

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA -BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie

Réf :.....

Mémoire

Présenté par

Zerari Meriem

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Valorisation des cosse des haricots par extraction des substances
bioactives**

Soutenu le : **07/07/2025**

Devant le Jury composé de:

Mr Benadjaoud .A
MmeArkoub.L
MmeSlimani.S
MmeLaib.Y

MCA
MCB
MAA
MAA

Président
Encadrante
Co-Encadrante
Examinatrice

AnnéeUniversitaire:2024/2025

Remerciements

Avant tout, je remercie dieu le tout puissant de m'avoir accordé la santé, la force, la patience et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Mes vifs remerciements, à ma promotrice Mme ARKOUB Sonia, pour ses orientations, ses conseils, son encadrement et d'avoir accordée sa confiance pour mener à terme cette étude.

Je tiens à remercier également madame KASMI Souad et madame SLIMANI Sakina, ainsi que l'ensemble du personnel de la faculté de la science de la nature et de la vie pour leur accueil, appui technique et les conditions favorables mises à disposition durant cette période de recherche.

Ma profonde gratitude s'adresse aussi aux membres de jury qui me font l'honneur d'accepter et d'évaluer ce travail.

Très reconnaissante envers tous les enseignants de la faculté Science et de la vie, qui m'ont prodigué leurs enseignements tout au long de mon cursus universitaire. Sans oublier ma famille, pour ses encouragements, son soutien moral tout au long de cette aventure.

Enfin, j'exprime ma gratitude à mes ami(e)s, et à toute personne qui a contribué de près ou de loin, directement ou indirectement par leurs conseils et leur présence rassurante à l'élaboration de ce mémoire.

Merci à toutes et à tous!!

Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes parents **Nadia et Ramtane**, dont le soutien indéfectible, l'amour inconditionnel et les sacrifices m'ont permis d'atteindre cet accomplissement. Leur confiance en mes capacités a été un moteur constant dans ma quête des avoir et de progrès.*

*A mes chères sœurs **Samia, Yasmine et Lydia***

*A mes grands-parents **Rachid, Saliha, Larbi et Nouara***

*A mes oncles, tantes, cousin(e)s et à toute la famille **Zerari et Bouyakoub**.*

Chaleureusement, je dédie ce travail à mes amies et copines

Nihad, Leticia, Yasmine ,Célina

Pour leurs encouragements et leur soutien moral. Merci d'avoir été présent dans les moments de doute et d'incertitude et d'avoir apporté une touche de légèreté dans ces années d'intenses études.

Aux professeurs pour l'enseignement exceptionnel qu'ils m'ont prodigué au cours de mes années de formation .Leur rigueur scientifique et leurs encouragements incessants m'ont permis de développer une approche analytique et une compréhension approfondie des enjeux biologiques.

A tous ceux qui à travers leur pensée, leur recherche ou leur partage de connaissances m'ont inspiré et guidé dans cette quête du savoir.

Je dédie ce mémoire à toute la promotion Biotechnologie microbienne 2024/2025.

MERTEM.ZERARI

Liste des abréviations

N	:Normalité
M	:Molarité
EAG	: Equivalent Acide Galique
EQ	: Equivalent Quercitine
EC	: Equivalent Catéchine
DPPH	:2,2 α -diphényl-1-picrylhydrazyl
FRAP	:Ferric Reducing Ability of Plasma (Pouvoir réducteur)
NO	:l'Oxydenitrique
μg	:Microgramme
mg	:Milligramme
ml	:Millilitre
C°	:Degré Celsius
<i>Ecoli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>S aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
Al	: Aluminium
AlCl₃	: Chlorure d'Aluminium
CO₂	: di-Oxyde de Carbone
FeCl₃	: Chlorure Ferrique
g	:gramme
HCl	: Acide Chlorhydrique
H₂SO₄	: acide sulfurique
BSA	: Bovine Serum Albumin
MS	:Matière Sèche
DCPIP	:2,6-Di Chloro Phénol Indo Phénol
UV-VIS	: Ultrat-Violet

Listesdesfigures

Figure01: Photographie des haricots Cocco de rose

Figure02:Classification des polyphénols(**Rambaran,2020**)

Figure03:Soxhlet extracteur (**Benchikhetal.,2023**)

Figure04:Photographie originale des haricots mouchetés

Figure05:Chélation de l'ion Aluminium par les flavonoïdes (**Lagnika,2005**)

Figure 06 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration (mg/ml)

Figure 07 : Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de concentration (mg/ml)

Figure08 : Effet antimicrobien exercé par les extraits des cosses des haricots mouchetées sur les souches : **A** : Escherichia coli ; **B** : Candida albicans ; **C** : Bacillus subtilis.

Liste des tableaux

TableauI: Composition nutritionnelle des cosses de Coco de Rose

TableauII: Teneurs en composés phénoliques des cosses de haricot

Tablede matière

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

01

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les légumineuses et les haricots	02
I.1. Intérêts des légumineuses	03
I.1.1. Intérêts nutritionnels	03
I.1.2. Intérêts légumineuses	03
I.2. Généralités sur les haricots	04
I.2.1. Classification botanique	04
I.2.2. Variétés des haricots en Algérie	04
II. Valorisation des cosses des légumineuses alimentaires	05
III. Types de valorisation des cosses	05
1. En alimentation animale	06
2. Compostage	06
3. Production d'énergie	06
4. Production de méthane	06
5. Valorisation par extraction des substances bioactives	06
5.1. Polyphénols totaux (composés phénoliques)	07
5.2. Flavonoïdes	07
5.3. Anthocyanes	08
5.4. Tanins condensés	08
5.4.1. Tanins condensés	08
5.4.2. Tanins hydrolysables	08
6. Sucres totaux	09
IV. Méthode d'extraction des composés bioactifs	09
IV.1. Méthode conventionnelle souclassiques	09
IV.1.1. Extraction par Macération	09
IV.1.2. Extraction pars oxhlet	09
IV.1.3. Extraction par décoction	10

IV.2. Méthodes d'extraction non conventionnelles	10
1. Extraction Assisté par Micro-ondes (EAM)	10
2. Extraction assisté par ultrasons	11
V. Activité antimicrobienne	11
V.1. Généralités	11
V.2. Mécanisme d'action des agents antimicrobiens d'origine végétale	11
V.3. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne	12

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériel et Méthode	13
I. Matière végétale	13
Séchage, Broyage et tamisage	13
II. Composition nutritionnelle	13
II.1. Taux d'humidité	14
II.2. Teneur en Cendres	14
II.3. Teneur en matière grasse	14
II.4. Teneur en sucres totaux	15
II.5. Teneur en protéine	15
II.6. Teneur en vitamine C	16
II.7. Teneur en fibres brutes	16
III. Dosage des antioxydants	17
III.1. Composés phénoliques	17
III.1.1. Extraction	17
III.1.2. Dosage des composés phénoliques	18
III.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux	18
III.1.2.2. Dosage des flavonoïdes	18
III.1.2.3. Dosage des anthocyanines	18
III.1.2.4. Dosage des tanins condensés.	19
III.2. Dosage des caroténoïdes	
IV. Evaluation des Activités antioxydante	20
IV.1. Pouvoir antiradical libre DPPH*	20
IV.2. Effet neutralisant du radical cationique ABTS*	20
IV.3. Pouvoir réducteur antioxydant ferrique (FRAP)	21

V. Activités antimicrobiennes	22
V.1. Souches bactériennes utilisées	22
V.2. Préparation de l'inoculum microbien	22
V.3. Test de la diffusion sur milieu solide (test des disques)	22
V.4. Analyse statistique	22

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I Résultats et discussions de la composition nutritionnelle	23
1. Taux d'humidité	23
2. Teneur en cendre	24
3. Teneur en matière grasse	24
4. Teneur en sucres totaux	24
5. Teneur en protéine	25
6. Teneur en Vitamine	25
7. Teneur en Fibres Brutes	26
II Dosage des composés phénoliques	27
1. Polyphénols totaux	27
2. Flavonoïdes	28
2.1. Anthocyanines	29
3. Tanins condensés	30
4. Caroténoïdes	30
III Activités antioxydantes	31
1. Pouvoir antiradical libre DPPH	31
2. Pouvoir antiradical ABTS	33
3. Pouvoir réducteur-antioxydant ferrique FRAP	33
4. Piégeage de l'oxyde nitrique NO	34

IV Activités antimicrobiennes	35
--------------------------------------	----

Conclusion	38
-------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

Les légumineuses occupent une place essentielle dans l'alimentation mondiale en raison de leur composition riche en protéines végétales, fibres, vitamines et minéraux, en fait des aliments essentiels pour la santé humaine, et contribuent à la prévention de nombreuses maladies métaboliques (**Bouchenak & Lamri-Senhadj, 2013**). Elles sont d'une importance agro-économique, avec une production mondiale annuelle qui excède les 80 millions de tonnes. En outre, elles ont une importance cruciale dans l'alimentation humaine.

Parmi ces légumineuses, le haricot commun (*Phaseolus vulgaris*) occupe une place dans de nombreux régimes alimentaires. Il est apprécié pour sa richesse en vitamines, protéines, fibres, minéraux, ainsi que pour son rôle dans la fixation biologique de l'azote (**Fortin, 1996**). D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 2013**), la production mondiale des haricots secs atteint 15.87 millions de tonnes. L'Algérie occupe le cinquième rang avec une production estimée à 186348 tonnes.

Cependant, 25 % de ces légumes sont jetés lors de la récolte ou des étapes de transformation, faute de respecter les normes de qualité de production. Ces déchets, incluant l'enveloppe des graines, les graines cassées, les cosques et d'autres résidus considérés comme sous-produits, peuvent être utilisés directement ou transformés en aliments technofonctionnels tels que la farine, des produits sans gluten ou des aliments riches en protéines destinés aux végétariens et aux personnes intolérantes (**Alfaro-Díaz et al., 2023**).

La valorisation des sous-produits agroalimentaires désigne l'ensemble des méthodes permettant de transformer des déchets organiques comme les cosques, les pelures, les tiges ou les noyaux. Bien que généralement traitées comme de simples déchets, les quantités massives de cosques générées chaque année par l'industrie des légumineuses renferment des composés bioactifs (antioxydants, fibres, vitamines...) qui, après caractérisation et extraction par des procédés adaptés, peuvent être transformés ou valorisés en ingrédients à haute valeur ajoutée pour le développement d'aliments fonctionnels (**Kumar K. S., 2021**).

L'objectif principal de notre étude est de valoriser un sous-produit/ou les cosques d'une variété (Coco de Rose) de légumineuses communément appelée haricots mouchetés. Notre étude se décline en plusieurs parties :

- Détermination de la composition nutritionnelle des cosques des haricots.
- Extraction et dosage des substances bioactives à savoir les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les tannins et les caroténoïdes.

- Étude de l'activité antioxydante in-vitro : évaluation de l'activité anti-radicalaire et analyse du pouvoir réducteur du fer.
- Étude de l'activité antimicrobienne vis à vis des souches bactériennes gramme positif et gramme négatif et une souche de levure.

Bien que cette variété soit largement utilisée, il y a très peu de recherches la concernant qui évaluent son profil nutritionnel, phytochimique, ainsi que ses propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, ce qui limite notre compréhension de son potentiel en tant que source nutritionnelle et thérapeutique.

Synthèse bibliographique

I. Les légumineuses et les haricots

Les légumineuses constituent une grande famille (*Fabaceae*) qui regroupe des plantes à visée ornementale, fourragère et, bien sûr, alimentaire. Ces dernières se répartissent en trois groupes : les légumes secs (lentilles, pois cassés, pois chiches, fèves, haricots secs ...), les oléagineux (arachide, soja ...) et les légumes à cosses (petit pois, haricots verts ...)(**Rémonde et Warland, 2017**).

I.1. Intérêts des légumineuses

I.1.1. Intérêts nutritionnels

La principale caractéristique des graines de légumineuses est leur teneur élevée en protéines (20-40% du produit sec). La qualité nutritionnelle d'une protéine se définit en premier lieu par sa composition en acides aminés, et sa digestibilité. Les protéines de légumineuses sont généralement riches en acides aminés indispensables et en particulier en lysine, mais elles sont relativement pauvres en acides aminés soufrés et en tryptophane. A ce titre, elles complètent très bien les protéines des céréales, généralement pauvre en lysine. La digestibilité des protéines végétale est souvent considérée inférieure à celle des produits animaux. Cette plus faible digestibilité est attribuée à la structure de la graine qui protège les protéines de l'attaque des enzymes digestives, et à la présence de composés qui bloque l'activité protéolytique de ces enzymes (facteurs anti trypsiques, tannins, ...). La cuisson entraîne une fragilisation de la structure de la graine, et une inactivation des inhibiteurs de protéase, améliorant ainsi la digestibilité des protéines. Les légumineuses ont une bonne source en fibres alimentaires, en acides gras insaturée, vitamines et sels minéraux et des antioxydants tels que les polyphénols (**Rémonde et Warland, 2017**).

Des recherches ont montré que la plupart des composés bioactifs des légumineuses ont des propriétés antioxydantes (**Mateos- Aparicio, 2012**), qui jouent un rôle dans la prévention de certaines maladies (**Rémonde et Warland, 2017, Ouazib, 2017**).

I.1.2. Intérêt écologique des légumineuses

Les plantes de la famille des légumineuses offrent un avantage dans le maintien de la fertilité des sols et le développement de systèmes de culture efficaces grâce à leur capacité d'établir une symbiose avec des bactéries du sol du genre *Rhizobium*. Cette association aboutit à la fixation de l'azote atmosphérique, qui représente un réel intérêt économique et écologique, ainsi qu'une solution alternative à l'utilisation azotés chimiques.

Ainsi, la rotation des cultures avec les légumineuses est conçue comme une source de diversification et d'élimination des cycles des maladies, des ravageurs et des mauvaises herbes, générant ainsi une amélioration de la sécurité alimentaire et des revenus économiques. Une augmentation de rendement des céréales suite à la rotation des légumineuses ont déjà été rapportées par plusieurs travaux de recherches (**Mansouri , 2021 ; Ouazib, 2017**).

I.2.Généralités sur les haricots

Les haricots commun *Phaseolus vulgaris* est une plante herbacée et annuelle appartient à la famille des Fabacées, et selon la répartition géographique, la plupart des espèces appartient au genre *Phaseolus* sont originaires d'Amérique centrale et des Andes (Amérique du Sud) (**Chaux et Foury 1994**).

I.2.1. Classification botanique

Le Haricot, ou Haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.), est une plante de la famille des Fabaceae (Papilionacées), et classifié selon **Chaux et Foury (1994)** et **Charles (1998)** comme suite :

Règne:Plantae

Sous-règne:Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille:Fabaceae

Genre:*Phaseolus*

Espèce:*Phaseolusvulgaris*

I.2.2. Variétés des haricots en Algérie

D'après, Ioutichène (2012) cité par **Mansouri (2020)** mentionne l'introduction de 17 variétés de Haricot sec : Big Borloto, Bronco, Coco de Prague, Coco Rose, Condender, Djadida, Goya, Hadiya, Ifri, Jeto, Matilda, Michelet, Mosta, Rondo, Sun Ray, Super Violet et Topper.

Selon l'institut technique des cultures maraichères et industrielles (**ITCMI, 2010**) de Staouali à Alger, les haricots les plus cultivées en Algérie sont :

- Haricot nain mange tout: Contender, Djedida, Molière.
- Haricot nain à écosser : Coco de Prague, Pactole, Coco de Rose,
- Haricot à rames mange tout: Sidi Fredj, Blanc de juillet
- Haricot à rames à écosser : Coco blanc, Coco de Prague.

Variété Coco de Rose

La variété Coco de rose est, également appelée haricots Borlotti, une variété des haricots commun (*Phaseolus vulgaris* .L) appartenant au groupe des haricots nain à écosser, elle se distingue par ses grains de forme ovoïde, de couleur crème ou blanc mouchetée de rose à rouge. Cette variété est largement cultivée en Europe notamment en Italie, et appréciée pour sa valeur nutritionnelle, riche en protéine en fibre, minéraux et composés phénoliques.



Figure01:photographie des haricots Cocco de rose

II. Valorisation des cosses des légumineuses alimentaires

Des quantités très importantes de déchets engendrés durant le traitement des plantes alimentaires, entraînent un danger à l'environnement et des couts assez élevés pour leur élimination. Les légumineuses alimentaires sont consommées après un simple procès industriel gousses où les graines consommées en état frais ou conservées par diverses manières par congélation ou par appertisation et les cosses sont écartées. Ces dernières sont considérées comme des sous-produits naturels d'origine végétale (**Mateos-Aparicio *et al.*, 2010**).

La valorisation par définition est l'ensemble des procédés permettant de transformer des déchets, résidus ou sous -produits en ressources utiles, matériaux réutilisables ou énergie. Elle repose sur des méthodes physico –chimiques, biologiques ou thermiques, afin de les

Transformer en produits ayant une nouvelle valeur, tout en contribuant à la réduction des pertes, à la préservation des ressources naturelles et à l'innovation dans divers secteurs comme l'agro alimentaire, ou les matériaux et d'autres. Selon L'agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (A.D.E.M.E, 2019).

II. Types de valorisation des cosses

Pour minimiser les problèmes liés à l'environnement suite au cumul de ces sous-produits sur le sol. La valorisation de ces sous-produits peut se réaliser par plusieurs façons :

1. **En alimentation animale** : Ces sous-produits peuvent être utilisés directement en alimentation animale ou après l'ensilage.
2. **Compostage** : Les cosses se décomposent et enrichissent le sol en nutriments, favorisant ainsi la fertilité du sol.
3. **Production d'énergie** : Toute opération de valorisation qui consiste à utiliser les calories contenues dans les déchets en brûlant et en récupérant l'énergie ainsi produite pour produire de l'électricité ou de la chaleur comme l'incinération qui permet la réduction de 90% du volume.
4. **Production de méthane**

Elle consiste en une décomposition anaérobie de déchets organiques, de fermentescibles (déchets verts, déchets aménagés, déchets alimentaire) et produit de gaz combustible principalement composé de méthane (CH_4) En absence d'oxygène.

5. Valorisation par extraction des substances bioactives

Parmi les substances qui peuvent être extraites à partir des cosses des légumineuses :

5.1-Polyphénols (Composés phénoliques): ils se présentent sous forme conjugués avec des polysaccharides et des monosaccharides, qui unissent un ou plusieurs composés phénoliques (Balasundraet al., 2006). Ils comprennent les flavonoïdes, les tannins, les acides phénoliques, les phénols simples et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique. Les composés phénoliques sont classés en différentes classes, comme le montre la **Figure 02**. Ils sont toxiques pour les micro-organismes en raison de la présence de plusieurs groupes hydroxyles sur les phénols. Ces composés sont généralement classés selon leur origine, leur fonction biologique et leur Structure chimique (Tsao, 2010). Plusieurs études focalisées sur l'extraction des composés phénoliques à par des cosses des petits pois, des fèves et l'évaluation de l'activité antioxydante par différents tests. Leurs résultats ont montré que ces

Sous- produits peuvent être considérés une source potentielle en antioxydants parfois mieux que les graines entières (**Mateos-Aparicio, 2010**).

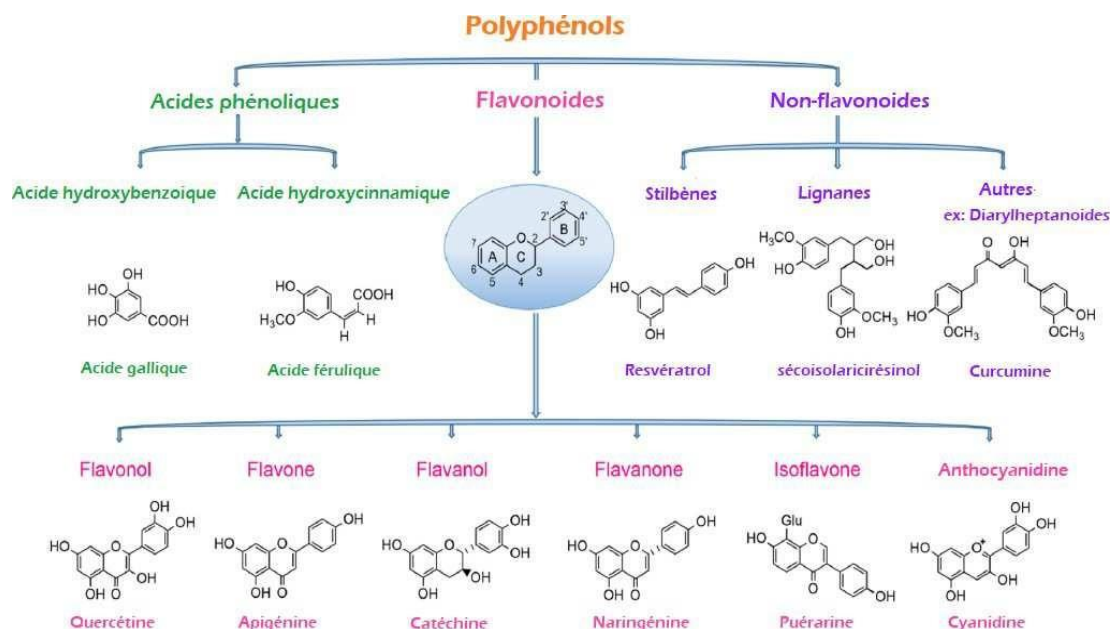


Figure02 : Classification des polyphénols (Rambaran,2020)

5.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe des métabolites secondaires, appartenant aux composés polyphénolique de faible Poids moléculaire, doté d'une structure carbonée C6-C3-C6 formant deux cycles aromatiques reliés par une chaîne de trois atomes de carbone (**Harborne, 2013**). Ils forment généralement un hétérocycle contenant un atome d'oxygène (**Bravo, 1998**). Leur biosynthèse repose sur deux voies distinctes : l'anneau A est dérivé de la voie de l'acétate, avec un hydroxylation en position méta, tandis que l'anneau B provient de la voie du shikimate, présentant un hydroxylation en position 4'. (**Singleton, 1981**).

Les flavonoïdes sont classés en sept sous-classes en fonction des modifications de leur squelette de base ; ces sous-classes comprennent les flavones, les flavanones, les isoflavones, les flavonols, les chalcones, les flavanols et les anthocyanes. (**Zakaryan et al., 2017**).

5.3 Anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles végétaux, appartenant aux métabolites secondaires, résultant de leur réactivité élevée en tant que donneurs d'électron, ce qui leur confère des propriétés importantes. Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles résultant de leur réactivité élevée comme donneurs d'électron (**Duan et al., 2007**).

Ces composés sont responsables des couleurs rouge, bleue et violette observées dans diverses parties de la plante, comme les fleurs, les fruits, les feuilles en sénescence, les tiges, les racines, ainsi que parfois les graines (**Feild et al. 2001 ; Regan et al., 2001 ; Schaefer et al. 2004**).

Les anthocyanes sont responsables des couleurs rouge, bleue et violette dans diverses parties de la plante, comme les fleurs, les fruits, les feuilles en sénescence, les tiges, les racines, ainsi que parfois les graines (**Feild et al. 2001 ; Regan et al., 2001 ; Schaefer et al. 2004**).

5.4 Tanins

Les tanins sont un groupe unique de métabolites phénolique avec un poids moléculaire qui varie de 500 à 3000 g/mol. (**Serrano et al., 2009**). Présentant deux à trois groupes hydroxyles phénoliques sur un noyau aromatique, les tanins sont des composés fortement hydroxylés, ce qui leur confère une capacité élevée à interagir avec diverses biomolécules, notamment en formant des complexes insolubles avec les glucides et les protéines. Ils sont classés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (ou non hydrolysables) :

5.4.1 Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères de flavanes difficilement hydrolysables. Ils sont principalement constitués de molécules de catéchine et d'épicatéchine, reliées par des liaisons carbone-carbone. Lorsque ces structures comprennent deux à quatre unités, on les désigne sous le nom de procyanidines oligomères (**Pietta et al., 2003**).

5.4.2 Tanins hydrolysables

Ces composés sont des esters formés à partir d'acide gallique ou d'acide hexa hydroxydiphénique. Lorsqu'ils subissent une hydrolyse, ils libèrent respectivement de

L'acide gallique dans le cas des gallo tanins, et de l'acide ellagique à partir des ellagi tanins. (Zimmer et Cordesse, 1996).

6. Sucres totaux

Sont tous les sucres naturellement présents dans les plantes, produits par la photosynthèse, les glucides forment un groupe de composés, certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (glucose), soit sous forme de réserve (amidon) ; d'autres, ils exercent également un rôle biologique essentiel comme les signaux de reconnaissances (glycoprotéines, glycolipides, glycines) (WELL, 2001).

III. Méthode d'extraction des composés bioactifs

L'extraction des substances bioactives peut se faire par différentes méthodes:

III.1. Méthodes conventionnelles ou classiques

1. Macération

L'extraction par macération est un procédé simple consistant à immerger des matières végétales dans un solvant suivi d'une agitation constante à température ambiante. Après l'extraction, une séparation est appliquée pour séparer les parties solides du solvant. Cette séparation est généralement réalisée par filtration, décantation ou clarification (Cujic et al., 2016).

2. Extraction par Soxhlet

C'est une méthode d'extraction continue utilisée pour isoler des composés phénoliques des lipides et des acides gras (Kim,Murthy,Hahn, Lee et Paek,2007), elle est inventée par Franz Von Soxhlet en 1879. L'appareil Soxhlet est composé de trois compartiments principaux : un ballon à solvant, une chambre d'extraction et un condenseur (figure 02)

L'échantillon sec est placé dans une cartouche d'extraction. Le solvant est ensuite chauffé jusqu'à ébullition, puis sa vapeur se condense et retombe sous forme de gouttelettes sur l'échantillon. Une fois le niveau du siphon est atteint, le solvant enrichi en composés bioactifs est renvoyé dans un ballon. Ce cycle se répète automatiquement jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Penchev, 2010), il permet une

Extraction progressive et efficace des composés ciblés (Azmir *et al.*, 2013 ; Zougagh *et al.*, 2004)

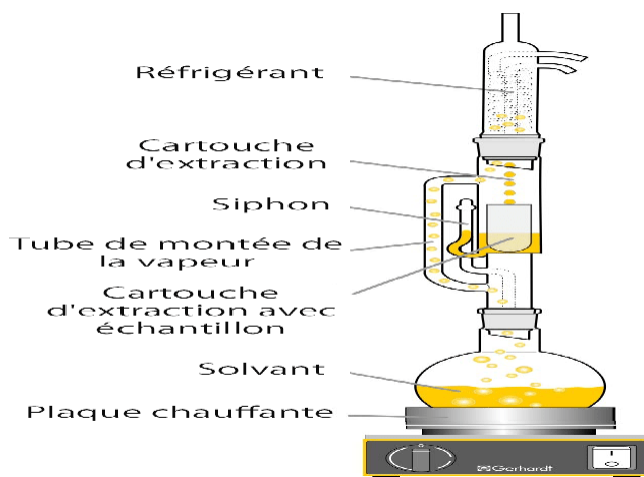


Figure03 : Soxhlet extracteur (Benchikh *et al.*, 2023)

3. Extraction par décoction

La décoction est une méthode d'extraction traditionnellement utilisée, que ce soit pour la préparation de boissons comme le thé ou pour les remèdes à base de plantes médicinales (Bohui *et al.*, 2018). Elle consiste à faire bouillir les matières végétales dans de l'eau afin d'extraire les substances actives qu'elles contiennent. Cette technique est généralement utilisée pour des plantes aux structures dures et fibreuses, comme les racines, les écorces ou les tiges, qui nécessitent une chaleur prolongée pour permettre la libération des composés. Grâce à son procédé simple et peu coûteux, la décoction reste une méthode de choix pour l'extraction des principes actifs hydrosolubles à partir de matrices végétales. (Benchikh *et al.*, 2023).

III.2. Méthodes d'extraction non conventionnelles

1. Extraction assistée par micro-onde (EAM)

L'extraction par micro-ondes est une méthode innovante de valorisation des composés bioactifs notamment les acides phénoliques et les flavonoïdes à partir des plantes

. elle repose sur le principe d'absorption de l'énergie électromagnétique par des molécules polaires contenues dans la matrice végétale (**Routray et Orsat, 2012 ; Jain *et al.*, 2013**).

Selon (**Mandal et al., 2007**), Cette interaction provoque un échauffement rapide, entraînant une augmentation de la pression intracellulaire, la rupture des parois végétales et facilitant l'extraction des composés d'intérêt.

Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques qui se propagent sous forme d'ondes et dont les fréquences varient généralement entre 0,3 et 300 GHz (**Wang et Weller, 2006**).

2. Extraction assistée par ultrasons

Cette implosion provoque la rupture des parois cellulaires, facilitant ainsi la libération et le transfert des composés bioactifs vers le solvant (**Vinatoru, 2001**) récemment été développée afin d'améliorer l'extraction des composés phénoliques (**Saci *et al.*, 2018; Barba *et al.*, 2016; Karabegović *et al.*, 2011**). Cette technique fait appel à des ondes ultrasonores de fréquences comprises entre 20kHz et 100MHz (**Azmir *et al.*, 2013**), ce qui améliore la perméabilité des cellules végétales et optimise le rendement de l'extraction .

IV. Activité antimicrobienne

1. Généralités

L'activité antimicrobienne fait références à la capacité d'un composé naturel, synthétique ou d'un extrait biologique a inhibé la croissance, réduire la viabilité ou détruire les microorganismes (bactéries, virus, champignons) (**Perreault, F. (2014)**). Parmi ces agents, on retrouve les antibiotiques, les antifongiques, et les antiviraux. Ils sont couramment utilisés en médecine humaine ainsi que dans le domaine agricole pour prévenir ou traiter les infections et favoriser la croissance animale.

La résistance aux antimicrobiens survient lorsque les micro-organismes deviennent insensibles aux agents appliqués, généralement suite à des mutations ou à l'acquisition de gènes de résistance. Ces micro-organismes résistants sont capables de survivre à l'action des agents antimicrobiens, rendent les traitements conventionnels inefficaces. Ces infections deviennent alors persistantes et présentent un risque accru de transmission à d'autres individus (**Biharee *et al.*, 2020**).

Le recours aux antimicrobiens végétale constitue un nouvel axe de recherche pour lutter contre cette résistance.

2. Mécanisme d'action des agents antimicrobiens d'origine végétale

Les métabolites secondaires des plantes constituent un groupe important de substances antimicrobiennes. Parmi ces composés, on trouve les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et les acides gras à longues chaînes. Ces substances sont capables d'inhiber la croissance des microorganismes et de détruire leur viabilité par divers mécanismes d'action.

Certains composés perturbent la perméabilité membranaire, d'autres inhibent la synthèse des protéines, de l'ADN ou de la paroi cellulaire, bloquant ainsi la croissance et la division des microorganisme sou bien par l'interférence avec les systèmes de signalisation ou de communication bactérienne (quorum sensing), limitant la virulence et la formation de biofilms (**Klančnik et al., 2010 ; farha et al., 2020**).

3. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer le pouvoir antibactérien d'extraits de plantes, à savoir, les méthodes de diffusion et les méthodes de dilution. La méthode de diffusion, consiste à déposer l'extrait à tester sur un disque de papier ou dans un puits creusé dans une gélose préalablement ensemencée avec le microorganisme. Après incubation, l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque ou de puits indique l'activité antimicrobienne, dont l'intensité est estimée par la mesure du diamètre de la zone de d'inhibition.

Alors que pour la méthode de dilution, elle est appliquée en milieu solide ou liquide, consistent à exposer un inoculum bactérien standardisé à des concentrations croissantes de la substance antimicrobienne testée, selon une échelle prédéfinie. L'objectif principale est de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance visible du micro-organisme (**Klančnik et al., 2010**).

Matériels et Méthodes

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Les haricots Coco de Rose appelés communément les haricots mouchetés ont été achetés en mois de juin 2024 du marché Boudrahem, ville de Bejaia récoltés de région HAttatba wilaya de Tipaza (**figure 04**). L'identification de la légumineuse a été effectuée par l'Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles sis à Staouali Alger (ITCMI).



Figure04: photographie originale des haricots mouchetés

Séchage, broyage et tamisage

La séparation des grains des gousses a été faite manuellement. Les sous – produits (cosses) ainsi obtenu sont été séchés à l'étuve à 40°C (**Kablanet al., 2008**), jusqu'à la stabilisation du poids. Par la suite, le sous-produit séché a été broyé à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre de granulométrie plus ou moins fine (**Awikaet al., 2004**). Le tamisage est réalisé avec une série de tamis « RETCHE » dont le diamètre des mailles est compris entre 500 μm et 250 μm . Les poudres avec un diamètre inférieur à 250 μm ont été retenues pour effectuer les analyses. Les poudres ainsi obtenues sont été conservées dans des flacons en verre fumé et à température ambiante pour éviter l'oxydation de leurs différents composés.

II. Composition nutritionnelle

La composition nutritionnelle d'un échantillon fait référence à l'ensemble des nutriments qu'il contient et à leur quantité. Deux catégories de nutriments : les macronutriments tels les sucres, les fibres, eau, les lipides et protéines et les macroéléments dont il ya les vitamines et les minéraux.

II.1. Taux d'humidité

Ce test permet la perte en eau d'une masse d'un échantillon après séchage à une température bien précise. La teneur en eau du l'échantillon de la présente étude est déterminée selon la méthode du **(Nwinuka, 2005)**. Une masse de 5g a été introduite dans une coupelle où le poids de cette coupelle est préalablement déterminé (P_1), puis l'ensemble a été pesé et noté (P_2). La coupelle a été introduite par la suite dans une étuve préchauffée à $105\pm 1^\circ\text{C}$ pendant 2h, puis refroidie dans un dessiccateur pendant 30 minutes avant de peser l'ensemble (P_3). Les résultats sont exprimés en g/100g de matière sèche, calculés comme suit :

$$\text{Teneur en humidité} = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

II.2. Taux de cendres

Le taux de cendres permet d'évaluer la quantité en éléments minéraux inorganiques présents dans la poudre, après incinération à une température de 550°C pour éliminer toute matière organique et l'eau. Il est déterminé selon le protocole de **(AOAC., 1995)**. Une masse de 5g de la poudre a été introduite dans un creuset en porcelaine préalablement taré (P_1), puis l'ensemble a été pesé et noté (P_2). Par la suite, le creuset est retiré, placé dans un dessiccateur et laissé refroidir complètement à température ambiante. Le poids du creuset contenant la cendre est déterminé (P_3). Les résultats sont exprimés en g/ 100g de matière sèche, calculés comme suit :

$$\text{Teneur en cendres} = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \times 100$$

II.3. Teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse des cosses a été déterminée après extraction par l'appareil Soxhlet, en utilisant l'étherdiéthylique comme solvant selon **(James, 1995)**. Une masse de 10g de poudre (P) a été introduite dans une cartouche. Cette dernière est placée dans la chambre

D'extraction de l'appareil Soxhlet avec un volume d'environ 180 ml de l'étherdiéthylique utilisé comme solvant d'extraction a été placé dans un ballon à fond rond préalablement taré (P_1). L'extraction est effectuée à une température de 60 °C. Après l'extraction, les traces du solvant ont été éliminées par évaporation dans une étuve ventilée pendant 24h, le ballon contenant la matière grasse a été pesé (P_2).

La teneur en matière grasse (MG) est exprimée en g/ 100g de matière sèche selon la formule suivante :

$$MG = ((P_2 - P_1) / P) \times 100$$

II.4. Teneur en sucres totaux

La teneur en sucres totaux est déterminée par la méthode colorimétrique à l'anthrone en suivant le protocole de **Kubrak et al. (2012)**, après avoir fait une extraction de ces composés avec l'éthanol aqueux. Une prise d'essai de 100mg de poudre est mélangée avec 10ml d'éthanol aqueux à 70% sous agitation au vortex pendant 3 minutes. Puis une incubation a été faite au bain marie pendant 10 minutes à 80°C puis centrifugée à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un volume de 0,5 ml du surnageant récupéré, mélangé à 1 ml de solution d'anthrone, agité au vortex pendant 3 minutes puis incubé au bain marie à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, une lecture d'absorbance à 625 nm est réalisée. Les résultats sont exprimés en mg équivalent par gramme de poudre en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec le D- glucose.

II.5. Teneur en protéines

La teneur en protéines est un critère de qualité et de valeur nutritionnelle important de nombreux alimentaires et sous-produits naturels. Le dosage est réalisé selon le principe de la méthode colorimétrique de Bradford décrite par **Akasha et ses collaborateurs (2012)** après avoir fait une extraction des composés présents dans le sous-produit de la présente étude.

Une masse de 0,5 mg de poudre est mélangée avec 50 ml d'eau distillée sous agitation, le Ph est ajusté à 10 par NaOH (0,1M). Le mélange a subi une agitation pendant une 1 heure à température ambiante. Après, une centrifugation a été effectuée à 4000 tpm pendant 20 minutes. Le surnageant récupéré et le culot a subi une deuxième extraction dans les mêmes

Conditions. Après récupération de l'extrait, un volume 30 µl est ajouté à 1,5 ml de solution de bleu de Coomassie puis incubés pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'interaction de bleu de Coomassie avec les protéines génère un complexe bleu qui absorbe à 595 nm. La teneur en protéine est déterminée en g/100g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage établie la BSA (Bovin Sérum-albumine) comme molécule de référence à des concentrations allant de 0,2 à 1,4 mg/ ml.

II.6. Teneur en Vitamine C

Le dosage est basé sur l'oxydation de la vitamine C par une solution de DCPIP (2,6-dichlorophénolindophénol) en milieu acide (**Hughes, 1983**). La teneur en acide ascorbique est déterminée selon la méthode décrite par **Klein et Perry, (1982)**, avec quelques modifications. Le protocole d'extraction de la vitamine C ou de l'acide ascorbique consiste à mélanger une masse de 2 g de poudre avec 10 ml de l'acide oxalique sous agitation à température ambiante 30 minutes suivie d'une centrifugation. Un volume de 100ul de l'extrait est mélangé avec 1 ml de DCPIP puis une lecture d'absorbance à 515 nm est réalisée. Les résultats sont exprimés en gramme pour 100 g de matière sèche en se référant à la formule suivante :

$$VC\% = \frac{ABSC - ABSE}{ABSC} \times 100$$

Où :

VC : Vitamine C en %.

ABSC : Absorbance du contrôle.

ABSE : Absorbance de l'extrait.

2.7. Teneur en fibres brutes

Le protocole d'extraction des fibres brutes des cosques de Coco de Rose est réalisé selon la **méthode AACC 32-10.01.2000** a pour but d'isoler la fraction insoluble dite fibres brutes du sous-produit en éliminant les composants solubles par hydrolyse successives, cette méthode

Repose sur la digestion, dans le système d'extraction Fibrotec, de composés non cellulotiques contenant dans une prise d'essai de 1 g en premier lieu par l'acide sulfurique à 1,25% en ébullition pendant 30 minutes afin d'extraire les sucres et l'amidon, suivi d'une filtration et d'un lavage à l'eau distillée. Une deuxième digestion a eu lieu avec KOH à 1,25% pour extraire les protéines et une partie de l'hémicellulose et de la lignine suivie d'un lavage à l'acétone. Après un séchage des creusets contenant les résidus des fibres brutes à l'étuve à 105 °C pendant 1 heures suivi d'une incinération dans à 525°C pendant 3 heures. La teneur en fibres brutes dans l'échantillon est exprimée en g/100g de matière sèche, est calculée en reposant sur la formule suivante :

$$FB = ((M1 - M2) / M) \times 100$$

Où :

M : Poids de la prise d'essai ;

M₁ : Poids du résidu après séchage à 105°C

M₂ : Poids du résidu après l'incinération.

III. Dosage des antioxydants

III.1. Composés phénoliques

III.1.1. Extraction

Les composés phénoliques font partie des métabolites secondaires les plus répandus chez les plantes. Ces métabolites renferment plusieurs classes. Vu leur diversité, plusieurs protocoles d'extraction proposés dans la bibliographie. La méthode adoptée dans ce travail est de type solide / liquide, réalisée suivant la méthode décrite par **Bravo et Saura-Calixto, (1998)**. Une quantité de 1g de poudre est extraite en premier lieu avec 40 ml méthanol / eau (50 :50, v / v) à température ambiante pendant une heure sous agitation mécanique, ensuite le mélange a été centrifugé à 3000 tpm pendant 15 min. Le surnageant a été récupéré dans une éprouvette alors que le résidu va subir une autre extraction en utilisant 40ml de l'acétone / eau (70 :30, v/v) pendant une heure sous agitation continue et à température ambiante. Après, le

Mélange a été centrifugé à 3000 tpm pendant 15 min, le surnageant est récupéré et combiné avec le premier, le volume de l'extrait est ainsi ajusté à 100 ml avec l'eau distillée. L'extrait obtenu est versé dans une bouteille en verre ambré et stocké à - 20°C.

III.1.2. Dosage des composés phénoliques

Dans le but d'évaluer qualitativement et quantitativement le contenu en composés phénoliques de l'extrait des cosses des haricots, variété Coco de Rose, quatre protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en composés phénoliques à savoir : les polyphénols totaux, les flavonoïdes, anthocyanines et les tanins condensés.

III.1.2.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon le protocole **d'Abdil et ses collaborateurs (2005)**. Un volume de 100µl d'extrait d'une concentration de 20mg /ml est additionné à un volume de 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu (1 :10). Après 4 minutes, 400µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% sont ajoutés. Le mélange réactionnel est bien mélangé puis incubé au bain marie pendant 10 min et l'absorbance est mesurée à 760nm. La concentration en polyphénols totaux est exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche, (mg EAG/g de matière sèche) en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 01).

III.1.2.2. Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est estimée selon la méthode utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3), rapportée par **Djeridane et al. (2006)**. 1,5 ml d'extrait sont mélangés à un volume de 1,5 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%, après incubation à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercitrine par gramme de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe 01).

III.1.2.3. Anthocyanines

La teneur en anthocyanines de l'échantillon de la présente étude est déterminée par la méthode **Ganjewala et al. (2008)**. Une prise d'essai de 1 g est additionnée de 10 ml de méthanol/HCl (0,1N), le mélange a subi une centrifugation 5000 tpm pendant 20 min. Un volume de 0,1 ml du surnageant a été additionné de 0,8 ml de méthanol /HCl (0,1N),

L'absorbance est mesurée à 530 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent cyanidine-3-glucoside par 100g d'échantillon (mg ECG/1g de matière sèche) en se basant sur la formule suivante :

$$C = \text{Abs} \times \text{MM} \times \text{FD} \times 1000 / \epsilon \times l$$

Où:

Abs : absorbance à 350nm

MM : Masse molaire de la cyanidine -3-glucoside(449,2g/mol)

FD : Facteur de Dilution

ϵ :Coefficient d'extinction molaire de la molécule de référence ($\epsilon=20000\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$;l)

l : trajet optique.

III.1.2.4. Tanins condensés

L'estimation du contenu en tannins dans l'extrait est réalisée suivant la méthode de **Julkunen-Titto, (1985)**, basée sur l'interaction des proanthocyanidines (flavanol-3) avec la vanilline en milieu acide. Ainsi, le complexe formé est de couleur rouge et peut être quantifié par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500nm (**Sun et al., 1998**). Un volume de 50 μl de l'extrait est mélangé avec 1500 μl d'une solution vanilline (4%). Après agitation, un volume de 750 μl d'acide chlorhydrique (HCl) est ajouté. Après une incubation de 20 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 550 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par g matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage (**Annexe 01**).

III.2.Caroténoïdes

Ces composés forment un groupe très important de pigments naturels responsables des couleurs rouge, orange et jaune de fruits, fleurs, légumes et algues. Ces métabolites renferment deux classes à savoir : les carotènes et les xanthophylles. En raison de leur structure chimique riche en doubles liaisons conjuguées, les caroténoïdes ont la capacité d'absorber la lumière à une longueur d'onde comprise entre 400 et 500 nm (**Brinttonet al . 1995**). L'extraction de ce groupe de composés est effectuée selon la procédure de **Sass-Kisset al. (2005)** qui consiste à traiter une masse de 1 g de poudre avec 20 ml d'un mélange de solvants hexane, acétone et éthanol (2/1/1,v/v/v) après agitation à température ambiante

pendant 10 minute. Le mélange laissé se reposer, la phase liquide récupérée et le résidu fait l'objet d'une deuxième extraction en utilisant le même solvant en suivant les mêmes étapes. Les liquides combinés, filtrés et transvasés dans une ampoule à décanter. Un volume de 30ml eau distillée est versé dans l'ampoule. La phase jaune est récupérée et servira au dosage des caroténoïdes par la lecture de son absorbance à 540 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent β - carotène / g de Matière sèche à partir d'une courbe d'étalonnage (**Annexe 01**).

VI. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait des cosse des haricots est évaluée *in vitro* par différents tests ; effet neutralisant des radicaux libres DPPH $^{\bullet}$, ABTS $^{+\bullet}$ et NO $^{\bullet}$ ainsi que le pouvoir antioxydant réducteur du Fer (FRAP).

VI.1. Effet neutralisant du radical DPPH $^{\bullet}$

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), un radical stable, caractérisé par une couleur violette en solution est réduit en sa forme non radicalaire DPPH (diphénylpicryl hydrazine) de couleur jaune qui absorbe à 517nm (**Que et al., 2006**). Un volume de 500 μ l d'extrait est ajouté à 1ml d'une solution DPPH (0,1M). Le mélange est ensuite incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min et une lecture d'absorbance à $\lambda = 517$ nm est réalisée (**Bektas et al., 2005**). L'effet neutralisant est exprimé en pourcentage d'inhibition, calculé selon la formule ci-après et en concentration neutralisant 50% du radical libre DPPH $^{\bullet}$ (IC50).

$$\text{Effet neutralisant (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où:

A_C et A_E sont les absorbances du control et de l'extrait respectivement.

VI.2. Effet neutralisant du radical cationique ABTS $^{+\bullet}$

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS. En effet ce dernier perd un électron pour former un cation (ABTS $^{+\bullet}$) de couleur bleue sombre en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS $^{+}$, ce qui entraîne la décoloration de la solution. L'effet de l'extrait sur la neutralisation

de ce radical est évalué selon la méthode de (**Re et al., 1999**). Un volume de 900 µl de solution radicalaire d'ABTS⁺ est mélangé avec 100 µl d'extrait. Le mélange est ensuite incubé à une température ambiante pendant 45 minutes suivi d'une lecture d'absorbance à 734 nm. La capacité scavenger du radical cationique ABTS^{•+} est également exprimée en pourcentage (%) en utilisant des concentrations croissantes de l'extrait.

$$\text{Effet neutralisant (\%)} = [(A_C - A_E) / A_C] \times 100$$

Où :

A_C et A_E sont les absorbances du control et de l'extrait respectivement.

VI.3. Pouvoir antioxydant réducteur du Fer (FRAP)

Le pouvoir réducteur de l'extrait évalué suivant la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power) décrite par **Benzie et Strain (1996)**, basé sur la réduction en milieu acide du complexe incolore 2,4,3-tri pyridyltriazine-ferrique (Fe (III)-TPTZ) à la forme ferreux (tripyridyltriazine- ferreux (Fe(II)-TPTZ)) de couleur bleue sombre. Un volume de 3ml de la solution FRAP (tampon acétate (300mM), pH=3,6 ; solution TPTZ (10 mM) dans HCl (40mM) ; (FeCl₃, 6H₂O) (20mM)) avec un rapport de (10 :1 :1), respectivement sont ajouté à 100µl des d'extrait. L'absorbance est mesurée à 593 nm après 5 min d'incubation à 37°C. Le pouvoir réducteur de l'extrait est exprimé en µM Trolox équivalent par gramme d'extrait, calculé à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec le Trolox (**Annexe 01**).

VI.4. Piégeage de l'oxyde nitrique NO

A un pH physiologique dans une solution aqueuse, le sodium nitroprusside réagit avec l'oxygène moléculaire produisant des ions nitrites. Ces derniers interagissent avec le réactif de Griess pour former un chromogène de couleur rose qui disparaît après réduction par un composé antiradicalaire (**Nagmoti et al., 2012**). L'effet neutralisant du radical NO[•] est évaluée par la méthode décrite par **Awah et Verla, (2010)**. Un volume de 450µl de la solution d'extrait est ajouté à 450 µl de solution nitroprusside de sodium. Après agitation, les tubes sont incubés sous lumière d'une lampe et à température ambiante pendant 1 heure. Par la suite ,450 µl du réactif de griess sont rajoutés, le mélange est incubé pendant 10 min à

l'obscurité et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 543nm . Le pourcentage de l'effet neutralisant le $\text{NO}^\bullet$ par l'extrait est calculé selon la formule suivante :

$$\text{NO}^\bullet(\%) = \frac{A_0 - A_E}{A_0} \times 100$$

Où :

A_0 et A_E sont les absorbances du contrôle et de l'échantillon respectivement.

V. Activité antimicrobienne

V.1. Les Souches bactériennes

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait, quatre souches de référence ont été sélectionnées : trois bactéries, dont une à Gram négatif (*Escherichia coli*) et deux à Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*), ainsi qu'une levure *Candida albicans*. Ces microorganismes ont été obtenus auprès du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaïa.

V.2. Préparation de l'inoculum microbien

Pour la préparation de l'inoculum microbien, 1 ml d'une culture fraîche âgée de 18 heures a été prélevé et suspendu dans 9 ml d'eau physiologique stérile. La densité optique de la suspension obtenue a ensuite été mesurée à 625 nm, et ajustée de manière à obtenir une valeur comprise entre 0,08 et 0,1

V.3. Test de la diffusion sur milieu solide (test des disques)

L'activité antimicrobienne de l'extrait des cosse a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques (Denis et al., 2016). La gélose Mueller-Hinton (MH) fondue a été répartie dans des boîtes de Pétri stériles. Après solidification, chaque suspension microbienne, préalablement standardisée, a étéensemencée en surface à l'aide d'un écouvillon stérile. Des disques en papiers stérile de 9 mm de diamètre ont été déposés sur les milieux gélosés, puis un volume de 40 μL d'extrait ou de solvant d'extraction (témoin) a été déposé sur chaque disque. Les boîtes ont été d'abord incubées pendant 2 heures à 4 ° C, puis placées dans une

Etuve à 37°C pendant 24 heures. Les résultats ont été exprimés en mesurant les diamètres (mm) des zones d'inhibition formées autour de chaque disque.

VI. Analyse statistique : Les moyennes plus ou moins l'écart type des trois répétitions ainsi que les représentations graphiques ont été réalisées par Excel 2010.

Résultats et discussions

Résultats et discussions

L'étude est réalisée sur les cosses de la variété Coco de Rose, communément appelé haricots mouchetés, la composition nutritionnelle de la poudre obtenue après broyage a été déterminé puis une extraction par macération des composés phénoliques a été réalisée, le contenu en polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanines et tannins condensés a été également déterminé, par la suite une évaluation des activités antioxydante et antibactérienne a été réalisée par différentes méthodes.

I. Composition nutritionnelle

L'analyse proximale est une méthode standard qui permet de déterminer la composition nutritionnelle des aliments, y compris les cosses des haricots, est souvent réalisée selon les normes de l'Association de : Official Analytical Chemistry (AOAC) qui fournit des protocoles pour des analyse précises et fiables (Millena *et al.*, 2023). Les haricots sont reconnus pour une forte teneur en composés nutritionnels (Shang *et al.*, 2016; Hefnawy, 2011). Les résultats de la composition nutritionnelle de la poudre sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau I : Composition nutritionnelle des cosses de Coco de Rose

Paramètres analysés	Teneur exprimé en g/ 100g de matière sèche
Humidité	10±0,10
Cendres	6,91±0,44
Matière grasse	2,62±0,21
Sucres totaux	4,19±0,08
Protéine	21,68±0,25
Vitamine C (mg/100g)	21,83±4,00
Fibres brutes	26,15±0,23

I.1. Teneur en Humidité

Le séchage des échantillons permet d'assurer une meilleure élimination d'eau, tout en préservant la composition en substances bioactives. En outre, l'eau représente une source de dégradation des composés phénoliques par oxydation enzymatique telle que les polyphénols oxydase qui modifie leurs structures (Tomás-Barberán et Espin, 2001).

Un taux de $10\pm 0,10$ % du poids de la poudre des haricots mouchetés est obtenu dans notre étude (**Tableau I**), qui est comparable au résultat obtenu par les pois chiches ($10,54\pm 0,55\%$). Selon la méthode standard de l'AOAC (2014). En général un taux d'humidité inférieur à 12% est souvent considéré comme acceptable pour le stockage à long terme des légumineuses (FAO, 1996).

I.2. Teneur en cendre

La teneur en cendres permet d'évaluer la concentration en résidus inorganiques restants après combustion de la matière organique. D'après les résultats regroupés dans le (**tableau I**), le taux de cendres de ($6,91\pm 0,44\%$) indique que presque 7% de la matière sèche des cosses est constituée de minéraux tels que le Calcium, le Potassium, le Magnésium et le Fer, fréquemment localisés dans les enveloppes des graines et peut être attribué à une combinaison de facteurs liés au sol, aux pratiques agricoles, à la variété de haricot et à la maturité des cosses (Canaceetal., 2024). Ce résultat suggère un fort potentiel de valorisation de ce sous-produit dans des applications telles que Le compostage ou de biofertilisants, en raison de sa richesse minérale.

I.3. Teneur en matière grasse

Les aliments riches en matières grasses sont particulièrement jugés par les consommateurs et non nutritionnels, car les aliments riches en graisses contiennent plus d'énergie alors que pour une bonne santé, les problèmes de poids sont des facteurs importants dans la détermination du choix alimentaire Guirrou et al., (2022).

Les cosses des haricots enregistrent une teneur en matière grasse de $2,62 \pm 0,21\%$ (tableau I), légèrement supérieure à la valeur (1,3%) retrouvée dans les cosses de petit pois et inférieure à celles enregistrées (4,04% et 6,20 %) dans la farine des pois chiche rapportées par Aguilar-Raymundo et collaborateurs. (2016) et Gadallah et al. (2017) respectivement. Cette faible proportion en matières grasses peut constituer un avantage nutritionnel, notamment dans les régimes pauvres en lipides (Sreerama et al., 2012).

I.4. Teneur en sucres totaux

Le dosage des sucres totaux des cosses a été réalisé par la méthode colorimétrique à l'anthrone décrite par Kubrak et al. (2012) et la teneur a été déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage réalisée en utilisant D-Glucose comme standard.

D'après les résultats du (**tableau I**), la variété Cocco de Rose enregistre une teneur de 4.19 ± 0.08 g/100g MS qui est largement inférieure (59,66g/100g MS) au résultat rapporté par **Parrimalavalli et ses collaborateurs, (2014)** retrouvé dans la farine de pois chiche cette différence peut être dû à plusieurs facteurs tels que la variété, les conditions climatiques de culture et les différentes méthodes de mesure utilisées (**Indrakumar et al., 2009**).

I.5. Teneur en protéine

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de **Bradford (1976)** en utilisant une gamme étalon de BSA (mg BSA/ g de poudre). Les haricots constituent une composante importante du régime alimentaire vue leur richesse en protéines.

La poudre des haricots mouchetés présente une teneur en protéine de $21,68 \pm 0,25$ g/100g MS qui est très proche de la valeur (22%) enregistrée par les graines des haricots communs (**Raza et al., 2021**) qui est de 22%. Les protéines des légumineuses sont généralement riches en acides aminés indispensables et en particulier en lysine, mais elles sont relativement pauvres en acides aminés soufrés et en tryptophane (**INAO 2018**).

Certaines recherches montrent également que les enveloppes végétales, malgré leur faible densité en macro nutriments, peuvent contenir des protéines bioactives à potentiel antioxydant ou antimicrobien (**Makkar et al., 2007**). Cette valorisation de la fraction protéique des cosse s'intègre dans une stratégie de récupération durable des co-produits agricoles à haute valeur ajoutée.

I.6. Teneur en vitamine C

La vitamine C ou l'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble essentielle au métabolisme humain. Elle possède un fort pouvoir réducteur, ce qui lui confère une activité antioxydante importante.

Dans la présente étude, la teneur en vitamine C dans les cosse de haricots mouchetés est de $21,83 \pm 4$ %, comparable à la valeur retrouvée dans les enveloppes externes des fèves (*Vicia faba*) variant de 15 à 25 %, également classées parmi les sous-produits végétaux des légumineuses (**Mateos-Aparicio et al., 2012**).

I.7. Teneur en fibres alimentaires

Le dosage des fibres alimentaires totales est crucial pour évaluer leur contenu dans les aliments et pour répondre aux recommandations nutritionnelles. Les fibres alimentaires sont définies comme les parties comestibles des végétaux qui résistent à la digestion et l'absorption

au niveau de l'intestin grêle humain avec une fermentation complète ou partielle dans le gros intestin. Les fibres alimentaires peuvent être classées en deux catégories, selon leur de solubilité dans l'eau, à savoir les fibres solubles (les gommages, mucilages et la pectine) solubles et les fibres insolubles (la cellulose, l'hémicellulose et lignine) (**Mateos-Aparicio et al., 2012**).

D'après les résultats (**tableau I**), les cosques de haricots mouchetés montrent une teneur de $26,15 \pm 0,23$ % qui reste inférieure aux résultats enregistrés dans les cosques des fèves (40,1%) et les cosques de pois (58,6%), cette différence peut être liée à la méthode sélectionnée pour l'extraction des fibres (**Mateos-Aparicio et al., 2008**).

D'après les résultats de la composition nutritionnelle les cosques de Coco de Rose, Les fibres alimentaires sont considérées comme le constituant majoritaire. Ces cosques peuvent être exploitées dans le domaine agroalimentaire pour améliorer la qualité nutritionnelle de certains produits alimentaires.

L'Organisation Mondiale de la Santé (**2003**) a recommandé un apport en fibres alimentaires de 25 g/jour pour l'adulte (**Mateos-Aparicio et al., 2010**). Plusieurs pays ont introduit les fibres alimentaires dans une large gamme de produits alimentaires en particulier les produits laitiers, yaourt, biscuits, pâtes alimentaires, soupes, viandes etc (**Dhingra et al., 2012**), ces produits alimentaires ont montrés des propriétés fonctionnelles améliorées avec l'addition de ces composés. De plus, divers produits alimentaires qui ne contenaient pas naturellement des fibres ont commencé à les enrichir pour augmenter leur valeur nutritionnelle (**Dhingra et al., 2012 ; Mateos-Aparicio et al., 2010**).

Les bienfaits des fibres alimentaires dans la prévention des maladies chroniques tels que les maladies cardio-vasculaires et le diabète ont été bien discutés par maintes études scientifiques (**Mateos-Aparicio et al., 2008 ; Mateos-Aparicio et al., 2010 ; Yang et al., 2013**).

II. Les antioxydants

II.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires très répandus chez le règne végétal. Ils sont impliqués dans la croissance et la protection des plantes. Ces composés présentent plusieurs effets bénéfiques pour la santé Humaine, tels que des effets antioxydants, anticancéreux, antibactériens, antiviraux et anti-inflammatoires (**Luthria et al., 2009 ; Norhaiza et al., 2009 ; Tabart et al., 2007**). Il a été rapporté que les composés

phénoliques ont des effets protecteurs lorsqu'on ingère jusqu'à 1,0 g par jour dans un régime riche en fruits et légumes (Gulçinet *al.*, 2003).

Vue les composés phénoliques sont très divers, il est difficile de développer une procédure d'extraction souhaitable pour ces métabolites secondaires ou pour une classe spécifique de ces composés (Naczk and Shahidi, 2006; Robbins, 2003). Le solvant est l'un des paramètres qui peut affecter l'extraction des polyphénols (Troszyńska *et al.*, 2002). L'extraction peut s'effectuer par plusieurs solvants tels que: l'eau, le méthanol, l'éthanol et l'acétone (Ribéreau-Gayon, 1968; Spignon *et al.*, 2007). Par ailleurs, les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants absolus (Ribéreau-Gayon, 1968; Spignon *et al.*, 2007). Le système acétone-eau (70: 30, v/v) est l'un des systèmes les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols car d'une part il permet d'extraire des teneurs considérables en polyphénols comparé à l'éthanol et au méthanol aqueux (Troszyńska *et al.*, 2002) et d'autre part ce système limite l'extraction d'autres composés comme les polysaccharides et les peptides (Awika *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2009).

II.1.1. Polyphénols totaux

La méthode de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes adoptées dans la plupart des travaux concernant les antioxydants naturels elle est considérée comme étant la meilleure méthode pour la quantification des polyphénols totaux (Spignon *et al.*, 2007). Cette méthode repose sur la capacité d'un phénol à réduire le réactif Folin-Ciocalteu de couleur jaune constitué de l'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolipdique en milieu alcalin, en un mélange de tungstène et de molybdène de couleur bleue, dont l'absorbance maximale est comprise entre 700-760 nm (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Sigeret *et al.*, 2008).

Tableau II : Teneurs en composés phénoliques des cosses de haricot

Composés phénoliques	Teneur en mg Equivalent /g de matière sèche
Polyphénols totaux	4,12±0,08
Flavonoïdes	1,67±0,04
Anthocyanines	1.56±0,74
Tanins condensés	1,66±0,09

D'après le protocole de dosage, où la teneur en polyphénols totaux exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Le résultat obtenu est de $4,12 \pm 0,08$ mg EAG /g de matière sèche. La même valeur a été notée pour les cosses des petits pois par **Mateos-Aparicio et ses collaborateurs (2012)**. Cette quantité enregistrée est trois fois supérieure à la teneur des grains des pois chiches secs (1,50 mg EAG/g MS) et presque le double de teneur des lentilles (2,36 mg EAG/g MS) récoltés au sein de la région Ain Defla (**Ladjal-Ettoumi et Chibane, 2015**). Par contre ce résultat reste inférieur aux valeurs enregistrées pour les cosses de fève (**Mateos-Aparicio et al., 2012**), de soja, haricot noir, haricot mungo, haricot rouge et le niébé (**Khanget al., 2016**). Les résultats dosage en polyphénols totaux de **Ladjal-Ettoumi et Chibane (2015)** menés sur les légumineuses petits pois et lentilles ont noté et 6,217 mg EAG/g de matière sèche, respectivement.

La variation des teneurs en polyphénols peut être due aux facteurs génétiques, le degré de maturité et les conditions environnementaux. De plus, elle peut être conditionnée par le type de solvant, la dégré de polymérisation des composés phénoliques et l'interaction de ces métabolites secondaires avec d'autres constituants, aussi bien le temps d'extraction et la température d'extraction (**Liu et al., 2008; Ladjal- Ettoum et Chibane, 2015**).

II.1.2.Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes constituent la classe la plus abondante des polyphénols dans la nature (**Kumaran and Karunakaran, 2007**). Le principe de leur dosage repose sur la propriété de ces composés à chélater les ions aluminium. En présence du chlorure d'aluminium, le complexe flavonoïdes peut se former entre les ions Al et les atomes d'oxygène portés par les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Figure 05**). La couleur jaune ainsi obtenue est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes dans l'extrait (**Berset, 2006;Djeridane et al., 2006; Lagnika, 2005; Ribéreau-Gayon, 1968**).

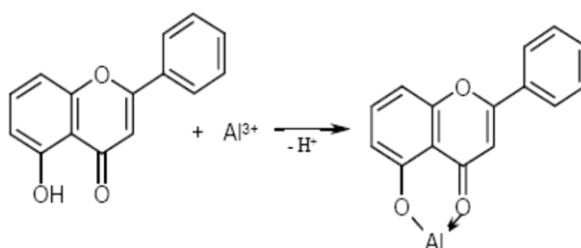


Figure05: Chélation de l'ion Aluminium par les flavonoïdes (**Lagnika,2005**)

La teneur en flavonoïdes totaux du sous-produit est exprimée en mg équivalent quercitine Par 1 gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). Le résultat noté est de $1,67 \pm 0,04$ mg EQ/ g MS est supérieur au résultat de **Castaldo *et al.*(2022)** enregistré pour les cosses des petits pois (1.05mg/g) . De plus, la teneur notée dans la présente étude en flavonoïdes est même très supérieure aux valeurs déterminée pour les graines enregistrées par **Boudjou et ses collaborateurs (2013)** pour les lentilles (0,25mg EQ/g MS), fèves (0, 23 mg EQ/g MS) et les fêveroles (0,14mg EQ/g MS).

Les flavonoïdes se localisent dans les différentes parties de la plante: les parties aériennes jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux), fruits, graines, écorce et les racines (**Hadi, 2004; Heim *et al.*, 2002**). Au niveau des cellules, les flavonoïdes sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux (**Hadi, 2004**).

II.1.3. Les anthocyanines

Les anthocyanines sont les pigments naturels de diverses parties de plantes et font partie de la classe des flavonoïdes. Les études portées sur le changement de couleurs des fruits, des feuilles et des pétales ont montrées que cela peut être causé par la variation des teneurs en chlorophylles, caroténoïdes et anthocyanines. La couleur rouge violacée est principalement induite par les anthocyanines synthétisés des flavonoïdes (**Shahidiet *al.*,2004; Silva *et al.*,2017**). Les anthocyanines sont extraites fréquemment des parties de plante par solvants organiques acidifiés, le solvant le plus utilisé est le méthanol. Ce système intervient dans la destruction des membranes cellulaires et stimule la dissolution et la stabilité des anthocyanines (**Shahidiet *al.*, 2004**).

Les teneurs en anthocyanines sont exprimées mg E cyanidine-3- glucoside/1g MS. Le résultat de dosage des anthocyanines a montré que les cosses de Coco de Rose contient une teneur $1,56 \pm 0,74$ mg E cyanidine-3- glucoside/1g MS, ce qui explique la couleur rose des cosses. Cette valeur reste supérieure à la teneur en poudre mesurée des haricots rouge de $128 \mu\text{g} / \text{g MS}$ d'écrite par **Rodríguez Madrera *et al.*, 2021**.

II.1.4. Tanins condensés.

Les tanins des légumineuses sont essentiellement les tanins condensés ou proanthocyanidines constituent une classe importante de composés phénoliques. Les proanthocyanidines sont des polymères non hydrolysables ayant un poids moléculaire très

Elevé issus de flavanols , principalement constitués d'unités de flavan-3-ols (**Haslam, 2007;Shaidiet al., 2004**). Ces composés peuvent être localisés dans différentes parties de la plante telles que: les graines, fruits, feuilles, racines et l'écorce. Les teneurs élevées en tanins sont souvent associées en particulier aux attaques d'insectes (**Haslam, 2007**).

Dans cette étude, la teneur en tanins condensés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine et les résultats sont exprimés en mg E-catéchine / g de matière sèche).

Les résultats représentés dans le tableau (I) montrent que la teneur en tanins condensés est de $1,66 \pm 0,09$ mg de catéchine/ g de MS.

Plusieurs études scientifiques rapportaient que les tanins condensés sont impliqués dans diverses activités biologiques telles que: antioxydante, antibactérienne. Cependant, d'autres études classent les tanins condensés comme l'un des facteurs anti nutritionnels. Ils sont caractérisés par leur aptitude à se combiner aux protéines de l'aliment ainsi que à celles des sucs digestifs pour former des complexes insolubles qui se précipitent. Il en résulte une baisse de la digestibilité notamment des protéines mais aussi de l'amidon (**Haslam, 2007; Ouziba, 2017**).

II.2. Caroténoïdes.

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles naturels appartenant à la famille des terpénoïdes (C40) ,produits uniquement par les plantes ,les algues ,et certains champignons ou bactéries. Ils sont responsables de la couleur jaune, orange ou rouge de nombreux fruits, légumes, et graines (**Fanciullinoet al.,2014**) .

Les cosses de haricots étudiés enregistrent une teneur faible en caroténoïdes qui est de 0.39 ± 0.01 mg E- β carotène/g de MS. Les variations observées dans les teneurs des phénols totaux, flavonoïdes, tanins et caroténoïdes peuvent être expliquées par plusieurs facteurs interconnectés .L'origine géographique des échantillons joue un rôle crucial, car les conditions climatiques, les types de sols et les stress environnementaux locaux influencent directement la biosynthèse des composés phénoliques (**Locatelli et al., 2010**). Par ailleurs, la saison de récolte est déterminante, des études montrant que les concentrations en composés bioactifs peuvent varier selon le stade de développement de la plante (**Faller et fialho, 2009**).

La durée et les conditions de stockage post-récolte affectent également les teneurs, car une exposition prolongée à la lumière, à l'humidité ou à des températures inappropriées peut

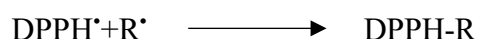
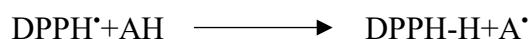
Entraîner la dégradation des composés phénoliques par oxydation ou dégradation enzymatique (Houssainetal.,2010).

III. Les résultats des activités antioxydantes

Il est important de sélectionner et d'employer des méthodes stables et rapides dans le but d'évaluer l'activité antioxydante. Plusieurs méthodes ont été développées afin d'estimer l'activité antioxydante. L'activité antioxydante des composés phénoliques est directement liée à leur structure chimique, comme le nombre et la position des groupes hydroxyles liés à la fonction Carboxyle. Ces composés contribuent grandement à l'activité antioxydante grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres et à chélater les métaux (Singh *et al.*, 2017).

III.1. Pouvoir antiradical libre DPPH

La méthode du DPPH•est très utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes (Hseu*et al.*, 2008). Le DPPH•(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable capable de capter un proton ou un électron (Gordon, 2001; Hseu*et al.*, 2008;Wang *et al.*,2007),afin de revenir à une molécule diamagnétiquement stable(Gülçinet *al.*, 2003; Kumaran et Karunakaran, 2007). L'activité scavenger du radical DPPH•est déterminée avec la diminution de l'absorbance à 517 nm suite à la réduction du radical en présence d'un antioxydant (AH) ou d'une espèce radicalaire (R•) (Maisuthisakul *et al.*, 2007; Villaño *et al.*, 2007) selon les réactions suivantes :



La diminution de l'absorbance se traduit par une décoloration de la solution méthanolique de DPPH•du violet au jaune (Gülçin *et al.*, 2003; Magalhães *et al.*, 2008).

Les résultats de l'activité antiradicalaire des différents extraits exprimés en pourcentage sont illustrés par la **figure 06**.

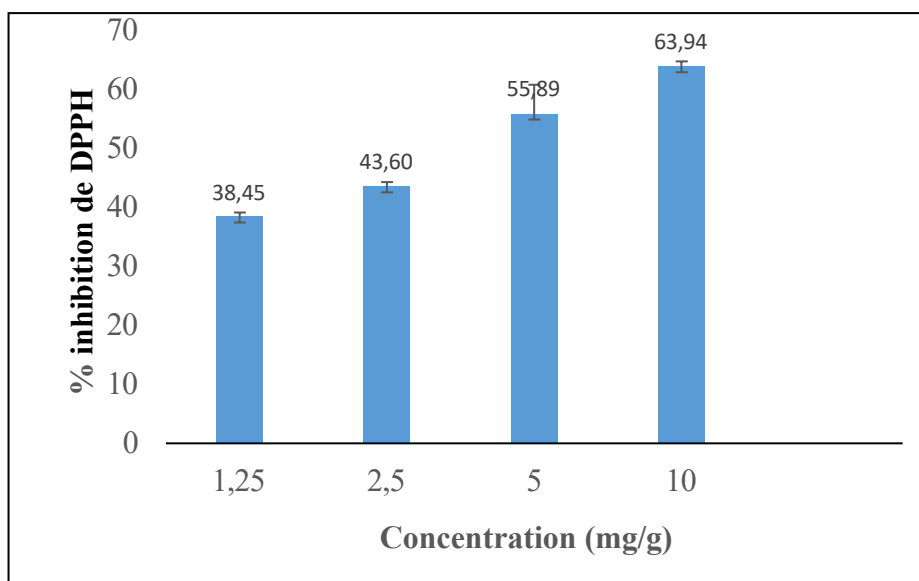


Figure 06: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration (mg/ml).

La diminution de l'absorbance se traduit par une décoloration de la solution méthanolique de DPPH[•] du violet au jaune (**Gülçinet *et al.*, 2003; Magalhães *et al.*, 2008**).

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'extrait du sous-produit étudié est exprimé en pourcentage (**figure 06**) en variant la concentration de l'extrait 1,25 à 10 mg/ml. Les histogrammes montrent que le pourcentage de l'activité antiradicalaire des extraits augmente en fonction de la concentration d'extrait. Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés qui contribuent à la réduction du radical DPPH[•]. De même, plusieurs auteurs ont constaté que l'activité antiradicalaire est proportionnelle à la concentration des extraits de plantes (**Gülçin *et al.*, 2003; Kumaran and Karunakaran, 2007; Wang *et al.*, 2007**). De nombreuses recherches ont démontré qu'il y a une corrélation entre les activités antiradicalaires et les composés phénoliques (**Bidie *et al.*, 2013**).

La valeur CI₅₀ (Concentration d'inhibition à 50 %) est définie comme étant la concentration du substrat nécessaire à diminuer de 50 % d'absorbance de la solution initiale du DPPH[•]. Les CI₅₀ sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet anti-radicalaire important (**Dasgupta and De, 2007; Maisuthisakul *et al.*, 2007**).

D'après le tableau (I), le sous-produit étudié enregistre une valeur IC₅₀ de 4,16 ± 0,34 mg/ml. Cette concentration est presque quatre fois inférieure à celle des cosques des petits pois (16,04 mg/ml) notée par **Mateos-Aparicio *et al.*, (2012)**.

III.2. Pouvoir anti-radicalaire ABTS

L'activité antioxydante de l'extrait phénolique des cosses des haricots Coco de Rose a été également déterminée par le suivi de la réduction du radical cationique ABTS^{•+}. Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydo-réduction du radical ABTS^{•+}. Les résultats sont élucidés sur la **figure 07**

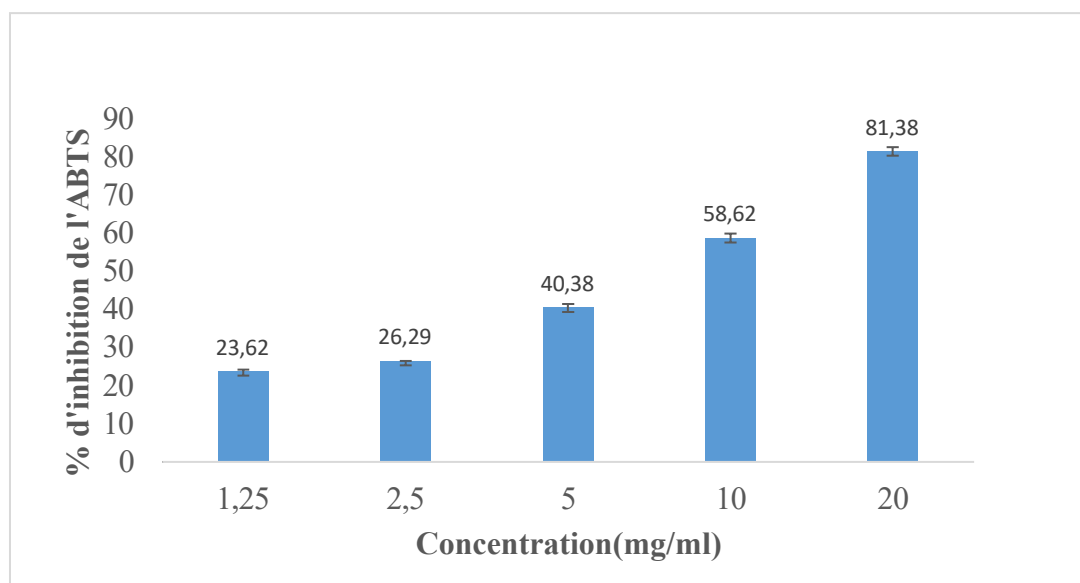


Figure07: Pourcentage d'inhibition du radical ABTS en fonction de concentration (mg/ml)

Les résultats obtenues dans la figure précédente, indiquant que le pourcentage d'inhibition du radical ABTS augmente en fonction des concentrations de l'extrait, enregistrant ainsi un pourcentage d'inhibition maximal de $81.38 \pm 2.3\%$ à une concentration de 20 mg/ml et une concentration inhibitrice IC₅₀ de 9.1 ± 0.41 mg/ml.

II.3. Pouvoir réducteur-antioxydant ferrique (FRAP)

Le test du pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP) est réalisé en conditions acides, où le complexe triptidyltriazine ferrique (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en triptidyltriazine ferreux (Fe^{2+} -TPTZ) de couleur bleue par un antioxydant. C'est un test rapide et fiable permettant d'évaluer le pouvoir réducteur de fer dans les liquides biologiques, les aliments et les extraits de plantes (Vadivel et Biesalski, 2012 ; Ladjal-Ettoumi et Chibane, 2015).

La capacité de l'extrait des cosses de haricots à réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} a été déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage réalisée avec le Trolox, exprimé en μmol équivalent Trolox par g de matière sèche. Une valeur de $173,02 \pm 1,86 \mu\text{mol ET/g MS}$ a

été obtenue (**Tableau II**) qui reste inférieure aux travaux antérieurs réalisés sur les cosses des fèves enregistrant une teneur de $402,4 \pm 44,2 \mu\text{mol ET/g}$ et supérieure à la teneur enregistré par les cosses des petits pois ($25,9 \pm 4,5 \mu\text{mol ET/g de MS}$) rapporté par **Mateos-aparicio et al., (2012)**.

Le pouvoir réducteur des cosses de Coco de Rose est probablement dû aux groupements hydroxyles présents dans les polyphénols (tel que l'acide gallique, quercétine, catéchine) qui peuvent agir comme donneurs d'électrons. Ainsi, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et des inactivateurs d'oxydants (**Bougandoura et Bendimerad, 2013; Benzie et Devaki, 2017**).

II.4. Piégeage de l'oxyde nitrique NO

L'oxyde nitrique est une molécule de signalisation clé qui joue un rôle dans la vasodilatation ainsi que d'autres mécanismes physiologiques.

Cette méthode, par la réaction de Griess, permet le dosage des nitrites formés par l'oxydation de NO, le résultat obtenu montre que les cosses inhibent le radical NO et enregistre un pourcentage d'inhibition de $13,4 \pm 2,13 \%$, aucun test n'a été déjà réalisé pour déterminer la capacité des sous-produits végétaux à inhiber le nitrique oxyde. L'étude menée par **Paquay et al. (2000)** qui a montré que la quercétine et la catéchine (telle que l'epigallo catéchine gallate) peut protéger contre la toxicité de l'oxyde nitrique (NO) et qu'ils réduisent la formation de l'espèce réactive comme le peroxy-nitrite. Ils inhibent également l'activité de l'oxyde nitrique synthase (NOS).

Les différences dans les activités antioxydantes observées dans cette étude peuvent s'expliquer par leurs contenus en composés phénoliques, reconnus comme les principaux contributeurs à leurs propriétés antioxydantes (**Abdelhafez et al., 2020**), ainsi que par les interactions entre les divers composés présents dans les extraits. De plus, les variations dans les concentrations des réactifs ou les conditions expérimentales, telles que la température, le pH et la durée d'incubation, peuvent affecter les résultats (**Yang et al., 2018**).

Le type de solvant utilisé peut influencer également l'efficacité des antioxydants. Enfin, la nature chimique des antioxydants présents dans les échantillons peut varier, impactant leur activité dans les tests FRAP et NO (**Lezoul et al., 2020**).

III. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait, à une concentration de 100 mg/mL, a été évaluée après en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des disques, selon la méthode de diffusion en milieu solide, qui demeure la plus utilisée et la plus reconnue à ce jour. Le contrôle positif utilisé correspond au solvant d'extraction, un mélange de méthanol à 50 % et d'acétone à 70 %, n'a montré aucune activité vis-à-vis des souches étudiées.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait des cosse des haricots mouchetés (**Figure 08**), ont révélé la présence d'une zone d'inhibition contre *B. subtilis*, avec un diamètre de $13,3 \pm 1,5$ mm. En revanche, aucune activité n'a été observée à la même concentration vis-à-vis des souches *E. coli*, *S. aureus* et de la levure *C. albicans*



Figure 08: Effet antimicrobien exercé par extrait des cosse des haricots mouchetées sur les souches **A** : *Escherichia coli*, **B** : *Candida albicans* **C** : *Bacillus subtilis*

Cette activité sélective a été rapportée par **Khan et al. (2020)**, qui ont démontrés qu'aucune activité antimicrobienne de l'extrait de *Phaseolus Vulgaris* n'a été révélée contre les souches bactériennes testées (*E.coli*, *B. subtilis* et *S. epidermidis*), malgré les propriétés antibactériennes documentées de *P.Vulgaris*. L'effet antimicrobiens de cette dernière pourrait être attribuée à la nature des composés bioactifs présents dans les cosse de haricots, tels que certains polyphénols, flavonoïdes ou tanins, protéines ou polysaccharides qui sont connus pour exercer une activité antibactérienne, en particulier contre les bactéries Gram positives (**Cowan, 1999 ; Daglia, 2012**).

La structure plus simple de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives permettrait une interaction plus directe avec les agents antimicrobiens ce qui explique la sensibilité de *B. subtilis* à notre extrait. Alors que, chez les bactéries à Gram négatif, la structure complexe de la paroi externe, riche en lipopolysaccharides, constitue une barrière de perméabilité et rend ces souches généralement plus résistantes aux agents antimicrobiens naturels (**Nikaido, 2003**; **Silva et al., 2016**).

L'absence d'activité contre *S. aureus*, malgré sa nature Gram positive, peut s'expliquer par une faible concentration des principes actifs, une résistance naturelle ou un mécanisme d'adaptation spécifique de la souche utilisée. Concernant *C. albicans*, l'inactivité pourrait être liée à la nature eucaryote de la levure, dont la membrane cellulaire est différente de celle des bactéries, nécessitant souvent des agents antifongiques spécifiques (**Raut et al., 2014**).

Ces résultats soulignent l'intérêt d'approfondir l'étude des composés présents dans les cosques des haricots mouchetés. Une extraction ciblée et une identification des molécules actives pourraient permettre d'optimiser l'effet antimicrobien.

L'absence de l'activité antibactérienne est probablement due à plusieurs facteurs. Il est possible que l'extrait des cosques de haricots mouchetés étudié ne contienne pas les composés bioactifs dotés de propriétés antimicrobiennes. Il est aussi possible que ces derniers ont une capacité limitée à se diffuser sur la gélose. Cependant, tester l'extrait des cosques sur milieu liquide et n'en pas gélosé pourrait permettre une meilleure diffusion de ses composés bioactifs et mettre en évidence le pouvoir antibactérien des cosques.

Conclusion

Conclusion

L'objectif visé dans cette étude est de valoriser les sous-produits (Cosses) de la variété Coco de Rose, appelé communément les haricots mouchetés ou Borlotti par analyse de la composition nutritionnelle, extraction et dosage des substances bioactives, ainsi qu'une évaluation de leurs activités antioxydante et antibactérienne.

Les cosses de Coco de Rose présente des teneurs ; de 10 ± 0.10 % en eau, de 6.91 ± 0.44 % en cendres, de 2.62 ± 0.21 % en matière grasse, de 21.68 ± 0.25 % en protéine, de 4.19 ± 0.008 % en sucre, de 21.83 ± 4.00 % en vitamine C et de $26,15 \pm 0,23$ % en fibres montrant ainsi une composition riche en éléments nutritionnels.

L'extraction des substances bioactives est une étape cruciale pour la valorisation des sous-produits végétaux. L'analyse du contenu en substances bioactives a montré des teneurs modérées en anthocyanidine ($1,56 \pm 0,74$ mg E-cyanidine 3-glucoside/g) ; en polyphénols totaux ($4,12 \pm 0,08$ mg EAG/g) ; en flavonoïdes ($1,67 \pm 0,04$ mg EQ/g) et en tannins ($1,66 \pm 0,09$ mg EC/g). Cependant, une teneur faible en caroténoïdes ($0,39 \pm 0,01$ mg E β -carotène/g) a été enregistrée.

L'étude de l'activité antioxydants a révélé un effet neutralisant des radicaux DPPH•, ABTS et NO avec des valeurs IC₅₀ de 4.16 ± 0.19 et de $9,01 \pm 1,9$ mg/g et de $13,4 \pm 2,13$ % respectivement ; un pouvoir réducteur du fer ($173,02 \pm 1,86 \mu\text{mol}$ E-Trolox/g de matière sèche).

Concernant l'activité antibactérienne, à l'exception de *Bacillus subtilis* qui a montré une zone d'inhibition d'un diamètre de $13,3 \pm 1,5$ mm, toutes les souches testées (*E.coli* ; *S.aureus* et *C.albicans*) ont montré une résistance.

En perspectives, il serait intéressant :

- ❖ Utiliser d'autres méthodes d'extraction des substances bioactives (microondes , ultrasons).
- ❖ Etudier d'autres activités biologiques (anti-inflammatoire, enzymatique, ...etc).
- ❖ Élaboration d'un produit alimentaire riche en fibre par l'incorporation de la poudre des cosses.

Références Bibliographiques

References Bibliographiques :

A

- **A.D.E.M.E, 2019.** Le compostage, ADEME l'Agence de la transition écologique. URL <https://www.ademe.fr/expertises/dechets/passer-alaction/valorisation-organique/compostage>.
- **Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., &Tattini, M. (2012).** Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76
- **Aguilar Raymundo V.G. &VélezRuíz J.F. (2016)** — “Characterization of Two Chickpea Varieties and the Effect of Cooking on their Physico chemical and Functional Properties of Flours”, dans *Journal of Food Research*, 5(5): 67, DOI 10.5539/jfr.v5n5p67.
- **Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007).** Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877.
- **Alfaro-Díaz, A., Escobedo, A., Luna-Vital, D. A., Castillo-Herrera, G. &Mojica, L. (2023)** antioxydant dans le foie et le muscle blanc du poisson rouge *Carassius auratus* L. *Ecotoxicologie et sécurité environnementale*, 80, 231-237.
- **AOAC (1995).** Official methods of analysis (16th Ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- **Awika J. M.; Rooney L. W. and Waniska R. D. (2004).** Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90, pp: 293-301. Compounds. *Food Chemistry*, 97, pp: 654-660.
- **Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M., 2013.** Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *J. Food Eng.* 117, 426–436.

B

- **Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1),191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>

- **Behera J. N. and Rao J. (2006).** A Ni^{2+} ($S = 1$) Kagome Compound Templated by 1,8.
- **Benchikh, Y., Bachir-Bey, M., Chaalal, M., Ydjed, S., & Kati, D. E. (2023).** Extraction of phenolic compounds. In *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science: Green Solvents and Extraction Technology* (Chap. 14, pp. 329–354).
- **Bidié, A. P., Yapo, A. P. D., N'Guessan, B. B., & Djaman, A. J. (2013).** Activité antiradicalaire et teneur en polyphénols de quelques plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Journal of Applied Biosciences*, 66, 5063–5070.
- **Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., & Jaitak, V. (2020).** Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*, 146, 104720.
- **Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., & N'Guessan, J. D. (2018).** Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 46, 50–58. méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, 46, 50–58.
- **Bradford, M. M. (1976).** A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding
- **Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56(11): 317-333.
- **Britton G.; Liaasen-Jensen S.; Pfander H.(1995).** Carotenoids. Volume 1B: spectroscopy, 360pp.

C

- **Castaldo, L., Izzo, L., Gaspari, A., Lombardi, S., Rodríguez-Carrasco, Y., Narváez, A., ... Ritieni, A. (2022).** Chemical composition of green pea (*Pisum sativum* L.) pods extracts and their potential exploitation as ingredients in nutraceutical formulations. *Antioxidants*, 11(1), 105
- **Chaux C., Foury C., (1994).** Maîtrise de facteurs de production, qualité et traitement des semences, mise en culture par semis en place en production légumière. Tome 1. Généralité. Tec et Doc. Lavoisier. Pp277-431-445

- **Cujic, N., Savikin, K., Jankovic, T., Pljevljakusic, D., Zdunic, G., Ibric, S., 2016.** Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chem.* 194, 135

D

- **Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., & Patil, R. T. (2012).** Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–266.
- **Djeridane A.; Yousfi M.; Nadjemi B.; Boutassouna D.; Stocker P. and Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic.
- **Duan, X., Streltsov, A., & Black, C. (2007).** Characterization of anthocyanins in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5252–5258. <https://doi.org/10.1021/jf070123x>.

F

- **Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2009).** Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 561–568.
- **Fanciullino, A. L., Bidel, L. P. R., & Urban, L. (2014).** Carotenoid content and profile in relation to the horticultural traits of different tomato cultivars. *Food Chemistry*, 153, 66–72
- **Fanciullino, A.-L., & Gautier, H. (2014).** Enrichissement des fruits charnus en caroténoïdes : exemple de la tomate et des agrumes. *Innovations Agronomiques*, 42, 77–89.
- **FAO, 2013.** Food and alimentation organisation. site FAO-STAT
- **Farha, A. K., Yang, Q. Q., Kim, G., Li, H. B., Zhu, F., Liu, H. Y., Gan, R. Y., & Corke, H. (2020).** Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>
- **Feild TS, Lee DW, Holbrook NM (2001)** Why leaves turn red in autumn: the role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. *Plant Physiol* 127:566-574. <https://doi.org/10.1104/pp.010296>.

- **Feng, Z., Morton, J. D., Maes, E., Kumar, L., & Serventi, L. (2025).** *Proximate composition, peptide characterization and bioactive properties of faba bean blanching water. Food Research International*, 200, 11542.

G

- **Gordon, M. H. (2001).** The development of oxidative rancidity in foods. In Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (Eds.), *Antioxidants in Food* (pp. 7–21). Woodhead Publishing.
- **Gulçin, İ. (2003).** Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Food Science and Technology*, 36, 263–271.
- **Gülçin, İ., Oktay, M., Kireççi, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003).** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83(3), 371–382.

H

- **Harborne J. (2013).** The flavonoids: advances in research since 1980, 2013.
- **Haslam, E. (2007).** Vegetable tannins – lessons of a phytochemical lifetime. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2713–2721.
- **Hseu, Y. C., Chang, W. H., Chen, C. S., Liao, J. W., Huang, C. J., Lu, F. J., & Yang, H. L. (2008).** Antioxidant activities of toonasinensis leaf extracts using different antioxidant models. *Food and Chemical Toxicology*, 46(1), 105–114.

I

- **iharee, A., Sharma, A., Kumar, A., Jaitak, V., & Kumar, S. (2020).** *Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. Fitoterapia*, 146, 104720.
- **ITCMI (2010)** La culture du haricot, Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles, Staoueli, Alger.

J

- **Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. S. (2013).** Microwave assisted extraction for phytoconstituents – an overview. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 6(2), 107–113.

K

- **Kim, S. Y., Murthy, H. N., Hahn, E. J., Lee, J. H., & Paek, K. Y. (2007).** Extraction of bioactive compounds from plants using Soxhlet apparatus. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1044–1052.

- **Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B., & Možina, S. S. (2010).** Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81(2), 121–126.
- **Klein B.P et Perry A.K. (1982).** Ascorbic acid and vitamin A activity in selected Vegetables from different geographical areas of United States. *Journal of food science* .47: 941-948.
- **Kubrak, OI, Rovenko, BM, Husak, VV, Storey, JM, Storey, KB et Lushchak, VI (2012).** Le nickel induit une hyperglycémie et une glycogénolyse et affecte le système antioxydant dans le foie et le muscle blanc du poisson rouge *Carassius auratus* L. *Ecotoxicologie et sécurité environnementale*, 80, 231-237
- **Kumar, K. S. (2021).** Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 105-325. Kumar, K. S. (2021).
- **Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2007).** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*, 40(2), 344–352.

L

- **Ladjal-Ettoumi, Y., et Chibane, M. (2015).** Some physicochemical and functional properties of pea, chickpea and lentil whole flours. Présentée dans un article de 2015 évaluant notamment la teneur en composés phénoliques, le flavonoïde total, et l'activité antioxydante de farines complètes issues de pois, pois chiche et lentille.
- **Lagnika, L. (2005).** Étude phytochimique et activités biologiques de substances naturelles isolées de plantes béninoises (Thèse de doctorat). Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- **Lall, R.K.; Syed, D.N.; Adhami, V.M.; Khan, M.I.; Mukhtar, H.** Dietary Polyphenols in Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, 16, 3350–3376.
- **Lezoul, N.E.H., Belkadi, M., Habibi, F., Guillén, F. (2020).** Extraction Processes with Several Solvents on Total Bioactive Compounds in Different Organs of Three Medicinal Plants. *Molecules*, 25(20), 4672.
- **Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. D., Martelli, A., & Arlorio, M. (2010).** Total antioxidant activity and polyphenol content in aqueous infusions of herbs: A screening study on Italian species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(6), 582–588.

- **Luthria, D. L., et Pastor-Corrales, M. A. (2006).** Phenolic acid content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2–3), 205–211.

M

- **Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2008).** Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613(1), 1–19.
- **Maisuthisakul, P., Suttajit, M., & Pongsawatmanit, R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry*, 100(4), 1409–1418.
- **Makkar, H. P. S., Francis, G., & Becker, K. (2007).** Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal*, 1(9), 1371–1391.
- **Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007).** Microwave assisted extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 7–18.
- **MANSOURI, Lahouaria Mounia. (2020).** Étude des effets des facteurs biotiques et abiotiques sur la nodulation chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.). Thèse de doctorat en Sciences Biologiques, spécialité Biotechnologie, Université de Batna 2, Algérie.
- **Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M.-J., Zapata-Revilla, A., Tenorio-Sanz, M.-D., 2010.** Pea pod, broad bean pod and okara, potential sources of functional compounds. *LWT - Food Science and Technology* 43, 1467-1470.
- **Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M.J., 2012.** Broad bean and pea by-products as sources of fibre-rich ingredients: potential antioxidant activity measured in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 697-703.
- **Mateos-AparicioCediel, I., 2009.** Aprovechamiento de subproductos de leguminosas para la obtención de ingredientes funcionales: comparación de metodologías para la caracterización de la fibra alimentaria.
- **Millena, C. G., Balonzo, A. R. R., Rentoy, J. R., Ruivivar, S. S., & Bobiles, S. C. (2023).** *Effect of fermentation stages on the nutritional and mineral bioavailability of cacao beans (Theobroma cacao L.). Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 104886.

N

- **Naczk, M., & Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 95–111.
- **Naczk, M., & Shahidi, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542.
- **Nadal B. (2009).** Synthèse et Evaluation de nouveau agents de protection contre les rayonnements ionisants (Doctoral dissertation). Université Paris Sur Xi faculté Des Sciences D'Orsay, 277p.
- **Nikaido, H. (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 593–656.
- **Norhaiza, M., Maziah, M., & Hakiman, M. (2009).** Antioxidative properties of leaf extracts of a popular Malaysian herb, *Labisia pumila*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(4), 217–223.
- **Nwinuka, N. M. (2005).** Proximate composition and levels of some toxicants in four commonly consumed spices. *African Journal of Biotechnology*, 4(12), 1445–1448.

O

- **Okuda, T.; Ito, H.** Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants- Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. *Molecules* **2011**, 16, 2191–2217.
- **Ouziba, M. (2017).** Effets de la fermentation naturelle sur la réduction des facteurs antinutritionnels des graines de *Moringa oleifera* (Mémoire de Master). Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- **Oyaizu M (1986)** Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307–15.

P

- **Penchev, P. I. (2010).** *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.*
- **perreault, f. (2014).** antimicrobial properties of membranes. in: *Encyclopedia of Membrane.*
- **Pietta, P. G. (2003).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 66(8), 1035–1042. <https://doi.org/10.1021/np030273>.

- **Prouillac, C. (2006).** Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés Contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, 254p.
- **Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. (2000).** Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3396–3402.

R

- **Rambaran, T.F. (2020).** Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1335.
- **Raza, A., Arshad, S., & Jabeen, F. (2021).** A phytopharmacological review on *Phaseolus vulgaris*. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 12(3), 43–48.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999.** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231–1237.
- **Regan, K., et al. (2001).** Anthocyanins in fruits: biosynthesis and roles. *Phytochemistry*, 58(3), 285–292. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00231-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00231-5).
- **Rémond D. et Walrand S.(2017).** Les graines de légumineuses: caractéristiques nutritionnelles et effets sur la santé. *Innovations Agronomiques* 60, 133-144
- **Robbins, R. J. (2003).** Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887
- **Rodríguez Madrera R., Campa Negrillo A., Suárez Valles B., Ferreira Fernández J. J. (2021).** Teneur en composés phénoliques et activité antioxydante dans les graines de haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.). *Foods*, 10(4), 864.
- **RodríguezMadrera, R., Suárez Valles, B., & Mangas Alonso, J. J. (2021).** Anthocyanin composition in commercial dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and their relationship with antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 342, 128299.
- **Routray, W., & Orsat, V. (2012).** Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 409–424. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0573-z>

S

- **Saci, F., Benchabane, A., & Benali, M. (2018).** Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Algerian olive leaves using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 11, 94–103.
- **Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., Toth-Markus, M. (2005).** Differences in Anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International* 38, 1023–1029.
- **Schaefer, H., et al. (2004).** Distribution and ecological function of anthocyanins in plants. *Annals of Botany*, 93(2), 167–178. <https://doi.org/10.1093/aob/mch031>
- **Serrano J., Puupponen-Pimiä R., Dauer A., Aura A M., Saura-Calixto F.(2009).** Tanins : connaissances actuelles sur les sources alimentaires, l'apport, la Biodisponibilité et les effets biologiques.
- **Serrano J., Puupponen-Pimiä R., Dauer A., Aura A M., Saura-Calixt F.(2009).**
- **Shahidi, F., & Nacz, M. (2004).** Phenolics in food and nutraceuticals. CRC Press.
- **Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M., et Pintado, M. E. (2017).** Anthocyanin extraction from plant tissues: New trends in methods and technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 10–20.
- **Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2017).** Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101, 1–16.
- **Singh, S., Kaur, S., & Singh, P. P. (2017).** Structure–activity relationship of phenolic compounds for antioxidant activity. In A. M. Holban & A. M. Grumezescu (Eds.), *Food Control and Bioactive Molecules* (pp. 69–96). Academic Press.
- **Singleton, V. L. (1981).** Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Advances in Food Research*. 27:149-242.
- **Sreerama Y.N., Sashikala V.B., Pratapa V.M., Singh V. (2012).** Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. *LWT - Food Sci. Technol.*, 48(1), 59–68.
- **Sreerama, Y. N., Sashikala, V. B., & Pratapa, 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.

- **Tabart, J., Kevers, C., Sipel, A., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., & Dommes, J. (2007).** Optimization of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. *Food Chemistry*, 105(3), 1268–1275.
Tanins : connaissances actuelles sur les sources alimentaires, l'apport, la Biodisponibilité et les effets biologiques.
- **Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2001).** Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853–876.
- **Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.

V

- **Villaño, D., Fernández-Pachón, M. S., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2007).** Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 22–28.
- **Vinatoru, M. (2001).** An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303–313.

W

- **Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., LaVoie, E. J., Huang, T. C., & Ho, C. T. (2007).** Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12).
- **Well, J. H. (2001).** biochimie générale. 183.
- **Winkel-Shirley, B. (2001).** Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126(2), 485–493.

Y

- **Yang, J., Guo, J., Yuan, J. (2008).** In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT – Food Science and Technology* 41, 1060–1066.
- **Yangilar, F. (2013).** The application of dietary fibre in food industry: Structural features, effects on health and definition, obtaining and analysis of dietary fibre: A review. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(3), 13–23.

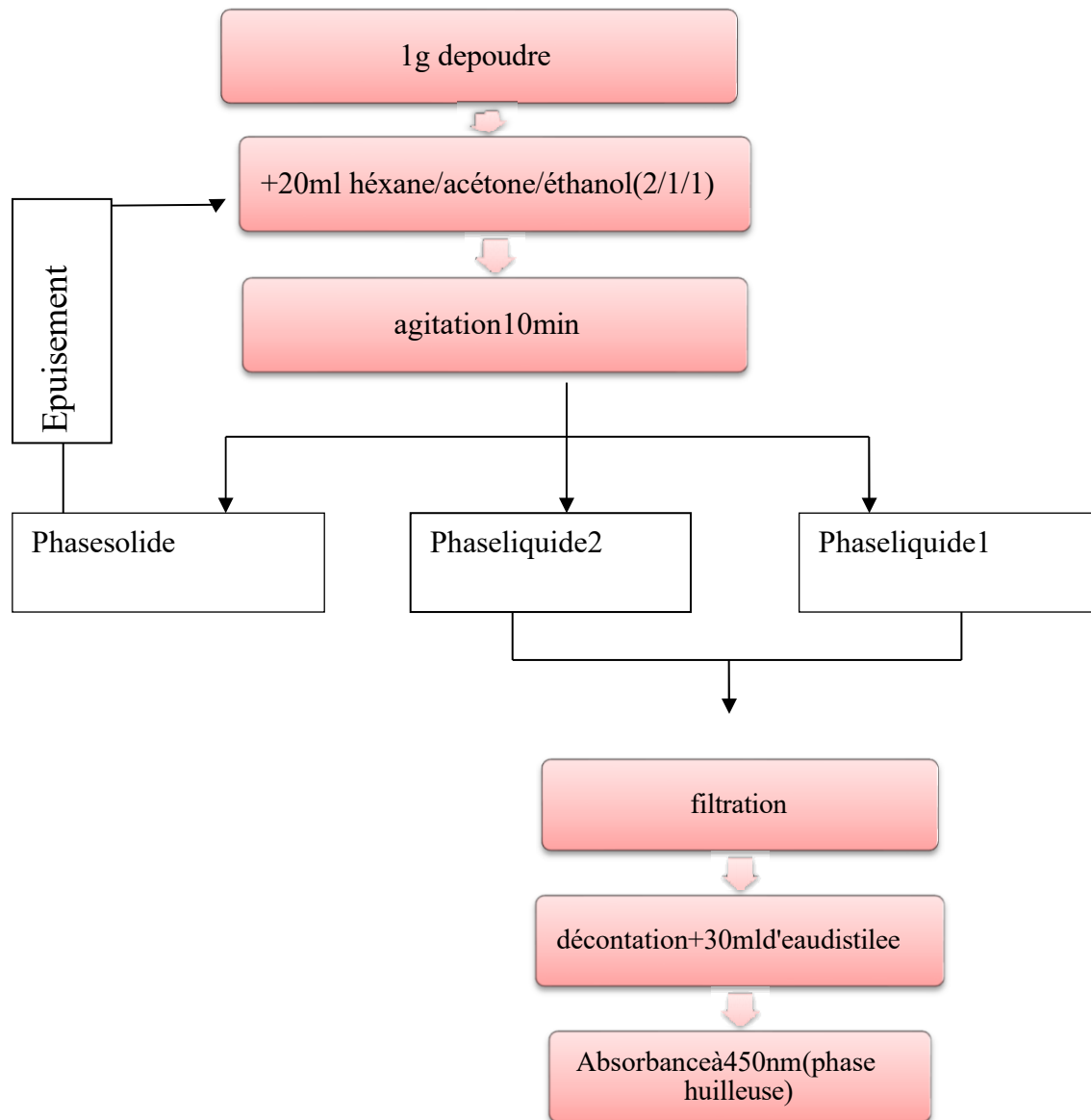
Z

- **Zakaryan, H.; Arabyan, E.; Oo, A.; Zandi, K.** Flavonoids: Promising natural compounds against viral infections. *Arch. Virol.* 2017, 162, 2539–2551.
- **Zimmer, N., & Cordesse, R. (1996).** Influence des tanins. *INRA Productions Animales*, 9(2), 175–182.
- **Zougagh, M., Valcárcel, M., Ríos, A., 2004.** Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness. *TrAC Trends Anal. Chem.* 23, 399–405.

Annexes

Annexe01

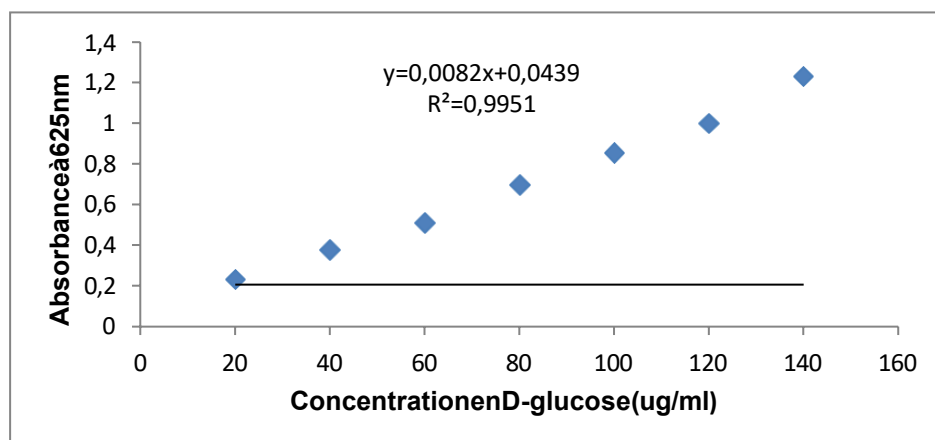
I. Protocole d'extraction des caroténoïdes



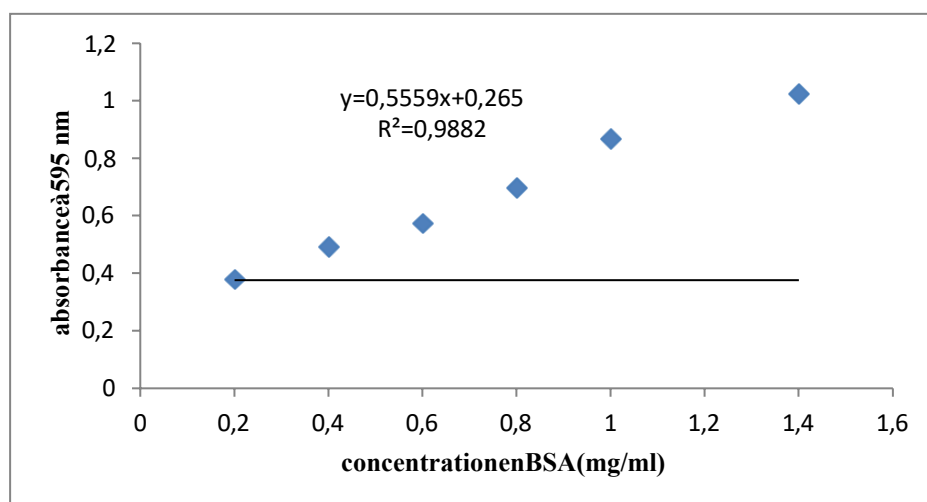
Annexe01: Protocole d'extraction des caroténoïdes (Sass-Kiss *et al.*, 2005).

II. les courbes d'étalonnages utilisées:

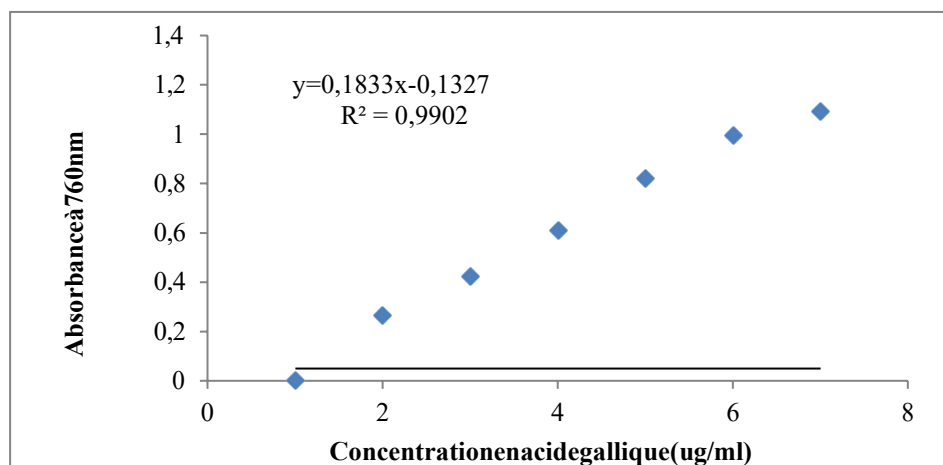
01/Courbe d'étalonnage des sucres totaux



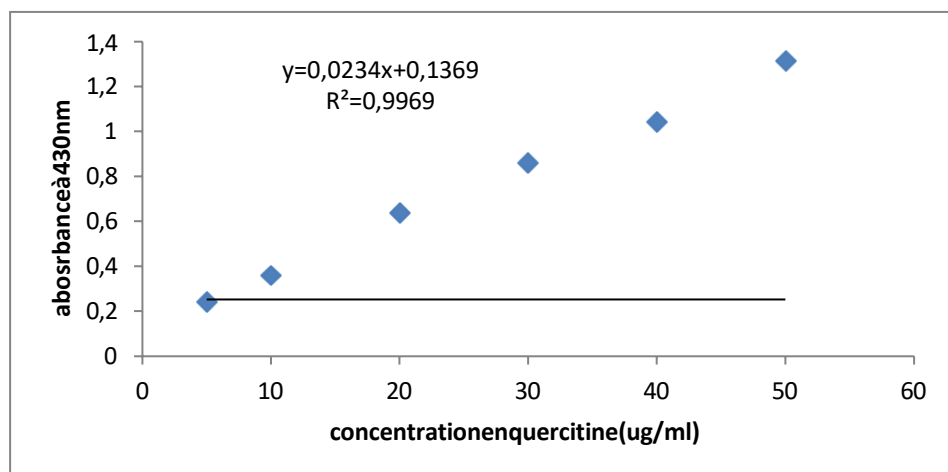
02. Courbe d'étalonnage des protéines



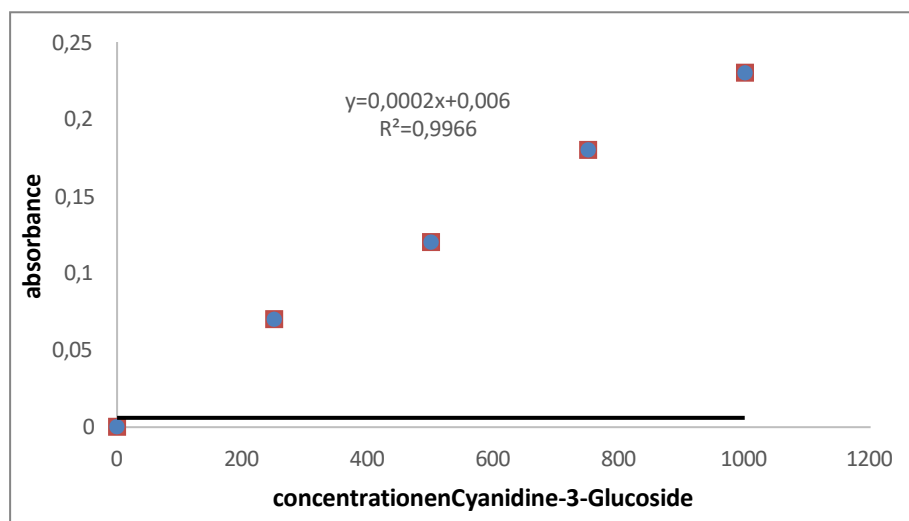
03. Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux



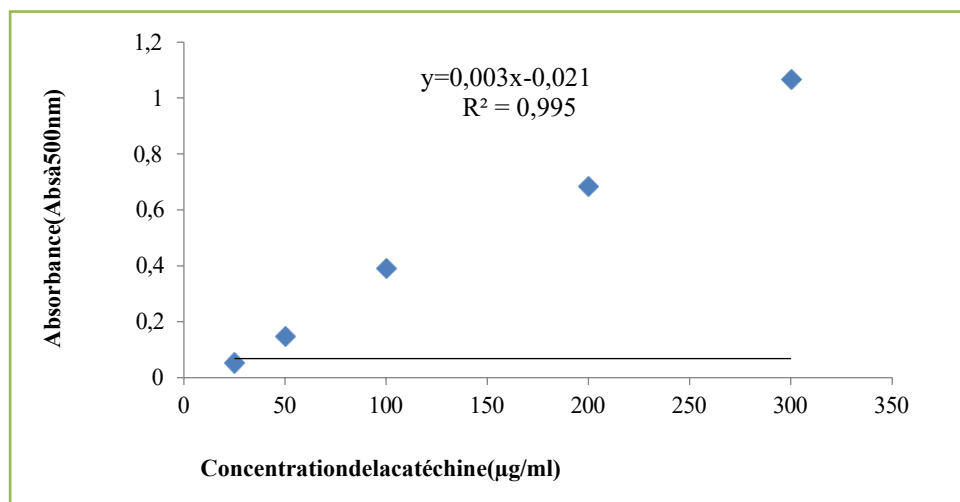
04. Courbed'étalonnagedesflavonoïdes



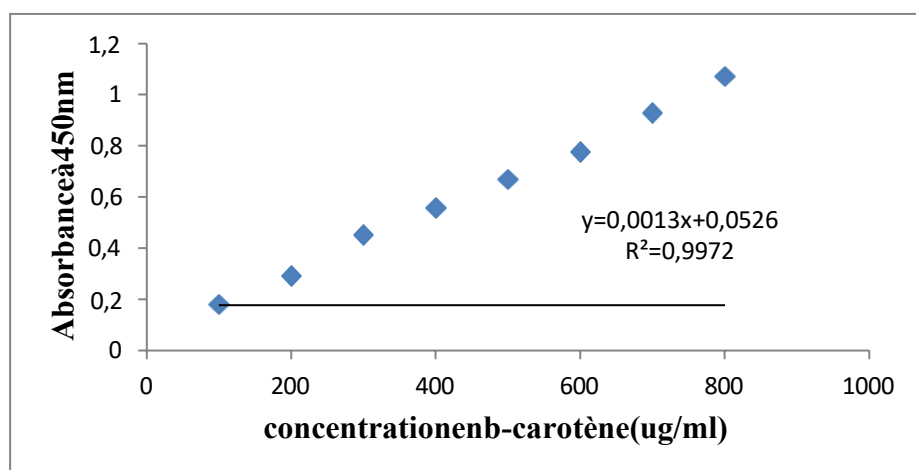
05. Courbed'étalonnagedesanthocyanines



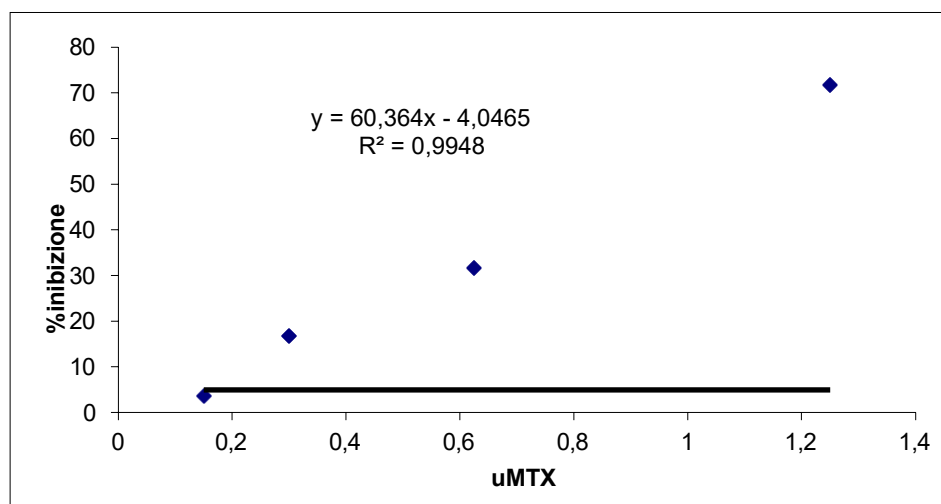
06. Courbed'étalonnagedestannins



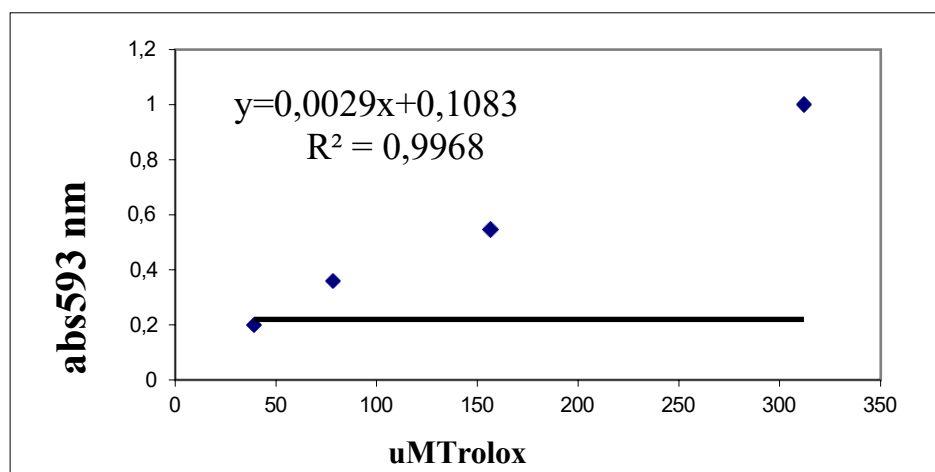
07. courbed'étalonnagedescaroténoïdes



08. Courbed'étalonnagedetestABTS



09. Courbed'étalonnagedeFRAP



Résumé:

Les cosses de haricots Coco de Rose, un sous-produit végétal, représentent une source prometteuse de substances bioactives encore peu explorée dans le domaine agroalimentaire.

L'objectif de cette étude est la détermination de la composition nutritionnelle et bioactive des cosses incluant les teneurs en cendres, matière grasse, humidité, sucres totaux, protéines, vitamine C et fibres brutes, polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanines, tanins condensés et caroténoïdes) de l'extrait, ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes.

Les analyses ont révélées une richesse en fibres ($26,15 \pm 0,23\%$), en protéines ($21,68 \pm 0,25\%$), en vitamine C ($21,83 \pm 4,00\%$) et sont pauvres en matière grasse ($2,62 \pm 0,21\%$). Les teneurs en composés phénoliques ont été estimées à $4,12 \pm 0,08$ mg/g pour les polyphénols totaux, $1,67 \pm 0,04$ mg/g en flavonoïdes, $1,56 \pm 0,74$ mg/g en anthocyanines $1,66 \pm 0,09$ mg/g, en tanins condensés, et $0,39 \pm 0,01$ mg/g MS en caroténoïdes.

L'activité antioxydants a montré un effet neutralisant significatif des radicaux DPPH•, ABTS et NO avec des valeurs respectives d'IC₅₀ de $4,16 \pm 0,19$ et de $9,01 \pm 1,9$ mg /g et de $13,4 \pm 2,13\%$, ainsi qu'un pouvoir réducteur du fer de $173,02 \pm 1,86$ μmol E-Trolox/g MS.

Concernant l'activité antibactérienne, seule la souche *Bacillus subtilis* présentée une zone d'inhibition d'un diamètre de $13,3 \pm 1,5$ mm, tandis que *E. coli*, *S. aureus* et *C. albicans* sont montrées une résistance.

Mots clés : Cocco de rose ; Cosses ; nutriments ; substances bioactives ; antioxydant ; antimicrobien.

Abstract:

The bean pods Coco de Rose, a plant by-product, represents a promising source of bioactive substances that are still relatively unexplored in the agri-food sector.

The objective of this study is to determine the nutritional and bioactive composition of the pods, including the levels of ash, fat, moisture, total sugars, proteins, vitamin C, and crude fiber, total polyphenols, flavonoids, anthocyanins, condensed tannins, and carotenoids) of the extract, as well as to evaluate their antioxidant and antimicrobial activities.

The analyzes revealed a richness in fiber ($26.15 \pm 0.23\%$), protein ($21.68 \pm 0.25\%$), vitamin C ($21.83 \pm 4.00\%$), and are low in fat ($2.62 \pm 0.21\%$). The phenolic compound contents were estimated at 4.12 ± 0.08 mg/g for total polyphenols, 1.67 ± 0.04 mg/g for flavonoids, 1.56 ± 0.74 mg/g for anthocyanins, 1.66 ± 0.09 mg/g for condensed tannins, and 0.39 ± 0.01 mg/g DW for carotenoids.

The antioxidant activity showed a significant neutralizing effect on DPPH•, ABTS, and NO radicals with respective IC₅₀ values of 4.16 ± 0.19 and 9.01 ± 1.9 mg/g and $13.4 \pm 2.13\%$, as well as an iron-reducing power of 173.02 ± 1.86 μmol E-Trolox/g DM.

Regarding antibacterial activity, only the *Bacillus subtilis* strain showed an inhibition zone with a diameter of 13.3 ± 1.5 mm, while *E. coli*, *S. aureus*, and *C. albicans* showed resistance.

Keywords : Rose coccus; Pods ; Nutrients ; Bioactive substances ; Antioxidant ; Antimicrobial.