcel Dekker*. Pp: 43-69.

Popovici C., Ilonka S. et Bartek T., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH<sup>•</sup>. *Revue de génie industriel.* 4 :25-39.

Prior R.L., Wu X. et Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10):4290-4302. doi: 10.1021/jf0502698.

## Q

Qiu D., Chen Z. et Li H., 2009. Effect of heating on solid  $\beta$ -carotene. *Food Chemistry*.112 (2):344-349. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.05.071.

## R

Randhir R. et Kalidas S., 2004. Microwave-induced stimulation of l-DOPA, phenolics and antioxidant activity in fava bean (*Vicia faba*) for Parkinson's diet. *Process Biochemistry*, 39 (11): 1775-1784. doi: 10.1016/j.procbio.2003.08.006.

Ranilla L.G., Genovese M.I. et Lajolo F.M., 2009. Effect of different cooking conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of some selected Brazilian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *J Agric Food Chem.* 57(13): 5734-5742. doi: 10.1021/jf900527v.

Randrianasolo, O.F.M.M., 2013. Consommation et caractéristiques nutritionnelles des graines de légumineuses dans la région Androy ; effets des procédés de préparation sur les teneurs en facteurs antinutritionnels. *Mémoire de DEA en Biochimie Appliquée aux Sciences de l'alimentation et de la Nutrition*, Université d'Antananarivo.67P.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 26: 1231-1237. doi.10.1016/s0891-5849(98)00315-3.

Reddy N.R., Pierson M.D., Sathe S.K. et Saulnkhe D.K., 1985. Dry beans tannins: à review nutritional implication. *J Assoc Off Anal Chem.* 62:541-549.

Rémond D. et Walrand S., 2017. Les graines de légumineuses: caractéristiques nutritionnelles et effets sur la santé. *Innovations Agronomiques.* 60: 133-144.

Renard C.M.G.C., Caris-Veyrat, C., Dufour C. et Le Bourvellec C., 2014. Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques*, 42 :125-137.

Reyes-Carmona J., Yousef G.G., Martínez-Peniche R.A. et Lila M.A., 2005. Antioxidant capacity of fruits extracts of blackberry (*Rubus sp.*) produced in different climatic regions. *Journal of Food Science*. 70 (7): S497-S503. [doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11498.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11498.x).

Rhodes M.J.C., Woollorton L.S.C. et Hill A.C., 1981. Changes in phenolic metabolism in fruit and vegetable tissues under stress. *Academic Press*, Londres. Pp: 193-220.

Rice-Evans C., 1999. Screening of phenolics and flavonoids for the antioxidant activity. In «Antioxidant and food supplement in human health . Edition Elsevier. Pp 239- 253.

Rijke E., Out P., Niessen W.M.A., Ariese F., Gooijer C. et Brinkman U.A.T., 2006. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112: 31-63. [doi: 10.1016/j.chroma.2006.01.019](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.019).

Robards K. et Antolovich M., 1997. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review, *Analyst*, 122:11-34.

Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. et Glover W., 1999. Phenolic compounds and their roles in oxidative process in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.

Rocha-Guzmán N.E., González-Laredo R.F., Ibarra-Pérez F.J., Nava-Berumen C. et Gallegos-Infante J.A., 2007. Effect of pressure cooking on the antioxidant activity of extracts from three common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 100 (1): 31-35.

Rodriguez A. et Kimura., 2001. A guide to carotenoid analysis in food. *International. Life sciences. Institute press*. Pp : 51-71.

Rodriguez B., De Quirs A., Lage-Yusty M.A. et Lopez-Hernandez J., 2009. HPLC-analysis of polyphenolic compounds in Spanish white wines and determination of their antioxidant activity by radical scavenging assay. *Food Research International*, 42: 1018-1022. [doi.org/10.1016/J.FOODRES.2009.04.00](https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2009.04.00).

Roy F., Boye J.I. et Simpson B.K., 2010. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International*. 43:432-442. [doi: 10.1016/j.foodres.2009.09.002](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002).

## S

Sadasivum S. et Manickam A., 2005. Biochemical methods. 2nd Edition, *New age International. Tamilnadu Agricultural University*. Pp: 205-206.

Saharan K., Khetarpaul N. et Bishnoi S., 2002. Antinutrients and protein digestibility of faba bean and rice bean as affected by soaking, dehulling and germination. *J Food Sci Technol.* 39 (4):418-422.

Saini P., Priyanka S., Shreyasi D. et Ayushi S., 2016. Effect of different processing methods on polyphenolic content and antioxidant activity of broad beans (*Vicia faba*). *Int J Cur Res Rev.* 8 (13): 6-10.

Salunkhe D.K., Chavan J.K. et Kadam S.S., 1990. Dietary tannins: consequences and remedies. *Boca Raton, CRC Press.* 200P.

Samouelian F., Gaudin V. et Boccara M., 2009. Génétique moléculaire des plantes. *Edition Quae.* Pp : 21-22.

Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A. et Saura-Calixto F., 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 76 (2): 270-276. [doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2%3C270::AID-JSFA945%3E3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2%3C270::AID-JSFA945%3E3.0.CO;2-9)

Scalbert A., 1993. Polyphenolic Phenomena, *Inra,* 296P. [doi.org/10.1002/jsfa.2740660425](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740660425).

Schreiner M., 2005. Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *European Journal of Nutrition,* 44 (2): 85-94. [doi: 10.1007/s00394-004-04987](https://doi.org/10.1007/s00394-004-04987).

Schneider A. et Huyghe, C., 2015. Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables. *Edition Quae,* Pp: 21-23-31.

Segev A., Badani H., Kapulnik Y., Shomer I., Oren-shamir M. et Galili S., 2010. Determination of Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in Colored Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of food science.* 75(2):115-119. [doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01477.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01477.x).

Sharififar F., Moshafi M.H. Mansouri S. et Khodashenas M., 2007. *In vitro* evaluation of antioxidant and antibacterial activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control,* 18(7):800-805.

Shipp J. et Abdel-Aal El.S.M., 2010. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal.* 4:7-22. [doi: 10.2174/1874256401004010007](https://doi.org/10.2174/1874256401004010007).

Shrutia Sh., Neelama Y., Alkaa S. et Rajendra K., 2013. Antioxidant activity, nutraceutical profile and health relevant functionality of nine newly developed chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Natural Products Research* : 1-10.

Siah S., Wood J.A., Agboola S., Konczak I. et Blanchard C.L., 2013. Effects of soaking, boiling and autoclaving on the phenolic contents and antioxidant activities of faba beans (*Vicia*

*faba* L.) differing in seed coat colours. *Food chemistry*, 142: 461-468. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.068](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.068).

Siah S., Wood J.A., Agboola S., Konczak I. et Blanchard C.L., 2014. Effects of roasting on phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of Australian grown faba beans (*Vicia faba* L.). *Plant Foods Hum Nutr.* 69(1):85-91. [doi: 10.1007/s11130-013-0400-y](https://doi.org/10.1007/s11130-013-0400-y).

Sieglinde S., Rahmanian M. et Batello C., 2018. Légumes secs et exploitations durables en Afrique subsaharienne, sous la direction de T. Calles. Rome, FAO. 68P.

Singh B., Singh J.P., Kaur A. et Singh N., 2017. Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International.* 101: 1-16. [doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026).

Škerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hraš A.R., Simonič M. et Knez Ž., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry.* 89: 191-198. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025).

Slinkard K. et Singleton V.L., 1977. Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture.* 28:49-55.

Spigno G., Tramelli L. et De Faveri D.M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering.* 81(1): 200-208. [doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.021).

Sreerama Y.N., Shashikala V.B. et Pratape V.M., 2010. Variability in the distribution of phenolic compounds in milled fractions of chickpea and horse gram: Evaluation of their antioxidant properties. *J Food Agric Chem .* 58(14): 8322-8330. [doi: 10.1021/jf101335r](https://doi.org/10.1021/jf101335r).

Sreerama Y.N., Sashikala V.B. et Pratape V.M., 2012. Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. *Food Chemistry.* 133 (1): 156-162. [doi: 10.1016/j.foodchem.2012.01.011](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.011).

Sreeramulu D., Reddy C.V.K. et Raghunath M., 2009. Antioxidant activity of commonly consumed cereals, millets, pulses and legumes in India. *Indian J. Biochem. Biophys.* 46 (1): 112-115.

Sripad G. Prakash V. et Narasinga Rao M.S., 1982. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci.* 4:145-152. [doi.org/10.1007/BF02702723](https://doi.org/10.1007/BF02702723).

Stopar M., Bolcina U., Vanzo A. et Vrhovsek U., 2002. Lower crop load for Cv. Jonagold apples (*Malus x domestica* Borkh.) increases polyphenol content and fruit quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6):1643-6. [doi: 10.1021/jf011018b](https://doi.org/10.1021/jf011018b).

## T

Tapas A.R., Sakarkar D.M. et Kakde R.B., 2008. Flavonoids as nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3):1089-1099. doi: 10.4314/tjpr.v7i3.14693.

Teutsch H.G., Hasenfratz M.P., Lesot A., Stoltz C., Garnier J.M., Jeltsch J.M., Durst F. et Werck-Reichhart D., 1993. Isolation and sequence of a cDNA encoding the Jerusalem artichoke cinnamate 4-hydroxylase, a major plant cytochrome P450 involved in the general phenylpropanoid pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90 :4102–4106. doi: 10.1073/pnas.90.9.4102.

Timoracká M. et Vollmannova A., 2010. Determination of flavonoids content in coloured peas (*Pisum sativum* L.) in relation to cultivar's dependence and storage duration under natural conditions. *Potravinarstvo*. 4 (3): 58-62. doi.org/10.5219/70.

Toivonen P.M.A. et Brummell D., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut vegetables and fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 48:1-14. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.09.004.

Tomas-Lorente F., Garcia- Grau F.M. et Tomas-Barberan F.A., 1990. Flavonoids from *Vicia faba* exudates. *IGRIS*. 45 (9-10) : 1070-1072.

Torres de pinedo A., Pen alver P. et Morales J.C., 2007. Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidant: structure-activity relation ship. *Food Chemistry*, 103(1): 55-61. doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.026.

Trabelsi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., Oueslati S., Bourgou S., Hajlaoui H. et Abdelly C., 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Sci Tech.* 43 (4): 632-639. doi: 10.1016/j.lwt.2009.11.003.

Troszynska A., Estrella I., Lopez-Amores L.M. et Hernandez T., 2002. Antioxidant Activity of pea (*Pisum sativum* L) Seed Coat Acetone extract. *LWT - Food Science and Technology*. 35(2): 158 -164. doi.org/10.1006/fstl.2001.0831.

Troszyńska A. et Ciska E., 2002. Phenolic Compounds of Seed Coats of White and Coloured Varieties of Pea (*Pisum sativum* L.) and Their Total Antioxidant Activity. *Czech J. Food Sci.* 20 (1): 15-22. doi.10.17221/3504-CJFS.

Tsai M.C., Song T.Y., Shih P.H. et Yen G.C., 2007. Antioxidant properties of water soluble polysaccharides from *Antrodia cinnamomea* in submerged culture. *Food Chem*, 104 (3): 1115-1122. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.01.018.

Tumbas V.T., Četkovic G.S., Djilas S.M., Canadanovic-Brunet J.M., Vulic J.J. et Knez Z., 2010. Antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata*) peel. BIBLID: 1450-7188. *APTEFF*, 41: 1-203. doi: 10.2298/APT1041195T.

Turco I., Ferretti G. et Bacchetti T., 2016. Review of the health benefits of Faba bean (*Vicia faba* L.) polyphenols. *Journal of Food and Nutrition Research*. 55 (4): 283-293.

Turkmen N., Sari F. et Velioglu Y.S., 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, 93(4): 713-718. doi: [10.1016/j.foodchem.2004.12.038](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038).

### U

Uddin M.S., Chowdhury M.S.H., Khan M.M.H., Uddin M.B., Ahmed R. et Baten M.A., 2006. *In vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Bangladesh. *African Journal of Biotechnology*.5 (13): 1238 - 1240.

### V

Van Acker S.A., VandenBerg D.J, Tromp M., Griffioen D.H.W.P., VanBennekom W.J. et VanderVijgh., 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med*. 20(3):331-42. doi: [10.1016/0891-5849\(95\)02047-0](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02047-0).

VanderPoel A.F.B., Gravendeel S., VanKleef D.J., Jansma H. J.M. et Kemp B., 1992. Tannin-containing faba beans (*Vicia faba* L.): effects of methods of processing on ileal digestibility of protein and starch for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 36: 205-214.

Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M.J. et Spencer J.P., 2010. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, 2 (11): 1106-1131. doi: [10.3390/nu2111106](https://doi.org/10.3390/nu2111106).

Veit-Kohler U., Krumbein A. et Kosegarten H., 1999. Effect of different water supply on plant growth and fruit quality of *Lycopersicon esculentum*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162(6):583-588. doi.org/10.1002/(SICI)1522-2624(199912)162:6<583::AID-JPLN583>3.0.CO;2-P.

Venkatachalam K. et Meenune M., 2012. Changes in physiochemical quality and browning related enzyme activity of longkong fruit during four different weeks of on-tree maturation. *Food Chemistry*, 131: 1437-1442. doi: [10.1016/j.foodchem.2011.10.022](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.022).

Vidal-Valverde C., Sierra I., Diaz-Pollan C. et Blazquez I., 2001. Determination by capillary electrophoresis of total and available niacin in different development stage of raw and processed legumes: Comparison with high-performance liquid chromatography. *Electrophoresis*, 22 :1479-1484.

Vierling E., 2008. Eléments et boisson. Aliments et boissons: filières et produits. *Wolters Kluwer France Edition*, 153P.



Visioli F., Borsani L. et Galli C., 2000. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of Phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47:419-425. [doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00053-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00053-5).

Vogt T., 2010. Phenylpropanoid Biosynthesis. *Mol. Plant*, 3:2-20. [doi: 10.1093/mp/ssp106](https://doi.org/10.1093/mp/ssp106).

## W

Waksmundzka-Hajnos M. et Sherma J., 2011. High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical. *Chromatographic Science Series*. Pp: 477-478.

Wallace G. et Fry S., 1994. Phenolic components of the plant cell wall. *International Review of Cytology*, 151: 229-267. [doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)62634-0](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62634-0).

Wang W., Tang K., Yang H.R., Wen P.F., Zang P., Wang H.L. et Huang Z.D., 2010. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. *Cabernet Sauvignon*) and the effect of UV-C on its accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(2-3): 142-152.

Wiley J., 2002. Proanthocyanidins: Extraction, Purification and Determination of Subunit Composition by HPLC. *Cur. Prot. Food Anal. Chem.* Pp: 11.4.1-11.4.11. [doi.org/10.1002/0471142913.fai0104s06](https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0104s06).

Wolosiak R., Worobiej E., Piecyk M., Druzynska B., Nowak D. et Lewicki P.P., 2010. Activities of amine and phenolic antioxidants and their changes in broad beans (*Vicia faba*) after freezing and steam cooking. *International Journal of Food Science and Technology*. 45 : 29-37. [doi:10.1111/j.1365-2621.2009.02099.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02099.x).

## X

Xu B., Yuan S.H. et Chang S.K.C., 2007. Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity and color of cool season legumes and other selected food legumes. *J. Food Sci.*, 72 (2): 167-177. [doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00261.x).

Xu B. et Chang S., 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J Food Sci* 72 (2):S159-166. [doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x).

Xu B. et Chang S., 2009. Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (11): 4754-4764. [doi: 10.1021/jf900695s](https://doi.org/10.1021/jf900695s).

Xu B. et Chang S., 2009b. Phytochemical profiles and health-promoting effects of cool-season food legumes as influenced by thermal processing. *J. Agric. Food Chem.* 57(22): 10718–10731. [doi: 10.1021/jf902594m](https://doi.org/10.1021/jf902594m).

Xu B. et Chang S., 2010. Phenolic substance characterization and chemical and cell-based antioxidant activities of 11 lentils grown in the Northern United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3):1509-1517. [doi.org/10.1021/jf903532y](https://doi.org/10.1021/jf903532y).

Xu B. et Chang S., 2012. Comparative study on antiproliferation properties and cellular antioxidant activities of commonly consumed food legumes against nine human cancer cell lines. *Food Chemistry*, 134 (3): 1287-1296. [doi: 10.1016/j.foodchem.2012.02.212](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.212).

### Y

Yadahally N., Sreerama., Vadakkoot B., Sashikala., Vishwas. et Pratape M., 2012. Phenolic compounds in cowpea and horse gram flours in comparison to chick pea flour: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia and hypertension. *Food Chemistry*. 133 (1): 156-162. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.011](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.011).

Yang Q.Q., Ren-You G., Ying-Ying G., Dan Z. et Harold C., 2018. Polyphenols in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Chemistry, Analysis, and Factors Affecting Composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Institute of Food Technologists*. 17 (6):1518-1539. [doi: 10.1111/1541-4337.12391](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12391).

Yasmin A., Zeb A., Khalil A.W., Paracha Mohi-ud-Din G., Khattak B. A., 2008. Effect of Processing on Anti-nutritional Factors of Red Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris*) Grains. *Food Bioprocess Technol.* 1:415–419. [doi.10.1007/s11947-008-0125-3](https://doi.org/10.1007/s11947-008-0125-3).

### Z

Zhang D. et Hamauzu Y., 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*. 88 (4): 503-509. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.065](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.065).

Zhang B., Deng Z., Tang Y., Chen P.X., Liu R., Ramdath D.D., Liu Q., Hernandez M. et Tsao R., 2014. Effect of domestic cooking on carotenoids, tocopherols, fatty acids, phenolics, and antioxidant activities of lentils (*Lens culinaris*). *J. Agric. Food Chem.* 62(52): 12585-12594. [doi: 10.1021/jf504181r](https://doi.org/10.1021/jf504181r).

Zhang B., Deng Z., Ramdath D.D., Tang Y., Chen X.P., Liu R., Liu Q. et Tsao R., 2015. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chemistry* 172: 862-872. [doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144).

Zhang B., Han P., Zeyuan D. et Rong T., 2018. Phytochemicals of lentil (*Lens culinaris*) and their antioxidant and anti-inflammatory effects. *J. Food Bioact.* 1:93-103. [doi: 10.31665/JFB.2018.1128](https://doi.org/10.31665/JFB.2018.1128).

Zielinski H., 2002. Peroxyl radical-trapping capacity of germinated legume seeds. *Nahrung.* 46:100-104.

Zou Y., Chang S.K.C., Yan Gu., et Steven Y. et Qian., 2011. Antioxidant Activity and Phenolic Compositions of Lentil (*Lens culinaris* var. *Morton*) Extract and Its Fractions. *J. Agric. Food Chem.* 59 (6):2268-2276. [doi.org/10.1021/jf104640k](https://doi.org/10.1021/jf104640k).

## Annexe 01

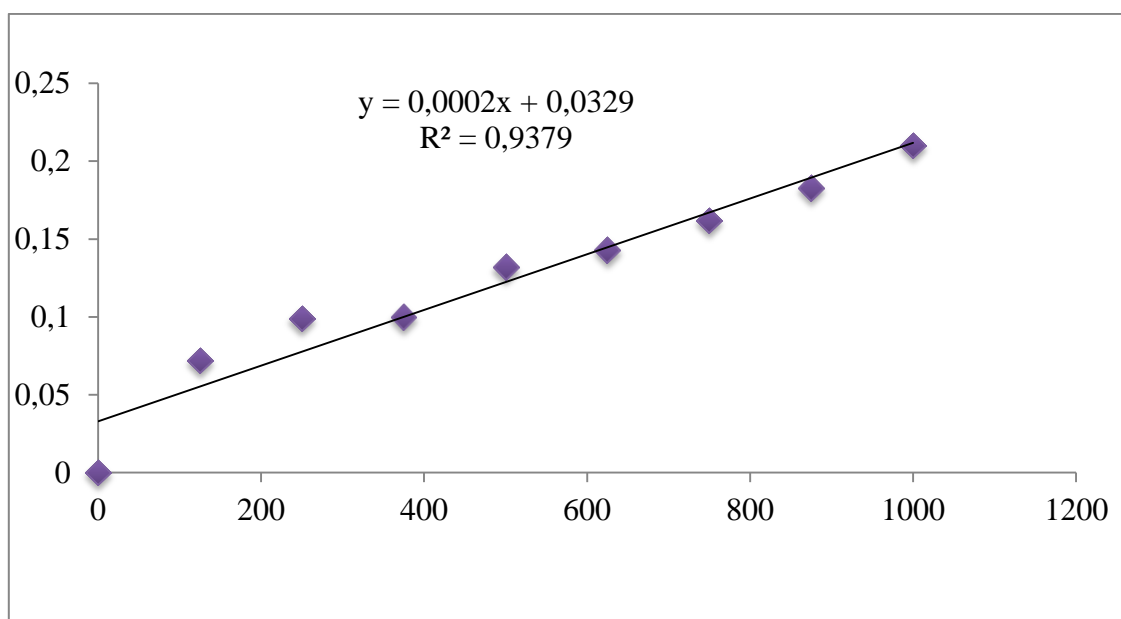


Figure 1 : Courbe d'étalonnage de pyrocatechol.

## Annexe 02

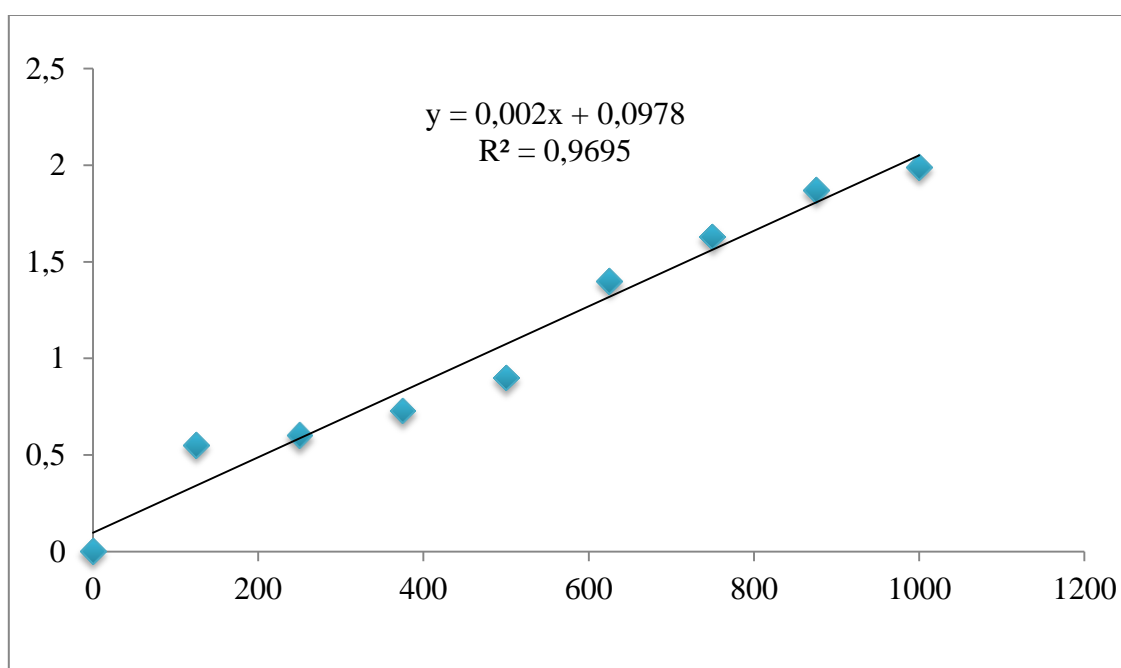


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de quercitine.

## Annexe 3

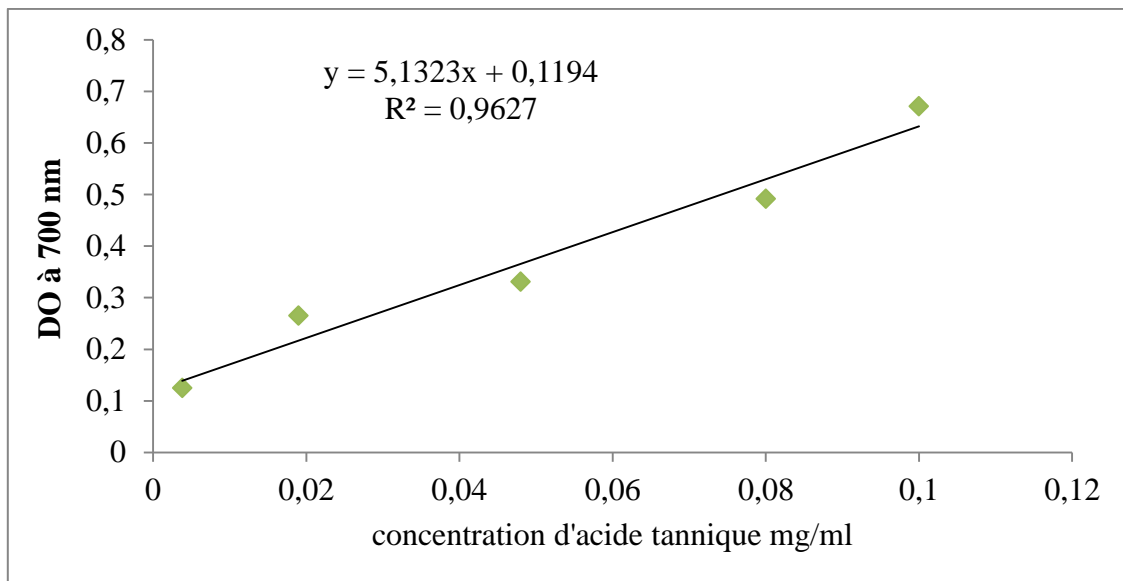


Figure 3 : Courbe d'étalonnage d'acide tannique.

## Annexe 4. Production scientifique

## Publications

Djabali, S., Makhlouf, F., Ertas, A. et Barkat, M., 2020. Effect of heat treatment on polyphenolic compounds and antioxidant activity of lentils (*Lens culinaris*). *ASN*, 7(3): 58-71.

## Posters

**Poster 1.** Impact du traitement thermique sur les variations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques des légumes secs. AT-BVBR, Tunisie. 2017.

**Poster 2.** Effet du traitement thermique sur la teneur en polyphénols totaux dans les grains d'haricot sec blanc. JNAEE, Boumerdes, Algérie, 2017.

**Poster 3.** Etude des variations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques dans les grains d'haricots secs crus et cuits

**Acta Scientifica Naturalis**

Former Annual of Konstantin Preslavsky University of Shumen: Chemistry, Physics, Biology, Geography

 Journal homepage: [asn.shu.bg](http://asn.shu.bg)
**Effect of heat treatment on polyphenolic compounds and antioxidant activity of lentils (*Lens culinaris*)**
**Djabali S.<sup>1</sup>, Makhlouf F.Z.<sup>1</sup>, Ertas A.<sup>2</sup>, Barkat M.<sup>1</sup>**
<sup>1</sup> *Laboratoire de Biotechnologie et Qualité des Aliments (BIOQUAL), Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires (INATAA), Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie*
<sup>2</sup> *Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Dicle University, 21280 Diyarbakir, Turkey*

**Abstract:** *The current research involves the study of the effect of thermal treatment in boiling water (cooking) on the nutrient components and phytochemical contents of lentils. The changes of phenolic compounds and antioxidant activity of lentils before and after cooking; as well as the recovered water are investigated. Total polyphenol, flavonoid and tannin content were determined spectrophotometrically using standards methods and LC-MS/MS. Antioxidant activity of methanolic extracts was evaluated using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethyl benzo thiazoline-6-sulfonic acid)) assays. As compared to the raw lentils, cooking caused significant ( $p < 0.05$ ) decreases in total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), DPPH and ABTS free radicals scavenging activity. The obtained results indicated that the polyphenol content of cooking water was significantly higher than that of cooked and raw lentils; however the most important antioxidant activity was recorded for raw lentils. Several phenolic compounds were identified in fresh, cooked lentils and cooking water. The major compound for the three samples is tannic acid with a very remarkable value in the cooking water; while the minor compounds are naringenin for cooked lentils, apigenin for raw lentils and cooking water. Neofomed compounds have been also detected in the cooking water such as: quercetin, hespritin, tr-caffeic acid and chlorogenous acid in the cooking water.*

**Keywords:** Lentils, cooking, polyphenol; antioxidant activity, LCMS/MS

## Introduction

Pulses are the edible seeds of plants in the legume family, including chickpeas, lentils, dry peas and beans. They are produced and consumed widely around the world [1]. They are the essential food resources which contribute to the nutritional wellbeing of various human diets [2]. Leguminous seeds belong to plant foods which are generally rich in phenolic compounds, including condensed tannins [3; 4]. These compounds possess various biological properties that provide a number of benefits, including antioxidant, apoptotic, anti-aging, anti-carcinogenic and anti-inflammatory activities, cardiovascular protection and enhancement of endothelial function. Moreover, polyphenols could also inhibit angiogenesis and cell proliferation activity [5]. The antioxidant capacity [3] and the antimutagenic [6], apoptosis related [7], and antiproliferative effects of legumes are highly associated with the presence of phenolic compounds [8].

The quantity and quality of polyphenols in vegetables might vary greatly depending on various factors. Another set of factors originates when the plant leaves the farm where it was grown and is transported to the consumer. Factors related to the consumer food preservation and preparation also affect the rate of these substances, sometimes with significant impact [9]. Cooking causes some physicochemical changes in pulses, including gelatinization of starch, denaturation of proteins, solubilization of some of the polysaccharides, and softening and breakdown of the middle lamella, a cementing material found in the cotyledon [10]. Prior to cooking, soaking is the preliminary step that helps to increase the tissue texture, shorten the cooking time, and further reduce and further reduce the hardness of the seed. High pressure processing technology can maintain nutritional value and quality of food products (flavour, colour, biological active components) [11]. Several pulses, including lentils (*Lens culinaris*) are not consumed raw; they should be cooked before consumption. The effect of cooking on antioxidant capacity and phenolic compounds of these foods has not been extensively studied [12]. In this framework, the main objective of the present work was to investigate the effect of cooking in boiling water on the phenolic compounds and antioxidant activity of lentils (*Lens culinaris*). To reach this goal, total phenolic, flavonoid and tannin contents are evaluated on the raw and cooked lentils, as well as the recovered cooking water. The phenolic compounds of studied lentils were also tentatively identified and quantified by mass; as well and an in vitro evaluation of the antioxidant activity was also carried out.

## Materials and methods

### Raw materials

The research was performed on lentils (*Lens culinaris* L.) of Metropole variety. It is the most marketed and consumed variety in Algeria. Lentils were provided by National Centre for Control and Certification of Seeds and Plants (C.N.C.C, Constantine, Alegria).

## **Samples preparation**

### ***From raw lentils***

Lentils were manually sorted and cleaned, to remove all impurities (broken grains, infested grains, foreign grains, etc.), and ground into fine powder (< 250 µm) using an electric grinder (Group SEB, French). The obtained powder was stored in dark and airtight containers until being used.

### ***From cooked lentils***

Approximately 100 g of lentils were immersed in a stainless steel vessel with a lid containing 600 mL of water and cooked at 100°C for 45 min. The samples were drained and kept at -20°C. After 24 hours, the frozen lentils were milled and freeze-dried.

### ***From cooking water***

The water used for cooking was recovered and stored at -20 °C. After 24 hours, the formed water crystals were freeze-dried.

## **Preparation of phenolic extracts**

The extraction of phenols was carried out according to the procedure described by Mujica et al. [13]. To obtain the extract, 1 g of powder was dissolved in 25 acidified methanol with 0.1% HCl (2N). The mixture was subjected to sonication treatment (Jeiotech, USA), and then centrifuged at 1800 g for 15 min. The residue was re-extracted with 25 mL of methanol and centrifuged at 1800 g for 15 min. The methanolic phase was recovered, filtered through 0.45 µm pores filters, and finally evaporated under vacuum at 45°C to remove the solvent. The extracts were used both for the determination of total phenols and flavonoids.

For LC-MS/MS analysis, the extraction procedure was carried out as described by Ertas et al. [14]. In brief, 100 g of each powder were mixed with 300 mL of methanol and subjected to maceration for 24 h at room temperature. To obtain the crude extracts, the solvent was removed under vacuum at 30°C using a rotary evaporator. Afterwards, the dry residue was reconstituted in methanol at a concentration of 1000 mg/L, and then filtered through microfibre filters having pores of 0.45 µm.

## **Quantitative determination of total bioactive compounds**

### **Total phenolic content**

The total phenolic content (TPC) was determined by the Folin-Ciocalteu method using a calibration curve of pyrocatechol ( $R^2 = 0.9969$ ) [14, 15]. Briefly, in a 96 well plate, 4 µL of each extract were mixed with 4 µL of Folin-Ciocalteu reagent and 12 µL of sodium carbonate solution (2% w/v). The plate was incubated for 120 min in the dark at room temperature. The absorbance was measured at 760 nm using Microplate Reader with 96 well plates (BioTek Instruments, Eon, USA). Pyrocatechol was used as a reference standard, and the total phenolic content was expressed as µg of pyrocatechol equivalents (PE) per mg of dry matter (µg PE/mg dm).



### **Total flavonoid content**

The total flavonoid content (TFC) was determined according to Moreno et al. [16]. In a 96 well plate, 20  $\mu\text{L}$  of sample extracts were mixed with 172  $\mu\text{L}$  of ethanol (80%) and 4  $\mu\text{L}$  of a 10% solution of  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ . After incubation in the dark at room temperature for 40 min, the absorbance of the reaction mixture was read at 415 nm. The results were expressed as  $\mu\text{g}$  of quercetin equivalents (QE) per mg of dry matter ( $\mu\text{g}$  QE/mg dm) based on a quercetin standard curve made in the same conditions ( $R^2 = 0.9986$ ).

### **Total tannin content**

The total tannin content (TTC) was determined as reported in Sadasivum and Manickam [17]. Each powder previously prepared (0.5 g) was mixed with 75 mL of distilled water. The mixture was boiled for 30 min, and then centrifuged at 2000 rpm for 20 minutes. The supernatant was recovered and the final volume was adjusted to 100 mL.

One mL of each extract was added to 75 mL of distilled water, 5 mL of Folin-Denis reagent and 10 mL of sodium carbonate solution (0.1 N). The absorbance was then measured at 700 nm after 30 min of incubation in the dark. The total tannin content was expressed as  $\mu\text{g}$  of tannic acid equivalents per mg of dry matter ( $\mu\text{g}$  TAE/mg dm) by means of a tannic acid standard curve made in the same conditions ( $R^2 = 0.962$ ).

### **LC-MS/MS determination of the phenolic compounds**

The LC-MS/MS analyses of the phenolic compounds were performed by using a Nexera model Shimadzu UHPLC coupled to a tandem MS instrument. The UHPLC system was composed by LC-30AD binary pumps, a DGU20A3R degasser, a CTO-10ASvp column oven, and a SIL-30AC auto sampler. The chromatographic separation of phenols was achieved using a reverse-phase C18 Inertsil ODS-4 analytical column (150 mm  $\times$  4.6 mm, 3  $\mu\text{m}$ ). Mobile phase consisted of solvent A (0.1%, v/v, solution of formic acid in water) and solvent B (0.1%, v/v, solution of formic acid in methanol) at different ratios. The gradient program with the following proportions of solvent B was applied; time (min), B %: (0, 35), (5, 50), (10, 90), (12, 90), (13, 35). The flow rate was 0.5 mL/min, the column temperature was fixed at 40°C and the injection volume was 2 mL.

MS detection was performed using a Shimadzu LCMS 8040 triple quadrupole mass spectrometer equipped with an ESI source operating in both positive and negative ionization modes. The optimum ESI conditions were determined to be: an interface temperature 350°C, desolvation line temperature 250°C, heat block temperature 400°C, nebulizer gas flow ( $\text{N}_2$ ) 3 L/min, and drying gas flow ( $\text{N}_2$ ) 15 L/min. The LC-MS/MS data were collected and processed by Lab Solutions software (Shimadzu, Kyoto, Japan).

### **Evaluation of the total antioxidant capacity**

**DPPH assay:** The antioxidant activity was evaluated on the basis of the scavenging activity of the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as described in Ertas et al. [14]. Briefly, 40  $\mu\text{L}$  of each extract at

different concentrations (10 to 100 ppm) were added to 160  $\mu$ L of DPPH solution (0.1 mM in methanol). After 30 min in the dark, the decrease of absorbance was measured at 517 nm by spectrophotometry (Bioteck, Eon, USA) against a blank (methanol with DPPH).

**ABTS assay:** Extracts were analyzed also for their capacity to scavenge the ABTS radical (2,2'-azinobis (3-ethyl benzo thiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt) accordingly to the method proposed by Ertas et al. [14]. In a 96 well plate, 20  $\mu$ L of each extract (0 to 1000 ppm) were added to 1.60 mL of ABTS reagent previously prepared. After 30 min in the dark, the decrease of absorbance was read at 734 nm.

Extract concentration providing 50% inhibition (IC<sub>50</sub>) was calculated from the graph by plotting inhibition against extract concentration. Butylated hydroxyanisole (BHA) and  $\alpha$ -Tocopherol ( $\alpha$ -TOC) were used as reference.

### **Statistical analysis**

All analyses were carried-out in triplicate and the experimental data were reported as means  $\pm$  standard deviation. Analysis of variance (ANOVA) was performed on the experimental data using XLSTAT software. The differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## **Results and Discussion**

### **The effect of cooking on total phenolic content**

The results of the evaluation of total phenolic contents (TPC) in raw, cooked lentils and cooked water are given in Table 1, as pyrocatechol equivalents by reference to standard curve. Phenolic contents showed significant differences among samples ( $p \leq 0.05$ ). Lentils showed the significantly higher ( $p \leq 0.05$ ) total phenolic content in their raw samples (172.36  $\mu$ g PE/mg dm) compared with their cooked samples (72.36  $\pm$  2.78  $\mu$ g PE/mg dm). Cooking treatment caused significant losses (41.98%) of total phenolic compounds. This indicates the breaking down of polyphenols in these vegetables types during cooking. The cooking water showed the highest level of TPC (244.12  $\mu$ g PE/mg dm) compared with raw and cooked lentils, an increase of 141.69%.

This increase in TPC in cooking water is in fact due to the solubilization and the diffusion of phenolic compounds following the bursting of cell structures by the heat. Thermal treatment causes many changes in the physical characteristics and phytochemicals content, in particular, the antioxidants found in vegetables [18, 19, 20]. Dewanto et al. [21] reported that thermal degradation caused by cooking is compensated by facilitated extraction of polyphenols from vegetable tissues. These compounds are therefore detected in higher amounts after cooking. According to Makris and Rossiter [22] and Renard [23], cooking in boiling water is the least effective in increasing phenolic compounds, due to the solubilization of polyphenols in cooking

water during boiling treatment. Similarly, Kutos et al. [24] have also shown that cooking produces significant levels of reduction in phenolic compounds (from 52% to 86% for pulses after 30 to 120 minutes of cooking). Other authors suggest that the apparent decrease in polyphenols during cooking is due to a leaching or diffusion [22].

#### **The effect of cooking on total flavonoid content**

Total flavonoid content (TFC) of the three different samples is shown in Table 1. Flavonoid content also showed significant differences among samples ( $p \leq 0.05$ ). As in the polyphenols, total flavonoid content decreased significantly ( $p \leq 0.05$ ) compared with raw lentils after cooking. The percentage decrease of flavonoid content in cooked lentils was 41.19% when compared with fresh lentils. This may be related to a disruption of cell walls and liberation of flavonoids, which caused their diffusion into the cooking water, resulting in an increase of about 428.37% compared to the raw state. According to Charles and Benbrook [9], the flavonoid content varies significantly depending on the variety and the degree of maturity. Indeed, referring to literature, Jones and Vogt [25], flavonoids may exist in the *form of heterosides*, in which one or more hydroxyl groups are combined with sugars. The presence of this osidic fraction makes flavonoids very soluble in water which explains the obtained results.

#### **The effect of cooking on total tannin content**

Total tannin contents (TTC) of raw, cooked lentils and cooking water are significantly different ( $p \leq 0.05$ ). As illustrated in Table 1, lentils showed the significantly higher TTC in their cooked samples compared with their raw samples. However, the cooking water showed the highest level of TTC ( $9.06 \pm 0.03 \mu\text{g TAE} / \text{mg dm}$ ) compared with raw and cooked lentils.

According to Vidal-Valverde et al. [26], lentils are rich in tannins. Among these compounds catechin, polymer of flavanols and procyanidins [27], is less soluble [28]. Similarly, flavonoids such as flavonol glycosides and flavones have been identified in the seed coat [29, 30], although this represents only a small percentage of the whole grain weight (from 8% to 11%) [31]. Lea and Arnold [32] reported that the polymerization degree of the parietal tannins (catechin and procyanidin) is greater than that of the intracellular tannins. Amrani et Glories [33] and Macheix et al. [34] suggest that tannins are associated with proteins or polysaccharides in vacuolar membranes and cell walls, which would limit their extractability and reactivity. Moreover, condensed tannins cannot be thermally degraded, which explains the low tannin content in the raw lentils.

In the case of hydrolyzable tannins, cooking in boiling water allows the extraction of tannins bound to sugars (sugar polyester) [35]. The sugar is often a glucose or an acid (quinic and gallic), which explains the high tannin content in the cooked lentils.

Bruneton [36] reported that some phenolic acids, produced by thermal degradation of hydrolysable tannins, tend to polymerize in solvents. They can react with each other by *complexation* to reform certain tannic forms, such as gallotanins (glucose and gallic acid ester) and ellagitannins (glucose and ellagic acid ester), cyanarines (caffeic acid ester) and tannic acid, which could explain the high tannin content in the cooking water.

**Table 1.** Total phenolic content, total flavonoid content and total tannin content of the three different samples

Parameter	Raw lentils	Cooked lentils	Cooking water
TPC ( $\mu\text{g PE mg}^{-1}$ )	$172.36 \pm 2.78^c$	$72.36 \pm 2.78^b$	$244.12 \pm 4.46^a$
TFC ( $\mu\text{g QE mg}^{-1}$ )	$42.82 \pm 0.53^c$	$17.64 \pm 0.10^b$	$183.43 \pm 3.29^a$
TTC ( $\mu\text{g TAE mg}^{-1}$ )	$0.02 \pm 0.01^c$	$4.80 \pm 0.15^b$	$9.06 \pm 0.03^a$

TPC, total phenolic content; TFC, total flavonoid content; TTC, total tannin content. PE, pyrocatechol equivalents; QE, quercetin equivalents; TAE, tannic acid equivalents.

Different letters in row indicate significant difference at  $p \leq 0.05$ .

### Identification and quantification of individual polyphenols by LC-MS/MS

Comparing the retention time (Figure 1. a) of standards with those recorded in the different chromatograms (Figure 1. b, c and d) allowed the identification of the phenolic compounds shown in Table 2.

As it can be observed from the results, several phenolic compounds were identified in fresh, cooked lentils and cooking water. It was found that the major compound for the three samples is tannic acid with a very remarkable value in the cooking water. It is suggest that tannic acid, which is polyester of glucose and gallic acid (hydrolyzable tannin) soluble in water, easily diffuses into cooking water after thermal degradation of the cell wall and membrane on the one hand, and that the polymerization of glucose and gallic acid lead to its neoformation, which can justify the tannin determination result on the other hand. Moreover, other phenolic compounds have been neoformed in the cooking water such as: tr-caffeic acid, hesperetin, chlorogenic acid, malic acid and quercetin. In fact, the neoformation of these compounds can be explained by the thermal degradation of quercetin glycosides which leads to the cleavage between sugar and the aglycone part and thus increases the amount of quercetin measured; thermal degradation of hesperidine (*hesperetin 7- rutinoside*) [37]; chlorogenic acid is an ester of caffeic acid and (L)-quinic acid [38]; and caffeic acid which is synthesized by hydroxylation of paracoumaric acid (in ester form).

The levels of other phenolic compounds are very important in cooking water than in raw and cooked lentils, this explains the result of the determination of total polyphenols, flavonoids and tannins. Therefore,

total polyphenols will be able to be exposed to reactions, the main one being oxidation, to diffuse more freely and interact with the present macromolecules, mainly the parietal polysaccharides [39].

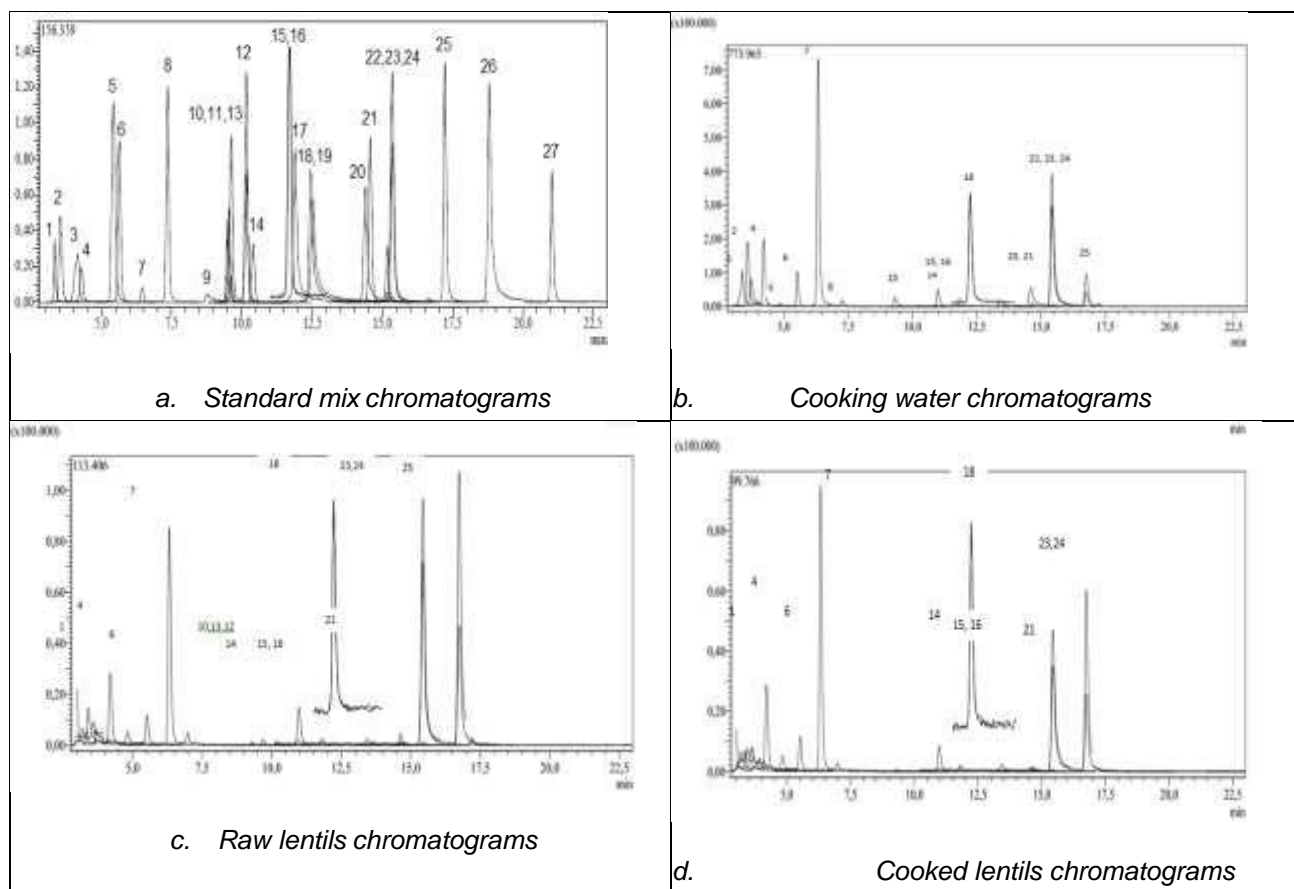
Two compounds, rutin and hesperidin, are present in raw lentils and absent in cooked lentils and cooking water, this is probably explained by the structural modification of the phenolic compounds after cooking and their thermal degradation. Minority compounds are naringenin for cooked lentils, apigenin for raw lentils and cooking water.

**Table 2.** Identification and quantification ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) of single phenols in raw, cooked lentils and cooking water by LC-PDA-MS

No.	Compounds	RT <sup>a</sup>	Parent ion (m/z) <sup>b</sup>	R <sup>2c</sup>	RSD% <sup>d</sup>	LOD/LO Q ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) <sup>e</sup>	Raw lentils	Cooked lentils	Cooking water
1	Quinic acid	3.32	190.95	0.9927	0.0388	22.3/74.5	949.50	529.95	5830.67
2	Malic acid	3.54	133.05	0.9975	0.1214	19.2/64.1	-	-	2168.93
3	tr-Aconitic acid	4.13	172.85	0.9933	0.3908	15.6/51.9	-	-	-
4	Gallic acid	4.29	169.05	0.9901	0.4734	4.8 / 15.9	125.95	133.71	702.65
5	Chlorogenic acid	5.43	353	0.9932	0.1882	7.3 / 24.3	-	-	14.15
6	Protocatechuic acid	5.63	152.95	0.9991	0.5958	25.8/85.9	67.07	65.49	533.23
7	Tannic acid	6.46	182.95	0.9955	0.9075	10.2/34.2	3734.71	4127.67	30597.25
8	tr- caffeic acid	7.37	178.95	0.9942	1.0080	4.4 / 14.7	-	-	18.64
9	Vanillin	8.77	151.05	0.9995	0.4094	10.1/33.7	-	-	-
10	p-Coumaric acid	9.53	162.95	0.9909	1.1358	15.2/50.8	17.81	-	556.26
11	Rosmarinic acid	9.57	358.9	0.9992	0.5220	10.4/34.8	-	-	-
12	Rutin	10.18	609.1	0.9971	0.8146	17.0/56.6	13.94	-	-
13	Hesperidin	9.69	611.1	0.9973	0.1363	21.6/71.9	17.71	-	-
14	Hyperoside	10.43	463.1	0.9549	0.2135	12.4/41.4	185.03	108.18	578.02
15	4-OH Benzoic acid	11.72	136.95	0.9925	1.4013	3.0/10.0	88.35	68.55	345.37
16	Salicylic acid	11.72	136.95	0.9904	0.6619	4/13.3	77.92	61.01	287.31
17	Myricetin	11.94	317	0.9991	2.8247	9.9/32.9	-	-	-

18	Fisetin	12.61	284.95	0.9988	2.4262	10.7/35.6	297.76	157.26	259.90
19	Coumarin	12.52	146.95	0.9924	0.4203	9.1 / 30.4	-	-	-
20	Quercetin	14.48	300.9	0.9995	4.3149	2.0 / 6.8	-	-	178.69
21	Naringenin	14.66	270.95	0.9956	2.0200	2.6 / 8.8	5.47	2.15	12.71
22	Hesperetin	15.29	300.95	0.9961	1.0164	3.3/ 11.0	-	-	9.70
23	Luteolin	15.43	284.95	0.9992	3.9487	5.8 / 19.4	132.54	71.84	587.11
24	Kaempferol	15.43	284.95	0.9917	0.5885	2.0 / 6.6	133.28	76.46	578.00
25	Apigenin	17.31	268.95	0.9954	0.6782	0.1 / 0.3	3.16	-	9.15
26	Rhamnetin	18.94	314.95	0.9994	2.5678	0.2 / 0.7	-	-	-
27	Chrysin	21.18	253	0.9965	1.5530	0.05/ 0.17	-	-	-

<sup>a</sup>RT: Retention time; <sup>b</sup>Parent ion (*m/z*): Molecular ions of the standard compounds (mass to charge ratio); <sup>c</sup>R<sup>2</sup>: coefficient of determination; <sup>d</sup>RSD: relative standard deviation; <sup>e</sup>LOD/LOQ (µg/L): Limit of detection/Limit of quantification; - not detected



**Figure 1.** LC-MS/MS chromatograms of the methanolic extract of a: standard mix, b: raw lentils, c: cooked lentils and d: cooking water. Peaks numbers correspond to those reported in Table 2

**The effect of cooking on antioxidant activity**

Two different antioxidant activity assays were used to evaluate the effect of cooking on the antioxidant capacity of studied lentils. Table 3 displays the total antioxidant capacity of raw, cooked lentils and cooking water. DPPH radical scavenging activity expressed in IC<sub>50</sub> values of the different methanolic extracts ranged from 14.46 µg ml<sup>-1</sup> to 35.14 µg ml<sup>-1</sup>. In the ABTS assay, IC<sub>50</sub> values ranged from 100.57 µg ml<sup>-1</sup> 147.84 µg ml<sup>-1</sup>. The IC<sub>50</sub> is generally inversely proportional to the antioxidant capacity of the phenolic compounds. According to the obtained results, antioxidant activity appears to be affected by cooking for both tests (DPPH and ABTS). All studied extracts showed scavenging activity of DPPH and ABTS radicals. The highest activity is recorded in the raw lentil extract, followed by the cooked lentil extract. However, the significantly lower (*p*<0.05) antioxidant capacity was observed in cooking water when compared with the antioxidant capacities of fresh and cooked lentils.

**Table 3.** IC<sub>50</sub> (µg ml<sup>-1</sup>) values of methanolic extracts for free radical scavenging activity by DPPH and ABTS radicals

Parameter	DPPH assay	ABTS assay
α-TOC	16.30±0.79	9.88±0.23
BHT	58.86±0.50	1229±0.67
Raw lentils	14.46±0.23 <sup>c</sup>	100.57±1.34 <sup>c</sup>
Cooked lentils	30.35±0.76 <sup>b</sup>	110.79±1.23 <sup>b</sup>
Cooking water	35.14±0.90 <sup>a</sup>	147.84±0.65 <sup>a</sup>

Different letters indicate significant difference at *p*≤0.05

The obtained results in this study do not agree with those reported by Xu and Change [40]. Rice- Evans et al. [41] report that the antioxidant activity of phenolic compounds in vegetables depends on the structure, in particular the degree and positions of the hydroxyl groups. Likewise, Makris and Rossiter [22] suggest that the cooking caused a number of changes in amount and structure of polyphenols, which could affect the antioxidant capacity. This may explain the decrease in antioxidant activity despite increasing levels of total polyphenols, flavonoids and tannins. Furthermore, each phenolic compound has a degree of affinity (high or low) for the free radical DPPH, which could influence the observed variations in antioxidant potency [42]. Indeed, different compounds other than polyphenols, resulting from the Maillard reaction, could also be responsible for the antioxidant capacity [43]. Nicoli et al. (1999) [44] was indicated that the decrease in

antioxidant capacity was relative to the loss of native antioxidant molecules, as well as the production of new prooxidant compounds.

## Conclusion

The findings from the present study indicate that the heat treatment affect significantly total polyphenols, flavonoids and tannins as well as antioxidant capacity of lentils. The highest content of polyphenols was recorded for cooking water with an increase of 141.69% and the lowest for lentils cooked with a reduction of 41.98%. The same finding was observed for the flavonoid content, where the cooking caused a reduction of 41.19%. However, cooking treatment showed a positive effect on the tannin content of cooked lentils compared to that of raw lentils. The tannins evaluated in the cooking water are markedly high. Neofomed compounds were detected by LCMS/MS. As for the antioxidant activity (DPPH and ABTS), the cooking process have shown a negative impact. The highest activity was found in the raw lentil extract and the lowest was found in the cooking water.

## Acknowledgements

The authors are thankful to Dicle University, Science and Technology Research, Application Center (DUBTAM), Turkey and Laboratory of Biotechnology and food control for its support in this study.

## References

- [1] Tharanathan, R.N; Mahadevamma, S., Grain legumes – a boon to human nutrition. *Trends in Food and Science Technology*, **2003**, *14*, 507-518.
- [2] Uebersax, M. A; Occena, L. G. Legumes in the Diet. *Elsevier Science*, **2003**, 3520-3528.
- [3] Heimler, D; Vignolini, P.; Giulia Dini, M.; Annalisa Romani, A., Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **2005**, *53*, 3053-3056.
- [4] Amarowicz, R.; Pegg, R., Legumes as a source of natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **2008**, *110*, 865-878.
- [5] Han, X; Shen, T; Lou, H., Dietary polyphenols and y their biological significance. *Int. J. Mole. Sci.*, **2007**, *8*, 950-988.
- [6] Azevedo, D; Tacnet, F; Delaunay, A; Rodrigues-Pousada, C; Toledano, MB., Two redox centers within Yap1 for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and thiol-reactive chemicals signaling. *Free Radic Biol Med*, **2003**, *35*(8), 889-900.



- [7] Aparicio-Fernández, X; Loza-Cornejo, S; Guadalupe, M; Torres, B; Velázquez-Placenci, N., Chemical and morphological characterization of *Mammillaria uncinata* (Cactaceae) fruits. *J. PACD*, **2013**, *15*, 32-41.
- [8] Dong, M.; He, X.J; Liu, R.H., Phytochemicals of black bean seed coats: Isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidative activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2007**, *55*, 6044-6051.
- [9] Benbrook, C.M., Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing. *The Organic Center, Foster*, **2005**, RI 81.
- [10] Wani, I. A; Sogi, D. S; Wani, A. A; Gill, B. S. Physical and cooking characteristics of some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **2017**, *16*(1), 7-15.
- [11] Knorr, D., Process assessment of high-pressure processing of foods: An overview. 249-267. In: Oliveira, F.A.R.; Oliveira J.C. (Eds.), *Processing foods. Quality optimization and process assessment*, Boca Raton, FL: CRC Press, **1999**.
- [12] Barkat, M; Kadri, F., Impact de deux modes de cuisson sur la teneur en polyphénols solubles de six légumes. *Revue de génie industriel*, **2011**, *6*, 41-4541.
- [13] Mujica, M-V; Granito, M; Soto, N., Importance of the extraction method in the quantification of total phenolic compounds in *Phaseolus vulgaris* L. Venezuela. *Interciencia*, **2009**, *34*(9), 650-654.
- [14] Ertas, A; Boga, M; Yilmaz, M.A; Yesil, Y; Hasimi, N; Kaya, M.S; Temel, H; Kolak, U., Chemical compositions by using LC-MS/MS and GC-MS and biological activities of *Sedum sediforme*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2014**, *62*(20), 4601-4609.
- [15] Slinkard, K; Singleton, V.L., Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, **1977**, *28*, 49-55.
- [16] Moreno, M.I.N; Isla, M.I; Sampietro, A.R; Vattuone, M.A., Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, **2000**, *71*, 109-114.
- [17] Sadasivum, S.; Manickam, A., *Biochemical methods*. New Age Int. Ltd., Tamilnadu Agricultural University, **2005**.
- [18] Ismail, A.; Marjan, Z.M.; Foong, C.W., Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chemistry*. **2004**, *87*, 581-586.
- [19] Zhang, D.; Hamauzu, Y., Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota* L.). *Food Agriculture and Environment*, **2004**, *21*, 95-100.

- [20] Turkmen, N.; Sari, F.; Velioglu, Y.S., The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, **2005**, *93*, 713-718.
- [21] Dewanto, V.; Wu, X.Z.; Liu, R.H., A Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, *50*, 4959-4964.
- [22] Makris, D. P; Rossiter, J. T., Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and Asparagus spears (*Asparagus officinalis*): effet on flavonol content and antioxidant status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2001**, *49*, 3216.
- [23] Renard, C.M.G.C., Effects of conventional boiling on the polyphenols and cell walls of pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2005**, *85*, 310-318.
- [24] Kutos, T; Golob, T; Kac, M; Plestenjak, A., Dietary fibre content of dry and processed beans. *Food Chemistry*, **2003**, *80*, 231-235.
- [25] Jones, P.; Vogt, T., Glycosyl transferases in secondary plant metabolism tranquilizers and stimulant controllers. *Planta J.*, **2001**, *62*, 148-150.
- [26] Vidal-Valverde, C ; Frias, J; Estrella, I; Gorospe, M.J ; Ruiz, R ; Bacon, J., Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *J Agric Food Chem.* **1994**, *42*, 2291-5.4.
- [27] Auger, C.; Al-Awwadi, N.; Bornet, A.; Rouanet, J.M.; Gasc, F.; Cros, G., Catechins and procyanidins in Mediterranean diet. *Food Res Int*, **2004**, *37*, 233-45.
- [28] Van Der Sluis, A.A.; Dekker, M.; Skrede, G.; Jongen, W.M., Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing pro-duction methods. *J Agric Food Chem*, **2002**, *50*, 7211-7219.
- [29] Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I., Phenolic composition of the cotyledon and theseed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *European Food Research and Technology*, **2002**, *215*, 478-483.
- [30] Dueñas, M. Sun, B. A.; Hernández, T.; Estrella, I.; Sprange, I., Proanthocyanidins composition in the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2003**, *51*(27), 7999-8004.
- [31] Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I., Assessment of *in vitro* antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry*, **2006**, *98*, 95-103.
- [32] Lea, A.G.H.; Arnold, G.M., The phenolics of ciders: Bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1978**, *29*(5), 478-483.
- [33] Amrani, J.K; Glories, Y., Etude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, **1994**, *28*, 303-317.

- [34] Macheix, J-J; Fleuriet, A; Manchado, S., Les composés phénoliques dans la plante: structure, biosynthèse, répartition et rôles. In: Cheynier, V.; Sarni, Manchado P., Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, **2005**, Paris, p. 510.
- [35] Makino, R.; Ohara, S.; Hashida, K., Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*, **2009**, *21(1)*, 45-49.
- [36] Bruneton, J., Composés phénoliques, acétates et shikimates. 123-124. In: *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie*, Technique et documentation Lavoisier, Paris, **1987**.
- [37] Lewinsohn, E.; Britsch, L.; Mazur, Y.; Gressel, J., Flavanone Glycoside Biosynthesis in Citrus: Chalcone Synthase, UDP-Glucose: Flavanone-7-O-Glucosyl-Transferase and -Rhamnosyl-Transferase Activities in Cell-Free Extracts. *Plant Physiology*, **1989**, *91(4)*, 1323-1328.
- [38] Clifford, M.N., Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1999**, *79*, 362-372.
- [39] Renard, C.M.G.C; Caris-Veyrat, C; Dufour, C.; Le Bourvellec, C., Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques*, **2014**, *42*, 125- 137.
- [40] Xu, B.; Chang, S., Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2009**, *57*, 4754-4764.
- [41] Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Bolwell, P.G.; Bramley, P.M.; Pridham, J.B., The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, **1995**, *22*, 375-383.
- [42] Heim, K.E.; Tagliaferro, A.R.; Bobilya, D.J., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **2002**, *13*, 572-584.
- [43] Manzocco L.; Calligaris, S.; Masrocola, D.; Nicoli, K.-C.; Lericci, C.-R., Review on nonenzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science Technology*, **2001**, *11*, 340–346.
- [44] Nicoli, M.; Anese, M.; Parpinel, M., Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, **1999**, *10(3)*, 94-100.

The aims of this study are to measure the content of phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, tanins and anthocyanins), to estimate the anti-radical and antioxidant activity and to highlight the impact of cooking in water on five species of pulses (lens, chickpeas, peas, common beans and beans) which are widely consumed in Algeria. For comparison, two varieties for each species were studied.

To well characterize the polyphenols, flavonoids, anthocyanins and tanins, their profile was determined by the liquid chromatographic method coupled with mass spectroscopy (LCMS / MS). The main results obtained show that the species analyzed all contain phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, tannins and anthocyanins) with inter and intra varietal significant differences. Cooking has had a variable effect, sometimes positive and other times negative on the content and the anti- radical and antioxidant activity of the phenolic compounds.

The results of the DPPH<sup>•</sup> test, show that the extract of raw *Ibla* lens, the extract of the cooking water *Ibla* lens, the extract of the cooking water of chickpeas (two varieties) and Extracted from the cooking water *Oinward* peas contained great active compounds capable of reducing this free radical, since they acted at low concentrations. In contrast, the extract of raw *Oinward* peas was found to be the least effective. Also, the main results obtained from the ABTS<sup>•+</sup> Test indicates that the extract of cooked beans and their cooking water are the most potent. On the other hand, the extract of cooked *Oinward* peas proved to be the least effective. In fact, the cooking water has recovered significant amounts which exert significant anti- radical activities, particularly in the case of lens and beans. Similarly, newly formed phenolic compounds have been revealed in the cooking water, this is due to the degradation of the glycosylated forms and to the phenomenon of diffusion.

Regarding the CUPRAC test, significant correlations have been established between antioxidant activity and certain phenolic compounds. These activities are either dose-dependent or structure-dependent.

The result of the present study confirms that legumes are an important source of phenolic compounds and which are considered to be natural antioxidants. To boost an individual's antioxidant status, it is desirable to consume the cooked seeds and the water from their cooking.

**Keywords:** Free radicals, antioxidants, anti-radical activity, phenolic compounds, pulses, cooking.

Cette étude a pour objectifs d'évaluer la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins et anthocyanines), d'estimer l'activité antiradicalaire et antioxydante et à mettre en évidence l'impact de la cuisson à l'eau sur cinq espèces de légumes secs (lentilles, pois chiches, petits pois, haricots secs et fèves) qui sont largement consommées en Algérie. A titre comparatif, deux variétés pour chaque espèce ont été étudiées.

Pour mieux caractériser les polyphénols, les flavonoïdes, les anthocyanines et les tanins, leur profil a été déterminé par la méthode chromatographique couplée à la spectroscopie de masse (LCMS/MS). Les principaux résultats obtenus montrent que les espèces analysées contiennent toutes des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins et anthocyanines) avec des différences significatives inter et intra variétales. La cuisson a exercé un effet variable, parfois positif et d'autres fois négatif sur la teneur et le pouvoir antiradicalaire et antioxydant des composés phénoliques.

Les résultats obtenus du test de DPPH<sup>•</sup> montrent que l'extrait des lentilles (Var. *Ibla* crue), l'extrait de l'eau de cuisson des lentilles (Var. *Ibla*), l'extrait de l'eau de cuisson des pois chiches (les deux variétés) et l'extrait de l'eau de cuisson des petits pois (Var. *Oinward*) ont renfermé de puissants composés actifs capables de réduire ce radical libre, puisqu'ils ont agi à des faibles concentrations. Par contre, l'extrait des petits pois crus (Var. *Oinward*) s'est avéré le moins efficace. De même, les principaux résultats obtenus du test de l'ABTS<sup>•+</sup> indiquent que l'extrait des fèves cuites et de leurs eaux de cuisson sont les plus puissants. Par contre l'extrait des petits pois crus (Var. *Oinward*) s'est avéré le moins efficace. En effet, l'eau de cuisson a récupéré des quantités non négligeables qui exercent des activités antiradicalaires importantes notamment dans le cas des lentilles et des fèves. De même, des composés phénoliques néoformés ont été révélés dans les eaux de cuisson, ceci est dû à la dégradation des formes glycosylées et au phénomène de diffusion.

Concernant le test CUPRAC, des corrélations significatives ont été établies entre l'activité antioxydante et certains composés phénoliques. Ces activités sont soit dose-dépendante, soit structure-dépendante.

Les résultats de la présente étude confirment que les légumineuses sont une source importante des composés phénoliques et qui sont considérés comme antioxydants naturels. Pour renforcer le statut antioxydant de l'individu, il est souhaitable de consommer les graines cuites et les eaux de leur cuisson.

**Mots clés :** Radicaux libres, antioxydants, activité antiradicalaire, composés phénoliques, légumes secs, cuisson.

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم محتوى المركبات الفينولية والنشاط المضادة للأكسدة لثلاثة أنواع من تهدف هذه الدراسة إلى تقييم محتوى المركبات الفينولية (البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص والأنثوسيانين) ، لتقدير النشاط المضاد للجذور الحرة ومضادات الأكسدة وإبراز تأثير الطهي في الماء على خمسة أنواع من البقول (العدس والحمص والبازلاء و الفاصوليا والبقول) التي تستهلك على نطاق واسع في الجزائر. للمقارنة ، تم دراسة فصليتين لكل نوع.

لتوصيف البوليفينول والفلافونويد والأنثوسيانين والعفص بشكل أفضل ، تم تحديد ملفها بالطريقة الكروماتوجرافية المقترنة بالتحليل الطيفي الشامل (LCMS / MS). أظهرت النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها أن جميع الأنواع التي تم تحليلها تحتوي على مركبات فينولية (البوليفينول الكلي والفلافونويد والعفص والأنثوسيانين) مع وجود اختلافات كبيرة بين الأصناف وداخلها. كان للطهي تأثير متغير ، إيجابي في بعض الأحيان ، وفي أحيان أخرى تأثير سلبي على المحتوى والقوة المضادة للجذور الحرة ومضادات الأكسدة للمركبات الفينولية.

النتائج التي تم الحصول عليها من اختبار DPPH<sup>•</sup> تبين أن مستخلص العدس (*Ibla*) ، و خلاصة ماء الطبخ من العدس (*Ibla*) ، و خلاصة ماء طبخ الحمص (كلا الصنفين) و المستخلص من ماء طهي البازلاء (*Oinward*) يحتوي على مركبات نشطة قوية قادرة على تقليل هذه الجذور الحرة ، لأنها تعمل بتركيزات منخفضة. في المقابل ، وجد أن مستخلص البازلاء النيئة (*Oinward*) هو الأقل فعالية. وبالمثل ، فإن النتائج الرئيسية التي تم الحصول عليها من  $ABTS^{+•}$  تشير إلى أن مستخلص الفول المطبوخة ومياه الطهي هي الأكثر فعالية. من ناحية أخرى ، أثبت مستخلص البازلاء المطبوخة (*Oinward*) أنه الأقل فعالية. في الواقع استعاد ماء الطهي كميات كبيرة مما أدى إلى ممارسة أنشطة كبيرة ضد الجذور الحرة ، خاصة في حالة العدس والبقول. وبالمثل ، تم الكشف عن المركبات الفينولية حديثة التكوين في ماء الطهي ، ويرجع ذلك إلى تحلل أشكال الجليكوزيلات وظاهرة الانتشار.

فيما يتعلق باختبار CUPRAC ، تم إنشاء ارتباط كبير بين نشاط مضادات الأكسدة وبعض المركبات الفينولية. هذه الأنشطة إما تعتمد على الجرعة أو تعتمد على الهيكل.

تؤكد نتائج الدراسة الحالية أن البقوليات مصدر مهم للمركبات الفينولية والتي تعتبر من مضادات الأكسدة الطبيعية. لتعزيز حالة الفرد ، من المستحسن تناول البذور المطبوخة وماء الطبخ كمضاد للأكسدة.

**الكلمات المفتاحية:** الجذور الحرة ، مضادات الأكسدة ، النشاط المضاد للجذور الحرة ، المركبات الفينولية ، البقول ، الطبخ.